



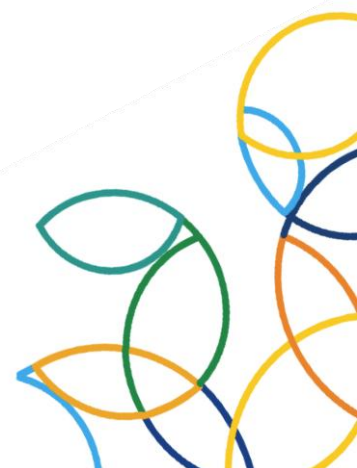
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Gustavo Henrique Soares Guedes

**PEIXES ANUAIS (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE):  
DIVERSIDADE, ENDEMISMO, AMEAÇAS E CONSERVAÇÃO**

SEROPÉDICA

2026





GUSTAVO HENRIQUE SOARES GUEDES

PEIXES ANUAIS (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE): DIVERSIDADE,  
ENDEMISMO, AMEAÇAS E CONSERVAÇÃO

Tese submetida à coordenação  
do Programa de Pós-graduação  
em Biologia Animal da  
Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
Doutor em Biologia Animal, Área  
de Concentração: Biodiversidade  
Animal

Orientador: Dr. Francisco Gerson  
Araújo

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G924p

GUEDES, GUSTAVO HENRIQUE SOARES, 1993-  
PEIXES ANUAIS (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE):  
DIVERSIDADE, ENDEMISMO, AMEAÇAS E CONSERVAÇÃO /  
GUSTAVO HENRIQUE SOARES GUEDES. - MURIAÉ, 2026.  
188 f.: il.

Orientador: Francisco Gerson Araújo.  
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA  
ANIMAL, 2026.

1. Ecologia. 2. Peixes. 3. Rivulidae. 4.  
Conservação. 5. Fauna ameaçada. I. Araújo, Francisco  
Gerson, 1954-, orient. II Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
BIOLOGIA ANIMAL III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta TFC/Dissertação/Tese, desde que seja citada a fonte

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**GUSTAVO HENRIQUE SOARES GUEDES**

**PEIXES ANUAIS (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE): DIVERSIDADE,  
ENDEMISMO, AMEAÇAS E CONSERVAÇÃO**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor (a) em Ciências**, no Curso de pós-graduação em **BIOLOGIA  
ANIMAL**, área de concentração em **BIODIVERSIDADE ANIMAL**

**TESE** APROVADA EM 30 DE JULHO DE 2026

BANCA EXAMINADORA:

Dr. FRANCISCO GERSON ARAUJO  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Dr. JAYME MAGALHAES SANTANGELO  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Dr. IGOR CAVALCANTI DE ARAÚJO SOUTO SANTOS  
Museu Nacional - Universidade Federal do Rio de Janeiro (MN-UFRJ)

Dr. LUIS ESTEBAN KRAUSE LANÉS  
Instituto Pró-Pampa (IPP)

Dr. WALDIR MIRON BERBEL FILHO  
University of West Florida (USA)



*TERMO Nº 503/2026 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)*

*(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)*

*(Assinado digitalmente em 31/07/2026 14:32 )*  
**FRANCISCO GERSON ARAUJO**  
COORDENADOR CURS/POS-GRADUACAO - TITULAR  
PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)  
Matricula: ###72#0

*(Assinado digitalmente em 31/07/2026 17:40 )*  
**JAYME MAGALHAES SANTANGELO**  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptCAmb (12.28.01.00.00.00.00.29)  
Matricula: ###284#6

*(Assinado digitalmente em 01/08/2026 13:38 )*  
**WALDIR MIRON BERBEL FILHO**  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.414-##

*(Assinado digitalmente em 03/08/2026 10:47 )*  
**IGOR CAVALCANTI DE ARAUJO SOUTO-SANTOS**  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.767-##

*(Assinado digitalmente em 03/08/2026 15:51 )*  
**LUIS ESTEBAN KRAUSE LANES**  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.900-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 503, ano: 2026, tipo: TERMO, data de emissão: 31/07/2026 e o código de verificação: 35f0a32448

## AGRADECIMENTOS

À minha família, meu maior tesouro: meu pai, Waldir; minha mãe, Eliane; e meu irmão, Diego. Devo não apenas um agradecimento inatingível pelas palavras, mas também um pedido sincero de perdão. O foco necessário para tornar esta tese uma realidade consumiu tempo e presença que, em muitas ocasiões, eu deveria ter dedicado a vocês.

Ao Professor Gerson, orientador de uma vida (graduação, mestrado e doutorado), agradeço pela autonomia e liberdade intelectual na escolha dos temas, pelo ceticismo que por vezes me trouxe de volta à realidade e pela generosidade no compartilhamento de saberes.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia de Peixes (LEP), em especial aos mais antigos, Márcia e Wagner, por acreditarem em mim desde o início desta jornada acadêmica.

A todos vocês, meus amigos e amigas, que se reconhecem e me reconhecem, nessa palavra.

À Débora Lisandra, que me ensinou a amar.

Aos meus gatinhos: Tigrinho (*in memoriam*), Amarelo e Branquinha, pelas conversas sem palavras, pela presença constante e pelo carinho cotidiano que tornaram os dias mais afetuosos.

A Fernando Pessoa, abrigo quando a música, a medicina, a psicologia e a filosofia falharam.

Aos 14 coautores, aos 5 membros da banca examinadora e aos 20 revisores anônimos, cujas críticas e contribuições foram fundamentais para o amadurecimento deste trabalho.

Aos financiadores: o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de doutorado (#140.512/2022-5); e ao Fundo Brasileiro para a Biodiversidade (FUNBIO), por meio do programa Conservando o Futuro (Instituto HUMANIZE, #028/2023), fundamentais para dar vida a estas ideias.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

## BIOGRAFIA

Bem-vindo(a).

Sinta-se em casa, mas lembre-se: você não está.

Esta é uma tese pessoal, embora escrita a muitas mãos; um trabalho atravessado por diálogos, críticas, revisões e encontros que se acumularam ao longo do caminho.

A você, caro leitor passageiro: seja pela pressa, pela busca de informações úteis ou pelo olhar atento de quem procura falhas para transformar crítica em contribuição. Sei que sua jornada nestas linhas será breve e que, satisfeito o seu propósito, possivelmente não retornará. Por isso, deixo-lhe antecipadamente: um adeus.

Eu, morador permanente dessas palavras, condenso nessa tese quatro anos de vida: suor, frustrações e descobertas; alegrias e abdições; um esforço contínuo de fazer caber rigor e sensibilidade na mesma página. No futuro, talvez eu retorne a estas linhas procurando entre palavras empoeiradas algo que ainda me represente.

Por isso, aqui escrevo especialmente para você: Gustavo do Futuro.

Espero que estas palavras o encontrem bem. Espero que eu tenha cuidado de você, e que você tenha cuidado de mim. Espero que esteja com os seus, plantando árvores e flores em volta de casa, no alto da montanha; e, sobretudo, que tenha mantido a coragem de seguir, apesar dos pesares.

Lembre-se de que esta tese nunca foi sobre artigos, prestígio, nem sobre a corrida por produtividade. Ela foi, desde o início, a busca por um tema que fosse relevante o bastante para sustentar sentido ao longo de quatro anos de jornada. Se essa Tese é extensa (seis capítulos), é porque nasceu de um exercício de curiosidade contínua: cada resposta abriu novas perguntas, e cada pergunta exigiu mais rigor, mais escala, mais paciência, mais tempo, mais abdição.

Ainda assim, por mais longa que pareça, tudo isso é pequeno diante da tua curiosidade e, sobretudo, insuficiente frente às ameaças de extinção que recaem sobre os peixes rivulídeos. Essa Tese não está pronta e nem nunca estará, mas chegou a hora de deixá-la seguir.

Há algo ainda mais importante a lembrar: antes mesmo de qualquer escolha pessoal ou processo de individuação, você é um ser datado no espaço-tempo. Tem nome, sobrenome, data de nascimento e cidade natal; possui uma língua e tantas outras marcas que nunca escolheu.

Você é, também, produto de uma política pública e de uma agenda de conservação brasileira que, em muitos aspectos, funcionou. Sua trajetória de ensino foi conduzida, em todas as instâncias e etapas, em escolas e universidades públicas. Durante a graduação, teve a oportunidade de viver e estudar na Universidade de Pisa, na Itália, pelo programa federal Ciência sem Fronteiras. A verdade é que pouco se dedicou aos bancos

escolares tradicionais naquela época; voltou de lá com apenas uma disciplina concluída no currículo. Contudo, trouxe na bagagem muitos países, museus, culturas e histórias vividas e, principalmente, a certeza de que o Brasil é um país incrível. Ali, a necessidade de desenvolver um 'pensamento tropical', para além do colonialismo euro-americano, tornou-se urgente. O famoso 'complexo de vira-lata' foi, enfim, rompido.

Evidentemente, nem tudo foram flores nesse caminho. Sua graduação foi, por assim dizer, traumática. Foram necessários oito anos para concluí-la, em meio a inúmeras questões pessoais e à rigidez de uma grade de disciplinas, que organiza o currículo, mas também é a cela e aprisiona.

Você precisou escrever uma carta ao reitor para evitar o jubilamento. Depois, precisou renovar esse fôlego. O processo foi tão extenuante que, até hoje, a fronteira entre realidade e pesadelo ainda parece borrada: como se você fosse acordar e descobrisse que ainda falta uma disciplina desinteressante a cumprir. Você nunca foi um aluno brilhante e linear; você foi um sobrevivente. Por isso, esta tese é dedicada para todos aqueles que, na graduação ou pós-graduação, esgotados, ficaram pelo caminho.

E é justamente por ter sobrevivido que vale lembrar: ninguém atravessa sozinho. Há trajetórias que só se tornam possíveis quando existem pessoas, instituições, políticas públicas e agendas coletivas sustentando.

Sem o Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Rivulídeos (PAN Rivulídeos), coordenado pelo ICMBio desde 2013, por exemplo, dificilmente teria havido a articulação consistente com órgãos ambientais e a inserção efetiva de Rivulidae no debate do licenciamento ambiental no Estado do Rio de Janeiro. Sem a incorporação dessa agenda no âmbito estadual, não teria existido um licenciamento mais atento aos rivulídeos quando um grande empreendimento industrial se instalou em Seropédica no ano de 2018; e, sem esse processo, você provavelmente não teria sido conduzido ao caso e conhecido esses peixes, e, portanto, esta tese e essas palavras provavelmente nunca tivessem existido.

Depois de apresentado aos rivulídeos, como não se encantar? Em especial com as espécies anuais — os chamados "peixes das nuvens". A seguir, recupero um trecho que escrevi para a Fundo Brasileiro para a Biodiversidade (FUNBIO) em 2023, onde condensou esse encantamento de modo folclórico para um público geral:

*"Os peixes sazonais/anuais (Rivulidae: Cyprinodontiformes) podem sobreviver sem água como nenhum outro peixe. Eles habitam brejos e pântanos temporários, que secam durante o período de estiagem. A ausência da chuva e consequente da água em seu ambiente, acarreta a morte de todos os peixes. Porém, antes de morrerem, esses peixes se reproduzem e depositam ovos resistentes no substrato. Esses ovos são capazes de permanecer viáveis durante meses, e por vezes anos, mesmo sem água. No próximo ciclo chuvoso, os brejos se enchem e os ovos eclodem, dando origem a uma nova população de peixes-anuais sem sobreposição de gerações. Isto é, os pais não conhecem os filhos, e vice-versa. Esse peculiar ciclo de vida fez com que essas espécies ficassem conhecidas no imaginário popular como peixes-das-nuvens, pois antes do progresso científico,*

*acreditava-se que caíam do céu junto as chuvas. Mas como antes dito, eles nascem é da terra.*

*Para mim, nem das nuvens e nem da terra. Eu os conheço como peixes invisíveis.*

*Invisíveis por quê:*

*(1) Permanecem enterrados no solo durante meses sem ser detectados.*

*(2) São pequenos, a maioria das espécies não ultrapassa 7 cm.*

*(3) Ocupam ambientes (brejos, pântanos) historicamente negligenciados pelas pesquisas, agências de fomento, e pela política.*

*(4) É a família (Rivulidae) dentre todos os vertebrados que ocorrem no Brasil com maior número de espécies ameaçadas de extinção (aproximadamente 120 espécies)."*

—

Hoje, quase quatro anos após escrever esse texto, perceba duas coisas fundamentais. A primeira é a presença de imprecisões técnicas, um sinal bem-vindo de que a maturidade e compreensão sobre esses peixes evoluíram. A segunda, e mais vital, é a confirmação de que esta tese nasceu da necessidade de ajudar a resgatar esses animais e seus habitats da 'invisibilidade', oferecendo-lhes o suporte de dados, mapas e argumentos sólidos. Para além do rigor acadêmico, este trabalho rompeu os muros da universidade: suas descobertas foram veiculadas por veículos como *O Globo*, *Folha de S. Paulo* e *UOL*, alcançando a sociedade para a qual a ciência é, de fato, feita.

Nesse contexto de visibilidade, recordo a reportagem do *Globo Repórter* de 2021 sobre os rivulídeos, da qual tive a honra de participar. Para os outros era apenas uma pessoa aparecendo na TV falando sobre peixes. Para você tinha outro significado. Lembre-se da sua criança que assistia ao programa e ficava ansiosa para ver a vida selvagem nas noites de sexta-feira, e de como era decepcionante quando o tema não era sobre animais. Vinte anos depois, você estava lá, dentro da tela, apresentando os peixes-das-nuvens para outras crianças em seus sofás, dando continuidade a um círculo virtuoso. O mundo não apenas gira: ele capota.

O sucesso não é um destino (um cargo de professor, um artigo, um título de doutorado), mas um momento de conexão e propósito.

*"Basta que falemos de um objeto para nos crermos objetivos. Mas por nossa primeira escolha, o objeto nos designa mais do que o designamos, e o que acreditamos nossos pensamentos fundamentais sobre o mundo são, não raro, confidências sobre a imaturidade de nosso espírito. Por vezes nos maravilhamos diante de um objeto escolhido; constituímos assim convicções que têm aparência de um saber. Mas a fonte inicial é impura: a evidência primeira não é uma verdade fundamental. De fato, a objetividade científica só é possível se tivermos primeiro rompido com o objetivo imediato, se tivermos recusado a sedução da primeira escolha, se tivermos estancado e contraditado pensamentos que nasçam da primeira observação. Toda objetividade, devidamente verificada, desmente o primeiro contato com o objeto. Ela deve primeiro criticar tudo: a sensação, o senso comum, a própria prática mais constante, inclusive a etimologia, porque a palavra, que é feita para cantar e seduzir, raramente coincide com o pensamento." (Gaston Bachelard, Psychanalyse, Cap. I, p. 9-10).*

## RESUMO

GUEDES, Gustavo Henrique Soares. **Peixes anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae): diversidade, endemismo, ameaças e conservação**. 2026. 185 p. Tese (Doutorado em Biologia Animal), Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2026, Tese.

Peixes-anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae) representam um dos componentes mais singulares e ameaçados da biodiversidade brasileira, associados a áreas úmidas temporárias e marcados por forte sazonalidade, elevado endemismo e diapausa embrionária. A vulnerabilidade desse grupo é sem paralelo: os peixes-anuais reúnem mais espécies ameaçadas de extinção, do que o número total de mamíferos, répteis ou anfíbios ameaçados no Brasil. Isso torna o avanço do conhecimento sobre essas espécies não apenas necessário, mas urgente. Esta tese integra ecologia, biogeografia e biologia da conservação para compreender padrões e processos que estruturam a diversidade de peixes-anuais e, simultaneamente, avaliar ameaças emergentes e instrumentos aplicados de conservação. Organizada em seis capítulos (cinco já publicados), a tese segue um gradiente do macro ao micro: da região Neotropical (do México até a Argentina), a estudos em escala nacional (Brasil) e regional (Estado do Rio de Janeiro), combinando teoria e prática. Em escala Neotropical (Capítulo 1: publicado no *Journal of Biogeography* em 2025), avalia como escolhas de unidade espacial e regionalizações influenciam padrões de endemismo e composição de espécies. Em escala nacional (Capítulo 2: publicado em *Biological Conservation* em 2026), quantifica a exposição de habitats e espécies ao fogo em diferentes biomas, e testa a efetividade da proteção territorial no Brasil. Em escala regional (Capítulo 3: *under review* no *Journal of Nature Conservation* em 2026), examina como o licenciamento ambiental incorpora (ou falha em incorporar) diagnósticos robustos para táxons raros e sazonalmente “invisíveis”, sistematizando evidências e recomendações para reduzir falsas ausências e qualificar decisões no Estado do Rio de Janeiro. A tese também avalia a contaminação por microplásticos em rivulídeos de ambientes temporários e manguezais (Capítulo 4: publicado em *Wetlands: Ecology and Management* em 2026), demonstrando exposição disseminada e refutando a hipótese de que poças temporárias funcionariam como refúgios frente à poluição plástica. Por fim, aprofunda mecanismos de história de vida e resiliência em zonas úmidas temporárias ao descrever traços reprodutivos e *trade-offs* (Capítulo 5: publicado em *Wetlands* em 2023); e sintetiza dados de distribuição, biologia populacional e perda de habitat para uma espécie focal, evidenciando o papel de áreas protegidas na mitigação de impactos nos habitats (Capítulo 6: publicado em *Neotropical Ichthyology* em 2023). Ao estabelecer uma ponte entre disciplinas transversais (ecologia, biogeografia e biologia da conservação), diferentes atores (pesquisa, órgãos ambientais, consultores), abordagens multi-escalas (Região Neotropical, Brasil, Estado do Rio de Janeiro), longos

períodos (1985-2024), espécies ameaçadas (até 159 spp), teoria e aplicação, esta tese avança no sentido de tornar a conservação mais “executável”, ao traduzir evidências ecológicas e biogeográficas em critérios operacionais para planejamento territorial, monitoramento e tomada de decisão. Ela reforça um ponto crítico: conservar habitats efêmeros e espécies sazonalmente “invisíveis” depende de diagnósticos robustos e decisões antecipatórias, construídas de forma multidisciplinar e coordenada entre múltiplos atores, para que o conhecimento científico se converta em prática antes que perdas silenciosas se tornem irreversíveis.

**Palavras-chave:** Rivulidae, Peixes-anuais; Conservação; Ecologia, Biogeografia

## ABSTRACT

GUEDES, Gustavo Henrique Soares. **Annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae): diversity, endemism, threats, and conservation**. 2026. 185 pp. PhD thesis (Doctorate in Animal Biology), Institute of Biological and Health Sciences. Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, 2026, PhD thesis.

Annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae) represent one of the most singular and threatened components of Brazilian biodiversity, associated with temporary wetlands and characterized by strong seasonality, high endemism, and embryonic diapause. The vulnerability of this group is unparalleled: annual fish account for more endangered species than the total number of threatened mammals, reptiles, or amphibians in Brazil combined. This makes advancing knowledge about these species not only necessary but urgent. This thesis integrates ecology, biogeography, and conservation biology to understand the patterns and processes that structure annual fish diversity while simultaneously assessing emerging threats and applied conservation instruments. Organized into six chapters (five published), the thesis follows a gradient from macro to micro scales: from the Neotropical region (Mexico to Argentina) to national (Brazil) and regional (Rio de Janeiro State) studies, bridging theory and practice. At the Neotropical scale (Chapter 1: published in *Journal of Biogeography* in 2025), it evaluates how choices of spatial units and regionalization influence patterns of endemism and species composition. At the national scale (Chapter 2: published in *Biological Conservation* in 2026), it quantifies the exposure of habitats and species to fire across different biomes and tests the effectiveness of territorial protection in Brazil. At the regional scale (Chapter 3: under review in *Journal for Nature Conservation* in 2026), it examines how environmental licensing incorporates (or fails to incorporate) robust assessments for rare and seasonally “invisible” taxa, systematizing evidence and recommendations to reduce false absences and improve decision-making in the State of Rio de Janeiro. The thesis also evaluates microplastic contamination in rivulids from temporary environments and mangroves (Chapter 4: published in *Wetlands Ecology and Management* in 2026), demonstrating widespread exposure and refuting the hypothesis that temporary ponds serve as refuges from plastic pollution. Furthermore, it delves into life-history mechanisms and resilience in temporary wetlands by describing reproductive traits and trade-offs (Chapter 5: published in *Wetlands* in 2023). Finally, it synthesizes distribution data, population biology, and habitat loss for a focal species, highlighting the role of protected areas in mitigating habitat impacts (Chapter 6: published in *Neotropical Ichthyology* in 2023). By bridging cross-cutting disciplines (ecology, biogeography, and conservation biology), different actors (researchers, environmental agencies, and consultants), multi-scale approaches (the Neotropical Region, Brazil, and the state of Rio de Janeiro), long time periods (1985–2024), threatened species (up to 159 spp.), and theory and application, this thesis advances the goal of making conservation more “actionable” by translating ecological and biogeographic evidence into operational

criteria for spatial planning, monitoring, and decision-making. It reinforces a critical point: conserving ephemeral habitats and seasonally “invisible” species depends on robust diagnoses and anticipatory decisions, built through multidisciplinary approaches and coordinated among multiple actors, so that scientific knowledge is converted into practice before silent losses become irreversible.

**Keywords:** Rivulidae; annual fish; conservation; ecology; biogeography.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....                                                                                                                                                       | 14  |
| <b>CAPÍTULO I</b> .....                                                                                                                                                               | 20  |
| <b>2 CAPÍTULO I:</b> $\beta$ -diversidade escalonando padrões entre diferentes biorregionalizações para uma família megadiversa de peixes Neotropicais .....                          | 20  |
| <b>2.1 Introdução</b> .....                                                                                                                                                           | 24  |
| <b>2.2 Materiais e Métodos</b> .....                                                                                                                                                  | 27  |
| <b>2.3 Resultados</b> .....                                                                                                                                                           | 31  |
| <b>2.4 Discussão</b> .....                                                                                                                                                            | 34  |
| <b>Referências</b> .....                                                                                                                                                              | 39  |
| <b>CAPÍTULO II</b> .....                                                                                                                                                              | 47  |
| <b>3 CAPÍTULO II:</b> Água e fogo: incêndios ameaçam habitats de peixes ao longo dos biomas brasileiros, e áreas protegidas oferecem salvaguardas insuficientes.....                  | 47  |
| <b>3.1 Introdução</b> .....                                                                                                                                                           | 51  |
| <b>3.2 Materiais e Métodos</b> .....                                                                                                                                                  | 55  |
| <b>3.3 Resultados</b> .....                                                                                                                                                           | 58  |
| <b>3.4 Discussão</b> .....                                                                                                                                                            | 61  |
| <b>Referências</b> .....                                                                                                                                                              | 66  |
| <b>CAPÍTULO III</b> .....                                                                                                                                                             | 75  |
| <b>4 CAPÍTULO III:</b> Licenciamento ambiental e conservação de peixes rivulídeos (Cyprinodontiformes: Rivulidae): recomendações práticas para agências ambientais e consultores..... | 75  |
| <b>4.1 Introdução</b> .....                                                                                                                                                           | 79  |
| <b>4.2 Materiais e Métodos</b> .....                                                                                                                                                  | 82  |
| <b>4.3 Resultados</b> .....                                                                                                                                                           | 85  |
| <b>4.4 Discussão</b> .....                                                                                                                                                            | 94  |
| <b>Referências</b> .....                                                                                                                                                              | 102 |
| <b>CAPÍTULO IV</b> .....                                                                                                                                                              | 110 |
| <b>5 CAPÍTULO IV:</b> Microplásticos em áreas úmidas: comparando a contaminação em peixes entre manguezais e brejos temporários no sudeste do Brasil.....                             | 110 |

|                                                                                                                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>5.1 Introdução</b>                                                                                                                                                                                                              | 114 |
| <b>5.2 Materiais e Métodos</b>                                                                                                                                                                                                     | 116 |
| <b>5.3 Resultados</b>                                                                                                                                                                                                              | 120 |
| <b>5.4 Discussão</b>                                                                                                                                                                                                               | 123 |
| <b>Referências</b>                                                                                                                                                                                                                 | 127 |
| <b>CAPÍTULO V</b>                                                                                                                                                                                                                  | 135 |
| <b>6 CAPÍTULO V:</b> Estratégia reprodutiva do peixe-anual <i>Leptopanchax opalescens</i> (Cyprinodontiformes: Rivulidae) e a <i>trade-off</i> entre tamanho do ovo e comprimento máximo corporal em áreas úmidas temporárias..... | 135 |
| <b>6.1 Introdução</b>                                                                                                                                                                                                              | 139 |
| <b>6.2 Materiais e Métodos</b>                                                                                                                                                                                                     | 141 |
| <b>6.3 Resultados</b>                                                                                                                                                                                                              | 144 |
| <b>6.4 Discussão</b>                                                                                                                                                                                                               | 151 |
| <b>Referências</b>                                                                                                                                                                                                                 | 155 |
| <b>CAPÍTULO VI</b>                                                                                                                                                                                                                 | 164 |
| <b>7 CAPÍTULO VI:</b> Novas ocorrências do ameaçado <i>Notholebias minimus</i> (Cyprinodontiformes: Rivulidae) nas planícies costeiras do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: características populacionais e conservação.....       | 164 |
| <b>7.1 Introdução</b>                                                                                                                                                                                                              | 168 |
| <b>7.2 Materiais e Métodos</b>                                                                                                                                                                                                     | 169 |
| <b>7.3 Resultados</b>                                                                                                                                                                                                              | 172 |
| <b>7.4 Discussão</b>                                                                                                                                                                                                               | 179 |
| <b>Referências</b>                                                                                                                                                                                                                 | 181 |
| <b>8 Conclusões finais</b>                                                                                                                                                                                                         | 186 |

## INTRODUÇÃO GERAL

### O problema

“O homem é parte da natureza, e sua guerra contra a natureza é, inevitavelmente, uma guerra contra si mesmo” (Carson, 1969). A trajetória de degradação é frequentemente legitimada por um enquadramento cultural que reduz a Terra a propriedade: “abusamos da terra porque a consideramos uma mercadoria que nos pertence” (Leopold, 1949). A educação baseada no medo pode produzir alerta e urgência, mas tende a permanecer no registro instrumental (“conservar para não perder”, “em que nos afeta perder essa espécie?”), sem, necessariamente, promover a mudanças estruturais necessárias. Essa mudança de paradigma exige pertencimento, e o reconhecimento de que a biodiversidade possui valor intrínseco (Política Nacional de Biodiversidade; Decreto nº 4.339/2002) e, portanto, sua existência não depende de utilidade, uso ou justificativa. Nesse ponto, a provocação de Pessoa (Alberto Caeiro) funciona como antídoto ao antropocentrismo: “Se sou mais que uma pedra ou uma planta? Não sei. Sou diferente. Não sei o que é mais ou menos. Ter consciência é mais que ter cor? Pode ser e pode não ser. Sei que é diferente apenas. Ninguém pode provar que é mais que só diferente.” (Pessoa, 1922). Subvertemos, hierarquizamos, e estudamos a vida, porque ainda não compreendemos plenamente quem somos.

Diante deste problema, que se manifesta como uma crise ambiental nas “copas”, visível pela perda acelerada de biodiversidade, mas que possui raízes profundas de caráter cultural e epistêmico, a conservação emerge como uma disciplina de crise (Soulé, 1985; Stirling & Burgman, 2021) e/ou como uma disciplina orientada por missão (Meine et al., 2006). Em termos analíticos, isso significa enfrentar os principais vetores de perturbação que nós próprios intensificamos: conversão e fragmentação de habitats, exploração de recursos, poluição, invasões biológicas e mudanças climáticas (Jaureguiberry et al., 2022). Operando sob incerteza, os dados e entendimentos necessários para mensurar problemas e avaliar soluções são frequentemente indisponíveis, incompletos, desatualizados ou enviesados (Stirling, 2010). Assim, conservar implica decidir com a melhor evidência disponível, mesmo quando a evidência é incompleta, e quando o custo de esperar é mais arriscado do que o de agir.

Nesse cenário, peixes-anaís da família Rivulidae e as áreas úmidas temporárias que eles habitam oferecem um caso emblemático para integrar biologia da conservação, ecologia e biogeografia. Ecologicamente, o funcionamento desses ecossistemas é regido pelo hidroperíodo (pulsos de seca e cheia), que impõe janelas temporais estreitas para o desenvolvimento da biota (Calhoun et al., 2017). A persistência dessas espécies não é linear, mas cíclica, dependendo de mecanismos como a diapausa embrionária, que

permite aos ovos sobreviverem enterrados no sedimento seco sob severas restrições metabólicas (Furness, 2016). Em termos biogeográficos, a distribuição fragmentada e efêmera das áreas úmidas temporárias, associada à baixa conectividade, favorece microendemismo e forte estruturação espacial (Costa, 2010), de modo que a escolha de unidades e escalas de análise não é apenas decisão metodológica, mas um fator inferência de diversidade e endemismo. Já sob a lente da biologia da conservação, rivulídeos condensam a tensão central entre urgência e incerteza: baixa prioridade histórica em agendas de pesquisa, fomento e políticas públicas, elevada ameaça de extinção (Volcan & Lanés, 2018) e baixa detectabilidade sazonal em paisagens sob intensa pressão antrópica, combinação que amplifica falsas ausências e favorece perdas silenciosas.

Nessa Tese, os rivulídeos-anuais não são apenas um objeto taxonômico, mas um modelo integrador para compreender como processos ecológicos de curta duração, padrões biogeográficos escala-dependentes e pressões antrópicas contemporâneas convergem para redefinir vulnerabilidade e, sobretudo, para transformar evidência científica em critérios operacionais capazes de orientar planejamento, monitoramento e tomada de decisão em paisagens onde a água (e a vida) aparecem e desaparecem.

### **Objetivos e estrutura da tese**

O objetivo geral dessa tese é conectar padrões biogeográficos, traços de história de vida, ameaças emergentes, e respostas institucionais, e convertê-los em recomendações aplicáveis ao planejamento, ao monitoramento e à tomada de decisão. A pergunta integradora é: como escolhas de escala e os vetores antrópicos contemporâneos reconfiguram padrões de diversidade, endemismo e ameaças dos peixes-anuais, e como essa evidência pode ser traduzida em critérios operacionais para tornar a conservação mais efetiva e executável?

A Tese é composta por seis (6) capítulos: cinco (5) já publicados e um (1) atualmente em processo de revisão por pares. Cada capítulo foi formatado de acordo com as normas da revista em que foi originalmente publicado ou na qual se encontra em avaliação. Os capítulos correspondem a traduções literais para o português de textos originalmente publicados em inglês. A organização dos capítulos segue um gradiente de diversidade e escala geográfica, do macro ao micro, começando no domínio neotropical (todas as espécies anuais), passando pelo recorte nacional (Brasil) e culminando no nível estadual (Rio de Janeiro), com foco progressivo em espécies e populações.

**No Capítulo 1** (publicado no *Journal of Biogeography*, 2025), é analisado um tema transversal: a escolha da escala espacial e a natureza escala-dependente dos padrões de biodiversidade. Compreender essas dependências é crucial porque elas condicionam

como a natureza é observada, descrita e interpretada e, consequentemente, como prioridades e estratégias de conservação são formuladas. Para isso, dados de presença–ausência de 261 espécies de peixes-anaís em áreas úmidas temporárias na região Neotropical, do México (18°N) à Argentina (37°S) foram compilados e comparados com 14 estruturas de biorregionalização amplamente empregadas na literatura internacional, incluindo *Terrestrial Ecoregions of the World* (TEOW), *Freshwater Ecoregions of the World* (FEOW) e bacias hidrográficas hierárquicas (HydroBasins). Esse desenho analítico permitiu delimitar 181 biorregiões de endemismo de peixes-anaís na região Neotropical e avaliar, de forma comparativa, em que medida diferentes delineamentos espaciais capturam a variação composicional das espécies. As análises reforçam o princípio de que padrões e processos ecológicos não são invariantes, mas emergem e se reorganizam conforme a escala, o que torna a escolha da unidade espacial não apenas uma decisão metodológica, e sim um passo crítico para a inferência ecológica e para a definição de prioridades e estratégias de conservação.

**No Capítulo 2** (publicado em *Biological Conservation*, 2026), é investigado a exposição dos habitats de peixes-anaís ao fogo e seus potenciais impactos diretos e indiretos, desafiando o paradigma ainda comum (e equivocado) de que onde há água não há fogo. Para isso, registros de ocorrência de 187 espécies anuais no Brasil (incluindo 102 ameaçadas de extinção) foram integrados a quatro décadas (1985–2024) de mapas de áreas queimadas do MapBiomas Fogo (Coleção 4.0). A exposição ao fogo foi comparada entre biomas brasileiros (Amazônia, Pampa, Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado e Pantanal), estratificados por propensão ao fogo, e entre áreas protegidas versus não protegidas, permitindo avaliar a efetividade da proteção territorial frente a essa ameaça. Os resultados indicam que 57% das espécies e 28% dos habitats foram atingidos por queimadas, com pico recente (2020–2024) e maior frequência em biomas fogo-dependentes (especialmente Cerrado e Pantanal). Além disso, unidades de conservação não reduziram consistentemente a frequência de fogo, evidenciando lacunas de governança e a necessidade de incorporar o manejo proativo do fogo ao planejamento da conservação da biodiversidade aquática.

**No Capítulo 3** (*under review* no *Journal of Nature Conservation*, 2026), o foco se desloca da teoria e migra para uma agenda aplicada, avaliando em que medida o licenciamento ambiental cumpre seu papel preventivo quando depende da qualidade dos diagnósticos de base e da capacidade de detectar e identificar táxons raros, endêmicos e sazonalmente “invisíveis”. Com esse objetivo, são revisados documentos técnicos produzidos entre 2013 e 2025 no âmbito do licenciamento ambiental do Estado do Rio de Janeiro, incluindo inventários, relatórios de monitoramento e planos de mitigação. Esse desenho analítico funcionou como uma ponte entre a lógica administrativa do licenciamento (“quem/onde/como/quando/quanto”) e um framework biológico e metodológico aplicável, sistematizando, em escala municipal e de sub-bacias, a diversidade e a distribuição de rivulídeos, além de caracterizar tipologias de

empreendimentos, métodos e esforço amostral, sazonalidade das campanhas e abordagens de mitigação. No Estado do Rio de Janeiro, onde a maioria dos rivulídeos é ameaçada, diagnósticos de linha de base afetados por subamostragem e identificações frágeis não constituem uma “incerteza aceitável”: representam risco regulatório e risco biológico real, ao aumentar a probabilidade de falsas ausências, subestimação de impactos e, potencialmente, perdas de populações e extinções locais.

**No Capítulo 4** (publicado em *Wetlands: Ecology and Management*, 2026), é investigado um contaminante emergente e ubíquo em ecossistemas aquáticos: a contaminação por microplásticos. A motivação central é que comparações sistemáticas entre manguezais e poças temporárias ainda são escassas, embora ambos possam atuar como “sumidouros” de partículas e expor a biota por múltiplas vias de entrada (deposição atmosférica, escoamento superficial, conectividade hidrológica e influência de marés). Para isso, a carga de microplásticos é comparada entre rivulídeos anuais (*Notholebias minimus*; *Leptopanchax opalescens*) e perenes (*Kryptolebias ocellatus*; *K. hermaphroditus*), amostrados em poças temporárias e em manguezais. Esse desenho analítico permitiu testar a hipótese de que espécies de pequeno porte e ciclo de vida curto, associadas a ambientes temporários, apresentariam menor contaminação devido à menor conectividade e ao menor tempo de exposição. Os resultados, entretanto, indicam contaminação disseminada: microplásticos foram detectados em todas as espécies e em 60,5% dos indivíduos analisados. Contrariando a hipótese inicial, a carga não diferiu entre manguezais e poças temporárias e não variou com o tamanho corporal. Em conjunto, o capítulo indica que zonas úmidas temporárias não constituem refúgios frente à poluição plástica e devem ser incorporadas explicitamente a estratégias de monitoramento e mitigação orientadas a fontes difusas em escala de paisagem.

**No Capítulo 5** (publicado em *Wetlands*, 2023), é aprofundado a interface entre história de vida e resiliência em zonas úmidas temporárias ao investigar a estratégia reprodutiva de *Leptopanchax opalescens* e o trade-off entre tamanho do ovo e tamanho corporal em rivulídeos neotropicais. Para isso, foram descritas, com base em histologia, as fases de desenvolvimento gonadal e o tipo de desova, além de estimar o tamanho do ovo e a fecundidade; em paralelo, analisados dados de diâmetro de ovo e comprimento total máximo (TLmax) para 136 espécies (90 anuais; 46 perenes), comparando padrões entre ciclos de vida distintos. Os resultados indicam fêmeas com desova em lotes e machos com produção contínua de esperma, com fecundidade por lote variando de 22 a 32 ovócitos vitelogênicos, e mostram que, embora o tamanho corporal máximo não difira significativamente entre peixes-aniais e não aniais, o tamanho dos ovos é consistentemente menor em espécies aniais, sugerindo que a diapausa embrionária e a seleção em ambientes hidrologicamente extremos moldam o investimento reprodutivo. Em conjunto, o capítulo sustenta que a persistência de *L. opalescens* (e de outros peixes-aniais) em áreas úmidas temporárias depende de um conjunto de traços reprodutivos convergentes, desova parcelada, gametogênese contínua e diapausa, e que diferenças

em tamanho corporal e tamanho dos ovos entre ciclos de vida (espécies anuais vs. não anuais) refletem estratégias alternativas para lidar com estresse ambiental, mais do que uma simples relação com o tempo de vida.

**No Capítulo 6** (publicado em *Neotropical Ichthyology*, 2023), são sintetizadas informações sobre distribuição, história natural e conservação do rivulídeo-anual *Notholebias minimus*. O estudo teve como objetivos: (i) apresentar novos registros de distribuição; (ii) fornecer parâmetros populacionais inéditos: tamanho corporal, tamanho dos ovos, fecundidade e proporção sexual; e (iii) comparar mudanças no uso e cobertura do solo entre 1985 e 2021 em biótopos situados dentro e fora de áreas protegidas. Em conjunto, os resultados ampliam o conhecimento sobre os habitats e a biologia populacional de *N. minimus* e reforçam que a criação e a implementação efetiva de áreas protegidas podem reduzir a expansão urbana e, em certos contextos, frear ou reverter a perda de habitats temporários associada ao desmatamento, um dos principais vetores de declínio de populações de peixes-anuais no bioma Mata Atlântica.

Ao estabelecer uma ponte entre disciplinas transversais (ecologia, biogeografia e biologia da conservação), diferentes atores (pesquisa, órgãos ambientais, consultores), abordagens multi-escalas (Região Neotropical, Brasil, Estado do Rio de Janeiro), longos períodos (1985-2024), espécies ameaçadas (até 159 spp), teoria e aplicação, esta tese avança no sentido de tornar a conservação mais “executável”, ao traduzir evidências ecológicas e biogeográficas em critérios operacionais para planejamento territorial, monitoramento e tomada de decisão. Ela reforça um ponto crítico: conservar habitats efêmeros e espécies sazonalmente “invisíveis” depende de diagnósticos robustos e decisões antecipatórias, construídas de forma multidisciplinar e coordenada entre múltiplos atores, para que o conhecimento científico se converta em prática antes que perdas silenciosas se tornem irreversíveis.

## Referências

- Calhoun, A. J. K., Mushet, D. M., Bell, K. P., Boix, D., Fitzsimons, J. A., & Isselin-Nondedeu, F. (2017). Temporary wetlands: Challenges and solutions to conserving a "disappearing" ecosystem. *Biological Conservation*, 211, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.11.024>
- Carson, R. (1969). *Primavera silenciosa* (R. de Polillo, Trad.). Pórtico. (Obra original publicada em 1962).
- Costa, W. J. E. M. (2010). Historical biogeography of cynolebiasine annual killifishes inferred from dispersal–vicariance analysis. *Journal of Biogeography*, 37(10), 1995–2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02339.x>
- Furness, A. I. (2016). The evolution of an annual life cycle in killifish: Adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews*, 91(3), 796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>
- Jaureguiberry, P., Titeux, N., Wiemers, M., Bowler, D. E., Coscieme, L., Golden, A. S., Guerra, C. A., Jacob, U., Takahashi, Y., & others. (2022). The direct drivers of recent global anthropogenic biodiversity loss. *Science Advances*, 8(45), eabm9982. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abm9982>
- Leopold, A. (1949). *A sand county almanac*. Ballantine Books.
- Meine, C., Soulé, M. E., & Noss, R. F. (2006). "A mission-driven discipline": The growth of conservation biology. *Conservation Biology*, 20(3), 631–651. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00449.x>
- Pessoa, F. (1922). Poemas inconjuntos. In F. Pessoa, *Poemas de Alberto Caeiro* (Notas de J. G. Simões & L. de Montalvor). Ática. (Edição consultada: 1946; 10ª ed., 1993).
- Soulé, M. E. (1985). What is conservation biology? A new synthetic discipline addresses the dynamics and problems of perturbed species, communities, and ecosystems. *BioScience*, 35(11), 727–734. <https://doi.org/10.2307/1310054>
- Stirling, A. (2010). Keep it complex. *Nature*, 468(7327), 1029–1031. <https://doi.org/10.1038/4681029a>
- Stirling, A., & Burgman, M. (2021). Strengthening conservation science as a crisis discipline by addressing challenges of precaution, privilege, and individualism. *Conservation Biology*, 35(6), 1738–1746. <https://doi.org/10.1111/cobi.13809>
- Volcan, M. V., & Lanés, L. E. K. (2018). Brazilian killifishes risk extinction. *Science*, 361(6403), 340–341. <https://doi.org/10.1126/science.aau5930>

## CAPÍTULO I

*Journal of Biogeography*

WILEY



## RESEARCH ARTICLE

# $\beta$ -Diversity Scaling Patterns Across Different Bioregionalisations for a Megadiverse Neotropical Fish Family

Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup> | Jayme Magalhães Santangelo<sup>2</sup> | Aliny Patrícia Flauzino Pires<sup>3,4,5,6</sup> | Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Brazil | <sup>2</sup>Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Brazil | <sup>3</sup>Departamento de Ecologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil | <sup>4</sup>Rede Brasileira de Pesquisas Sobre Mudanças Climáticas Globais, São Paulo, Brazil | <sup>5</sup>Fundação Brasileira Desenvolvimento Sustentável, Rio de Janeiro, Brazil | <sup>6</sup>Plataforma Brasileira de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos, São Paulo, Brazil

**Correspondence:** Francisco Gerson Araújo ([gerson@ufrj.br](mailto:gerson@ufrj.br))

**Received:** 18 September 2024 | **Revised:** 31 December 2024 | **Accepted:** 3 January 2025

**Funding:** This work was funded by Fundo Brasileiro para a Biodiversidade—FUNBIO Conservando o Futuro, Instituto HUMANIZE (Proc. #028/2023), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (E-26/200.897/2021, E-26/210.103/2023) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 140.512/2022-5).

**Keywords:** beta diversity | conservation | freshwater ecosystems | killifish | Rivulidae | scale-dependent | spatial analysis | wetlands

Guedes GHS, Santangelo JM, Pires APF, Araújo FG (2025)  $\beta$ -Diversity Scaling Patterns Across Different Bioregionalisations for a Megadiverse Neotropical Fish Family. *Journal of Biogeography* 52: e15088. <https://doi.org/10.1111/jbi.15088>

## **$\beta$ -diversidade escalonando padrões entre diferentes biorregionalizações para uma família megadiversa de peixes Neotropicais**

Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup>, Jayme Magalhães Santangelo<sup>2</sup>,  
Aliny Patrícia Flauzino Pires<sup>3,4,5,6</sup>, Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Ecologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil

<sup>4</sup>Rede Brasileira de Pesquisas Sobre Mudanças Climáticas Globais, São Paulo, Brasil

<sup>5</sup>Fundação Brasileira Desenvolvimento Sustentável, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>6</sup>Plataforma Brasileira de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos, São Paulo, Brasil

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem a Victoria de Jesus Souza e Marcia Cristina Costa de Azevedo, que fizeram sugestões valiosas para este projeto. Este trabalho foi financiado pelo Fundo Brasileiro para a Biodiversidade — FUNBIO Conservando o Futuro, Instituto HUMANIZE (Proc. #028/2023), pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (E-26/200.897/2021, E-26/210.103/2023) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 140.512/2022-5).

## RESUMO

**Objetivo:** Estruturas de biorregionalização representam assembleias únicas de espécies resultantes do isolamento geográfico e da heterogeneidade ambiental. Compreender como diferentes biorregionalizações capturam a variação composicional das comunidades é crucial, pois padrões e processos subjacentes são dependentes de escala. Este estudo teve como objetivo (1) explorar os processos ecológicos subjacentes por meio da decomposição da diversidade beta (substituição e aninhamento); (2) identificar qual estrutura de biorregionalização oferece a granularidade espacial ótima para distinguir comunidades; e (3) avaliar o número efetivo de áreas composicionalmente distintas. **Localização:** Domínio Neotropical. **Táxon:** Rivulidae — espécies anuais. **Métodos:** Dados de presença–ausência de espécies de peixes foram analisados por meio de diversidade beta pareada ( $\beta$ -diversidade) e métodos de agrupamento hierárquico (UPGMA) e comparados com 14 estruturas abrangentes de biorregionalização, incluindo ecorregiões terrestres (TEOW), ecorregiões de água doce (FEOW), províncias neotropicais e bacias hidrográficas (HydroBasins). **Resultados:** O estudo revelou que (1) a substituição é o componente dominante da  $\beta$ -diversidade, superando o aninhamento em todas as estruturas de biorregionalização; (2) a substituição aumenta de forma não linear à medida que a área de regionalização diminui, com um limiar identificado além do qual reduções adicionais de área não aumentam significativamente a substituição; e (3) a granularidade espacial ótima para biorregionalização é alcançada em escalas menores de bacias hidrográficas (146–414 km<sup>2</sup>), nas quais a substituição é maximizada e o número ótimo de biorregiões (> 180) é identificado. **Conclusões Principais:** Padrões de substituição estão ligados a fatores como alto endemismo, baixa capacidade de dispersão e o isolamento significativo de áreas úmidas temporárias. A dependência de escala da  $\beta$ -diversidade é influenciada não apenas pela área das biorregionalizações, mas também pelo desenho subjacente dessas unidades, como aquelas baseadas em características hidrogeomorfológicas (HydroBasins) ou em padrões de distribuição de táxons (FEOW e TEOW). Escalas espaciais mais finas são mais eficazes para avaliar padrões de biodiversidade de táxons endêmicos e em habitats com baixa conectividade. Esses achados podem aprimorar a compreensão de como estruturas de biorregionalização refletem a variação composicional de espécies, com implicações importantes para interpretar padrões ecológicos e desenvolver estratégias de conservação dependentes de escala.

**Palavras-chave** | diversidade beta, conservação, ecossistemas de água doce, peixe-anual, Rivulidae, escala-dependência, análise espacial, áreas úmidas

## ABSTRACT

**Aim:** Bioregionalisation frameworks represent unique assemblages of species resulting from geographic isolation and environmental heterogeneity. Understanding how different bioregionalisations capture community compositional variation is crucial, as underlying patterns and processes are scale-dependent. This study aimed to (1) explore the underlying ecological processes through the decomposition of beta diversity (turnover and nestedness); (2) identify which bioregionalisation framework offers the optimal spatial granularity for distinguishing between communities; and (3) evaluate the effective number of compositionally distinct areas. **Location:** Neotropical domain. **Taxon:** Rivulidae—annual species. **Methods:** Presence–absence data of fish species were analysed using pairwise  $\beta$ -diversity and hierarchical clustering methods (UPGMA) and compared with 14 comprehensive bioregionalisation frameworks, including terrestrial ecoregions (TEOW), freshwater ecoregions (FEOW), neotropical provinces and watersheds (HydroBasins). **Results:** The study revealed that (1) turnover is the dominant component of  $\beta$ -diversity, surpassing nestedness across all bioregionalisation frameworks; (2) turnover increases non-linearly as regionalisation area decreases, with a threshold identified beyond which further area reduction does not significantly increase turnover; and (3) the optimal spatial granularity for bioregionalisation is achieved at smaller watershed scales (146–414 km<sup>2</sup>), where turnover is maximised and the optimal number of bioregions (> 180) is identified. **Main Conclusions:** Turnover patterns are linked to factors such as high endemism, low dispersal capacity and the significant isolation of temporary wetlands. The scale dependence of  $\beta$ -diversity is influenced not only by the area of bioregionalisations but also by the underlying design of these units, such as those based on hydrogeomorphological features (HydroBasins) or taxon distribution patterns (FEOW and TEOU). Finer spatial scales are more effective for assessing biodiversity patterns for endemic taxa and in habitats with low connectivity. These findings can enhance the understanding of how bioregionalisation frameworks reflect species compositional variation, with important implications for interpreting ecological patterns and developing scale-dependent conservation strategies.

**Keywords** | beta diversity, conservation, freshwater ecosystems, killifish, Rivulidae, scale- dependent, spatial analysis, wetlands

## 1 | Introdução

A definição de escala espacial é a pedra angular de disciplinas como ecologia, biogeografia e biologia da conservação, pois a maioria dos padrões e processos subjacentes é dependente de escala (Levin, 1992; Chave, 2013). Estudar essas dependências é essencial para o avanço dessas disciplinas, pois elas determinam como a natureza é observada e compreendida e, em última instância, como as estratégias de conservação são formuladas. Com base na contribuição seminal de Whittaker (1960), a diversidade tem sido diferenciada em alfa-diversidade ( $\alpha$  — diversidade local), beta-diversidade ( $\beta$  — variação na composição de comunidades entre sítios) e gama-diversidade ( $\gamma$  — diversidade regional), de modo a aprofundar a compreensão dos processos que estruturam comunidades em diferentes escalas espaciais. Baselga (2010) expandiu essa visão ao particionar a  $\beta$ -diversidade em dois componentes que revelam processos antagônicos: substituição (turnover) e aninhamento (nestedness).

A substituição denota a troca de espécies entre sítios, enquanto o componente de aninhamento decorre de mudanças na riqueza de espécies — sítios com menos espécies são subconjuntos de sítios mais ricos. Esses dois padrões opostos estão associados (embora não exclusivamente) a processos distintos, como dispersão, conectividade, dinâmica de extinção-colonização, interações bióticas e gradientes ambientais (Soininen, McDonald e Hillebrand 2007; Ulrich, Almeida-Neto e Gotelli 2009; Soininen, Heino e Wang 2018). Além disso, a heterogeneidade ambiental pode exercer forte influência sobre a  $\beta$ -diversidade e seus componentes (Heino, Melo e Bini 2015). Em habitats heterogêneos, uma gama mais ampla de nichos ecológicos tende a estar disponível, favorecendo maior diversidade de espécies (Tews et al. 2004; Stein, Gerstner e Kreft 2014). Nesses ambientes, a substituição tende a ser mais alta, pois cada sítio pode abrigar um conjunto distinto de espécies especializadas, aumentando a taxa de substituição de espécies na paisagem (Soininen, Heino e Wang 2018). Em contrapartida, habitats mais homogêneos tendem a abrigar comunidades mais semelhantes e menos diversas, favorecendo padrões de aninhamento (Ulrich, Almeida-Neto e Gotelli 2009; Soininen, Heino e Wang 2018).

A  $\beta$ -diversidade pode ser medida por diferentes métricas, cada uma com vantagens e limitações, desenvolvidas a partir de hipóteses e propósitos específicos (Anderson et al. 2011). Estudos demonstram que a  $\beta$ -diversidade e seus componentes (substituição e aninhamento) são fortemente dependentes de escala, incluindo tanto o grão (tamanho da unidade amostral) quanto a extensão espacial do estudo (Barton et al. 2013; Sreekar et al. 2018; Rolls et al. 2023; Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins 2024). A escala espacial compreende o “grão” (resolução ou tamanho da unidade amostral, por exemplo, célula de grade, buffer, bacia hidrográfica) e a “extensão” (tamanho da região que engloba todas as unidades amostrais, por exemplo, hidrorregião, país, continente ou domínio) (Wiens 1989; Heino, Melo e Bini 2015). Essa dependência levanta uma questão fundamental: a natureza dependente de escala da  $\beta$ -diversidade representa um

problema, ou é a chave para identificar a escala espacial que melhor distingue as diferenças entre comunidades?

A resposta ainda é controversa e depende do contexto e da métrica utilizada. A dependência de escala é negativa quando o efeito da escala não é controlado ou é arbitrariamente definido, levando a artefatos metodológicos que podem enviesar a interpretação de padrões e processos (Whittaker, Willis e Field 2001). Em contraste, a dependência pode ser positiva quando a  $\beta$ -diversidade é avaliada em múltiplas escalas, indicando a granularidade espacial ótima, na qual a separação entre comunidades ecológicas é mais distinta (Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins 2024). De fato, a biogeografia moderna tem se apoiado cada vez mais nesse princípio para identificar diferentes comunidades ecológicas e delimitar com maior precisão regiões biogeográficas (Kreft e Jetz 2010; Oliveira et al. 2024).

Contudo, abordagens multiescala que utilizam diferentes métricas de  $\beta$ -diversidade sob o mesmo arcabouço (com extensão fixa e variação de grão) podem produzir picos distintos de  $\beta$ -diversidade — em escalas regionais (Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins 2024) ou locais (Antão et al. 2019). Além disso, a  $\beta$ -diversidade pode apresentar picos semelhantes em escalas regionais ao usar métricas e abordagens de escala distintas (Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins 2024; Barton et al. 2013). Essa complexidade reforça a necessidade de explorar abordagens multiescala para determinar como diferentes métricas e escalas influenciam a interpretação da  $\beta$ -diversidade e, consequentemente, a delimitação precisa de comunidades ecológicas e regiões biogeográficas.

Há grande variação na literatura sobre como a escala da  $\beta$ -diversidade é abordada, tanto em termos de área quanto de forma (quadrada, circular, hexagonal ou baseada em limites naturais). Exemplos incluem comparações de diferentes limites geográficos (políticos, geomorfológicos e bacias hidrográficas; Stoczynski et al. 2023), grades com diferentes tamanhos de célula (Calderón-Patrón et al. 2013), partições sistemáticas de buffers (Antão et al. 2019) e hexágonos centrais pareados com seus vizinhos (Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins 2024). Embora essas segmentações artificiais facilitem análises espaciais rápidas e padronizadas (Birch, Oom e Beecham 2007), elas impõem fronteiras artificiais que podem obscurecer processos ecológicos importantes ao longo de gradientes ambientais ou em paisagens heterogêneas (Oliveira, Brescovit e Santos 2015).

Atualmente, há diversos arcabouços globais de biorregionalização, baseados em diferentes critérios de delimitação, que refletem distintas histórias evolutivas, heterogeneidade ambiental e isolamento geográfico na formação dos padrões de biodiversidade. Por exemplo, as Ecorregiões Terrestres do Mundo (TEOW; Olson et al. 2001) dividem áreas terrestres em ecorregiões com base em conjuntos de fauna e flora moldados por barreiras biogeográficas, como cadeias montanhosas e rios. As Ecorregiões de Água Doce do Mundo (FEOW; Abell et al. 2008) seguem lógica similar, mas focam em sistemas de água doce, refletindo a influência das bacias de drenagem e da conectividade aquática. As províncias neotropicais (Morrone et al. 2022) combinam critérios climáticos, geológicos e bióticos, especialmente nos trópicos, onde o isolamento geográfico desempenha papel central na diversificação das espécies. Finalmente,

esquemas como HydroBasins (Lehner e Grill 2013) organizam sistemas aquáticos e terrestres hierarquicamente, com sub-bacias aninhadas que refletem conectividade hidrológica e gradientes ambientais.

Pouco se sabe sobre como esses diferentes arcabouços de biorregionalização capturam a variação da  $\beta$ -diversidade em múltiplas escalas. Além disso, a maioria dos estudos prévios é multi-táxons, incluindo espécies com diferentes histórias de vida, padrões de dispersão e níveis de endemismo, o que pode introduzir fatores de confusão (Qian 2009; Soininen, Heino e Wang 2018; Antão et al. 2019).

Os peixes de água doce neotropicais da família Rivulidae (488 espécies válidas; a 9ª família mais diversa de peixes do mundo; Fricke, Eschmeyer e Fong 2024) constituem um excelente modelo para compreender os padrões de escala da  $\beta$ -diversidade por duas razões principais: (1) a maioria das espécies apresenta distribuições restritas (alto endemismo) e traços de história de vida semelhantes — baixa capacidade de dispersão, pequeno porte, rápido crescimento, forte dimorfismo sexual e ciclo de vida sincronizado com a estação chuvosa (Costa 2010; Loureiro et al. 2018; Guedes et al. 2023; Alonso et al. 2023) — reduzindo fatores de confusão comuns em análises multitáxicas; (2) os rivulídeos enfrentam severa ameaça de extinção. No Brasil, país megadiverso, essa é a família de vertebrados mais ameaçada, abrigando mais espécies em risco (130 spp.) que todas as famílias de peixes marinhos combinadas (97 spp.) (ICMBio 2022). Assim, definir as escalas que melhor representam seus padrões de biodiversidade é essencial para estratégias de conservação.

Portanto, o objetivo principal deste estudo foi determinar como diferentes arcabouços de biorregionalização capturam a escala da  $\beta$ -diversidade para espécies de peixes-anuais (Rivulidae) na região Neotropical. Os objetivos específicos foram: (O1) avaliar os processos ecológicos subjacentes por meio da decomposição da  $\beta$ -diversidade (substituição e aninhamento); (O2) identificar qual estrutura de biorregionalização oferece a granularidade espacial ótima onde a separação entre comunidades é mais evidente; (O3) determinar o número efetivo de áreas composicionalmente distintas por meio de análise de agrupamento hierárquico. Foram compilados dados de presença–ausência de espécies anuais em áreas úmidas temporárias em toda a região Neotropical, do México (18°N) à Argentina (37°S), comparando 14 estruturas de biorregionalização amplamente utilizadas (TEOW, FEOW, HydroBasins, entre outras). Duas hipóteses foram testadas: H1 — A substituição é o componente dominante da  $\beta$ -diversidade, superando o aninhamento em todas as estruturas; H2 — A  $\beta$ -diversidade aumenta à medida que a área de biorregionalização diminui, mas de forma não linear, existindo um limiar a partir do qual reduções adicionais não alteram significativamente a  $\beta$ -diversidade. H1 é sustentada por meta-análises que demonstram a predominância da substituição em diferentes ecossistemas e grupos taxonômicos (Soininen, Heino e Wang 2018), fenômeno especialmente relevante para peixes-anuais devido às populações isoladas, baixa dispersão e fraca conectividade entre brejos temporários. Em resumo, este estudo busca avançar a compreensão sobre como diferentes arcabouços de biorregionalização capturam a variação composicional das

comunidades. Ao explorar a decomposição da  $\beta$ -diversidade e determinar a granularidade espacial ótima, esta pesquisa fornece uma base refinada para compreender processos ecológicos e aprimorar estratégias de conservação dependentes de escala para espécies altamente ameaçadas da família Rivulidae no domínio Neotropical.

## 2 | Métodos

### 2.1 | Espécies válidas e delimitação do anualismo

O *Catalog of Fishes* de Eschmeyer foi utilizado como referência taxonômica para determinar os gêneros e espécies válidos dentro da família Rivulidae (Fricke, Eschmeyer e Fong 2024). As espécies foram categorizadas com base na presença (ou ausência) de diapausa embrionária e de um ciclo de vida anual, de acordo com quatro categorias (1–4) derivadas dos três estágios possíveis de diapausa (I–III) em peixes-anuais, conforme reconhecido por Furness et al. (2018): (1) espécies sem diapausa e com desenvolvimento típico de teleósteos; (2) e (3) espécies com eclosão retardada e potenciais fases específicas de diapausa, representando intermediários na evolução da diapausa; e (4) espécies com diapausa embrionária típica de um ciclo de vida anual, que exibem a fase de células dispersas (diapausa I), diapausa II e eclosão retardada/diapausa III. Nosso estudo focou exclusivamente em táxons que se enquadram no quarto (4) padrão descrito acima (ver Apêndice S1).

Adicionalmente, peixes-anuais que completam duas ou mais gerações em 1 ano também são referidos como “sazonais” ou “multivoltinos” (Žák et al. 2021). Classificar uma espécie de rivulídeo como anual, sazonal ou multivoltina não parece ser um tópico pertinente para nossos objetivos porque: (1) a mesma espécie/população pode apresentar um ciclo anual em um ano e um ciclo sazonal/multivoltino em outro, dependendo das condições hidroclimáticas (García et al. 2019); (2) espécies com populações fragmentadas ao longo de ampla distribuição geográfica (por exemplo, *Pterolebias longipinnis* e *Neofundulus paraguayensis*) podem potencialmente exibir um ciclo de vida anual em uma área e um ciclo sazonal em outra, devido a variações na duração e nos pulsos da estação chuvosa. Portanto, nossos dados incluem todas as espécies designadas em outras fontes como anuais, sazonais e multivoltinas.

### 2.2 | Dados de ocorrência

Registros de ocorrência de peixes-anuais foram compilados de forma exaustiva entre janeiro de 2021 e setembro de 2023 a partir de diversas fontes, incluindo artigos, livros e repositórios digitais públicos que agregam informações de coleções/museus, como o *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF, [gbif.org](http://gbif.org)), o *Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira* (SIBBR, [sibbr.gov.br](http://sibbr.gov.br)), o *SpeciesLink* ([splink.org.br](http://splink.org.br)) e o *Sistema de*

*Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade* (SALVE, [salve.icmbio.gov.br](http://salve.icmbio.gov.br)). Para incluir ocorrências em nosso banco de dados, aplicamos os seguintes filtros: (i) apenas registros identificados em nível de espécie (excluídos sp., cf. ou aff.) e (ii) coordenadas geográficas consistentes com as informações de distribuição disponíveis na literatura.

As distribuições das espécies foram validadas por meio da plotagem de mapas individuais por espécie e comparação com aqueles publicados na literatura taxonômica primária. Para espécies com coordenadas geográficas indisponíveis/desconhecidas, estimamos localizações aproximadas com base em mapas georreferenciados ou descrições das localidades-tipo. Todas as ocorrências utilizadas neste estudo foram compiladas durante as respectivas estações chuvosas nas áreas onde as espécies ocorrem. Nosso banco de dados final inclui 1.635 registros de ocorrência, abrangendo todas as 261 espécies anuais (41 gêneros) atualmente reconhecidas na região Neotropical (Tabelas S1.1 e S1.2 no Apêndice S1).

### **2.3 | Estruturas de biorregionalização**

Os dados de ocorrência das espécies foram sobrepostos a 14 diferentes estruturas de biorregionalização: ecorregiões terrestres (TEOW; Olson et al. 2001), ecorregiões de água doce (FEOW; Abell et al. 2008), províncias neotropicais (Morrone et al. 2022) e 11 diferentes níveis de sub-bacias hierarquicamente aninhadas (HydroBasins; Lehner e Grill 2013). Isso resultou em matrizes de presença ou ausência de espécies para as 14 diferentes biorregionalizações (Figura 1), com área média e número de grãos/níveis variando de 3.251.927 a 146 km<sup>2</sup>, e de 6 a 767 níveis, respectivamente (Tabela 1).

Essas biorregionalizações foram escolhidas por diferentes razões. Bacias hidrográficas representam limites naturais que podem afetar significativamente a distribuição e o endemismo de peixes. As ecorregiões de água doce foram delineadas especificamente com base na distribuição de peixes e outros organismos aquáticos (Abell et al. 2008). As ecorregiões terrestres fornecem um contexto complementar para compreender a interação entre habitats terrestres e aquáticos, uma vez que os peixes-anuais ocupam áreas úmidas temporárias, que são essencialmente ambientes terrestres durante o período seco. Por fim, as províncias neotropicais oferecem uma escala ampla e integrativa que abrange grandes províncias ecológicas com características climáticas e biogeográficas distintas (Morrone et al. 2022). A sobreposição dos dados de ocorrência e das camadas vetoriais com os limites das regionalizações foi realizada no software QGIS versão 3.32.3 Lima (QGIS Development Team 2024).



entre área e diversidade beta pode ser melhor explicada por modelos de potência (Antão et al. 2019) ou quadráticos (Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins 2024). A área (em km<sup>2</sup>) foi normalizada dividindo-se cada valor pela área máxima, a fim de padronizar comparações. A seleção do melhor modelo foi baseada no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), que mede a proporção da variância em  $\beta_{sim}$  explicada por cada modelo, permitindo identificar a relação que melhor descreve os dados.

Para verificar a existência de um limiar além do qual reduções adicionais na área de biorregionalização não impactam significativamente a  $\beta$ -diversidade (O2), valores de distância pareada de  $\beta_{sim}$  (1,35 milhão de valores pareados) foram comparados entre as biorregionalizações usando o teste F de Welch e as comparações múltiplas de Games–Howell ( $p < 0,05$ ). Esses testes foram escolhidos por serem robustos à heteroscedasticidade e não exigirem tamanhos de grupos iguais (Games e Howell 1976), como é o caso neste estudo. Duas regionalizações com poucos níveis (BL2 = 6; BL3 = 17) foram excluídas desta análise para garantir a robustez dos resultados e evitar vieses relacionados à  $\beta$ -diversidade quando os tamanhos amostrais são muito pequenos (Bennett e Gilbert 2016). Essa análise foi conduzida usando a função `games_howell_test` do pacote `rstatix` (Kassambara 2023).

Para determinar o número efetivo de áreas composicionalmente distintas, foi empregada uma abordagem de agrupamento hierárquico (O3). Dada a ausência de justificativa *a priori* para selecionar um método específico para cada uma das 14 matrizes de  $\beta_{sim}$ , oito algoritmos de agrupamento hierárquico amplamente utilizados (por exemplo, UPGMA, Ward e UPGMC) foram comparados com base no grau de distorção dos dados, usando o coeficiente de correlação cofenética de Sokal e Rohlf (1962) (função `select_linkage`). O UPGMA exibiu os maiores valores de correlação em todas as regionalizações, resultando em regiões com máxima similaridade interna e máxima diferenciação em relação a outras áreas (Tabelas S1.3 no Apêndice S1). Portanto, o UPGMA foi utilizado para determinar o número ótimo de agrupamentos que melhor descreve cada matriz observada de  $\beta_{sim}$ , usando o método do “cotovelo” (ou “joelho”), correspondente ao ponto de máxima curvatura (Salvador e Chan 2004; função `optimal_phyloregion`, argumento `k` = número total de níveis em cada biorregionalização ou limite do algoritmo: 514). Todas as análises descritas neste parágrafo foram realizadas usando o pacote `Phyloregion` (Daru, Karunarathne e Schliep 2020), seguindo o arcabouço proposto por Kreft e Jetz (2010). Todas as análises descritas neste artigo foram conduzidas no ambiente R (R Core Team 2024), e os dados e scripts utilizados nas análises estão disponíveis no Apêndice S2.

### 3 | Resultados

A  $\beta$ -diversidade ( $\beta_{sor}$ ) dos peixes anuais foi alta em todas as regionalizações, com média geral  $> 0,96$  (Tabela 1). H1: O particionamento revelou a substituição (turnover) como o componente dominante (média geral  $\beta_{sim} = 0,92$ ), superando o aninhamento (contribuições desprezíveis,  $\beta_{sne} = 0,01$ ) em todas as 14 biorregionalizações (Tabela 1). Substituição e aninhamento apresentaram tendências opostas; à medida que a área da biorregionalização diminuiu, a substituição apresentou um leve aumento, enquanto o aninhamento declinou (Tabela 1).

**TABELA 1** | Síntese das características das 14 regionalizações analisadas: área média (km<sup>2</sup>) e número de grãos/níveis (subdivisões); média  $\pm$  desvio-padrão da  $\beta$ -diversidade ( $\beta_{sor}$ ) e dos componentes de substituição ( $\beta_{sim}$ ) e aninhamento ( $\beta_{sne}$ ). *Clusters* — número ótimo de *clusters* de acordo com o algoritmo de agrupamento hierárquico UPGMA. As regionalizações estão listadas em ordem decrescente com base na área média (km<sup>2</sup>) dos polígonos (níveis) com ocorrências de espécies (ver Figura 1). Abreviações: BL, HydroBasins 2–12; FEOW, ecorregiões de água doce; PRO, províncias neotropicais; TEOW, ecorregiões terrestres.

| Regionalização | Área (km <sup>2</sup> ) | Níveis | Clusters | $\beta_{sor}$    | $\beta_{sim}$    | $\beta_{sne}$    |
|----------------|-------------------------|--------|----------|------------------|------------------|------------------|
| BL2            | 3,251,927               | 6      | 5        | 0.991 $\pm$ 0.03 | 0.948 $\pm$ 0.17 | 0.042 $\pm$ 0.16 |
| BL3            | 885,202                 | 17     | 13       | 0.98 $\pm$ 0.09  | 0.945 $\pm$ 0.19 | 0.035 $\pm$ 0.16 |
| PRO            | 621,064                 | 25     | 20       | 0.973 $\pm$ 0.09 | 0.944 $\pm$ 0.14 | 0.028 $\pm$ 0.08 |
| TEOW           | 369,159                 | 52     | 31       | 0.961 $\pm$ 0.13 | 0.920 $\pm$ 0.23 | 0.04 $\pm$ 0.15  |
| FEOW           | 240,433                 | 33     | 24       | 0.979 $\pm$ 0.08 | 0.962 $\pm$ 0.13 | 0.016 $\pm$ 0.07 |
| BL4            | 210,486                 | 56     | 34       | 0.977 $\pm$ 0.1  | 0.957 $\pm$ 0.17 | 0.02 $\pm$ 0.11  |
| BL5            | 64,979                  | 114    | 55       | 0.973 $\pm$ 0.13 | 0.953 $\pm$ 0.20 | 0.02 $\pm$ 0.11  |
| BL6            | 14,740                  | 263    | 114      | 0.983 $\pm$ 0.11 | 0.975 $\pm$ 0.14 | 0.007 $\pm$ 0.06 |
| BL7            | 4165                    | 394    | 146      | 0.985 $\pm$ 0.11 | 0.979 $\pm$ 0.13 | 0.005 $\pm$ 0.05 |
| BL8            | 1207                    | 516    | 163      | 0.986 $\pm$ 0.1  | 0.982 $\pm$ 0.12 | 0.004 $\pm$ 0.04 |
| BL9            | 414                     | 678    | 181      | 0.987 $\pm$ 0.1  | 0.983 $\pm$ 0.12 | 0.004 $\pm$ 0.04 |
| BL10           | 179                     | 754    | 188      | 0.987 $\pm$ 0.1  | 0.983 $\pm$ 0.12 | 0.003 $\pm$ 0.04 |
| BL11           | 148                     | 766    | 188      | 0.987 $\pm$ 0.1  | 0.983 $\pm$ 0.12 | 0.003 $\pm$ 0.04 |
| BL12           | 146                     | 767    | 188      | 0.987 $\pm$ 0.1  | 0.983 $\pm$ 0.12 | 0.003 $\pm$ 0.04 |

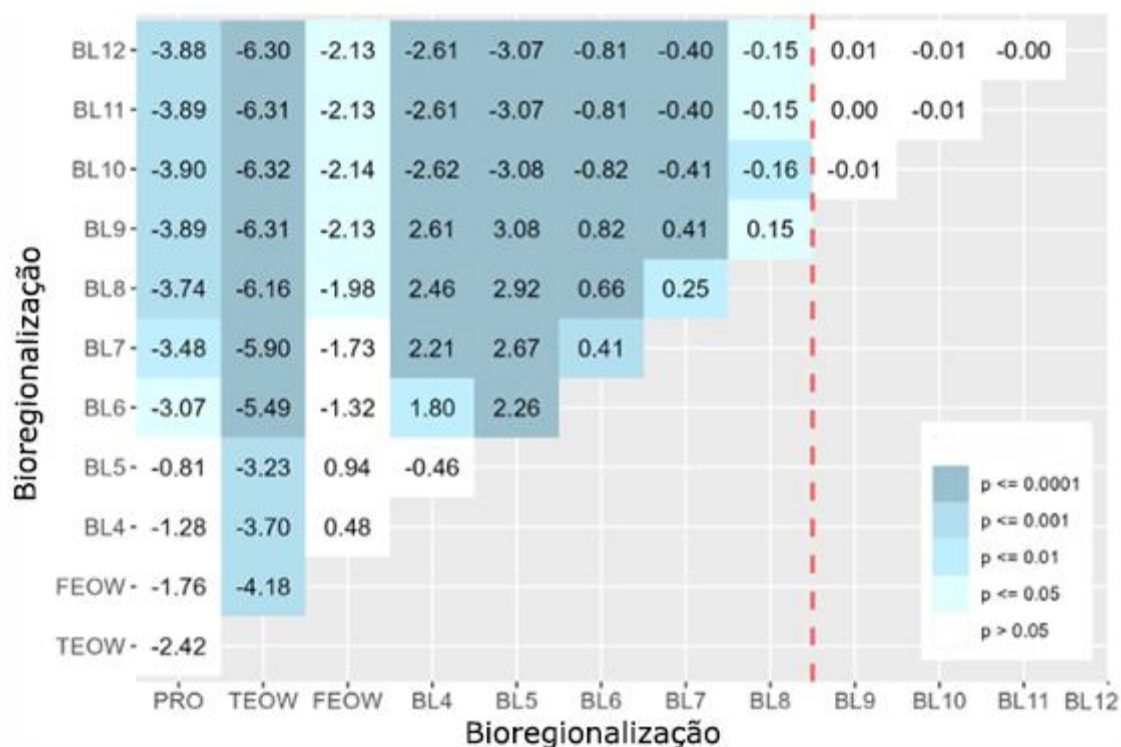
A substituição ( $\beta_{sim}$ ) foi excepcionalmente alta em todas as biorregionalizações (Tabela 1). Apesar de a média de  $\beta_{sim}$  variar pouco entre as diferentes biorregionalizações, as análises estatísticas mostraram diferenças altamente significativas (Fwelch = 43,39;  $p < 0,0001$ ). As comparações múltiplas de Games–Howell indicaram diferenças significativas em  $\beta_{sim}$  entre a maioria das regionalizações ( $p < 0,05$ ; Figura 2). As ecorregiões de água doce (FEOW), com área média de 240.433 km<sup>2</sup>, capturaram uma substituição de espécies semelhante ( $p > 0,05$ ; Figura 2) à de regionalizações com áreas substancialmente menores (por exemplo, HydroBasins; BL7 – 4165 km<sup>2</sup>). A partir do nível 9 de sub-bacias da biorregionalização (HydroBasins; BL9; 414 km<sup>2</sup>), a redução da área de regionalização

para níveis inferiores (BL10–12; limite inferior 146 km<sup>2</sup>) não resultou em ganhos significativos em  $\beta_{sim}$  ( $p > 0,05$ ; Figura 2). O modelo de potência, com valor de  $R^2$  de 0,74, forneceu o melhor ajuste (H2), seguido do modelo quadrático ( $R^2 = 0,62$ ; Tabela 2). Os modelos linear e exponencial apresentaram menor poder explicativo ( $R^2 = 0,19$ ; Tabela 2). Um parâmetro  $b$  levemente negativo no modelo de potência ( $-0,005$ ) indicou que a relação entre área e substituição ( $\beta_{sim}$ ) diminuiu ligeiramente à medida que a área aumentou (Tabela 2).

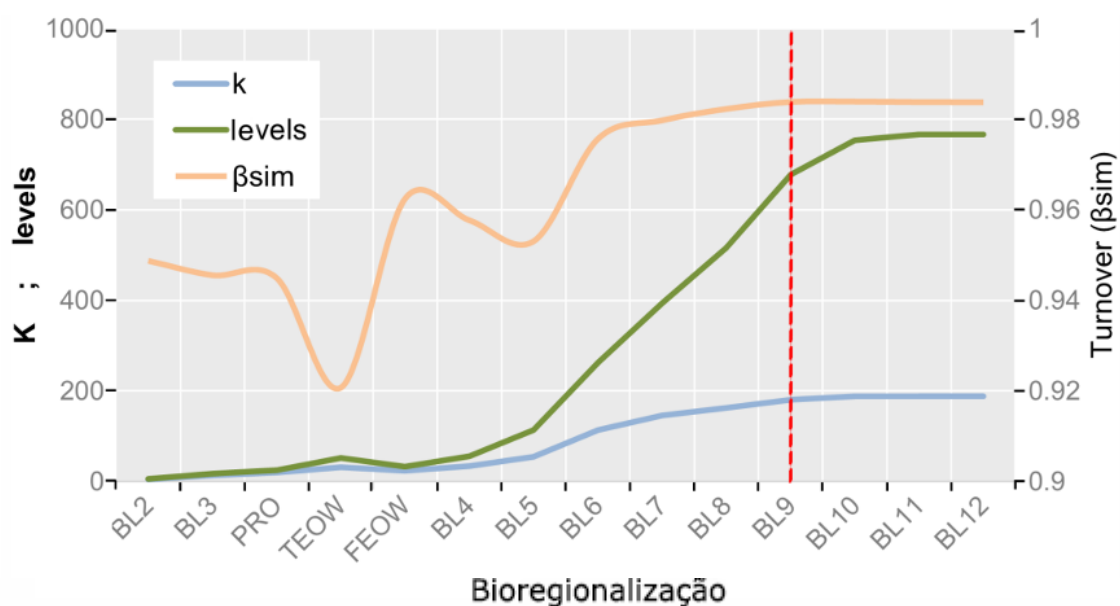
**TABELA 2** | Resultados de quatro modelos distintos (linear, quadrático, potência e exponencial) ajustados para investigar a relação entre a substituição ( $\beta_{sim}$ ) e a área média (normalizada) das biorregionalizações.  $R^2$  — coeficiente de determinação; os parâmetros (a, b e c) representam os coeficientes de cada equação de modelo.

| Modelo      | Equação                                                                       | $R^2$ | a      | b      | c     |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------|--------|--------|-------|
| Linear      | $\beta_{sim} = a \times \text{area\_norm} + b$                                | 0,196 | -0,034 | 0,969  |       |
| Quadrático  | $\beta_{sim} = a \times \text{area\_norm}^2 + b \times \text{area\_norm} + c$ | 0,622 | 0,202  | -0,229 | 0,977 |
| Potência    | $\beta_{sim} = a \times \text{area\_norm}^b$                                  | 0,744 | 0,940  | -0,005 |       |
| Exponencial | $\beta_{sim} = a \times \exp(b \times \text{area\_norm})$                     | 0,199 | 0,969  | -0,036 |       |

O número de *clusters* ótimos (método do cotovelo; algoritmo de agrupamento UPGMA) variou de 5 a 188 (Tabela 1), mostrando um padrão de acoplamento com o número de níveis das biorregionalizações entre BL2 e BL4 (HydroBasins), e desacoplamento a partir de BL5 (Figura 3). À medida que o número de níveis na regionalização aumenta, o número inicial de *clusters* ótimos cresce rapidamente, mas a taxa de crescimento diminui e, eventualmente, estabiliza conforme mais níveis com áreas menores são adicionados às biorregionalizações (Figura 3). Para a bacia hidrográfica no nível 9 (BL9), foram identificadas 181 áreas composicionalmente distintas (biorregiões) (variância explicada máxima de 0,95) para peixes-anuais neotropicais (Figura S3.1 no Apêndice S3). Cada biorregião compreende entre 1 e 10 espécies (Tabela S3.1 no Apêndice S3), com aproximadamente 72% (187 espécies) sendo endêmicas de uma única biorregião.



**FIGURA 2** | Resultados do teste de Comparações Múltiplas de Games–Howell, comparando a substituição ( $\beta_{sim}$ ) entre diferentes biorregionalizações. Os valores no gráfico indicam a diferença média estimada entre os grupos comparados (Estimate = [Média do Grupo 1 – Média do Grupo 2]  $\times 10^2$ ). Valores positivos e negativos indicam a direção da diferença entre as médias dos grupos, com o Grupo 1 no eixo x e o Grupo 2 no eixo y. O gradiente de cores reflete a significância estatística das comparações pareadas. A linha tracejada vermelha à direita marca o limiar em que  $\beta_{sim}$  não apresenta diferenças significativas entre biorregionalizações com diferentes áreas médias (identificado pelo teste de Comparações Múltiplas de Games–Howell). O eixo x do gráfico está organizado em ordem decrescente da área média das biorregionalizações.



**FIGURA 3** | Gráfico mostrando a relação entre o número ótimo de agrupamentos (*clusters*) (*k*; linha azul; eixo y primário), o número de níveis (linha verde; eixo y primário) e o componente de substituição (*turnover*) da diversidade beta ( $\beta_{sim}$ ; linha laranja; eixo y secundário) para as 14 diferentes biorregionalizações (eixo x). O eixo x está organizado em ordem decrescente da área média das biorregionalizações. A linha tracejada vermelha indica o limiar à direita, em que  $\beta_{sim}$  não apresenta diferenças significativas entre biorregionalizações com diferentes áreas médias.

## 4 | Discussão

### 4.1 | A substituição foi o componente dominante da $\beta$ -diversidade

Um padrão claro observado neste estudo é que os peixes-anuais da família Rivulidae exibem um padrão predominante de substituição de espécies, superando o aninhamento independentemente da escala de biorregionalização, apoiando assim H1. O predomínio da substituição sugere que cada biorregionalização representa uma assembleia única de espécies de peixes-anuais devido ao isolamento geográfico e à heterogeneidade ambiental, em vez de seguir um padrão aninhado no qual comunidades menos diversas são subconjuntos de comunidades mais diversas. Embora a predominância da substituição em Rivulidae fosse amplamente esperada, ela nunca havia sido testada anteriormente. Este estudo, pela primeira vez, confirma essa suposição ao compilar dados de distribuição de espécies em toda a região Neotropical usando uma abordagem multiescala.

O padrão de alta substituição observado para peixes-anuais pode estar associado a múltiplos fatores interativos, como alto endemismo, baixa capacidade de dispersão e o

isolamento significativo das áreas úmidas temporárias que essas espécies ocupam (Costa 2010; Loureiro et al. 2018, 2024; Guedes et al. 2020; Alonso et al. 2023). Em geral, os componentes da  $\beta$ -diversidade refletem em grande medida as diferentes capacidades de dispersão e o endemismo entre táxons (Laffan and Crisp 2003; Barton et al. 2013; Qian 2009; Soininen, Heino, and Wang 2018; Antão et al. 2019; Cortés-Guzmán et al. 2024). Por exemplo, aves exibem maior dispersão e menor substituição do que mamíferos, que, por sua vez, apresentam maior dispersão e menor substituição do que répteis e anfíbios (Qian 2009). No caso de vertebrados aquáticos, como peixes, a substituição aumenta com o declínio da conectividade do habitat e em espécies não migratórias (Griffiths 2017).

Especificamente para peixes-anuais, a dispersão entre áreas úmidas temporárias é limitada devido à fragmentação natural desses ecossistemas, ocorrendo tanto espacialmente, com pequenas áreas úmidas isoladas dentro de uma biorregionalização específica, quanto temporalmente, com ciclos hidrológicos de inundação e seca variando ao longo do tempo em diferentes biorregionalizações. A dispersão pode ocorrer por mecanismos passivos raros e complexos, como endozoocoria e grandes cheias (Incagnone et al. 2015; Silva et al. 2019). Como resultado, táxons com maior endemismo e menor capacidade de dispersão que ocupam ambientes fragmentados tendem a apresentar maior substituição do que grupos com menor endemismo e melhor capacidade de dispersão (Barton et al. 2013; Qian 2009; Antão et al. 2019), o que pode ter promovido a conspícua substituição de espécies observada entre as diferentes unidades biogeográficas neste estudo.

#### **4.2 | Padrões de escalonamento da $\beta$ -diversidade entre diferentes propostas de biorregionalização**

Os resultados indicam um aumento na substituição ( $\beta_{sim}$ ) à medida que a área de regionalização diminui, apoiando H2. Esse padrão observado em espécies neotropicais de peixes-anuais é consistente com achados relatados para diversos grupos taxonômicos, incluindo vertebrados, invertebrados e plantas (Calderón-Patrón et al. 2013; Antão et al. 2019). Em geral, o aumento da substituição à medida que o tamanho da área diminui é uma propriedade consistente da  $\beta$ -diversidade, especialmente quando se emprega uma abordagem de "grão variável, extensão fixa" usando métricas clássicas de  $\beta$ -diversidade (por exemplo, pareada e multi-beta) (Barton et al. 2013; Antão et al. 2019). O efeito da área sobre a  $\beta$ -diversidade pode estar associado a vários fatores. Primeiro, à medida que o tamanho da área diminui, menos espécies são compartilhadas e as diferenças ambientais tornam-se mais pronunciadas (Antão et al. 2019). Segundo, peixes-anuais exibem baixa capacidade de dispersão e são predominantemente endêmicos de unidades biogeográficas pequenas e específicas. Esse alto padrão de endemismo em habitats pequenos e isolados dilui os efeitos de espécies com amplitudes de distribuição mais amplas (por exemplo, *Pterolebias longipinnis* e *Neofundulus*

*paraguayensis*), que tipicamente têm menor impacto na dissimilaridade beta devido à sua capacidade de colonizar múltiplas áreas. Consequentemente, a baixa dispersão e o alto grau de endemismo exacerbam a variação na composição de espécies entre áreas pequenas, aumentando a substituição.

A observação de que o escalonamento da substituição com a área da biorregionalização não segue um padrão linear, mas é melhor descrito por uma função de lei de potência, está alinhada a outros achados em estudos sobre escalonamento da  $\beta$ -diversidade (Zhang et al. 2015; Antão et al. 2019; Xing and He 2021). Outro aspecto significativo identificado neste estudo é a existência de um limiar em que reduções adicionais na área de biorregionalização não resultaram em aumentos significativos na substituição de espécies. Esse padrão pode estar associado à lei de potência na  $\beta$ -diversidade (Antão et al. 2019), que sugere que a relação entre área e  $\beta$ -diversidade segue um padrão não linear, no qual a substituição de espécies aumenta de forma previsível à medida que a área diminui, mas não indefinidamente. Neste caso específico, o limiar BL9 aparentemente representa um ponto em que a função de lei de potência atinge uma forma de saturação ou estabilização da curva. No contexto deste estudo, os padrões de escalonamento observados não devem ser atribuídos apenas à área das biorregionalizações, mas também às diferenças de como essas biorregionalizações são desenhadas. Regionalizações baseadas em características hidrogeomorfológicas (por exemplo, HydroBasins; Lehner and Grill 2013) ou nos padrões de distribuição de diferentes táxons (por exemplo, TEOW—Olson et al. 2001, FEOW—Abell et al. 2008, Províncias—Morrone et al. 2022) provavelmente tiveram um impacto significativo no escalonamento da  $\beta$ -diversidade. Esse efeito é particularmente evidente nas ecorregiões de água doce (FEOW), que são desenhadas com base em uma variedade de organismos aquáticos (incluindo peixes) e capturaram substituição de espécies semelhante à de regionalizações baseadas em bacias hidrográficas com uma área 57,7 vezes menor (FEOW—240.433 km<sup>2</sup> vs. BL7—4165 km<sup>2</sup>). Essas variações nos princípios e no desenho das biorregionalizações podem, portanto, produzir padrões complexos e não lineares de escalonamento da  $\beta$ -diversidade, refletindo a interação entre fatores ambientais e biológicos operando em diferentes escalas espaciais. Esses achados enfatizam a importância de considerar não apenas a área, mas também os fatores de desenho subjacentes das biorregionalizações, que têm impacto crucial sobre como a  $\beta$ -diversidade escala.

### 4.3 | Qual é a escala espacial ótima?

Ohyama, Bogota-Gregory e Jenkins (2024) argumentam que picos de  $\beta$ -diversidade indicam a granularidade espacial ideal, na qual a separação entre comunidades ecológicas é mais pronunciada. Para fins de biorregionalização, essa granularidade espacial serve como uma base essencial para determinar o número ótimo de biorregiões, que são definidas pelo agrupamento de assembleias de grãos (no caso de grades) ou níveis (para biorregionalizações) com táxons semelhantes (Kreft and Jetz 2010). Nesse contexto, regionalizações baseadas em áreas menores de bacias hidrográficas (de BL9 a

BL12) mostraram-se mais adequadas em termos de granularidade espacial, pois maximizam a substituição ( $\sim 0,983$ ) e resultam em um número ótimo semelhante de biorregiões ( $k = 181\text{--}188$ ). Vale notar que, embora o número de biorregiões seja comparável, as áreas médias dos níveis dentro dessas biorregionalizações variam significativamente, de 146 a 414 km<sup>2</sup>. Como resultado, o agrupamento de bacias hidrográficas com comunidades ecológicas semelhantes produziu biorregiões com áreas médias variando de 598 km<sup>2</sup> (BL9) a 1551 km<sup>2</sup> (BL12). No entanto, essas áreas não devem ser confundidas com a distribuição real das comunidades. Por exemplo, espécies de peixes-anaís não ocorrem de forma ampla e difusa dentro dessas bacias, mas sim em pequenas áreas úmidas temporárias fragmentadas (Guedes, Luz, et al. 2023; Alonso et al. 2023; Loureiro et al. 2024). Os padrões de distribuição de espécies anuais refletem diferentes eventos paleogeográficos que alteraram as barreiras e a conectividade dos sistemas de drenagem na região Neotropical, como fragmentação alopátrica pretérita causada por diversos eventos de vicariância, formação de bacias tectogênicas, capturas e rearranjos fluviais, transgressões e regressões marinhas, deriva continental e mudanças climáticas pretéritas (García et al. 2012; Costa 2013; Costa, Amorim, and Mattos 2017, 2018; Loureiro et al. 2024). Portanto, nossos achados reforçam que a  $\beta$ -diversidade é dependente de escala e que escalas espaciais mais finas são mais eficazes para avaliar padrões de biodiversidade de táxons endêmicos e em habitats com baixa conectividade.

#### 4.4 | Implicações e limitações

O predomínio da substituição de espécies na  $\beta$ -diversidade entre peixes-anaís da família Rivulidae ressalta a importância de considerar a heterogeneidade espacial e o isolamento geográfico nas estratégias de conservação. Este estudo revela um alto número de biorregiões ( $> 180$ ), cada uma representando uma assembleia única de espécies de peixes-anaís, enfatizando a necessidade de esforços de conservação descentralizados que levem em conta as comunidades ecológicas distintas presentes em diferentes bacias hidrográficas. Esses esforços de conservação são particularmente urgentes, dado que, das 261 espécies analisadas neste estudo, 159 ( $\sim 61\%$ ) estão ameaçadas de extinção em países como Brasil (ICMBio—Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade 2022), Bolívia (MMAyA—Ministerio de Medio Ambiente y Agua 2009), Venezuela (Rodríguez, García-Rawlins, and Rojas-Suárez 2015), Colômbia (Mojica et al. 2012), Uruguai (Soutullo, Clavijo, and Martínez-Lanfranco 2013) e México (Lyons 2019). A principal ameaça enfrentada por peixes-anaís é a perda de habitat, com áreas úmidas temporárias sendo destruídas devido à expansão urbana, agrícola e industrial descontrolada (Volcan and Lanés 2018). Além disso, pequenos corpos d'água são comumente sub-representados em políticas de conservação (Hill et al. 2018, 2021). Proteger esses habitats fragmentados e isolados é, portanto, crucial, particularmente para espécies com alto endemismo e baixa capacidade de dispersão, uma vez que sua sobrevivência depende fortemente da conservação de condições ambientais específicas dentro de sua área de distribuição limitada. Guedes, Luz, et al. (2023) indicam que o estabelecimento de áreas protegidas (APs), mesmo quando pequenas em tamanho, tem

sido benéfico para a preservação de áreas úmidas temporárias onde ocorrem espécies anuais. De acordo com seus achados, APs tendem a apresentar maior cobertura de paisagens naturais e mostram uma tendência à restauração ecológica. Em contraste, áreas sem políticas de conservação têm enfrentado taxas mais altas de desmatamento e conversão em paisagens antrópicas. O alto padrão de substituição na  $\beta$ -diversidade e a tendência de restauração ambiental em pequenas áreas protegidas sustentam a ideia de que várias pequenas áreas protegidas podem ser mais eficazes para a conservação de peixes-anuais do que uma única grande reserva (debate SLOSS—*Single Large or Several Small*; Socolar et al. 2016, Fahrig et al. 2022). Além disso, a identificação de limiares de  $\beta$ -diversidade pode ter implicações diretas para o planejamento de unidades de conservação, pois tais pontos críticos podem indicar a área mínima necessária para manter a substituição de espécies em níveis biologicamente relevantes. Assim, ao detectar quando a redução de área atinge um estágio de saturação do turnover, torna-se possível otimizar o desenho de áreas protegidas para preservar de forma efetiva a  $\beta$ -diversidade regional.

A falta de informações detalhadas sobre a distribuição e os habitats de peixes-anuais continua sendo um obstáculo significativo para a avaliação de ameaças e a formulação de estratégias de conservação eficazes. O Brasil, por exemplo, utiliza as Categorias e Critérios da Lista Vermelha da IUCN (International Union for Conservation of Nature; [www.iucnredlist.org/](http://www.iucnredlist.org/)) para desenvolver e atualizar o Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (ICMBio—Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade 2022). Em alguns casos, particularmente para espécies aquáticas, HydroBasins é utilizado para calcular a Extensão de Ocorrência (EOO) e aplicar o critério “B” (isto é, distribuição geográfica restrita com fragmentação, declínio ou flutuação). Os resultados apresentados neste estudo podem contribuir para uma aplicação mais acurada dessas categorias e critérios ao demonstrar que escalas espaciais mais finas (HydroBasins: BL9–BL12) podem ser mais eficazes para avaliar padrões de biodiversidade. Além disso, os metadados fornecidos neste estudo podem ajudar a preencher lacunas de conhecimento existentes e servir como base para futuros estudos ecológicos, históricos e de conservação.

Embora este estudo forneça insights valiosos, há limitações inerentes que devem ser reconhecidas. Primeiro, a dependência de dados de distribuição de espécies, que inevitavelmente depende de um esforço amostral incompleto para a região Neotropical, é uma limitação significativa, uma vez que novas espécies continuam sendo descritas regularmente (Ramos et al. 2023; Alonso et al. 2024) e as áreas de distribuição reais podem mudar à medida que novas ocorrências são reportadas (Costa et al. 2024). Segundo, este estudo foi baseado em classificação taxonômica tradicional, e não em classificação baseada em filogenia. Incorporar informação filogenética na mensuração de  $\beta$ -diversidade tem potencial para oferecer novos insights sobre esquemas de biorregionalização (Azevedo et al. 2021). Terceiro, embora este estudo avalie uma ampla faixa de tamanhos de área (de 3.251.927 a 146 km<sup>2</sup>), ele se concentra primariamente em escalas regionais. A inclusão de biorregionalizações em escalas locais, atualmente indisponíveis, seria importante para determinar se o limiar de  $\beta$ -diversidade se mantém

em escalas espaciais ainda menores. Uma abordagem complementar poderia envolver a aplicação de grãos (células de grade) de diferentes tamanhos (Calderón-Patrón et al. 2013), comparando os resultados com as biorregionalizações apresentadas aqui. Quarto, apesar da baixa variabilidade numérica do turnover entre diferentes biorregionalizações, as análises estatísticas revelaram diferenças altamente significativas. Estatisticamente, essas diferenças significativas, apesar de pequenas variações, estão relacionadas ao grande tamanho amostral (envolvendo 1,35 milhão de valores pareados de  $\beta$ sim). Com um conjunto de dados tão grande, o erro padrão diminui à medida que o tamanho amostral aumenta, e testes estatísticos ganham poder substancial para detectar até mesmo pequenas diferenças entre médias de grupos (Jan and Shieh 2013). Quinto, outras características das biorregionalizações (como perímetro, desenho e conectividade) também afetam os resultados de  $\beta$ -diversidade (Zhang et al. 2015). Portanto, novos estudos que decomponham o efeito de cada característica no escalonamento da  $\beta$ -diversidade são necessários. Sexto,  $\beta$ -diversidade é um campo dinâmico, com achados e debates em andamento. O escalonamento e os padrões de  $\beta$ -diversidade observados neste ou em qualquer outro estudo são invariavelmente afetados pela métrica utilizada (por exemplo, pareada, multi e modelos nulos), pela abordagem (variação em grão e/ou extensão), pela estrutura hierárquica ou não hierárquica e pelo tipo de dado—abundância ou presença/ausência (Barton et al. 2013; Bennett and Gilbert 2016; Antão et al. 2019; Xing and He 2021; Ohyama, Bogota-Gregory, and Jenkins 2024). Por fim, este estudo não foi desenhado para esgotar todas as possibilidades relacionadas ao escalonamento da  $\beta$ -diversidade entre diferentes propostas de biorregionalização e, portanto, estudos futuros podem elucidar ainda mais os padrões aqui descritos.

## Referências

- Abell, R., M. L. Thieme, C. Revenga, et al. 2008. "Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for Freshwater Biodiversity Conservation." *Bioscience* 58, no. 5: 403–414. <https://doi.org/10.1641/B580507>.
- Alonso, F., G. E. Terán, P. Calviño, et al. 2024. "Expect the Unexpected: A New Species of Killifish From a Highly Stochastic Temporary Wetland Near Iguazú Falls (Cyprinodontiformes: Rivulidae)." *Canadian Journal of Zoology* 102, no. 3: 298–314. <https://doi.org/10.1139/cjz-2023-0132>.
- Alonso, F., G. E. Terán, W. S. Serra Alanís, et al. 2023. "From the Mud to the Tree: Phylogeny of *Austrolebias* Killifishes, New Generic Structure, and Description of a New Species (Cyprinodontiformes: Rivulidae)." *Zoological Journal of the Linnean Society* 199, no. 1: 280–309. <https://doi.org/10.1093/zoolinlean/zlad032>.
- Anderson, M. J., T. O. Crist, J. M. Chase, et al. 2011. "Navigating the Multiple Meanings of Beta Diversity: A Roadmap for the Practicing Ecologist." *Ecology Letters* 14, no. 1: 19–28. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01552.x>.

- Antão, L. H., B. McGill, A. E. Magurran, A. M. V. M. Soares, and M. Dornelas. 2019. "Beta Diversity Scaling Patterns Are Consistent Across Metrics and Taxa." *Ecography* 42, no. 7: 1012–1023. <https://doi.org/10.1111/ecog.04117>.
- Azevedo, J. A. R., C. Nogueira, A. Antonelli, and S. Faurby. 2021. "Contrasting Patterns of Phylogenetic Turnover in Amphibians and Reptiles Are Driven by Environment and Geography in Neotropical Savannas." *Journal of Biogeography* 48, no. 9: 2008–2021. <https://doi.org/10.1111/jbi.14131>.
- Barton, P. S., S. A. Cunningham, A. D. Manning, H. Gibb, D. B. Lindenmayer, and R. K. Didham. 2013. "Spatial Scaling of Beta Diversity." *Global Ecology and Biogeography* 22, no. 6: 639–647. <https://doi.org/10.1111/geb.12031>.
- Baselga, A. 2010. "Partitioning the Turnover and Nestedness Components of Beta Diversity." *Global Ecology and Biogeography* 19, no. 1: 134–143. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2009.00490.x>.
- Baselga, A., and C. D. L. Orme. 2012. "Betapart: An R Package for the Study of Beta Diversity." *Methods in Ecology and Evolution* 3, no. 5: 808–812. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00224.x>.
- Bennett, J. R., and B. Gilbert. 2016. "Comparing Regional Differences in Beta Diversity." *Global Ecology and Biogeography* 25, no. 4: 368–377. <https://doi.org/10.1111/geb.12413>.
- Birch, C., S. Oom, and J. Beecham. 2007. "Rectangular and Hexagonal Grids Used for Observation, Experiment and Simulation in Ecology." *Ecological Modelling* 206: 347–359. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.03.041>.
- Calderón-Patrón, J. M., C. E. Moreno, R. Pineda-López, G. Sánchez-Rojas, and I. Zuria. 2013. "Vertebrate Dissimilarity Due to Turnover and Richness Differences in a Highly Beta-Diverse Region: The Role of Spatial Grain Size, Dispersal Ability, and Distance." *PLoS One* 8, no. 12: e82905. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082905>.
- Chave, J. 2013. "The Problem of Pattern and Scale in Ecology: What Have We Learned in 20 Years?" *Ecology Letters* 16, no. 1: 4–16. <https://doi.org/10.1111/ele.12048>.
- Cortés-Guzmán, D., J. Sinclair, C. Hof, J. B. Kalusche, and P. Haase. 2024. "Dispersal, Glacial Refugia and Temperature Shape Biogeographical Patterns in European Freshwater Biodiversity." *Global Ecology and Biogeography* 33, no. 1: e13886. <https://doi.org/10.1111/geb.13886>.
- Costa, J. H. A., U. P. Souza, A. Selinger, T. A. Vidal, F. Langeani, and R. M. Duarte. 2024. "Rediscovery of the Critically Endangered Annual Killifish *Leptopanchax itanhaensis* (Costa, 2008) in a Temporary Pool and Roadside Ditch From the Atlantic Forest of Southeast Brazil." *Biota Neotropica* 24, no. 3: e20241637. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2024-1637>.
- Costa, W. J. E. M. 2010. "Historical Biogeography of Cynolebiasine Annual Killifishes Inferred From Dispersal–Vicariance Analysis." *Journal of Biogeography* 37, no. 10: 1995–2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02339.x>.

- Costa, W. J. E. M. 2013. "Historical Biogeography of Aplocheiloid Killifishes (Teleostei: Cyprinodontiformes)." *Vertebrate Zoology* 63, no. 2: 139–154. <https://doi.org/10.3897/vz.63.e31419>.
- Costa, W. J. E. M., P. F. Amorim, and J. L. O. Mattos. 2017. "Molecular Phylogeny and Timing of Diversification in South American Cynolebiini Seasonal Killifishes." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 116: 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.07.020>.
- Costa, W. J. E. M., P. F. Amorim, and J. L. O. Mattos. 2018. "Synchronic Historical Patterns of Species Diversification in Seasonal Aplocheiloid Killifishes of the Semi-Arid Brazilian Caatinga." *PLoS One* 13, no. 2: e0193021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193021>.
- Daru, B. H., P. Karunaratne, and K. Schliep. 2020. "Phyloregion: R Package for Biogeographic Regionalization and Macroecology." *Methods in Ecology and Evolution* 11, no. 12: 1483–1491. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13478>.
- Fahrig, L., J. I. Watling, C. A. Arnillas, et al. 2022. "Resolving the SLOSS Dilemma for Biodiversity Conservation: A Research Agenda." *Biological Reviews* 97, no. 1: 99–114. <https://doi.org/10.1111/brv.12792>.
- Fricke, R., W. N. Eschmeyer, and J. D. Fong. 2024. "Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera/Species by Family/Subfamily." California Academy of Sciences. Accessed 08 Jan 2024. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>.
- Furness, A. I. 2016. "The Evolution of an Annual Life Cycle in Killifish: Adaptation to Ephemeral Aquatic Environments Through Embryonic Diapause." *Biological Reviews* 91, no. 3: 796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>.
- Furness, A. I., D. N. Reznick, A. Tatarenkov, and J. C. Avise. 2018. "The Evolution of Diapause in Rivulus (Laimosemion)." *Zoological Journal of the Linnean Society* 184, no. 3: 773–790. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zly021>.
- Games, P. A., and J. F. Howell. 1976. "Pairwise Multiple Comparison Procedures With Unequal n's and/or Variances: A Monte Carlo Study." *Journal of Educational Statistics* 1, no. 2: 113–125. <https://doi.org/10.3102/10769986001002113>.
- García, D., C. Smith, E. Machín, M. Loureiro, and M. Reichard. 2019. "Changing Patterns of Growth in a Changing Planet: How a Shift in Phenology Affects Critical Life-History Traits in Annual Fishes." *Freshwater Biology* 64, no. 11: 1848–1858. <https://doi.org/10.1111/fwb.13376>.
- García, G., V. Gutiérrez, J. Vergara, P. Calviño, A. Duarte, and M. Loureiro. 2012. "Patterns of Population Differentiation in Annual Killifishes From the Paraná-Uruguay-La Plata Basin: The Role of Vicariance and Dispersal." *Journal of Biogeography* 39: 1707–1719. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2012.02722.x>.

- Griffiths, D. 2017. "Connectivity and Vagility Determine Beta Diversity and Nestedness in North American and European Freshwater Fish." *Journal of Biogeography* 44, no. 8: 1723–1733. <https://doi.org/10.1111/jbi.12964>.
- Guedes, G. H. S., F. L. K. Salgado, W. Uehara, D. L. P. Ferreira, and F. G. Araújo. 2020. "The Recapture of *Leptopanchax opalescens* (Aplocheiloidei: Rivulidae), a Critically Endangered Seasonal Killifish: Habitat and Aspects of Population Structure." *Zoologia* 37: e54982. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e54982>.
- Guedes, G. H. S., I. D. Gomes, A. A. do Nascimento, et al. 2023. "Reproductive Strategy of the Annual Fish *Leptopanchax opalescens* (Rivulidae) and Trade-Off Between Egg Size and Maximum Body Length in Temporary Wetlands." *Wetlands* 43, no. 1: 29. <https://doi.org/10.1007/s13157-023-01680-9>
- Guedes, G. H. S., C. H. P. Luz, R. Mazzoni, F. O. Lira, and F. G. Araújo. 2023. "New Occurrences of the Endangered *Notholebias minimus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Coastal Plains of the State of Rio de Janeiro, Brazil: Populations Features and Conservation." *Neotropical Ichthyology* 21, no. 3: e230013. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0013>.
- Heino, J., A. S. Melo, and L. M. Bini. 2015. "Reconceptualising the Beta Diversity–Environmental Heterogeneity Relationship in Running Water Systems." *Freshwater Biology* 60, no. 2: 223–235. <https://doi.org/10.1111/fwb.12502>.
- Hill, M. J., H. M. Greaves, C. D. Sayer, et al. 2021. "Pond Ecology and Conservation: Research Priorities and Knowledge Gaps." *Ecosphere* 12, no. 12: e03853. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3853>.
- Hill, M. J., C. Hassall, B. Oertli, et al. 2018. "New Policy Directions for Global Pond Conservation." *Conservation Letters* 11: e12447. <https://doi.org/10.1111/conl.12447>.
- ICMBio—Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2022. "Lista Oficial de Espécies da Fauna e Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção." Portaria MMA N° 148, June 7, 2022. Brasília. [https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P\\_mma\\_a\\_148\\_2022\\_altera\\_anexos\\_P\\_mma\\_443\\_444\\_445\\_2014\\_atualiza\\_especies\\_ameacad\\_as\\_extincao.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_a_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacad_as_extincao.pdf).
- Incagnone, G., F. Marrone, R. Barone, L. Robba, and L. Naselli-Flores. 2015. "How Do Freshwater Organisms Cross the "Dry Ocean"? A Review on Passive Dispersal and Colonization Processes With a Special Focus on Temporary Ponds." *Hydrobiologia* 750, no. 1: 103–123. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2110-3>.
- Jan, S. L., and G. Shieh. 2013. "Sample Size Determinations for Welch's Test in One-Way Heteroscedastic ANOVA." *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology* 67, no. 1: 72–93. <https://doi.org/10.1111/bmsp.12006>.
- Kassambara, A. 2023. "Rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests." R Package Version 0.7.2. <https://rpkgs.datanovia.com/rstatix/>.

- Kreft, H., and W. Jetz. 2010. "A Framework for Delineating Biogeographical Regions Based on Species Distributions." *Journal of Biogeography* 37, no. 11: 2029–2053. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02375.x>.
- Laffan, S. W., and M. D. Crisp. 2003. "Assessing Endemism at Multiple Spatial Scales, With an Example From the Australian Vascular Flora." *Journal of Biogeography* 30, no. 3: 511–520. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2003.00875.x>.
- Lehner, B., and G. Grill. 2013. "Global River Hydrography and Network Routing: Baseline Data and New Approaches to Study the World's Large River Systems." *Hydrological Processes* 27, no. 15: 2171–2186. <https://doi.org/10.1002/hyp.9740>.
- Levin, S. A. 1992. "The Problem of Pattern and Scale in Ecology." *Ecology* 73, no. 6: 1943–1967. <https://doi.org/10.2307/1941447>.
- Loureiro, M., R. de Sá, W. S. Serra, et al. 2018. "Review of the Family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a Molecular and Morphological Phylogeny of the Annual Fish Genus *Austrolebias* Costa 1998." *Neotropical Ichthyology* 16, no. 3: e180007. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>.
- Loureiro, M., S. Stareczek, A. D'anatro, A. W. Thompson, and G. Ortí. 2024. "River Drainage Rearrangements and the Phylogeographic Pattern of the Annual Fish *Austrolebias arachan* (Cyprinodontiformes, Rivulidae)." *Zoologica Scripta* 53, no. 1: 142–156. <https://doi.org/10.1111/zsc.12636>.
- Lyons, T. J. 2019. "*Millerichthys robustus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T19736A2482411." <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T19736A2482411.en>.
- Morrone, J. J., T. Escalante, G. Rodríguez-Tapia, A. Carmona, M. Arana, and J. D. Mercado-Gómez. 2022. "Biogeographic Regionalization of the Neotropical Region: New Map and Shapefile." *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 94, no. 1: e20211167. <https://doi.org/10.1590/0001-376520220211167>.
- Ohyama, L., J. D. Bogota-Gregory, and D. G. Jenkins. 2024. "Peak Beta Diversity Occurs at Regional Spatial Grains." *Frontiers of Biogeography* 17: e132675. <https://doi.org/10.21425/fob.17.132675>.
- Oliveira, U., F. Azevedo, A. Dias, et al. 2024. "Beta Diversity and Regionalization of the Western Atlantic Marine Biota." *Journal of Biogeography* 51, no. 7: 1469–1480. <https://doi.org/10.1111/jbi.14837>.
- Oliveira, U., A. D. Brescovit, and A. J. Santos. 2015. "Delimiting Areas of Endemism Through Kernel Interpolation." *PLoS One* 10, no. 1: e0116673. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116673>.
- Olson, D. M., E. Dinerstein, E. D. Wikramanayake, et al. 2001. "Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth." *Bioscience* 51, no. 11: 933–938. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051)
- Qian, H. 2009. "Global Comparisons of Beta Diversity Among Mammals, Birds, Reptiles, and Amphibians Across Spatial Scales and Taxonomic Ranks." *Journal of*

- Systematics and Evolution 47, no. 5: 509–514. <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2009.00043.x>.
- Ramos, T. P. A., D. T. B. Nielsen, Y. G. Abrantes, F. O. Lira, and S. Y. Lustosa-Costa. 2023. "A New Species of Cloud Fish of the Genus *Hypsolebias* From Northeast Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae)." *Neotropical Ichthyology* 21, no. 3: e230068. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0068>.
- Rolls, R. J., B. Wolfenden, J. Heino, G. L. Butler, and J. D. Thiem. 2023. "Scale Dependency in Fish Beta Diversity–Hydrology Linkages in Lowland Rivers." *Journal of Biogeography* 50, no. 9: 1692–1709. <https://doi.org/10.1111/jbi.14672>.
- Salvador, S., and P. Chan. 2004. *Determining the Number of Clusters/Segments in Hierarchical Clustering/Segmentation Algorithms*. Piscataway, NJ: Institute of Electrical and Electronics Engineers. <https://doi.org/10.1109/TAI.2004.1319568>.
- Silva, G. G., V. Weber, A. J. Green, et al. 2019. "Killifish Eggs Can Disperse via Gut Passage Through Waterfowl." *Ecology* 100, no. 1: e02774. <https://doi.org/10.1002/ecy.2774>.
- Socolar, J. B., J. J. Gilroy, W. E. Kunin, and D. P. Edwards. 2016. "How Should Beta-Diversity Inform Biodiversity Conservation?" *Trends in Ecology & Evolution* 31, no. 1: 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.11.005>.
- Soininen, J., J. Heino, and J. Wang. 2018. "A Meta-Analysis of Nestedness and Turnover Components of Beta Diversity Across Organisms and Ecosystems." *Global Ecology and Biogeography* 27, no. 1: 96–109. <https://doi.org/10.1111/geb.12660>.
- Soininen, J., R. McDonald, and H. Hillebrand. 2007. "The Distance Decay of Similarity in Ecological Communities." *Ecography* 30, no. 1: 3–12. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2007.04817.x>.
- Sokal, R. R., and F. J. Rohlf. 1962. "The Comparison of Dendrograms by Objective Methods." *Taxon* 11, no. 2: 33–40. <https://doi.org/10.2307/1217208>.
- Sreekar, R., M. Katabuchi, A. Nakamura, et al. 2018. "Spatial Scale Changes the Relationship Between Beta Diversity, Species Richness, and Latitude." *Royal Society Open Science* 5, no. 9: 181168. <https://doi.org/10.1098/rsos.181168>.
- Stein, A., K. Gerstner, and H. Kreft. 2014. "Environmental Heterogeneity as a Universal Driver of Species Richness Across Taxa, Biomes and Spatial Scales." *Ecology Letters* 17: 866–880. <https://doi.org/10.1111/ele.12277>.
- Stoczynski, L., M. C. Scott, L. Bower, and B. K. Peoples. 2023. "Effects of Environment and Metacommunity Delineation on Multiple Dimensions of Stream Fish Beta Diversity." *Frontiers in Ecology and Evolution* 11: 1077994. <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1077994>.
- Tews, J., U. Brose, V. Grimm, et al. 2004. "Animal Species Diversity Driven by Habitat Heterogeneity/Diversity: The Importance of Keystone Structures." *Journal of Biogeography* 31: 79–92. <https://doi.org/10.1046/j.0305-0270.2003.00994.x>.

- Ulrich, W., M. Almeida-Neto, and N. J. Gotelli. 2009. "A Consumer's Guide to Nestedness Analysis." *Oikos* 118, no. 1: 3–17. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.17053.x>.
- Volcan, M. V., and L. E. K. Lanés. 2018. "Brazilian Killifishes Risk Extinction." *Science* 361, no. 6403: 340–341. <https://doi.org/10.1126/science.aau5930>.
- Whittaker, R. H. 1960. "Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California." *Ecological Monographs* 30, no. 3: 279–338. <https://doi.org/10.2307/1943563>.
- Whittaker, R. J., K. J. Willis, and R. Field. 2001. "Scale and Species Richness: Towards a General, Hierarchical Theory of Species Diversity." *Journal of Biogeography* 28, no. 4: 453–470. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2001.00563.x>.
- Wiens, J. A. 1989. "Spatial Scaling in Ecology." *Functional Ecology* 3, no. 4: 385–397. <https://doi.org/10.2307/2389612>.
- Xing, D., and F. He. 2021. "Analytical Models for Beta-Diversity and the Power-Law Scaling of  $\beta$ -Deviation." *Methods in Ecology and Evolution* 12, no. 3: 405–414. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13531>.
- Žák, J., M. Vrtílek, M. Poláček, R. Blažek, and M. Reichard. 2021. "Short-Lived Fishes: Annual and Multivoltine Strategies." *Fish and Fisheries* 22, no. 4: 546–561. <https://doi.org/10.1111/faf.12535>.
- Zhang, Y., K. Ma, M. Anand, W. Ye, and B. Fu. 2015. "Scale Dependence of the Beta Diversity–Scale Relationship." *Community Ecology* 16, no. 1: 39–47. <https://doi.org/10.1556/168.2015.16.1.5>.

### **Declaração de Disponibilidade de Dados**

Os dados que sustentam os achados deste estudo estão disponíveis nos Apêndices S1–S3 deste artigo. Os dados e o código computacional utilizados para a compilação/manipulação dos dados e para as análises estão disponíveis em acesso aberto no repositório Dryad (<https://doi.org/10.5061/dryad.zpc866tjz>).

### **Informações suplementares**

#### **Apêndice S1**

Tabela S1.1. Gêneros e espécies válidos da família Rivulidae conforme Fricke et al. (2024). Classificação dos ciclos de vida como anuais ou perenes com base em Hrbek & Larson (1999), Furness et al. (2018), Loureiro et al. (2018) e Domínguez-Castanedo et al. (2022).

Tabela S1.2. Fontes utilizadas para compilar os dados de ocorrência de peixes-aniais e suas respectivas contribuições relativas em nosso banco de dados.

Tabela S1.3. Valores de correlação cofenética comparando oito diferentes algoritmos de agrupamento em diferentes escalas de regionalizações. O UPGMA apresentou os

maiores valores de correlação para todas as regionalizações, resultando em regiões com máxima similaridade interna e máximas diferenças em relação às demais regiões.

Arquivos suplementares disponíveis em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/action/downloadSupplement?doi=10.1111%2Fjbi.15088&file=jbi15088-sup-0001-AppendixS1.pdf>

### **Apêndice S2**

Planilha Excel. Os arquivos .txt com códigos como BL2, BL3 etc. representam dados de ocorrência de espécies (presença ou ausência) para cada uma das biorregionalizações.

Arquivos suplementares disponíveis em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/action/downloadSupplement?doi=10.1111%2Fjbi.15088&file=jbi15088-sup-0002-AppendixS2.zip>

### **Apêndice S3**

Tabela S3.1. Síntese das informações para as 181 biorregiões de peixes-anuais no domínio Neotropical. NHB = número de bacias hidrográficas que compõem a biorregião; códigos das bacias hidrográficas conforme Lehner & Grill (2013); N espécies = número de espécies.

Figura S3.1. Biorregiões de peixes-anuais (Rivulidae: Cyprinodontiformes) no domínio Neotropical. Dendrograma gerado por análise de agrupamento (UPGMA) com base na dissimilaridade  $\beta$ -sim, aplicando o método do "cotovelo" (*elbow*) para determinar o número ótimo de agrupamentos. Códigos (10 caracteres) representam as bacias hidrográficas (HydroBasins nível 9), conforme a fonte primária (Lehner & Grill, 2013). Cores e códigos (BR#) representam as 181 biorregiões.

Arquivos suplementares disponíveis em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/action/downloadSupplement?doi=10.1111%2Fjbi.15088&file=jbi15088-sup-0003-AppendixS3.pdf>

## CAPÍTULO II

Biological Conservation 315 (2026) 111692



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Biological Conservation

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/biocon](http://www.elsevier.com/locate/biocon)



Water and fire: Wildfires threaten fish habitats across Brazilian biomes, and protected areas offer insufficient safeguards

Gustavo Henrique Soares Guedes , Francisco Gerson Araújo 

*Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23897-000, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil*

Guedes GHS, Araújo FG. 2026. Water and fire: Wildfires threaten fish habitats across Brazilian biomes, and protected areas offer insufficient safeguards, Biological Conservation, 315, 111692. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2025.111692>.

## **Água e fogo: incêndios ameaçam habitats de peixes ao longo dos biomas brasileiros, e áreas protegidas oferecem salvaguardas insuficientes**

Gustavo Henrique Soares Guedes, Francisco Gerson Araújo

Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Brasil

### **Agradecimentos**

Agradecimentos especiais aos desenvolvedores e colaboradores do MapBiomas, cujas atualizações e melhorias contínuas tornaram este trabalho possível.

## RESUMO

As áreas úmidas temporárias são ecossistemas aquáticos moldados pela alternância entre períodos de cheia e seca, mas a influência dos incêndios sobre seus regimes hídricos e a dinâmica da biodiversidade permanece insuficientemente investigada. Este estudo compara a frequência de fogo em áreas úmidas temporárias habitadas por peixes-anuais (Rivulidae) em biomas que diferem quanto à propensão ao fogo e ao grau de proteção, utilizando um arcabouço espaço-temporal abrangente em 1.161 áreas de ocorrência ao longo de quatro décadas (1985–2024) e registros de 187 espécies, das quais 102 estão ameaçadas de extinção no Brasil. Os resultados mostram que incêndios afetaram 57% das espécies de peixes-anuais e queimaram 28% das áreas úmidas temporárias nas quais elas ocorrem. Biomas dependentes do fogo (Cerrado, Pantanal; com exceção do Pampa) apresentaram frequências de fogo significativamente maiores do que biomas independentes do fogo (Caatinga) e sensíveis ao fogo (Amazônia, Mata Atlântica). A frequência de fogo atingiu seu pico entre 2020 e 2024, com regiões como a Amazônia exibindo vulnerabilidade crescente. A maioria das áreas úmidas queimadas na Caatinga, Mata Atlântica e Pampa esteve associada a cicatrizes de fogo pequenas (<50 ha), enquanto eventos de fogo em larga escala concentraram-se predominantemente no Cerrado e no Pantanal. Áreas protegidas não mitigaram de forma consistente a frequência de fogo; em alguns biomas, reservas registraram frequências de fogo maiores do que áreas não protegidas. O fogo pode afetar peixes-anuais tanto diretamente, por mortalidade de ovos causada pela queima, quanto indiretamente, ao alterar ou destruir os habitats de áreas úmidas temporárias dos quais dependem. Nossos achados revelam lacunas significativas nos atuais arcabouços de conservação e ressaltam a necessidade urgente de integrar estratégias proativas de manejo do fogo à governança de áreas protegidas e ao planejamento mais amplo da biodiversidade aquática sob regimes globais de fogo em intensificação.

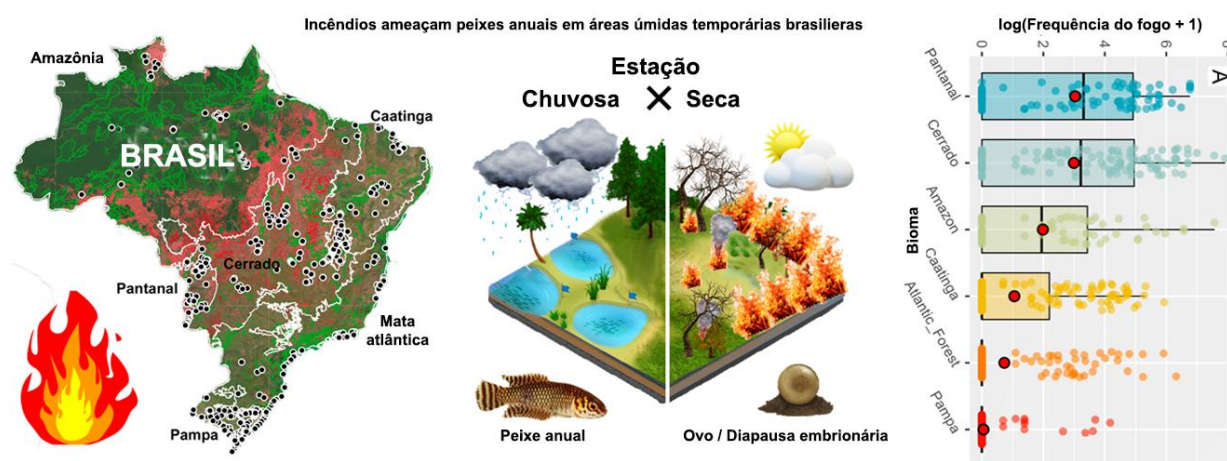
**Palavras-Chave** | Peixes-anuais, Ecologia do fogo, Peixes de água doce, Poças intermitentes, Áreas protegidas, Rivulidae, Áreas úmidas temporárias

## ABSTRACT

Temporary wetlands are aquatic ecosystems shaped by alternating wet and dry periods, but the influence of wildfires on their water regimes and biodiversity dynamics remains insufficiently investigated. This study compares fire frequency in temporary wetlands inhabited by annual fishes (Rivulidae) across biomes differing in fire propensity and protection, using a comprehensive spatiotemporal framework across 1161 sites over four decades (1985–2024), and drawing on occurrence records of 187 species, 102 of which are threatened with extinction in Brazil. Results show that wildfires were subject to 57 % of annual fish species and burned 28 % of the temporary wetlands in which they occur. Fire-dependent biomes (Cerrado, Pantanal; with the exception of the Pampa) experienced significantly higher fire frequency than fire-independent (Caatinga) and fire-sensitive (Amazon, Atlantic Forest) biomes. Fire frequency peaked between 2020 and 2024, with regions such as the Amazon exhibiting increasing vulnerability. The majority of burned wetlands in the Caatinga, Atlantic Forest, and Pampa were associated with small fire scars (<50 ha), while large-scale fire events were predominantly concentrated in the Cerrado and Pantanal. Protected areas did not consistently mitigate fire frequency; in some biomes, reserves recorded higher fire frequencies than unprotected areas. Fire can affect annual fish both directly, through egg mortality caused by burning, and indirectly, by altering or destroying the temporary wetland habitats on which they depend. Our findings reveal significant gaps in existing conservation frameworks and underscore the urgent need to integrate proactive fire-management strategies into protected-area governance and broader aquatic-biodiversity planning under intensifying global fire regimes.

**Keywords** | Annual killifishes, Fire ecology, Freshwater fish, Intermittent ponds, Protected areas, Rivulidae, Temporary wetlands

## Graphical abstract:



## 1 | Introdução

Incêndios florestais são componentes intrínsecos de sistemas naturais terrestres, moldando padrões e processos ecossistêmicos, a ciclagem de carbono e a regulação climática (Bowman et al., 2009). No entanto, regimes naturais de fogo têm sido profundamente alterados por atividades humanas — desmatamento, expansão agrícola e manejo inadequado do fogo impulsionaram padrões sem precedentes de intensidade, frequência e extensão de incêndios nas últimas décadas (e.g., Pivello et al., 2021; Feron et al., 2024). Globalmente, aproximadamente  $774 \times 10^6$  ha queimam anualmente (ou 5,9 % das terras livres de gelo; Chen et al., 2023), liberando uma estimativa de 2,4 Pg C ( $\approx 8,8 \text{ GtCO}_2$ ) para a atmosfera apenas entre 2023 e 2024 (Jones et al., 2024). Essas emissões alimentam um ciclo de retroalimentação entre fogo e clima: incêndios reduzem sumidouros biológicos de carbono ao queimar a vegetação, emitem gases de efeito estufa que aceleram o aquecimento global e, por sua vez, intensificam secas e ondas de calor, aumentando, em última instância, a atividade de raios e a probabilidade e severidade de incêndios futuros (Burton et al., 2024; Verjans et al., 2025). Incêndios recorrentes promovem perda de biodiversidade e degradação de habitats (e.g., Pivello et al., 2021; Malecha et al., 2025), enquanto a liberação de material particulado fino ( $\text{PM}_{2.5}$ ) agrava doenças respiratórias e cardiovasculares, com custos em saúde estimados em US\$160 bilhões apenas nos Estados Unidos entre 2006 e 2020 (Law et al., 2025). Compreender os determinantes e as consequências do fogo é, portanto, crucial, pois ele se tornou uma das ameaças mais difundidas e impactantes aos sistemas socioambientais globais.

O fogo ocorre em quase todos os biomas, de florestas boreais do Ártico a savanas tropicais e regiões mediterrâneas (e.g., Hardesty et al., 2005; Bowman et al., 2009; Martín et al., 2023; Feron et al., 2024; Jones et al., 2024b). No Brasil, o fogo desempenha papéis ecológicos contrastantes conforme o bioma, os quais podem ser classificados por sua propensão ao fogo com base nos tipos de vegetação dominantes (Hardesty et al., 2005; Pivello et al., 2021; Viegas et al., 2022). Biomas dependentes do fogo — como o Cerrado (savanas), o Pantanal (áreas úmidas) e o Pampa (campos) — exibem diferentes traços adaptativos ao fogo e podem se beneficiar de condições pós-fogo (Pivello et al., 2021). Nesses biomas, o fogo sustenta processos ecológicos-chave, promove coexistência de espécies e favorece a ciclagem de nutrientes e a renovação da vegetação (Miranda et al., 2002; Durigan, 2020). Sua exclusão pode levar ao adensamento lenhoso, à perda de espécies de habitats abertos e a mudanças estruturais nos ecossistemas (Durigan and Ratter, 2016; Costa et al., 2020).

Em contraste, biomas sensíveis ao fogo, como a Amazônia e a Mata Atlântica, dominados por florestas tropicais úmidas, sofrem severas perdas de biodiversidade quando queimados (Pivello et al., 2021; Feron et al., 2024). A Caatinga, uma floresta tropical sazonalmente seca do Nordeste do Brasil, é considerada independente do fogo; em

condições naturais, sua vegetação esparsa não forma um leito contínuo de combustível, limitando a propagação de incêndios de superfície (Hardesty et al., 2005; Pivello et al., 2021; Viegas et al., 2022). Mesmo dentro dos biomas, a heterogeneidade da paisagem cria um mosaico de zonas dependentes do fogo, sensíveis ao fogo e independentes do fogo (Pivello et al., 2021).

Entretanto, mudanças generalizadas no uso da terra e a substituição de fontes naturais de ignição por fontes antrópicas desacoplaram a ocorrência do fogo de seus regimes naturais, resultando em severos impactos ecológicos em todos os biomas brasileiros (Libonati et al., 2021; Marques et al., 2021; Oliveira et al., 2022a; Rocha et al., 2024; Braga and Laurini, 2024; Malecha et al., 2025). A escala dos incêndios no Brasil é extraordinária: aproximadamente 24 % do país ( $\approx 2,06$  milhões de  $\text{km}^2$ ) queimou pelo menos uma vez entre 1985 e 2024 (RAF, 2025), superando a área terrestre combinada da França (0,54), Alemanha (0,36), Reino Unido (0,24), Itália (0,30) e Espanha (0,51) (total  $\approx 1,95$  milhões de  $\text{km}^2$ ; United Nations Statistics Division, 2025). Como consequência, incêndios recorrentes no Brasil vêm causando severos declínios de biodiversidade, problemas de saúde pública e impactos econômicos, e ainda sabemos muito pouco sobre como mensurar adequadamente esses efeitos (Sobreira et al., 2025).

Áreas protegidas (APs) são pilares da conservação da biodiversidade; contudo, ainda existe considerável incerteza e debate sobre sua efetividade em salvaguardar a biodiversidade contra o fogo (Nelson and Chomitz, 2011; Lucas et al., 2023). De forma mais ampla, as APs brasileiras estão inseridas em um arcabouço legal heterogêneo que regula desmatamento, uso do fogo e fiscalização ambiental (e.g., Lei nº 9.985/2000; Lei nº 12.651/2012). Desde a década de 1970, o país vem gradualmente migrando de uma política de exclusão total do fogo para uma abordagem de manejo adaptativo (Pivello et al., 2021), processo que culminou na recente Política Nacional de Manejo Integrado do Fogo (Lei nº 14.944/2024), a qual reconhece formalmente tanto o papel ecológico do fogo quanto a legitimidade de práticas tradicionais de manejo do fogo (Pereira et al., 2025). Ainda assim, o manejo integrado do fogo permanece implementado em um subconjunto relativamente pequeno de áreas protegidas, especialmente em biomas dependentes do fogo como o Cerrado, enquanto grandes porções da paisagem — particularmente em terras privadas fora de APs — seguem sujeitas a baixa fiscalização e a um manejo do fogo pouco coordenado (Oliveira et al., 2022a). Na prática, a intensidade do monitoramento, a aplicação de sanções e o cumprimento das normas variam amplamente entre agências, categorias de proteção (uso sustentável vs. proteção integral), estados e biomas, resultando em desfechos contrastantes quanto à ocorrência e severidade do fogo (Nepstad et al., 2006; Nelson and Chomitz, 2011; Oliveira et al., 2021; Neto and Evangelista, 2022; Pessoa et al., 2023). Apesar de avanços em políticas e manejo do fogo e na compreensão dos seus determinantes nos biomas brasileiros, persistem lacunas críticas, particularmente para ecossistemas aquáticos, nos quais a relação entre água e fogo ainda é comumente (e equivocadamente) percebida como estritamente antagônica — isto é, onde há água, não há fogo.

Ecossistemas aquáticos efêmeros — também chamados de áreas úmidas temporárias ou poças temporárias — são, em geral, feições aquáticas pequenas e rasas que secam sazonalmente ou de modo imprevisível, e sustentam flora e fauna especializadas, adaptadas à alternância entre fases úmidas e secas (Junk et al., 2014; Calhoun et al., 2017; Biggs et al., 2017). No Brasil, esses habitats ocorrem em todos os biomas e abrigam um notável grupo de peixes adaptados à vida sem água: os peixes-anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae). Durante a estação seca, poças temporárias dessecam e tornam-se essencialmente ambientes terrestres, levando à morte de todos os peixes adultos (Martin and Podrabsky, 2017; Guedes et al., 2020). Contudo, antes de morrer, esses peixes se reproduzem e depositam ovos resistentes à dessecação no substrato, os quais podem permanecer viáveis por meio de um processo complexo de diapausa embrionária (Costa, 2013; Berois et al., 2015; Loureiro et al., 2018). Sob essas restrições metabólicas, os ovos podem sobreviver por meses — ou mesmo anos — enterrados no sedimento seco (Furness, 2016; Lajus and Alekseev, 2019; Weber et al., 2025). Com o início da estação chuvosa seguinte, as áreas úmidas temporárias se enchem novamente, os ovos eclodem e uma nova geração de peixes-anuais emerge — sem sobreposição de gerações (Guedes et al., 2023a, 2023b). A evolução de um ciclo de vida anual em vertebrados é altamente incomum e alinha esses peixes a estratégias de sobrevivência observadas em plantas adaptadas a desertos (e.g., sementes) ou em invertebrados (e.g., ovos e cistos) que habitam zonas temperadas com invernos congelantes (Furness, 2016).

Peixes-anuais pertencem à família Rivulidae, mas nem todos os rivulídeos apresentam ciclo de vida anual (Guedes et al., 2025a). Rivulidae compreende pelo menos 488 espécies válidas na região Neotropical (Fricke et al., 2025), das quais 266 exibem ciclo de vida anual (Guedes et al., 2025a). No Brasil, sabe-se que ocorrem 200 espécies anuais, das quais 115 estão oficialmente listadas como Possivelmente Extintas (PEX), Criticamente Em Perigo (CR), Em Perigo (EN) ou Vulneráveis (VU); 66 são classificadas como Pouco Preocupantes (LC) ou Quase Ameaçadas (NT); e 19 permanecem não avaliadas ou como Dados Insuficientes (DD) (ICMBio, 2025). A ameaça aos peixes-anuais é sem paralelo: eles somam 115 espécies ameaçadas — superando o total combinado de mamíferos brasileiros em risco (105 spp.), répteis (79 spp.) e anfíbios (74 spp.) (ICMBio, 2025). Assim, os peixes-anuais representam o grupo de vertebrados numericamente mais vulnerável à extinção no país mais biodiverso do mundo. A perda de habitat é a principal ameaça aos rivulídeos (Volcan and Lanés, 2018). Áreas úmidas temporárias vêm sendo sistematicamente convertidas em lavouras, drenadas e aterradas para dar lugar a pastagens, expansão urbana e empreendimentos industriais (Calhoun et al., 2017; Castro and Polaz, 2020). Além disso, a poluição por microplásticos (Guedes et al., 2025b) e a poluição química associada ao amplo uso de agroquímicos na agricultura brasileira exercem efeitos negativos mesmo em concentrações abaixo dos limites legais de segurança (Gonçalves et al., 2024; Godoy et al., 2025).

Apesar desse cenário crítico, várias ameaças adicionais — como espécies invasoras, mudanças climáticas e incêndios florestais — permanecem virtualmente inexploradas e ainda são pouco compreendidas pela ciência. Em geral, a maior parte da literatura sobre efeitos do fogo em sistemas aquáticos e na fauna associada foca riachos, havendo dados

limitados sobre impactos do fogo em áreas úmidas (Bixby et al., 2015; Erdozain et al., 2024; Moreira et al., 2025). Áreas úmidas temporárias e peixes-anuais podem ser particularmente vulneráveis a regimes de fogo devido à dessecação sazonal de seus habitats, que remove a barreira hidrológica ao fogo e deixa ovos em diapausa no substrato altamente expostos à incineração. Na ausência de dados robustos sobre a suscetibilidade dessas populações a múltiplos estressores, existe um risco real de subestimar determinantes-chave do declínio e de falhar na implementação de medidas efetivas de conservação. Preencher essas lacunas de conhecimento é tão urgente quanto a proteção física de seus habitats: apenas com informação abrangente sobre impactos potenciais será possível reverter a alarmante trajetória de vulnerabilidade à extinção.

Assim, este estudo tem como objetivo mapear a frequência de fogo em ecossistemas aquáticos efêmeros que abrigam peixes-anuais, comparando padrões entre diferentes biomas brasileiros e entre áreas com políticas contrastantes de proteção territorial. Duas hipóteses foram testadas. H1 — Sítios de ocorrência localizados em biomas dependentes do fogo (Cerrado, Pantanal e Pampa) exibem maior frequência de fogo do que aqueles localizados em biomas sensíveis ao fogo (Amazônia e Mata Atlântica) ou independentes do fogo (Caatinga). Essa hipótese se baseia na premissa de que biomas dependentes do fogo são mais propensos a incêndios devido à combinação de climas sazonalmente secos, vegetação herbáceo-arbustiva e fontes naturais de ignição, enquanto biomas sensíveis e independentes do fogo são menos favoráveis à propagação do fogo (Pivello et al., 2021; Viegas et al., 2022). H2 — Sítios de ocorrência localizados dentro de áreas protegidas apresentam frequência de fogo significativamente menor do que aqueles em áreas não protegidas, embora o grau de proteção varie conforme o bioma. Essa hipótese se fundamenta em estudos que mostram que áreas protegidas — particularmente em biomas sensíveis ao fogo, como a Amazônia — podem inibir efetivamente a ocorrência do fogo (Nepstad et al., 2006; Nelson and Chomitz, 2011; Pessoa et al., 2023), enquanto áreas protegidas em biomas dependentes do fogo frequentemente têm desempenho ruim na mitigação do fogo (Oliveira et al., 2022a). Esses resultados podem refletir diferenças em restrições legais ao desmatamento, uso do fogo e fiscalização (Oliveira et al., 2021). Ao integrar dados inéditos sobre regimes de fogo de longo prazo, distribuições de espécies ameaçadas e efetividade de áreas protegidas, este estudo busca subsidiar a tomada de decisão e fortalecer estratégias de manejo do fogo e de conservação para salvaguardar ecossistemas aquáticos efêmeros e sua fauna singularmente adaptada no Brasil.

## **2 | Materiais e Métodos**

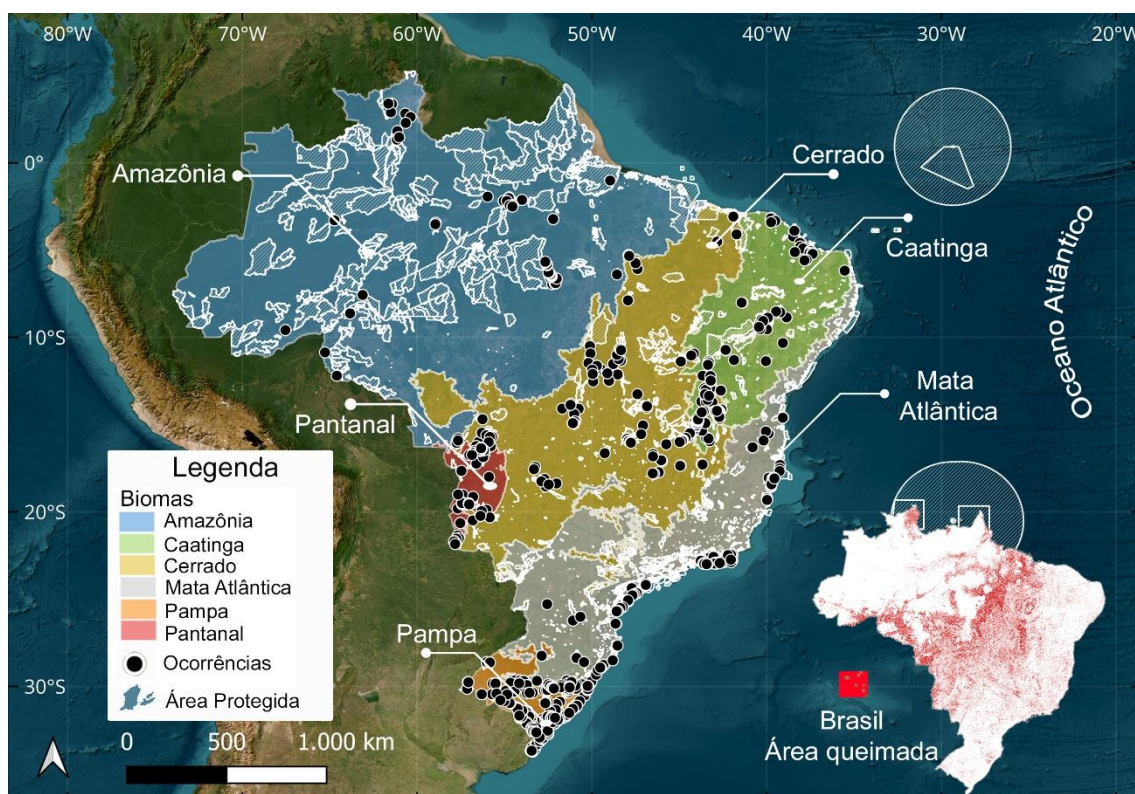
### **2.1 | Ocorrências de peixes**

Os registros de ocorrência de peixes-anuais da família Rivulidae foram compilados a partir do conjunto abrangente de dados de distribuição disponibilizado por Guedes et al. (2025a,b), que inclui todas as espécies conhecidas na região Neotropical até o ano de

2023. Esses registros de ocorrência foram obtidos de múltiplas fontes, incluindo artigos, livros e repositórios digitais públicos que agregam dados de coleções biológicas e museus, como o Global Biodiversity Information Facility (GBIF, [gbif.org](http://gbif.org)), o Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBr, [sibbr.gov.br](http://sibbr.gov.br)), o SpeciesLink ([splink.org.br](http://splink.org.br)) e o Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade (SALVE, [salve.icmbio.gov.br](http://salve.icmbio.gov.br)) (Guedes et al., 2025a,b). A partir desse conjunto, os dados foram processados seguindo as etapas descritas abaixo: (1) seleção de registros e espécies com ocorrência no Brasil; (2) exclusão de localidades com baixa precisão geográfica (por exemplo, coordenadas reportadas apenas em graus e minutos); e (3) inclusão de novas localidades de ocorrência publicadas e descrições de espécies (por exemplo, Volcan et al., 2025; Nielsen et al., 2025) até junho de 2025. O conjunto final de dados compreende 1.161 registros de ocorrência (Fig. 1), representando 187 espécies anuais distribuídas em 32 gêneros, das quais 102 são classificadas como ameaçadas de extinção no Brasil (ICMBio, 2025; Tabela A.1 – Apêndice A). Para cada sítio de ocorrência, foi gerado um buffer circular com raio de 180 m (área aproximada = 101.787 m<sup>2</sup>) seguindo Guedes et al. (2023b). Essa unidade espacial, denominada “biótopo”, abrange tanto a área úmida temporária quanto sua zona de entorno imediato, capturando assim o contexto mais amplo da matriz da paisagem em que os peixes-anuais ocorrem.

## 2.2 | Mapeamento do fogo

O mapeamento de áreas queimadas no Brasil foi obtido a partir do projeto MapBiomas Fogo – Coleção 4.0 (<https://brasil.mapbiomas.org>). O MapBiomas é uma rede global multi-institucional — composta por universidades, ONGs e empresas de tecnologia — que monitora transformações na cobertura e no uso da terra em diferentes territórios e seus impactos. O produto MapBiomas Fogo utiliza mosaicos anuais e mensais de imagens Landsat (resolução de 30 × 30 m), cobrindo o período de 1985 a 2024. Os dados de entrada correspondem a mosaicos de refletância de superfície (SR) da USGS Landsat Collection 2 – Tier 1, processados para cada ano da série temporal. As cicatrizes de fogo são classificadas por meio de uma Rede Neural Profunda (Deep Neural Network, DNN), treinada com as bandas Vermelho, Infravermelho Próximo (NIR) e Infravermelho de Ondas Curtas (SWIR1 e SWIR2) (Alencar et al., 2025). Para detalhes técnicos adicionais sobre coleta de amostras de treinamento, classificação do modelo, procedimentos pós-classificação e validação, ver Alencar et al. (2022; 2025) e RAF (2025).



**Figura 1** | Ocorrências de espécies de peixes-anauais (círculos pretos) ao longo dos biomas brasileiros. O mapa menor no canto inferior direito mostra as áreas queimadas (vermelho), representando as cicatrizes de fogo acumuladas de 1985 a 2024 (MapBiomas Fogo, Coleção 4). As áreas protegidas (contornos brancos) incluem unidades de conservação sob o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC) e terras indígenas.

Os registros de ocorrência das espécies foram sobrepostos aos dados do MapBiomas Fogo – Coleção 4.0 para extrair três variáveis: (1) ano do último registro de fogo, (2) frequência de fogo e (3) área anual queimada por classe de tamanho da cicatriz. O “ano do último fogo” indica o último ano em que cada pixel foi mapeado como queimado, entre 1985 e 2024, sendo útil para identificar áreas recentemente afetadas. A “frequência de fogo” representa o número de vezes que um pixel foi atingido pelo fogo ao longo do período, variando de 1 a 39 eventos, permitindo avaliar a recorrência do fogo na paisagem. A “área anual queimada por classe de tamanho da cicatriz” classifica, anualmente, as cicatrizes em dez classes de tamanho (1: <10 ha; 2: 10–50 ha; 3: 50–100 ha; 4: 100–500 ha; 5: 500–1000 ha; 6: 1000–5000 ha; 7: 5000–10.000 ha; 8: 10.000–50.000 ha; 9: 50.000–100.000 ha; 10: ≥100.000 ha), definindo cada cicatriz como um grupo contíguo de pixels queimados dentro de um mesmo ano; essa métrica ajuda a caracterizar a magnitude dos eventos de fogo (Alencar et al., 2022, 2025).

## 2.3 | Áreas protegidas e biomas brasileiros

Os dados espaciais dos limites dos biomas foram obtidos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE; [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)), e os limites de áreas protegidas foram obtidos do Cadastro Nacional de Unidades de Conservação (CNUC) do Ministério do Meio Ambiente, incluindo unidades municipais, estaduais e federais e abrangendo categorias de uso sustentável e de proteção integral (<https://cnuc.mma.gov.br/map>).

## 2.4 | Análises estatísticas

Para testar (H1) se biótopos localizados em biomas dependentes do fogo exibem maior frequência de fogo do que aqueles em biomas sensíveis ao fogo ou independentes do fogo; e (H2) se áreas protegidas apresentam frequência de fogo significativamente menor em comparação a áreas não protegidas — foi utilizada uma abordagem de Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMM). A variável resposta, frequência de fogo (a soma de todos os eventos de fogo de 1985 a 2024 em todos os pixels dentro do buffer), apresentou forte heterogeneidade de variâncias, elevada assimetria positiva (skewness  $\approx 9,5$ ) e curtose elevada (kurtosis  $\approx 128$ ), consistentes com distribuições de cauda longa e fortemente concentradas. Além disso,  $\approx 66\%$  dos registros foram zeros, indicando acentuada inflação de zeros — um padrão comum em bases de frequência de fogo (Sá et al., 2018; Raveendran et al., 2024).

Dada a estrutura dos dados, ajustamos modelos zero-inflacionados binomiais negativos (GLMM – ZINB) com função de ligação log, usando o pacote `glmmTMB` (Brooks et al., 2017). Os efeitos fixos incluíram: Bioma, classificado quanto à propensão ao fogo seguindo Pivello et al. (2021) e Viegas et al. (2022) em dependentes do fogo (Cerrado, Pantanal, Pampa), independentes do fogo (Caatinga) e sensíveis ao fogo (Amazônia, Mata Atlântica); status de proteção (protegido vs. não protegido); e a interação (Bioma  $\times$  status de proteção), cada um especificado tanto no componente condicional quanto no componente de inflação de zeros. A significância do modelo para efeitos principais e interações foi avaliada por ANOVA do tipo III (Wald  $\chi^2$ ) via pacote `car`, com  $\alpha = 0,05$ . Médias marginais estimadas (EMMs) para efeitos principais foram obtidas com o pacote `emmeans`, com comparações pareadas conduzidas com ajuste de Tukey. As comparações pareadas foram realizadas apenas para os efeitos principais, pois a interação não foi estatisticamente significativa. As suposições e a adequação do modelo foram verificadas usando a função `simulateResiduals` do pacote `DHARMa` (Hartig, 2024). Gráficos diagnósticos (QQ plots e resíduos versus valores preditos; Fig. A.1) foram usados para verificar suposições distribucionais, checar sobredispersão e identificar potenciais outliers. Não foram detectadas violações significativas (Fig. A.1 – Apêndice). Todas as análises espaciais e sobreposições foram conduzidas no QGIS versão 3.34.11 (QGIS Development Team, 2025), e todas as análises estatísticas foram realizadas no R versão 4.3.1 (R Core Team, 2024). Os dados e scripts utilizados nas análises estão disponíveis no Apêndice B.

3 | Resultados

3.1 | Área queimada e ano da última ocorrência de fogo

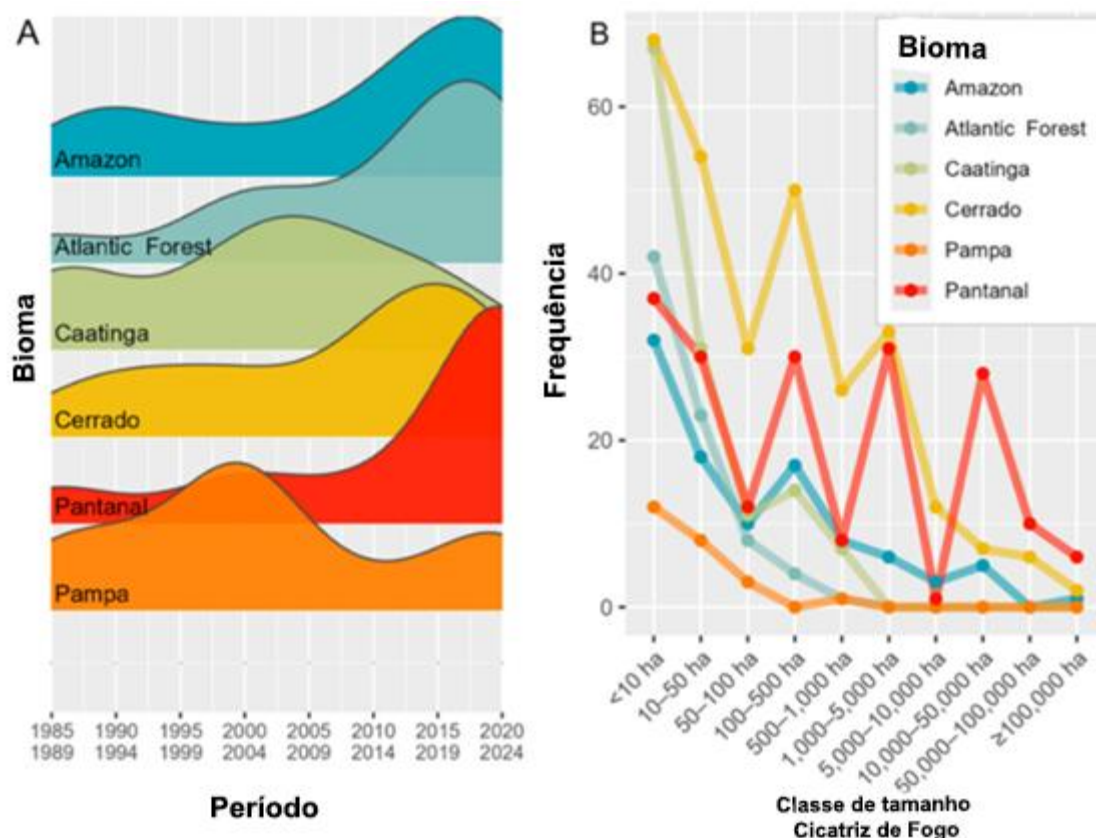
Das 187 espécies de peixes-anuais analisadas, 108 (57%; Tabela A.1 – Apêndice A) tiveram pelo menos um biótopo atingido por fogo no Brasil entre 1985 e 2024. No total, 321 (28%) dos 1.161 biótopos examinados foram queimados durante esse período, sendo 111 (34,2%) dentro de áreas protegidas e 1.050 (27,0%) em áreas não protegidas (Tabela 1). O Pantanal apresentou o cenário mais severo: todas as 11 espécies analisadas (por exemplo, *Plesiolebias glaucopterus*, *Pterolebias phasianus*, *Trigonectes balzanii*, *Moema heterostigma*, *Austrolebias ephemerus*) tiveram pelo menos uma localidade de ocorrência afetada por fogo entre 1985 e 2024, tanto dentro quanto fora de áreas protegidas. Em contraste, o Pampa apresentou a menor proporção de espécies e biótopos impactados pelo fogo entre os biomas examinados (por exemplo, *Cynopoecilus fulgens*, *Matilebias periodicus*, *Garcialebias nactigalli*).

**Tabela 1 |** Número de espécies e biótopos de peixes-anuais afetados por incêndios entre 1985 e 2024 em cada bioma, discriminando áreas protegidas e não protegidas. FI% = porcentagem de espécies ou localidades atingidas pelo fogo ao menos uma vez entre 1985 e 2024. Fogo freq ± DP = média da Frequência Total de Fogo ± desvio-padrão. Categorias de fogo: FS = sensível ao fogo; FI = independente do fogo; FD = dependente do fogo.

| Bioma              | Proteção     | Espécies (FI%) | Localidades (FI%) | Fogo freq ± SD |
|--------------------|--------------|----------------|-------------------|----------------|
| Amazonia (FS)      | Protegida    | 4 (100)        | 14 (42.8)         | 256 ± 546      |
|                    | Desprotegida | 14 (71)        | 59 (57.6)         | 33 ± 71        |
| Mata Atântica (FS) | Protegida    | 14 (50)        | 44 (36.3)         | 16 ± 83        |
|                    | Desprotegida | 40 (35)        | 129 (18.6)        | 11 ± 43.6      |
| Caatinga (FI)      | Protegida    | 3 (33)         | 7 (14)            | 1.7 ± 4.5      |
|                    | Desprotegida | 50 (66)        | 207 (32.3)        | 17 ± 43.3      |
| Cerrado (FD)       | Protegida    | 7 (43)         | 12 (50)           | 192 ± 319      |
|                    | Desprotegida | 50 (66)        | 125 (70)          | 157 ± 345      |
| Pampa (FD)         | Protegida    | 10 (20)        | 28 (10.7)         | 1.1 ± 5.2      |
|                    | Desprotegida | 35 (17.1)      | 440 (2)           | 0.3 ± 4        |
| Pantanal (FD)      | Protegida    | 5 (100)        | 6 (100)           | 716 ± 287      |
|                    | Desprotegida | 11 (100)       | 90 (68)           | 78 ± 111       |
| Total              | Protegida    | 41 (51%)       | 111 (34.2%)       | 98.9 ± 287     |
| Total              | Desprotegida | 182 (56%)      | 1050 (27%)        | 32.3 ± 136.3   |

A tendência geral indica um aumento acentuado na ocorrência de incêndios nos biótopos, especialmente após 2010, com pico observado entre 2020 e 2024 (Fig. 2A). O Pantanal destacou-se por um aumento pronunciado nas ocorrências recentes (2020–

2024), enquanto Caatinga e Pampa mostraram declínio temporal, com picos em 2000–2004 e 1995–1999, respectivamente. Biótopos localizados em biomas sensíveis ao fogo, como Mata Atlântica (por exemplo, *Leptopanchax opalescens*, *Ophthalmolebias constanciae*, *Nematolebias whitei*) e Amazônia (por exemplo, *Pituna xinguensis*, *Spectrolebias reticulatus*, *Plesiolebias altamira*), exibiram aumento gradual na ocorrência de fogo ao longo do tempo (Fig. 2).



**Figura 2 |** Padrões temporais e espaciais de ocorrência de fogo nos biótopos de peixes- anuais nos biomas brasileiros entre 1985 e 2024. À esquerda (A), as curvas representam os registros do Ano da Última Ocorrência de Fogo, agrupados em intervalos de cinco anos, com picos indicando períodos de maior ocorrência e vales indicando períodos de menor ocorrência. As curvas são baseadas em uma densidade de kernel suavizada (KDE) ao longo do eixo x (períodos), calculada separadamente para cada bioma. À direita (B), o gráfico de linhas mostra a distribuição do número de cicatrizes de fogo em dez classes de tamanho (Área anual queimada por tamanho de cicatriz).

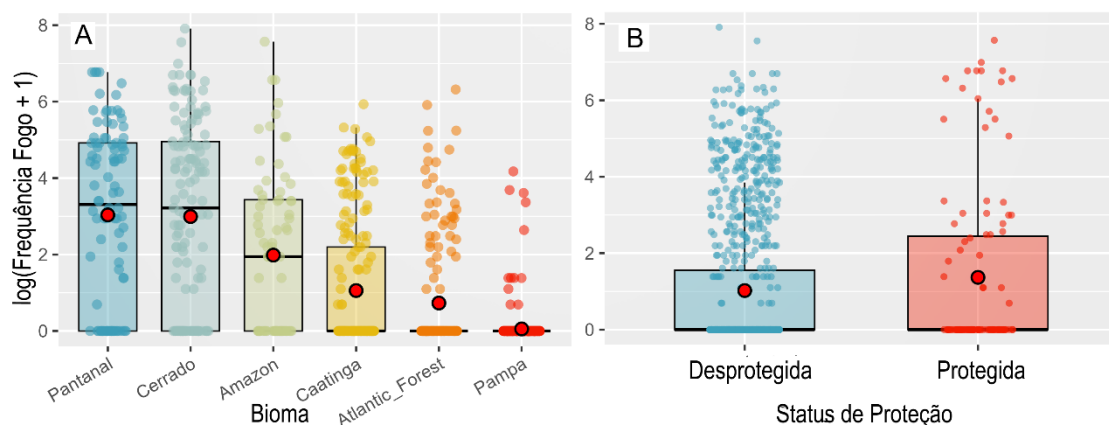
A maioria dos peixes dos biótopos queimados na Caatinga (por exemplo, *Hypsolebias adornatus*, *Cynolebias rectiventer*, *Hypsolebias guanambi*), Mata Atlântica e Pampa esteve associada a cicatrizes de fogo pequenas, predominantemente nas classes <10 ha ( $n = 258$ ) e 10–50 ha ( $n = 164$ ), que juntas correspondem a mais de 60% de todos os eventos registrados. A Amazônia exibiu um padrão intermediário, com a maioria dos registros concentrados nas classes menores, mas também ocorrências em categorias maiores,

incluindo cicatrizes de fogo superiores a 10.000 ha. Em contraste, as espécies de biótopos afetados por eventos de fogo em larga escala concentraram-se principalmente nos biomas Cerrado (e.g., *Maratecoara formosa*, *Simpsonichthys boitonei*, *Cynolebias griseus*) e Pantanal (Fig. 2b), os únicos com registros consistentes nas classes de maior tamanho, incluindo cicatrizes  $\geq 50.000$  ha.

### 3.2 | Frequência de fogo entre biomas e status de proteção

As análises GLMM revelaram diferenças significativas entre biomas ( $\chi^2 = 8,17$ ;  $p = 0,016$ ) e entre status de proteção ( $\chi^2 = 6,04$ ;  $p = 0,013$ ), enquanto a interação Bioma  $\times$  Status de proteção não foi significativa ( $\chi^2 = 3,78$ ;  $p = 0,150$ ). Em conformidade com a hipótese H1, biomas dependentes do fogo (Cerrado, Pantanal e Pampa) exibiram frequências de fogo substancialmente maiores do que biomas independentes do fogo (Caatinga; estimativa = 2,53;  $p = 0,002$ ) e biomas sensíveis ao fogo (Amazônia, Mata Atlântica; estimativa = 0,95;  $p = 0,001$ ). Dentro da categoria dependente do fogo, Cerrado e Pantanal apresentaram as maiores frequências, enquanto o Pampa registrou a menor (Fig. 3).

Embora o status de proteção tenha mostrado efeito significativo — indicando tendência a maior frequência de fogo em áreas protegidas (Tabela 1; Fig. 3) — as comparações pareadas ajustadas por Tukey não revelaram diferenças significativas entre áreas protegidas e não protegidas (estimativa = 0,18;  $p = 0,71$ ; Tabela 2), não corroborando, portanto, a hipótese H2.



**Figura 3 |** Boxplots da frequência de fogo (log +1) em biótopos de peixes-anuais, apresentados para (A) biomas (Pantanal, Cerrado, Amazônia, Caatinga, Mata Atlântica, Pampa) e (B) status de proteção (Não protegido, Protegido). Os pontos individuais representam sítios de ocorrência; círculos vermelhos indicam as médias dos grupos.

**Tabela 2** | Contrastes pareados de médias marginais estimadas (EMMs) do modelo misto binomial negativo com inflação de zeros (GLMM-ZINB) ajustado para frequência de fogo em biótopos de peixes-anuais. “Contraste” indica a comparação pareada entre os níveis dos fatores. Estimativa: diferença na frequência de fogo transformada em log entre os grupos; EP: erro-padrão; IC: limites inferior e superior do intervalo de confiança de 95%; z-ratio: estatística de teste do contraste; valor de p: significância da diferença (ajustada por Tukey para comparações múltiplas).

| Contraste                   | Estimativa | EP    | IC         | z-ratio | p     |
|-----------------------------|------------|-------|------------|---------|-------|
| <b>Categoria de bioma</b>   |            |       |            |         |       |
| Dependente vs. Independente | 2.538      | 0.749 | 0.78–4.29  | 3.387   | 0.002 |
| Dependente vs. Sensível     | 0.959      | 0.272 | 0.32–1.59  | 3.532   | 0.001 |
| Independente vs. Sensível   | -1.579     | 0.745 | -3.32–0.16 | -2.118  | 0.086 |
| <b>Status de proteção</b>   |            |       |            |         |       |
| Protegido vs. Não protegido | 0.188      | 0.514 | -0.82–1.20 | 0.366   | 0.714 |

## 4 | Discussão

Este estudo revela três principais achados. Primeiro, o fogo representa uma ameaça generalizada aos habitats e às populações de peixes-anuais em todo o Brasil, alcançando 57% das 187 espécies avaliadas, incluindo 55 das 102 espécies ameaçadas, e consumindo aproximadamente um terço (28%) das áreas úmidas temporárias que elas habitam. Segundo, áreas úmidas temporárias situadas em biomas dependentes do fogo (com exceção do Pampa) experimentaram frequências de fogo significativamente maiores do que aquelas localizadas em biomas independentes do fogo ou sensíveis ao fogo, sustentando parcialmente H1. Terceiro, políticas de proteção territorial, particularmente a criação de áreas protegidas, mostraram-se insuficientes para conter a expansão dos incêndios, exibindo, em alguns biomas, eficácia inferior à de regiões não protegidas, o que contradiz H2, originalmente proposta na direção oposta. Esses resultados inéditos, derivados de um mapeamento espacial detalhado combinado a quase quatro décadas de dados de frequência de fogo (1985–2024), constituem a primeira avaliação abrangente do risco de incêndios para peixes-anuais ameaçados em áreas úmidas temporárias do Brasil.

### 4.1 | Padrões espaço-temporais do fogo entre biomas

Biótopos de peixes-anuais situados em biomas dependentes do fogo (Cerrado e Pantanal) apresentaram frequências de fogo significativamente maiores do que aqueles em biomas independentes do fogo (Caatinga) ou sensíveis ao fogo (Amazônia e Mata

Atlântica). Esse resultado sustenta parcialmente nossa primeira hipótese (H1), embora o Pampa — também classificado como dependente do fogo — tenha exibido frequências de queima comparativamente menores, desviando-se do padrão esperado.

Em biomas de savana, como o Cerrado, incêndios são frequentes devido à combinação de vegetação dominada por gramíneas e arbustos, clima altamente sazonal e uma estação seca prolongada (Oliveira et al., 2022a). Essa sazonalidade, juntamente com a abundante biomassa herbácea acumulada durante a estação chuvosa, cria uma carga de combustível altamente inflamável, que é acesa principalmente por atividades antrópicas na estação seca (Arruda et al., 2024). De modo semelhante, o Pantanal — a maior área úmida de água doce do mundo — também apresenta alta frequência de fogo: durante a estação seca, vastas extensões de campos e macrófitas emergentes (p.ex., juncais e taboais) se dessecam, conferindo ao bioma elevada inflamabilidade intrínseca (Pivello, 2011; Marques et al., 2021; Garcia et al., 2021; Pivello et al., 2021; Neto and Evangelista, 2022). Campos e savanas exibem taxas de propagação e intensidades de fogo mais altas do que aquelas observadas em florestas (Gomes et al., 2020), o que corrobora nossos achados de que áreas úmidas temporárias inseridas em grandes eventos de fogo (i.e., as maiores classes de tamanho de cicatrizes) foram particularmente prevalentes no Pantanal e no Cerrado. Além disso, ambos os biomas têm apresentado uma tendência de aumento na frequência de fogo nas últimas décadas (Pivello et al., 2021), padrão que também se reflete em nossos resultados.

Em contraste, o Pampa — apesar de seu caráter campestre e de sua classificação como “dependente do fogo” — exibiu menores taxas de queima e um declínio temporal no número de biótopos queimados. Isso provavelmente se deve a condições sazonais mais amenas e úmidas em comparação com outros biomas campestres brasileiros: a precipitação é mais bem distribuída ao longo do ano, e temperaturas de inverno mais baixas reduzem a dessecação extrema da vegetação (Araújo et al., 2012). Além disso, diferentemente da Amazônia, do Cerrado e do Pantanal, práticas agrícolas e pecuárias no Pampa raramente empregam fogo para renovação de pastagens ou desmatamento (Pivello, 2011), limitando, assim, a propagação de incêndios antrópicos para as áreas úmidas temporárias habitadas por peixes rivulídeos.

Os padrões intermediários de fogo observados em florestas tropicais (Amazônia e Mata Atlântica) são impulsionados principalmente por ignições antrópicas, uma vez que a alta umidade e o dossel denso inibem incêndios naturais (Gomes et al., 2020) e, quando eles ocorrem, impõem danos severos devido à ausência de adaptações ao fogo nessas florestas (Pivello et al., 2021). Florestas têm sido, cada vez mais, afetadas pelo fogo. Em 2024, pela primeira vez, a classe Formação Florestal foi o tipo de cobertura do solo mais impactado por incêndios no Brasil, com um recorde de quase 7,7 milhões de hectares queimados — 287% acima da média histórica (RAF, 2025). Embora este estudo tenha se concentrado em áreas úmidas temporárias habitadas por peixes-anuais — representando apenas 0,003% da área terrestre do Brasil — seus achados estão em consonância com análises geográficas amplas que relatam altas taxas de queima no Pantanal e no Cerrado; níveis intermediários na Amazônia, Mata Atlântica e Caatinga; e

baixas taxas no Pampa (Oliveira et al., 2022a). Assim, incêndios em áreas úmidas temporárias espelham o gradiente espacial de fogo em larga escala no Brasil e evidenciam vulnerabilidades distintas de cada bioma, confirmando que a propensão ao fogo reflete diretamente tipos regionais de vegetação e regimes climáticos, hoje agravados por atividades humanas.

## **4.2 | Áreas protegidas oferecem salvaguardas insuficientes**

Em contraste com a segunda hipótese (H2), que propunha que sítios de ocorrência dentro de áreas protegidas apresentariam frequência de fogo significativamente menor do que aqueles em áreas não protegidas, nossos resultados não mostraram redução da frequência de fogo no interior de áreas protegidas em comparação a sítios não protegidos. Esse achado desafia a suposição convencional de que a mera designação legal seria suficiente para salvaguardar biótopos de peixes-anuais contra o fogo no Brasil e se alinha a um corpo crescente de literatura indicando que a proteção legal, isoladamente, frequentemente se mostra insuficiente para mitigar incêndios (e.g., Oliveira et al., 2022a; Carvalho et al., 2023; Moreira et al., 2024). De fato, foi documentado que apenas por meio de medidas concretas — como a mobilização de brigadas indígenas de manejo do fogo — se alcançou uma redução de até ~80% na frequência de fogo em áreas historicamente muito queimadas (Oliveira et al., 2022b). De modo semelhante, verificou-se que certas categorias de áreas protegidas que permitem uso sustentável não impediram incêndios sem fortalecimento da fiscalização e manejo apropriado (Carvalho et al., 2023). Em outras palavras, a efetividade de áreas protegidas em conter o fogo depende fortemente da implementação de políticas de manejo e do controle de fontes de ignição, e não apenas do status legal.

Diversos fatores têm sido apontados para explicar a alta incidência de incêndios em áreas protegidas. A maioria dos eventos de fogo em APs brasileiras tem se concentrado em reservas de uso sustentável, onde há presença humana e queimadas agrícolas em terras do entorno (RAF, 2025). Incêndios antrópicos originados em áreas adjacentes, que então escapam sem controle para dentro das reservas, têm sido reconhecidos como um dos principais motores de incêndios internos (Almeida-Rocha and Peres, 2021; Moreira et al., 2024). Em resposta a esse cenário alarmante, a Política Nacional de Manejo Integrado do Fogo (Lei nº 14944/2024) foi promulgada em 2024. Essa nova política propõe uma mudança de paradigma na governança do fogo: em vez de depender exclusivamente da proibição e repressão, adota-se uma estratégia integrada que incorpora ecologia do fogo, conhecimento tradicional e o uso controlado de queimas prescritas para prevenir grandes incêndios florestais. Ao reforçar a coordenação interagências, responsabilizar atores pelo uso inadequado do fogo e apoiar brigadas comunitárias, espera-se que o manejo integrado reduza incêndios descontrolados tanto no interior quanto no entorno de áreas protegidas — contribuindo, assim, para a proteção da biodiversidade diante dos incêndios florestais.

### 4.3 | Potenciais impactos diretos e indiretos do fogo sobre peixes-anuais

Embora a flora de muitos biomas brasileiros apresente traços adaptativos ao fogo, a fauna aquática associada aparentemente carece de resiliência comparável. Peixes-anuais, por exemplo, podem ser particularmente vulneráveis a regimes de fogo por três razões principais. Primeiro, durante a estação seca — período em que incêndios são mais prevalentes no Brasil (Pivello et al., 2021) — a perda completa de água superficial remove qualquer barreira hidrológica ao fogo (Mason et al., 2023), deixando ovos em diapausa enterrados no substrato altamente suscetíveis à incineração. Segundo, margens e leitos de áreas úmidas temporárias são tipicamente dominados por vegetação herbácea densa e matéria orgânica acumulada que, uma vez dessecadas, fornecem abundante combustível fino (Marques et al., 2021). Terceiro, o pequeno tamanho, o isolamento espacial e o alto grau de fragmentação das áreas úmidas temporárias na paisagem (Guedes et al., 2025a) restringem rotas potenciais de fuga para peixes-anuais. Como resultado, áreas úmidas temporárias e seus peixes-anuais podem estar estruturalmente mais expostos a impactos relacionados ao fogo do que espécies perenes que habitam rios, lagos ou brejos permanentes. Portanto, durante a estação seca, o fogo pode causar mortalidade diretamente ao incinerar ovos e reduzir o recrutamento, ameaçando a próxima geração das populações.

Na estação chuvosa, potenciais efeitos indiretos substanciais do fogo podem se manifestar por múltiplas vias sinérgicas, incluindo (mas não se limitando a): aumento da toxicidade da água devido à adsorção de íons amônio provenientes de aportes de cinzas (Gomez et al., 2022; Edwards et al., 2024); alcalose ambiental — um desequilíbrio químico que estressa peixes ao elevar o pH da água e desregular o pH sanguíneo e processos fisiológicos (Kwan et al., 2024) — o que pode afetar particularmente espécies anuais adaptadas a águas ácidas (Guedes et al., 2023b); perda de cobertura vegetal e de serapilheira que normalmente retêm umidade, fazendo com que poças efêmeras sequem mais rapidamente e encurtando o período de inundação vital para os peixes (Shakesby and Doerr, 2006); alterações diretas da dinâmica trófica, conectando mudanças induzidas pelo fogo a trajetórias de biomassa de perifíton, invertebrados e peixes (Erdozain et al., 2024; Roon et al., 2025); e mudanças subletais comportamentais e fisiológicas que tornam espécies mais letárgicas e menos inclinadas a forragear ou formar cardumes coesos (Gonino et al., 2019). Portanto, embora algumas espécies de peixes perenes exibam resiliência a queimadas esporádicas por meio de dispersão ativa (e.g., Severo-Neto and Volcan, 2018; Erdozain et al., 2024), incêndios de alta frequência ou alta severidade podem exceder limiares de tolerância de espécies anuais — que habitam ambientes isolados, rasos e de pequena escala, com pronunciados efeitos de borda, onde impactos sinérgicos do fogo podem tornar-se imprevisíveis.

### 4.4 | Implicações, limitações e direções futuras

Até o momento, o fogo foi listado como ameaça para apenas uma espécie de peixe-anual (*Simpsonichthys boitonei*) na Lista Vermelha da Fauna Ameaçada do Brasil (ICMBio 2018). Os resultados aqui apresentados demonstram, pela primeira vez, que esse risco é muito mais difundido e generalizado em um dos grupos de vertebrados mais ameaçados do mundo. Em um país altamente agrícola como o Brasil — onde a “trindade” de impactos agrícolas inclui mudança e intensificação do uso da terra (Volcan and Lanés, 2018), aplicação de agrotóxicos (Gonçalves et al., 2024; Godoy et al., 2025) e, agora, fogo — é essencial reconhecer o fogo não meramente como um evento episódico, mas como uma perturbação onipresente e interativa.

Embora este estudo forneça insights valiosos, há limitações inerentes que merecem consideração. Primeiro, existe um pronunciado déficit wallaceano para a distribuição de espécies de peixes-anuais, como para a maioria dos táxons na região Neotropical, com dados de ocorrência permanecendo incompletos e espacialmente enviesados (Diniz Filho et al., 2023; Tonella et al., 2023; Guedes et al., 2025a,b). A maior parte dos esforços de amostragem concentra-se ao longo de estradas (Costa et al., 2025), próximo a estações de pesquisa e ao redor de centros urbanos mais acessíveis e frequentemente amostrados, enquanto áreas úmidas remotas, áreas protegidas e regiões relativamente preservadas (notadamente na Amazônia central) recebem muito menos atenção (Guedes et al., 2025c). Consequentemente, essa cobertura geográfica desigual pode levar à sub ou superestimação da exposição ao fogo. Segundo, não distinguimos entre incêndios naturais (e.g., iniciados por raios), incêndios antrópicos (e.g., queimadas agrícolas, desmatamento) ou queimadas controladas (manejo preventivo), pois esses dados não estão disponíveis. Ainda assim, tal diferenciação é essencial para orientar intervenções direcionadas: reforçar brigadas de combate em áreas propensas a ignições naturais; intensificar fiscalização e revisar práticas agrícolas em zonas dominadas por queimas antrópicas; e delimitar áreas adequadas para queimadas preventivas, excluindo explicitamente áreas úmidas temporárias. Terceiro, nossa base inclui apenas 111 localidades dentro de áreas protegidas, sem diferenciar entre categorias de proteção integral e de uso sustentável — classes que implicam diferentes graus de restrição ao uso do fogo e práticas de manejo do território (Nelson and Chomitz, 2011; RAF, 2025). Esse tamanho amostral limitado em áreas protegidas não apenas evidencia a subproteção territorial dos habitats de peixes-anuais, mas também impede incorporar tal subdivisão devido às premissas inerentes aos modelos estatísticos.

Este estudo representa um primeiro passo para compreender como peixes-anuais e seus habitats estão expostos a regimes de fogo, e abre diversas avenidas fundamentais para pesquisas futuras. Entre elas, estudos experimentais e de campo são necessários para testar efeitos diretos e indiretos do fogo sobre a mortalidade de ovos em peixes rivulídeos (e.g., para outros táxons, Branson and Vermeire, 2007; Shine et al., 2016). Um próximo passo importante é incorporar, na análise, o intervalo entre o evento de fogo mais recente e os registros de ocorrência de peixes. Isso ajudaria a esclarecer como o fogo afeta nossa capacidade de detectar espécies em campo (Southwell et al., 2022). Além disso, áreas com alta frequência de fogo frequentemente experimentam queimadas de baixa intensidade, enquanto áreas com baixa frequência podem ser

afetadas por incêndios de alta intensidade — um *trade-off* (Keeley, 2009). Como intensidade e frequência do fogo determinam em grande medida os impactos ecológicos, a frequência de fogo, sozinha, pode mascarar diferenças importantes em como áreas úmidas e peixes respondem às queimadas. Isso reforça a necessidade de um programa abrangente de manejo do fogo que reúna conhecimento tradicional, local e científico (Garcia et al., 2021) e que incorpore explicitamente áreas úmidas temporárias, mesmo quando secas, em seus princípios e práticas, reconhecendo-as como habitats frequentemente negligenciados que abrigam espécies altamente endêmicas e ameaçadas. Ademais, abordagens futuras que considerem o fogo não apenas como agente de impacto, mas também como uma força histórica moldando padrões biogeográficos atuais de áreas úmidas temporárias e a distribuição de peixes-anuais serão valiosas. Por fim, este trabalho não teve como objetivo abordar de forma exaustiva todas as dimensões dos incêndios em áreas úmidas temporárias ocupadas por peixes-anuais, e investigações futuras podem elucidar e refinar ainda mais os padrões aqui identificados.

## Referências

- Alencar, A. A. C., Arruda, V. L. S., Silva, W. V. d., Conciani, D. E., Costa, D. P., Crusco, N., Duverger, S. G., Ferreira, N. C., Franca-Rocha, W., Hasenack, H., et al. (2022). Long-term Landsat-based monthly burned area dataset for the Brazilian biomes using deep learning. *Remote Sensing*, 14(11), 2510. <https://doi.org/10.3390/rs14112510>
- Alencar, A. A., Conciani, D. E., Rosa, E. R., Vélez Martin, E., Andrade, G., Hasenack, H., Morais Martenexen, L. F., Fernandes, J. P., Ribeiro, M., Shimbo, J., Rosa, M., Dias, M., Crusco, N., Santos, N., Monteiro, N. C., Duverger, S. G., Azevedo, T., Piontekowski, V. J., da Silva Arruda, V. L., Vieira da Silva, W., da Franca Rocha, W. (2025). Algorithm Theoretical Basis Document (ATBD): MapBiomias Fire Collection 4 (Version 1). MapBiomias Project. June 2025. 16 pp. Available from <https://brasil.mapbiomas.org/wp-content/uploads/sites/4/2025/06/ATBD-MapBiomias-Fogo-Colecao-4.pdf>
- Araújo, M. F., Ferreira, L. G., & Arantes, A. E. (2012). Distribution patterns of burned areas in the Brazilian biomes: an analysis based on satellite data for the 2002–2010 period. *Remote Sensing*, 4(7), 1929–1946. <https://doi.org/10.3390/rs4071929>
- Arruda, V. L. S., Alencar, A. A. C., de Carvalho Júnior, O. A., et al. (2024). Assessing four decades of fire behavior dynamics in the Cerrado biome (1985 to 2022). *Fire Ecology*, 20, 64. <https://doi.org/10.1186/s42408-024-00298-4>
- Almeida-Rocha, J. M., & Peres, C. A. (2021). Nominally protected buffer zones around tropical protected areas are as highly degraded as the wider unprotected countryside. *Biological Conservation*, 256, 109068. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109068>

- Berois, N., Garcia, G., & de Sa, R. O. (Eds.). (2015). *Annual fishes: Life history strategy, diversity, and evolution* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19016>
- Biggs, J., von Fumetti, S., & Kelly-Quinn, M. (2017). The importance of small waterbodies for biodiversity and ecosystem services: implications for policy makers. *Hydrobiologia*, 793, 3–39. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-3007-0>
- Bixby, R. J., Cooper, S. D., Gresswell, R. E., Brown, L. E., Dahm, C. N., & Dwire, K. A. (2015). Fire effects on aquatic ecosystems: An assessment of the current state of the science. *Freshwater Science*, 34(4), 1340–1350. <https://doi.org/10.1086/684073>
- Braga, A., & Laurini, M. (2024). Spatial heterogeneity in climate change effects across Brazilian biomes. *Scientific Reports*, 14, 16414. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67244-x>
- Brooks, M. E., et al. (2017). glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal*, 9(2), 378–400.
- Burton, C., Lampe, S., Kelley, D. I., et al. (2024). Global burned area increasingly explained by climate change. *Nature Climate Change*, 14, 1186–1192. <https://doi.org/10.1038/s41558-024-02140-w>
- Carvalho, I. S. de, Alvarado, S. T., Silva, T. S. F., Cordeiro, C. L. de O., Fidelis, A., Saraiva, R. V. C., Figueiredo, F. A. M. M. A., Sousa, J. R. P. de, & Ferraz, T. M. (2023). How does the fire regime change after creating a protected area in the Brazilian Cerrado?. *Journal for Nature Conservation*, 71, 126318. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2022.126318>
- Castro, R.M.C, Polaz, C.N.M. (2020). Small-sized fish: the largest and most threatened portion of the megadiverse Neotropical freshwater fish fauna. *Biota Neotropica* 20(1): e20180683. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0683>
- Calhoun, A.J.K., Mushet, D.M., Bell, K.P., Boix, D., Fitzsimons, J.A., Is selin-Nondedeu, F. (2017). Temporary wetlands: challenges and solutions to conserving a 'disappearing' ecosystem. *Biological Conservation* 211, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.11.024>
- Chen, Y., Hall, J., van Wees, D., Andela, N., Hantson, S., Giglio, L., van der Werf, G. R., Morton, D. C., & Randerson, J. T. (2023). Multi-decadal trends and variability in burned area from the fifth version of the Global Fire Emissions Database (GFED5). *Earth System Science Data*, 15, 5227–5259. <https://doi.org/10.5194/essd-15-5227-2023>
- Costa, W. J. E. M. (2013). Historical biogeography of aplocheiloid killifishes (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Vertebrate Zoology*, 63(2), 139–154. <https://doi.org/10.3897/vz.63.e31419>
- Costa, J. H. A., Selinger, A., Langeani, F., Souza, U. P., & Duarte, R. M. (2025). Life on the road: fish communities composition in roadside ditches of the Atlantic Forest. *bioRxiv*, 2025.06.18.660392. <https://doi.org/10.1101/2025.06.18.660392>
- David, M. J. S., Bowman, D. M. J. S., et al. (2009). Fire in the Earth system. *Science*, 324(5926), 481–484. <https://doi.org/10.1126/science.1163886>

- Edwards, T. M., Puglis, H. J., Kent, D. B., Durán, J. L., Bradshaw, L. M., & Farag, A. M. (2024). Ammonia and aquatic ecosystems—a review of global sources, biogeochemical cycling, and effects on fish. *Science of The Total Environment*, 907, 167911. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167911>
- Erdozain, M., Cardil, A., & de-Miguel, S. (2024). Fire impacts on the biology of stream ecosystems: a synthesis of current knowledge to guide future research and integrated fire management. *Global Change Biology*, 30, e17389. <https://doi.org/10.1111/gcb.17389>
- Feron, S., Cordero, R. R., Damiani, A., et al. (2024). South America is becoming warmer, drier, and more flammable. *Communications Earth & Environment*, 5, 501. <https://doi.org/10.1038/s43247-024-01654-7>
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N., Fong, J. D. (2025). "Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera/Species by Family/Subfamily." California Academy of Sciences. Accessed 08 jun 2025. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>
- Furness, A. I. (2016). The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews*, 91(3), 796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12185>
- Godoy, R. S., Weber, V., Lanés, L. E. K., Castro, B. D., Oliveira, G. T., Arenzon, A., ... Maltchik, L. (2025). Early post-hatching sensitivity of a Neotropical annual killifish to glyphosate-based herbicide. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 107(7), 1322–1338. <https://doi.org/10.1080/02772248.2025.2527648>
- Gomes, L., Miranda, H. S., Silvério, D. V., & Bustamante, M. M. C. (2020). Effects and behaviour of experimental fires in grasslands, savannas, and forests of the Brazilian Cerrado. *Forest Ecology and Management*, 458, 117804. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117804>
- Gonçalves, N. M., Silveira, T. L. R., Martins, A. W. S., et al. (2024). A pilot study of gene expression modulation from antioxidant system of killifish *Austrolebias charrua* after exposure to Roundup Transorb®. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 113, 17. <https://doi.org/10.1007/s00128-024-03930-w>
- Gonino, G., Branco, P., Benedito, E., Ferreira, M. T., & Santos, J. M. (2019). Short-term effects of wildfire ash exposure on behaviour and hepatosomatic condition of the Iberian barbel *Luciobarbus bocagei* (Steindachner, 1864). *Science of the Total Environment*, 665, 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.282>
- Gomez, D. F., I.; Cramp, R. L., & Franklin, C. E. (2022). Fire and rain: A systematic review of the impacts of wildfire and associated runoff on aquatic fauna. *Global Change Biology*, 28, 2578–2595. <https://doi.org/10.1111/gcb.16088>
- Guedes, G. H. S., Salgado, F. L. K., Uehara, W., Ferreira, D. L. P., & Araújo, F. G. (2020). The recapture of *Leptopanchax opalescens* (Aplocheiloidei: Rivulidae), a critically endangered seasonal killifish: habitat and aspects of population structure. *Zoologia*, 37, e54982. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702020000400004>

- Guedes, G. H. S., Gomes, I. D., do Nascimento, A. A., Azevedo, M. C. C., Souto-Santos, I. C. A., Buckup, B. A., & Araújo, F. G. (2023a). Reproductive strategy of the annual fish *Leptopanchax opalescens* (Rivulidae) and trade-off between egg size and maximum body length in temporary wetlands. *Wetlands*, 43, 29. <https://doi.org/10.1007/s13157-022-01665-9>
- Guedes, G. H. S., Luz, C. H. P., Mazzoni, R., Lira, F. O., & Araújo, F. G. (2023b). New occurrences of the endangered *Notholebias minimus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in coastal plains of the State of Rio de Janeiro, Brazil: populations features and conservation. *Neotropical Ichthyology*, 21(3), e230013. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0013>
- Guedes, G. H. S., Santangelo, J. M., Pires, A. P. F., & Araújo, F. G. (2025a).  $\beta$ -Diversity scaling patterns across different bioregionalisations for a megadiverse Neotropical fish family. *Journal of Biogeography*, 52, e15088. <https://doi.org/10.1111/jbi.15088>
- Guedes, G. H. S. (2025b). Occurrences of annual killifish (Rivulidae) in different bioregionalizations across the Neotropical domain [Data set]. Dryad. <https://doi.org/10.5061/dryad.zpc866tjz>
- Guedes, G.H.S., Cordeiro, L., Azeredo, L.F.S.P., Araújo, F.G., (2025c). Microplastics in wetlands: contrasting fish contamination between mangroves and temporary ponds in southeastern Brazil. Research Square (preprint). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-7861289/v1>. Version 1.
- Guedes, G. H. S., Luz, C. H. P., Souza, V. J., & Araújo, F. G. (2025d). A fish frontier? Itatiaia expedition and biodiversity repositories reveal gaps in fish occurrences in Brazil's high-altitude aquatic ecosystems. *Zoologia*, 42, e24077y. <https://doi.org/10.1590/S1984-4689.v42.e24077y>
- Hardesty, J., Myers, R., & Fulks, W. (2005). Fire, ecosystems, and people: a preliminary assessment of fire as a global conservation issue. *George Wright Forum*, 22, 78–87. <http://www.jstor.org/stable/43597968>
- Hartig, F. (2024). DHARMA: Residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models (R package version 0.4.7). Retrieved from <http://florianhartig.github.io/DHARMA>
- ICMBio—Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (2018). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. ICMBio/MMA, Brasília.
- ICMBio—Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2022). Lista Oficial de Espécies da Fauna e Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. Portaria MMA N° 148, June 7, 2022. Brasília.
- ICMBio. (2025). Biodiversity Extinction Risk Assessment System – SALVE. Retrieved June 14, 2025, from <https://salve.icmbio.gov.br/>
- Jones, M. W., Kelley, D. I., Burton, C. A., Di Giuseppe, F., Barbosa, M. L. F., Brambleby, E., Hartley, A. J., Lombardi, A., Mataveli, G., McNorton, J. R., Spuler, F. R., Wessel, J. B., Abatzoglou, J. T., Anderson, L. O., Andela, N., Archibald, S., Armenteras, D., Burke, E., Carmenta, R., Chuvieco, E., Clarke, H., Doerr, S. H., Fernandes, P. M., Giglio, L.,

- Hamilton, D. S., Hantson, S., Harris, S., Jain, P., Kolden, C. A., Kurvits, T., Lampe, S., Meier, S., New, S., Parrington, M., Perron, M. M. G., Qu, Y., Ribeiro, N. S., Saharjo, B. H., San-Miguel-Ayanz, J., Shuman, J. K., Tanpipat, V., van der Werf, G. R., Veraverbeke, S., & Xanthopoulos, G. (2024). State of wildfires 2023–2024. *Earth System Science Data*, 16, 3601–3685. <https://doi.org/10.5194/essd-16-3601-2024>
- Jones, M. W., et al. (2024b). Global rise in forest fire emissions linked to climate change in the extratropics. *Science*, 386, ead15889. <https://doi.org/10.1126/science.ad15889>
- Junk, W. J., Piedade, M. T. F., Lourival, R., Wittmann, F., Kandus, P., Lacerda, L. D., Bozelli, R. L., Esteves, F. A., Nunes da Cunha, C., Maltchik, L., Schöngart, J., Schaeffer-Novelli, Y., & Agostinho, A. A. (2014). Brazilian wetlands: their definition, delineation, and classification for research, sustainable management, and protection. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 24, 5–22. <https://doi.org/10.1002/aqc.2386>
- Kwan, G. T., Sanders, T., Huang, S., Kilagblian, K., Sam, C., Wang, J., ... Fangue, N. A. (2024). Impacts of ash-induced environmental alkalization on fish physiology, and their implications to wildfire-scarred watersheds. *Science of The Total Environment*, 953, 176040. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.176040>
- Lajus, D. L., & Alekseev, V. R. (2019). Fish: diapause, dormancy, aestivation, and delay in gonad development. In V. Alekseev & B. Pinel-Alloul (Eds.), *Dormancy in aquatic organisms: Theory, human use and modeling* (Monographiae Biologicae, vol 92, pp. 67–88). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-21213-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-21213-1_4)
- Law, B. E., Abatzoglou, J. T., Schwalm, C. R., et al. (2025). Anthropogenic climate change contributes to wildfire particulate matter and related mortality in the United States. *Communications Earth & Environment*, 6, 336. <https://doi.org/10.1038/s43247-025-02314-0>
- Loureiro, M., de Sá, R., Serra, W.S. et al. (2018). Review of the Family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a Molecular and Morphological Phylogeny of the Annual Fish Genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotropical Ichthyology* 16, 3: e180007. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>
- Libonati, R., Pereira, J. M. C., Da Camara, C. C., et al. (2021). Twenty-first century droughts have not increasingly exacerbated fire season severity in the Brazilian Amazon. *Scientific Reports*, 11, 4400. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82158-8>
- Lucas, F. M. F., Guaraná, E., & Fiedler, N. C. (2023). Perspective: Scientific gaps on forest fires in Brazilian protected areas. *Forest Ecology and Management*, 569, 120739. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120739>
- Malecha, A., Manes, S., & Vale, M. M. (2025). Climate change and biodiversity in Brazil: what we know, what we don't, and Paris Agreement's risk reduction potential. *Perspectives in Ecology and Conservation*. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2025.02.004>
- Marques, J. F., et al. (2021). Fires dynamics in the Pantanal: impacts of anthropogenic activities and climate change. *Journal of Environmental Management*, 299, 113586. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113586>

- Martin, K. L. M., & Podrabsky, J. E. (2017). Hit pause: parada de desenvolvimento em killifishes anuais e seus parentes próximos. *Developmental Dynamics*, 246, 858–866. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24507>
- Martín, R. S., Ottlé, C., & Sörensson, A. (2023). Fires in the South American Chaco, from dry forests to wetlands: response to climate depends on land cover. *Fire Ecology*, 19, 57. <https://doi.org/10.1186/s42408-023-00212-4>
- Mason, T. J., Popovic, G. C., McGillicuddy, M., & Keith, D. A. (2023). Effects of hydrological change in fire-prone wetland vegetation: An empirical simulation. *Journal of Ecology*, 111, 1050–1062. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.14078>
- Moreira, L.F.B., Smaniotto, N.P., Vicente, R.E. *et al* (2024). I See Fire Inside the Wetlands: Return Interval and Extent on Protected Areas of Pantanal Ecoregion. *Wetlands* 44, 118. <https://doi.org/10.1007/s13157-024-01876-7>
- Nelson, A., & Chomitz, K. M. (2011). Effectiveness of strict versus multiple use protected areas in reducing tropical forest fires: a global analysis using matching methods. *PLOS ONE*, 6(8), e22722. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022722>
- Nepstad, D., Schwartzman, S., Bamberger, B., Santilli, M., Ray, D., Schlesinger, P., ... Rolla, A. (2006). Inhibition of Amazon deforestation and fire by parks and indigenous lands. *Conservation Biology*, 20(1), 65–73. <https://doi.org/10.1111%2Fj.1523-1739.2006.00351.x>
- Neto, M., & Evangelista, H. (2022). Human activity behind the unprecedented 2020 wildfire in Brazilian wetlands (Pantanal). *Frontiers in Environmental Science*, 10, 888578. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.888578>
- Nielsen, D. T. B., Hoetmer, J. W., & Vandekerckhove, E. (2025). *Moema humaita*, a new species of annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from the middle Rio Madeira, Amazon basin, Brazil. *Zootaxa*, 5631(1), 189–197. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5631.1.10>
- Oliveira, U., Soares-Filho, B., Bustamante, M., Gomes, L., Ometto, J. P., & Rajão, R. (2022a). Determinants of fire impact in the Brazilian biomes. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5, 735017. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.735017>
- Oliveira, M. R., Ferreira, B. H., Souza, E. B., Lopes, A. A., Bolzan, F. P., Roque, F. O., Pott, A., Pereira, A. M., Garcia, L. C., Damasceno, G. A., Costa, A., Rocha, M., Xavier, S., Ferraz, R. A. & Ribeiro, D. B. (2022b). Indigenous brigades change the spatial patterns of wildfires, and the influence of climate on fire regimes. *Journal of Applied Ecology*, 59, 1279–1290. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14139>
- Oliveira, A. S., Soares-Filho, B. S., Oliveira, U., Van der Hoff, R., Carvalho-Ribeiro, S. M., Oliveira, A. R., et al. (2021). Costs and effectiveness of public and private fire management programs in the Brazilian Amazon and Cerrado. *Forest Policy and Economics*, 127, 102447. <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2021.102447>

- Pessôa, A. C. M., Morello, R. S. T. F., Silva-Junior, C. H. L., Doblas, J., Carvalho, N. S., Aragão, L. E. O. C., & Anderson, L. O. (2023). Protected areas are effective on curbing fires in the Amazon. *Ecological Economics*, 214, 107983. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2023.107983>
- Pivello, V. R., Vieira, I. C. G., Christianini, A. V., Ribeiro, D. B., Menezes, L. da S., Berlinck, C. N., Melo, F. P. L., Marengo, J. A., Tornquist, C. G., Tomas, W. M., & Overbeck, G. E. (2021). Understanding Brazil's catastrophic fires: causes, consequences and policy needed to prevent future tragedies. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 19(3), 233–255. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2021.06.005>
- Pivello, V. R. (2011). The use of fire in the Cerrado and Amazonian rainforests of Brazil: past and present. *Fire Ecology*, 7(2), 24–39. <https://doi.org/10.4996/fireecology.0701024>
- Podrabsky, J. E., Riggs, C. L., & Wagner, J. T. (2015). Tolerance of environmental stress. In G. Garcia, B. Berois, & R. de Sa (Eds.), *Annual fishes: Life history strategy, diversity, and evolution* (pp. 159–184). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19016>
- QGIS Development Team. (2025). *QGIS geographic information system*. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- RAF (2025). Annual Fire Report – Collection 4 Results – (1985 to 2024). Mapbiomas, São Paulo, Brazil. 72 pp. (in Portuguese) <https://doi.org/10.58053/MapBiomas/JKWSW7>
- Raveendran, N., Zhu, H., Li, H., & Sofronov, G. (2024). Wildfire loss modeling: a flexible semiparametric approach. *North American Actuarial Journal*, 29(2), 329–344. <https://doi.org/10.1080/10920277.2024.2359398>
- Rocha, W. J. S. F., Vasconcelos, R. N., Duverger, S. G., Costa, D. P., Santos, N. A., Franca-Rocha, R. O., de Santana, M. M. M., Alencar, A. A. C., Arruda, V. L. S., Silva, W. V. d., et al. (2024). Mapping burned area in the Caatinga biome: employing deep learning techniques. *Fire*, 7(12), 437. <https://doi.org/10.3390/fire7120437>
- Roon, D. A., Bellmore, J. R., Benjamin, J. R., et al. (2025). Linking fire, food webs, and fish in stream ecosystems. *Ecosystems*, 28, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10021-024-00955-4>
- Sá, A. C. L., Turkman, M. A. A., & Pereira, J. M. C. (2018). Exploring fire incidence in Portugal using generalized additive models for location, scale and shape (GAMLSS). *Modeling Earth Systems and Environment*, 4, 199–220. <https://doi.org/10.1007/s40808-017-0409-6>
- Severo-Neto, F., & Volcan, M. V. (2018). Population dynamics of *Melanorivulus rossoi*, a restricted geographic distribution killifish species. *Environmental Biology of Fishes*, 101, 245–255. <https://doi.org/10.1007/s10641-017-0695-x>
- Shakesby, R. A., & Doerr, S. H. (2006). Wildfire as a hydrological and geomorphological agent. *Earth-Science Reviews*, 74(3–4), 269–307. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2005.10.006>

- Tonella, L. H., Ruaro, R., Daga, V. S., Zoccal Garcia, D. A., Vitorino Júnior, O. B., Lobato-de Magalhães, T., Esser dos Reis, R., ... et al. (2023). NEOTROPICAL FRESHWATER FISHES: a dataset of occurrence and abundance of freshwater fishes in the Neotropics. *Ecology*, 104(4), e3713. <https://doi.org/10.1002/ecy.3713>
- United Nations Statistics Division. (2025). Total surface area as of 19 January 2007. Environment Statistics: Land Use. United Nations. Available at: <https://unstats.un.org/unsd/environment/totalarea.htm> (accessed 1 June 2025).
- Verjans, V., et al. (2025). Quantifying CO<sub>2</sub> forcing effects on lightning, wildfires, and climate interactions. *Science Advances*, 11, eadt5088. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adt5088>
- Viegas, L. M. D., Sales, L., Hipólito, J., Amorim, C., de Pereira, E. J., Ferreira, P., Folta, C., Ferrante, L., Fearnside, P., Mendes Malhado, A. C., Duarte Rocha, F., & Vale, M. M. (2022). We're building it up to burn it down: fire occurrence and fire-related climatic patterns in Brazilian biomes. *PeerJ*, 10, e14276. <https://doi.org/10.7717/peerj.14276>
- Volcan, M. V., & Lanés, L. E. K. (2018). Brazilian killifishes risk extinction. *Science*, 361(6403), 340–341. <https://doi.org/10.1126/science.aau5930>
- Volcan, M. V., Garcez, D. K., Robe, L. J., Feltrin, C. R. M., Costa, W. J. E. M., & Lanés, L. E. K. (2025). A new and threatened species of internally inseminating seasonal killifish of *Campellolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) endemic to a continental island in the Atlantic Forest, Southern Brazil. *Zoologischer Anzeiger*, 316, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2025.03.004>
- Weber, V., Alonso, F., Godoy, R. S., Lanés, L. E. K., Pires, M. M., Stenert, C., Gava, A., & Maltchik, L. (2025). Hitting and un hitting the pause button: variable hatching patterns of annual killifish embryos over a wetland wet–dry cycle. *Ecology of Freshwater Fish*, 34, e12816. <https://doi.org/10.1111/eff.12816>

### Disponibilidade de dados

Os dados e scripts utilizados nas análises estão disponíveis no Apêndice B.

### Informações suplementares

#### Appendix A

Tabela A.1. Lista de espécies de peixes-anuais (Rivulidae: Cyprinodontiformes) incluídas neste estudo, indicando o número de registros de ocorrência utilizados nas análises, suas respectivas categorias de ameaça de acordo com os critérios da Lista Vermelha (CR – Criticamente Em Perigo; EN – Em Perigo; VU – Vulnerável; NT – Quase Ameaçada; LC – Pouco Preocupante; DD – Dados Insuficientes; NE – Não Avaliada; ICMBio 2025) e o(s) bioma(s) em que se distribuem geograficamente. “Fogo” refere-se à frequência de fogo (número médio de eventos de fogo de 1985 a 2024 em todos os pixels dentro do buffer – 180 m).

Arquivos suplementares disponíveis em:

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0006320725007293-mmc2.zip>

## **Apendix B**

Tabela B.1. Dados e Scripts usados nas análises

Arquivos suplementares disponíveis em: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0006320725007293-mmc2.zip>

## CAPÍTULO III

ResearchGate
Home
Questions
Jobs
Search for research, journals, people, e

Preprint
File available

**Licenciamento ambiental e conservação de peixes rivulídeos (Cyprinodontiformes: Rivulidae): recomendações práticas para órgãos ambientais e consultores**

January 2026  
DOI: [10.13140/RG.2.2.24849.90721](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24849.90721)  
License · [CC BY 4.0](#)  
Lab: [Francisco Gerson Araújo's Lab](#)  
 Gustavo Henrique Soares Guedes · Luis Esteban Krause Lanés · Igor C. A. Souto-Santos · [Show all 5 authors](#) · Francisco Gerson Araújo

Preprints and early-stage research may not have been peer reviewed yet.

Overview
Stats
Citations
Re

### **Licenciamento ambiental e conservação de peixes rivulídeos (Cyprinodontiformes: Rivulidae): recomendações práticas para órgãos ambientais e consultores**

Guedes GHS, Lanés LEK, Souto-Santos ICA, Lira FO, Araújo FG (2026). Environmental licensing and conservation of rivulid fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae): practical recommendations for environmental agencies and consultants. Under Review in Journal of Nature Conservation. PREPRINT (Version 1) available at ResearchGate <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24849.90721>

## **Licenciamento ambiental e conservação de peixes rivulídeos (Cyprinodontiformes: Rivulidae): recomendações práticas para órgãos ambientais e consultores**

Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup>, Luis Esteban Krause Lanés<sup>2</sup>, Igor Cavalcanti de Araújo Souto-Santos<sup>3</sup>, Fábio Origuela de Lira<sup>4</sup>, Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Ecologia de Peixes, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil.

<sup>2</sup> Instituto Pro-Pampa, 96010-630 Pelotas, RS, Brazil.

<sup>3</sup> Setor de Ictiologia, Departamento de Vertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, 20490-040 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

<sup>4</sup> Instituto Peixes das Nuvens, 28941-144 São Pedro da Aldeia, RJ, Brazil.

### **Agradecimentos**

Agradecimentos a Waldir Berbel-Filho, Matheus Volcan e Francisco Falcon por gentilmente cederem fotografias de rivulídeos. Agradecemos à equipe do Tribunal Regional Federal da 4ª Região (TRF4) (Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil), responsável pelo desenvolvimento do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) em 2009. Este trabalho só foi possível graças à transparência e à disponibilização pública de informações processuais e documentais viabilizadas por esse sistema, que amplia o acesso, a rastreabilidade e a auditabilidade dos procedimentos no âmbito do licenciamento ambiental.

## Resumo

O licenciamento ambiental é um instrumento preventivo amplamente utilizado, porém sua efetividade depende da qualidade dos relatórios, da capacidade institucional e do alcance de resultados ambientais mensuráveis. Analisamos inventários biológicos e planos de mitigação produzidos no âmbito do licenciamento ambiental e sistematizamos informações sobre peixes rivulídeos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, um dos grupos de vertebrados mais propensos à extinção em escala nacional. Especificamente, nós (i) sintetizamos a diversidade e as distribuições de rivulídeos e (ii) avaliamos como o grupo tem sido abordado na prática do licenciamento, considerando tipologias de empreendimentos, métodos e esforço amostral, período de amostragem e abordagens de mitigação. O estado abriga sete gêneros e 23 espécies válidas, com endemismo excepcional (21 spp.) e uma grande proporção de táxons ameaçados (18 spp.). Os relatórios de licenciamento abrangeram múltiplos setores, sendo Habitação/Turismo a categoria mais frequente. Os apetrechos de amostragem relatados, em geral, corresponderam à ecologia dos rivulídeos (principalmente puçás, peneiras, redes de arrasto e armadilhas iscadas), mas as descrições metodológicas frequentemente careceram de detalhe para reprodutibilidade e avaliação de detectabilidade. A intensidade amostral foi heterogênea, e a cobertura temporal apenas parcialmente se alinhou às janelas de amostragem recomendadas nacionalmente. Os planos de mitigação refletiram marcos divergentes, variando de propostas de translocação sob perda permanente de habitat a estratégias orientadas à restauração, enfatizando dissuasão, resgate e manejo de topsoil. No geral, a translocação de rivulídeos permanece pouco testada quanto à efetividade e aos riscos. Este estudo fornece um arcabouço aplicado para aprimorar o licenciamento onde Rivulidae ocorrem, oferecendo recomendações práticas para órgãos e consultores para melhorar o desenho amostral, reduzir falsas ausências, aumentar a transparência metodológica e priorizar a mitigação em nível de habitat para componentes raros, localizados e sazonalmente “invisíveis” da biodiversidade.

**Palavras-chave** | licenciamento ambiental; peixes-anuais; técnicas de amostragem; órgão ambiental; avaliação de impacto ambiental; política de conservação

## Abstract

Environmental licensing is a widely used preventive policy instrument, yet its effectiveness depends on report quality, institutional capacity, and the achievement of measurable environmental outcomes. We analyzed biological inventories and mitigation plans produced under the environmental-licensing framework and systematized information on rivulid fishes in Rio de Janeiro State, Brazil—one of the most extinction-prone vertebrate groups nationwide. Specifically, we (i) synthesized rivulid diversity and distributions, and (ii) evaluated how the group has been addressed in licensing practice, considering project typologies, sampling methods and effort, survey timing, and mitigation approaches. The state harbors seven genera and 23 valid species, with exceptionally high endemism (21 spp.) and a large proportion of threatened taxa (18 spp.). Licensing reports encompassed multiple sectors, with Housing/Tourism being the most frequent category. Reported sampling gear generally matched rivulid ecology (mainly dip nets, sieves, seine nets, and baited traps), yet methodological descriptions often lacked detail for reproducibility and detectability assessment. Sampling intensity was heterogeneous, and temporal coverage only partially aligned with nationally recommended sampling windows. Mitigation plans reflected divergent frameworks, ranging from translocation proposals under permanent habitat loss to restoration-oriented strategies emphasizing deterrence, rescue, and topsoil handling. Overall, rivulid translocation remains weakly tested regarding effectiveness and risks. This study provides an applied framework for improving licensing where Rivulidae occur, offering practical recommendations for agencies and consultants to enhance survey design, reduce false absences, improve methodological transparency, and prioritize avoidance and habitat-level mitigation for rare, localized, and seasonally “invisible” components of biodiversity.

**Keywords** | environmental permitting; annual fishes; sampling techniques; environmental authority; environmental impact assessment; conservation policy

## 1 | Introdução

A avaliação de impacto ambiental (AIA) teve origem institucional com a promulgação da National Environmental Policy Act (NEPA), em 1969, nos Estados Unidos, estabelecendo o primeiro marco formal para a avaliação prévia das consequências ecológicas associadas a projetos de infraestrutura (Emerson et al., 2022). Nas décadas seguintes, esse modelo se disseminou internacionalmente e tornou-se um instrumento central de política pública para a promoção do desenvolvimento sustentável após ter sido amplamente endossado pela Declaração do Rio sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, em 1992 (Rio-92) (Sánchez e Croal, 2012). Atualmente adotada por mais de 190 nações, a AIA vai além do mero cumprimento burocrático, funcionando como um processo preventivo essencial que integra critérios ecológicos e sociais à tomada de decisão econômica (Morgan, 2012). Ainda assim, a efetividade desse mecanismo na salvaguarda da biodiversidade global depende intrinsecamente da qualidade técnica e científica das avaliações, pois lacunas metodológicas e a disponibilidade limitada de dados biológicos confiáveis podem comprometer a identificação de espécies vulneráveis e de serviços ecossistêmicos críticos (Jay et al., 2007; Loomis e Dziedzic, 2018). Nesse sentido, a AIA opera como o elo fundamental entre a gestão de recursos naturais e a manutenção da integridade ecológica, consolidando-se como uma ferramenta indispensável para o desenvolvimento sustentável diante da intensificação das pressões antrópicas contemporâneas.

No Brasil, o licenciamento ambiental é o procedimento administrativo abrangente por meio do qual projetos e atividades são autorizados, condicionados, monitorados e, quando necessário, submetidos à avaliação ambiental prévia. Nesse processo regulatório, a avaliação de impacto ambiental (AIA), tipicamente formalizada pelo arcabouço do Estudo de Impacto Ambiental (EIA) e do Relatório de Impacto Ambiental (RIMA), são um dos instrumentos que podem ser exigidos, particularmente para empreendimentos com potencial de impactos ambientais significativos, mas não é obrigatória em todos os casos de licenciamento (Lei nº 6.938/1981; Lei Complementar nº 140/2011). Assim, decisões de licenciamento podem se basear em diferentes níveis e tipos de estudos ambientais (por exemplo, avaliações simplificadas, relatórios técnicos ou EIAs mais abrangentes), dependendo da natureza, magnitude e extensão espacial dos impactos previstos, bem como da sensibilidade e do status jurídico das áreas afetadas (Duarte et al., 2017; Fernandes et al., 2025). Sob a estrutura tripartite de governança do país, a competência para licenciar pode recair sobre a esfera federal, estadual ou municipal, definida por critérios como o alcance geográfico dos impactos (diretos e indiretos), a localização do empreendimento (por exemplo, terras indígenas, mar territorial ou unidades de conservação) e o tipo de atividade envolvida (Nascimento et al., 2020; Borioni e Sánchez, 2023; Reis-Filho et al., 2026). Enquanto o Governo Federal, por meio do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

(IBAMA), licencia projetos de relevância nacional ou regional, órgãos estaduais e municipais geralmente tratam de empreendimentos cujos impactos são predominantemente regionais ou locais, respectivamente, com o objetivo declarado de eficiência administrativa e de proteção ecossistêmica territorialmente distribuída.

Nesse contexto regulatório, os peixes rivulídeos (Cyprinodontiformes: Rivulidae) emergiram como espécies-bandeira no licenciamento ambiental brasileiro por duas razões principais. Primeiro, a ameaça de extinção enfrentada por esses peixes é sem paralelo: uma única família de peixes dulcícolas (isto é, Rivulidae) reúne mais espécies ameaçadas (130 spp.) do que o número total de mamíferos (101 spp.), répteis (70 spp.) e anfíbios (58 spp.) ameaçados no Brasil (Portaria MMA nº 148, 2022). Isso indica que os rivulídeos constituem, numericamente, o grupo faunístico mais ameaçado no país mais biodiverso do planeta (Guedes e Araújo, 2026). Segundo, em resposta ao agravamento das ameaças, o governo brasileiro, por meio do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e, em particular, do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental (CEPTA/ICMBio), coordena desde 2012 o Plano de Ação Nacional para a Conservação de Peixes Rivulídeos Ameaçados de Extinção (PAN Rivulídeos). Planos de Ação Nacionais são instrumentos de política pública concebidos para fomentar a implementação de metas globais de biodiversidade, como as Metas de Aichi; no Brasil, 74,8% das espécies animais ameaçadas estavam contempladas por PANs ao final de 2019 (Vercillo et al., 2023). O PAN Rivulídeos encontra-se atualmente em seu segundo ciclo (1º ciclo: 2012–2018; 2º ciclo: 2022–2027), reunindo múltiplas instituições públicas e privadas e organizações não governamentais e buscando, com base em um diagnóstico das principais ameaças, identificar quais instrumentos de manejo devem ser aprimorados ou otimizados para gerar benefícios diretos à conservação (Portaria ICMBio nº 553). Um dos resultados centrais do plano foi a incorporação dos rivulídeos ao planejamento territorial e ao licenciamento ambiental em escala nacional, oferecendo diretrizes para que autoridades ambientais federais, estaduais e municipais integrem medidas protetivas para espécies e habitats às ações de planejamento, licenciamento, fiscalização, monitoramento e controle (Lanés et al., 2024; ICMBio, 2025).

Em geral, os rivulídeos apresentam alto endemismo e áreas de distribuição geográfica estreitamente restritas, ao mesmo tempo em que compartilham um conjunto de traços de história de vida convergentes associados a habitats descontínuos e frequentemente instáveis, incluindo baixa capacidade de dispersão, pequeno tamanho corporal (média  $\approx$  6 cm de comprimento total), crescimento rápido e maturação precoce, além de acentuado dimorfismo sexual, com machos tipicamente exibindo coloração mais viva do que fêmeas (Costa, 2009; Berois et al., 2016; Loureiro et al., 2018; Guedes et al., 2025a; Costa et al., 2025). Para além desses traços comuns, os rivulídeos incluem algumas das estratégias reprodutivas e de desenvolvimento mais extraordinárias entre vertebrados, incluindo os únicos vertebrados conhecidos com hermafroditismo simultâneo e

autofecundação natural (por exemplo, *Kryptolebias marmoratus*), permitindo que um único indivíduo funde novas populações (frequentemente clonais) (Taylor, 2012). Eles também incluem múltiplas espécies anuais cuja persistência depende de diapausa embrionária, pela qual os ovos permanecem viáveis por meses, sem água livre, em substratos secos, até que a reidratação desencadeie a eclosão (Weber et al., 2025). A evolução de um ciclo de vida anual em uma linhagem de vertebrados é particularmente notável e, funcionalmente, se assemelha a estágios dormentes (por exemplo, sementes, ovos e cistos) que permitem que plantas em ambientes áridos e invertebrados em climas sazonalmente rigorosos sobrevivam a secas prolongadas ou a invernos de congelamento (Furness, 2016).

Essa peculiaridade de história de vida torna as populações temporariamente “invisíveis” e impõe um grande desafio ao licenciamento ambiental: levantamentos conduzidos fora da janela hidrológica apropriada podem falhar em detectar rivulídeos anuais, resultando em impactos evitáveis, extirpações locais ou mesmo na perda de espécies ainda não descritas. Assim, recomendações práticas e protocolos de amostragem específicos para rivulídeos são urgentemente necessários para padronizar procedimentos técnicos e reduzir limitações metodológicas comuns em avaliações realizadas por equipes não especializadas (ICMBio, 2025). Aqui, analisamos relatórios técnicos produzidos no âmbito do licenciamento ambiental no Estado do Rio de Janeiro, uma das regiões sob maior pressão de desenvolvimento no Brasil, e sistematizamos informações-chave para apoiar tanto profissionais de campo quanto autoridades reguladoras. Especificamente, nós (i) sintetizamos a diversidade e as distribuições de rivulídeos e (ii) avaliamos como o grupo tem sido abordado na prática do licenciamento, considerando tipologias de empreendimentos, métodos e esforço amostral, período de amostragem e abordagens de mitigação. Este estudo articula licenciamento ambiental, conservação e prática aplicada ao apoiar consultores ambientais no desenho de campanhas de campo mais eficazes e ao auxiliar autoridades licenciadoras na elaboração de termos de referência alinhados às singularidades ecológicas e biológicas dos rivulídeos, melhorando, assim, os diagnósticos de linha de base, fortalecendo medidas de mitigação e, por fim, reduzindo o risco de extinção.

## 2 | Materiais e Métodos

### 2.1 | Área de estudo

O Estado do Rio de Janeiro (ERJ) localiza-se no sudeste do Brasil, aproximadamente entre 20°30'–23°30' S e 40°30'–45°00' W, com litoral estendendo-se de 21°18' S, 40°57' W a 23°22' S, 44°43' W. Possui área de 43.750 km<sup>2</sup> e população estimada em 16,2 milhões de habitantes, com densidade demográfica de 366,97 habitantes/km<sup>2</sup>, além do segundo maior Produto Interno Bruto (PIB) per capita entre as unidades federativas do Brasil (IBGE, 2025). A paisagem é caracterizada por relevo montanhoso acidentado, com a Serra do Mar atravessando o estado e atingindo altitudes acima de 2.300 m, bem como por uma morfologia costeira diversa (falésias, baías, enseadas e estuários), formando um mosaico de tipos de cobertura e usos do solo (Soares-Gomes et al., 2016). O clima regional é predominantemente quente e úmido, com forte influência orográfica associada às cadeias montanhosas: totais anuais de precipitação reportados podem alcançar ~3.000 mm em áreas de crista e ~1.200 mm em porções costeiras e a sotavento (Luiz-Silva e Oscar-Júnior, 2022). Do ponto de vista ambiental, predomina o bioma Mata Atlântica, com campos de altitude, além de restingas e manguezais ao longo da costa (Guimarães et al., 2024). As planícies costeiras do Estado do Rio de Janeiro têm sido consideradas um importante *hotspot* de diversidade de rivulídeos (Costa, 2012).

### 2.2 | Diversidade de espécies e identificação taxonômica

O *Eschmeyer's Catalog of Fishes* (Fricke et al., 2026) foi adotado como referência taxonômica para definir quais gêneros e espécies válidas de Rivulidae ocorrem no Estado do Rio de Janeiro. A única exceção refere-se a *Kryptolebias caudomarginatus* Seegers, 1984, tratada como espécie válida no Catálogo, mas aqui considerada sinônimo júnior de *Kryptolebias ocellatus* (Hensel, 1868). Essa decisão segue a revisão de Costa (2011), que, com base na reanálise do holótipo de *Rivulus ocellatus* e em comparações morfológicas detalhadas, concluiu que os caracteres diagnósticos de *K. caudomarginatus* se enquadram na variação de *K. ocellatus*, propondo formalmente a sinonímia. Estudos subsequentes sobre o complexo de rivulídeos de manguezal têm adotado essa interpretação e referem *K. caudomarginatus* como sinônimo de *K. ocellatus* (por exemplo, ICMBio, 2026). Em contraste, alguns catálogos e listas de ictiofauna ainda registram *K. caudomarginatus* como espécie válida (Huber, 2016; Sarmento-Soares et al., 2024) ou reconhecem explicitamente que a nomenclatura permanece em debate (Berbel-Filho et al., 2023).

Uma chave de identificação para os sete gêneros de Rivulidae que ocorrem no Estado do Rio de Janeiro foi elaborada com base em caracteres diagnósticos observáveis em espécimes adultos vivos, permitindo a identificação em campo e a liberação subsequente

dos indivíduos, uma vez que a captura e a retenção de espécies ameaçadas no Brasil frequentemente são restritas ou proibidas no contexto do licenciamento ambiental. A chave também permite identificação em nível de espécie para os gêneros *Ophthalmolebias* (*O. constanciae*) e *Leptolebias* (*L. marmoratus*). Para os demais gêneros, que incluem mais de uma espécie no Estado do Rio de Janeiro, a identificação em nível específico deve seguir a literatura especializada: Costa (2014) para *Atlantirivulus*, Costa et al. (2014) para *Nematolebias*, Costa e Amorim (2013) para *Notholebias*, Costa (2019) para *Leptopanchax*, e Berbel-Filho et al. (2016) em conjunto com Costa (2004, 2007, 2011) para *Kryptolebias*. Identificações em campo podem ser adicionalmente facilitadas ao se considerar a ocorrência geográfica conhecida de cada espécie (municípios e bacias de drenagem) como referência (Tabela 1).

### 2.3 | Distribuição geográfica

A distribuição geográfica das espécies de Rivulidae no Estado do Rio de Janeiro foi estabelecida por meio da integração de múltiplas fontes de dados complementares. Como base principal, utilizamos registros da plataforma SALVE (<https://salve.icmbio.gov.br>), um sistema que compila informações sobre a biodiversidade brasileira a partir de coleções científicas, literatura especializada e registros de campo validados por especialistas (ICMBio, 2026). Além disso, incorporamos a base de dados organizada por Guedes et al. (2025a), que reúne informações atualizadas de ocorrência para espécies anuais de rivulídeos, incluindo registros recentes no Estado do Rio de Janeiro. Por fim, incluímos registros inéditos gerados pelos autores durante expedições científicas e visitas a coleções museológicas (4 registros), bem como registros derivados de estudos ambientais realizados no contexto do licenciamento ambiental estadual (Instituto Estadual do Ambiente—INEA; 20 registros), obtidos a partir de relatórios técnicos disponibilizados pelo sistema de “consulta pública” do Sistema Eletrônico de Informações do Estado do Rio de Janeiro (SEI-RJ; <https://portalsei.rj.gov.br>). Esses relatórios foram cuidadosamente revisados, e apenas registros com identificação taxonômica confiável (incluindo fotografias dos espécimes) e informação espacial suficientemente precisas (coordenadas com graus, minutos e segundos) foram retidos. Todos os registros provenientes das diferentes fontes foram padronizados quanto à taxonomia, verificados quanto a duplicatas e inconsistências espaciais e, então, compilados em um único conjunto de dados. As distribuições geográficas das espécies foram delineadas por meio da sobreposição dos registros de ocorrência com camadas vetoriais de limites municipais fornecidas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e de limites de sub-bacias fornecidos pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA). Todos os registros de espécies, incluindo coordenadas geográficas, estão disponíveis nas Informações Suplementares deste estudo (Tabela S1—Apêndice A).

## 2.4 | Licenciamento ambiental

Para identificar quais métodos de captura são mais frequentemente utilizados em levantamentos, os tipos de empreendimentos/projetos licenciados, os períodos do ano em que as amostragens são conduzidas e o esforço amostral empregado, foi realizada uma busca pública sistemática no Sistema Eletrônico de Informações do Estado do Rio de Janeiro (SEI-RJ), plataforma oficial de gestão de relatórios eletrônicos e processos administrativos, incluindo aqueles relacionados ao licenciamento ambiental em nível estadual (<https://portalsei.rj.gov.br/>). A busca foi conduzida em dezembro de 2025, utilizando consultas em língua portuguesa, incluindo as palavras-chave “Rivulidae”, “rivulídeos” e os nomes científicos de todas as espécies registradas no estado (por exemplo, *Leptopanchax opalescens*). As buscas foram realizadas nas seções “Processos” e “Documentos Gerados”, e todos os registros que continham esses termos foram triados.

No total, foram analisados 21 relatórios técnicos produzidos entre dezembro de 2013 e dezembro de 2025. Esses documentos compreenderam 18 entregáveis de inventário e monitoramento (por exemplo, planos de trabalho, relatórios de levantamento, relatórios de monitoramento e relatórios de avaliação de impacto ambiental) e três relatórios orientados à gestão (planos de manejo *in situ/ex situ* e de translocação), abrangendo múltiplas etapas do licenciamento ambiental sob o arcabouço jurídico ambiental brasileiro. Para cada relatório técnico, extraímos e padronizamos informações sobre o tipo de empreendimento (por exemplo, obras de infraestrutura, habitação, transporte); os métodos de amostragem/captura empregados (por exemplo, técnicas ativas e/ou passivas); o esforço amostral reportado (isto é, número total de dias de amostragem somados em todas as campanhas e número total de campanhas); e a distribuição temporal do monitoramento, registrando os meses em que as campanhas foram conduzidas e o período sazonal coberto (por exemplo, estação seca vs. chuvosa). Além disso, compilamos informações sobre a metodologia de manejo descrita (quando aplicável) e sobre o tipo de manejo proposto ou implementado (por exemplo, medidas *in situ* e/ou *ex situ*, resgate/translocação e outras estratégias). Todos os relatórios técnicos analisados estão disponíveis nas Informações Suplementares deste estudo (Apêndice B).

### 3 | Resultados

#### 3.1 | Diversidade de espécies e identificação

No Estado do Rio de Janeiro, são atualmente reconhecidos sete (7) gêneros de peixes rivulídeos: *Atlantirivulus* Costa (2008), *Kryptolebias* Costa (2004), *Leptolebias* Myers (1952), *Leptopanchax* Costa (2016), *Nematolebias* Costa (1998), *Notholebias* Costa (2008) e *Ophthalmolebias* Costa (2006). *Atlantirivulus* é o gênero mais rico em espécies no estado (6 spp.), seguido por *Notholebias*, *Leptopanchax* e *Kryptolebias* (4 spp. cada), *Nematolebias* (3 spp.), enquanto *Leptolebias* e *Ophthalmolebias* são representados por uma única espécie cada. Em conjunto, esses sete gêneros totalizam as 23 espécies válidas atualmente reconhecidas para o Estado do Rio de Janeiro.

Dessas 23 espécies, 21 são endêmicas do estado (Tabela 1; Fig. 1), e 18 estão oficialmente listadas como ameaçadas de extinção em nível federal nas categorias Criticamente em Perigo (CR) ou Em Perigo (EN), enquanto cinco (5) espécies atualmente não são ameaçadas e estão classificadas como Pouco Preocupante (LC). *Leptopanchax sanguineus* Costa (2019), além de Criticamente em Perigo, é a única espécie atualmente sinalizada como Possivelmente Extinta (CR-PEX). Quanto ao ciclo de vida, o conjunto inclui 13 espécies anuais/sazonais e 10 espécies não anuais/perenes.

**Tabela 1.** Lista de espécies da família Rivulidae com distribuição conhecida no Estado do Rio de Janeiro (Brasil), incluindo os respectivos municípios e bacias hidrográficas onde ocorrem. CA, categoria nacional de ameaça (MMA nº 148, 2022; ICMBio, 2026). LC, ciclo de vida: AS, anual/sazonal; PE, perene/não anual. Nomes das sub-bacias de acordo com o Instituto Estadual do Ambiente do Rio de Janeiro (INEA).

| Espécie                                               | CA | LC | Municípios                                                                                                                     | Sub-Bacia                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------|----|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Atlantirivulus guanabarensis</i> Costa, 2014       | LC | PE | Duque de Caxias, Guapimirim, Itaboraí, Magé, Nilópolis, Rio de Janeiro                                                         | Bacias de contribuição da lagoa de Jacarepaguá; Caceribu; Pavuna–Meriti; Guapimirim–Macacu; Estrela–Inhomirim–Saracuruna; Roncador ou Santo Aleixo; Iguaçu; Iriri                                                                                            |
| <i>Atlantirivulus janeiroensis</i> (Costa, 1991)      | LC | PE | Casimiro de Abreu, Macaé, Silva Jardim                                                                                         | São João, Macaé                                                                                                                                                                                                                                              |
| <i>Atlantirivulus jurubatibensis</i> (Costa, 2008)    | LC | PE | Quissamã                                                                                                                       | Bacias de contribuição da baía da Restinga de Jurubatiba                                                                                                                                                                                                     |
| <i>Atlantirivulus lazzarotoi</i> (Costa, 2007)        | CR | PE | Angra dos Reis                                                                                                                 | Bacias de contribuição da baía de Ribeira                                                                                                                                                                                                                    |
| <i>Atlantirivulus maricensis</i> Costa 2014           | CR | PE | Maricá                                                                                                                         | Bacias de contribuição da lagoa de Maricá                                                                                                                                                                                                                    |
| <i>Atlantirivulus simplicis</i> (Costa, 2004)         | EN | PE | Paraty                                                                                                                         | Bacias de contribuição da baía de Paraty                                                                                                                                                                                                                     |
| <i>Kryptolebias brasiliensis</i> (Valenciennes, 1821) | EN | PE | Cachoeiras de Macacu, Duque de Caxias, Guapimirim, Itaguaí, Magé, Mangaratiba, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, São João de Meriti | Guandu (Canal São Francisco); bacias do complexo de lagoas de Jacarepaguá; Portinho; Piraquê ou Cabuçu; Estrela–Inhomirim–Saracuruna; Roncador ou Santo Aleixo; Guapimirim–Macacu; Marambaia Restinga; Mazomba; Mangaratiba–Itacuruçá; Iguaçu; Guarda; Suruí |
| <i>Kryptolebias ocellatus</i> (Hensel, 1868)          | LC | PE | Duque de Caxias, Iguaba Grande, Magé, Mangaratiba, Paraty, Rio de Janeiro                                                      | Sistema Marinho-costeiro                                                                                                                                                                                                                                     |

|                                                                     |       |    |                                                                                                  |                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------|-------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Kryptolebias hermaphroditus</i> Costa, 2011                      | LC    | PE | Araruama, Iguaba Grande, Itaguaí, Magé, Mangaratiba, Rio de Janeiro, São Pedro da Aldeia         | Sistema Marinho-costeiro                                                                    |
| <i>Kryptolebias gracilis</i> Costa, 2007                            | CR    | PE | Maricá, Saquarema                                                                                | Bacias de contribuição da Lagoa de Saquarema                                                |
| <i>Leptolebias marmoratus</i> (Ladiges, 1934)                       | CR    | AS | Duque de Caxias, Magé, Nova Iguaçu                                                               | Estrela–Inhomirim–Saracuruna; Suruí; Iguaçu                                                 |
| <i>Leptopanchax citrinipinnis</i> (Costa, Lacerda & Tanizaki, 1988) | CR    | AS | Maricá                                                                                           | Bacias de contribuição da Lagoa de Maricá                                                   |
| <i>Leptopanchax opalescens</i> (Myers, 1942)                        | CR    | AS | Duque de Caxias, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Seropédica                                         | Estrela–Inhomirim–Saracuruna; Iguaçu; Guandu; Guarda; Pavuna–Meriti                         |
| <i>Leptopanchax sanguineus</i> Costa, 2019                          | CR PE | AS | Magé                                                                                             | Roncador ou Santo Aleixo                                                                    |
| <i>Leptopanchax splendens</i> (Myers, 1942)                         | CR    | AS | Duque de Caxias, Magé                                                                            | Suruí; Estrela–Inhomirim–Saracuruna                                                         |
| <i>Nematolebias catimbau</i> Costa, Amorim & Aranha, 2014           | CR    | AS | Saquarema                                                                                        | Bacias de contribuição da Lagoa de Saquarema                                                |
| <i>Nematolebias papilliferus</i> Costa, 2002                        | CR    | AS | Maricá                                                                                           | Bacias de contribuição da Lagoa de Maricá                                                   |
| <i>Nematolebias whitei</i> (Myers, 1942)                            | CR    | AS | Armação dos Búzios, Cabo Frio, Casimiro de Abreu, São Pedro da Aldeia, Saquarema, Rio das Ostras | São João; Una; Búzios; Bacias de contribuição da Lagoa de Araruama                          |
| <i>Notholebias cruzi</i> (Costa, 1988)                              | CR    | AS | Casimiro de Abreu                                                                                | São João                                                                                    |
| <i>Notholebias fractifasciatus</i> (Costa, 1988)                    | CR    | AS | Maricá                                                                                           | Bacias de contribuição da Lagoa de Maricá                                                   |
| <i>Notholebias minimus</i> (Myers, 1942)                            | EN    | AS | Rio de Janeiro, Seropédica, Itaguaí                                                              | Guarda; Guandu; Piraquê ou Cabuçu; Portinho; Bacias de contribuição da lagoa de Jacarepaguá |
| <i>Notholebias vermiculatus</i> Costa & Amorim, 2013                | CR    | AS | Maricá, Saquarema                                                                                | Bacias de contribuição da Lagoa de Saquarema                                                |
| <i>Ophthalmolebias constanciae</i> (Myers, 1942)                    | CR    | AS | Cabo Frio, Casimiro de Abreu, Rio das Ostras                                                     | São João, Una                                                                               |

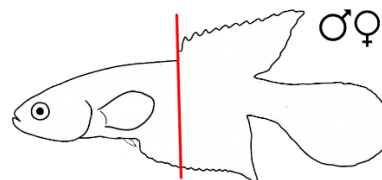


**Figura 1** | Registros fotográficos de algumas espécies da família Rivulidae no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. ♂, macho; ♀, fêmea; ♂♀, hermafrodita.

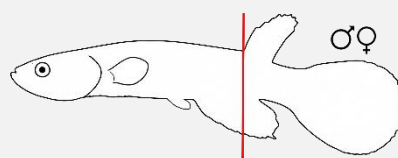
A seguir, apresenta-se uma chave dicotômica para identificação morfológica em nível de gênero dos Rivulidae do Estado do Rio de Janeiro (Tabela 2). Para sua aplicação efetiva, recomenda-se examinar indivíduos sexualmente maduros (adultos) de ambos os sexos (machos e fêmeas), exibindo coloração vívida.

**Tabela 2** | Chave dicotômica para identificação morfológica, em nível de gênero, dos Rivulidae que ocorrem no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

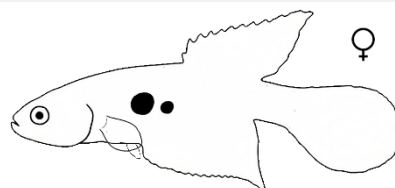
1a. Nadadeira dorsal originando-se no alinhamento vertical da metade anterior da base da nadadeira anal ..... 2



1b. Nadadeira dorsal originando-se no alinhamento vertical da metade posterior da base da nadadeira anal ..... 6



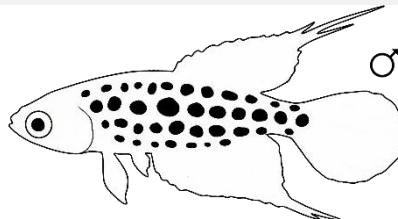
2a. Fêmeas com uma ou mais manchas laterais arredondadas entre as nadadeiras pélvica e dorsal ..... 3



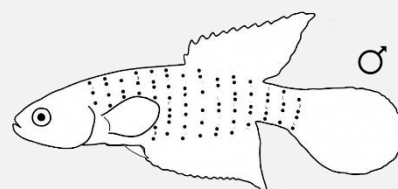
2b. Manchas laterais arredondadas ausentes nessa região ..... 4



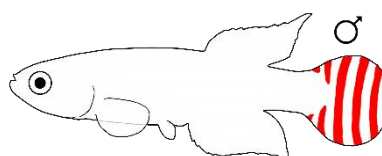
3a. Machos com quatro fileiras horizontais de manchas negras arredondadas no flanco — manchas maiores que as escamas; raios longos e filamentosos nas extremidades das nadadeiras dorsal e anal ..... *Ophthalmolebias constanciae*



3b. Machos com mais de 10 fileiras verticais de manchas iridescentes no flanco — manchas aproximadamente do tamanho das escamas; raios longos e filamentosos nas extremidades das nadadeiras dorsal e anal ausentes ..... *Nematolebias* (3 spp.)

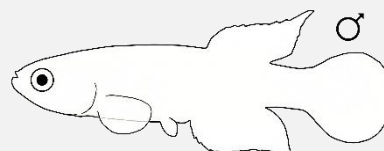


4a. Machos com barras verticais avermelhadas na nadadeira caudal ..... *Notholebias* (4 spp.)



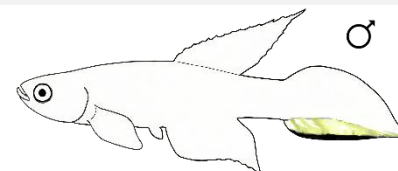
4b. Barras verticais ausentes na nadadeira caudal

..... 5



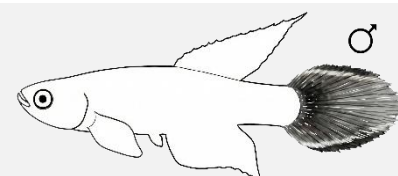
5a. Machos com uma faixa horizontal ventral esbranquiçada-amarelada na nadadeira caudal

..... *Leptolebias marmoratus*



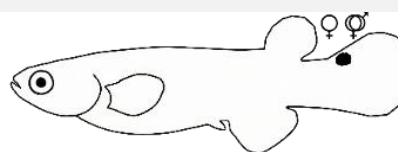
5b. Machos com coloração da nadadeira caudal simétrica, sem faixa horizontal ventral

..... *Leptopanchax* (4 spp.)

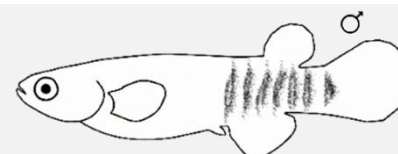


6a. Fêmeas ou hermafroditas com uma marca arredondada na base dorsal da nadadeira caudal; machos com coloração semelhante nas metades anterior e posterior do flanco

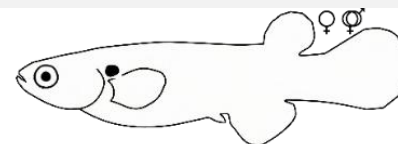
..... 7



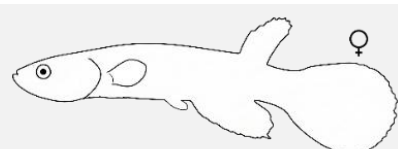
6b. Marca arredondada ausente; machos com barras negras verticais na metade distal do flanco ..... *Kryptolebias* de água doce (2 spp.)



7a. Fêmeas, machos ou hermafroditas com uma marca negra arredondada acima da nadadeira peitoral ..... *Kryptolebias* de mangue (2 spp.)



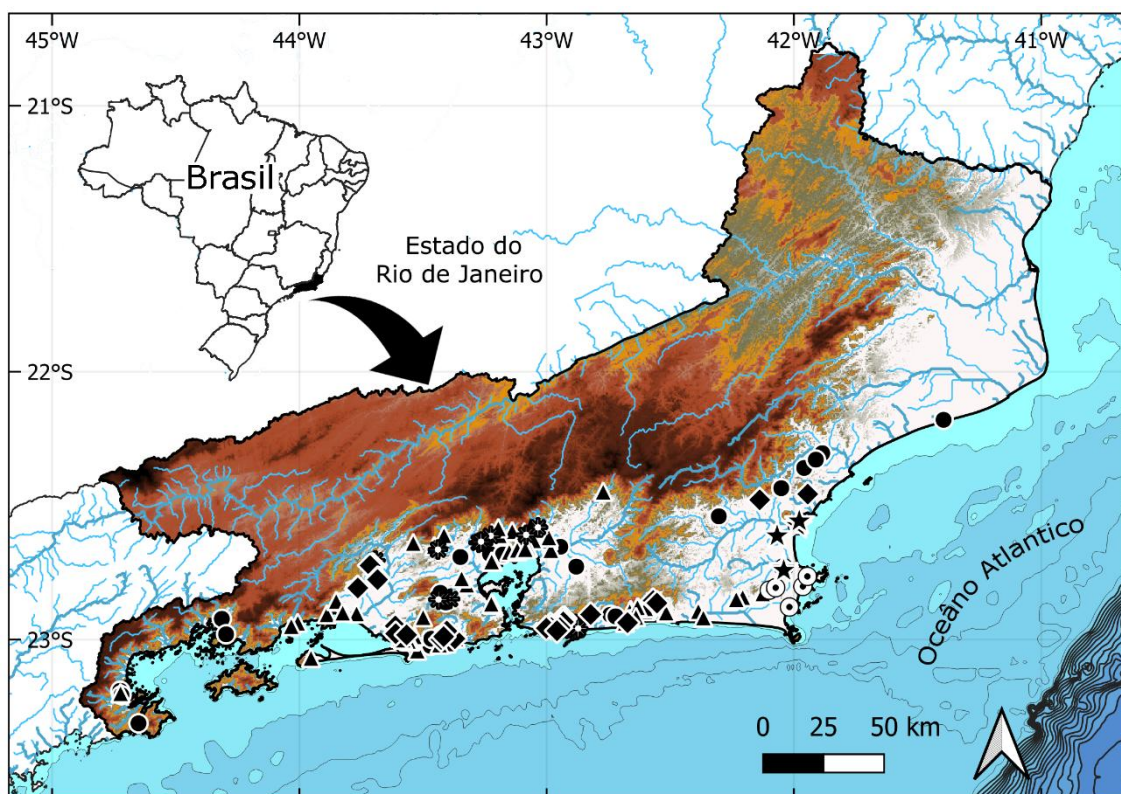
7b. Região acima da nadadeira peitoral sem marca ..... *Atlantirivulus* (6 spp.)



### 3.2 | Distribuição das espécies

Entre as 23 espécies, 21 ocorrem principalmente em habitats rasos de água doce, como brejos sazonais ou perenes (em fragmentos florestais e/ou em áreas abertas) e pequenos cursos d'água. Apenas duas espécies, *Kryptolebias ocellatus* (Hensel, 1868) e *Kryptolebias hermaphroditus* Costa (2011), estão associadas a ambientes salobros, incluindo estuários e manguezais. Todas as espécies atualmente conhecidas estão distribuídas em áreas situadas ao sul da Serra do Mar, que representa o principal divisor biogeográfico que molda a ocorrência de rivulídeos no Estado do Rio de Janeiro (Fig. 2; Figs. S1–S23, Apêndice C). A faixa altitudinal de ocorrência varia de 0 a 130 m acima do nível do mar, com *Kryptolebias brasiliensis* alcançando as maiores altitudes e se destacando por utilizar pequenos cursos d'água e deslocar-se rio acima. No conjunto, os registros abrangem 29

sub-bacias hidrográficas e 26 municípios do Estado do Rio de Janeiro (Tabela 1), incluindo, entre outros, Paraty, Angra dos Reis, Seropédica, Nova Iguaçu, Duque de Caxias, Magé, Maricá, Saquarema, Cabo Frio, Casimiro de Abreu e Rio das Ostras. As duas espécies de mangue, *K. ocellatus* e *K. hermaphroditus*, apresentam ocorrência potencial ao longo de toda a linha costeira e podem estar presentes em praticamente todos os municípios litorâneos do Estado do Rio de Janeiro.



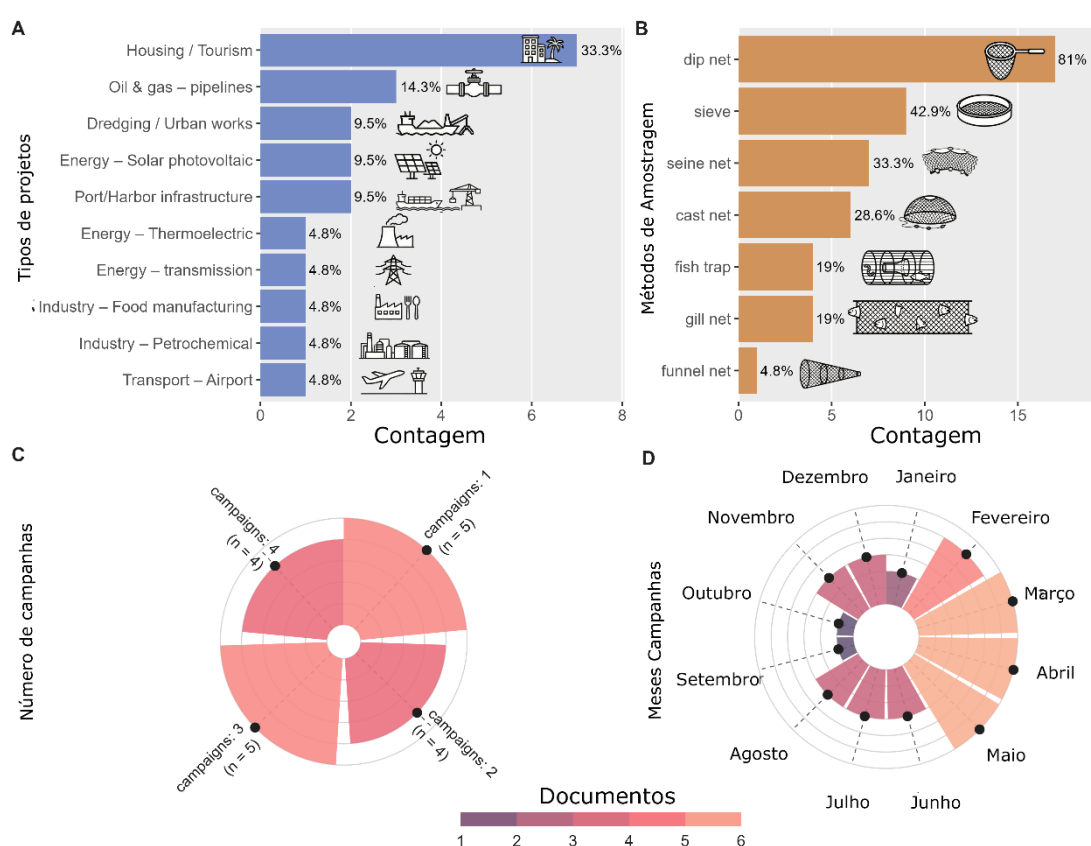
**Figura 2** | Registros de ocorrência de peixes rivulídeos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os gêneros são diferenciados pelo tipo de símbolo e padrão de preenchimento: *Atlantirivulus* (círculo preenchido), *Kryptolebias* (triângulo), *Leptopanchax* (círculo vazio), *Nematolebias* (círculo preenchido com contorno branco), *Notholebias* (quadrado), *Leptolebias* (estrela de quatro pontas) e *Ophthalmolebias* (estrela de cinco pontas). Gradiente de cores do mapa indicando altitude baixas (cor branca) até altitude mais elevadas (marrom escuro). Mapas de distribuição específicos para as 23 espécies registradas no estado são apresentados nas Figs. S1–S23 (Apêndice C).

### 3.3 | Licenciamento ambiental

Os 21 relatórios técnicos analisados, vinculados ao licenciamento ambiental, abrangeram uma ampla variedade de tipologias de empreendimentos (Fig. 3a). A categoria mais frequente foi Habitação/Turismo (33,3%), seguida por Energia (19,0%) e Indústria (9,5%) (Tabela S1 – Apêndice B). Dentro de Infraestrutura, predominou o transporte de óleo e gás (dutos; 14,3%), seguido por infraestrutura portuária/hidroviária (9,5%), dragagem/obras urbanas (9,5%) e transporte/aeroporto (4,8%). No setor de Energia, os

projetos estiveram principalmente associados à geração elétrica, com destaque para geração solar fotovoltaica e termelétrica, além de linhas de transmissão.

Foram identificadas sete técnicas de amostragem, contemplando métodos de captura ativos e passivos. Puçás (81,0%), peneiras (42,9%), redes de arrasto (33,3%) e armadilhas iscadas para peixes (19,0%) foram as mais frequentemente reportadas (Fig. 3b; Fig. 4). Tarrafas (28,6%) e redes de espera (19,0%) também foram mencionadas, geralmente no contexto de levantamentos mais amplos voltados à detecção de outras espécies de peixes em ambientes maiores e perenes (p.ex., rios e lagos), enquanto redes tipo covo ("funnel nets") foram registradas apenas de forma esporádica (4,8%).



**Figura 3** | Síntese dos relatórios técnicos avaliados no contexto do licenciamento ambiental para peixes rivulídeos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. (A) Tipos de empreendimentos licenciados; (B) Métodos de amostragem de peixes; (C) Número total de campanhas amostrais por empreendimento; (D) Frequência mensal das campanhas amostrais.

O esforço amostral reportado foi altamente variável e nem sempre completo. O número total de campanhas variou de 1 a 4 por empreendimento (média  $\approx 2,4$ ) (Fig. 3c). O total de dias de amostragem foi informado em 17/21 relatórios, variando de 1 a 24 dias por empreendimento (média  $\approx 12$  dias). Considerando apenas os casos em que tanto os dias

amostrais quanto as campanhas foram informados ( $n = 14$ ), a duração média estimada foi  $\approx 4,7$  dias por campanha (variando de 1 a 10 dias/campanha).

Quanto ao período sazonal das campanhas, a distribuição foi equilibrada: 44,4% reportaram amostragens no período chuvoso e 44,4% em ambos os períodos (seco e chuvoso), enquanto 11,1% não informaram o período (dados ausentes). Em termos de meses, março, abril e maio foram os mais recorrentes (seis relatórios cada), seguidos por fevereiro (cinco relatórios) e janeiro (dois relatórios). Junho, julho, agosto, novembro e dezembro foram registrados em três relatórios cada, enquanto setembro e outubro ocorreram em apenas um relatório cada (Fig. 3d).

Em relação aos três planos de mitigação/manejo analisados, observou-se um conjunto heterogêneo de propostas. Dois planos trataram cenários de perda permanente de habitat associada à implantação do empreendimento, propondo estratégias de introdução/translocação (em um caso, apoiadas por um componente *ex situ* com manutenção temporária em aquários) (Tabela S1 – Apêndice B). Em contraste, um plano concentrou-se em um cenário de impacto temporário, priorizando dissuasão, resgate e manejo de topsoil, com medidas voltadas à restauração do habitat após a obra e à posterior recolonização por populações de rivulídeos (Tabela S1 – Apêndice B).



**Figura 4** | Registros fotográficos de diferentes métodos de captura utilizados para rivulídeos: (a) puçás, (b) redes de arrasto, (c) peneiras e (d) armadilhas iscadas para peixes.

## 4 | Discussão

### 4.1 | Diversidade de espécies e identificação

O Estado do Rio de Janeiro abriga uma fauna de rivulídeos excepcionalmente diversa (23 spp.), endêmica (21 spp.; 91%) e ameaçada (18 spp.; 78%), destacando o estado como uma área prioritária para a conservação de rivulídeos no Brasil. Um conjunto regional com proporção tão elevada de espécies ameaçadas é incomum e é consistente com o histórico de intensa transformação do bioma Mata Atlântica, um *hotspot* global de biodiversidade, que atualmente retém apenas 11–16% de sua cobertura original (Rezende et al., 2018; Amaral et al., 2025). Esse cenário de ameaça não é apenas um legado de impactos passados; ele reflete a atuação contínua de vetores contemporâneos, como drenagem e aterramento de áreas úmidas, expansão urbana, alteração de regimes hidrológicos e conectividade, poluição, incêndios e fragmentação de habitat (Costa, 2012; Volcan and Lanés, 2018; Castro and Polaz, 2020; Guedes et al., 2023a; Guedes et al., 2025b; Guedes and Araújo, 2026), que incidem intensamente sobre ambientes intrinsecamente pequenos, isolados e altamente vulneráveis. Dada essa combinação de microendemismo e alta ameaça (Guedes et al., 2025a), a qualidade do diagnóstico de campo torna-se decisiva, pois subdetecções e identificações imprecisas podem levar à subestimação de impactos e, conseqüentemente, à perpetuação da perda de habitat (ICMBio, 2025). Nesse contexto, o licenciamento ambiental, quando efetivamente orientado à salvaguarda da biodiversidade, e não tratado como mero procedimento burocrático, pode desempenhar um papel preventivo central, por frequentemente constituir a principal janela regulatória em que levantamentos direcionados são exigidos e em que medidas de evitamento e mitigação, baseadas em evidências, podem ser definidas para minimizar, ou mesmo interromper, a perda de habitat.

Entretanto, um obstáculo recorrente no licenciamento é que as ferramentas taxonômicas disponíveis nem sempre são prontamente aplicáveis em campo. Em geral, chaves de identificação para rivulídeos são publicadas no contexto de revisões taxonômicas (de gêneros ou complexos de espécies) e de descrições/redescrições de táxons, e frequentemente dependem de caracteres diagnósticos difíceis de inspecionar visualmente em espécimes vivos, como contagens de raios de nadadeiras, séries de escamas e detalhes do sistema laterossensorial cefálico (padrões de neuromastos) (e.g., Costa, 2009, 2016, 2019). A chave ilustrada de identificação em nível de gênero baseada em espécimes vivos, apresentada neste estudo, não pretende substituir a análise cuidadosa em laboratório ou a confirmação taxonômica quando necessária. Em vez disso, ela oferece uma solução aplicada para aumentar a qualidade, a padronização e a confiabilidade das identificações em situações típicas de licenciamento ambiental, nas quais a eutanásia de espécies ameaçadas é restrita ou proibida (ICMBio, 2025). Além de aprimorar a tomada de decisão em campo, a chave traz benefícios diretos ao bem-estar

dos peixes ao reduzir o tempo de contenção e manuseio e, conseqüentemente, minimizar estresse e mortalidade, permitindo a liberação imediata dos indivíduos após a identificação.

#### **4.2 | Distribuição das espécies e habitats**

A distribuição regional dos rivulídeos concentra-se em uma faixa altitudinal estreita, entre 0 e 130 m acima do nível do mar, embora o Estado do Rio de Janeiro alcance altitudes de até 2.789 m no Pico das Agulhas Negras (Parque Nacional do Itatiaia; Guedes et al. 2025c). A Serra do Mar emerge como uma importante barreira biogeográfica, restringindo as espécies de rivulídeos às áreas ao sul do maciço e também definindo limites de distribuição para diversos outros grupos de peixes continentais (Buckup, 2011; Ribeiro, 2006; Dopazo et al., 2023; Sarmento-Soares et al., 2024). Simultaneamente, essa feição geomorfológica direciona prioridades de conservação e amostragem para municípios localizados na planície costeira e na transição planície-serra. No entanto, a riqueza de espécies não é distribuída de forma homogênea entre unidades hidrográficas e divisões geopolíticas. Certos municípios (e.g., Magé, Duque de Caxias e Maricá) e bacias (Estrela-Inhomirim-Saracuruna, 5 spp.; Complexo Lagunar de Maricá, Iguaçu e São João, 4 spp.) se destacam como núcleos de alta diversidade e devem ser tratados como áreas estratégicas para inventários biológicos e ações preventivas no processo de licenciamento ambiental.

Embora o Rio de Janeiro seja um estado com histórico de amostragem ictiológica intensiva (Bizerril e Primo, 2001; Camilo et al., 2015; Dopazo et al., 2023; Sarmento-Soares et al., 2024; Araújo et al., 2024), novos registros de rivulídeos continuam sendo documentados, particularmente em planícies costeiras (Guedes et al., 2020; Guedes et al., 2023a). Além disso, a amostragem de peixes em ecossistemas aquáticos de serras permanece amplamente subexplorada no Brasil (Guedes et al., 2025c), indicando que lacunas persistem mesmo em regiões geopolíticas consideradas relativamente bem conhecidas. Isso reforça que registros de “ausência” em municípios, sub-bacias e sítios destinados a empreendimentos devem ser interpretados com cautela. Tais registros podem refletir limitações de esforço amostral, sazonalidade e detectabilidade especialmente para espécies associadas a ambientes temporários, e não ausência real. Conseqüentemente, inventários devem tratar “ausências” de rivulídeos como hipóteses a serem testadas por levantamentos direcionados, e não como conclusões definitivas.

Essa cautela é particularmente relevante porque uma parcela substancial de novos registros e populações tem sido recentemente revelada no contexto do licenciamento ambiental (e.g., Guedes et al., 2020; Souto-Santos et al., 2021; Godoy et al., 2025), frequentemente em ritmo superior ao de levantamentos acadêmicos formais. Ainda assim, um erro recorrente observado no processo de licenciamento é a elaboração imprecisa de listas secundárias de espécies para ocorrência potencial em áreas

candidatas, muitas vezes baseada em extrapolações espaciais inadequadas ou registros desatualizados. Ao revisar criteriosamente a distribuição das espécies em escalas municipal e de bacias/sub-bacias, este estudo fornece, pela primeira vez, um arcabouço mais robusto para compor listas acuradas e defensáveis. Isso esclarece quais espécies devem efetivamente ser procuradas em cada município e sub-bacia, orientando campanhas de campo mais direcionadas.

Em escala local, áreas potenciais de ocorrência de rivulídeos podem ser delimitadas combinando geomorfologia com tipos de vegetação indicadora. Como regra, rivulídeos ocorrem em ambientes muito rasos, tipicamente entre 10 cm e 1 m de profundidade (Costa, 2009). Para espécies não anuais, o rastreio deve priorizar: (i) manguezais e ambientes estuarinos sob influência de marés, caracterizados por micro-habitats crípticos, como serapilheira úmida, troncos submersos, tocas de caranguejos, e por um mosaico de salinidade (água salobra), condições consistentes com o hábito semi-terrestre e o uso de microrefúgios entremarés por *Kryptolebias ocellatus* e *K. hermaphroditus* (Turko and Wright, 2015); e (ii) brejos perenes, pequenos córregos de água doce e valas de drenagem, com baixa vazão, margens vegetadas e alta complexidade estrutural, onde se concentram registros e relatos taxonômicos baseados em riachos costeiros (e.g., *K. brasiliensis*, *Atlantirivulus guanabarensis*). Para rivulídeos anuais (e.g., *Notholebias*, *Ophthalmolebias* e outros táxons associados a áreas úmidas temporárias), os alvos mais previsíveis no Estado do Rio de Janeiro são depressões rasas e brejos sazonais em planícies costeiras e sistemas de restinga, marcados por forte variação intra-anual na lâmina d'água e no hidroperíodo. Esses habitats incluem poças temporárias e brejos sombreados em fragmentos florestais ou em formações mais abertas, onde macrófitas podem se desenvolver nas porções mais expostas (Costa, 2019; Guedes et al., 2023a). Do ponto de vista da vegetação, formações herbáceas e palustres, especialmente taboais (*Typha* spp.) e cobertura densa de ciperáceas (Cyperaceae) sobre solos orgânicos sazonalmente encharcados, funcionam como marcadores consistentes de micro-habitats úmidos e transicionais (úmido–seco) (Bove et al., 2002; Guimarães et al., 2024) que frequentemente estruturam os mosaicos de habitat nos quais rivulídeos se estabelecem.

### **4.3 | Licenciamento ambiental**

#### **4.3.1 | Tipos de empreendimentos**

Rivulídeos têm sido considerados no licenciamento ambiental em nível estadual em múltiplos contextos de empreendimentos, variando de obras de infraestrutura a projetos no setor de energia. No conjunto de dados analisado, Habitação/Turismo foi a tipologia mais frequente (33%). Contudo, é plausível que essa categoria esteja sub-representada por duas razões principais. Primeiro, uma parcela substancial de empreendimentos habitacionais no Brasil é licenciada em nível municipal, porque o arcabouço legal

brasileiro atribui aos municípios a responsabilidade pelo licenciamento de atividades e projetos com impactos ambientais locais, ao passo que empreendimentos com maior alcance espacial e/ou maior complexidade tendem a ser licenciados em nível estadual (Lei complementar No. 140/2011), como nos casos examinados neste estudo. Segundo, uma fração considerável da perda de habitat de rivulídeos decorre de construções residenciais de pequena escala que não requerem licenciamento ambiental e/ou de intervenções irregulares que violam a legislação aplicável. No Brasil, 82% das pessoas que realizaram obras de construção relataram fazê-lo sem contratar profissionais tecnicamente habilitados (arquitetos/engenheiros) (CAU/Datafolha, 2022), o que frequentemente implica ausência de documentos formais de projeto e de registro oficial perante as autoridades competentes e, conseqüentemente, ausência de licenciamento ambiental (quando aplicável).

Apesar dessa potencial sub-representação, a predominância de Habitação/Turismo nos processos de licenciamento avaliados é consistente com evidências independentes indicando que a urbanização tem sido um dos vetores mais dinâmicos de perda de habitat de rivulídeos no Estado do Rio de Janeiro. Em Guedes et al. (2023a), por exemplo, a ocupação urbana no entorno de habitats do rivulídeo-anual *Notholebias minimus* aumentou de 2,7% (1985) para 10,2% (2023), um aumento relativo de ~278%. Nesse contexto, a efetividade do licenciamento municipal torna-se estratégica para a conservação de rivulídeos, dado que uma parcela substancial de empreendimentos habitacionais e outras intervenções urbanas de impacto local é tratada nesse nível administrativo. Ainda assim, o licenciamento municipal frequentemente permanece institucionalmente frágil, com lacunas em diretrizes específicas por tipologia de empreendimento e em instrumentos normativos, além de limitações de capacidade operacional e de pessoal qualificado (Lanés et al., 2024). Nesse cenário, a nova lei de licenciamento ambiental do Brasil (Lei No. 15,190/2025) tem sido descrita como um retrocesso regulatório, particularmente por ampliar a autonomia municipal ao mesmo tempo em que introduz medidas de flexibilização como renovações automáticas de licenças, modalidades autodeclaratórias, isenções para agricultura e pecuária e restrições à participação pública (Fernandes et al., 2025; Jorge and Caliman, 2026), em contradição com compromissos internacionais de clima e biodiversidade dos quais o Brasil é signatário.

#### **4.3.2 | Métodos de amostragem**

Os métodos de amostragem reportados (puçás, peneiras, redes de arrasto e armadilhas iscadas) nos relatórios, em geral, refletem escolhas consistentes com a ecologia e a detectabilidade de rivulídeos, ao priorizarem técnicas aplicáveis em habitats rasos e de pequena dimensão, frequentemente com alta complexidade estrutural (e.g., vegetação densa). Embora apropriadas em princípio, as descrições metodológicas frequentemente

carecem do mínimo de detalhe operacional requerido para assegurar reprodutibilidade, comparabilidade entre estudos e uma avaliação crítica da detectabilidade. Em particular, parâmetros como tamanho de malha, dimensões do petrecho, área/volume efetivamente amostrados, número de varreduras/arrastos, tempo de exposição das armadilhas, esforço amostral por unidade de área e critérios padronizados de seleção de micro-habitats raramente são reportados (ICMBio, 2025). Essa omissão é especialmente relevante para rivulídeos porque a probabilidade de captura é altamente sensível ao desenho e ao esforço amostral, bem como às características dos petrechos. Notadamente, o tamanho de malha pode introduzir vieses substanciais, dado o pequeno porte corporal de muitas espécies (tipicamente ~4 cm para espécies do estado; Guedes et al., 2023b). Por fim, o desenvolvimento de abordagens complementares como DNA ambiental (eDNA) pode ser valioso, como ilustrado por aplicações recentes no Caribe direcionadas a táxons crípticos de rivulídeos (e.g., *Anablepsoides cryptocallus*; Baudry et al., 2023).

#### 4.3.3 | Esforço amostral

Os resultados revelam heterogeneidade substancial na intensidade amostral entre estudos técnicos (1–4 campanhas; 1–24 dias por projeto). Em geral, esforço amostral e detectabilidade imperfeita podem afetar severamente inferências sobre ocorrência e riqueza de qualquer táxon, gerando ausências falsas (falsos negativos) e, consequentemente, subestimação da biodiversidade local (Garrard et al., 2015). Contudo, esse problema é particularmente crítico para peixes-anuais, que ocupam ambientes efêmeros (poças temporárias) e apresentam janelas curtas de atividade fortemente constrangidas pelo regime hidrológico (pulsos de inundação e fase aquática sazonal) (Loureiro et al., 2018; Abrantes et al., 2020). Em alguns casos, rivulídeos foram detectados apenas na terceira campanha, após duas tentativas anteriores sem registros (Guedes et al., 2020), reforçando a necessidade de desenhos amostrais mais extensos e temporalmente representativos para evitar ausências falsas e subestimação da riqueza local.

Nesse contexto, torna-se essencial que estudos de licenciamento sejam planejados e conduzidos por profissionais com expertise reconhecida, capazes de ajustar desenhos amostrais à variabilidade natural desses ecossistemas (Ritter et al., 2017; Lanés et al., 2024). Como recomendação operacional mínima, sugerimos programar ao menos três campanhas na fase diagnóstica, com um mínimo de três dias efetivos de amostragem por campanha, distribuídos entre momentos hidrológicos contrastantes (e.g., pico de inundação e recessão), reduzindo assim a probabilidade de disputas evitáveis no licenciamento decorrentes de diagnósticos de biodiversidade incompletos.

#### 4.3.4 | Período de amostragem

A distribuição sazonal das campanhas foi relativamente equilibrada: aproximadamente metade dos estudos amostrou apenas no período chuvoso, enquanto a outra metade amostrou tanto no período seco quanto no chuvoso. Essa escolha metodológica é particularmente relevante para rivulídeos anuais (*Leptolebias*, *Notholebias*, *Leptopanchax*, *Ophthalmolebias* e *Nematolebias*), cuja detectabilidade depende fortemente do período em que áreas úmidas temporárias estão inundadas (Costa, 2009). Em contraste, rivulídeos não anuais, majoritariamente associados a habitats perenes (*Atlantirivulus* e *Kryptolebias*), tendem a permanecer disponíveis para amostragem ao longo do ano, o que reduz, embora não elimine, a sensibilidade dos diagnósticos ao mês de amostragem (Berbel-Filho et al., 2016).

Diretrizes nacionais brasileiras indicam duas janelas prioritárias (maio–junho–julho; e novembro–dezembro–janeiro) para amostragem de rivulídeos no Estado do Rio de Janeiro (ICMBio, 2025), mas observa-se apenas sobreposição parcial entre essas janelas e os relatórios técnicos analisados neste estudo. Além disso, definir o “período ótimo” de amostragem não pode ser tratado como uma simples dicotomia chuvoso vs. seco, porque rivulídeos ocupam habitats caracterizados por alta estocasticidade ambiental e fortemente moldados pela variabilidade climática interanual (Sobral et al., 2018; Luiz-Silva and Oscar-Júnior, 2022). Em anos secos, mesmo campanhas realizadas dentro da estação chuvosa convencional podem coincidir com baixa disponibilidade de habitat, enquanto em anos úmidos ou sob eventos extremos (e.g., El Niño, La Niña) a dinâmica hidrológica local pode ser inteiramente distinta (García et al., 2019). Isso reforça a necessidade de contextualizar campanhas com dados pluviométricos e/ou hidrológicos reais (e.g., chuva acumulada nas semanas anteriores, nível d’água/área inundada), em vez de depender exclusivamente de uma classificação sazonal nominal (Costa, 2009; ICMBio, 2025).

#### 4.4 | Planos de mitigação

Os três planos de manejo/mitigação analisados revelam um cenário heterogêneo de tomada de decisão. Dois planos enquadraram os impactos como perda permanente de habitat e, assim, propuseram introdução/translocação para outras áreas dentro da distribuição natural da espécie (em um caso, apoiada por um componente *ex situ* temporário em aquários). Em contraste, um plano caracterizou os impactos como temporários e priorizou dissuasão, resgate e manejo de *topsoil*, com ações voltadas à restauração do brejo após a obra e à subsequente recolonização natural por populações no mesmo sítio de origem. Em termos gerais, a translocação de rivulídeos permanece insuficientemente testada quanto à efetividade e aos riscos (Lanés et al., 2024). Até o momento, o único estudo revisado por pares que aborda explicitamente o tema: Godoy et al. (2025) descreve uma estratégia bem-sucedida de translocação mitigatória baseada

na remoção/manuseio de *topsoil* contendo um banco de ovos em diapausa e sua translocação para uma área úmida manejada (e.g., por meio de construção de diques e aumento de profundidade).

No licenciamento ambiental, translocações mitigatórias devem ser consideradas apenas em situações de emergência (Godoy et al., 2025), quando proporcionarem benefícios de conservação claros e mensuráveis (IUCN/SSC 2013, 2023; Bradley et al., 2022), e não como *greenwashing* ou como procedimento padronizado pelo qual empreendedores simplesmente “transferem o problema” para outro sítio. Para evitar essa distorção potencial, a conservação *in situ* deve ser priorizada em relação a soluções *ex situ* no contexto do licenciamento ambiental brasileiro. O alto endemismo de rivulídeos em habitats reduzidos os torna particularmente vulneráveis a impactos localizados, mas também torna a conservação *in situ* frequentemente viável por meio de ajustes no desenho dos empreendimentos (Guedes et al., 2020; Lanés et al., 2024).

No Brasil, para espécies oficialmente listadas como ameaçadas em nível nacional (MMA Decreto No. 148/2022), ações de manejo envolvendo translocação, introdução, reintrodução ou reforço populacional não devem ser tratadas como medidas discricionárias conduzidas apenas pela entidade federativa que formalmente detém a competência de licenciamento. Em vez disso, tais decisões devem exigir coordenação institucional e conformidade com instrumentos nacionais de conservação, incluindo Planos de Ação Nacional (PAN), Planos de Ação Territorial (PAT) e Programas de Manejo Populacional (PMP) (ICMBio No. 553/2022; ICMBio Instrução normativa No. 5/2021), de modo que União, Estados e Municípios atuem de forma coordenada (e não competitiva) no cumprimento de seu dever constitucional compartilhado de proteção ao meio ambiente (Constituição Federal 1988, art. 23; Lei Complementar No. 140/2011).

Equipes de órgãos ambientais também devem estar familiarizadas com os critérios éticos e técnicos estabelecidos pela IUCN (2013; 2023) (Sherman et al., 2025) e traduzi-los em exigências explícitas aos proponentes, incluindo justificativa de conservação, avaliação de risco, salvaguardas e monitoramento de longo prazo. Discussões sobre abordagens integradas de conservação (“*One Conservation*”), nas quais ações *ex situ* podem desempenhar papel central, em vez de servirem apenas como “Plano B”, nas estratégias de conservação de rivulídeos (e.g., *Ophthalmolebias constanciae*), permanecem incipientes no Brasil e só começaram a ser discutidas de forma mais clara em nível federal (ICMBio) no final de 2025. Sem investimento substancialmente maior em pesquisa e monitoramento, muitas translocações mitigatórias continuarão fazendo pouco mais do que deslocar o local em que os animais-alvo acabam sendo mortos (Bradley et al., 2022).

#### 4.5 | Implicações, limitações e direções futuras

No Estado do Rio de Janeiro, a maioria dos rivulídeos é ameaçada; portanto, diagnósticos de linha de base afetados por subamostragem e identificações frágeis não constituem “incerteza aceitável”, eles representam risco regulatório e um risco real de declínios populacionais e extinções. Todas as espécies da família Rivulidae classificadas como VU, EN, CR, NT e DD, independentemente do tipo de ciclo de vida (anual ou não anual), deverão ser consideradas como grupos alvos do licenciamento ambiental no Rio de Janeiro. Esta abordagem se justifica pelas características dos peixes da família Rivulidae, relacionadas à distribuição restrita e espacialmente estruturada, baixa capacidade de dispersão, elevado grau de ameaça e ocorrência em ecossistemas aquáticos frágeis e vulneráveis a quaisquer alterações antrópicas que possam modificar a estrutura física e a hidrologia das áreas úmidas. Para ampliar a aplicabilidade prática deste estudo, disponibilizamos quatro apêndices especificamente desenhados para uso por consultores ambientais e agências reguladoras. Os Apêndices A e C apresentam um conjunto de dados consolidado de espécies de rivulídeos e coordenadas geográficas no Estado do Rio de Janeiro, incluindo novos registros de espécies ameaçadas; esse conjunto pode apoiar triagens espaciais, avaliações de risco, identificação de áreas prioritárias e a elaboração de termos de referência, além de informar avaliações e revisões conduzidas por órgãos ambientais brasileiros. O Apêndice D inclui uma tradução integral do manuscrito para o português (Brasil), destinada a ampliar o acesso de leitores locais menos familiarizados com o inglês e a facilitar a incorporação das recomendações às rotinas de campo. Por fim, embora de escopo regional, os argumentos aqui apresentados são generalizáveis para diferentes países onde Rivulidae ocorrem (e.g., Estados Unidos, México, Venezuela, Argentina, Uruguai e Bolívia). O desafio central permanece universal: como avaliar, detectar e mitigar com precisão impactos sobre componentes de biodiversidade raros e altamente localizados, frequentemente “tornados invisíveis” por levantamentos de linha de base insuficientes e pela ausência de protocolos diagnósticos padronizados.

Apesar de suas contribuições, este estudo está sujeito a limitações inerentes. Primeiro, há um pronunciado déficit wallaceano quanto às distribuições de rivulídeos; como para a maioria dos táxons neotropicais, dados de ocorrência permanecem incompletos e espacialmente enviesados (Guedes and Araújo, 2026). Segundo, a análise do processo de licenciamento ficou restrita a 21 relatórios estaduais publicamente acessíveis. Essa amostra pode não capturar toda a extensão dos impactos, particularmente aqueles geridos em nível municipal ou originados de expansões urbanas irregulares que escapam ao escrutínio formal.

Pesquisas futuras devem priorizar a validação do DNA ambiental (eDNA) como ferramenta não invasiva para complementar a captura tradicional com redes, particularmente durante a fase de recessão de áreas úmidas temporárias (Baudry et al., 2023). Além disso, análises futuras Inter jurisdicionais, integrando esferas municipal,

estadual e federal, são necessárias para determinar como a efetividade do licenciamento varia entre níveis administrativos. Tais estudos serão essenciais para identificar “gargalos” na proteção de habitats aquáticos sazonais. Em última instância, aprimorar o licenciamento ambiental brasileiro não é apenas uma exigência técnica, mas também o reconhecimento de um princípio normativo central no Brasil: “a diversidade biológica tem valor intrínseco, merecendo respeito independentemente de seu valor ou de seu potencial de uso humano” (Política Nacional de Biodiversidade: 4.339/2002).

### **Declaração de IA generativa e tecnologias assistidas por IA no processo de preparação do manuscrito**

Durante a preparação deste trabalho, o(s) autor(es) utilizou(aram) o ChatGPT e o Google Gemini com o objetivo de corrigir a gramática e melhorar a clareza da expressão. Após utilizar essa(s) ferramenta(s)/serviço(s), o(s) autor(es) revisou(aram) e editou(aram) o conteúdo conforme necessário e assume(m) total responsabilidade pelo conteúdo do artigo publicado.

### **Disponibilidade de dados**

Todos os dados utilizados nas análises estão disponíveis no Material Suplementar.

### **Informações suplementares**

**Apêndice A:** Espécies e coordenadas geográficas de rivulídeos

**Apêndice B:** Metadados e relatórios técnicos vinculados ao licenciamento ambiental

**Apêndice C:** Mapas de distribuição das espécies

**Apêndice D:** Manuscrito traduzido para o português (Brasil)

### **Referências**

- Abrantes, Y. G., Medeiros, L. S., Bennemann, A. B. A., Bento, D. M., Teixeira, F. K., Rezende, C. F., et al. (2020). Geographic distribution and conservation of seasonal killifishes (Cyprinodontiformes, Rivulidae) from the Mid-Northeastern Caatinga ecoregion, northeastern Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, 15(3), 301–315. <https://doi.org/10.3897/neotropical.15.e51738>
- Amaral, S., Metzger, J. P., Rosa, M., et al. (2025). Alarming patterns of mature forest loss in the Brazilian Atlantic Forest. *Nature Sustainability*, 8, 256–264. <https://doi.org/10.1038/s41893-025-01508-w>

- Araújo, F. G., Azevedo, M. C. C., Guedes, G. H. S., & Pinto, B. C. T. (2024). Trait–environment relationship of riverine fish assemblages across a human footprint mosaic. *Hydrobiologia*, 851, 1135–1151. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05370-9>
- Baudry, T., Mauvisseau, Q., Arqué, A., Goût, J.-P., Delaunay, C., de Boer, H. J., et al. (2023). Environmental DNA survey to detect an endemic cryptic fish, *Anablepsoides cryptocallus*, in tropical freshwater streams. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 33(3), 325–335. <https://doi.org/10.1002/aqc.3916>
- Berbel-Filho, W. M., Espírito-Santo, H. M. V., & Lima, S. M. Q. (2016). First record of a male of *Kryptolebias hermaphroditus* Costa, 2011 (Cyprinodontiformes: Cynolebiidae). *Neotropical Ichthyology*, 14(3), e160024. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20160024>
- Berbel-Filho, W. M., Pirro, S., Thompson, A. W., Lima, S. M. Q., Consuegra, S., & Betancur, R. (2023). The complete genome sequences of three species from the killifish genus *Kryptolebias* (Rivulidae, Cyprinodontiformes). *Biodiversity Genomes*. <https://doi.org/10.56179/001c.77448>
- Berois, N., García, G., & de Sá, R. O. (Eds.). (2016). *Annual fishes: Life history strategy, diversity, and evolution*. Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19016>
- Bizerril, C. R. S. F., & Primo, P. B. S. (2001). *Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro: FEMAR–SEMADS.
- Borioni, R., & Sánchez, L. E. (2023). Reforming environmental licensing in Brazil: Discourse analysis in the National Environment Council. *Ambiente & Sociedade*, 26, e00774. <https://doi.org/10.1590/1809-4422asoc0077r4vu2023L3OA>
- Bove, C. P., Gil, A. S. B., Moreira, C. B., & Anjos, R. F. B. (2002). Hidrófitas fanerogâmicas de ecossistemas aquáticos temporários da planície costeira do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 17, 119–135. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062003000100009>
- Bradley, H. S., Tomlinson, S., Craig, M. D., Cross, A. T., & Bateman, P. W. (2022). Mitigation translocation as a management tool. *Conservation Biology*, 36, e13667. <https://doi.org/10.1111/cobi.13667>
- Conselho de Arquitetura e Urbanismo do Brasil (CAU/Datafolha). (2022, May 29). *Pesquisa Datafolha: 82% das moradias do país são feitas sem arquitetos ou engenheiros*. Recuperado em 13 de janeiro de 2026. <https://caubr.gov.br/pesquisa-datafolha-82-das-moradias-do-pais-sao-feitas-sem-arquitetos-ou-engenheiros/>
- Buckup, P. A. (2011). The Eastern Brazilian Shield. In J. Albert & R. E. Reis (Eds.), *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes* (pp. 203–210). Berkeley: University of California Press.

- Camilo, G., Terra, B. F., & de Araújo, F. (2015). Ichthyofauna from the Parque Nacional da Serra dos Órgãos and its surrounding areas, Rio de Janeiro state, Brazil. *Check List*, 11(4), 1–8. <https://doi.org/10.15560/11.4.1696>
- Castro, R. M. C., & Polaz, C. N. M. (2020). Small-sized fish: The largest and most threatened portion of the megadiverse Neotropical freshwater fish fauna. *Biota Neotropica*, 20(1), e20180683. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0683>
- Costa, J. H. A. da, Zuanon, J., Selinger, A., Castilho, A. G., Souza, U. P., & Duarte, R. M. (2025). Diving into temporary pools: A global perspective on freshwater fish research. *Neotropical Ichthyology*, 23(3), e250043. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2025-0043>
- Costa, W. J. E. M. (2004). Relationships and redescription of *Fundulus brasiliensis* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), with description of a new genus and notes on the classification of the Aplocheiloidei. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 15(2), 105–120.
- Costa, W. J. E. M. (2007). *Kryptolebias gracilis* n. sp. (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae): A new killifish from the Saquarema Lagoon basin, southeastern Brazil. *aqua, International Journal of Ichthyology*, 13(1), 7–12.
- Costa, W. J. E. M. (2009). *Peixes aploqueilóideos da Mata Atlântica brasileira: História, diversidade e conservação*. Rio de Janeiro: Museu Nacional.
- Costa, W. (2011). Identity of *Rivulus ocellatus* and a new name for a hermaphroditic species of *Kryptolebias* from south-eastern Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22(2), 185.
- Costa, W. J. E. M. (2012). Delimiting priorities while biodiversity is lost: Rio's seasonal killifishes on the edge of survival. *Biodiversity and Conservation*, 21, 2443–2452. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0301-7>
- Costa, W. J. E. M., & Amorim, P. F. (2013). Delimitation of cryptic species of *Notholebias*, a genus of seasonal miniature killifishes threatened with extinction from the Atlantic Forest of south-eastern Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 24(1), 63–72.
- Costa, W. J. E. M., Amorim, P. F., & Aranha, G. N. (2014). Species limits and DNA barcodes in *Nematolebias*, a genus of seasonal killifishes threatened with extinction from the Atlantic Forest of south-eastern Brazil, with description of a new species (Teleostei: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 24(3), 225–236.
- Costa, W. J. E. M. (2016). Comparative morphology and classification of South American cynopoecilina killifishes (Cyprinodontiformes: Aplocheilidae), with notes on family-

- group names used for aplocheiloids. *Vertebrate Zoology*, 66, 125–140. <https://doi.org/10.3897/vz.66.e31538>
- Costa, W. J. E. M. (2019). Description of a new species of cynopoeiline killifish (Cyprinodontiformes, Aplocheilidae), possibly extinct, from the Atlantic Forest of south-eastern Brazil. *ZooKeys*, 867, 73–85. <https://doi.org/10.3897/zookeys.867.34034>
- Dopazo, M., Souto-Santos, I. C. A., Britto, M. R., Moreira, C. R., & Buckup, P. A. (2023). The freshwater fishes from the Costa Verde Fluminense region of southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 23(1), e20221422. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2022-1422>
- Duarte, C. G., Dibo, A. P. A., & Sánchez, L. E. (2017). What does the academic research say about impact assessment and environmental licensing in Brazil? *Ambiente & Sociedade*, 20(1), 261–292. <https://doi.org/10.1590/1809-4422ASOC20150268R1V2012017>
- Emerson, K., Baldwin, E., Scott, T. A., Pidot, J. R., Lien, A. M., Currim, F., et al. (2022). Toward NEPA performance: A framework for assessing EIAs. *Environmental Impact Assessment Review*, 97, 106879. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2022.106879>
- Fernandes, G. W., de Paula, G. A., Bender, M. G., de Godoy Bergallo, H., Christofolletti, R., Colli, G. R., et al. (2025). Shortcuts to degradation: Environmental consequences of Brazil's general environmental licensing law. *Perspectives in Ecology and Conservation*. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2025.10.004>
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N., & Fong, J. D. (2026). *Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera/Species by Family/Subfamily*. California Academy of Sciences. Acesso em 8 de janeiro de 2026. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>
- Furness, A. I. (2016). The evolution of an annual life cycle in killifish: Adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews*, 91(3), 796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>
- García, D., Smith, C., Machín, E., Loureiro, M., & Reichard, M. (2019). Changing patterns of growth in a changing planet: How a shift in phenology affects critical life-history traits in annual fishes. *Freshwater Biology*, 64(11), 1848–1858. <https://doi.org/10.1111/fwb.13376>
- Garrard, G. E., Bekessy, S. A., McCarthy, M. A., & Wintle, B. A. (2015). Incorporating detectability of threatened species into environmental impact assessment. *Conservation Biology*, 29, 216–225. <https://doi.org/10.1111/cobi.12351>

- Godoy, R. S., Weber, V., Hoffmann, P., Lanés, L. E. K., Zapata, R., Alonso, F., Stenert, C., & Maltchik, L. (2025). Topsoil translocation as a restoration tool for endangered seasonal killifish in temporary wetlands. *Restoration Ecology*, e70262. <https://doi.org/10.1111/rec.70262>
- Guedes, G. H. S., Salgado, F. L. K., Uehara, W., Ferreira, D. L. P., & Araújo, F. G. (2020). The recapture of *Leptopanchax opalescens* (Aplocheiloidei: Rivulidae), a critically endangered seasonal killifish: Habitat and aspects of population structure. *Zoologia*, 37, e54982. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e54982>
- Guedes, G. H. S., Gomes, I. D., do Nascimento, A. A., Azevedo, M. C. C., Souto-Santos, I. C. A., Buckup, B. A., & Araújo, F. G. (2023b). Reproductive strategy of the annual fish *Leptopanchax opalescens* (Rivulidae) and trade-off between egg size and maximum body length in temporary wetlands. *Wetlands*, 43, 29. <https://doi.org/10.1007/s13157-023-01680-9>
- Guedes, G. H. S., Luz, C. H. P., Mazzoni, R., Lira, F. O., & Araújo, F. G. (2023a). New occurrences of the endangered *Notholebias minimus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in coastal plains of the State of Rio de Janeiro, Brazil: Population features and conservation. *Neotropical Ichthyology*, 21(3), e230013. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0013>
- Guedes, G. H. S., Santangelo, J. M., Pires, A. P. F., & Araújo, F. G. (2025a).  $\beta$ -Diversity scaling patterns across different bioregionalisations for a megadiverse Neotropical fish family. *Journal of Biogeography*, 52, e15088. <https://doi.org/10.1111/jbi.15088>
- Guedes, G. H. S. G., Cordeiro, L., Azeredo, L. F., & Araújo, F. G. (2025b). Microplastics in wetlands: Contrasting fish contamination between mangroves and temporary ponds in southeastern Brazil (Version 1) [Preprint]. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-7861289/v1>
- Guedes, G. H. S., Luz, C. H. P. da, Souza, V. de J., & Araújo, F. G. (2025c). A fish frontier? Itatiaia expedition and biodiversity repositories reveal gaps in fish occurrences in Brazil's high-altitude aquatic ecosystems. *Zoologia (Curitiba)*, 42, e24077. <https://doi.org/10.1590/S1984-4689.v42.e24077>
- Guedes, G. H. S., & Araújo, F. G. (2026). Water and fire: Wildfires threaten fish habitats across Brazilian biomes, and protected areas offer insufficient safeguards. *Biological Conservation*, 315, 111692. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2025.111692>
- Guimarães, G. S., Nunes-Freitas, A. F., & Baumgratz, J. F. A. (2024). Flora and phytophysognomies of an Atlantic Forest remnant on the coast of Southeast Brazil. *Rodriguésia*, 75, e00122023. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202475005>

- Huber, J. (2016). Reanalysis of single type of *Rivulus ocellatus* Hensel, 1880 in Berlin Museum pending its putative molecular analysis, with the proposal of revalidation of *Rivulus caudomarginatus*. *Killi-Data Series*, 2017, 4–12.
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). (2025). *Diretrizes para adequada consideração dos peixes rivulídeos nos empreendimentos passíveis de atos autorizativos ambientais: Plano de Ação Nacional para Conservação dos Peixes Rivulídeos Ameaçados de Extinção – PAN Rivulídeos*. Pirassununga, SP.
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). (2026). *Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE*. Acesso em 6 de janeiro de 2026. <https://salve.icmbio.gov.br/>
- International Union for Conservation of Nature (IUCN)/Species Survival Commission (SSC). (2013). *Guidelines for reintroductions and other conservation translocations* (Version 1.0). Gland, Switzerland: IUCN SSC. Acesso em 10 de janeiro de 2026. <https://portals.iucn.org/library/efiles/documents/2013-009.pdf>
- International Union for Conservation of Nature (IUCN). (2023). *IUCN SSC guidelines on human-wildlife conflict and coexistence: First edition*. Gland, Switzerland: IUCN. <https://doi.org/10.2305/YGIK2927>
- Jay, S., Jones, C., Slipiainska, P., & Wood, C. (2007). Environmental impact assessment: Retrospect and prospect. *Environmental Impact Assessment Review*, 27(4), 287–300. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2006.12.001>
- Jorge, J. S., & Caliman, A. (2026). Brazil's environmental rollback threatens global ecosystem services. *Ecosystem Services*, 77, 101813. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2026.101813>
- Lanés, L. E. K., Gonçalves, Â. C., Corrêa, M. de P., Gonçalves, M. S. S., & Volcan, M. V. (2024). Diretrizes básicas para o processo de licenciamento ambiental de empreendimentos em áreas de ocorrência confirmada ou potencial de peixes- anuais (família Rivulidae) no município de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. In M. S. S. Gonçalves, V. A. G. Bastazini, C. B. Andretti, L. E. K. Lanés, & M. V. Volcan (Eds.), *Ecologia e Conservação de Ecossistemas Aquáticos do Sul do Brasil* (pp. 183–210). USEB – União Sul-Americana de Estudos da Biodiversidade.
- Loomis, J. J., & Dziedzic, M. (2018). Evaluating EIA systems' effectiveness: A state of the art. *Environmental Impact Assessment Review*, 68, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2017.10.005>
- Loureiro, M., Sá, R. O., Serra, S. W., Alonso, F., Lanés, L. E. K., Volcan, M. V., Calviño, P. A., Nielsen, D., Duarte, A., & García, G. (2018). Review of the family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a molecular and morphological

- phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotropical Ichthyology*, 16, 1–20. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>
- Luiz-Silva, W., & Oscar-Júnior, A. C. (2022). Climate extremes related with rainfall in the State of Rio de Janeiro, Brazil: A review of climatological characteristics and recorded trends. *Natural Hazards*, 114, 713–732. <https://doi.org/10.1007/s11069-022-05409-5>
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). (2025). *Rio de Janeiro | Cidades e Estados | IBGE*. <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/rj.html>
- Morgan, R. K. (2012). Environmental impact assessment: The state of the art. *Impact Assessment and Project Appraisal*, 30(1), 5–14. <https://doi.org/10.1080/14615517.2012.661557>
- Nascimento, T., Abreu, E. L., & Fonseca, A. (2020). Decentralization of environmental licensing and impact assessment in Brazil: Literature and regulatory reviews. *Ambiente & Sociedade*, 23, e02662. <https://doi.org/10.1590/1809-4422asoc20180266r2vu2020L1AO>
- Reis-Filho, J. A., Fiterman, Y. L., Giarrizzo, T., & Noleto-Filho, E. M. (2026). Environmental deregulation by design: Institutional capacities and the perils of Brazil's new environmental licensing law. *Environmental Challenges*, 101383. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2025.101383>
- Rezende, C. L., Scarano, F. R., Assad, E. D., Joly, C. A., Metzger, J. P., Strassburg, B. B. N., Tabarelli, M., Fonseca, G. A., & Mittermeier, R. A. (2018). From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 16(4), 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.10.002>
- Ribeiro, A. C. (2006). Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: An example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 4(2), 225–246. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200009>
- Ritter, C. D., McCrate, G., Nilsson, R. H., Fearnside, P. M., Palme, U., & Antonelli, A. (2017). Environmental impact assessment in Brazilian Amazonia: Challenges and prospects to assess biodiversity. *Biological Conservation*, 206, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.12.031>
- Sánchez, L. E., & Croal, P. (2012). Environmental impact assessment, from Rio-92 to Rio+20 and beyond. *Ambiente & Sociedade*, 15(3), 41–54. <https://doi.org/10.1590/S1414-753X2012000300004>
- Sarmiento-Soares, L. M., Vieira-Guimarães, F., & Martins-Pinheiro, R. F. (2024). Freshwater fishes of the State of Rio de Janeiro, Southeastern Brazil: Biogeographic and

- diversity patterns in a historically well-sampled territory. *Ecologies*, 5(4), 538–570. <https://doi.org/10.3390/ecologies5040033>
- Sherman, J., Menon, V., Kock, R., King, T., Luz, S., Ashraf, N. V. K., Soorae, P. S., & Moehrensclager, A. (2025). *IUCN guidelines on responsible translocation of displaced organisms*. Gland, Switzerland: IUCN. <https://doi.org/10.2305/QKVR4181>
- Soares-Gomes, A., da Gama, B. A. P., Neto, J. B., Freire, D. G., Cordeiro, R. C., Machado, W., et al. (2016). An environmental overview of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. *Regional Studies in Marine Science*, 8, 319–330. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2016.01.009>
- Sobral, B. S., Oliveira-Júnior, J. F., Gois, G., Terassi, P. M. de B., & Muniz-Júnior, J. G. R. (2018). Variabilidade espaço-temporal e interanual da chuva no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Climatologia*, 22. <https://doi.org/10.5380/abclima.v22i0.55592>
- Souto-Santos, I. C. A., Donadia, W. G. R., Bauer, A. B., Abreu, L. A. S., & Buckup, P. A. (2021). Poça de esperança no meio da cidade grande: *Leptopanchax opalescens* (Myers, 1942) numa floresta urbana do município do Rio de Janeiro, Brasil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia*, 135, 6–10.
- Taylor, D. S. (2012). Twenty-four years in the mud: What have we learned about the natural history and ecology of the mangrove rivulus, *Kryptolebias marmoratus*? *Integrative and Comparative Biology*, 52(6), 724–736. <https://doi.org/10.1093/icb/ics062>
- Turko, A. J., & Wright, P. A. (2015). Evolution, ecology and physiology of amphibious killifishes (Cyprinodontiformes). *Journal of Fish Biology*, 87, 815–835. <https://doi.org/10.1111/jfb.12758>
- Vercillo, U. E., Morato, R. G., de Almeida Cunha, A., de Marco, P., Strier, K. B., Mittermeier, R. A., & de Andrade Franco, J. L. (2023). Action plans for species conservation are an important tool to meet global and national biodiversity targets – A study case in Brazil. *Journal for Nature Conservation*, 71, 126324. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2022.126324>
- Volcan, M. V., & Lanés, L. E. K. (2018). Brazilian killifishes risk extinction. *Science*, 361(6403), 340–341. <https://doi.org/10.1126/science.aau5930>
- Weber, V., Alonso, F., Godoy, R. S., Lanés, L. E. K., Pires, M. M., Stenert, C., Gava, A., & Maltchik, L. (2025). Hitting and un hitting the pause button: Variable hatching patterns of annual killifish embryos over a wetland wet–dry cycle. *Ecology of Freshwater Fish*, 34, e12816. <https://doi.org/10.1111/eff.12816>

## CAPÍTULO IV

### SPRINGER NATURE Link

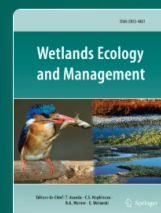
[Find a journal](#)
[Publish with us](#)
[Track your research](#)
[Search](#)
[Saved research](#)
[Home](#) > [Wetlands Ecology and Management](#) > [Article](#)

# Microplastics in wetlands: contrasting fish contamination between mangroves and temporary ponds in southeastern Brazil

 Original Paper | [Open access](#) | Published: 18 May 2026

 Volume 34, article number 49 (2026) | [Cite this article](#)

 You have full access to this [open access](#) article

[Download PDF](#)
[Save article](#)

**Wetlands Ecology and Management**
[Aims and scope](#)
[Submit manuscript](#)

Guedes GHS, Cordeiro L, da Silva Pinto Azeredo LF, Araújo FG. Microplastics in wetlands: contrasting fish contamination between mangroves and temporary ponds in southeastern Brazil. *Wetlands Ecol Manage* 34, 49 (2026). <https://doi.org/10.1007/s11273-026-10156-6>

## **Microplásticos em áreas úmidas: comparando a contaminação em peixes entre manguezais e brejos temporários no sudeste do Brasil**

Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup>, Laryssa Cordeiro<sup>1</sup>, Luís Felipe Silva Pinto Azeredo<sup>2</sup>, Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23897-000, Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Caracterização Instrumental, Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 20550-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

## RESUMO

A poluição por microplásticos (MPs) é ubíqua nos ecossistemas aquáticos, mas análises comparativas entre tipos de áreas úmidas e histórias de vida de peixes ainda são raras. Este estudo compara a contaminação por microplásticos em rivulídeos (Cyprinodontiformes: Rivulidae) com histórias de vida contrastantes: anuais (*Notholebias minimus*, *Leptopanchax opalescens*) versus perenes (*Kryptolebias ocellatus*; *Kryptolebias hermaphroditus*), em dois tipos de áreas úmidas (poças temporárias versus manguezais) na planície costeira do Rio de Janeiro (Brasil). A hipótese testada é que pequenos peixes anuais de áreas úmidas temporárias apresentam menor contaminação por microplásticos do que espécies perenes de manguezal, devido à menor conectividade hidrológica e ao menor tempo de exposição. Os peixes foram digeridos em solução de KOH, filtrados a vácuo e analisados por microscopia e  $\mu$ -FTIR. Microplásticos foram detectados em todas as espécies e em 60,5% dos indivíduos ( $1,58 \pm 1,84$  itens peixe<sup>-1</sup>). A maioria das partículas era pequena ( $< 1.000 \mu\text{m}$ ), composta por fragmentos ou microfibras azuis/pretos, com polímeros dominados por polipropileno e poli(4-metil-1-penteno). Ao contrário da H1, as cargas de MPs não diferiram entre manguezais e poças temporárias (GLMM:  $\chi^2 = 0,18$ ,  $p = 0,671$ ), nem em relação ao tamanho corporal ( $\chi^2 = 0,44$ ,  $p = 0,507$ ). Traços funcionais convergentes dos rivulídeos: boca pequena, forrageamento generalista e uso rotineiro de micro-habitats rasos onde fibras e fragmentos se acumulam, provavelmente equalizam as probabilidades de ingestão entre histórias de vida. Em conjunto, esses resultados mostram que áreas úmidas temporárias não são refúgios contra a contaminação por plástico e devem ser explicitamente incluídas em estratégias de monitoramento e mitigação voltadas a entradas difusas de MPs em escala de paisagem.

**Palavras-chave** | killifish; manguezais; poluição por microplásticos; Rivulidae; bioacumulação; Brasil; micro-FTIR

## ABSTRACT

Microplastic (MP) pollution is ubiquitous in aquatic ecosystems, but comparative analyses across wetland types and fish life histories are still rare. This study compares microplastic contamination in killifishes (Cyprinodontiformes: Rivulidae) with contrasting life histories: annual (*Notholebias minimus*, *Leptopanchax opalescens*) vs. perennial (*Kryptolebias ocellatus*; *Kryptolebias hermaphroditus*), across two wetland types (temporary ponds vs. mangroves) on the coastal plain of Rio de Janeiro (Brazil). The tested hypothesis is that small annual fishes in temporary wetlands exhibit lower microplastic contamination than perennial mangrove species, due to lower hydrological connectivity and shorter exposure time. Fishes were digested (KOH solution), vacuum filtered, and analysed using microscopy and  $\mu$ -FTIR. Microplastics were detected in all species and 60.5% of individuals ( $1.58 \pm 1.84$  items fish<sup>-1</sup>). Most particles were small (< 1,000  $\mu$ m), blue/black fragments or microfibers, with polymers dominated by polypropylene and poly(4-methyl-1-pentene). Contrary to H1, MP loads did not differ between mangroves and temporary ponds (GLMM:  $\chi^2 = 0.18$ ,  $p = 0.671$ ), nor with body size ( $\chi^2 = 0.44$ ,  $p = 0.507$ ). Convergent functional traits of rivulids: small gape, generalist foraging, and routine use of shallow microhabitats where fibers and fragments accumulate, likely equalize ingestion probabilities across life histories. Collectively, these findings show that temporary wetlands are not refuges from plastic contamination and should be explicitly included in monitoring and mitigation strategies that target diffuse, landscape-scale MP inputs.

**Keywords** | killifish; mangroves; Microplastic pollution; Rivulidae; bioaccumulation; Brazil; micro-FTIR

## 1 | Introdução

Microplásticos são partículas de polímeros sintéticos menores que cinco milímetros que se tornaram um contaminante ubíquo em escala planetária (Karak et al. 2025). Eles se originam tanto da degradação de detritos plásticos maiores ("fontes secundárias") quanto são intencionalmente fabricados em tamanhos pequenos para uso em produtos como cosméticos e têxteis ("fontes primárias"), e constituem uma ameaça ambiental significativa (Hartz et al. 2025). Sua persistência, associada ao transporte eficiente pela circulação oceânica e por processos eólicos, levou à sua detecção nos ecossistemas mais remotos, das fossas oceânicas mais profundas (Peng et al. 2020) ao cume do Monte Everest (Napper et al. 2020). Essa ampla dispersão ressalta a natureza transfronteiriça do problema, destacando falhas na gestão global de resíduos plásticos e a consequente contaminação de solos, corpos d'água e da atmosfera (Geyer et al. 2017). A presença massiva de microplásticos nos ecossistemas implica riscos toxicológicos decorrentes tanto de sua composição química intrínseca, que induz estresse oxidativo, inflamação e disfunção mitocondrial, quanto de sua capacidade de adsorver e transportar outros poluentes perigosos (Wang et al. 2020; Leslie et al. 2022), consolidando-os como um desafio ambiental e de saúde pública em escala mundial.

Houve uma marcada expansão global da pesquisa sobre microplásticos em compartimentos ambientais, impulsionada pelo aumento da atenção pública, regulatória e acadêmica à poluição plástica e aos seus impactos ecológicos e sobre a saúde humana. No entanto, persistem vieses importantes na literatura: uma concentração geográfica de estudos em regiões de alta renda (por exemplo, China, Estados Unidos), um foco taxonômico enviesado para grupos de peixes carismáticos ou economicamente importantes (por exemplo, *Danio rerio* (Hamilton 1822), *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758) e uma ênfase desproporcional em ambientes marinho-costeiros (Amparo et al. 2023; Sacco et al. 2024; Hartz et al. 2025; Jolaosho et al. 2025). Dentro da literatura marinha, mais de 80% concentram-se em praias arenosas (Browne et al. 2015), enquanto habitats salobros, como manguezais, permanecem pouco estudados (Deakin et al. 2025). Em sistemas de água doce, esse viés é ainda mais pronunciado, com a maioria dos estudos direcionada a ambientes lóticos, particularmente grandes rios (Moreira et al. 2025; Semensatto et al. 2025), enquanto áreas úmidas de água doce e sua biota têm recebido atenção limitada (Qian et al. 2021; Dalvand and Hamidian 2023; Li et al. 2024). Consequentemente, persiste uma lacuna crítica de conhecimento quanto à magnitude, às vias de exposição e aos efeitos ecológicos da contaminação por plástico em áreas úmidas, restringindo comparações entre ecossistemas e o desenho de estratégias efetivas de mitigação.

As áreas úmidas, conforme amplamente definidas pela Convenção de Ramsar (1971), abrangem áreas de brejo, pântano, turfeira ou água, sejam naturais ou artificiais, permanentes ou temporárias, com água parada ou corrente; doce, salobra ou salgada; e incluem áreas de águas marinhas cuja profundidade na maré baixa não excede seis metros. Esses ambientes funcionam como interfaces hidrológicas e biogeoquímicas onde

múltiplas vias de entrada de microplásticos (MPs) convergem (rios, marés, escoamento urbano/agrícola, chuva, ventos) e, portanto, são particularmente suscetíveis à contaminação e retenção desses poluentes emergentes (Dalvand and Hamidian 2023; Elnahas et al. 2024; Qiao and Wang 2024). A baixa velocidade de fluxo, a elevada conectividade lateral e os longos tempos de residência favorecem a deposição e o acúmulo de partículas plásticas (Li et al. 2024). A vegetação densa (por exemplo, raízes aéreas e copas em manguezais) atua como uma “peneira” física que retém MPs, embora eventos de alta energia (ressacas, enchentes) possam remobilizá-los, caracterizando esses ambientes não apenas como sumidouros, mas também, por vezes, como fontes secundárias por meio da fragmentação in situ e da exportação de MPs para sistemas aquáticos adjacentes (Paduani 2020; Qiao and Wang 2024; Boyer et al. 2024; Deakin et al. 2025). Essa exportação é mediada não apenas por processos hidrodinâmicos, mas também por vias biológicas, uma vez que organismos aquáticos podem ingerir e transferir microplásticos entre níveis tróficos e limites ecossistêmicos (Zhao et al. 2026).

As áreas úmidas continentais neotropicais fornecem habitat para uma família diversa de peixes (Rivulidae), compreendendo aproximadamente 490 espécies válidas (Fricke et al. 2025). Os peixes rivulídeos são comumente subdivididos em dois principais grupos de história de vida: anuais e perenes (Furness et al. 2018; Guedes et al. 2025). Essa dicotomia reflete adaptações evolutivas marcantes a pressões ambientais extremas, incluindo altas temperaturas, baixas concentrações de oxigênio, águas ácidas e flutuações hidrológicas extremas que se aproximam dos limites de tolerância dos vertebrados (Polačik and Podrabsky 2015; Podrabsky et al. 2016). As espécies anuais são colonizadoras especializadas de áreas úmidas temporárias, que são sistemas efêmeros, frequentemente isolados, com baixa conectividade hidrológica e hidrologia predominantemente alimentada por chuvas (Loureiro et al. 2018; Lanés et al. 2021; Guedes and Araújo 2026). Para sobreviver à dessecação periódica, esses peixes produzem ovos que entram em um estado dormente conhecido como diapausa embrionária (Furness 2016). Essa característica permite que os embriões persistam por meses no solo seco, aguardando o retorno das chuvas para a eclosão (Abrantes et al. 2020; Guedes et al. 2023a; Costa et al. 2024; Hinnccands et al. 2025). A sincronia entre o ciclo de vida e o regime hidrológico resulta em uma das menores longevidades entre vertebrados, com indivíduos vivendo apenas poucos meses, o que, por sua vez, selecionou crescimento e maturação sexual extremamente rápidos (Hu et al. 2020; Žák et al. 2021).

Em contraste, espécies perenes de rivulídeos habitam ambientes aquáticos mais estáveis, como riachos, áreas úmidas permanentes e manguezais. Seu desenvolvimento segue o padrão típico dos teleósteos, sem as três fases obrigatórias de diapausa embrionária (Furness et al. 2018). Dentro do grupo perene, um caso notável é o gênero *Kryptolebias* Costa, 2004, do qual três espécies são conhecidas por ocorrer estritamente em manguezais: *K. ocellatus* (Hensel, 1868), *K. marmoratus* (Poey, 1880) e *K. hermaphroditus* Costa, 2011. Vivendo no ambiente dinâmico e desafiador dos manguezais, essas espécies evoluíram um conjunto de características extraordinárias. Elas são capazes de respiração cutânea, o que permite a captação direta de oxigênio do ar, e podem permanecer fora da água por períodos prolongados, abrigando-se em troncos caídos e tocas de

caranguejos durante a maré baixa (Wright 2012; Turko and Wright 2015). Além disso, o gênero *Kryptolebias* inclui os únicos vertebrados conhecidos por exibirem hermafroditismo simultâneo com autofecundação natural (*K. marmoratus* e *K. hermaphroditus*), permitindo que um único indivíduo funde novas populações clonais (Awise and Tatarenkov 2015; Rhee et al. 2017; Berbel-Filho et al. 2022).

Os rivulídeos exibem uma dieta oportunista, moldada pela disponibilidade de presas e pela capacidade de captura, explorando tanto recursos autóctones (por exemplo, poliquetas, microcrustáceos e copépodes) quanto aportes alóctones (como dípteros e insetos terrestres). Eles forrageiam em diferentes estratos da coluna d'água, do fundo à superfície, refletindo um comportamento alimentar flexível (Taylor 2012; Contente and Stefanoni 2010). Em peixes anuais que habitam ambientes efêmeros, assim como em espécies não anuais de manguezais, uma estratégia alimentar generalista tende a ser mais vantajosa do que a especialização, que pode impor altos custos sob variabilidade espaço-temporal na disponibilidade de presas (Gonçalves et al. 2011; Taylor 2012).

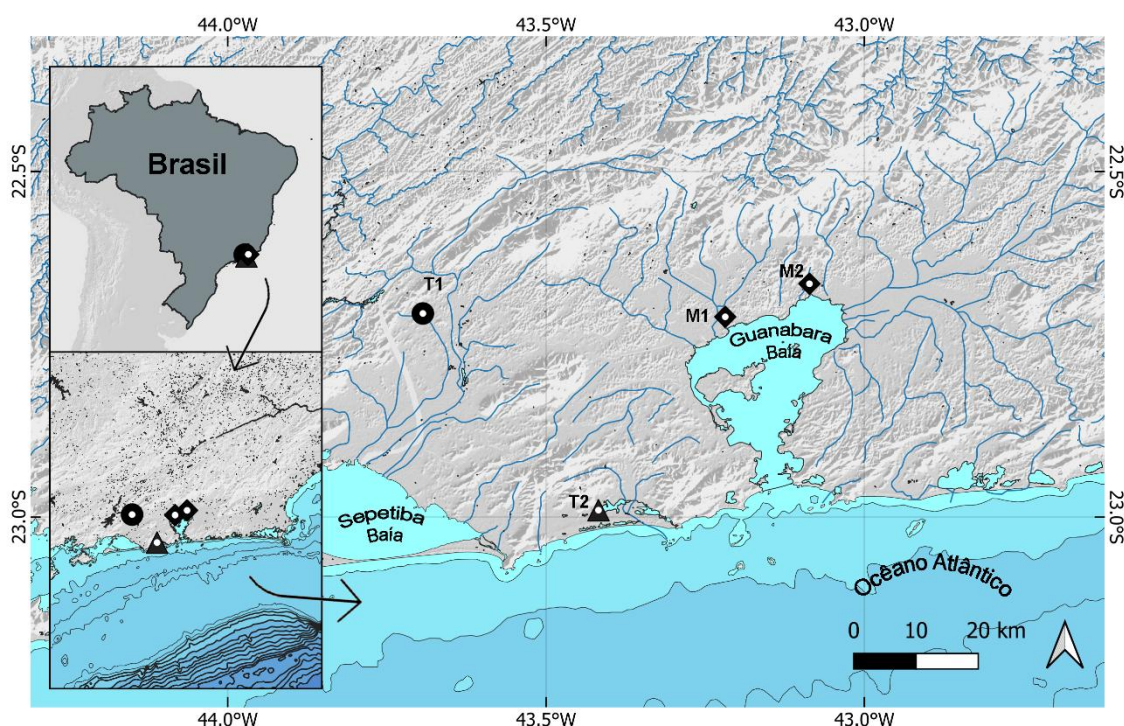
Dada a diversidade das histórias de vida das espécies e a distribuição heterogênea dos microplásticos (MPs) entre áreas úmidas, é improvável que a vulnerabilidade à contaminação por MPs entre peixes rivulídeos seja uniforme. Portanto, o principal objetivo deste estudo é comparar a contaminação por microplásticos (MPs) entre peixes com histórias de vida contrastantes (anuais vs. perenes) em dois tipos de áreas úmidas (poças temporárias vs. manguezais) na planície costeira do Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. Testamos a hipótese de que espécies anuais que habitam áreas úmidas temporárias exibem menor contaminação por MPs do que espécies perenes que habitam sistemas de manguezal com maior conectividade hidrológica. Essa hipótese é sustentada por evidências de que manguezais atuam como filtros e sumidouros de MPs devido a entradas contínuas provenientes de rios e efluentes e à ressuspensão pelas marés, que juntas aumentam a disponibilidade ambiental de MPs (Deakin et al. 2025). Além disso, dados de campo, revisões e modelagens indicam que idade e tamanho corporal, que servem como proxies de longevidade e tempo de exposição, estão positivamente associados à ocorrência e às cargas de MPs em peixes (Roch et al. 2020; Yagi et al. 2022; Ding et al. 2023).

## 2 | Materiais e Métodos

### 2.1 | Área de estudo

A área de estudo abrange áreas úmidas temporárias nos municípios de Seropédica (código T1 na Fig. 1, 22°42'19,5"S – 43°41'36,1"W) e Rio de Janeiro (T2, 22°59'23,8"S – 43°25'03,0"W), bem como florestas de manguezal em Magé (M1, 22°42'36,9"S – 43°13'05,9"W; M2, 22°39'44,5"S – 43°05'09,7"W), que drenam para o Sistema Lagunar de Jacarepaguá e para as baías de Sepetiba e Guanabara, no estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (Fig. 1). As áreas úmidas amostradas eram rasas, com poças temporárias atingindo profundidades máximas de 35 cm em T1 e 50 cm em T2, e localizadas em áreas

de vegetação aberta com presença de macrófitas aquáticas. Em contraste, os sítios de manguezal exibiram profundidades ainda menores (25 cm em M1 e 15 cm em M2) e estavam associados a vegetação arbórea densa dominada por *Rhizophora mangle* e *Acrostichum aureum*. A distância até o corpo d'água perene mais próximo variou entre os sítios, sendo de 1.000 m em T1 e 83 m em T2, enquanto nos manguezais foi de 270 m em M2 e apenas 15 m em M1. Os rios e a biota que compõem esses sistemas de drenagem exibem altos níveis de contaminação por microplásticos (Alves and Figueiredo 2023; Drabinski et al. 2023; Cordeiro et al. 2026). O clima na região varia de tropical de monção (Am), em Magé e no Rio de Janeiro, a tropical de savana (Aw), em Seropédica, de acordo com a classificação de Köppen. As temperaturas médias anuais variam de 21,7 °C a 22,6 °C, e a precipitação anual total varia de 1.332 a 1.806 mm. Todas as localidades estão situadas no bioma Mata Atlântica, uma região reconhecida como hotspot global de biodiversidade devido à sua excepcional riqueza de espécies e aos elevados níveis de endemismo (Myers et al. 2000).



**Figura 1** | Mapa mostrando os sítios de amostragem de peixes rivulídeos na planície costeira do estado do Rio de Janeiro, Brasil. Círculo preto: *Leptopanchax opalescens* – área úmida temporária (T1); triângulo: *Notholebias minimus* – área úmida temporária (T2); quadrados: *Kryptolebias ocellatus* e *Kryptolebias hermaphroditus* – manguezais (M1 e M2).

## 2.2 | Amostragem de peixes

Os peixes foram coletados em junho de 2025 com o uso de puçás de imersão (redes manuais ovais, 50 × 40 cm, malha de 1 mm). A amostragem foi realizada por meio de

varreduras ativas dos puçás pela coluna d'água e ao longo do substrato, abrangendo áreas marginais e centrais de cada sítio. Após a captura, os espécimes foram anestesiados com cloridrato de benzocaína (50 mg/L), eutanasiados e fixados em formalina a 10% in situ. No laboratório, os peixes foram medidos com precisão de 0,01 cm, pesados com precisão de 0,001 g e, após 48 h, preservados em etanol 70%. Um total de 200 espécimes pertencentes a quatro espécies de rivulídeos de quatro localidades (Fig. 1) foi analisado: 100 indivíduos de áreas úmidas temporárias (*Notholebias minimus* — espécie anual, n = 50, do município do Rio de Janeiro; *Leptopanchax opalescens* — espécie anual, n = 50, de Seropédica) e 100 indivíduos das espécies perenes *Kryptolebias ocellatus* e *K. hermaphroditus* de dois sítios de manguezal em Magé (M1 = 50 e M2 = 50; Tabela 1). Os peixes foram coletados sob licenças emitidas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (licenças ICMBio nº 10.707 e nº 87.082) e pelo Conselho de Ética no Uso de Animais (CEUA/ICBS/UFRRJ; autorização nº 12.28.01.00.00.00.45, fevereiro de 2023).

## 2.3 | Análises laboratoriais

### 2.3.1 | Extração de microplásticos

Devido ao pequeno tamanho corporal das espécies analisadas (média  $\pm$  DP = 1,99  $\pm$  0,6 cm de TL; intervalo: 1,1–4,0 cm), os peixes inteiros foram submersos em uma solução de KOH a 10% (10 mL por grama de tecido) para digestão da matéria orgânica. Assim, a carga de microplásticos reportada neste estudo corresponde ao total presente em todos os tecidos e órgãos de cada indivíduo. Em seguida, as amostras foram aquecidas em uma chapa aquecedora TEC NAL a 40 °C por quatro horas, seguindo o protocolo adaptado da NOAA (Herring et al., 2015). Posteriormente, cada digestato foi filtrado a vácuo através de filtros de membrana de fibra de vidro. Os filtros foram examinados em estereomicroscópio LEICA M205 C, e todos os microplásticos visíveis foram contados, medidos ( $\mu$ m) e classificados em quatro categorias — microfibras, fragmentos, esferas (beads) ou pellets — de acordo com Dekiff et al. (2014) e Hidalgo-Ruz et al. (2012).

### 2.3.2 | Caracterização de microplásticos

Após a inspeção visual, uma subamostra correspondente a 10% do total de microplásticos observados foi selecionada aleatoriamente seguindo Hanke et al. (2013) e submetida à microespectroscopia no infravermelho por  $\mu$ -FTIR usando um Spectrum 3 equipado com o módulo Spotlight 200 (PerkinElmer) para caracterização química dos polímeros. O material retido durante a filtração foi transferido, sob um estereomicroscópio Olympus SZX10, para uma célula de disco de KBr polido (13  $\times$  2 mm) para análise por  $\mu$ -FTIR em modo de transmissão. A triagem das partículas foi realizada usando iluminação halógena (Olympus LG-PS2-5); para realce visual ocasional de partículas selecionadas, utilizou-se uma lanterna UV (A.F-535A). O  $\mu$ -FTIR foi operado em modo de transmitância, com resolução espectral de 1  $\text{cm}^{-1}$  ao longo de um intervalo de

4000–600  $\text{cm}^{-1}$ . O tamanho e a forma da abertura foram ajustados para cada partícula, com dimensões variando entre 25 e 150  $\mu\text{m}$ . Os espectros obtidos foram comparados com a biblioteca de referência “Polymers” da PerkinElmer usando o software Spectrum IR (v. 10.7.2), e as partículas foram classificadas como microplásticos quando a correspondência espectral excedeu 75%.

### 2.3.3 | Controle de qualidade

Foram realizados testes de recuperação para avaliar a eficiência dos procedimentos de extração. As amostras foram “spikeadas” com duas microfibras de cada tipo de polímero: PET (poli(tereftalato de etileno)), PVC (policloreto de vinila), PS (poliestireno) e PA (poliamida). Os brancos procedimentais consistiram em placas de Petri contendo água destilada filtrada, colocadas ao lado das amostras durante todo o processamento para monitorar possível contaminação aérea; quaisquer microplásticos detectados nesses brancos foram posteriormente quantificados. Para minimizar contaminação externa, todo o material (placas de Petri, tesouras, pinças) foi cuidadosamente limpo com água destilada seguida de etanol a 70%, e a equipe de laboratório utilizou luvas de látex e jalecos em tempo integral.

## 2.4 Análise de dados

Os microplásticos foram quantificados e categorizados por meio da contagem manual de cada partícula nas amostras, registrando-se seu morfotipo, cor e tamanho. Em seguida, calculamos a frequência relativa de cada tipo morfológico (microfibras, fragmentos, esferas, pellets) e de cada categoria de cor separadamente para cada ambiente (manguezal e poças temporárias), expressando todos os valores em porcentagens para fornecer uma visão abrangente e comparativa da distribuição de microplásticos entre os peixes analisados.

Para testar a hipótese (H1) de que espécies anuais de peixes que habitam áreas úmidas temporárias apresentam menor contaminação por microplásticos do que espécies perenes que habitam manguezais, foi empregada uma estrutura de Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMM). A variável resposta, abundância de microplásticos por peixe (MP), apresentou clara sobredispersão (variância/média = 2,14), assimetria positiva moderada (1,30) e alta curtose (7,39), consistente com uma distribuição de cauda longa e pico acentuado. Zeros corresponderam a 39,5% das observações (79/200), quase o dobro da proporção esperada sob um processo de Poisson com a mesma média (20,5%), indicando substancial inflação de zeros, um padrão comum em conjuntos de dados de contaminação por microplásticos (por exemplo, Hou et al. 2021; Cordeiro et al. 2026).

Dada a estrutura dos dados, ajustamos GLMMs binomiais negativos inflacionados por zeros (ZINB), com função de ligação log, usando o pacote *glmmTMB* (Brooks et al., 2017). Os efeitos fixos incluíram tipo de área úmida (manguezal vs. poças temporárias), comprimento total corporal dos peixes (proxy de longevidade e tempo de exposição) e

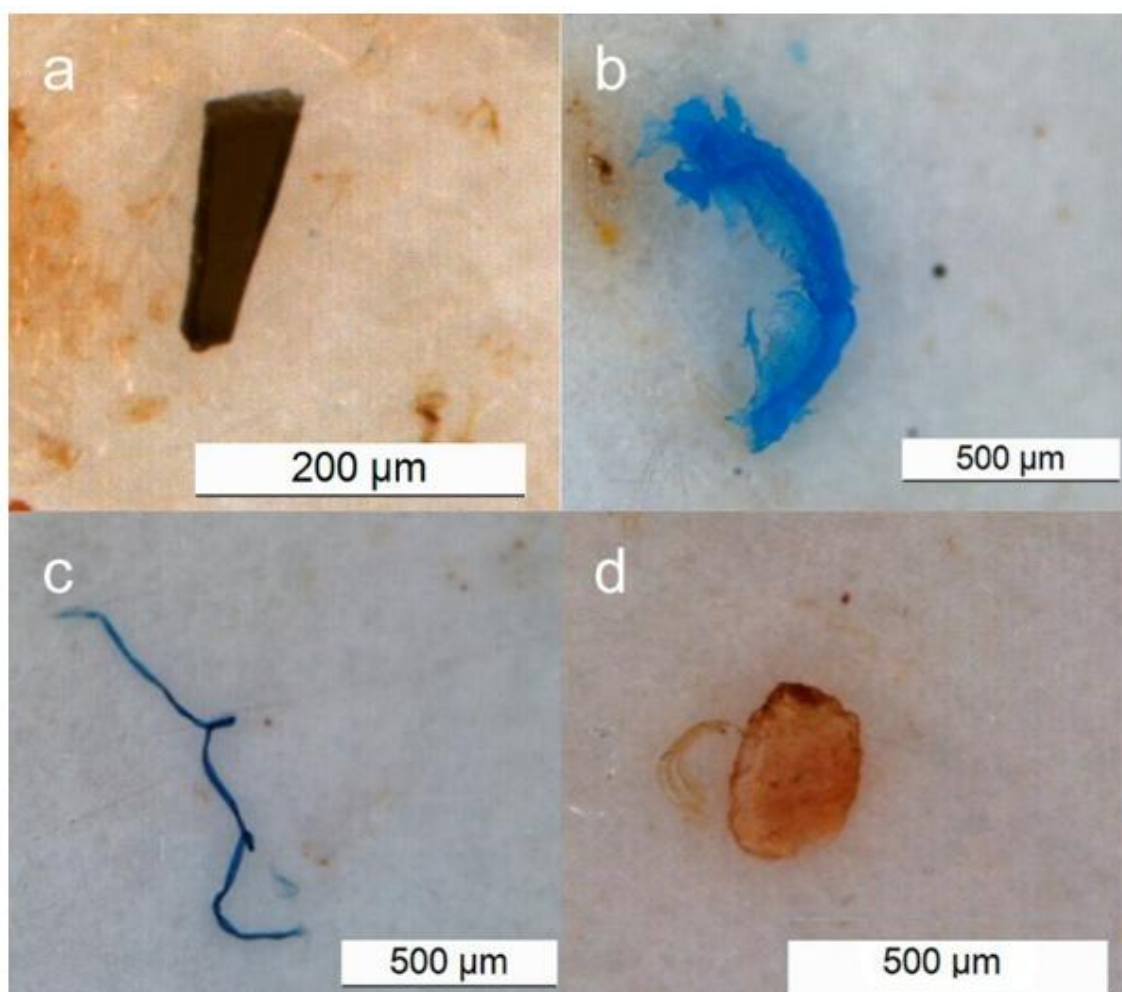
sua interação (tipo de área úmida × comprimento total corporal), com as localidades de amostragem especificadas como fatores aleatórios. Esses preditores foram incluídos tanto nos componentes condicionais quanto nos componentes de inflação de zeros dos modelos. A significância dos efeitos principais e das interações dos modelos foi avaliada usando ANOVA Wald  $\chi^2$  Tipo II por meio do pacote *car*, com  $\alpha = 0,05$ . As premissas e a adequação dos modelos foram verificadas usando a função *simulateResiduals* do pacote *DHARMA* (Hartig 2024). Gráficos diagnósticos foram usados para verificar as premissas distribucionais, checar sobredispersão e identificar potenciais outliers. Nenhuma violação significativa foi detectada (Fig. S1 — Material Suplementar 1). Todas as análises estatísticas foram realizadas no R versão 4.3.1 (R Core Team, 2024). Os dados usados nas análises estão disponíveis no Material Suplementar 2.

### 3 | Resultados

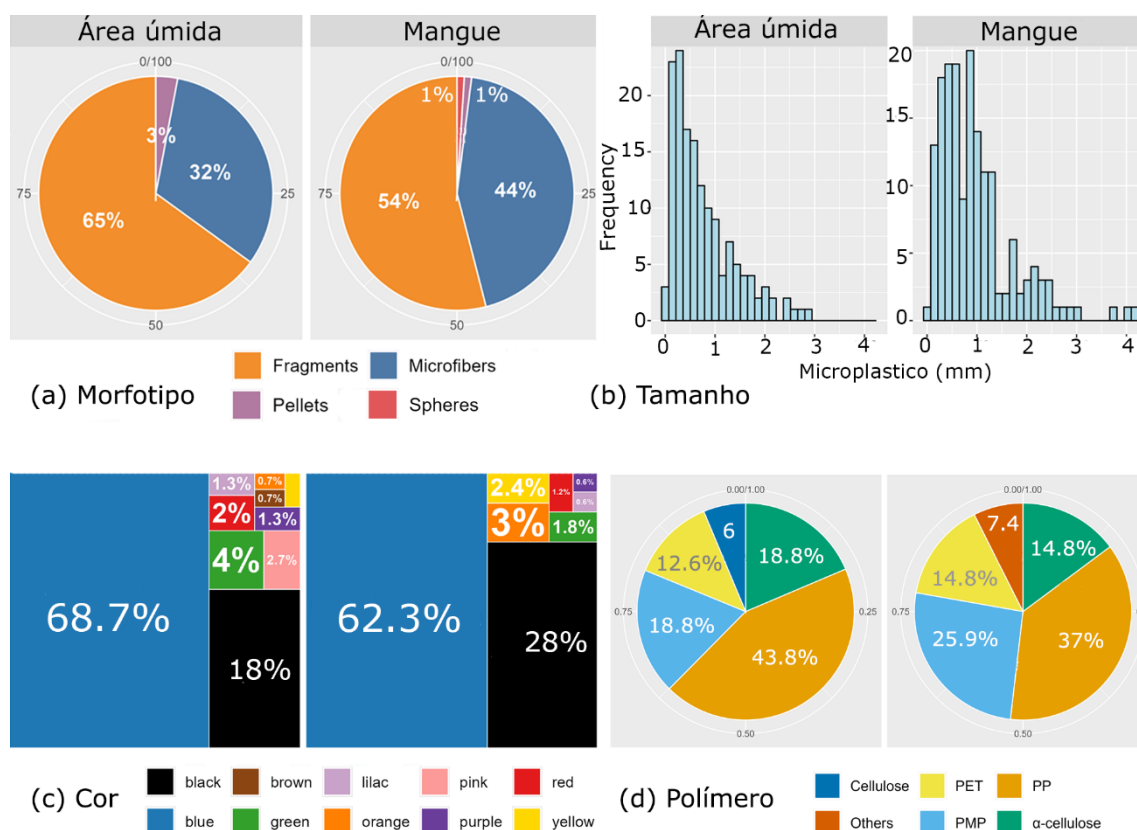
A contaminação por microplásticos foi detectada nas quatro espécies de peixes rivulídeos, ocorrendo em 121 (60,5%) dos 200 espécimes analisados (média  $\pm$  DP =  $1,58 \pm 1,84$  partículas de MP por indivíduo; Tabela 1, Figura 2). As taxas foram semelhantes entre os habitats: 62% em manguezais ( $1,50 \pm 1,84$  MP) e 59% em áreas úmidas temporárias ( $1,67 \pm 1,97$  MP; Tabela 1). A composição das partículas foi dominada por fragmentos (geral: N = 188; 59,3%; manguezais: N = 98; 65,3%; poças temporárias: N = 90; 50,3%) e microfibras (geral: N = 122; 38,4%; manguezais: N = 48; 32%; poças temporárias: N = 74; 44,3%) em ambos os ambientes; esferas e pellets foram raros (N = 7; < 2%; Figuras 2 e 3; Tabela S1 — Material Suplementar 1). Em termos de cor, partículas azuis (65,3%) e pretas (23,3%) predominaram, juntas correspondendo a 88,6% de todos os itens recuperados (Figura 3; Tabela S2 — Material Suplementar 1). Quanto ao tamanho, o comprimento das partículas variou de 22 a 4.192  $\mu\text{m}$ . Partículas menores (< 1.000  $\mu\text{m}$ ) foram as mais prevalentes nas amostras de manguezais e de poças temporárias (Figura 3). Nenhum microplástico foi detectado nas placas de Petri em branco, indicando ausência de contaminação procedimental durante as análises laboratoriais.

**Tabela 1** | Resumo da morfometria dos peixes (TL = comprimento total — cm; Weight = massa úmida — g) e da carga de microplásticos por tipo de área úmida, local e espécie. Os valores representam média  $\pm$  DP; o tamanho amostral por espécie é indicado entre parênteses.

| Área Úmida        | Local | Espécie (N)                         | TL (cm)         | Peso (g)        | MP per ind.     |
|-------------------|-------|-------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mangue            | M1    | <i>K. ocellatus</i> (37)            | $1.99 \pm 0.51$ | $0.08 \pm 0.05$ | $1.84 \pm 1.92$ |
|                   |       | <i>K. hermaphroditus</i> (13)       | $2.22 \pm 0.51$ | $0.11 \pm 0.06$ | $1.46 \pm 1.81$ |
|                   | M2    | <i>K. ocellatus</i> (39)            | $2.69 \pm 0.71$ | $0.24 \pm 0.14$ | $1.28 \pm 1.61$ |
|                   |       | <i>K. hermaphroditus</i> (11)       | $2.82 \pm 0.66$ | $0.25 \pm 0.16$ | $1.18 \pm 1.47$ |
| Áreas temporárias | T1    | <i>Leptopanchax opalescens</i> (50) | $1.44 \pm 0.2$  | $0.03 \pm 0.02$ | $1.7 \pm 1.93$  |
|                   | T2    | <i>Notholebias minimus</i> (50)     | $1.77 \pm 0.35$ | $0.06 \pm 0.04$ | $1.64 \pm 1.98$ |



**Figura 2** | Fotografias de microplásticos detectados em peixes rivulídeos. Fragmentos (a–b); microfibras (c); esferas (d).



**Figura 3** | Comparação da contaminação por microplásticos em peixes rivulídeos entre dois tipos de áreas úmidas (manguezais e poças temporárias) no sudeste do Brasil quanto à: morfologia (a), tamanho (b), cor (c) e composição química dos polímeros (d).

A análise por  $\mu$ -FTIR mostrou que as partículas identificadas eram principalmente polipropileno (PP, 39,5%) e poli(4-metil-1-penteno) (PMP/TPX, 23,3%), seguidos por  $\alpha$ -celulose (16,3%), poli(tereftalato de etileno) (PET, 14,0%), celulose (2,3%) e outros polímeros (4,7%) (Figura 3). Por ambiente, o manguezal foi dominado por PP (43,8%), com contribuições de PMP (18,8%),  $\alpha$ -celulose (18,8%), PET (12,5%) e celulose (6,3%). Nas poças temporárias, PP (37,0%) e PMP (25,9%) predominaram, com PET (14,8%) e  $\alpha$ -celulose (14,8%) em frequências intermediárias, além de outros polímeros (7,4%).

A abundância de microplásticos por peixe foi modelada com um GLMM binomial negativo inflacionado por zeros (AIC = 697,1). O componente de inflação de zeros indicou um excesso significativo de zeros estruturais (intercepto logit =  $-1,09 \pm 0,36$ ,  $p = 0,0026$ ), correspondendo a uma probabilidade média de zeros estruturais de  $\sim 0,25$ . No componente de contagem, nem o tipo de área úmida ( $\chi^2 = 0,18$ ,  $p = 0,671$ ), nem o comprimento total dos peixes ( $\chi^2 = 0,44$ ,  $p = 0,507$ ), nem sua interação ( $\chi^2 = 0,18$ ,  $p = 0,669$ ) estiveram associados à abundância de MPs; portanto, rejeitando H1.

## 4 | Discussão

### Efeitos do tipo de área úmida e do comprimento corporal sobre a contaminação por microplásticos

Contrariamente à H1, as cargas de microplásticos (MPs) foram semelhantes em peixes anuais de áreas úmidas temporárias e em peixes perenes de manguezais, apesar da expectativa de maior contaminação em manguezais devido à maior conectividade hidrológica e aos ciclos de vida mais longos (e, portanto, à maior exposição cumulativa). Revisões mostram que a estrutura das raízes dos manguezais e os regimes de maré promovem a retenção e o enriquecimento de microplásticos em manguezais (por exemplo, Qiao and Wang 2024; Deakin et al. 2025), e que o tamanho corporal, usado como proxy de longevidade e tempo de exposição, está positivamente associado à ocorrência e às cargas de MPs em peixes (Roch et al. 2020; Yagi et al. 2022; Ding et al. 2023), o que, a priori, justificaria a expectativa de maiores cargas em peixes de manguezal. Esse achado sugere que vias eficientes de entrada e ingestão de MPs também operam em peixes de áreas úmidas temporárias, compensando os efeitos da menor conectividade e dos ciclos de vida mais curtos.

Um mecanismo-chave subjacente à contaminação por MPs dos peixes nas áreas úmidas temporárias examinadas aqui pode ser a entrada atmosférica, pluvial e por escoamento superficial. Devido ao seu pequeno tamanho e baixa densidade, os MPs tornam-se aerotransportados e podem ser transportados por longas distâncias pelo vento antes de serem redepositados em superfícies terrestres e aquáticas (Allen et al. 2019; Elnahas et al. 2024). A precipitação também desempenha um papel crucial ao remover MPs suspensos da atmosfera e depositá-los em fluxos concentrados, atuando efetivamente como um “funil de concentração” (Brahney et al. 2020; Dong et al. 2024). Além disso, o escoamento superficial proveniente de estradas transporta resíduos urbanos para áreas úmidas temporárias, enquanto a poeira derivada do tráfego, particularmente partículas resultantes do desgaste de pneus e freios, constitui uma importante fonte de MPs (por exemplo, Jaiswal et al. 2026). Isso é consistente com os sítios de amostragem do estudo: a poça temporária de *Leptopanchax opalescens* está localizada em uma zona industrial/agrícola próxima a uma rodovia estadual (Guedes et al. 2020), enquanto o sítio de *Notholebias minimus* situa-se em uma área urbana da cidade do Rio de Janeiro (Guedes et al. 2023b), uma das regiões mais densamente povoadas do Brasil. A questão central no Rio de Janeiro, assim como em grande parte do Brasil, permanece sendo o descarte e a gestão inadequados de resíduos sólidos e as baixas taxas de tratamento de esgoto (Alves and Figueiredo 2023; Drabinski et al. 2023; Andrade and Araujo 2025), fatores que contribuem para o acúmulo de poluentes em áreas úmidas temporárias onde ocorrem peixes rivulídeos. A “isolamento” hidrológico de uma área úmida temporária em relação a águas perenes é, portanto, ilusório do ponto de vista da poluição plástica. A similaridade observada na ingestão entre as espécies pode derivar de traços funcionais compartilhados pelos rivulídeos. O pequeno tamanho corporal e a abertura bucal reduzida impõem uma filtragem seletiva por tamanho, favorecendo a ingestão de

partículas finas ( $< 1$  mm), fração que tende a predominar nos registros de MPs (Siddique et al. 2024; Lim et al. 2022). Além disso, o hábito trófico generalista e o uso recorrente do bentos raso, do perifíton/detríto e da interface ar-água (Contente and Stefanoni 2010; Gonçalves et al. 2011; Taylor 2012), onde fibras e fragmentos se acumulam por flutuação, sedimentação e ressuspensão, podem criar oportunidades semelhantes para ingestão incidental tanto em espécies anuais quanto perenes. A ingestão de microplásticos por peixes ocorre predominantemente de forma passiva ou incidental, refletindo sua disponibilidade no ambiente aquático, uma vez que as partículas podem ser confundidas com alimento ou ingeridas durante a alimentação (Hartz et al. 2025; Jolaosho et al. 2025). Apesar dos ciclos de vida mais curtos, espécies anuais apresentam elevadas taxas de crescimento e forrageamento para completar um ciclo de vida rápido (Furness 2016; Žák et al. 2021), o que pode compensar o menor tempo de exposição e aproximar as cargas de MPs daquelas observadas em espécies perenes. Em conjunto, (i) traços morfológicos compartilhados (corpo pequeno/abertura bucal reduzida), (ii) uso convergente de micro-habitats com potencial alta disponibilidade de MPs e (iii) elevadas taxas de forrageamento tendem a homogeneizar o espectro de tamanhos de partículas ingeridas e, consequentemente, as cargas individuais de MPs observadas neste estudo.

#### **Perfis de microplásticos: morfotipo, cor, comprimento e composição polimérica**

Fragmentos (60%) e microfibras (38%) dominaram as partículas recuperadas dos peixes tanto em manguezais quanto em poças temporárias, enquanto esferas e pellets contribuíram apenas marginalmente. Esse perfil contrasta com a meta-análise (Lim et al. 2022; Dalvand and Hamidian 2023), que relatou fibras como o morfotipo dominante (70–98%) e fragmentos como secundários (8–19%) em peixes globalmente. A inversão observada para as espécies no presente estudo pode estar ligada à ausência de áreas úmidas temporárias nos estudos revisados e também pode refletir uma combinação de mecanismos não exclusivos: (i) fontes e transformações específicas do habitat — em manguezais, a energia das marés, o tráfego de embarcações e o desgaste de equipamentos de pesca favorecem a fragmentação secundária de macroplásticos, enquanto a arquitetura das raízes e os sedimentos finos atuam como sumidouros que modulam a disponibilidade relativa de fibras na coluna d'água (Paduani 2020; Qiao and Wang 2024); e (ii) em poças temporárias, a radiação UV, as temperaturas elevadas e os ciclos de inundação–seca aceleram a foto-oxidação e a abrasão, aumentando a proporção de fragmentos (Qian et al. 2021; Li et al. 2024), enquanto a baixa conectividade hidrológica reduz a exposição a entradas contínuas de microfibras têxteis provenientes de efluentes domésticos/industriais.

Além disso, o presente estudo possui particularidades metodológicas que o distinguem da maioria dos estudos sobre microplásticos em peixes. Aqui, a carga total de microplásticos foi avaliada no nível de exposição do organismo, considerando o peixe inteiro. Essa abordagem é particularmente apropriada devido ao pequeno tamanho corporal das espécies analisadas, que, como a maioria dos rivulídeos neotropicals, apresentam tamanho reduzido (Guedes et al. 2023b), com massa corporal total inferior a 0,5 g. Em contraste, a maioria dos estudos sobre microplásticos em peixes concentra-

se em compartimentos específicos, com forte predominância de análises do trato gastrointestinal (65%) e baixa representação de abordagens integradas, com apenas cerca de 5,3% dos estudos avaliando o organismo de forma mais abrangente (Sequeira et al. 2020). Essa limitação metodológica pode levar à subestimação da exposição no nível do organismo, pois não considera outras vias e compartimentos de contaminação, como retenção e filtração pelas brânquias, bem como possível redistribuição para tecidos musculares e neurais (Lim et al. 2022). Estudos focados exclusivamente no intestino tendem a refletir padrões de ingestão associados ao comportamento alimentar, enquanto análises baseadas nas brânquias podem capturar uma exposição mais direta e contínua ao ambiente aquático, frequentemente mais heterogênea em termos de disponibilidade de partículas (Yin et al. 2022). Assim, particularidades ecológicas, hidrológicas e metodológicas podem ter influenciado a predominância de fragmentos sobre microfibras observada no presente estudo.

Partículas de microplásticos azuis e pretas predominaram nos peixes de ambos os tipos de áreas úmidas, juntas correspondendo a 88,6% de todos os itens recuperados. Esse padrão está alinhado com análises cienciométricas e meta-análises globais em peixes, que mostram que partículas azuis e pretas são as mais frequentemente relatadas em investigações de campo (Lim et al. 2022; Sacco et al. 2024). Processos ecológicos e metodológicos provavelmente atuam em conjunto em habitats salobros e de água doce: (i) entradas compartilhadas provenientes de efluentes urbanos, escoamento superficial e deposição atmosférica fornecem uma “mistura de cores” semelhante, com plásticos azuis ingeridos incidentalmente devido à alta disponibilidade ambiental (Lim et al. 2022); (ii) a seleção visual pelos peixes pode favorecer partículas azuis que se assemelham a presas zooplancônicas, enquanto partículas pretas comumente refletem detritos provenientes do desgaste de pneus e de cordas/equipamentos de pesca (Ory et al. 2017); e (iii) a triagem visual pode superestimar cores vívidas/escuras e subestimar partículas transparentes (Lusher et al. 2020).

Partículas < 1.000 µm foram as mais prevalentes neste estudo, em consonância com sínteses em peixes indicando que a classe de 0–1 mm é a mais comum entre os itens ingeridos (Oza et al. 2024). Biologicamente, o pequeno tamanho corporal dos rivulídeos impõe limitações de abertura bucal e favorece a seleção de presas naturais proporcionalmente pequenas; tais restrições morfológicas provavelmente tornam microplásticos menores mais suscetíveis à ingestão incidental durante o forrageamento (por exemplo, Siddique et al. 2024). A elevada frequência de polipropileno observada neste estudo é consistente com sínteses e meta-análises que relatam poliolefinas (PE/PP) como os polímeros mais comuns em peixes, devido ao seu amplo uso em materiais de embalagem, sacolas plásticas, recipientes e fibras sintéticas (Lim et al. 2022). Esse padrão reflete sua alta produção, baixa densidade e persistência, que favorecem o transporte superficial e o encalhe em zonas de retenção física, como raízes de manguezais e macrófitas emergentes (Amparo et al. 2023; Oza et al. 2024).

### **Implicações, limitações e direções futuras**

Entre as quatro espécies de rivulídeos analisadas neste estudo, duas estão globalmente ameaçadas de extinção (*N. minimus* e *L. opalescens*; IUCN 2025), e uma está localmente

ameaçada (*Kryptolebias ocellatus*; Resolução SMAC nº 073–2022). A detecção de microplásticos em todas as espécies avaliadas representa um sinal de alerta relevante para a conservação, não apenas para esses táxons, mas também para as mais de 130 espécies de rivulídeos ameaçadas de extinção no Brasil (ICMBio 2026). Além disso, o escoamento superficial de áreas agrícolas pode transportar misturas de pesticidas para corpos d'água habitados por rivulídeos (Zebral et al. 2018; Godoy et al. 2025), juntamente com microplásticos (MPs), criando cenários de coexposição. A exposição a microplásticos em peixes tem sido associada a efeitos subletais, como estresse oxidativo, inflamação tecidual, redução do desempenho fisiológico e alterações comportamentais (Wang et al. 2024; Jo et al. 2025). Além disso, há potencial para bioacumulação e transferência trófica de microplásticos para níveis mais altos da cadeia alimentar, especialmente para aves piscívoras e outros predadores que utilizam esses ambientes como áreas de forrageamento (por exemplo, Carrillo et al. 2025), o que amplia as implicações ecológicas desses achados para toda a teia alimentar local.

No Brasil, o principal desafio relacionado à poluição plástica continua sendo a gestão inadequada de resíduos sólidos e a baixa cobertura de tratamento de esgoto, fatores que favorecem a entrada contínua de contaminantes em ambientes aquáticos (Andrade and Araujo 2025). Portanto, estratégias de conservação devem incluir medidas específicas de gestão ambiental voltadas à redução de fontes locais de microplásticos, como o controle do descarte de resíduos, a mitigação do escoamento superficial proveniente de estradas e áreas urbanas e a melhoria da infraestrutura de saneamento básico.

Apesar de suas contribuições, este estudo apresenta limitações inerentes. Primeiro, a ausência de dados de microplásticos em matrizes ambientais (solo e água) tanto nos manguezais quanto nas áreas úmidas temporárias impede uma avaliação direta da relação entre a contaminação observada nos peixes rivulídeos e a disponibilidade ambiental de partículas nesses habitats. Segundo, a análise inclui apenas quatro espécies e quatro localidades, o que limita a extrapolação dos resultados para outros sistemas e regiões. Terceiro, o desenho amostral possui resolução temporal limitada, uma vez que a contaminação por microplásticos pode variar significativamente entre estações (por exemplo, Cordeiro et al. 2026). Estudos futuros que abranjam um escopo ambiental, espacial, temporal e taxonômico mais amplo, incluindo múltiplas matrizes ambientais, são necessários para contextualizar melhor os padrões observados em peixes de áreas úmidas.

## 5 | Conclusões

Esta primeira quantificação de microplásticos em peixes Rivulidae revela contaminação generalizada: as partículas ocorreram em todas as quatro espécies e em 60,5% dos indivíduos ( $1,58 \pm 1,84$  itens peixe<sup>-1</sup>), com perfis dominados por fragmentos e microfibras

azuis/pretos < 1.000 µm, principalmente polipropileno, poli(4-metil-1-penteno) e PET. Contrariamente à H1, as cargas de MPs não diferiram entre manguezais e poças temporárias, nem em relação ao tamanho corporal. Traços funcionais convergentes dos rivulídeos: corpo e abertura bucal pequenos, forrageamento generalista e uso rotineiro de micro-habitats rasos onde fibras e fragmentos se acumulam, provavelmente equalizam as probabilidades de ingestão entre histórias de vida. Em conjunto, esses achados mostram que áreas úmidas temporárias não são refúgios contra a contaminação por plástico e devem ser explicitamente incluídas em estratégias de monitoramento e mitigação voltadas a entradas difusas de MPs em escala de paisagem.

## Referências

- Abrantes YG, Medeiros LS, Bennemann ABA, Bento DM, Teixeira FK, Rezende CF et al (2020) Geographic distribution and conservation of seasonal killifishes (Cyprinodontiformes, Rivulidae) from the Mid-Northeastern Caatinga ecoregion, northeastern Brazil. *Neotrop Biol Conserv* 15:301-315. <https://doi.org/10.3897/neotropical.15.e51738>
- Allen S, Allen D, Phoenix VR et al (2019) Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nat Geosci* 12:339-344. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0335-5>
- Alves VEN, Figueiredo GM (2023) Assessment of microplastic impacts on whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) and ecosystem services in Guanabara Bay, Brazil. *Environ Biol Fishes* 106:2177-2192. <https://doi.org/10.1007/s10641-023-01497-9>
- Amparo SZS, Carvalho LO, Silva GG et al (2023) Microplastics as contaminants in the Brazilian environment: an updated review. *Environ Monit Assess* 195:1414. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-12011-0>
- Andrade FN, Araujo FV (2025) An analysis of the legal and management aspects of plastic waste in Brazil. *Sustain Futures* 10:101120. <https://doi.org/10.1016/j.sftr.2025.101120>
- Avisé JC, Tatarenkov A (2015) Population genetics and evolution of the mangrove rivulus *Kryptolebias marmoratus*, the world's only self-fertilizing hermaphroditic vertebrate. *J Fish Biol* 87:519-538. <https://doi.org/10.1111/jfb.12741>
- Berbel-Filho WM, Pacheco G, Tatarenkov A, Lira MG, Garcia de Leaniz C, Rodríguez López CM, Lima SMQ, Consuegra S (2022) Phylogenomics reveals extensive introgression and a case of mito-nuclear discordance in the killifish genus *Kryptolebias*. *Mol Phylogenet Evol* 177:107617. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107617>
- Boyer JJ, Brooks JM, Arias ME (2024) Microplastics in a Large Constructed Wetland: Retention, Transport, and Characteristics. *Environ Eng Sci* 41:1091-1102. <https://doi.org/10.1089/ees.2024.0083>

- Brahney J, et al (2020) Plastic rain in protected areas of the United States. *Science* 368:1257-1260. <https://doi.org/10.1126/science.aaz5819>
- Browne MA, Chapman MG, Thompson RC, Amaral Zettler LA, Jambeck J, Mallos NJ (2015) Spatial and temporal patterns of stranded intertidal marine debris: is there a picture of global change? *Environ Sci Technol* 49:7082-7094. <https://doi.org/10.1021/es5060572>
- Carrillo MS, Archuby DI, Lunardelli M, Castresana G, Montalti D, Ibañez AE (2025) Dynamics of microplastic transfer through the food web in a migratory seabird. *Environ Pollut* 383:126784. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.126784>
- Contente R, Stefanoni M (2010) Diet of the Atlantic rainforest killifish *Rivulus santensis* (Rivulidae, Cyprinodontiformes) in Southeastern Brazil. *J Appl Ichthyol* 26:930-932. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01465.x>
- Cordeiro L, Sorrentino R, Guedes GHS, Azeredo LFSP, Araújo FG (2026) Influence of biological, ecological, and anthropogenic factors on microplastic contamination in coastal fishes from Southeastern Brazil. *Environ Biol Fish* 109:82. <https://doi.org/10.1007/s10641-026-01845-5>
- Costa JHA, Souza UP, Selinger A, Vidal TA, Langeani F, Duarte RM (2024) Rediscovery of the Critically Endangered Annual Killifish *Leptopanchax itanhaensis* (Costa, 2008) in a temporary pool and roadside ditch from the Atlantic Forest of Southeast Brazil. *Biota Neotrop* 24:e20241637. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2024-1637>
- Dalvand M, Hamidian AH (2023) Occurrence and distribution of microplastics in wetlands. *Sci Total Environ* 862:160740. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160740>
- Deakin K, Porter A, Osorio Baquero A, Lewis C (2025) Plastic pollution in mangrove ecosystems: A global meta-analysis. *Mar Pollut Bull* 218:118165. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118165>
- Dekiff JH, Remy D, Klasmeier J, Fries E (2014) Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environ Pollut* 186:248-256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.11.019>
- Ding J, et al (2023) Elder fish means more microplastics? Alaska pollock microplastic story in the Bering Sea. *Sci Adv* 9:eadf5897. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adf5897>
- Dong J, Zhao T, Wang Y, Zhao S, Zhu L, Li H, Wang M, An L (2024) Microplastic characteristics in rain/snow sampled from two northern Chinese cities. *Sci Total Environ* 956:177352. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177352>
- Drabinski TL, de Carvalho DG, Gaylarde CC, Lourenço MFP, Machado WTV, da Fonseca EM, da Silva ALC, Baptista Neto JA (2023) Microplastics in Freshwater River in Rio de Janeiro and Its Role as a Source of Microplastic Pollution in Guanabara Bay, SE Brazil. *Micro* 3:208-223. <https://doi.org/10.3390/micro3010015>
- Elnahas A, Gray A, Lee J, AlAmiri N, Pokhrel N, Allen S, Foroutan H (2024) Atmospheric Deposition of Microplastics in South Central Appalachia in the United States. *ACS ES&T Air* 2:64-72. <https://doi.org/10.1021/acsestair.4c00189>

- Fricke R, Eschmeyer WN, Van der Laan R (2025) Eschmeyer's catalog of fishes. California Academy of Science. <https://www.calacademy.org/scientists/projects/eschmeyers-catalog-of-fishes>. Accessed 7 Ago 2025
- Furness AI (2016) The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biol Rev* 91:796-812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>
- Furness AI, Reznick DN, Tatarenkov A, Avise J (2018) The evolution of diapause in *Rivulus* (Laimosemion). *Zool J Linn Soc* 184(3):773–790. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zly021>
- Geyer R, et al (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci Adv* 3:e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Godoy RS, Weber V, Lanés LEK, Castro BD, Oliveira GT, Arenzon A et al (2025). Early post-hatching sensitivity of a Neotropical annual killifish to glyphosate-based-herbicide. *Toxicol Environ Chem* 107(7): 1322-1338. <https://doi.org/10.1080/02772248.2025.2527648>
- Gonçalves CS, Souza UP, Volcan MV (2011) The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats in southern Brazil. *Neotrop Ichthyol* 9:191–200. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011000100019>
- Guedes GHS, Araújo FG (2026) Water and fire: wildfires threaten fish habitats across Brazilian biomes, and protected areas offer insufficient safeguards. *Biol Conserv* 315:111692. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2025.111692>
- Guedes GHS, Gomes ID, do Nascimento AA, Azevedo MCC, Souto-Santos ICA, Buckup BA, Araújo FG (2023a) Reproductive strategy of the annual fish *Leptopanchax opalescens* (Rivulidae) and trade-off between egg size and maximum body length in temporary wetlands. *Wetlands* 43:29. <https://doi.org/10.1007/s13157-023-01680-9>
- Guedes GHS, Luz CHP, Mazzoni R, Lira FO, Araújo FG (2023b) New occurrences of the endangered *Notholebias minimus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in coastal plains of the State of Rio de Janeiro, Brazil: populations features and conservation. *Neotrop Ichthyol* 21:e230013. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0013>
- Guedes GHS, Salgado FLK, Uehara W, Ferreira DLP, Araújo FG (2020) The recapture of *Leptopanchax opalescens* (Aplocheiloidei: Rivulidae), a critically endangered seasonal killifish: habitat and aspects of population structure. *Zoologia* 37:e54982. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e54982>
- Guedes GHS, Santangelo JM, Pires APF, Araújo FG (2025)  $\beta$ -diversity scaling patterns across different bioregionalisations for a megadiverse Neotropical fish family. *J Biogeogr* 52:e15088. <https://doi.org/10.1111/jbi.15088>
- Hartz L, Grabinski L, Salameh S (2025) Microplastic pollution in aquatic environments: a meta-analysis of influencing factors and methodological recommendations. *Front Environ Sci* 13:1600570. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2025.1600570>

- Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M (2012) Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environ Sci Technol* 46(6):3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Hinnccands D, Lara NFR, Garcia ICB, Polaz CNM (2025) Ecologia reprodutiva de *Hypsoblebias auratus*, um peixe-anual do Cerrado: subsídios para o manejo conservacionista. *Biodivers Bras* 15(1): 54-70. <https://doi.org/10.37002/biodiversidadebrasileira.v15i1.2366>
- Hou L, McMahan CD, McNeish RE, Munno K, Rochman CM, Hoellein TJ (2021) A fish tale: A century of museum specimens reveal increasing microplastic concentrations in freshwater fish. *Ecol Appl* 31:e02320. <https://doi.org/10.1002/eap.2320>
- Hu CK, Wang W, Brind'Amour J, Singh PP, Reeves GA, Lorincz MC et al (2020) Vertebrate diapause preserves organisms long term through Polycomb complex members. *Science* 367:870-874. <https://doi.org/10.1126/science.aaw2601>
- ICMBio (2026) Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE. <https://salve.icmbio.gov.br>
- IUCN (2026) The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2025–2. <https://www.iucnredlist.org>
- Jaiswal PK, Singh R, Kumar S et al (2025) Assessment of microplastic pollution load in road dust and associated health risk in a semi-arid region of Rajasthan, India. *Environ Sustain*. <https://doi.org/10.1007/s42398-025-00370-y>
- Jo AH, Yu YB, Choi JH, Lee JH, Choi CY, Kang JC, Kim JH (2025) Microplastics induce toxic effects in fish: bioaccumulation, hematological parameters and antioxidant responses. *Chemosphere* 375:144253. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144253>
- Jolaosho TL, Rasaq MF, Omotoye EV, Araomo OV, Adekoya OS, Abolaji OY, Hungbo JJ (2025) Microplastics in freshwater and marine ecosystems: Occurrence, characterization, sources, distribution dynamics, fate, transport processes, potential mitigation strategies, and policy interventions. *Ecotoxicol Environ Saf* 294:118036. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2025.118036>
- Karak P, Parveen A, Modak A, Adhikari A, Chakraborty S (2025) Microplastic pollution: a global environmental crisis impacting marine life, human health, and potential innovative sustainable solutions. *Int J Environ Res Public Health* 22:889. <https://doi.org/10.3390/ijerph22060889>
- Lanés LEK, Volcan MV, Maltchik L (2021) Two new annual fishes (Cyprinodontiformes: Rivulidae) unexpectedly discovered in the highlands of southern Brazil. *Zootaxa* 4949:499-520. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4949.3.4>
- Leslie HA, Van Velzen MJ, Brandsma SH, Vethaak AD, Garcia-Vallejo JJ, Lamoree MH (2022) Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environ Int* 163:107199. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>

- Li NY, Zhong B, Guo Y, Li XX, Yang Z, He YX (2024) Non-negligible impact of microplastics on wetland ecosystems. *Sci Total Environ* 924:171252. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171252>
- Lim KP, Lim PE, Yusoff S, Sun C, Ding J, Loh KH (2022) A Meta-Analysis of the Characterisations of Plastic Ingested by Fish Globally. *Toxics* 10:186. <https://doi.org/10.3390/toxics10040186>
- Loureiro M, Sá RO, Serra SW, Alonso F, Lanés LEK, Volcan MV, Calviño PA, Nielsen D, Duarte A, García G (2018) Review of the family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a molecular and morphological phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotrop Ichthyol* 16:1-20. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>
- Lusher AL, Brate ILN, Welden NA (2020) Is or Isn't it: The importance of visual classification in microplastic characterization. *Appl Spectrosc* 74:1139-1153. <https://doi.org/10.1177/0003702820930733>
- Moreira MF, Leal CG, Pompeu PS (2025) Trends and gaps in microplastics research in Tropical freshwater ecosystems. *An Acad Bras Cienc* 97:e20241229. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202520241229>
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GA, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Napper IE, Davies BFR, Clifford H, Elvin S, Koldewey HJ, Clark PF, Waluda CM, Thompson RC, Maddaloni M (2020) Reaching New Heights in Plastic Pollution—Preliminary Findings of Microplastics on Mount Everest. *One Earth* 3:621-630. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.10.020>
- Ory NC, Sobral P, Ferreira JL, Thiel M (2017) Amberstripe scad *Decapterus muroadsi* (Carangidae) fish ingest blue microplastics resembling their copepod prey along the coast of Rapa Nui (Easter Island) in the South Pacific subtropical gyre. *Sci Total Environ* 586:430-437. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.175>
- Oza J, Rabari V, Yadav VK, Sahoo DK, Patel A, Trivedi J (2024) A Systematic Review on Microplastic Contamination in Fishes of Asia: Polymeric Risk Assessment and Future Prospectives. *Environ Toxicol Chem* 43:671-685. <https://doi.org/10.1002/etc.5821>
- Paduani M (2020) Microplastics as novel sedimentary particles in coastal wetlands: A review. *Mar Pollut Bull* 161:111739. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111739>
- Peng G, Bellerby R, Zhang F, Sun X, Li D (2020) The ocean's ultimate trashcan: Hadal trenches as major depositories for plastic pollution. *Water Res* 168:115121. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115121>
- Podrabsky JE, Riggs CL, Wagner JT (2016) Tolerance of Environmental Stress. In: Berois N, García G, de Sá RO (eds) *Annual Fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, Boca Ratón, pp 160-180. <https://doi.org/10.1201/b19016>

- Polačik M, Podrabsky JE (2015) Temporary Environments. In: Riesch R, Tobler M, Plath M (eds) *Extremophile Fishes*. Springer, Cham, pp 271–305. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-13362-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-13362-1_10)
- Qian J, Tang S, Wang P, Lu B, Li K, Jin W, He X (2021) From source to sink: Review and prospects of microplastics in wetland ecosystems. *Sci Total Environ* 758:143633. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143633>
- Qiao K, Wang WX (2024) The dual role of coastal mangroves: Sinks and sources of microplastics in rapidly urbanizing areas. *J Hazard Mater* 480:136408. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.136408>
- Rhee JS, Choi BS, Kim J, Kim BM, Lee YM, Kim IC et al (2017) Diversity, distribution, and significance of transposable elements in the genome of the only selfing hermaphroditic vertebrate *Kryptolebias marmoratus*. *Sci Rep* 7:40121. <https://doi.org/10.1038/srep40121>
- Roch S, Friedrich C, Brinker A (2020) Uptake routes of microplastics in fishes: practical and theoretical approaches to test existing theories. *Sci Rep* 10:3896. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60630-1>
- Sacco VA, Zuanazzi NR, Selinger A, da Costa JHA, Lemunie ÉS, Comelli CL et al (2024) What are the global patterns of microplastic ingestion by fish? A scientometric review. *Environ Pollut* 350:123972. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123972>
- Semensatto D, Passos CC, Bicalho CS, Mendes-Silva LP, Labuto G (2025) Methodological similarities and discrepancies among studies on microplastics in South American continental aquatic environments. *An Acad Bras Cienc* 97:e20241459. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202520241459>
- Sequeira IF, Prata JC, da Costa JP, Duarte AC, Rocha-Santos T (2020) Worldwide contamination of fish with microplastics: a brief global overview. *Mar Pollut Bull* 160:111681. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111681>
- Siddique MAM, Shazada NE, Ritu JA, Turjo KEZ, Das K (2024) Does the mouth size influence microplastic ingestion in fishes? *Mar Pollut Bull* 198:115861. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115861>
- Taylor DS (2012) Twenty-four years in the mud: what have we learned about the natural history and ecology of the mangrove rivulus, *Kryptolebias marmoratus*? *Integr Comp Biol* 52:724–736. <https://doi.org/10.1093/icb/ics062>
- Turko AJ, Wright PA (2015) Evolution, ecology and physiology of amphibious killifishes (Cyprinodontiformes). *J Fish Biol* 87:815–835. <https://doi.org/10.1111/jfb.12758>
- Wang J, Wu F, Dong S, Wang X, Ai S, Liu Z, Wang X (2024) Meta-analysis of the effects of microplastic on fish: insights into growth, survival, reproduction, oxidative stress, and gut microbiota diversity. *Water Res* 267:122493. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122493>
- Wang T, Wang L, Chen Q, Kalogerakis N, Ji R, Ma Y (2020) Interactions between microplastics and organic pollutants: Effects on toxicity, bioaccumulation,

degradation, and transport. *Sci Total Environ* 748:142427. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142427>

Wright AP (2012) Environmental Physiology of the Mangrove Rivulus, *Kryptolebias marmoratus*, A Cutaneously Breathing Fish That Survives for Weeks Out of Water. *Integr Comp Biol* 52:792-800. <https://doi.org/10.1093/icb/ics091>

Yagi M, Ono Y, Kawaguchi T (2022) Microplastic pollution in aquatic environments may facilitate misfeeding by fish. *Environ Pollut* 315:120457. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120457>

Žák J, Vrtílek M, Polačik M, Blažek R, Reichard M (2021) Short-lived fishes: Annual and multivoltine strategies. *Fish Fish* 22:546-561. <https://doi.org/10.1111/faf.12535>

Zebral YD, Lansini LR, Costa PG, Roza M, Bianchini A, Robaldo RB (2018). A glyphosate-based herbicide reduces fertility, embryonic upper thermal tolerance and alters embryonic diapause of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus*. *Chemosphere* 196: 260-269. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.196>

Zhao YX, Song KW, Li WJ et al (2026) Migration, transformation, and ecological effects of microplastics in aquatic ecosystems. *Ecol Process* 15:28. <https://doi.org/10.1186/s13717-026-00681-w>

## Disponibilidade de dados

Os dados e scripts em R utilizados nas análises estão disponíveis no Material Suplementar 2.

## Informações suplementares

### Apendix S1

Figura S1. Diagnóstico de resíduos do modelo ajustado para investigar a contaminação por microplásticos em peixes de áreas úmidas do Sudeste do Brasil. O gráfico de resíduos em função dos valores preditos não apresenta nenhum padrão particular, sugerindo também que as suposições do modelo foram atendidas.

Tabela S1. Média  $\pm$  desvio-padrão da abundância de microplásticos, estratificada por morfologia das partículas (microfibras, fragmentos, esferas), tipo de área úmida (manguezal e lagoa temporária) e espécie.

Tabela S2. Contagens de diferentes cores de microplásticos, estratificadas por área úmida (manguezal e poça temporária) e por espécie.

Arquivos suplementares disponíveis em: <https://assets-eu.researchsquare.com/files/rs-7861289/v1/47972cc08ad216ef330f8b76.docx>

**Appendix S2**

Dados e Metadados de microplásticos em peixes rivulídeos

Arquivos suplementares disponíveis em: <https://assets-eu.researchsquare.com/files/rs-7861289/v1/afd93dce2072006000945cc1.xlsx>

## CAPÍTULO V

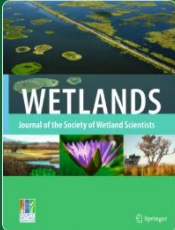
Home > Wetlands > Article

# Reproductive Strategy of the Annual Fish *Leptopanchax Opalescens* (Rivulidae) and Trade-Off Between Egg Size and Maximum Body Length in Temporary Wetlands

Wetland Ecology | Published: 23 March 2023  
Volume 43, article number 29, (2023) [Cite this article](#)

Access provided by Federal Rural University of Rio de Janeiro

[Download PDF](#) 



**Wetlands**

[Aims and scope](#) →

[Submit manuscript](#) →

[Use our pre-submission checklist](#)

Avoid common mistake manuscript.

Gustavo Henrique Soares Guedes, Iracema David Gomes, Aparecida Alves do Nascimento, Marcia Cristina Costa de Azevedo, Igor Cavalcanti de Araújo Souto-Santos, Paulo Andreas Buckup & Francisco Gerson Araújo 

Guedes GHS, Gomes ID, do Nascimento AA, Azevedo MCC, Souto-Santos ICA, Buckup BA, Araújo FG (2023) Reproductive strategy of the annual fish *Leptopanchax opalescens* (Rivulidae) and trade-off between egg size and maximum body length in temporary wetlands. Wetlands 43, 29. <https://doi.org/10.1007/s13157-023-01680-9>

**Estratégia reprodutiva do peixe-anual *Leptopanchax opalescens* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) e a *trade-off* entre tamanho do ovo e comprimento máximo corporal em áreas úmidas temporárias**

Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup>, Iracema David Gomes<sup>1</sup>, Aparecida Alves do Nascimento<sup>2</sup>, Marcia Cristina Costa de Azevedo<sup>1</sup>, Igor Cavalcanti de Araújo Souto-Santos<sup>3</sup>, Paulo Andreas Buckup<sup>3</sup>, Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ecologia de Peixes, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Histologia e Embriologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Vertebrados, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

## RESUMO

*Leptopanchax opalescens* é um pequeno peixe-anual criticamente ameaçado. Características reprodutivas desta espécie foram estudadas para compreender as estratégias que facilitam a ocupação de áreas úmidas temporárias. Além disso, dados do diâmetro de ovo e comprimento total máximo de 136 rivulídeos neotropicais foram analisados para estabelecer comparações entre espécies com diferentes histórias de vida. Testamos a hipótese de que rivulídeos anuais apresentam tamanho corporal e ovos menores do que rivulídeos não anuais, o que pode estar associado a diferentes tempos de vida e à diapausa embrionária. Peixes foram coletados na Região Hidrográfica do Rio Guandu (sudeste do Brasil). DNA foi empregado para confirmar a identidade da espécie. Fases do desenvolvimento gonadal e tipo de desova foram descritos com técnicas histológicas. O tamanho do ovo e fecundidade foram determinados. Foram detectadas fêmeas com desova em lotes e machos com produção contínua de esperma. A fecundidade do lote variou entre 22–32 ( $27 \pm 7$ ) ovócitos vitelogênicos. O tamanho corporal máximo foi semelhante entre os rivulídeos ( $p = 0.24$ ), mas o tamanho dos ovos foi menor para espécies anuais ( $p < 0.001$ ). Desova em lotes, desenvolvimento modal síncrono dos ovócitos, produção contínua de esperma em machos, e um complexo processo de diapausa embrionária são características reprodutivas que favorecem a resiliência de *L. opalescens* e outros peixes-anuais em áreas úmidas temporárias. Concluimos que o tamanho do corpo não está relacionado ao tempo de vida, e que fatores subjacentes a seleção de diferentes tamanhos de ovos entre espécies anuais e não anuais podem estar associados a diferentes estratégias de história de vida para lidar com habitats estressantes.

**Palavras-chave** | Peixes sazonais, Ecossistemas de água doce, Peixes-anuais (killifish), Tamanho da prole, Cyprinodontiformes

## ABSTRACT

*Leptopanchax opalescens* is a critically endangered small annual fish. Reproductive traits of this species were studied to improve our understanding of the strategies that facilitate the occupation of temporary wetlands. We compiled egg diameter and maximum total length data from 136 neotropical killifishes (Rivulidae) to establish comparisons between species with different life histories. We tested the hypothesis that annual killifishes have smaller body sizes and eggs than non-annual killifishes, which may be associated with different life spans and embryonic diapause. Fish were collected from the Guandu River Hydrographic Region (southeastern Brazil). DNA barcoding was employed to confirm the species' identity. The phases of gonadal development and spawn type were described using histological techniques. Egg size and fecundity were determined. Females with batch spawning and males with continuous spawning were detected. The batch fecundity ranged from 22 to 32 vitellogenic oocytes (mean  $27 \pm 7$  SD). Maximum body size was similar between the two life cycles ( $p = 0.24$ ), but egg size was smaller for annual killifishes ( $p < 0.001$ ). Spawning in batches, synchronous modal development of oocytes, continued production of sperm in males, and a complex process of embryonic diapause are reproductive traits that favor the resilience of *L. opalescens* and other annual fish in temporary wetlands. We conclude that body size is not related to lifespan and that factors underlying the selection of different egg sizes between annual and non-annual killifish species may be associated with different life history strategies to deal with stressful habitats.

**Keywords** | Seasonal fish, Freshwater ecosystems, Killifish, Offspring size, Cyprinodontiformes

## 1 | Introdução

Rivulidae (Cyprinodontiformes) é a nona família de peixes mais diversa do mundo, com 488 espécies válidas (Fricke et al. 2025), e ocupa o primeiro lugar em número de espécies ameaçadas na Região Neotropical, onde ocorre. A ameaça é tão elevada que, em um país megadiverso como o Brasil, uma única família de peixes de água doce (i.e., Rivulidae) reúne um número maior de espécies ameaçadas ( $\approx 130$  spp.) do que todas as classes de peixes marinhos combinadas (Actinopterygii + Chondrichthyes + Myxini = 97 spp.) (ICMBio 2018). A perda de habitat é a principal ameaça aos rivulídeos. Os brejos e as áreas úmidas temporárias onde muitos desses animais vivem têm sido drasticamente destruídos em decorrência de desmatamento, drenagem e aterramento associados à expansão agrícola e urbana (Loureiro et al. 2018; Castro and Polaz 2020). A perda de áreas úmidas temporárias por alterações antrópicas no uso da terra tem consequências ecológicas e sociais significativas (Calhoun et al. 2017), mas a pesquisa, as políticas públicas e a conservação em ambientes continentais historicamente negligenciaram esses habitats, concentrando-se, em vez disso, em corpos d'água maiores e em espécies "bandeira" (Junk et al. 2014; Grasel et al. 2018; Hill et al. 2021).

Os rivulídeos exibem uma variedade de estratégias reprodutivas, algumas delas únicas entre os vertebrados. O gênero *Kryptolebias* Costa 2004, por exemplo, inclui os dois únicos vertebrados hermafroditas autofecundantes capazes de gerar clones homozigotos (Earley et al. 2012). Cerca de 55% (259 spp.) das espécies de rivulídeos são peixes-anuais (ou sazonais), com seu ciclo de vida vinculado ao ciclo hidrológico. Na estação chuvosa, esses peixes copulam ou fertilizam os ovos diretamente no substrato (Berois et al. 2016). Na estação seca, seus habitats secam, levando à morte de todos os peixes. A dessecação cíclica dos habitats selecionou ciclos de vida curtos (Žák et al. 2021) e processos complexos de diapausa embrionária (Furness 2016), nos quais os ovos aguardam sinais ambientais específicos para eclodir na estação chuvosa seguinte (Polačik et al. 2021). Alguns ovos são resistentes o suficiente para continuar seu desenvolvimento mesmo após permanecerem por mais de 30 h no interior do sistema digestório de uma ave (Silva et al. 2019). Essas peculiaridades do ciclo de vida podem levar à ausência de sobreposição de gerações, isto é, os progenitores e a prole podem não coexistir.

Nas últimas décadas, estudos sobre a biologia reprodutiva de rivulídeos anuais abordaram aspectos como comportamento reprodutivo (e.g., Berois et al. 2016; Evangelista et al. 2021), período e tamanho no início da maturidade (Arenzon et al. 1999), fecundidade por lote (Gonçalves et al. 2011; Volcan et al. 2011), oogênese e espermatogênese (Arezo et al. 2007), tamanho dos ovos e morfologia da superfície (Thompson et al. 2017). Recentemente, Domínguez-Castanedo et al. (2022) observaram pela primeira vez hermafroditismo funcional em um peixe-anual. Embora os estudos supracitados tenham trazido contribuições importantes à área, aspectos reprodutivos básicos ainda são desconhecidos para a maioria das espécies de peixes-anuais. O gênero *Leptopanchax* Costa (2016), por exemplo, compreende seis espécies válidas endêmicas do bioma Mata Atlântica (Costa 2016). Quatro das seis espécies estão listadas como

Criticamente Em Perigo (CR) no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (ICMBio 2018), incluindo uma espécie possivelmente extinta (Costa 2019). As informações sobre os traços reprodutivos de espécies de *Leptopanchax* são mínimas e dispersas (e.g., Costa and Leal 2009; Guedes et al. 2020). A escassez de informações reprodutivas sobre *Leptopanchax* e outros rivulídeos anuais constitui um gargalo que dificulta estratégias de conservação para espécies sob ameaça iminente de extinção.

O tamanho da prole tem sido usado como preditor de aptidão (*fitness*) e de investimento energético parental em espécies com diferentes histórias de vida (e.g., Winemiller and Rose 1992; Marshall et al. 2018; Zandona et al. 2021; Iglesias-Rios et al. 2022). A teoria do tamanho ótimo do ovo sugere que populações evoluem tamanhos de ovo equilibrando o *trade-off* entre tamanho do ovo e fecundidade, de modo a maximizar o rendimento reprodutivo (Smith and Fretwell 1974). Uma questão relevante e pouco discutida é que diferentes espécies podem apresentar diâmetros de ovos e fecundidade por lote semelhantes (Vazzoler 1996), mas diferir drasticamente em outros traços biológicos, incluindo peso e comprimento corporais máximos. O tamanho do corpo em adultos é um preditor da disponibilidade de energia para investir em reprodução (Barneche et al. 2018a). Assim, o significado biológico do tamanho do ovo e da fecundidade para uma espécie não é necessariamente o mesmo para outra (Bonisławska et al. 2001), especialmente no que diz respeito ao *trade-off* entre alocação de energia reprodutiva *versus* crescimento somático. Uma abordagem para essa questão é ponderar a fecundidade absoluta pelo comprimento ou peso do indivíduo (Wotton and Smith 2015; Rizzo and Bazzoli 2020). No entanto, no caso do tamanho dos ovos, a abordagem com diâmetros absolutos permanece dominante (e.g., Duarte and Alcaraz 1989; Feiner et al. 2016; Barneche et al. 2018b; Marshall et al. 2018; Iglesias-Rios et al. 2022), o que é uma estratégia útil para diferenciar traços reprodutivos entre espécies, mas que pode mascarar o investimento energético reprodutivo em ovos em espécies que exibem diferentes padrões de investimento em crescimento somático.

Estudamos os traços reprodutivos de *Leptopanchax opalescens* (Myers, 1942) para determinar as estratégias que facilitam a ocupação de habitats com variações hidrológicas extremas, como áreas úmidas temporárias. Tipo de desova, fases do desenvolvimento gonadal, fecundidade, tamanho dos ovos, microanatomia da zona pelúcida e informação molecular (DNA barcoding sensu Hebert et al. 2003a) são apresentados pela primeira vez para esta espécie. Além disso, compilamos dados de diâmetro médio de oócitos (tamanho do ovo) e comprimento total máximo (TLmax) de 136 espécies de killifishes neotropicais (Rivulidae) como um proxy para comparar o *trade-off* entre a alocação de energia reprodutiva *versus* crescimento entre espécies com histórias de vida distintas. Testamos a hipótese de que killifishes (Rivulidae) com histórias de vida distintas (anuais vs. não anuais) apresentam diferentes tamanhos de ovos e comprimentos corporais máximos. Esperamos que: (1) peixes-anuais tenham menores tamanhos corporais devido ao curto tempo de vida e às limitações impostas pelo ciclo hidrológico (Žák et al. 2021); (2) peixes não anuais tenham ovos maiores devido à ausência de diapausa embrionária e à consequente menor tolerância à hipóxia

(Podrabsky et al. 2007), o que poderia ser compensado por um aumento no tamanho do ovo (Einum et al. 2002).

## 2 | Materiais e Métodos

### 2.1 | Amostragem de peixes

A área de estudo compreende uma poça temporária localizada na Região Hidrográfica do Rio Guandu (22°42.35'S, 43°41.59'W), uma drenagem costeira da Baía de Sepetiba (Estado do Rio de Janeiro, Brasil). As amostragens de peixes foram realizadas entre novembro de 2019 e junho de 2021. Os peixes foram coletados com puçá de mão de formato oval (50 × 40 cm, malha de 1 mm). Os espécimes foram anestesiados com benzocaína (cloridrato) (50 mg/L), eutanasiados *in situ* e fixados em formalina a 10% (para morfologia) ou em etanol anidro (para sequenciamento de DNA). *Leptopanchax opalescens* (Fig. 1) é raro, ameaçado de extinção e protegido por leis nacionais; por isso, optamos por utilizar no máximo 20 exemplares para as análises reprodutivas e de DNA. Os espécimes foram coletados sob licença do IBAMA/ICMBio (autorização nº 10.707), e os vouchers foram depositados na Coleção Ictiológica do Laboratório de Ecologia de Peixes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (LEP-UFRRJ 2576–2578; [gbif.org/occurrence/2,628,729,394](https://gbif.org/occurrence/2,628,729,394)) e na Coleção Ictiológica do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ 51.967; 52.701).



**Figura 1** | Fêmea (coloração em álcool) e macho de *Leptopanchax opalescens* (coloração em vida) da Região Hidrográfica do Rio Guandu (drenagens costeiras da Baía de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil). Barra de escala: 5 mm.

## 2.2 | DNA Barcoding

O tecido muscular de espécimes (N = 4) preservados em etanol anidro foi processado para extração de DNA seguindo o método de *salting out* (Miller et al. 1988). A qualidade do DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose, e a concentração foi medida em espectrofotômetro NanoDrop ND-2000. Sequências parciais do gene Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) foram amplificadas por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) usando os primers FishF6notail: 5'-ACYAAYCACAAAGAYATTGGCA-3', e FishR7notail: 5'-TARACTTCTGGRTGCCRAAGAAYCA-3' (Jennings et al. 2019). O protocolo de PCR utilizou o seguinte ciclo térmico: desnaturação a 94 °C/30 s, anelamento a 49 °C/45 s e extensão a 72 °C/45 s; essa sequência foi repetida 35 vezes, e a reação foi finalizada com 72 °C/10 min e 4 °C/5 min. A qualidade dos produtos amplificados foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 2%. Os produtos de PCR foram purificados com Exo-SAP (Handy et al. 2011) ou PEG (Lis 1980; Jennings 2017) e sequenciados bidirecionalmente pelo método de Sanger, utilizando o kit BigDye™ Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems) para marcação; em seguida, foram purificados novamente por precipitação com etanol e carregados no sequenciador automático ABI3730xl (Applied Biosystems) na Fundação Oswaldo Cruz. Os cromatogramas resultantes foram alinhados a uma sequência de referência no software Geneious v.6 (geneious.com) e editados manualmente para garantir alinhamento por

códons e verificar as chamadas de base. Os detalhes das amostras estão listados no Recurso Online 1, juntamente com os códigos de acesso do GenBank. As sequências foram alinhadas com MUSCLE (Edgar 2004) sob parâmetros padrão no MEGA X (Kumar et al. 2018). As distâncias genéticas foram calculadas no MEGA X sob o modelo Kimura 2-parâmetros (K2P) (Kimura 1980), seguindo Pereira et al. (2013). As estimativas de variância foram obtidas pelo método analítico disponível no MEGA X.

### 2.3 | Características reprodutivas

Os espécimes (N = 14) foram descalcificados inteiros em solução de EDTA a 7% (ácido etilenodiamino tetra-acético) por 7 dias. Em seguida, foram submetidos às etapas remanescentes (1 h cada) do processamento histológico de rotina, incluindo: desidratação (séries de etanol em concentrações crescentes — 70° GL a 100° GL), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina Histosec (Merck, Alemanha) a 60 °C, para obtenção de cortes histológicos seriados de 5 µm em micrótomo automático (RMC Boeckeler – MR3). Os cortes foram corados com Hematoxilina de Harris e Eosina (HE) e, em seguida, desidratados em série alcoólica crescente e clareados em xilol. As lâminas histológicas foram montadas com Entellan® (Merck). As fases de maturação, o tipo de desova e as células das linhagens de ovogênese e espermatogênese foram identificadas e descritas seguindo a terminologia proposta por Brown-Peterson et al. (2011).

Para avaliar a fecundidade, ovários de fêmeas aptas à desova (N = 2) foram removidos da cavidade visceral, pesados e mantidos em solução de Gilson até a completa separação dos oócitos do epitélio e dos folículos ovarianos. Todos os ovos foram contados e medidos (diâmetro, em µm) em câmara de contagem Sedgewick-Rafter. A microanatomia da zona pelúcida foi examinada em microscopia eletrônica de varredura (Hitachi TM3000). A fecundidade por lote (BF), isto é, o número de ovos produzidos em um único lote de desova, foi estabelecida a partir da contagem de oócitos vitelogênicos (Rizzo e Bazzoli 2020). O tipo de desova foi inferido com base na distribuição dos modos dos diâmetros dos oócitos, nos estágios de desenvolvimento dos oócitos e na presença de folículos pós-ovulatórios e oócitos atrésicos (Brown-Peterson et al. 2011; McBride et al. 2015).

### 2.4 | Trade-off entre tamanho do ovo e comprimento máximo do corpo

Compilamos um conjunto de dados de diâmetro médio do ovo e comprimento total máximo (TLmax) com base na literatura de 136 killifishes (90 anuais; 46 não anuais) da família *Rivulidae* (p.ex., Thompson et al. 2017; Eckerström-Liedholm et al. 2017; Recurso Online 2). As espécies foram categorizadas em diferentes estratégias de história de vida (anuais e não anuais), conforme a capacidade de realizar diapausa embrionária de longo prazo (Loureiro et al. 2018). Para espécies em que o diâmetro do ovo foi fornecido como intervalo, utilizou-se o ponto médio. Algumas referências apresentaram o comprimento

padrão máximo (SLmax) em vez do comprimento total máximo (TLmax). Nesses casos, para padronização, inserimos fotografias laterais das espécies obtidas no FishBase (Froese e Pauly 2022) no software ImageJ (v. 1.8) para determinar a razão entre SL e TL. A partir dessa razão, corrigimos o SLmax para um TLmax estimado. Para evitar sinonímias no banco de dados, verificamos os nomes das espécies seguindo o *Eschmeyer's Catalog of Fishes* (Fricke et al. 2022).

## 2.5 | Análises estatísticas

Comparações do tamanho corporal máximo (TLmax) entre peixes-anuais e não anuais foram realizadas com o teste de Wilcoxon–Mann–Whitney ( $p < 0,05$ ) usando o pacote ggstatsplot (Patil 2021). Para determinar se o tamanho do ovo (variável dependente) varia em função do ciclo de vida (variável independente), foi ajustado um modelo linear misto generalizado (GLMM) assumindo distribuição de erro gaussiana (função *logit*). O fator fixo do modelo foi o ciclo de vida (2 níveis: anual; não anual), enquanto TLmax ( $\log_{10}$ ) aninhado no gênero do peixe foi usado como fator aleatório para controlar possíveis efeitos alométricos e filogenéticos. Uma ANOVA (teste Wald qui-quadrado do Tipo II) foi usada para testar diferenças entre as categorias da variável independente ao nível de 0,05. TLmax foi logaritimizado para atender às premissas paramétricas do modelo. A normalidade ( $W = 0,98$ ;  $p = 0,058$ ) e a homogeneidade de variâncias ( $F = 0,19$ ;  $p = 0,668$ ) foram avaliadas pelos testes de Shapiro–Wilk e Levene, respectivamente. Diagnósticos dos resíduos foram verificados com a função *simulateResiduals* do pacote DHARMA (Hartig 2022). Todas as análises foram conduzidas em ambiente R (R Core Team, 2022).

## 3 | Resultados

### 3.1 | DNA barcoding e confirmação da espécie

Geramos quatro sequências de 656 pares de bases (pb) da região *barcode* do gene COI, todas idênticas. Esse haplótipo único de *Leptopanchax opalescens* foi alinhado a haplótipos homólogos de *L. aureoguttatus* (Cruz, 1974) e *L. citrinipinnis* (Costa, Lacerda e Tanizaki, 1988), as únicas espécies de *Leptopanchax* com sequências disponibilizadas no GenBank até o momento (Tabela 1 e Recurso Online 1). As sequências no alinhamento foram reduzidas para 536 pb a fim de evitar dados ausentes na análise de distâncias genéticas. As distâncias pareadas K2P entre essas espécies variaram de 11,0 a 21,8% e indicaram que *L. opalescens* é mais relacionado a *L. citrinipinnis* do que a *L. aureoguttatus* (Tabela 1).

**Tabela 1** | Estimativas pareadas de divergência evolutiva de sequência (distância genética K2P) entre três (de seis) espécies de *Leptopanchax* sequenciadas até o momento. Os haplótipos de COI correspondem aos listados no Recurso Online 1. As distâncias são apresentadas em porcentagem (%) abaixo da diagonal. A estimativa de variância é apresentada acima da diagonal.

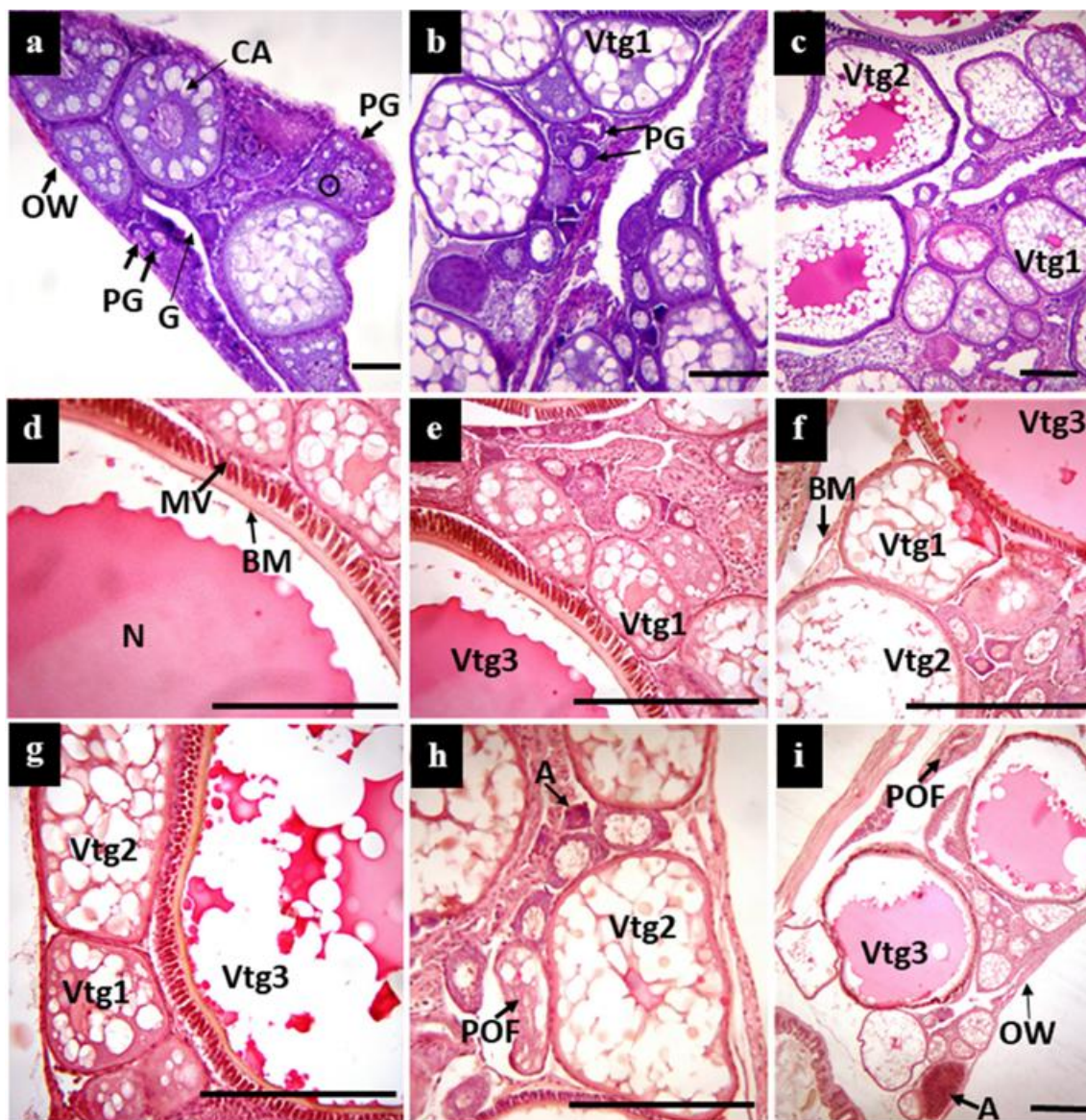
|                         | <i>L. aureoguttatus</i> | <i>L. citrinipinnis</i> | <i>L. opalescens</i> |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|
| <i>L. aureoguttatus</i> | —                       | 0.023                   | 0.022                |
| <i>L. citrinipinnis</i> | 21.80%                  | —                       | 0.015                |
| <i>L. opalescens</i>    | 20.30%                  | 11.00%                  | —                    |

### 3. 2 | Histologia dos ovários

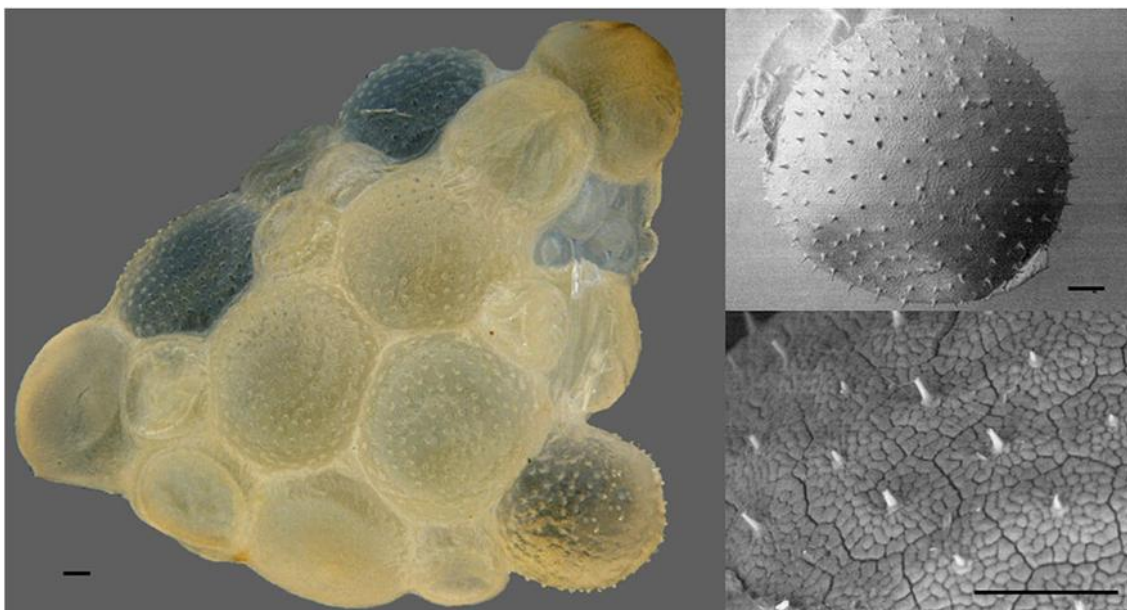
Os ovários são do tipo cistovariano com cavidade, isto é, com as lamelas ovígeras projetando-se para o interior a partir da parede ovariana em direção ao lúmen (Fig. 2). Diferentes estágios celulares da linhagem oogênica foram identificados e caracterizaram a presença de quatro fases (imatura, em desenvolvimento, apta à desova e em regressão) do desenvolvimento ovariano.

A fase imatura foi caracterizada pela presença exclusiva de oogônias, ovócitos em crescimento primário e ovócitos com alvéolos corticais (Fig. 2a). A fase em desenvolvimento apresentou ovócitos em diferentes estágios, como ovócitos com alvéolos corticais e ovócitos vitelogênicos iniciais (primários – Vtg1) e em crescimento secundário (Vtg2; Fig. 2b, c). A fase apta à desova apresentou predominantemente ovócitos vitelogênicos com núcleo evidente e camadas do envoltório folicular, como a membrana basal (BM) e pequenas microvilosidades (MV) da zona radiata (Fig. 2d). Ovócitos em estágios avançados de desenvolvimento apresentaram projeções semelhantes a cogumelos e sulcos poligonais na zona pelúcida, com uma única projeção no centro de cada polígono (Fig. 3).

A fase em regressão mostrou uma estrutura desorganizada, com presença de folículos pós-ovulatórios e atresia, caracterizada pelo desaparecimento da zona radiata em ovócitos em degeneração e reabsorção (Fig. 2h, i). A presença de diferentes estágios celulares da linhagem oogênica entre as diferentes fases de maturação revela que o ciclo reprodutivo das fêmeas é descontínuo e que a desova ocorre em lotes.



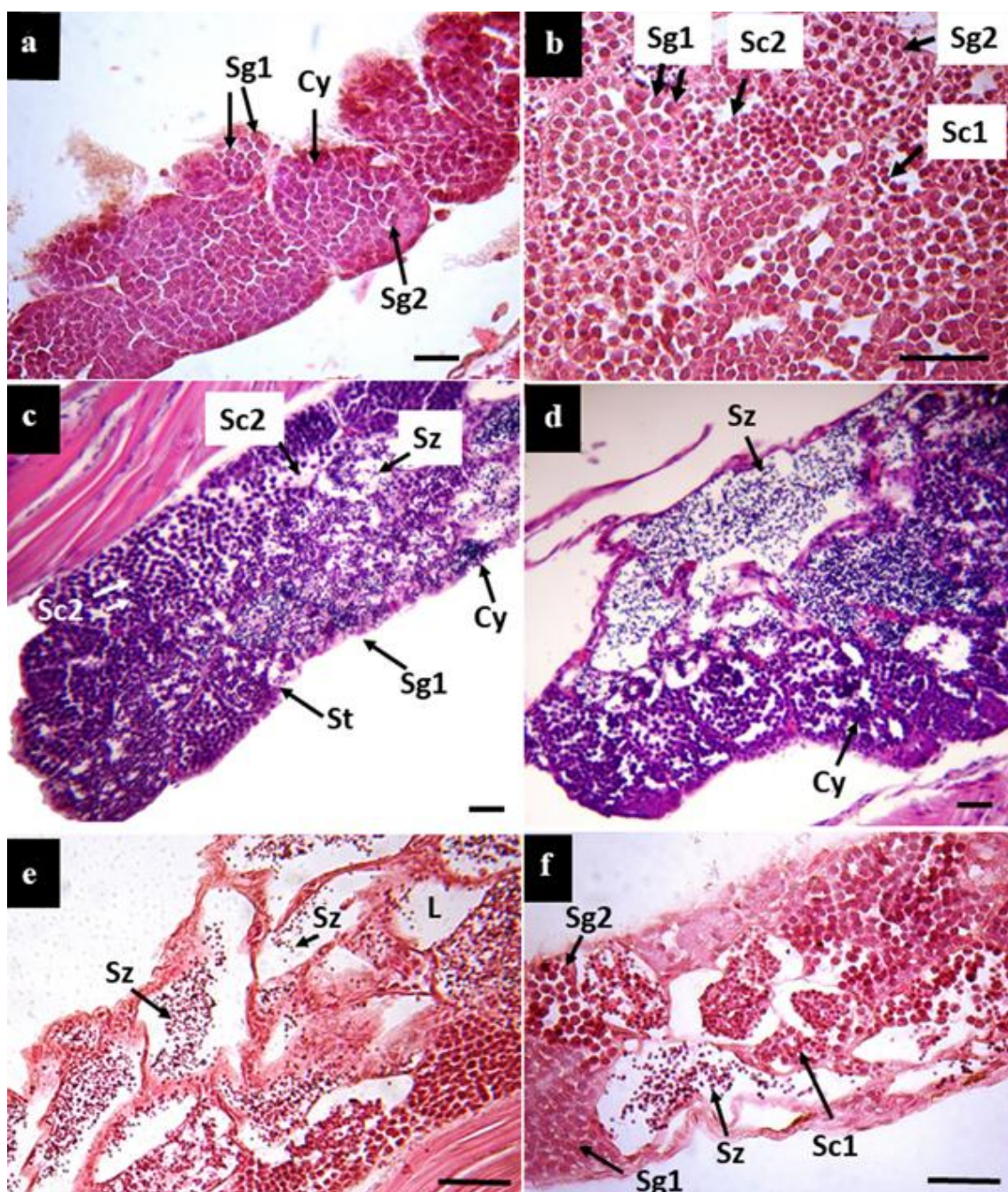
**Figura 2** | Imagens dos ovários de *Leptopanchax opalescens* em diferentes fases de maturação gonadal: Imaturo (a), Em desenvolvimento (b, c), Aptos à desova (d, e, f, g) e Regressão (h, i). Abreviações: Atresia (A), crescimento primário (PG), parede ovariana (OW), gonoduto (G), alvéolos corticais (CA), vitelogênicos primários (Vtg1), vitelogênicos secundários (Vtg2), vitelogênicos terciários (Vtg3), núcleo (N), membrana basal (BM), microvilosidades pequenas (MV), folículo pós-ovulatório (POF). Coloração: hematoxilina e eosina (HE). Barra de escala: 100 µm.



**Figura 3** | Ovos não fertilizados de *Leptopanchax opalescens*. Note: (i) desenvolvimento modal dos oócitos; (ii) formação de projeções em forma de cogumelo e sulcos poligonais na zona pelúcida. Barra de escala: 100  $\mu$ m.

### 3. 3 | Histologia dos testículos

A espermiogênese segue um modelo cístico nos túbulos seminíferos, com o epitélio germinativo contínuo em cistos periféricos e descontínuo na região de abertura para o lúmen (Fig. 4). Foram identificados diferentes estágios celulares da linhagem espermatogênica, caracterizando a presença de quatro fases do desenvolvimento testicular (imaturo, em desenvolvimento, apto à desova e regressão). A fase imatura foi caracterizada pela predominância de espermatogônias primárias (Sg1) e secundárias (Sg2), com formação inicial dos túbulos seminíferos (Fig. 4a). A fase em desenvolvimento foi caracterizada pela presença de todas as células da linhagem espermatogênica (Sg1, Sg2, Sc1, Sc2, St e Sz), além da formação do lúmen e de cistos em espermatogênese ativa (Fig. 4b, c). A fase apta à desova consistiu em espermatozoides (Sz) no lúmen dos lóbulos dos túbulos seminíferos e em cistos de espermatídes cuja parede é mais espessa; espermatogônias (Sg1, Sg2) e espermatócitos (Sc1, Sc2) também podem estar presentes (Fig. 4d). A fase de regressão foi identificada pela redução do estoque de Sz no lúmen de lóbulos desorganizados (Fig. 4e, f). Isso nos leva a caracterizar o ciclo como contínuo, com espermição parcelada.



**Figura 4** | Imagens dos testículos de *Leptopanchax opalescens* em diferentes fases de maturação. Imaturo (a), em desenvolvimento (b, c), apto à desova (d), em regressão (e, f). Códigos: espermatogônia primária (Sg1), espermatogônia secundária (Sg2), cistos (Cy), espermatócito primário (Sc1), espermatócito secundário (Sc2), espermátide (St), espermatozoide (Sz), lúmen (L). Coloração: hematoxilina e eosina (HE). Barra de escala: 50 µm.

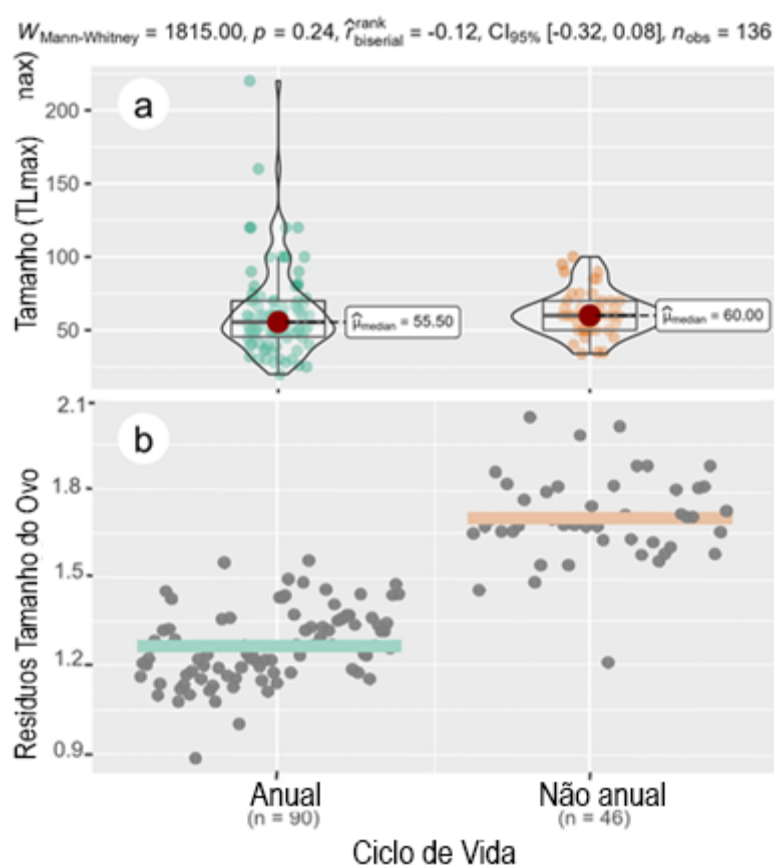
### 3. 4 | Fecundidade

O número total de oócitos presentes nas gônadas (independentemente do estágio de desenvolvimento) variou de 91 a 99 (média =  $95 \pm 5,65$  DP) em fêmeas com 23,0 e 24,5 mm de comprimento total (TL) (Tabela 2). O diâmetro dos oócitos variou de 75 a 1.050

$\mu\text{m}$  ( $402,7 \pm 224 \mu\text{m}$ ). A fecundidade por lote (apenas oócitos vitelogênicos) variou de 22 a 32 ( $27 \pm 7$ ), correspondendo a oócitos com diâmetro  $> 500 \mu\text{m}$  (Tabela 2). A Tabela 2 resume os traços reprodutivos de *L. opalescens* resultantes deste e de outros estudos. *Leptopanchax opalescens* apresentou razão sexual elevada em favor das fêmeas (2,8:1; Guedes et al., 2020), e os machos atingem maior comprimento total médio ( $20,4 \pm 4,1 \text{ mm TL}$ ).

### 3. 5 | Trade-off entre tamanho do ovo e comprimento corporal máximo

O tamanho do ovo e o comprimento total máximo (TLmax) dos 90 peixes-anuais variaram de 0,52 a 2,2 mm ( $1,26 \pm 0,47 \text{ mm}$ ) e de 20 a 220 mm ( $62,2 \pm 30,3 \text{ mm TL}$ ), respectivamente. Os 46 peixes não anuais variaram de 0,91 a 2,2 mm ( $1,67 \pm 0,26 \text{ mm}$ ) e de 34 a 100 mm ( $61,6 \pm 15,3 \text{ mm TL}$ ). O tamanho corporal máximo dos killifishes não apresentou diferenças significativas entre os ciclos de vida (Wilcoxon–Mann–Whitney; Fig. 5a;  $p = 0,24$ ), enquanto o tamanho do ovo foi menor em killifishes anuais (GLMM,  $\chi^2 = 26,4$ ;  $p < 0,001$ ; Fig. 5b).



**Figura 5 |** Comparações do comprimento corporal máximo (a; teste de Wilcoxon–Mann–Whitney) e dos resíduos parciais do tamanho do ovo (b; GLMM — modelos lineares generalizados mistos) de peixes rivulídeos entre diferentes ciclos de vida (anuais vs. não anuais). Os *boxplots* representam o intervalo interquartil da distribuição, e o círculo vermelho representa a média.

**Tabela 2** | Síntese de características reprodutivas de *Leptopanchax opalescens*, Mínimo–Máximo (Média  $\pm$  desvio-padrão).

| Características reprodutivas     | Sexo   | Descrição                                                                                                       | Fonte              |
|----------------------------------|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 1. Dimorfismo sexual             |        |                                                                                                                 |                    |
| 1.1 Cromático                    | Machos | Coloração muito marcante; faixa vermelho-escura bem delimitada nas margens distais das nadadeiras dorsal e anal | Guedes et al. 2020 |
|                                  | Fêmeas | Corpo marrom-claro e nadadeiras hialinas                                                                        | Guedes et al. 2020 |
| 1.2 Tamanho                      |        | O tamanho médio dos machos foi significativamente maior que o das fêmeas                                        | Guedes et al. 2020 |
|                                  | Machos | 13,0–29,5 (20,4 $\pm$ 4,1) mm CT (comprimento total)                                                            | presente estudo    |
|                                  | Fêmeas | 11,0–32,0 (18,8 $\pm$ 3,8) mm CT (comprimento total)                                                            | presente estudo    |
| 2. Razão sexual                  | —      | 2,8 fêmeas : 1 macho                                                                                            | Guedes et al. 2020 |
| 3. Fertilização                  | —      | Externa                                                                                                         | Costa (2008)       |
| 4. Desenvolvimento               | —      | Externo                                                                                                         | Costa (2008)       |
| 5. Tipo de desova                | Fêmeas | Desova em lotes ( <i>batch spawners</i> )                                                                       | presente estudo    |
|                                  | Machos | Contínua                                                                                                        | presente estudo    |
| 6. Cuidado parental              | —      | Ausente                                                                                                         | presente estudo    |
| 7. Ovos                          |        |                                                                                                                 |                    |
| 7.1 Número total                 | —      | 91–99 (95 $\pm$ 5,65)                                                                                           | presente estudo    |
| 7.2 Diâmetro total               | —      | 75–1050 (402 $\pm$ 224) $\mu$ m                                                                                 | presente estudo    |
| 7.3 Diâmetro vitelogênico        | —      | 500–1050 (700 $\pm$ 225) $\mu$ m                                                                                | presente estudo    |
| 7.4 Desenvolvimento dos ovócitos | —      | Modal sincrônico                                                                                                | presente estudo    |
| 7.5 Zona pelúcida                | —      | Projeções em forma de “cogumelo” e sulcos poligonais                                                            | presente estudo    |
| 8. Fecundidade                   |        |                                                                                                                 |                    |
| 8.1 Fecundidade por lote (BF)    | —      | 22–32 (27 $\pm$ 7,0)                                                                                            | presente estudo    |
| 9. Estratégia                    | —      | Iterópara                                                                                                       | presente estudo    |
|                                  | —      | “Income breeding” (sensu McBride et al. 2015)                                                                   | presente estudo    |

## 4 | Discussão

Este estudo reúne evidências de que os traços reprodutivos favorecem a resiliência do peixe-anual *Leptopanchax opalescens* em habitats com variações hidrológicas cíclicas extremas, como as áreas úmidas temporárias. O tipo de desova, os estágios de desenvolvimento gonadal e as características reprodutivas (fecundidade) ainda não haviam sido relatados para espécies do gênero *Leptopanchax*. Além disso, constatamos que o tamanho corporal máximo não diferiu entre os tipos de ciclo de vida (anual vs. não anual) e que essas diferentes estratégias de lidar com ambientes estressantes podem afetar o tamanho dos ovos.

### 4.1 | DNA barcoding

O gênero *Leptopanchax* atualmente compreende seis espécies válidas (Costa, 2019), mas, até o momento, apenas alguns genes de *L. aureoguttatus* e *L. citrinipinnis* foram sequenciados para estudos evolutivos de Rivulidae (Murphy & Collier, 1997; Murphy et al., 1999; Costa et al., 2016). Além de seu uso em estudos filogenéticos, esses genes podem ser úteis para delimitar espécies de *Leptopanchax* por meio de métodos de DNA barcoding (Hebert et al., 2003a), como alternativa ao uso da coloração de machos vivos como principal característica diagnóstica (Costa, 2019). Para reduzir a lacuna de informação molecular em *Leptopanchax*, sequenciamos aqui amostras de *L. opalescens* da Região Hidrográfica do Rio Guandu.

Espécimes com distâncias genéticas (COI) inferiores a 2% são considerados coespecíficos segundo padrões de DNA barcoding para peixes (Hebert et al., 2003a,b; Pereira et al., 2013). Seguindo esse critério, a comparação das sequências disponíveis até agora sustenta a hipótese morfológica de que *L. aureoguttatus*, *L. citrinipinnis* e *L. opalescens* são espécies distintas, apesar da similaridade de coloração e da proximidade geográfica entre *L. opalescens* e *L. citrinipinnis* (Costa, 2019). Os espécimes de *L. opalescens* utilizados no presente estudo são provenientes da drenagem da Baía de Sepetiba, enquanto amostras anteriores associadas a esse táxon são da drenagem da Baía de Guanabara. Dados morfométricos e merísticos das populações de *L. opalescens* se sobrepõem entre essas diferentes bacias (Guedes et al., 2020), mas as populações exibem pequenas variações de coloração difíceis de avaliar por fotografias obtidas com parâmetros distintos (Costa, 2019; Souto-Santos et al., 2021). Portanto, é desejável que exemplares da localidade-tipo de *L. opalescens* (ou, ao menos, de alguma localidade associada à Baía de Guanabara) sejam sequenciados e comparados com as sequências de Sepetiba disponibilizadas aqui.

### 4.2 | Tipo de desova e fases de maturação

O ciclo reprodutivo das fêmeas de *L. opalescens* é descontínuo e ocorre em desovas parceladas (em lotes), o que é indicado pela presença de oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento e de folículos pós-ovulatórios em espécimes aptos à desova. Resultados histológicos semelhantes foram observados em outros rivulídeos, como os anuais *Garcialebias charrua* (Arezo et al., 2007) e *Millerichthys robustus* (Domínguez-Castanedo et al., 2017), e os não anuais *Melanorivulus* aff. *punctatus* (Cassel et al., 2013).

e *Atlantirivulus riograndensis* (Cavalheiro & Fialho, 2015). De acordo com a escala de desenvolvimento gonadal proposta por Brown-Peterson et al. (2011), *L. opalescens* apresenta quatro estágios no ciclo reprodutivo: imaturo, em desenvolvimento, apto à desova e em regressão. A fase de regressão exibiu estrutura desorganizada com presença de folículos pós-ovulatórios e atresia, caracterizada pelo desaparecimento da zona radiata em oócitos em degeneração e reabsorção. No entanto, a fase de regressão não representou a interrupção do ciclo reprodutivo, devido à presença simultânea de oócitos aptos à desova.

Nos machos, a organização histológica dos testículos corresponde ao padrão lobular restrito, porque as espermatogônias ficam confinadas à extremidade distal dos lóbulos (Uribe et al., 2015). O tipo testicular com espermatogônias restritas é característico de todos os Atherinomorpha (que incluem Cyprinodontiformes) e é considerado uma característica de táxons mais derivados (Parenti & Grier, 2004). A reprodução de *L. opalescens* foi característica de espécies com ciclo contínuo e espermição parcelada (*splitted spermiation*), devido à presença consistente de espermatozoides capazes de serem ejaculados nas fases maduras. A produção contínua de esperma também foi relatada para outros rivulídeos, como *Millerichthys robustus* (Domínguez-Castanedo & Uribe, 2019), *Melanorivulus aff. punctatus* (Cassel et al., 2013) e *Garcialebias charrua* (Arezo et al., 2007). Essas características são importantes no contexto ecológico, pois os machos conseguem liberar esperma prontamente para fertilização sempre que as fêmeas produzem novos lotes de ovos.

*Leptopanchax opalescens* habita áreas úmidas temporárias que apresentam variações abruptas de área devido a flutuações no nível da água (Guedes et al., 2020; Souto-Santos et al., 2021). Nesses habitats variáveis e imprevisíveis, a desova em lotes implica que, no início do período de inundação e no final da estação chuvosa, a deposição de ovos deve ocorrer mais próxima ao centro dos brejos, enquanto no período de inundação máxima a deposição pode ocorrer em áreas mais afastadas do centro, isto é, nos ecótonos sujeitos à flutuação do nível da água. Assim, a desova em lotes, em habitats em contínua expansão e retração, pode determinar uma assincronia temporal da diapausa embrionária dentro da população, ocasionando, conseqüentemente, uma assincronia na eclosão dos ovos da próxima geração de peixes-anuais. Segundo Lowe-McConnell (1987), a assincronia no desenvolvimento da prole aumenta a chance de sobrevivência ao reduzir a predação potencial sobre os juvenis e a competição intraespecífica por alimento e abrigo.

#### 4.3 | Tamanho dos ovos e morfologia da zona pelúcida

Os ovos de *Leptopanchax opalescens* atingiram um diâmetro máximo de 1050 µm, semelhante ao observado para outras espécies de *Leptopanchax* (máximo de 1005 µm; Costa & Leal, 2009) e dentro da faixa de diâmetros (688–2104 µm) registrada para outros 60 peixes-anuais e não anuais (Thompson et al., 2017). Determinar por que espécies anuais produzem ovos com tamanhos diferentes não é uma tarefa trivial. Espécies anuais congêneres da família Nothobranchiidae podem coexistir nas mesmas poças, mas apresentar ovos com tamanhos significativamente distintos (Reichard, 2016). Peixes podem exibir grande variabilidade no tamanho dos ovos entre espécies, bem como entre

e dentro de populações. Cuidado parental, qualidade ambiental, fecundidade, temperatura, latitude, predação, disponibilidade de recursos, tamanho e idade das fêmeas são alguns fatores que, isoladamente ou em interação, já foram identificados como influenciando o tamanho dos ovos em peixes (e.g., Duarte & Alcaraz, 1989; Einum et al., 2002; Vrtílek & Reichard, 2015; Feiner et al., 2016; Barneche et al., 2018b; Iglesias-Rios et al., 2022).

A zona pelúcida de ovos maduros de *L. opalescens* apresentou projeções em forma de “cogumelo”, semelhantes às observadas em outras espécies dos gêneros *Leptopanchax* e *Notholebias* (Costa & Leal, 2009; Thompson et al., 2017). *Leptopanchax opalescens* apresentou uma única projeção em forma de cogumelo no centro de cada sulco poligonal, idêntica à de *L. citrinipinnis* (Costa & Leal, 2009). Isso corrobora a maior proximidade genética (DNA barcoding) entre essas duas espécies observada neste estudo. Wourms & Sheldon (1976) hipotetizaram que essas projeções em forma de cogumelo na zona pelúcida de *Notholebias* constituem um sistema respiratório coriônico, uma vez que há uma rede de canais que leva a espículas ocas que podem funcionar como aerópilas semelhantes às de ovos de insetos. Isso pode representar uma adaptação de peixes-anuais, já que uma zona pelúcida espessa e rígida — e, conseqüentemente, pouco permeável ao oxigênio — pode ser necessária para prevenir a dessecação (Thompson et al., 2017).

#### 4.4 | Fecundidade

*Leptopanchax opalescens* apresentou baixa fecundidade por lote ( $27 \pm 7,0$  ovos), como outras espécies anuais, por exemplo *Cynopocilus melanotaenia* ( $19 \pm 26$  ovos; Gonçalves et al., 2011) e *Austrolebias nigrofasciatus* ( $21,5 \pm 12$  ovos; Volcan et al., 2011). Embora nossos resultados de fecundidade sejam semelhantes aos das espécies anuais mencionadas acima, nosso tamanho amostral é pequeno e pode não expressar toda a amplitude de variabilidade dentro e entre populações de *L. opalescens*. A fecundidade é um parâmetro reprodutivo atualmente conhecido para menos de 10 espécies (e.g., Volcan et al., 2011; Gonçalves et al., 2011; Schalk et al., 2014; Cavalheiro & Fialho, 2015) entre as 471 espécies de Rivulidae que ocorrem na Região Neotropical. A teoria do tamanho ótimo do ovo sugere que populações evoluem um tamanho de ovo que equilibra o trade-off entre tamanho do ovo e fecundidade para maximizar o rendimento reprodutivo (Smith & Fretwell, 1974). Em outras palavras, ovos maiores têm o custo de reduzir o número de ovos, o que é sustentado pelos achados deste estudo. Além da fecundidade por lote, é necessário considerar o número de eventos de desova ao longo da estação reprodutiva (Wotton & Smith, 2015). Não temos informação sobre o número de eventos reprodutivos de *L. opalescens*, mas peixes-anuais Nothobranchiidae africanos e Rivulidae neotropicais podem apresentar desovas diárias ou semanais, estendendo-se até a senescência (e.g., Polačik et al., 2016; Volcan et al., 2011).

#### 4.5 | Trade-off entre tamanho do ovo e comprimento máximo do corpo

O tamanho corporal máximo não diferiu significativamente entre peixes neotropicais (família Rivulidae) com ciclos de vida anuais e não anuais, um padrão que não corrobora nossa expectativa inicial. Espécies anuais têm um ciclo de vida mais curto

(frequentemente < 1 ano) e estão intrinsecamente ligadas ao ciclo hidrológico (Žák et al., 2021), portanto seria razoável imaginar que a menor longevidade poderia limitar o tamanho máximo atingido pelas espécies. Tamanhos corporais máximos semelhantes aos do presente estudo também foram relatados por Eckerström-Liedholm et al. (2017), que incluíram peixes-anuais africanos (família Nothobranchiidae) em suas análises. Em geral, tanto as espécies anuais quanto as não anuais de Rivulidae apresentam pequeno tamanho corporal ( $62 \pm 32$  mm em nosso banco de dados), uma característica compartilhada com muitos táxons da ordem Cyprinodontiformes (Malabarba & Malabarba, 2020). No entanto, há casos de espécies anuais com tamanho excepcionalmente grande, como *Titanolebias elongatus* (Steindachner, 1881), que é a maior espécie de Cyprinodontiformes, alcançando até 22 cm de comprimento total (Froese & Pauly, 2022).

Nossos resultados indicam que peixes-anuais não sazonais (não anuais) possuem maior tamanho de ovo do que as espécies anuais. Isso significa que peixes não anuais apresentam um maior investimento reprodutivo na aptidão da prole, de forma desproporcional à capacidade de alocação das reservas maternas. Energia é um recurso finito. Em espécies iteróparas, há um trade-off na alocação de recursos entre duas funções biológicas primárias: crescimento somático e reprodução (Hirshfield & Tinkle, 1975). O tamanho da prole é apenas um eixo ao longo do qual o investimento parental pode variar, mas tem grande potencial para capturar o investimento energético materno na prole (Pettersen et al., 2018; Marshall et al., 2018). Nesse sentido, a produção de ovos maiores tem o custo de limitar o investimento em crescimento somático em peixes não anuais. Assim, o maior gasto energético reprodutivo em espécies não anuais, contrabalançado pela menor longevidade das espécies anuais, pode ter contribuído para que espécies com diferentes histórias de vida apresentassem tamanhos corporais máximos semelhantes.

Peixes-anuais ocorrem em ambientes temporários, enquanto espécies não anuais habitam ambientes mais perenes; contudo, ambos os ambientes são comumente rasos e experimentam ampla variação de temperatura, além de águas ácidas e hipóxicas (Berois et al., 2016; Earley et al., 2012; Furness, 2016; Podrabsky et al., 2016). A coocorrência entre espécies anuais e não anuais é comum (ICMBio, 2018; Volcan & Guadagnin, 2020). Em ambientes com baixo teor de oxigênio, ocorre seleção contra ovos pequenos, devido à menor capacidade desses ovos de lidar com hipóxia, possivelmente relacionada a menores reservas energéticas (Einum et al., 2002). Uma diferença fundamental entre os peixes-anuais é que espécies anuais têm embriões com tolerância extrema à hipóxia ou anóxia (Podrabsky et al., 2007). A sobrevivência em hipóxia/anóxia é possível devido ao processo de diapausa embrionária, que culmina em interrupção do desenvolvimento, depressão metabólica e bloqueio do ciclo celular em G1 (Podrabsky et al., 2016). Na ausência de diapausa e dos mecanismos subjacentes para lidar com hipóxia, a sobrevivência embrionária de peixes não anuais poderia ser aumentada com o aumento do tamanho da prole. De fato, evidências sugerem que, para espécies sem diapausa embrionária, o investimento ótimo no tamanho da prole aumenta à medida que a qualidade ambiental diminui (Rollinson & Hutchings, 2013; Riesch et al., 2014; Santi et al., 2021). Portanto, um fator subjacente à seleção de diferentes tamanhos de ovos entre

espécies anuais e não anuais detectada no presente estudo pode estar associado a diferentes estratégias de história de vida para lidar com habitats estressantes.

## 5 | Conclusões

Em conclusão, a desova em lotes, o desenvolvimento modal sincrônico dos ovócitos nas fêmeas, a produção contínua de espermatozoides em machos e um processo complexo de diapausa embrionária são características reprodutivas que favorecem a resiliência de *L. opalescens* e de outros peixes-anuais em áreas úmidas temporárias. A presença de diapausa embrionária no ciclo de vida de peixes-anuais pode afetar o tamanho do ovo. A diapausa embrionária pode resultar em redução do tamanho do ovo devido a adaptações morfofisiológicas únicas para lidar com a dessecação cíclica dos habitats. Nossa matriz de dados (Online Resource 2) inclui espécies de peixes-anuais de pelo menos duas linhagens independentes (Murphy et al., 1999). A não monofilia do anualismo evidencia a pressão ambiental para a convergência dos padrões encontrados. O aumento do tamanho do ovo em peixes sem diapausa (não anuais) tem potencial para aumentar a aptidão da prole, porém com maior custo energético, o que pode afetar o crescimento somático das espécies. Assim, o maior dispêndio energético reprodutivo em espécies não anuais, contrabalançado pela menor longevidade das espécies anuais, pode ter contribuído para que espécies com diferentes histórias de vida apresentassem tamanhos corporais máximos semelhantes.

## Referências

- Arenzon A, Carvalho Peret A, Camino Bohrer MB (1999) Reproduction of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) in a temporary water body in Rio Grande do sul, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Hydrobiologia* (incorporating JAGU) 411:65–70. <https://doi.org/10.1023/A:1003868711295>
- Arezo MJ, D'Alessandro S, Papa N, de Sá R, Berois N (2007) Sex differentiation pattern in the annual fish *Austrolebias charrua* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Tissue and Cell* 39:89–98. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2007.01.004>
- Barneche DR, Robertson DR, White CR, Marshall DJ (2018a) Fish reproductive-energy output increases disproportionately with body size. *Science* 360(6389):642–645. <https://doi.org/10.1126/science.aao6868>
- Barneche DR, Burgess SC, Marshall DJ (2018b) Global environmental drivers of marine fish egg size. *Global Ecology and Biogeography* 27:890–898. <https://doi.org/10.1111/geb.12748>
- Berois N, Arezo MJ, Papa NG, Chalar C (2016) Cycle, Reproduction, and Development in Annual Fishes: Cellular and Molecular Aspects. In: Berois N, García G, de Sá RO (eds) *Annual Fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, Boca Ratón, pp 33–46

- Boniśławska M, Formicki K, Korzelecka-Orkisz A, Winnicki A (2001) Fish egg size variability: biological significance. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities–Fisheries* 4:1–15
- Brown-Peterson NJ, Wyanski DM, Saborido-Rey F, Macewicz BJ, Lowerre-Barbieri SK (2011) A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries* 3:52–70. <https://doi.org/10.1080/19425120.2011.555724>
- Calhoun AJK, Mushet DM, Bell KP, Boix D, Fitzsimons JA, Isselin-Nondedeu F (2017) Temporary wetlands: challenges and solutions to conserving a ‘disappearing’ ecosystem. *Biological Conservation* 211:3–11. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.11.024>
- Cassel M, Mehanna M, Mateus L, Ferreira A (2013) Gametogenesis and reproductive cycle of *Melanorivulus* aff. *Punctatus* (Boulenger, 1895) (Cyprinodontiformes, Rivulidae) in Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brazil. *Neotropical Ichthyology* 11(1):179–192. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252013000100021>
- Castro RMC, Polaz CNM (2020) Small-sized fish: the largest and most threatened portion of the megadiverse neotropical freshwater fish fauna. *Biota Neotropica* 20:e20180683. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0683>
- Cavalheiro LW, Fialho CB (2015) Reproductive strategy of a non-annual rivulid in a perennial wetland. *Iheringia* 105:288–296. <https://doi.org/10.1590/1678-476620151053288296>
- Costa WJEM (2008) Monophyly and taxonomy of the neotropical seasonal killifish genus *Leptolebias* (Teleostei: Aplocheiloidei: Rivulidae), with the description of a new genus. *Zoological Journal of the Linnean Society* 153:147–160. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00380.x>
- Costa WJEM, Leal F (2009) Egg surface morphology in the neotropical seasonal killifish genus *Leptolebias* (Teleostei: Aplocheiloidei: Rivulidae). *Vertebrate Zoology* 59:25–29
- Costa WJEM (2016) Comparative morphology and classification of south american cynopoecilinae killifishes (Cyprinodontiformes: Aplocheilidae), with notes on family-group names used for aplocheiloids. *Vertebrate Zoology* 66:125–140
- Costa WJEM, Amorim PF, Mattos JLO (2016) Molecular phylogeny and evolution of internal fertilization in south american seasonal cynopoecilinae killifishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 95:94–99. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.11.011>
- Costa WJEM (2019) Description of a new species of cynopoecilinae killifish (Cyprinodontiformes, Aplocheilidae), possibly extinct, from the Atlantic Forest of south-eastern Brazil. *ZooKeys* 867:73–85. <https://doi.org/10.3897/zookeys.867.34034>

- Domínguez-Castanedo O, Uribe MC (2019) Reproductive biology in males of the annual killifish *Millerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Cynolebiidae). *Environmental Biology of Fishes* 102:1365–1375. <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00912-4>
- Domínguez-Castanedo O, Uribe MC, Rosales-Torres AM (2017) Life history strategies of annual killifish *Millerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Cynolebiidae) in a seasonally ephemeral water body in Veracruz, México. *Environmental Biology of Fishes* 100(8):995–1006. <https://doi.org/10.1007/s10641-017-0617-y>
- Domínguez-Castanedo O, Valdez-Carbajal S, Muñoz-Campos TM, Huber JH, Reichard M (2022) Protogynous functional hermaphroditism in the north american annual killifish, *Millerichthys robustus*. *Scientific Reports* 12:9230. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12947-2>
- Duarte CM, Alcaraz M (1989) To produce many small or few large eggs: a size-independent reproductive tactic of fish. *Oecologia* 80:401–404. <https://doi.org/10.1007/BF00379043>
- Earley RL, Hanninen AF, Fuller A, Garcia MJ, Lee EA (2012) Phenotypic plasticity and integration in the mangrove rivulus (*Kryptolebias marmoratus*): a prospectus. *Integrative and Comparative Biology* 52:814–827. <https://doi.org/10.1093/icb/ics118>
- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32:1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Einum S, Hendry AP, Fleming IA (2002) Egg-size evolution in aquatic environments: does oxygen availability constrain size? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* 269:2325–2330. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2150>
- Evangelista M, Romagosa E, Siqueira-Silva D, Yasui G, Fujimoto T, Senhorini J (2021) Reproductive strategies and chromosomal aberrations affect survival in the Rivuliid fish *Hypsolebias sertanejo*. *Zygote* 29:20–26. <https://doi.org/10.1017/S0967199420000362>
- Eckerström-Liedholm S, Sowersby W, Gonzalez-Voyer A, Rogell B (2017) Time-limited environments affect the evolution of egg–body size allometry. *Evolution* 71:1900–1910. <https://doi.org/10.1111/evo.13286>
- Feiner ZS, Wang HY, Einhouse D et al (2016) Thermal environment and maternal effects shape egg size in a freshwater fish. *Ecosphere* 7(5):e01304. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1304>
- Froese R, Pauly D (2022) Fish Base. Electronic version accessed in October 2022. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)
- Fricke R, Eschmeyer WN, Van der Laan R (2022) Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. California Academy of Science, San Francisco. Electronic version accessed in October 2022. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

- Furness AI (2016) The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews* 91:796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>
- Gonçalves CS, Souza UP, Volcan MV (2011) The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 9:191–200. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011000100019>
- Grasel D, Mormul RP, Bozelli RL, Thomaz SM, Jarenkow JA (2018) Brazil's native vegetation protection law threatens to collapse pond functions. *Perspectives in Ecology and Conservation* 16:234–237. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.08.003>
- Guedes GHS, Salgado FLK, Uehara W, Ferreira DLP, Araújo FG (2020) The recapture of *Leptopanchax opalescens* (Aplocheiloidei: Rivulidae), a critically endangered seasonal killifish: habitat and aspects of population structure. *Zoologia* 37:1–8. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e54982>
- Handy SM, Deeds JR, Ivanova NV, Hebert PDN, Hanner RH, Moore MM, Yancy HF (2011) A single laboratory validated method for the generation of dna barcodes for the identification of fish for regulatory compliance. *Journal of AOAC International* 94:201–210. <https://doi.org/10.1093/jaoac/94.1.201>
- Hartig F (2022) Package 'DHARMa'. <http://florianhartig.github.io/DHARMa/>, <https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMa/DHARMa.pdf>. Accessed 19 June 2022
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, de Waard JR (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B* 270:313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR (2003b) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B* 270(Supplement 1):596–599. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Hill MJ, Greaves HM et al (2021) Pond ecology and conservation: research priorities and knowledge gaps. *Ecosphere* 12:e03853. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3853>
- Hirshfield MF, Tinkle DW (1975) Natural selection and the evolution of reproductive effort. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72:2227–2231. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.6.2227>
- ICMBio (2018) Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília
- Iglesias-Rios R, Lobón-Cervià J, Amaral CRL, Garber R, Mazzoni R (2022) Egg size is a good predictor of parental care behaviour among bony fishes. *Ecology of Freshwater Fish* 31:492–498. <https://doi.org/10.1111/eff.12645>
- Jennings WB (2017) Phylogenomic data acquisition: principles and practice. CRC Press/Taylor and Francis, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9781315181431>

- Jennings WB, Ruschi PA, Ferraro G, Quijada CC, SilvaMalanski ACG, Prosdocimi F, Buckup PA (2019) Barcoding the neotropical freshwater fish fauna using a new pair of universal COI primers with a discussion of primer dimers and M13 primer tails. *Genome* 62:77–83. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0145>
- Junk WJ, Piedade MTF, Lourival R, Wittmann F, Kandus P, Lacerda LD, Bozelli RL, Esteves FA, Nunes da Cunha C, Maltchik L, Schöngart J, Schaeffer-Novelli Y, Agostinho AA (2014) Brazilian wetlands: their definition, delineation, and classification for research, sustainable management, and protection. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 24(1):5–22. <https://doi.org/10.1002/aqc.2386>
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111–120. <https://doi.org/10.1007/BF01731581>
- Kumar S, Stecher G, Li K, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lis JT (1980) Fractionation of DNA fragments by polyethylene glycol induced precipitation. *Methods in Enzymology* 65:347–353. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(80\)65044-7](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(80)65044-7)
- Loureiro M, Sá RO, Serra SW, Alonso F, Lanés LEK, Volcan MV, Calviño PA, Nielsen D, Duarte A, García G (2018) Review of the family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a molecular and morphological phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotropical Ichthyology* 16:1–20. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>
- Lowe-McConnell RH (1987) *Ecological Studies in Tropical Fish Communities*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511721892>
- McBride RS, Somarakis S, Fitzhugh GR, Albert A, Yaragina NA, Wuenschel MJ, Alonso-Fernández A, Basilone G (2015) Energy acquisition and allocation to egg production in relation to fish reproductive strategies. *Fish and Fisheries* 16:23–57. <https://doi.org/10.1111/faf.12043>
- Marshall DJ, Pettersen AK, Cameron H (2018) A global synthesis of offspring size variation, its eco-evolutionary causes and consequences. *Functional Ecology* 32:1436–1446. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13099>
- Malabarba LR, Malabarba MC (2020) Phylogeny and classification of Neotropical fish. In: Baldisserotto B, Urbinati EC, Cyrino JEP (Eds) *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*, Academic. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00001-4>
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HFRN (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16:1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
- Murphy WJ, Collier GE (1997) A molecular phylogeny for aplocheiloid fishes (Atherinomorpha, Cyprinodontiformes): the role of vicariance and the origins of

- annualism. *Molecular Biology and Evolution* 14(8):790–799. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025819>
- Murphy WJ, Thomerson JE, Collier GE (1999) Phylogeny of the neotropical killifish Family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13:289–301. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0656>
- Parenti LR, Grier HJ (2004) Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integrative and Comparative Biology* 44:333–348. <https://doi.org/10.1093/icb/44.5.333>
- Patil I (2021) Visualizations with statistical details: the 'ggstatsplot' approach. *Journal of Open Source Software* 6:3167. <https://doi.org/10.21105/joss.03167>
- Pereira LHG, Hanner R, Foresti F, Oliveira C (2013) Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse neotropical freshwater fish fauna. *BMC Genetics* 14:20. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-20>
- Pettersen AK, White CR, Bryson-Richardson RJ, Marshall DJ (2018) Does the cost of development scale allometrically with offspring size? *Functional Ecology* 32:762–772. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13015>
- Polačik M, Blažek R, Reichard M (2016) Laboratory breeding of the short-lived annual killifish *Nothobranchius furzeri* *Nature Protocols* 11:1396–1413. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.080>
- Polačik M, Vrtílek M, Reichard M, Žák J, Blažek R, Podrabsky J (2021) Embryo ecology: Developmental synchrony and asynchrony in the embryonic development of wild annual fish populations. *Ecology and Evolution* 11:4945–4956. <https://doi.org/10.1002/ece3.7402>
- Podrabsky JE, Lopez JP, Fan TWM, Higashi R, Somero GN (2007) Extreme anoxia tolerance in embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*: insights from a metabolomics analysis. *The Journal of Experimental Biology* 210:2253–2266. <https://doi.org/10.1242/jeb.005116>
- Podrabsky JE, Riggs CL, Wagner JT (2016) Tolerance of Environmental Stress. In: Berois N, García G, de Sá RO (Eds) *Annual Fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, Boca Ratón
- R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org/>
- Reichard M (2016) The Evolutionary Ecology of African Annual Fishes. In: Berois N, García G, de Sá RO (eds) *Annual Fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, Boca Ratón, pp 133–158
- Rollinson N, Hutchings JA (2013) Environmental quality predicts optimal egg size in the Wild. *The American Naturalist* 182:76–90. <https://doi.org/10.1086/670648>

- Riesch R, Plath M, Schlupp I, Tobler M, Brian LR, Gaillard JM (2014) Colonisation of toxic environments drives predictable life-history evolution in livebearing fishes (Poeciliidae). *Ecology Letters* 17(1):65–71. <https://doi.org/10.1111/ele.12209>
- Rizzo E, Bazzoli N (2020) Reproduction and embryogenesis. In: Baldisserotto B, Urbinati EC, Cyrino JEP (eds) *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. Academic, London, pp 287–313. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00013-0>
- Santi F, Vella E, Jeffress K, Deacon A, Riesch R (2021) Phenotypic responses to oil pollution in a poeciliid fish. *Environmental Pollution* 290:118023. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118023>
- Schalk CM, Montaña CG, Libson ME (2014) Reproductive strategies of two neotropical killifish, *Austrolebias vanderbergi* and *Neofundulus ornatipinnis* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in the bolivian Gran Chaco. *Revista de Biología Tropical* 62:09–117
- Silva GG, Weber V, Green AJ, Hoffmann P, Silva VS, Volcan M, Lanés LEK, Stenert C, Reichard M, Maltchik L (2019) Killifish eggs can disperse via gut passage through waterfowl. *Ecology* 100:1–4. <https://doi.org/10.1002/ecy.2774>
- Smith CC, Fretwell SD (1974) The optimal balance between size and number of offspring. *The American Naturalist* 108:499–506. <https://doi.org/10.1086/282929>
- Souto-Santos ICA, Donadia WGR, Bauer AB, Abreu LAS, Buckup PA (2021) Poça de esperança no meio da cidade grande: *Leptopanchax opalescens* (Myers, 1942) numa floresta urbana do município do Rio de Janeiro, Brasil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia* 135:6–10
- Thompson AW, Furness AI, Stone C, Rade CM, Ortí G (2017) Microanatomical diversification of the zona pellucida in aplochelioid killifishes. *Journal of Fish Biology* 91:126–143. <https://doi.org/10.1111/jfb.13332>
- Uribe MC, Grier HJ, Mejía-Roa V (2015) Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. *Spermatogenesis* 4(3):e983400. <https://doi.org/10.4161/21565562.2014.983400>
- Vazzoler AEAM (1996) *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. EDUEM, Brazil
- Volcan MV, Fonseca AP, Robaldo RB (2011) Reproduction of the threatened annual killifish *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), confined in a natural environment. *Journal of Threatened Taxa* 3:1864–1867. <https://doi.org/10.11609/JoTT.o2575.1864-7>
- Volcan MV, Guadagnin DL (2020) Annual and non-annual fish assemblages respond differently to environmental and spatiotemporal variations of temporary wetlands from southern Brazil. *Freshwater Biology* 65:2023–2036. <https://doi.org/10.1111/fwb.13589>

- Vrtílek M, Reichard M (2015) Highly plastic resource allocation to growth and reproduction in females of an african annual fish. *Ecology of Freshwater Fish* 24:616–628. <https://doi.org/10.1111/eff.12175>
- Winemiller KO, Rose KA (1992) Patterns of life-history diversification in north american fishes: implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49:2196–2218. <https://doi.org/10.1139/f92-242>
- Wotton RJ, Smith C (2015) Reproductive biology of teleost fishes. Wiley, Chichester. <https://doi.org/10.1002/9781118891360>
- Wourms JP, Sheldon H (1976) Annual fish oogenesis: II. Formation of the secondary egg envelope. *Developmental Biology* 50:355–366. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(76\)90157-3](https://doi.org/10.1016/0012-1606(76)90157-3)
- Žák J, Vrtílek M, Poláček M, Blažek R, Reichard M (2021) Short-lived fishes: Annual and multivoltine strategies. *Fish and Fisheries* 22:546–561. <https://doi.org/10.1111/faf.12535>
- Zandona E, Kajin M, Buckup PA, Amaral JR, Souto-Santos ICA, Reznick DN (2021) Mode of maternal provisioning in the fish genus *Phalloceros*: a variation on the theme of matrotrophy. *Biological Journal of the Linnean Society* 134(4):867–878. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blab121>

### Disponibilidade de dados

Os dados e scripts em R utilizados nas análises estão disponíveis no Material Suplementar.

### Informações suplementares

#### Appendix S1

Recurso Online 1. Lista de espécimes utilizados para obtenção de dados moleculares neste estudo. O ID da amostra refere-se à Coleção de Extratos de DNA do Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade Molecular, Museu Nacional (MNLN), que também é utilizada para registrar dados dos espécimes no BOLD Systems (<http://www.boldsystems.org/>). O código de voucher refere-se aos números de catálogo do organismo inteiro, e o código do espécime/tecido refere-se ao número de catálogo do tecido. Os *Barcode Index Numbers* (BIN) foram extraídos do BOLD Systems e referem-se a sequências de *barcode* agrupadas que formam OTUs (unidades taxonômicas operacionais) que refletem de forma próxima os agrupamentos de espécies.

Arquivos suplementares disponíveis em:

[https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs13157-023-01680-9/MediaObjects/13157\\_2023\\_1680\\_MOESM1\\_ESM.xlsx](https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs13157-023-01680-9/MediaObjects/13157_2023_1680_MOESM1_ESM.xlsx)

**Apêndice S2**

Recurso Online 2. Metadados descrevendo as informações apresentadas na aba ESM\_2, reunindo informações secundárias sobre o diâmetro médio dos ovos e o comprimento total máximo de 136 espécies de peixes dulcícolas neotropicais (Rivulidae).

Arquivos suplementares disponíveis em:

[https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs13157-023-01680-9/MediaObjects/13157\\_2023\\_1680\\_MOESM2\\_ESM.xlsx](https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1007%2Fs13157-023-01680-9/MediaObjects/13157_2023_1680_MOESM2_ESM.xlsx)

## CAPÍTULO VI

Neotropical Ichthyology

Original article

<https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0013>

New occurrences of the  
endangered *Notholebias minimus*  
(Cyprinodontiformes: Rivulidae) in  
coastal plains of the State of Rio de  
Janeiro, Brazil: populations features and  
 conservation

Correspondence:  
Francisco Gerson Araújo  
gerson@ufrj.br

 Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup>,  Carlos Henrique Pacheco da Luz<sup>1</sup>,  
 Rosana Mazzoni<sup>2</sup>,  Fábio Origuela de Lira<sup>3</sup> and  
 Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

Guedes GHS, Luz CHP, Mazzoni R, Lira FO, Araújo FG (2023) New occurrences of the endangered *Notholebias minimus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in coastal plains of the State of Rio de Janeiro, Brazil: populations features and conservation. Neotropical Ichthyology 21(3): e230013. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0013>

**Novas ocorrências do ameaçado *Notholebias minimus*  
(Cyprinodontiformes: Rivulidae) nas planícies costeiras do Estado do  
Rio de Janeiro, Brasil: características populacionais e conservação**

Gustavo Henrique Soares Guedes<sup>1</sup>, Rosana Mazzoni<sup>2</sup>, Carlos Henrique Pacheco da Luz<sup>1</sup>,  
Fábio Origuela de Lira<sup>3</sup>, Francisco Gerson Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 7, BR-465, 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Ecologia de Peixes, Departamento de Ecologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Av. São Francisco Xavier, 524 PHLC 220, 20550-013 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Plano de Ação Nacional (PAN) – Rivulídeos, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental – CEPTA, Rodovia SP-201, km 7.5, 13630-970 Pirassununga, SP, Brasil.

### **Agradecimentos**

Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Proc. nº 140512/2022–5; 305712/2020–9; 306792/2021–4), pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ (Proc. E–26/200.897/2021; E–26/202.483/2021), pelo Fundo Brasileiro para a Biodiversidade – FUNBIO (programa *Conservando o Futuro*) e pelo Instituto HUMANIZE (Proc. nº 028/2023). Agradecimentos especiais a Yuri Borba pelas fotografias dos peixes e do habitat na Área de Proteção Ambiental das Brisas.

## RESUMO

*Notholebias minimus* é um peixe-anual ameaçado de extinção, endêmico das planícies costeiras do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Este estudo teve como objetivo apresentar novos registros de ocorrência no bioma Mata Atlântica, fornecer informações populacionais inéditas (tamanho corporal e dos ovos, fecundidade, razão sexual e relação peso-comprimento – RPC) e comparar mudanças no uso e cobertura da terra entre 1985 e 2021 em biótopos localizados dentro e fora de unidades de conservação. Foram registradas três novas localidades de ocorrência em áreas úmidas temporárias rasas, com pH ácido ( $6,4 \pm 0,2$ ) e baixas concentrações de oxigênio dissolvido ( $2,0 \pm 0,9$  mg/L). O comprimento total de machos e fêmeas variou de 11,1 a 31 mm e de 11 a 26 mm, respectivamente. A fecundidade por lote variou de 18 a 40 ovócitos ( $24,8 \pm 8,8$ ), correspondendo a ovócitos com tamanhos entre 800–1.006  $\mu\text{m}$  ( $905 \pm 56$ ). Os machos foram significativamente maiores do que as fêmeas ( $W = 2193,5$ ;  $p = 0,0067$ ), porém ambos os sexos ocorreram em proporções semelhantes ( $p = 0,472$ ). A RPC indicou alometria positiva ( $b = 3,18$ ). Biótopos localizados dentro de unidades de conservação apresentaram maior conservação. Nossos resultados ampliam o conhecimento sobre o habitat e as características populacionais de *N. minimus* e reforçam a importância do estabelecimento de áreas protegidas para a conservação de biótopos de peixes-anaís.

**Palavras-chave** | Peixes-anaís; Bioma Mata Atlântica; Unidades de conservação; Killifish; Fauna ameaçada

## ABSTRACT

*Notholebias minimus* is an endangered annual killifish endemic to the coastal plains of the State of Rio de Janeiro, Brazil. This study aimed to present new occurrences in the Atlantic Forest biome, provide unprecedented population features (body and egg size, fecundity, sexual ratio, and length-weight relationship – LWR), and compare changes in land use and coverage between 1985 and 2021 in biotopes located inside and outside protected areas. Three new occurrence localities were found in shallow temporary wetlands with acidic pH ( $6.4 \pm 0.2$ ) and low concentrations of dissolved oxygen ( $2.0 \pm 0.9$  mg/L). Males and females total length ranged from 11.1 to 31 mm and 11 to 26 mm, respectively. Batch fecundity ranged from 18 to 40 oocytes ( $24.8 \pm 8.8$ ), corresponding to oocytes with sizes between 800–1,006  $\mu\text{m}$  ( $905 \pm 56$ ). Males were significantly larger than females ( $W = 2193.5$ ,  $p = 0.0067$ ), but both sexes occurred in similar proportions ( $p = 0.472$ ). LWR showed positive allometry ( $b = 3.18$ ). Biotopes located within protected areas exhibited higher conservation. Our discoveries expand the knowledge about habitat and population features of *N. minimus* and reinforce the importance of establishing protected areas for the conservation of annual fish biotopes.

**Keywords |** Annual fish, Atlantic Forest biome, Conservation units, Killifish, Threatened fauna

## 1 | Introdução

A família Rivulidae (Cyprinodontiformes) é a nona mais rica em espécies de peixes no mundo, com cerca de 488 espécies válidas (Fricke et al., 2025), ocorrendo entre o sul da Flórida e o sudeste da província de Buenos Aires (Costa, 2011; Calviño et al., 2016; Loureiro et al., 2018). O Brasil abriga a maior parcela dessa diversidade, com pelo menos 314 espécies distribuídas por todos os biomas nacionais. Essa elevada riqueza é proporcional às ameaças antrópicas: Rivulidae é a família com o maior número de espécies ameaçadas entre todos os vertebrados que ocorrem no Brasil (ICMBio, 2022). A perda e a fragmentação de habitats são as principais ameaças aos rivulídeos (Costa, 2009). Áreas úmidas têm sido drasticamente destruídas, tanto em áreas agrícolas quanto em regiões em urbanização, por meio de desmatamento, drenagem e aterros (Abrantes et al., 2020; Castro & Polaz, 2020; Guedes et al., 2020; Drawert, 2022). Apesar disso, pesquisas, agências de fomento, políticas públicas e a conservação de ambientes continentais historicamente negligenciaram as áreas úmidas, concentrando-se em corpos d'água maiores e em espécies "bandeira" (Guedes et al., 2023).

Rivulidae é comumente subdividida em dois grandes grupos: espécies anuais/sazonais versus não anuais/perenes, de acordo com a presença ou ausência de ovos resistentes capazes de realizar um processo complexo de diapausa embrionária durante o ciclo de vida (Loureiro et al., 2018). A diapausa embrionária permite que essas espécies ocupem habitats hidrologicamente efêmeros, como áreas úmidas temporárias, onde os ovos podem permanecer enterrados no substrato seco por meses, aguardando gatilhos ambientais para a eclosão (Furness, 2016; Ishimatsu et al., 2018). Essa singularidade torna as espécies anuais "invisíveis" durante uma parte considerável do ciclo de vida, dificultando o mapeamento de suas áreas de distribuição.

As planícies costeiras do Estado do Rio de Janeiro, no sudeste do Brasil, constituem importantes hotspots de diversidade de peixes-anuais (Costa, 2012). Entre as espécies endêmicas dessa região, destaca-se o gênero *Notholebias* Costa, 2008, que inclui quatro espécies válidas: *Notholebias minimus* (Myers, 1942), *N. cruzi* (Costa, 1988), *N. fractifasciatus* (Costa, 1988) e *N. vermiculatus* Costa & Amorim, 2013. Todas são endêmicas do bioma Mata Atlântica e estão ameaçadas de extinção (ICMBio, 2018, 2022). Persistem lacunas significativas de conhecimento sobre distribuição, habitats, história de vida e ecologia das espécies de *Notholebias*, assim como para a maioria dos peixes-anuais. Essas lacunas tornam-se ainda mais críticas diante do elevado número de espécies ameaçadas, o que deveria refletir um maior esforço em estudos *in situ* e *ex situ* para subsidiar estratégias de conservação. Para reduzir esses gargalos de conhecimento, este estudo tem como principais objetivos: (i) apresentar novos registros de ocorrência de *N. minimus* no bioma Mata Atlântica, (ii) fornecer características populacionais inéditas (tamanho individual, fecundidade e tamanho dos ovos, razão sexual e relação peso-comprimento) e (iii) comparar impactos antrópicos no uso e cobertura da terra entre 1985 e 2021 em áreas úmidas temporárias localizadas dentro e fora de unidades de conservação, os quais representam ameaça à conservação dessa espécie.

## 2 | Materiais e Métodos

### 2.1 | Amostragem

As amostragens de peixes foram realizadas entre fevereiro e dezembro de 2022 em 23 pontos distribuídos em cinco localidades nas drenagens costeiras da Baía de Sepetiba e no Sistema Lagunar de Jacarepaguá (municípios de Seropédica e Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro; Tab. 1). Três localidades foram visitadas pela primeira vez durante este estudo: APA das Brisas (Área de Proteção Ambiental das Brisas), UFRRJ (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) e Chaperó (usina solar de Chaperó). Outras duas localidades com distribuição previamente conhecida de *N. minimus* foram revisitadas: PNM Bosque da Barra (Parque Natural Municipal Bosque da Barra) e REBIO Guaratiba (Reserva Biológica Estadual de Guaratiba). O clima é tropical sazonal, com verões chuvosos e invernos secos (clima Aw, segundo a classificação de Köppen–Geiger).

Os peixes foram coletados com puçás de imersão (redes de mão ovais, 50 × 40 cm, malha de 1 mm). Após a captura, os espécimes foram anestesiados com benzocaína cloridrato (50 mg/L), eutanasiados e fixados em formalina a 10% *in situ*. Em laboratório, os peixes foram medidos (precisão de 0,01 cm), pesados (precisão de 0,001 g) e, após 48 h, preservados em etanol a 70%. As análises biométricas foram realizadas no mesmo dia da captura, para evitar vieses associados à fixação/preservação dos espécimes. Para reduzir os impactos da amostragem sobre as populações, aproximadamente 75% dos indivíduos foram devolvidos vivos às poças após a contagem (abundância). Os peixes foram identificados e sexados de acordo com Costa (1988, 2008, 2009). Os exemplares-testemunho foram depositados na Coleção Ictiológica do Laboratório de Ecologia de Peixes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (LEP–UFRRJ 2588–2593) e estão disponíveis para consulta online via Global Biodiversity Information Facility – GBIF (Araújo et al., 2023). Registros adicionais foram obtidos na bibliografia (Costa & Amorim, 2013; Costa, 2016) e por buscas em bases online de coleções de peixes no Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira – SiBBR ([www.sibbr.gov.br](http://www.sibbr.gov.br)), SpeciesLink ([www.splink.org.br](http://www.splink.org.br)) e GBIF ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)).

**Tabela 1** | Localidades, número e data (mês/ano) das amostragens realizadas em tentativas de captura de *Notholebias minimus* em drenagens costeiras do Estado do Rio de Janeiro. Brisas APA = Área de Proteção Ambiental das Brisas; PNM Bosque da Barra = Parque Natural Municipal Bosque da Barra; REBIO Guaratiba = Reserva Biológica Estadual de Guaratiba; UFRRJ = Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

| Localidade          | Município      | Área | Latitude, Longitude    | Amostragens | Data                          |
|---------------------|----------------|------|------------------------|-------------|-------------------------------|
| UFRRJ               | Seropédica     | UN   | -22.77734, -43.68428   | 2           | Aug/22;<br>Dec/22             |
|                     |                |      | -22.772941, -43.68382  | 1           | Aug/22                        |
|                     |                |      | -22.763572, -43.694206 | 1           | Aug/22                        |
|                     |                |      | -22.771185, -43.679221 | 1           | Dec/22                        |
|                     |                |      | -22.771145, -43.679254 | 1           | Dec/22                        |
|                     |                |      | -22.782247, -43.706068 | 1           | nov/22                        |
| Chaperó             | Seropédica     | UN   | -22.808623, -43.764165 | 2           | Jun/22;<br>Dec/22             |
|                     |                |      | -22.807549, -43.765344 | 2           | Jun/22;<br>Dec/22             |
|                     |                |      | -22.809576, -43.764480 | 2           | Jun/22;<br>Dec/22             |
|                     |                |      | -22.806506, -43.767527 | 2           | Jun/22;<br>Dec/22             |
| Brisas APA          | Rio de Janeiro | AP   | -22.991528, -43.6519   | 2           | Out/22;<br>Nov/22             |
|                     |                |      | -22.991543, -43.65200  | 2           | Out/22;<br>Nov/22             |
|                     |                |      | -22.989152, -43.656201 | 2           | Out/22;<br>Nov/22             |
|                     |                |      | -22.990631, -43.656565 | 2           | Out/22;<br>Nov/22             |
|                     |                |      | -22.994059, -43.653093 | 2           | Out/22;<br>Nov/22             |
| REBIO Guaratiba     | Rio de Janeiro | AP   | -22.983333, -43.566667 | 1           | mar/22                        |
|                     |                |      | -23.001301, -43.559622 | 1           | mar/22                        |
|                     |                |      | -22.999105, -43.573757 | 1           | Fev/22                        |
|                     |                |      | -22.998559, -43.568107 | 1           | Fev/22                        |
| PNM Bosque da Barra | Rio de Janeiro | AP   | -22.997222, -43.37138  | 3           | Jul/22;<br>Ago//22;<br>Sep/22 |
|                     |                |      | -22.993886, -43.369539 | 1           | Ago//22                       |
|                     |                |      | -22.993901, -43.375876 | 1           | Ago//22                       |
|                     |                |      | -22.997522, -43.370991 | 1           | Ago/22                        |

Para avaliar a fecundidade, ovários de fêmeas em desova ( $N = 5$ ) foram removidos da cavidade visceral, pesados e mantidos em solução de Gilson até o completo desprendimento dos oócitos das paredes epiteliais e ovarianas. Os ovos foram contados e medidos (diâmetro, em  $\mu\text{m}$ ) em microscópio LEICA TL5000 Ergo. A microanatomia da zona pelúcida foi examinada em microscopia eletrônica de varredura (Hitachi TM1000). A fecundidade por lote (*batch fecundity*, BF), isto é, o número de ovos produzidos em um único lote de desova, foi estimada a partir da contagem de oócitos vitelogênicos (Rizzo & Bazzoli, 2020). A fecundidade relativa (RF) foi determinada pelo número de oócitos vitelogênicos por unidade de tamanho corporal (1 cm).

As características físico-químicas da água — temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido ( $\text{mg/L}$ ), potencial redox (mV), pH, condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}$ ) e turbidez (FTU) — foram medidas com uma sonda multiparâmetros modelo Hanna HI9829. A profundidade (cm) foi medida com réguas centimetradas e uma sonda digital (SpeedTech SM-5) no centro da área úmida temporária (equidistante das margens opostas). Para cada variável ambiental (física, química e profundidade), foi calculada a média a partir de três réplicas. As medições foram realizadas em dois pontos pertencentes à mesma localidade amostral (Chaperó, códigos 11–12; Tab. 2) durante a estação seca (junho) e a estação chuvosa (dezembro) de 2022. Portanto, os dados ambientais aqui apresentados podem não representar integralmente a amplitude de variabilidade entre diferentes habitats de ocorrência da espécie; ainda assim, fornecem evidências úteis sobre as condições ambientais às quais os peixes-anuais estão expostos.

## 2.2 | Uso e cobertura do solo

Para avaliar mudanças na paisagem nas áreas de ocorrência dos peixes, foram estabelecidos *buffers* com raio de 250 m a partir dos centróides dos corpos d'água onde os peixes foram capturados, totalizando uma área analisada de  $\sim 0,1963 \text{ km}^2$ . Nessas áreas, matrizes de uso e cobertura da terra para os anos de 1985 e 2021 foram obtidas por meio do projeto MapBiomas (v. 7.0, <https://mapbiomas.org>). A classificação baseou-se em mosaicos anuais de imagens do satélite Landsat, e o processo de classificação foi realizado automaticamente por meio de algoritmos de árvore de decisão do tipo Random Forest (Souza et al., 2020). A classificação foi feita pixel a pixel, sendo a unidade mínima mapeada equivalente a  $900 \text{ m}^2$  ( $30 \times 30 \text{ m}$ ).

Um Sistema de Referência Espacial (SRS) customizado foi utilizado para calcular áreas com base na Projeção Albers, com parâmetros fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). As diferentes classes de uso e cobertura da terra foram agrupadas em duas categorias: naturais (e.g., formação florestal, áreas úmidas) e antrópicas (e.g., infraestrutura urbana, pastagem e agricultura). Em seguida, a taxa (%) de progressão ou regressão da cobertura antrópica (entre 1985 e 2021) foi comparada entre áreas com diferentes políticas territoriais (áreas protegidas vs. não protegidas). Foram incluídos nas análises 11 dos 13 registros (6 áreas protegidas/unidades de conservação; 5 áreas não protegidas) apresentados na Tab. 2. Em duas situações

(códigos: 10 e 13; 11 e 12; Tab. 2), a distância entre os pontos foi inferior a 500 m; para evitar sobreposição de *buffers* e redundância espacial, foi considerada apenas uma localidade em cada caso. Para lidar com possíveis vieses temporais decorrentes de unidades de conservação criadas após 1985, foi verificado se havia mudanças conspícuas no uso e cobertura da terra entre 1985 e o ano de criação da área protegida. Observou-se que as matrizes de uso e cobertura da terra foram semelhantes entre o limite inferior (1985) e a data de criação das unidades de conservação. Assim, as análises foram conduzidas mantendo-se um escopo temporal padronizado de 36 anos (1985–2021) para as 11 localidades.

Todas as análises de geoprocessamento — como criação de *buffers*, reprojeções, conversão de rasters em polígonos, cálculo de áreas das classes de uso e cobertura, sobreposições e amostragem de camadas — foram realizadas no software QGIS v. 3.10 A Coruña (QGIS Development Team, 2022).

### 2.3 | Análises estatísticas

Foi aplicado o teste de Mann–Whitney–Wilcoxon para comparar diferenças no comprimento total (TL) entre machos e fêmeas. Um possível viés na razão sexual populacional foi avaliado comparando-se a proporção esperada de 1:1, testada com qui-quadrado ( $\chi^2$ ), ao nível de significância de 95%.

A relação peso–comprimento ( $W = a \times TL^b$ ) foi estimada com base em medições de 43 indivíduos (machos + fêmeas) por regressão linear da equação transformada:  $\log(W) = \log(a) + b \log(TL)$  (Le Cren, 1951), em que  $W$  é o peso corporal (g),  $TL$  é o comprimento total (cm),  $a$  é o intercepto e  $b$  é o coeficiente angular (Froese, 2006). Todas as análises estatísticas foram realizadas em ambiente R (R Development Core Team, 2022).

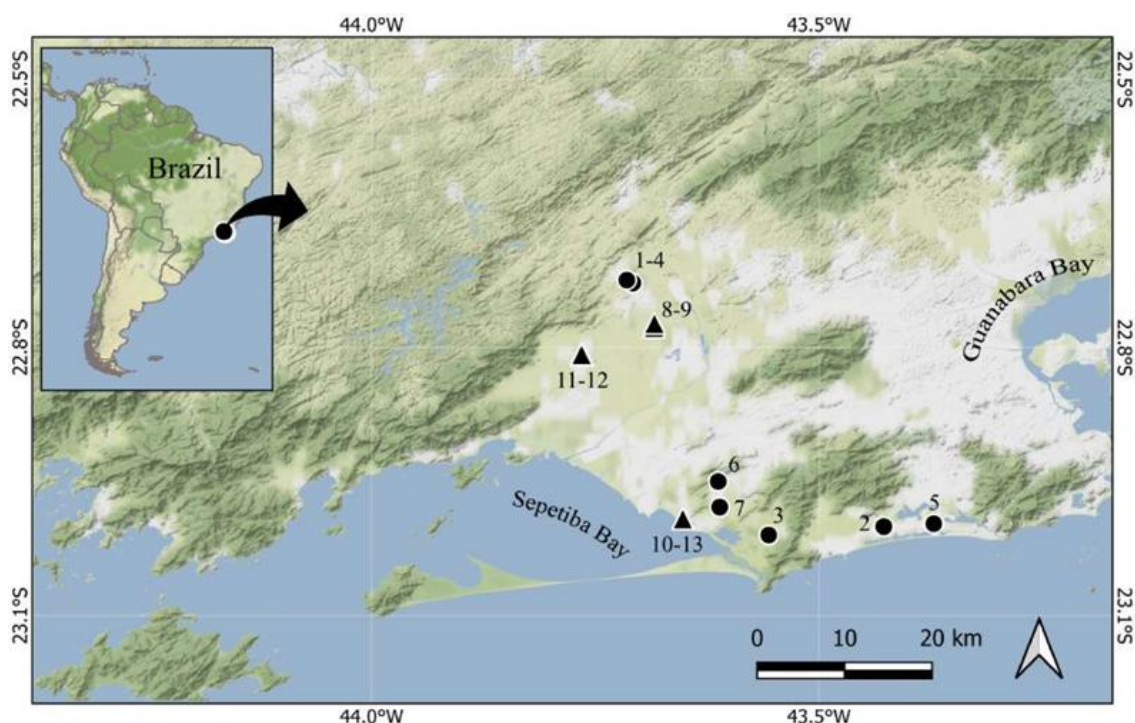
## 3 | Resultados

Três novas localidades de ocorrência de *Notholebias minimus* foram descobertas em planícies costeiras que drenam para a Baía de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro (Tab. 2; Fig. 1). Dois dos novos registros ocorreram no município de Seropédica: (i) no interior do campus da UFRJ (22°46′38.4″S, 43°41′03.4″W; Tab. 2, cód. 8 e 9); e (ii) em área destinada à instalação da usina solar de Chaperó (22°48′31.0″S, 43°45′51.0″W; Tab. 2, cód. 11–12). O terceiro novo registro ocorreu no município do Rio de Janeiro, na APA das Brisas (22°59′29.5″S, 43°39′06.8″W; Tab. 2, cód. 10 e 13). Nessas localidades, um total de 156 indivíduos de *N. minimus* (70 machos, 84 fêmeas e dois juvenis com sexo indefinido; Fig. 2) foi amostrado. Duas localidades com distribuição previamente conhecida da espécie também foram revisitadas (cód. 3, REBIO de Guaratiba; cód. 13, PNM Bosque da Barra); contudo, a espécie não foi recapturada nesses locais. Entre os 23 pontos inspecionados no período de estudo (Tab. 1), *N. minimus* foi registrado em apenas seis (Tab. 2). Outras

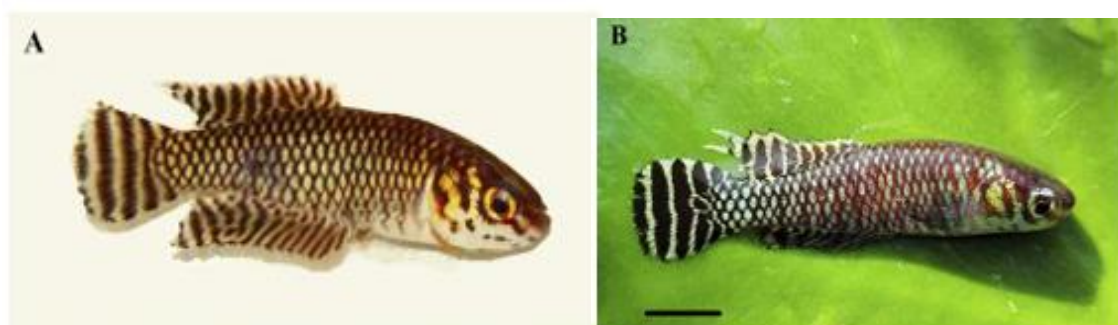
localidades apresentadas na Tab. 2 e Fig. 1, e não mencionadas aqui, não foram inspecionadas.

**Tabela 2** | Registros de *Notholebias minimus* em diferentes áreas (AP – protegidas/unidades de conservação; UN – não protegidas) em drenagens costeiras do Estado do Rio de Janeiro. O ano de criação da área protegida também é indicado. APA Tabebuias = Área de Proteção Ambiental das Tabebuias; Brisas APA = Área de Proteção Ambiental das Brisas; FLONA Mário Xavier = Floresta Nacional Mário Xavier; PNM Bosque da Barra = Parque Natural Municipal Bosque da Barra; REBIO Guaratiba = Reserva Biológica Estadual de Guaratiba. ZUEC-PIS = Coleção de Peixes do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas; MNRJ = Museu Nacional, Rio de Janeiro; UFRJ = Universidade Federal do Rio de Janeiro – Instituto de Biologia; LEP-UFRRJ = Coleção Ictiológica do Laboratório de Ecologia de Peixes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. \*Novos registros apresentados neste estudo.

| Cód. | Município         | Localidade                | Área       | Latitude,<br>Longitude     | Voucher           | Referência           |
|------|-------------------|---------------------------|------------|----------------------------|-------------------|----------------------|
| 1    | Seropédica        | FLONA<br>Mário<br>Xavier  | AP<br>1986 | -22.727872, -<br>43.7081   | ZUEC-PIS<br>2082  | gbif.org/2973819872  |
| 2    | Rio de<br>Janeiro | APA<br>Tapebuias          | AP<br>1999 | -23.0004; -<br>43.4273     | MNRJ 25303        | gbif.org/1268715527  |
| 3    | Rio de<br>Janeiro | REBIO<br>Guaratiba        | AP<br>1974 | -22.983333, -<br>43.566667 | MNRJ 26429        | gbif.org/1268716689  |
| 4    | Seropédica        | FLONA<br>Mário<br>Xavier  | AP<br>1986 | -22.724692, -<br>43.71466  | ICMBio<br>477424  | sibbr.gov.br         |
| 5    | Rio de<br>Janeiro | PNM<br>Bosque da<br>Barra | AP<br>1983 | -22.997222, -<br>43.37138  | MNRJ 25422        | gbif.org/1268715653  |
| 6    | Rio de<br>Janeiro | Campo<br>Grande           | UN         | -22.9500, -<br>43.6125     | UFRJ 8270         | Costa, Amorim (2013) |
| 7    | Rio de<br>Janeiro | Guaratiba                 | UN         | -22.978608,-<br>43.61083   | -                 | Costa (2016)         |
| 8*   | Seropédica        | UFRRJ                     | UN         | -22.77734, -<br>43.68428   | LEP-UFRRJ<br>2590 | gbif.org/3988098303  |
| 9*   | Seropédica        | UFRRJ                     | UN         | -22.772941, -<br>43.68382  | LEP-UFRRJ<br>2591 | gbif.org/3988098304  |
| 10*  | Rio de<br>Janeiro | Brisas APA                | AP<br>1992 | -22.991528, -<br>43.6519   | LEP-UFRRJ<br>2593 | gbif.org/3988098306  |
| 11*  | Seropédica        | Chaperó                   | UN         | -22.808623, -<br>43.764165 | LEP-UFRRJ<br>2579 | gbif.org/3803056301  |
| 12*  | Seropédica        | Chaperó                   | UN         | -22.807549, -<br>43.765344 | LEP-UFRRJ<br>2580 | gbif.org/3803056302  |
| 13*  | Rio de<br>Janeiro | Brisas APA                | AP<br>1992 | -22.991543, -<br>43.652    | LEP-UFRRJ<br>2592 | gbif.org/3988098305  |



**Figura 1** | Mapa das ocorrências de *Notholebias minimus* nas planícies costeiras do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Triângulos pretos indicam os novos registros deste estudo. Pontos pretos indicam registros de estudos anteriores (e.g., Costa & Amorim, 2013; Costa, 2016). As referências das ocorrências (códigos) estão disponíveis na Tab. 2.



**Figura 2** | Machos de *Notholebias minimus* capturados (A) na Área de Proteção Ambiental das Brisas, município do Rio de Janeiro, e (B) no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ (município de Seropédica). Barra de escala = 4 mm.

*Notholebias minimus* foi registrado em poças temporárias típicas de peixes-anaus, incluindo brejos sem sombreamento (Fig. 3A–B) e brejos sombreados no interior/borda de pequenos fragmentos florestais. Macrófitas flutuantes estavam presentes apenas nos brejos sem sombreamento (Fig. 3A). Na localidade de Chaperó, a profundidade (cm) variou entre as estações seca (média  $\pm$  d.p.,  $33 \pm 19$  cm) e chuvosa ( $85 \pm 21$  cm), com brejos alcançando até 105 cm de profundidade (Tab. 3). As características físico-químicas da água indicaram pH com tendência à acidez (mínimo–máximo, 6,25–6,76) e baixas

concentrações de oxigênio dissolvido (1,1–3,8 mg/L; Tab. 3). Outras espécies de peixes não anuais ocorreram em simpatria com *N. minimus*, como *Trichopodus trichopterus* (Pallas, 1770) na APA das Brisas; *Phalloceros anisophallos* Lucinda, 2008, *Hyphessobrycon bifasciatus* Ellis, 1911, e *Deuterodon hastatus* (Myers, 1928) em Seropédica (localidades de Chaperó e UFRRJ).



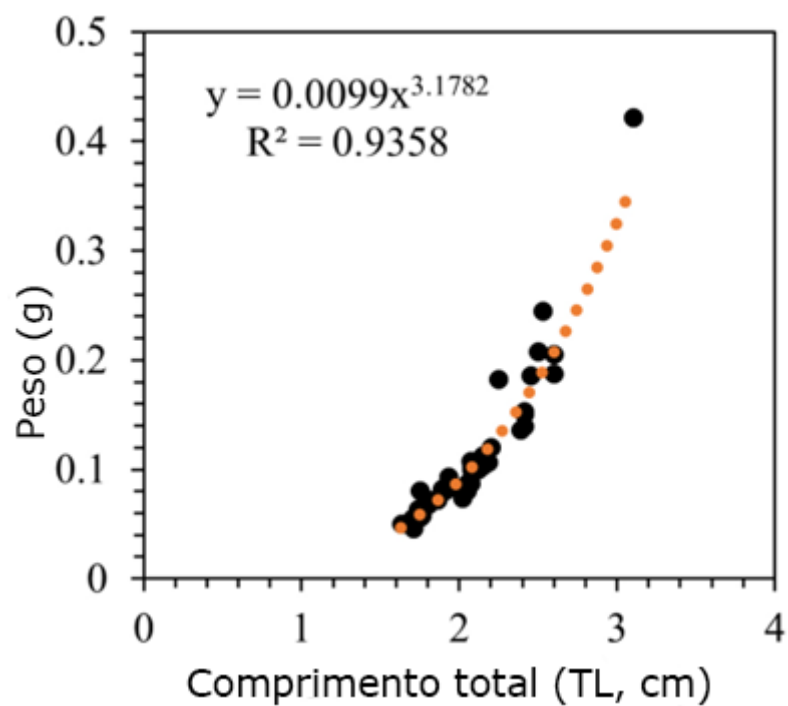
**Figura 3 |** Áreas úmidas temporárias na Região Hidrográfica do Rio Guandu (drenagens costeiras da Baía de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil) com novas ocorrências de *Notholebias minimus*. A–B. Brejos em vegetação aberta na localidade de Chaperó; C–D. Brejos em fragmentos florestais no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ e na Área de Proteção Ambiental das Brisas, respectivamente.

**Tabela 3** | Características físico-químicas da água nas áreas úmidas temporárias associadas às capturas de *Notholebias minimus* na localidade de Chaperó (códigos 11–12; Tab. 2), durante as estações seca (junho) e chuvosa (dezembro) de 2022. Mínimo–máximo (média  $\pm$  desvio-padrão).

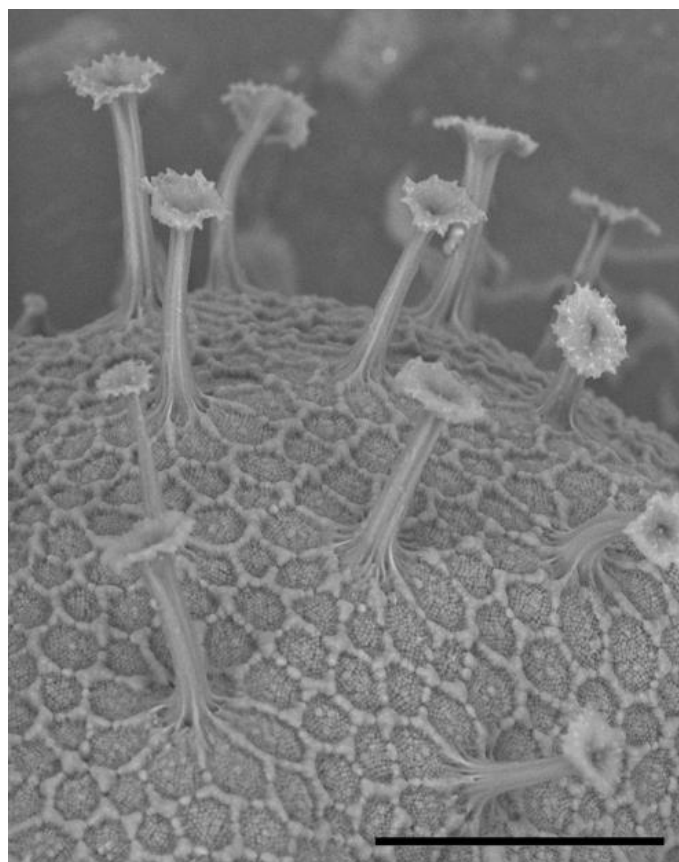
| Variáveis                   | Seco                       | Chuvoso                    |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Profundidade (cm)           | 15–60 (33 $\pm$ 19)        | 55–105 (85 $\pm$ 21)       |
| Temperatura (°C)            | 21.2–25.7 (22.2 $\pm$ 1.4) | 24.4–25.9 (25.3 $\pm$ 0.7) |
| pH                          | 6.28–6.76 (6.5 $\pm$ 0.2)  | 6.25–6.42 (6.3 $\pm$ 0.1)  |
| Oxigênio dissolvido (mg/L)  | 1.1–3.3 (1.8 $\pm$ 0.7)    | 1.1–3.8 (2.4 $\pm$ 1.2)    |
| ORP (mV)                    | 73.5–283 (175 $\pm$ 73)    | 166–281 (233 $\pm$ 43)     |
| Condutividade ( $\mu$ S/cm) | 77–190 (101 $\pm$ 29)      | 30–74 (65 $\pm$ 17)        |
| Turbidez (FTU)              | 8.7–103 (42 $\pm$ 25)      | 57–294 (140 $\pm$ 118)     |

O teste qui-quadrado não indicou diferença significativa na razão sexual (1,1 fêmea: 1 macho), com ambos os sexos sendo capturados em proporções semelhantes ( $\chi^2 = 0,516$ ,  $p = 0,472$ ). O tamanho corporal variou de 11,1 a 31 mm (média  $\pm$  d.p., 19,1  $\pm$  3,9 mm de TL) para machos e de 11 a 26 mm (17,5  $\pm$  3,0 mm de TL) para fêmeas. O tamanho médio dos machos foi significativamente maior que o das fêmeas ( $W = 2193,5$ ;  $p = 0,0067$ ). A relação peso–comprimento (RPC), com os sexos agrupados, foi descrita pela equação ajustada a uma curva potencial:  $Wt = 0,0099 \times TL^{3,18}$  ( $N = 43$ ; Fig. 4). Essa equação corresponde à forma logarítmica  $\ln(W) = 4,61 + 3,18 \times \ln(L)$  ( $R^2 = 0,92$ ). *Notholebias minimus* apresenta crescimento alométrico positivo, com o parâmetro expoente ( $b$ ) igual a 3,18 (IC 95%: 2,89–3,46). O número total de oócitos presentes nas gônadas (independentemente do estágio de desenvolvimento) variou de 35 a 63 (média 50  $\pm$  12,3 d.p.). A fecundidade por lote (apenas oócitos vitelogênicos) variou de 18 a 40 (24,8  $\pm$  8,8), correspondendo a diâmetros de oócitos entre 800 e 1.006  $\mu$ m (905  $\pm$  56  $\mu$ m). A fecundidade relativa (ovos por unidade de tamanho corporal – 1 cm) variou de 8,1 a 16,6 (10,9  $\pm$  3,3). Oócitos em estágios avançados de desenvolvimento apresentam projeções em forma de “cogumelo” e sulcos poligonais na zona pelúcida (Fig. 5).

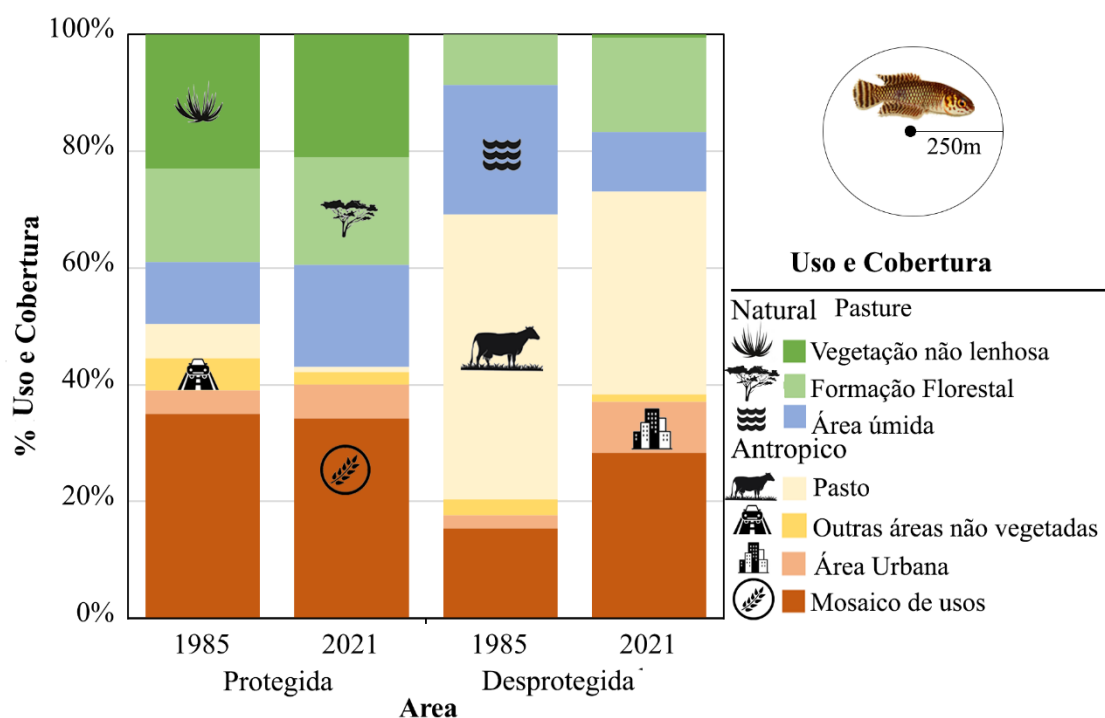
Sete classes diferentes de uso e cobertura da terra foram mapeadas nas áreas adjacentes (raio de 250 m) às ocorrências de *N. minimus* (Fig. 6). Os principais impactos nas áreas de ocorrência da espécie foram: mosaico de usos (28,2%; áreas de uso agropecuário em que não foi possível distinguir entre pastagem e agricultura), pastagem (21,7%), área urbana (4,8%) e outras áreas não vegetadas (3,2%; superfícies impermeáveis como infraestrutura ou mineração). As localidades situadas dentro de unidades de conservação apresentaram maior cobertura relativa de matrizes naturais (total 48%; vegetação de restinga arbórea 18,9%, formação florestal 14,7% e áreas úmidas 14,2%) em comparação com locais não protegidos (total 29,4%; vegetação de restinga arbórea 0,26%, formação florestal 11,7% e áreas úmidas 17,2%). Áreas protegidas e não protegidas também exibiram tendências temporais opostas (1985–2021) nas mudanças da paisagem: enquanto áreas não protegidas apresentaram expansão de 4% das matrizes antrópicas, em áreas protegidas houve restauração de 7,3% das matrizes naturais (Fig. 6).



**Figura 4** | Relação peso–comprimento de *Notholebias minimus* (N = 43).



**Figura 5** | Ovos não fertilizados de *Notholebias minimus*, evidenciando projeções em forma de “cogumelo” e sulcos poligonais na zona pelúcida. Barra de escala = 100  $\mu$ m.



**Figura 6** | Uso e cobertura da terra (%) em 11 localidades (Unidades de Conservação/Protegidas vs. Não protegidas) e períodos (1985–2021) nas áreas (buffer de 250 m) de ocorrência de *Notholebias minimus*.

## 4 | Discussão

*Notholebias minimus* apresenta uma distribuição geográfica notavelmente ampla em comparação com outras espécies do gênero *Notholebias*. Os registros dessa espécie incluem as bacias dos rios Guandu, Guarda e Portinho, além de drenagens do sistema lagunar de Jacarepaguá (Costa, 1988; Costa & Amorim, 2013). Isso contrasta com as demais espécies do gênero, que possuem distribuição menos ampla e são restritas às proximidades de suas localidades-tipo (Costa, 1988; Costa & Amorim, 2013; ICMBio, 2018). Existem cenários históricos alternativos para os padrões modernos de distribuição de Rivulidae (e.g., Garcia et al., 2012; Costa et al., 2017; Loureiro et al., 2018) e, em escalas espaciais menores, há evidências de que algumas espécies possam ser dispersas por rearranjos de drenagens fluviais, grandes cheias ou até mesmo por endozoocoria (Costa, 2013; Silva et al., 2019). Assim, a explicação para a distribuição atual das espécies de *Notholebias* não é trivial e merece estudos específicos adicionais, pois pode envolver padrões filogeográficos únicos.

Os novos biótopos foram localizados no interior de fragmentos florestais sombreados e em brejos de vegetação aberta expostos ao sol, ambientes típicos de *Notholebias* spp., que podem incluir ainda áreas arenosas costeiras cobertas por arbustos, gramíneas e vegetação aberta/arbórea esparsa situadas a até 100 m do mar (Costa, 1988). A água das poças temporárias na localidade de Chaperó apresentou tendência à acidez e baixas

concentrações de oxigênio, condições ambientais típicas de áreas úmidas temporárias (Bidwell, 2013). De modo geral, peixes-anuais evoluíram para suportar mudanças ambientais diárias e sazonais marcantes, incluindo variações de temperatura, concentração de oxigênio, salinidade, pH e disponibilidade hídrica, que se aproximam dos limites de sobrevivência de vertebrados (Podrabsky et al., 2016; Polačik & Podrabsky, 2016; Ishimatsu et al., 2018). A coocorrência de *N. minimus* com outras espécies não anuais (*T. trichopterus*, *P. anisophallos*, *H. bifasciatus*, *D. hastatus*) indica uma conexão periódica das áreas úmidas temporárias com corpos d'água perenes adjacentes. A simpatria entre *Notholebias* e outras espécies anuais e não anuais é comum (Costa, 1988; ICMBio, 2018) e indica que essas espécies conseguem completar seu ciclo de vida e manter populações viáveis mesmo sob competição ou predação periódicas.

*Notholebias minimus* apresentou crescimento alométrico positivo ( $b = 3,18$ ), com ganho proporcionalmente maior em peso do que em comprimento (Froese, 2006). No entanto, não foram encontradas referências prévias para a relação peso-comprimento (RPC) de *N. minimus* e de outras espécies de *Notholebias*, o que impede comparações diretas com outros estudos. Os machos de *N. minimus* são maiores que as fêmeas, corroborando o padrão de dimorfismo sexual comumente observado em outras espécies de Rivulidae (e.g., Arenzon et al., 2001; Lanés et al., 2012; Guedes et al., 2020). A preparação para a reprodução pode causar estresse oxidativo e afetar a autossustentação materna (Godoy et al., 2020) e, consequentemente, o crescimento somático das fêmeas. Diferenças de tamanho corporal mediam a coexistência de peixes-anuais em poças temporárias ao mitigar a competição intra e interespecífica (Arenzon et al., 2001; Volcan et al., 2019). Assim, as diferenças intraespecíficas de tamanho observadas entre machos e fêmeas podem estar associadas a custos energéticos reprodutivos distintos, além de exercerem papel importante na coexistência populacional.

Foi registrada baixa fecundidade por lote ( $24,8 \pm 8,8$  ovos) em *N. minimus*, semelhante ao observado em outras espécies anuais como *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) ( $19 \pm 26$  ovos; Gonçalves et al., 2011), *Austrolebias nigrofasciatus* Costa & Cheffe, 2001 ( $21,5 \pm 12$  ovos; Volcan et al., 2011) e *Leptopanchax opalescens* (Myers, 1942) ( $27 \pm 7,0$  ovos; Guedes et al., 2023). Contudo, os ovos são relativamente grandes (máximo de  $1.006 \mu\text{m}$ ) quando consideradas as limitações espaciais impostas pela cavidade celômica em uma espécie de pequeno porte ( $< 4 \text{ cm}$ ). De acordo com a teoria do tamanho ótimo do ovo, as populações evoluem um tamanho de ovo que equilibra o trade-off entre tamanho do ovo e fecundidade, maximizando o rendimento reprodutivo (Smith & Fretwell, 1974). Portanto, ovos maiores implicam o custo de reduzir o número de ovos, o que está de acordo com os achados deste estudo. Espécies anuais apresentam ovos menores quando comparadas a espécies não anuais da família Rivulidae (Guedes et al., 2023), o que pode estar associado à extrema tolerância dos embriões à hipóxia decorrente do processo de diapausa embrionária, que culmina em interrupção do desenvolvimento, depressão metabólica e bloqueio do ciclo celular em G1 (Podrabsky et al., 2016). Para espécies sem diapausa embrionária, o investimento ótimo no tamanho da prole aumenta à medida que a qualidade ambiental diminui (Rollinson & Hutchings, 2013; Riesch et al., 2014; Santi et al., 2021). A zona pelúcida de ovos maduros de *N.*

*minimus* apresentou projeções em forma de “cogumelo”, semelhantes às descritas para outras espécies dos gêneros *Leptopanchax* e *Notholebias* (Costa & Leal, 2009; Thompson et al., 2017). Wourms & Sheldon (1976) propuseram que essas projeções constituem um sistema respiratório coriônico, uma vez que existe uma rede de canais que leva a espículas ocas, que podem funcionar como aerópilas semelhantes às de ovos de insetos. Isso pode ser uma adaptação de peixes-anaís, pois uma zona pelúcida espessa e dura — e, portanto, pouco permeável ao oxigênio — pode ser necessária para evitar a dessecação (Thompson et al., 2017).

Atualmente, *Notholebias minimus* ocorre em cinco unidades de conservação no Estado do Rio de Janeiro, incluindo o registro inédito na APA das Brisas apresentado aqui. Em contraste, outras espécies como *Notholebias vermiculatus* e *N. fractifasciatus* não ocorrem em áreas protegidas (ICMBio, 2018). *Notholebias cruzi*, cuja localidade-tipo está fora de unidade de conservação, teve seus biótopos destruídos pela expansão urbana e não é registrada desde 2002, podendo estar extinta (Costa, 2012; Lira, 2021). Os biótopos de *N. minimus* situados em unidades de conservação apresentam maior cobertura natural e tendências de restauração ambiental entre 1985 e 2021. Por outro lado, localidades sem proteção apresentam maior cobertura de matrizes antrópicas (pastagem, área urbana) e perda de áreas úmidas temporárias entre 1985 e 2021. Esses resultados evidenciam o papel importante das áreas protegidas na conservação de biótopos. Entretanto, mesmo as áreas protegidas exibiram alta cobertura (52%) de matrizes antrópicas, o que pode refletir o tipo de política territorial, já que parte dessas unidades é de uso sustentável e, portanto, possui menos restrições ao uso do solo (SNUC, 2000) e/ou desmatamentos históricos anteriores a 1985, considerando que o bioma Mata Atlântica é historicamente impactado (Joly et al., 2014; Egler et al., 2020).

A ampla distribuição geográfica de *N. minimus*, combinada à ocorrência em unidades de conservação, coloca essa espécie em posição mais favorável de conservação quando comparada às demais espécies do gênero *Notholebias*. Nossos resultados indicam que biótopos dentro de áreas protegidas apresentam tendência de restauração entre 1985 e 2021, com avanço de matrizes naturais. Em contraste, biótopos em áreas não protegidas exibem tendência oposta, com aumento de impactos antrópicos no uso e cobertura da terra. Ainda assim, é crucial manter o monitoramento contínuo dos biótopos, tanto dentro quanto fora de áreas protegidas, para assegurar a preservação bem-sucedida desses peixes ameaçados. Em conclusão, nossos achados ampliam o conhecimento sobre os habitats e a estrutura populacional de *N. minimus* e reforçam a importância de estabelecer áreas protegidas para a conservação e restauração de biótopos de peixes-anaís.

## Referências

- Abrantes YG, Medeiros LS, Bennemann ABA, Bento DM, Teixeira FK, Rezende CF et al. Geographic distribution and conservation of seasonal killifishes (Cyprinodontiformes, Rivulidae) from the Mid-Northeastern Caatinga ecoregion, northeastern Brazil. *Neotrop Biol Conserv*. 2020; 15(3):301–15. <https://doi.org/10.3897/neotropical.15.e51738>
- Araújo FG, Guedes G, Soares Guedes GH. Base de dados da Coleção Ictiológica do LEP-UFRRJ. Version 1.8. Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira – SiBBR; 2023. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/srsucy> (accessed via GBIF.org on 2023-05-19).
- Arenzon A, Peret AC, Bohrer MBC. Growth of the annual fish *Cynopoeilus melanotaenia* (Regan, 1912) based in a temporary water body population in Rio Grande do Sul State, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Braz J Biol*. 2001; 61(1):117–23. <https://doi.org/10.1590/s0034-71082001000100015>
- Bidwell JR. Physical and chemical monitoring of wetland water. In: Anderson J, Davis C, editors. *Wetland Techniques*. Dordrecht: Springer; 2013. p. 325–53. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6860-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6860-4_6)
- Calviño PA, Nadalin DO, Serio MJ, López HL. Colección ictiológica del Museo de La Plata: La familia Rivulidae. *ProBiota, FCNyM, UNLP Serie Técnica y Didáctica*. 2016; 36:1–21.
- Castro RMC, Polaz CNM. Small-sized fish: the largest and most threatened portion of the megadiverse Neotropical freshwater fish fauna. *Biota Neotrop*. 2020; 20(1):e20180683. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0683>
- Costa WJEM. Sistemática e distribuição do complexo de espécies *Cynolebias minimus* (Cyprinodontiformes, Rivulidae), com a descrição de duas espécies novas. *Rev Bras Zool*. 1988; 5(4):557–70. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751988000400004>
- Costa WJEM. Monophyly and taxonomy of the Neotropical seasonal killifish genus *Leptolebias* (Teleostei: Aplocheiloidei: Rivulidae), with the description of a new genus. *Zool J Linn Soc*. 2008; 153(1):147–60. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00380.x>
- Costa WJEM. Aplocheiloid fishes of the Brazilian Atlantic Forest: history, diversity and conservation. Rio de Janeiro: Museu Nacional; 2009.
- Costa WJEM. Phylogenetic position and taxonomic status of *Anablepsoides*, *Atlantirivulus*, *Cynodonichthys*, *Laimosemion* and *Melanorivulus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyol Explor Freshw*. 2011; 22(3):233–49.
- Costa WJEM. Delimiting priorities while biodiversity is lost: Rio's seasonal killifishes on the edge of survival. *Biodivers Conserv*. 2012; 21:2443–52. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0301-7>
- Costa WJEM. Historical biogeography of aplocheiloid killifishes (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Vertebr Zool*. 2013; 63(2):139–54. <https://doi.org/10.3897/vz.63.e31419>

- Costa WJEM. Inferring evolution of habitat usage and body size in endangered, seasonal Cynopoeciline killifishes from the South American Atlantic Forest through an integrative approach (Cyprinodontiformes: Rivulidae). PLoS ONE. 2016; 11(7):e0159315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159315>
- Costa WJEM, Amorim PF. Delimitation of cryptic species of Notholebias, a genus of seasonal miniature killifishes threatened with extinction from the Atlantic Forest of south-eastern Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). Ichthyol Explor Freshw. 2013; 24(1):63–72.
- Costa WJEM, Amorim PF, Mattos JLO. Molecular phylogeny and timing of diversification in South American Cynolebiini seasonal killifishes. Mol Phylogenet Evol. 2017; 116:61–68. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.07.020>
- Costa WJEM, Leal F. Egg surface morphology in the Neotropical seasonal killifish genus Leptolebias (Teleostei: Aplocheiloidei: Rivulidae). Vertebr Zool. 2009; 59(1):25–29. <https://doi.org/10.3897/vz.59.e30942>
- Drawert HA. A new species of the seasonal killifish genus Moema (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from the Piraí watershed in the Southwest Amazon basin. Neotrop Ichthyol. 2022; 20(4):e220067. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0067>
- Egler C, Nielsen D, Lira FO, Gusmão F. A expansão urbana do Rio de Janeiro e o peixe das nuvens. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio; 2020.
- Fricke R, Eschmeyer WN, Van der Laan R. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references [Internet]. San Francisco: California Academy of Science; 2023. Available from: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
- Froese R. Cube law, condition factor, and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. J Appl Ichthyol. 2006; 22(4):241–53. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x>
- Furness AI. The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. Biol Rev. 2016; 91(3):796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>
- García G, Gutiérrez V, Vergara J, Calviño P, Duarte A, Loureiro M. Patterns of population differentiation in annual killifishes from the Paraná–Uruguay–La Plata Basin: the role of vicariance and dispersal. J Biogeogr. 2012; 39(9):1707–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2012.02722.x>
- Gonçalves CS, Souza UP, Volcan MV. The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish Cynopoecilus melanotaenia (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. Neotrop Ichthyol. 2011; 9(1):191–200. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011000100019>
- Godoy RS, Lanés LEK, Castro BD, Weber V, Wingen N, Pires MM et al. Oxidative stress resistance in a short-lived Neotropical annual killifish. Biogerontology. 2020; 21:217–29. <https://doi.org/10.1007/s10522-019-09855-w>

- Guedes GHS, Salgado FLK, Uehara W, Ferreira DLP, Araújo FG. The recapture of *Leptopanchax opalescens* (Aplocheiloidei: Rivulidae), a critically endangered seasonal killifish: habitat and aspects of population structure. *Zoologia*. 2020; 37:1–08. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e54982>
- Guedes GHS, Gomes ID, Nascimento AA, Azevedo MCC, Souto-Santos ICA, Buckup PA et al. Reproductive strategy of the annual fish *Leptopanchax opalescens* (Rivulidae) and trade-off between egg size and maximum body length in temporary wetlands. *Wetlands*. 2023; 43:29. <https://doi.org/10.1007/s13157-023-01680-9>
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI – Peixes. Brasília: ICMBio/MMA; 2018.
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Lista oficial de espécies da fauna e flora brasileira ameaçadas de extinção. Portaria MMA nº 148, 7 June 2022. Brasília; 2022. Available from: [https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P\\_mma\\_a\\_148\\_2022\\_altera\\_anexos\\_P\\_mma\\_443\\_444\\_445\\_2014\\_atualiza\\_especies\\_ameacadas\\_extincao.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_a_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf)
- Ishimatsu A, Van Mai H, Martin KLM. Patterns of fish reproduction at the interface between air and water. *Integr Comp Biol*. 2018; 58(6):1064–85. <https://doi.org/10.1093/icb/icy108>
- Joly CA, Metzger JP, Tabarelli M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. *New Phytol*. 2014; 204(3):459–73. <https://doi.org/10.1111/nph.12989>
- Lanés LEK, Keppeler FW, Maltchik L. Abundance, sex-ratio, length-weight relation, and condition factor of non-annual killifish *Atlantirivulus riograndensis* (Actinopterygii: Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Lagoa do Peixe National Park, a Ramsar Site of Southern Brazil. *Acta Ichthyol Piscat*. 2012; 42(3):277–52. <https://doi.org/10.3750/AIP2011.42.3.09>
- Le Cren ED. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J Anim Ecol*. 1951; 20(2):201–19. <https://doi.org/10.2307/1540>
- Lira FO. A retórica da perda da Mata Atlântica nos lamentos dos peixes das nuvens ou do nosso dilema do Tilacino. *O ECO*; 2021.
- Loureiro M, Sá RO, Serra SW, Alonso F, Lanés LEK, Volcan MV et al. Review of the family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a molecular and morphological phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa, 1998. *Neotrop Ichthyol*. 2018; 16(3):1–20. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>
- Podrabsky JE, Riggs CL, Wagner JT. Tolerance of environmental stress. In: Berois N, García G, Sá RO, editors. *Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. Boca Ratón: CRC Press; 2016. p. 160–80.

- Polačik M, Podbrabsky JE. Temporary environments. In: Riesch R, Plath M, Tobler M, editors. *Extremophile fishes – Ecology and evolution of teleosts in extreme environments*. New York: Springer; 2016. p. 217–45.  
<https://www.springer.com/gp/book/9783319133614>
- QGIS Development Team. QGIS geographic information system. Chicago, IL: Open Source Geospatial Foundation Project; 2022. Available from: <http://qgis.osgeo.org>
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing, version 4.2.2. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2022. Available from: <https://www.r-project.org/>
- Rizzo E, Bazzoli N. Reproduction and embryogenesis. In: Baldisserotto B, Urbinati EC, Cyrino JEP, editors. *Biology and physiology of freshwater neotropical fish*. UK: Academic Press; 2020. p. 287–313. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00013-0>
- Rollinson N, Hutchings JA. Environmental quality predicts optimal egg size in the wild. *Am Nat*. 2013; 182(1):76–90. <https://doi.org/10.1086/670648>
- Riesch R, Plath M, Schlupp I, Tobler M, Brian LR, Gaillard JM. Colonization of toxic environments drives predictable life-history evolution in live-bearing fishes (Poeciliidae). *Ecol Lett*. 2014; 17(1):65–71. <https://doi.org/10.1111/ele.12209>
- Santi F, Vella E, Jeffress K, Deacon A, Riesch R. Phenotypic responses to oil pollution in a poeciliid fish. *Environ Pollut*. 2021; 290:118023. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118023>
- Silva GG, Weber V, Green AJ, Hoffmann P, Silva VS, Volcan MV et al. Killifish eggs can disperse via gut passage through waterfowl. *Ecology*. 2019; 100(11):e02774. <https://doi.org/10.1002/ecy.2774>
- Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza (SNUC). Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza. Lei nº 9.985, 18 July 2000. Brasília; 2000. Available from: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9985.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9985.htm)
- Smith CC, Fretwell SD. The optimal balance between size and number of offspring. *Am Nat*. 1974; 108(962):499–506. <https://doi.org/10.1086/282929>
- Souza CM Jr., Shimbo JZ, Rosa MR, Parente LL, Alencar AA, Rudorff BFT et al. Reconstructing three decades of land use and land cover changes in Brazilian biomes with landsat archive and earth engine. *Remote Sens*. 2020; 12(17):2735. <https://doi.org/10.3390/rs12172735>
- Thompson AW, Furness AI, Stone C, Rade CM, Ortí G. Microanatomical diversification of the zona pellucida in aplocheiloid killifishes. *J Fish Biol*. 2017; 91(1):126–43. <https://doi.org/10.1111/jfb.13332>
- Volcan MV, Fonseca AP, Robaldo RB. Reproduction of the threatened Annual Killifish *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), confined in a natural environment. *J Threat Taxa*. 2011; 3(6):1864–67. <https://doi.org/10.11609/JoTT.o2575.1864-7>

- Volcan MV, Gonçalves AC, Guadagnin DL. Body size and population dynamics of annual fishes from temporary wetlands in Southern Brazil. *Hydrobiologia*. 2019; 827:367–78. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3789-3>
- Wourms JP, Sheldon H. Annual fish oogenesis: II. Formation of the secondary egg envelope. *Dev Biol*. 1976; 50(2):355–66. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(76\)90157-3](https://doi.org/10.1016/0012-1606(76)90157-3)

## CONCLUSÕES FINAIS

Essa tese investigou como escolhas de escala e vetores antrópicos contemporâneos reconfiguram padrões de diversidade, endemismo e ameaças dos peixes-anuais, e como essa evidência pode ser traduzida em critérios operacionais para tornar a conservação mais efetiva e executável.

Em termos de originalidade, esta tese avança em múltiplos eixos. (1) Apresenta a avaliação geograficamente mais abrangente já realizada para Rivulidae com ciclo de vida anual, ao incluir todas as espécies com esse ciclo de vida na Região Neotropical (Capítulo 1) e no Brasil (Capítulo 2). Embora o elevado endemismo do grupo seja amplamente reconhecido, a abordagem multiescalar adotada permitiu, pela primeira vez, quantificar em que nível espacial (HydroBASINS: BL9) esse padrão se expressa com maior intensidade, fornecendo uma base comparável para delimitação de áreas prioritárias e inferências biogeográficas. (2) Incorpora e dimensiona vetores de impacto antrópico até então não mensurados e/ou pouco discutidos no contexto de rivulídeos e de seus habitats, com destaque para incêndios florestais (Capítulo 2), poluição plástica (Capítulo 4) e mudanças no uso e cobertura do solo (Capítulo 6), ampliando o escopo das ameaças consideradas e produzindo evidências diretamente aplicáveis à avaliação de risco e ao planejamento de mitigação. (3) Reúne dados biológicos e ecológicos detalhados inéditos para espécies ameaçadas de extinção (Capítulos 5 e 6), contribuindo para reduzir lacunas críticas de história natural relevantes à conservação. (4) Integra, de forma sistemática, evidências do licenciamento ambiental (inventários e planos de mitigação) para avaliar como Rivulidae têm sido amostrados, interpretados e manejados no Estado do Rio de Janeiro e, a partir desse diagnóstico, propõe recomendações práticas e critérios operacionais para consultores e órgãos ambientais (Capítulo 3).

Em termos de reprodutibilidade, essa tese usa sempre a melhor informação disponível no momento. As decisões analíticas e interpretações apresentadas ao longo dos capítulos partem do estado da arte acessível durante o desenvolvimento do trabalho, sem esperar por um cenário ideal de dados “perfeitos” que raramente existem em ecologia, biogeografia e conservação. Nenhum capítulo é tratado aqui como “ponto final” de um tema, mas como uma contribuição situada no tempo, que organiza evidências, testa hipóteses e explicita incertezas, sempre abrindo espaço para refinamentos futuros. As lacunas, fragilidades e limitações não são ocultadas nos capítulos: são tratadas explicitamente como elementos que estruturam o próprio argumento. A tese se apoia firmemente nos valores da ciência aberta (*Open Science*). Sempre que possível, os dados, metadados, scripts e rotinas de análise foram disponibilizados *on-line*, permitindo conferência independente, reuso responsável e reprodutibilidade. A ciência aberta não é tratada aqui como adorno, mas como infraestrutura para fortalecer a credibilidade dos resultados, facilitar a colaboração e

reduzir barreiras para que outros pesquisadores testem, critiquem, reutilizem e expandam as conclusões. Adicionalmente, esta tese adota uma posição explícita sobre o uso responsável e transparente de ferramentas de inteligência artificial. A IA foi empregada nessa tese estritamente como instrumento de apoio, especialmente para correções linguísticas, traduções, aprimoramento da clareza de expressão e suporte à busca e organização de literatura, e nunca como substituta do julgamento científico, da análise crítica, da curadoria de dados ou da autoria intelectual.

Em termos de aplicabilidade, esta tese não trata a aplicação como um fetiche, mas como uma necessidade imposta pelo contexto brasileiro: um país em desenvolvimento, marcado por forte assimetria social e por limitações crônicas de recursos para pesquisa, monitoramento e gestão ambiental. Nesse cenário, instrumentos de diagnóstico e tomada de decisão precisam ser, simultaneamente, cientificamente robustos e operacionalmente viáveis. O Capítulo 1 contribui para reduzir essa arbitrariedade ao oferecer um arcabouço conceitual e empírico para orientar a seleção de escalas em avaliações de ameaça alinhadas aos critérios da IUCN, aumentando a transparência e a consistência do processo. No Capítulo 2, a aplicabilidade se estende ao manejo de pressões ambientais ao apresentar recomendações direcionadas para mitigar impactos do fogo, incluindo: fortalecimento de brigadas em áreas propensas a ignições naturais; intensificação da fiscalização e revisão de práticas agropecuárias em zonas dominadas por queimas antrópicas; e delimitação criteriosa de áreas para queimadas preventivas, com exclusão explícita de áreas úmidas temporárias com ocorrência de rivulídeos. Por fim, no Capítulo 3, é proposto um arcabouço aplicado para aprimorar o licenciamento ambiental em áreas de ocorrência de Rivulidae, com recomendações práticas a órgãos ambientais e consultorias para qualificar o desenho amostral, reduzir falsas ausências, aumentar a transparência metodológica e priorizar medidas de mitigação *in situ* ao invés de translocação.

Ao estabelecer uma ponte entre disciplinas transversais (ecologia, biogeografia e biologia da conservação), diferentes atores (pesquisa, órgãos ambientais, consultores), abordagens multi-escalas (Região Neotropical, Brasil, Estado do Rio de Janeiro), longos períodos (1985-2024), espécies ameaçadas (até 159 spp), teoria e aplicação, esta tese avança no sentido de tornar a conservação mais “executável”, ao traduzir evidências ecológicas e biogeográficas em critérios operacionais para planejamento territorial, monitoramento e tomada de decisão. Ela reforça um ponto crítico: conservar habitats efêmeros e espécies sazonalmente “invisíveis” depende de diagnósticos robustos e decisões antecipatórias, construídas de forma multidisciplinar e coordenada entre múltiplos atores, para que o conhecimento científico se converta em prática antes que perdas silenciosas se tornem irreversíveis.