

ISSN 0102-9568

Bioikos

Volume 22 | Número 2
Julho - Dezembro • 2008



PUC
CAMPINAS
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA

BIOIKOS

Revista semestral da Faculdade de Ciências Biológicas do Centro de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Fundada em 1987, publica trabalhos científicos originais, artigos de revisão e comunicações científicas relacionados às diversas áreas da Biologia, em especial Botânica, Ecologia, Recursos pesqueiros e Zoologia, da comunidade nacional e internacional.

BIOIKOS is a biannual journal of the Biological Sciences School of the Life Sciences Center, Pontifícia Universidade Católica de Campinas. It was founded in 1987 and publishes from Brazil and around the world original scientific studies, review articles and scientific communications related to many areas of Biology, mainly Botany, Ecology, Fishing Resources and Zoology.

COLABORAÇÕES / CONTRIBUTIONS

Os manuscritos (um original e três cópias) devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV e seguir as "Instruções aos Autores", publicadas no final de cada fascículo.

All manuscripts (the original and three copies) should be sent to the Núcleo de Editoração SBI/CCV and should comply with the "Instructions for Authors", published at the end of each issue.

ASSINATURAS / SUBSCRIPTIONS

Pedidos de assinatura ou permuta devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Anual: Pessoas físicas: R\$30,00 Institucional: R\$50,00
Aceita-se permuta

Subscription or exchange orders should be addressed to the Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Annual: Individual rate: R\$30,00 Institutional rate: R\$50,00

Exchange is accepted

CORRESPONDÊNCIA / CORRESPONDENCE

Toda a correspondência deve ser enviada à Bioikos no endereço abaixo:

All correspondence should be sent to Bioikos at the address below:

Núcleo de Editoração SBI/CCV

Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama 13060-904, Campinas, SP, Brasil.

Fone +55-19-3343-6876/6859 Fax +55-19-3343-6875

E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br

Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/ccv>

INDEXAÇÃO / INDEXING

Aquatic Sciences & Fisheries Abstracts (ASFA), CAB Abstracts and Global Health, Periódica

LISTA QUALIS

A Nacional

Editora / Editor

Profa. Dra. Luiza Ishikawa Ferreira (PUC-Campinas)

Editora Adjunta / Assistant Editor

Profa. Dra. Luciane Kern Junqueira (PUC-Campinas)

Editores Associados / Associate Editors

Dr. José Roberto Miranda (Embrapa - Campinas)

Prof. Dr. Paulo de Tarso da Cunha Chaves (UFPR - Curitiba)

Editora Executiva / Executive Editor

Profa. Maria Cristina Matoso (SBI-PUC-Campinas)

Conselho Editorial / Editorial Board

Prof. Dr. Adauto Ivo Milanez (Instituto de Botânica - São Paulo)

Profa. Dra. Ana Lúcia Vendel (UFPB - João Pessoa)

Profa. Dra. Carminda da Cruz-Landim (Unesp - Rio Claro)

Profa. Dra. Célia Leite Sant'Anna (Instituto de Botânica - São Paulo)

Prof. Dr. Edmundo Ferraz Nonato (USP - São Paulo)

Profa. Dra. Elena Maria de Oliveira Diehl (Unisinos - São Leopoldo)

Profa. Dra. Elizabeth Höfling (USP - São Paulo)

Profa. Dra. Eunice da Costa Machado (UFPR - Pontal do Paraná)

Prof. Dr. José Francisco Höfling (Unicamp - Campinas)

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas (Unicamp - Campinas)

Profa. Dra. Olga Yano (Instituto de Botânica - São Paulo)

Profa. Dra. Paula Maria Gênova de Castro (Instituto de Pesca - São Paulo)

Prof. Dr. Vadim Viviani (UFSCar - Sorocaba)

Profa. Dra. Virginia Sanches Uieda (Unesp - Botucatu)

Prof. Dr. Wesley Rodrigues Silva (Unicamp - Campinas)

Equipe Técnica / Technical Group

Normalização e Indexação / Standardization and Indexing

Maria Cristina Matoso

Editoração Eletrônica / DTP

Fátima Cristina de Camargo

O Conselho Editorial não se responsabiliza por conceitos emitidos em artigos assinados.

The Board of Editors does not assume responsibility for those opinions expressed in signed articles.

A eventual citação de produtos e marcas comerciais não expressa recomendação do seu uso pela Instituição.

The possible citation of products and brands does not express recommendation of the Institution for their use.

Copyright ©Bioikos

É permitida a reprodução parcial desde que citada a fonte. A reprodução total depende da autorização da Revista.

Partial reproduction is permitted if the source is cited. Total reproduction depends on the authorization of Bioikos.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas e Informação – SBI-PUC-Campinas

Bioikos. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Ciências Biológicas. – Campinas, SP, v.1 n.1 (jan./jun.1987-)

v.22 n.2 jul./dez. 2008

Semestral

Resumo em Português e Inglês

ISSN 0102-9568

1. Biologia – Periódicos. I. Pontifícia Universidade Católica de Campinas.

Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Ciências Biológicas.

CDD 574



Artigos | Articles

- 63 Ocorrência de juvenis de Serranidae nas regiões Sudeste e Sul do Brasil
Occurrence of juvenile serranids in the Southeast and Southern Regions of Brazil
• Luis Alberto Zavala-Camin
- 81 Crioconservação do sêmen da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*
Semen cryopreservation of the dusky grouper Epinephelus marginatus
• Eduardo Gomes Sanches, Idili da Rocha Oliveira, Pedro Carlos da Silva Serralheiro
- 91 Utilização de recursos alimentares presentes no ambiente antrópico pelo caramujo gigante africano
Achatina fulica Bowdich, 1822: subsídios para o manejo
Use of alimentary resources present in the anthropic environment by the giant African snail Achatina fulica
Bowdich, 1822: background information for management
• Marta Luciane Fischer, Leny Cristina Milléo Costa, Izabel Schneider Nering
- 101 Levantamento herpetofaunístico em uma localidade no município de Cacoal, Rondônia, Brasil
Herpetofaunistic survey in a location in the municipality of Cacoal, Rondônia, Brazil
• Luiz Carlos Batista Turci, Paulo Sérgio Bernarde
- 109 Avaliação do efeito do ácido pirolenhoso de três espécies arbóreas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick)
(Lepidoptera: Gelechiidae)
Evaluation of the effect of pyroligneous acid from three arboreal species on Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)
• Paulo César Bogorni, Vanessa Cordeiro Pansiera, José Djair Vendramim, Leandro do Prado Ribeiro, Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves-Gervásio, José Otávio Brito
- 117 Índices
Index
- 119 Instruções aos autores
Instructions for authors



ARTIGO | ARTICLE

Ocorrência de juvenis de Serranidae nas regiões Sudeste e Sul do Brasil

Occurrence of juvenile serranids in the Southeast and Southern regions of Brazil

Luis Alberto ZAVALA-CAMIN¹

RESUMO

Juvenis de Serranidae de 21 espécies foram coletados no Sudeste e no Sul do Brasil por diversos meios, desde coletas em estômagos de grandes peixes pelágicos capturados com espinhel até coletas com rede manual na beira da praia. Jovens e adultos foram utilizados para comparação na identificação. A presença de juvenis em estômagos de atuns e afins é um indicador das estratégias de algumas espécies costeiras de Serranidae em utilizar as águas tropicais da Corrente do Brasil como berçário, enquanto outras foram encontradas em estuários.

Palavras-chave: Conteúdo estomacal. Juvenis. Peixes pelágicos. Serranidae. Sudeste do Brasil.

ABSTRACT

Twenty one species of juvenile serranids were collected from the Southern and Southeastern regions of Brazil using several methods, some being collected from the stomachs of tuna and related species caught with longline fishing gear and others with manually operated nets at the beach. Both the young and adults were collected to aid comparison in identification. The presence of juveniles in the stomachs of tuna and related species reveals the reproductive strategy of some inshore serranid species in using the offshore tropical waters of the Brazilian Current as nursery grounds, while others were found in estuaries.

Key words: *Serranidae. Juveniles. Stomach contents. Fishing gear. Southeastern Brazil.*

¹ Universidade Santa Cecília, Curso de Ciências Biológicas. R. Osvaldo Cruz, 277, Boqueirão, 11045-907, Santos, SP, Brasil. E-mail: <zavalacamin@unisanta.br>.

INTRODUÇÃO

A família Serranidae é composta por aproximadamente 475 espécies, distribuídas em todos os mares tropicais e subtropicais do mundo. São encontradas desde a zona entre-marés, inclusive estuários, sobre a plataforma continental e início do talude (Heemstra *et al.*, 2003). Menezes *et al.* (2003) citam 49 espécies para o Brasil.

No Brasil, garoupas, badejos e chernes são muito procurados pela pesca comercial e esportiva, sendo objeto de importante pescaria na região de Abrolhos (Zavala-Camin & Puzzi, 1974; Paiva & Fonteles-Filho, 1995). No Sudeste e Sul do Brasil, chernes são capturados nas profundidades entre 100 e 700m (Tutui *et al.*, 2000). Por seu valor comercial há um crescente interesse pela piscicultura dessas espécies.

As larvas geralmente crescem em ambientes diferentes daqueles dos adultos, apresentando diversas estratégias para retornar e se fixar com êxito no hábitat definitivo. Enquanto adultos e jovens podem ser capturados com rede e anzol e larvas com rede de plâncton, juvenis não estão disponíveis a esses tipos de artes de pesca. O presente trabalho tem por objetivo descrever juvenis de Serranidae coletados no Sudeste e no Sul do Brasil e apresentar informações sobre as estratégias reprodutivas, afim de subsidiar a administração pesqueira e o melhor aproveitamento dessas espécies na piscicultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Juvenis foram coletados de estômagos de atum-amarelo (*Thunnus albacares*), dourado (*Coryphaena hippurus*), agulhão-vela (*Istiophorus albicans*) e agulhão-branco (*Tetrapturus albidus*), capturados com espinhel atuando até 90m de profundidade no sudeste/sul do Brasil (23°S - 34°S, de 1972 a 1985). Por se tratar de predadores que habitam a Corrente do Brasil (Zavala Camin, 1987) assume-se que as presas (juvenis) são principalmente provenientes das águas dessa corrente.

No litoral do estado de São Paulo (Ubatuba, Santos, Cananéia), juvenis foram capturados com pequenas redes. Larvas coletadas com rede de plâncton, a bordo do NPq Orion do Instituto de Pesca (SP), foram incluídas para complementar informações sobre anatomia e locais de distribuição no ambiente pelágico. Exemplares jovens e adultos foram coletados por diversos meios para obter dados comparativos necessários à identificação dos juvenis.

Denomina-se “juvenil” ao estágio de desenvolvimento pós-larval, quando as características anatômicas são diferentes das do jovem e do adulto. Essa forma é comum nas espécies cujos estágios iniciais de vida se desenvolvem em habitat diferente de onde vivem quando jovens e adultos.

A identificação de larvas, juvenis e adultos foi realizada de acordo com Cervigón & Velasquez (1966); Smith (1971); Kendall Jr (1979); Figueiredo & Menezes (1980); Johnson & Kener (1984); Kendall Jr (1984); Baldwin (1990) e Heemstra *et al.* (2003). A identificação em nível de família foi realizada de acordo com Gosline (1966), especialmente, observando-se os três espinhos no opérculo e os três espinhos na nadadeira anal. Alguns exemplares foram diafanizados pelo método de Taylor (1967): a massa muscular foi retirada de um lado do corpo, ou simplesmente foram corados com alizarina - para contagem de raios, vértebras e ossos pré-dorsais. Metade dos juvenis corresponde ao comprimento padrão (*standard length* - SL) e metade dos adultos ao comprimento total (*total length* - TL). A abreviatura “ce” significa exemplar proveniente de conteúdo estomacal.

As características utilizadas, quando observáveis, foram:

1) *Merísticas*: número de espinhos no opérculo. Número de raios das nadadeiras dorsal (D_1), anal (A) e peitoral (P_1). Número de rastros, incluindo rudimentos. Número de ossos pré-dorsais. Número de vértebras, pré-caudais e caudais. O número entre parênteses, após as contagens merísticas, indica o número de exemplares observados.

2) *Morfológicas*: procuraram-se caracteres diagnósticos de cada espécie mas, considerando que os exemplares coletados de estômagos em geral

estão semi-digeridos, algumas características podem ter se perdido. Ao mesmo tempo, outras características podem ter aparecido após a digestão de partes externas.

3) *Cor*: presença de melanóforos e manchas escuras no corpo e na parte superior do pedúnculo caudal. A cor do corpo foi observada somente nos exemplares frescos.

Juvenis em bom ou razoável estado de conservação foram depositados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Subfamília Serraninae

As espécies de Serraninae são em sua maioria de pequeno tamanho quando adultos (máximo 25cm) e apresentam escamas relativamente grandes. Na área estudada ocorrem cinco gêneros: *Dules*, *Diplectrum*, *Acanthistius*, *Serranus* e *Bathyanthias* (Figueiredo & Menezes, 1980). Foi a subfamília menos representada nas coletas, tendo sido encontrados somente juvenis de *Dules auriga* e *Serranus* spp.. A Tabela 1 apresenta caracteres merísticos de espécies coletadas para serem utilizadas como referência para identificação.

Dules auriga (Cuvier, 1829)

Material: 26 exemplares (42 a 108mm SL) coletados em arrastos de fundo entre as isóbatas

dos 30 a 120m. Um exemplar de 29mm SL foi coletado na isóbata dos 19 metros.

Diagnose: vértebras: 10+14=24 (5). Ossos pré-dorsais: 3 (3). No exemplar de 29mm SL (Figura 1A) a borda do preopérculo é finamente serrilhada, não se observou nenhum sinal de espinho no preopérculo. Nos exemplares de 29 a 42mm SL, o terceiro espinho da nadadeira dorsal é só ligeiramente mais comprido que os outros espinhos. A partir desse tamanho apresenta crescimento alométrico a filamentosos, chegando a atingir a nadadeira caudal nos adultos. O corpo possui com bandas escuras verticais.

Gênero *Serranus*

Fischer (1978) cita 14 espécies para o Atlântico ocidental e Menezes *et al.* (2003) citam sete para a área estudada. Suas características merísticas são semelhantes entre as espécies, sendo diferenciadas pelo colorido.

Material: seis exemplares (30 a 43mm SL) coletados de estômagos de *T. albacares*.

Diagnose: vértebras: 10+14=24 (3). Ossos pré-dorsais: 3(3). A borda posterior do preopérculo é finamente serrilhada, sem espinho no ângulo pósterior inferior. O quarto espinho da D₁ é o mais comprido dos dez (Figura 1B). Essas características não permitem a identificação até o nível de espécie.

Tabela 1. Caracteres merísticos de Serraninae coletados no Sudeste/Sul do Brasil. Somente *Serranus* spp. foi proveniente de conteúdo estomacal. 1972-1985.

Espécie	Comprimento mm SL	Raios				Rastros incluindo rudimentos
		n	D	A:III+	P ₁	
<i>Dules auriga</i>	54 - 108	24	X 13	7	17-18	4-7+10-11=14-16
<i>Dules auriga</i>	29 - 42	3	X 13	7	17-19	5-7+10-11=14-15
<i>Diplectrum formosum</i>	125 - 172	10	X 12	7	16-17	8-9+13-14=21-24
<i>Diplectrum radiale</i>	78 - 197	6	X 12	7	15-17	5-7+11=16-18
<i>Serranus</i> spp.	30 - 43	6	X 12-13	7	18	6-7+12-13=18-21
<i>Acanthistius brasiliensis</i>	176 - 240	2	XIII 16	8	16	6 - 14 = 20
<i>Acanthistius. patachonicus</i>	194	1	XIII 14	9	16	6 + 14 = 20

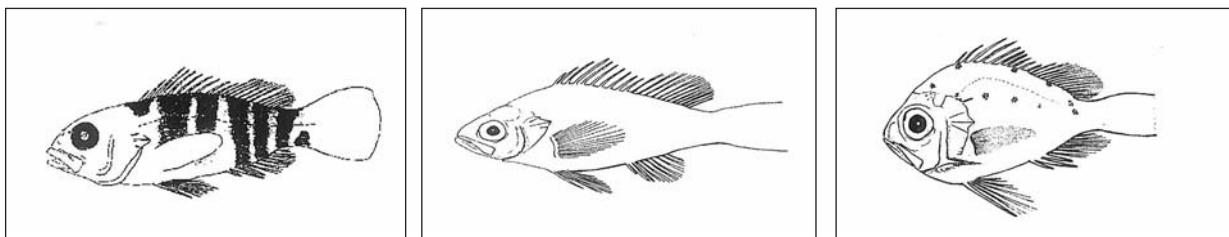
Nota: em negrito formas juvenis.

Subfamília Anthiinae

Quando adultos são de pequeno porte, com menos de 30cm, de cor amarela, rosa ou vermelha. Possui 26 vértebras com a linha lateral se estendendo junto à base da nadadeira dorsal; com dois ou três ossos pré-dorsais e espinhos das nadadeiras não serrilhados (Anderson & Heemstra, 1980). As espécies coletadas (*Anthias menezesi*, *Pronotogrammus*

martinicensis, *Hemanthias vivanus* e *Hemanthias leptus*) (Tabela 2) habitam o Atlântico ocidental entre 60 e 260m de profundidade (Figueiredo & Menezes, 1980; Matsuura, 1983). Segue-se a nomenclatura de Baldwin (1990).

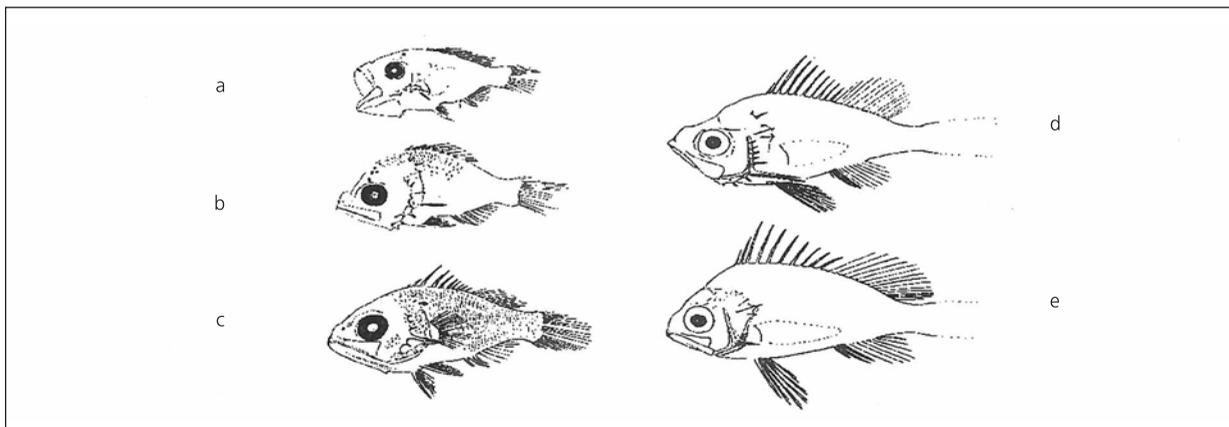
Larvas de *P. martinicensis* e *H. leptus* foram coletadas com rede de plâncton na posição 23°35'S - 41°10'W, às 16 horas do dia 22 de agosto de 1985,



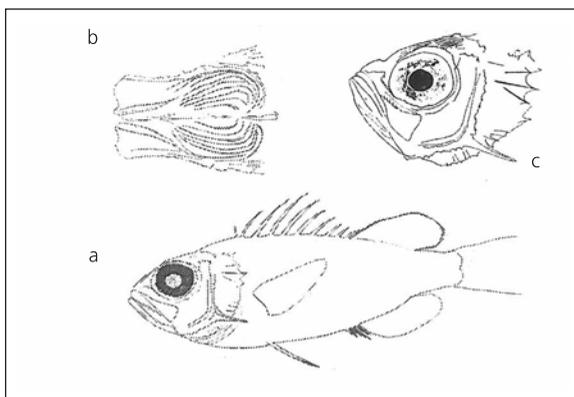
A - *Dules auriga*, 29mm SL

B - *Serranus* sp., 37mm SL

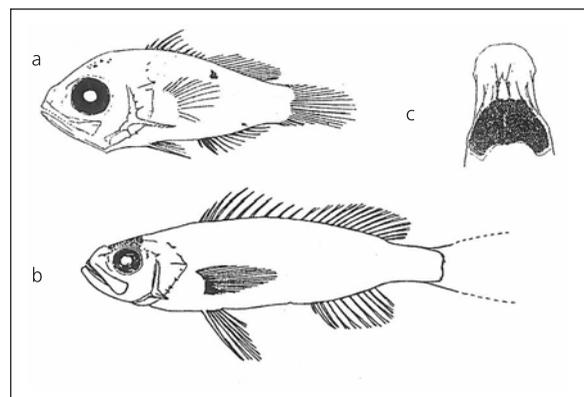
C - *Anthias menezesi*, 19mm SL



D - *Pronotogrammus martinicensis*: a) 4,6mm SL; b) 5,7mm; c) 6,1mm; d) 19mm; e) 21mm



E - *Hemanthias vivanus*: a) 32mm SL; b) vista dorsal do crânio; c) detalhe da cabeça



F - *Hemanthias leptus*: a) 6,5mm SL; b) 34mm SL; c) vista dorsal do crânio

Figura 1. A,B: Serraninae; C,D,E,F: Anthiinae.

Tabela 2. Caracteres merísticos de Anthiinae coletados no Sudeste/Sul do Brasil: Adultos provenientes da pesca comercial; jovem e juvenis de estômagos de atuns e afins e larvas coletadas com rede de plâncton. 1972-1985.

Espécie	Comprimento mm SL	n	Raios			Rastros
			D	A:III+	P ₁	
<i>Anthias menezesi</i>	151 - 193	14	X,14-15	7	17-19	42 - 45
Jovem	67	1	IX, 15	7	18	44
Juvenis	16,1 - 19,6	4	X, 15	7	17-19	38 - 41
<i>Pronotogrammus martinicensis</i>	52 - 132	41	IX-XI-14-15	7	16-17	35 - 39
Juvenis	8,8 - 32	69	X, 13-15	7	16-18	30 - 35
Larvas	4,6 - 6,3	4				
<i>Hemanthias vivanus</i>	102 - 137	3	X,13-14	8	18	41 - 43
Juvenis	28 - 32	6	X, 13	8	17	37 - 38
<i>Hemanthias leptus</i>	140 - 144	2	X, 14	8	17-18	38
Juvenis	17 - 34	12	X, 14 15	8	19-20	30 - 37
Larvas	6,5 - 8,7	3	X, 14	8		

a 30m de profundidade sobre a isóbata dos 1 700 metros. Jovens e adultos são provenientes da pesca comercial do pitu, *Metanephrops rubellu*, capturados com rede de arrasto a 160-200m de profundidade.

***Anthias menezesi* (Anderson & Heemstra, 1980)**

A espécie ocorre no Brasil, do Maranhão ao Rio Grande do Sul (Figueiredo & Menezes, 1980).

Material: quatro juvenis (16,1 a 19,6mm SL) e um jovem (67mm SL), coletados de estômagos de *T. albacares* e *C. hippurus*. O menor (16,1mm) foi coletado no mês de julho e os outros quatro no mês de novembro. Os 14 adultos (Tabela 1) foram coletados da pesca comercial.

Diagnose: corpo alto (48% a 51% do SL). A borda do supraorbital serrilhada (14-15 espinhos), com supraclitro de quatro espinhos, sendo o inferior mais desenvolvido. D: IX(1)-X(4), 15; A: III,7; P₁: 17-19; Rastros: 10-13+28-31=38-44. Vértex: 10+16=26 (1). Ossos pré-dorsais: 2 (1). Possui dez conjuntos de melanóforos na metade superior do corpo (Figura 1C).

***Pronotogrammus martinicensis* (Guichenot, 1868)**

Sinonímia: Até 1990, *Holanthias martinicensis* revisado por Baldwin (1990).

Ocorre no Atlântico ocidental do Golfo de México ao Rio Grande do Sul, com coletas até os 200m de profundidade (Figueiredo & Menezes, 1980).

Material: quatro larvas (4,6 a 6,3mm SL) e 69 juvenis (8,8 a 32mm SL) coletados de estômagos de *T. albacares*, *C. hippurus* e *I. albicans*. Outros 41 exemplares jovens e adultos foram coletados da pesca comercial.

Diagnose: corpo alto (0,33% a 0,38% SL nos juvenis e 0,35% a 0,39% nos adultos). O supraclitro possui três espinhos nas larvas de 5,7 e 6,1mm SL (Figuras 1D a, b, c), dois no juvenil de 8,8mm SL e rudimentos num juvenil de 20mm SL (Figura 1D d,e). Bordas livres do preopérculo e interopérculo fortemente serrilhadas nas larvas. Com aproximadamente 20mm SL as bordas ainda estão levemente serrilhadas, mas o espinho ainda estava presente em um exemplar de 32mm SL. D: X,15; A:III,7; P₁: 16-17. Rastros: 7-9+22-25=30-35; Vértex: 10+16=26(3); Ossos pré-dorsais: 2 (1).

***Hemanthias vivanus* (Jordan & Swain, 1884)**

Ocorre no Atlântico ocidental do Golfo de México ao Rio Grande do Sul, com capturas até 178m de profundidade (Figueiredo & Menezes, 1980).

Material: nove exemplares de 28 a 32mm SL, coletados de estômagos de *T. albacares* e *C. hippurus*, capturados no mês de novembro; três adultos coletados da pesca comercial (Tabela 2).

Diagnose: altura do corpo de 0,27% a 0,30% SL (igual nos adultos) (Figura 1E). Frontais possuem com rugosidades formando linhas que não se cruzam com contornos circulares. Crista supraorbital serrilhada. Os espinhos das nadadeiras são lisos, mas a P_2 é ligeiramente ondulada, sugerindo que já foi serrilhada. Zigapófise hemal da primeira vértebra caudal sem pré-zigapófises (4). D: X,13-14; A: III,8; P_1 : 16-18; Rastros: 10-11+15-16=26. Vértebras: 10+16=26 (3), um exemplar com 11+15=26. Ossos predorsais: 2 (1).

***Hemanthias leptus* (Ginsburg, 1952)**

Matsuura (1983) cita sua distribuição do Golfo do México até o Suriname e Menezes *et al.* (2003) não o citam no Brasil.

Material: três larvas (6,5 a 8,7mm SL) e 12 juvenis (17 a 34mm SL) coletados de estômagos de *C. hippurus*, *T. albacares* e *I. albicans*. Dois adultos capturados ao largo do estado de São Paulo a 200m de profundidade (Tabela 2).

Diagnose: altura do corpo nas larvas é de 6,5 a 8,7mm (0,36% a 0,40% SL), nos juvenis 0,30% e nos adultos de 0,30% a 0,31%. Crista supraorbital lisa. O supracleitro com espinhos ocorreu somente nas larvas (Figura 1F a). O frontal dos juvenis possui aparência rugosa (Figura 1F b,c), os espinhos das nadadeiras são lisos e a zigapófise hemal da primeira vértebra caudal possui duas pré-zigapófises. D: X, 14-15; A: III,8; P_1 : 19-21; Rastros: 8-10+19-27=27-37 (27 no exemplar de 17mm e 37 no de 34mm). Vértebras: 10+16=26. Ossos pré-dorsais: 2 (1). A rugosidade do frontal e a presença de pré-zigapófise na primeira vértebra caudal são diagnósticas para a espécie, confirmando sua presença no Brasil.

Subfamília Epinephelinae

Menezes *et al.* (2003) citam 19 espécies para o Brasil, das quais *Epinephelus mystacinus* tem distribuição Sul até a Bahia.

Juvenis foram coletados nas águas da Corrente do Brasil em estômagos de atuns e afins e no litoral com pequenas redes. Não foram encontrados juvenis de *Dermatolepis inermis* nem de *Mycteroperca tigris*. Exemplares jovens e adultos (Tabela 3) foram utilizados para comparação. Uma larva de Epinephelinae foi encontrada no estômago de um atum, reforçando a observação de que iniciam sua vida no ambiente epipelágico.

***Paranthias furcifer* (Valenciennes, 1828)**

Cresce até 35cm FL. Ocorre no Atlântico ocidental da Flórida até São Paulo, e nas ilhas Bermudas, Ascensão, Príncipe, São Tomé e Annobon (as três últimas no Golfo da Guiné), até profundidades de 64m (Heemstra *et al.* 2003).

Material: 155 exemplares de 26 a 49mm SL, coletados de estômagos de *T. albacares* de setembro a dezembro.

Diagnose (de 27 exemplares): D_1 :IX (o segundo espinho é o maior); D_2 : 17-19; segundo e terceiro espinhos da nadadeira anal possui igual comprimento; espinho da P_2 é liso. Rastros: 33-37. Supraorbital liso e a nadadeira caudal é bilobada (Figura 2A).

***Cephalopholis fulva* (Linnaeus, 1758) "pirauna"**

Cresce até 37cm TL, sendo que as fêmeas maturam aos 16cm CT e se transformam em machos aos 20cm TL. Ocorre no Atlântico ocidental da Carolina do Sul ao sul do Brasil, incluindo as Bermudas, até 45m de profundidade (Heemstra *et al.* 2003). No Sudeste do Brasil é rara, mas é frequente no Nordeste, na ilha Fernando de Noronha e no Atol das Rocas. Também ocorre na ilha Trindade.

Material: 274 exemplares de 29 a 35mm SL, coletados de estômagos de *T. albacares* durante setembro e outubro.

Diagnose (de nove exemplares): D_1 :IX (segundo espinho o maior); D_2 : 15-16 (Figura 2B); Rastros: 22-25.

Tabela 3. Comprimentos e caracteres merísticos dos Epinephelinae que ocorrem no Sudeste do Brasil. 1972-1985.

Espécie	Comprimento mm SL	n	D	Raios		Rastros
				A:III+	P ₁	
<i>P. furcifer</i>	190-280		IX,17-18	8-10	19-20	12-14+24-26=38
A+J	195-253	8	IX,17-18	9	19-21	11-13+24-26=35-38
de estômago	26-49	155	IX,17-19	8-9	20-21	10-12+22-26=33-37
<i>A. afer</i>	130-220		XI,17-19	9	16-17	6-8+16-17=22-25
A+J	89-116	2	XI,17-19	9	15-16	6+17=23
de estômago	29 - 33	181	XI,18-19	9	17-18	5-6+15-17=20-22
<i>D. inermis</i>			XI,18-20	8-10	18-19	=19-22
<i>C. fulva</i>	100-250		IX,14-16	9	17-19	7-9+16-18=23-27
A+J	183-246	13	IX,14-17	8-9	16-19	8-10+16-18=24-28
de estômago	29 - 35	274	IX,15-16	9	18-20	7-9+15-18=22-25
<i>E. nigritus</i>	110-580		X,13-15	9	18-19	9-11+14-16=23-25
A+J	320-1350	5	X,14	9	17	4-7+15-16=19-24
juvenis	22	1	X,16	8	18	6+14=20
<i>E. itajara</i>	100-1600		XI,15-16	8	18-19	8-9+13-15=21-24
A+J						
juvenis	17	1	XI,16	8	18	6+14=20
<i>E. adscensionis</i>	130-270		XI,16-18	8	18-20	7-9+16-19=23-28
A	180-203	4	XI,17-18	8	18	8-9+17-18=25+27
de estômago	35	1	XI, 18	8	17	7+19=26
<i>E. marginatus</i>	150-620		XI,14-16	8-9	17-19	7-10+14-16=22-25
A+J	180-255	4	XI, -16	8-9	17-18	7-8+15-16=21-23
juvenis	17-98	51	XI,14-16	8-9	17-18	7-8+13-16=20-24
<i>E. morio</i>	130-260		XI,16-17	8-10	16-18	8-9+15-16=23-25
A+J	180-310	5	XI,16-17	9-10	16	6-9+14-16=20-24
juvenis	20- 34	8	XI,16-18	9-10	17	7-8+14-15=21-23
<i>E. flavolimbatus</i>	130-380		XI,13-15	9	17-18	8-9+15-17=23-25
A+J	162-540	4	XI,13-14	9	16-17	7-8+14-16=21-24
de estômago	18-38	23	XI,13-14	9	18	6-8+14-16=20-22
<i>E. niveatus</i>	100-380		XI,13-15	9	17-19	7-10+15-17=23-25
A+J	155-480	7	XI,13-14	9	16-18	7-9+15-16=23-25
juvenis	23-111	22	XI,13-14	9	17-18	7-9+15-17=22-25
de estômago	14-24	14	XI,15	9	17	
<i>M. acutirostris</i>	100-340	13	XI,15-17	10-12	15-17	16-20+32-36=48-55
A+J	108-210	3	XI,16	11	16	15-19+31-35=49-53
juvenis	16-39	31	XI,15-17	10-12	15-17	11-16+28-33=40-49
<i>M. microlepis</i>	120-420		XI,16-18	10-12	16-18	8-9+16=24-25
A+J	136-295	3	XI,17-18	11-12	16	7-9+15-16=23-25
juvenis	19-68	5	XI,16-18	11-12	15-16	6-8+14-15=20-23
<i>M. interstitialis</i>	220-650		XI,16-18	10-12	16-17	7-9+14-18=23-27
A+J	105-255	2	XI,14-16	11	16-19	7-8+15-16=22-24
juvenis	17-76	40	XI,16	11	17-18	6-9+13-16=19-25
<i>M. bonaci</i>	150-590		XI,15-17	11-13	16-17	2-5+8-12=
A+J	251-350	6	XI,16-18	12-13	16-17	5-9+10-13=17-20
juvenis	31-49	7	XI,17	11-13	16-17	6-8+14-17=20-25
de estômago	20-23	3	XI,17-18	11-12	17-18	5-6+13-14=18-20
<i>M. venenosa</i>	150-540		XI,15-16	10-12	16-18	8-10+17-18=24-27
A+J	213-315	6	XI,16	11	16-17	7-10+11-14=19-23
de estômago	22-23	2	XI,16	11	18	7+18=25
<i>M. tigris</i>	25-600		XI,15-17	11	17	8+15=23-25
A.	36-37	2	XI,			

Nota: Em negrito: dados de Heemstra & Randall (1993) (mm TL); A+J: dados de adultos e jovens coletados na área (mm TL); juvenis coletados com rede (mm SL) e dados de juvenis coletados de estômagos.

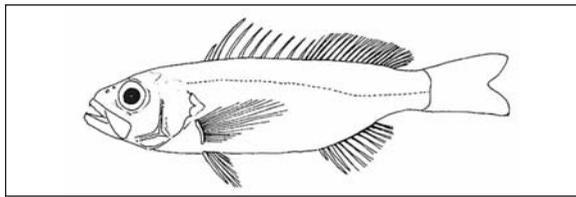
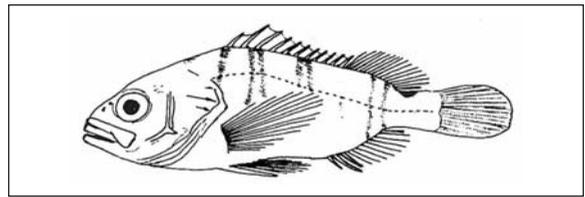
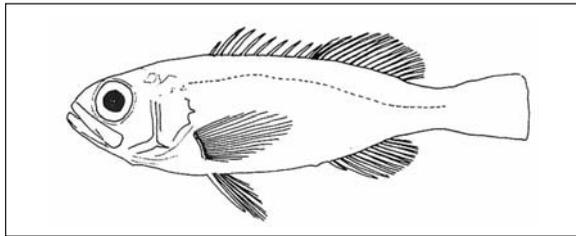
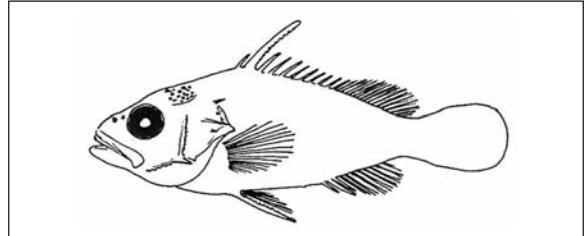
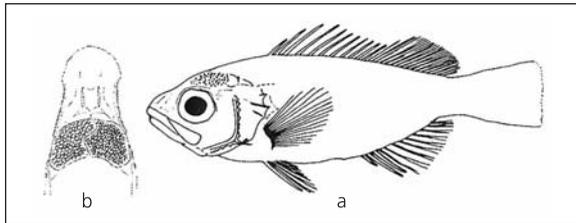
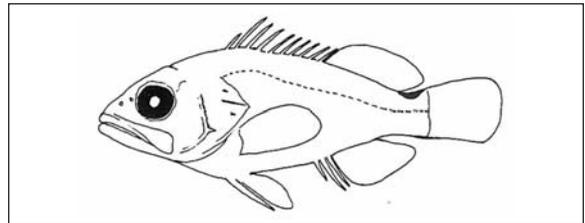
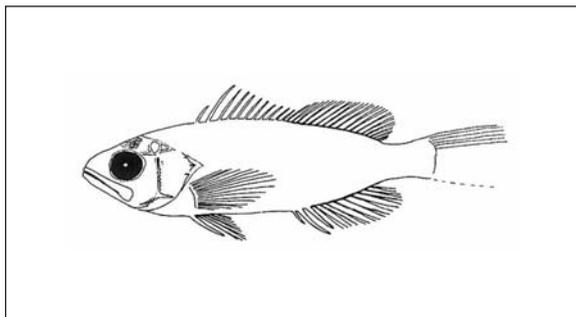
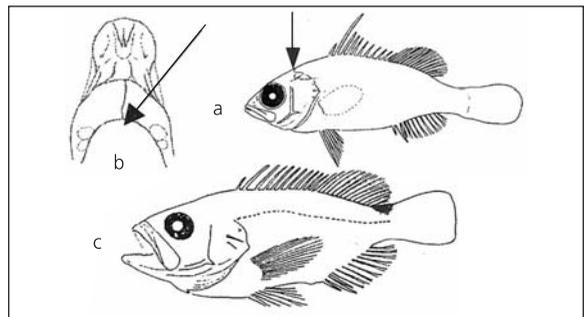
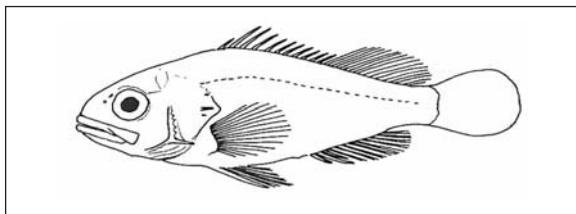
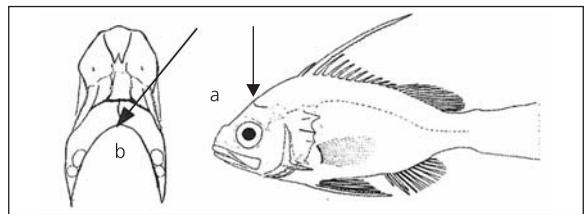
A - *Paranthias furcifer*F - *Epinephelus marginatus*B - *Cephalopholis fulva*G - *Epinephelus itajara*C - *Alphestes afer*H - *Epinephelus nigritus*D - *Epinephelus adscensionis*I - *Epinephelus niveatus*E - *Epinephelus morio*J - *Epinephelus flavolimbatus*

Figura 2. Juvenis de Epinephelinae (exceto *Mycteroperca*) encontrados no Sudeste e Sul do Brasil. **A:** *Paranthias furcifer* 39mm SL (ce. setembro, 1976); **B:** *Cephalopholis fulva*, 32mm SL (ce. 29-IX-76); **C:** *Alphestes afer*, **a)** 31mm SL (ce. setembro, 1976); **b)** vista dorsal do crânio, 28mm SL (ce. setembro 1976); **D:** *Epinephelus adscensionis*, 35mm SL (ce.- outubro 1977); **E:** *Epinephelus morio*, 24,7mm SL (10-XI-86); **F:** *Epinephelus marginatus*, 24,7mm SL (10-XII-86); **G:** *Epinephelus itajara*, 17mm SL (26-I-94); **H:** *Epinephelus nigritus*, 22mm SL (18-XII-89); **I:** *Epinephelus niveatus*: **a)** 24mm SL forma pelágica (ce. novembro 1977) a seta indica a posição da parte posterior da sínfise dos frontais; **b)** Vista superior do crânio (24mm SL) e **c)** 34mm SL forma costeira (18-XII-89); **J:** *Epinephelus flavolimbatus*: **a)** 24,5mm SL (ce. janeiro, 1973) a seta indica a posição da parte posterior da sínfise dos frontais e **b)** vista superior do crânio (34mm SL).

***Alphestes afer* (Bloch, 1793) "garoupa-gato"**

Cresce até 33cm TL. Ocorre no Atlântico ocidental, inclusive Bermudas, até 45m de profundidade (Heemstra & Randall, 1993).

Material: 181 exemplares, de 29 a 33mm SL, coletados de estômagos de *T. albacares* em setembro.

Diagnose (de oito exemplares): Frontais possuem aparência rugosa (Figuras 2C a, b), com a união de seus dois ossos frontais formando uma linha sinuosa (Figura 2C b). A crista supraorbital é serrilhada. D_1 :XI (o quarto espinho é o maior) não serrilhados; D_2 : 18-19; A:III,9 (segundo e terceiro espinhos de igual comprimento) não serrilhados; espinho da P_2 serrilhado; Rastros: 20-22.

***Dermatolepis inermis* (Valenciennes, 1833) "garoupa-da-Trindade"**

Não foi coletado nenhum exemplar.

Cresce até 90cm TL e 10kg. Ocorre no Atlântico ocidental, da Carolina do Norte ao Rio de Janeiro, até profundidades de 213m (Heemstra *et al.* 2003). É considerada muito rara, mas já foi observada no Atol das Rocas (Faria & Silva, 1937).

Johnson & Keener (1984) consideram a larva de *D. inermis* parecida com a de *A. afer*, mas *D. inermis* não apresenta a rugosidade nos parietais.

***Epinephelus adscensionis* (Osbeck, 1765) "garoupa-pintada"**

Cresce até 60cm TL e 3kg, sendo que as fêmeas maturam aos 25cm TL. Ocorre no Atlântico ocidental, de Massachusetts a São Paulo, e nas ilhas Bermudas, Ascensão, Santa Helena e São Tomé, em profundidades de até 100m (Heemstra *et al.* 2003).

Material: um exemplar de 35mm SL, (Figura 2D) coletado de estômago de atum capturado em outubro de 1977, entre os paralelos 23°18'S e 25°48'S.

Diagnose: D_1 :XI (o segundo espinho é o maior); A:III,8 (segundo espinho ligeiramente serrilhado; segundo e terceiro espinhos de igual comprimento); P_1 : 17. Rastros: 7+19=26.

Sem jovens para comparar, a identificação desse exemplar foi realizada pela semelhança de caracteres merísticos com o dos adultos e por exclusão em relação a diversos caracteres dos outros Epinephelinae.

Por meio da contagem de raios (Tabela 2), A:III,8, exclue o gênero *Mycteroperca*; D_1 :XI, exclui *P. furcifer*, *C. fulva* e *E. nigritus*; D_2 :18 exclui *E. niveatus*, *E. flavolimbatus*, *E. marginatus* e *E. itajara*. *D. inermis* tem A:III,9 e 19-22 rastros. Restam *A. afer* e *E. morio* com contagens semelhantes: *A. afer* tem a D_1 com o quarto espinho mais comprido (Figura 2C a) e crânio rugoso (Figura 2C b); *E. morio* tem 14-15 rastros no ramo inferior, contra 19 no exemplar estudado e 17-18 nos adultos observados (Tabela 3). Também há diferenças na borda do preopérculo, sendo mais serrilhada e com o espinho mais comprido do que no exemplar de 34mm SL de *E. morio*, embora essa característica seja típica nos exemplares que ainda têm vida pelágica.

***Epinephelus morio* (Valenciennes, 1828) "garoupa-São-Tomé"**

Cresce até 90cm TL, com 14,7kg e vive até 25 anos. As fêmeas apresentam gônadas maduras aos 40-50cm TL; ocorre no Atlântico ocidental, inclusive nas ilhas Bermudas, até 300m de profundidade (Heemstra *et al.* 2003). Moe (1969) observou que *E. morio* desova no início da primavera no Golfo do México, em locais com profundidades de 25 a 90m. Estimou que o estágio pelágico ocorre até 20 a 25mm SL, o que corresponde entre 30 e 40 dias de idade, para logo migrar a águas rasas.

Material: oito exemplares de 20,5 a 34mm SL coletados no litoral de Santos e Ubatuba em novembro e dezembro. (Figura 2E).

Diagnose: D_1 :XI (o segundo espinho é o maior); A: III,9 (segundo e terceiro espinhos de igual

comprimento; um exemplar com III,10); o espinho da P₂ é serrilhado. Rastros: 21-23.

Cor: corpo bege ou oliva-claro, com cauda amarelada. No exemplar de 34mm SL a cor bege do corpo se torna mais escura, mas com as nadadeiras ainda claras. A mancha no pedúnculo caudal é ausente.

O serrilhado do segundo espinho da D₁, em exemplares até 23mm SL, é semelhante ao descrito por Johnson & Keener (1984) para um exemplar de 14,4mm, mas o espinho da P₂ apresenta denticulos de maior tamanho do que o descrito por esses autores e em pequeno número (7 a 8).

***Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) "garoupa" "garoupa-verdadeira"**

Sinonímia: *Epinephelus guaza*. Cresce até 118cm TL e 60kg, podendo viver até 35 anos. As fêmeas apresentam gônadas maduras entre 44 e 53cm TL (6 a 8 anos). Ocorre no Atlântico oriental (Europa, África e ilhas) até profundidades de 50m (Heemstra *et al.*, 2003). No Atlântico ocidental ocorre do Rio de Janeiro até Argentina (Figueiredo & Menezes, 1980). No Sul do Brasil, Andrade *et al.* (2003) observaram a transformação das fêmeas em machos aos 80cm TL.

Material: 51 exemplares de 16.5 a 98mm SL, coletados com redes no litoral de Ubatuba, Guarujá e Santos, e nas ilhas de Alcatrazes e Lage de Santos durante os meses de janeiro, fevereiro, abril, julho, agosto, outubro e dezembro.

Diagnose: D₁:XI (nos exemplares de até 25mm TL o segundo espinho é o maior; nos exemplares de maior comprimento, o maior é o terceiro); A:III,8, um com III,9 (segundo e terceiro espinhos de igual comprimento); Rastros: 19-24.

Cor: corpo bege claro e com as nadadeiras transparentes até os 25mm SL; depois o corpo e as nadadeiras apresentam cor bege mais escura - exceto a peitoral que continua transparente. Possuem a mancha escura no pedúnculo caudal. Aos 24mm SL observam-se cinco a seis listras verticais duplas mais escuras (Figura 2F) e a borda da caudal se mostra clara.

***Epinephelus itajara* (Lichtenstein, 1822) "mero"**

Cresce até 270cm TL e 375kg. (Figueiredo & Menezes, 1980). Ocorre no Atlântico ocidental da Florida até o Sul do Brasil, no Atlântico oriental tropical e Ilhas Canárias e no Pacífico Oriental, do Golfo da Califórnia ao norte do Peru, em águas pouco profundas (Heemstra *et al.* 2003). Bullock *et al.* (1992) relataram exemplares com 37 anos de vida, mas não conseguiram evidências conclusivas de que seja protogínicos, encontraram machos de testículos maduros com 115 a 205cm TL, e fêmeas de gônadas maduras com 135 até 215cm TL (com reprodução no verão) embora ressaltem que suas observações poderiam estar influenciadas por diversos fatores apontados por Sadovy & Shapiro (1987).

Material: um exemplar de 17mm SL (Figura 2G), coletado no estuário de Cananéia, litoral sul do estado de São Paulo.

Diagnose: D₁:XI (o segundo espinho é o maior; os quatro primeiros são serrilhados); A:III,8 (o segundo espinho é o maior). O espinho da P₂ é serrilhado e maior que os raios. Rastros: 6+14=20. O espinho do cleitro possui comprimento semelhante ao diâmetro da pupila. O serrilhado do segundo espinho da D₁ e do espinho da P₂ são semelhantes ao serrilhado observado por Johnson & Keener, 1984).

Cor: corpo bege claro com nadadeiras quase transparentes.

***Epinephelus nigritus* (Holbrook, 1855) "cherne-preto"**

Cresce até 230cm TL e 200kg. Vive até 41 anos (Manooch & Mason, 1987). Ocorre no Atlântico ocidental em profundidades de 55 a 525m, mas juvenis são encontrados em águas rasas (Heemstra *et al.* 2003).

Material: um exemplar de 22mm SL (Figura 2H), coletado em Ubatuba (18-12-89).

Diagnose: D₁:X (o segundo espinho é o maior), D₂: 16; A:III,8 (o segundo espinho é o maior); P₁: 18. O espinho da P₂ não é serrilhado. Rastros: 20.

Cor: corpo bege, assim como as nadadeiras D_1 , D_2 , A e C. A P_1 é quase transparente, a P_2 e a parte posterior das D_2 e A são ligeiramente mais escuras. Possui mancha escura no pedúnculo caudal.

***Epinephelus niveatus* (Valenciennes, 1828) "cherne" "cherne-verdadeiro"**

Ocorre no Atlântico ocidental da Nova Inglaterra ao Rio Grande do Sul (Figueiredo & Menezes, 1980). No Sul do Brasil é capturada até os 700m de profundidade. Heemstra *et al.* (2003) relatam crescimento até 120cm TL e 30kg de peso, A maioria das fêmeas matura entre 40 e 50cm TL (4-5 anos) e se transforma em machos aos 70cm TL (8 anos); a maior idade observada foi 27 anos (Moore & Labisky 1984). Mas o autor já observou exemplares no sudeste do Brasil com aproximadamente 70kg, capturados com espinhel para atuns que chegaram acidentalmente à plataforma a 120m de profundidade.

Material: 35 exemplares: 13 (14 a 24mm SL) coletados de estômagos de atuns e afins no mês de novembro entre os paralelos 23°S e 26°S, e 22 exemplares (23 a 111mm SL) coletados no litoral do estado de São Paulo.

Diagnose: nos exemplares coletados de estômagos (Figura 2I a). D_1 : XI (o segundo espinho é o maior); D_2 : 15 (3); A: III,9 (7); supraorbital ligeiramente serrilhado; comprimento dos frontais ao longo da sínfise, longo (curto em *E. flavolimbatus*) (Figura 2I b), de tal forma que uma linha vertical partindo da parte posterior da sínfise passa atrás do olho (em *E. flavolimbatus* passa sobre o olho).

Nos exemplares coletados perto do litoral (23 a 111mm SL) (Figura 2I c) - D_1 : XI (o segundo espinho é o maior até os 50mm SL; nos de maior comprimento o terceiro é o maior); D_2 : 13-14, um com 15; A: III,9 (o segundo espinho é o maior), o espinho da P_2 é serrilhado. Rastros: 22-25.

Cor: corpo bege a marrom claro, P_2 marrom escuro, D e A com a base bem escura e a parte posterior transparente. P_1 e caudal são transparentes. Pintas brancas no corpo aparecem com aproxi-

madamente 55mm SL. Mancha escura na parte superior do pedúnculo caudal é pequena no início, mas cresce e chega a sobrepor a linha lateral nos exemplares com aproximadamente 45mm SL.

O tamanho da mancha no pedúnculo caudal é caráter diferencial entre seus jovens (60 a 400mm SL) em relação aos de *E. flavolimbatus* (50 a 100mm SL), que podem ter uma mancha semelhante, mas de menor tamanho, não chegando à linha lateral (Heemstra & Randall, 1993).

***Epinephelus flavolimbatus* (Poey, 1865) "cherne-amarelo"**

Ocorre no Atlântico ocidental da Carolina do Norte ao Sul do Brasil, com as fêmeas maturando entre 52 e 60cm TL e se transformando em machos aos 75cm TL. Vivem 20 anos e crescem até 115cm TL com 14kg (Heemstra *et al.*, 2003). No Sul do Brasil os autores observaram exemplares de 22kg.

Material: 23 exemplares (18 a 38mm SL) coletados de estômagos de atuns entre novembro e janeiro.

Diagnose: D_1 : XI (o segundo espinho é o maior; os seis primeiros serrilhados); D_2 : 13-14; A: III,9 (12) (o segundo é o maior sendo serrilhado). O espinho da P_2 é serrilhado, de maior comprimento que o raio nos exemplares até 24,5mm SL (Figura 2J a) e menor nos exemplares de 28mm SL ou mais. Rastros: 20-22. O supraorbital é serrilhado. O comprimento dos frontais ao longo da sínfise é curto (Figura 2J b), com uma linha vertical partindo do extremo posterior da sínfise passaria sobre o olho.

***Mycteroperca microlepis* (Goode & Bean, 1880)**

Ocorre no Atlântico ocidental, desde Carolina do Norte e Bermudas até Yucatan, com ocorrência de juvenis até Massachusetts. Cresce até 120cm TL e 32kg, sendo encontrada até 152m de profundidade (Heemstra *et al.* 2003). No Brasil ocorre na região Sudeste até Santa Catarina (Figueiredo & Menezes, 1980).

Keener *et al.* (1988) relatam migrações a regiões estuarinas da Carolina do Sul, durante a primavera e o verão, por exemplares de 9 a 20mm SL (=33 - 66 dias de vida), sendo mais abundantes na superfície quando ocorre a maré alta. Mullaney & Gale (1996) relatam a entrada de larvas a estuário, com 15 - 25mm SL, sofrendo mutações ontogenéticas principalmente relacionadas ao sistema digestório.

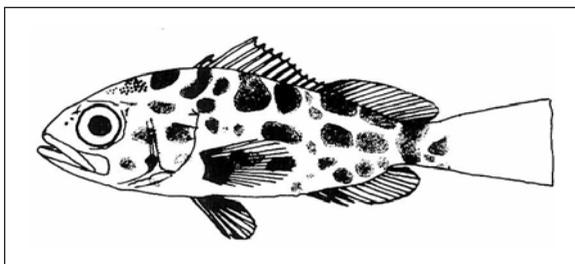
Material: cinco exemplares de 19 a 68mm SL coletados no litoral de Santos, Ubatuba e Cananéia.

Diagnose: D₁: XI (um exemplar com D₁: XII) e o segundo espinho é o maior. A: III, 11; Rastros: 20-23.

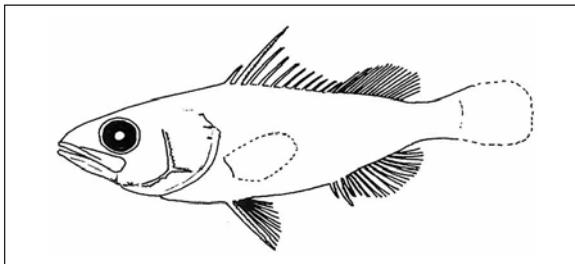
Cor: corpo com manchas escuras. No exemplar de 19mm, as manchas apresentavam tamanhos variando entre o diâmetro da pupila e o do olho (Figura 3A). A mancha do pedúnculo caudal é ausente.

***Mycteroperca interstitialis* (Poey, 1860)**

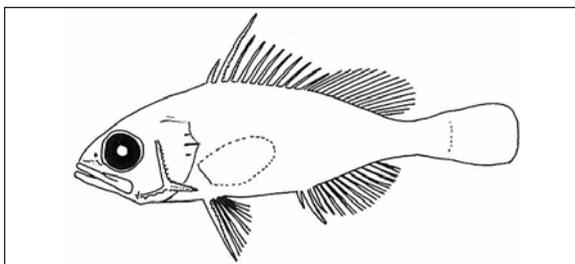
Ocorre no Atlântico ocidental, do Golfo de México e Bermudas até o Sul do Brasil, em profundidades até 150m. Cresce até 74cm e 7kg (Heemstra *et al.*, 2003). Bullock & Murphy (1994) informam que esta espécie desova o ano todo.



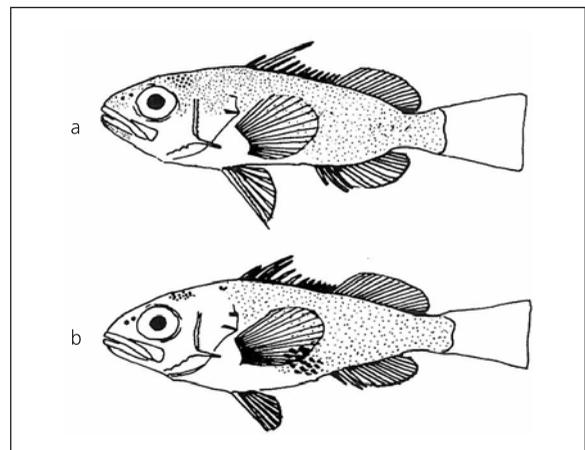
A - *Mycteroperca microlepis*



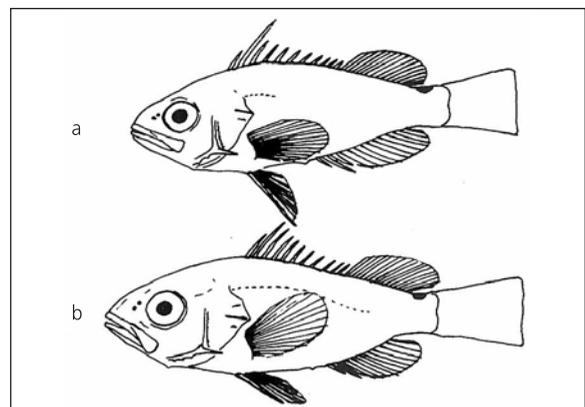
C - *Mycteroperca bonaci*



D - *Mycteroperca venenosa*



B - *Mycteroperca interstitialis*



E - *Mycteroperca acutirostris*

Figura 3. Juvenís de *Mycteroperca* coletados no Sudeste e no Sul do Brasil. **A:** *Mycteroperca microlepis*, 19 mm SL (10-XII-86); **B:** *Mycteroperca interstitialis*, **a)** 18,4mm SL e **b)** 18,5mm SL; **C:** *Mycteroperca bonaci*, 20mm SL (ce. novembro 72); **D:** *Mycteroperca venenosa*, 22mm SL (ce. novembro, 1977); **E:** *Mycteroperca acutirostris*, **a)** 19,4mm SL, forma pelágica e **b)** 19mm SL, forma costeira.

Material: 40 exemplares de 17,5 a 76mm SL, coletados no litoral de Santos, Ubatuba e Cananéia.

Diagnose: - D_1 : XI (o segundo espinho é o maior); A: III- 11 (um com 12); P_2 : espinho maior que os raios antes da metamorfose. Rastros: 19-25. Não possui mancha no pedúnculo caudal.

Em 7 de dezembro de 1987 foram coletados 17 exemplares de 17,5 a 20mm SL: foram sacrificados sete e os dez restantes foram conservados em aquários separados em dois grupos de cinco. A separação foi realizada pelo tamanho do segundo espinho da primeira nadadeira dorsal. Em uma semana, o grupo com espinho maior perdeu a parte sobressalente, ficando igual ao outro grupo. Após um mês, com 31 a 37mm SL foram identificados como *M. interstitialis*, e um exemplar, após 75 dias cresceu até 46mm SL. Essa mudança também foi acompanhada por pigmentação mais intensa dos melanóforos (Figura 3B) até os 20mm, logo os pigmentos desaparecem e o corpo fica bege claro, rosa ou amarelado.

***Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) "badejo-ferro"**

Ocorre no Atlântico ocidental, ao norte, adultos até o Golfo do México e ilhas Bermudas, enquanto juvenis podem ser encontrados até Massachusetts. Crescem até 133cm TL e 81kg. São encontrados até 30m de profundidade (Heemstra *et al.*, 2003). No sul ocorre até São Paulo (Figueiredo & Menezes, 1980). Keener *et al.* (1988) identificaram larvas com 11 a 18mm SL (=31 a 57 dias) ingressando nas regiões estuarinas. Teixeira *et al.* (2004) observaram que o menor tamanho em que ocorreu a transição de fêmea para macho foi de 64cm, no litoral do Ceará.

Material: dez exemplares sendo três (20 a 23,5mm SL) coletados de estômagos de *T. albacares* em novembro de 1972 e sete (31 a 49mm SL) coletados no litoral de Ubatuba.

Diagnose: em exemplares coletados de estômagos - D_1 : XI (o segundo espinho é o maior). O comprimento do focinho é semelhante ao do olho e o espinho do ângulo do preopérculo é pouco desenvolvido (Figura 3C).

Em exemplares coletados no litoral. D_1 : XI e A: III-11-13 (o segundo é espinho ligeiramente maior); Rastros: 20-25. A mancha no pedúnculo caudal é presente.

***Mycteroperca venenosa* (Linnaeus, 1758)**

Ocorre no Atlântico ocidental, das Bermudas e Caribe a São Paulo, até profundidades de 137 metros. Cresce até 90mm TL e 15kg (Heemstra *et al.* 2003).

Material: dois exemplares de 20 e 22mm SL, coletados de estômagos de *T. albacares*.

Diagnose: D_1 : XI; (o segundo espinho é o maior); D_2 : 16; A: III-11 (o segundo espinho é o maior e serrilhado); P_1 :18. Rastros: 7+18=25. O comprimento do focinho é menor que o diâmetro do olho (Figura 3D). O espinho do ângulo do preopérculo é grande, com três fileiras de dentículos bem marcados.

***Mycteroperca acutirostris* (Valenciennes, 1828)**

Sinonímia: *M. rubra*. Ocorre no Atlântico ocidental, de Bermudas e Golfo do México até o Sul do Brasil, em águas pouco profundas; cresce até 80cm TL e 4kg (Heemstra *et al.*, 2003).

Material: 31 exemplares de 16,5 a 39mm SL, coletados com redes no litoral de Santos, Ubatuba e Cananéia de novembro a janeiro (primavera), exceto um exemplar de 24mm SL capturado em três de junho de 1987 em Ubatuba.

Diagnose: D_1 : XI (o segundo espinho é o maior); A: III-10-12; Rastros: 40-49. A mancha no pedúnculo caudal é presente. A transição da forma pelágica para a costeira ocorre com aproximadamente 19mm SL, observando-se nos juvenis recém chegados o comprimento notadamente maior do segundo espinho da D_1 em relação aos outros espinhos, e na P_2 o espinho ainda é maior que os raios (Figura 3E).

***Mycteroperca tigris* (Valenciennes, 1833)**

Não foi coletado nenhum juvenil.

Ocorre no Atlântico ocidental, da Florida ao Sul do Brasil até profundidades de 40m. Cresce até 100cm TL e 10kg (Heemstra *et al.* 2003). No sul do Brasil é rara sua ocorrência, os dois exemplares citados por Figueiredo & Menezes (1980) possivelmente ocorreram em consequência da água tropical ter avançado ao litoral de São Paulo mais ao sul do normal.

Características e variações ontogenéticas

O espinho na borda póstero-inferior do preopérculo, que é proporcionalmente maior nos exemplares menores, ainda está presente em Anthiinae e Epinephelinae com aproximadamente 40mm SL. Já nos menores juvenis de Serraninae observados (*Dules auriga*: 29mm SL e *Serranus* spp.: 30mm SL) o preopérculo se apresentou uniformemente serrilhado e sem vestígio do espinho. *Mycteroperca* diferencia-se dos outros gêneros pelo maior número de raios na anal (A:III10-13), embora *E. morio* possa apresentar eventualmente até dez raios.

Nos exemplares estudados, três ossos pré-dorsais ocorreram em Serraninae e dois foram observados em Anthiinae e Epinephelinae. Anthiinae apresentou 26 vértebras (10+16) e Serraninae e Epinephelinae, 24 vértebras (10+14).

Nas larvas de Epinephelinae o segundo espinho da D₁ é muito longo (Figura 4), servindo para desencorajar uma faixa de tamanho de predadores. Com o crescimento há redução progressiva até o ingresso ao meio bentônico. Essa mudança deve ocorrer preferencialmente em determinado tamanho, mas com muita influência espacial e temporal - e às vezes se pode encontrar exemplares relativamente grandes com espinho grande, devido à migração posterior ao novo hábitat.

Estratégias reprodutivas

Os Serranidae podem apresentar diversas estratégias reprodutivas, relacionadas a: (1) fisiologia

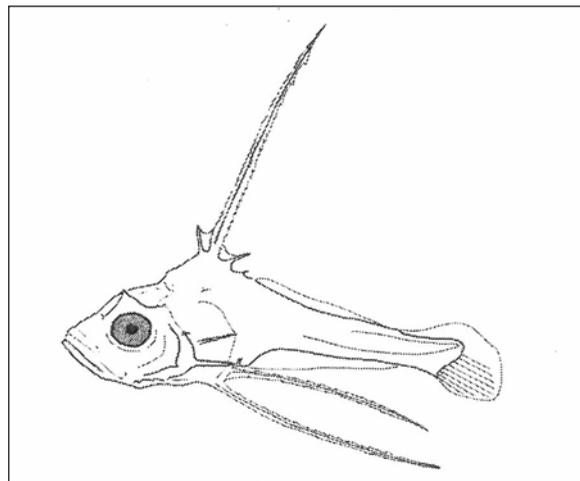


Figura 4. Larva de Epinephelinae coletada de estômago de atum, *T. albacares*.

das gônadas, (2) concentração de indivíduos para fertilização, (3) utilização de ecossistemas diferenciados para o crescimento das larvas e (4) estratégias "r" e "K".

1) Muitas espécies são protogínicas e algumas sincrônicas (Smith, 1965).

2) Smith (1972) comenta sobre a concentração para reprodução de *Epinephelus striatus* nas Bahamas: a escolha desses locais permite o transporte dos ovos para mar aberto. O Arquipélago de Abrolhos (21°S) é um local muito apropriado para essa estratégia e provavelmente alguns Epinephelinae (ex. *C. fulva*, *M. venenosa*) desovem de tal forma que os ovos acabam levados à Corrente do Brasil.

3) A maioria das espécies utiliza ecossistemas diferentes do hábitat dos adultos (bentônico-demersais marinhos) para o crescimento de suas larvas e juvenis.

Foram coletados na zona epipelágica os juvenis de Serranidae: *Serranus* spp.; Anthiinae: *Anthias menezesi*, *Pronotogrammus martinicensis*, *Hemanthias vivanus* e *Hemanthias leptus*; Epinephelinae: *Paranthias furcifer*, *Alphestes afer*, *Cephalopholis fulva*, *Epinephelus flavolimbatus* e *Mycteroperca venenosa*. Já os adultos de Anthiinae e *E. flavolimbatus* habitam águas profundas

(150 - 700m) e os outros Epinephelinae e *Serranus* spp. habitam principalmente a zona costeira - sobre a plataforma continental e a parte superior do talude. Segundo Parin (1970) espécies que se utilizam dessa estratégia são denominadas "brefoepipelágicas" (brefos=jovem). Outros Epinephelinae: *Epinephelus nigritus*, *Epinephelus adscensionis*, *Epinephelus marginatus*, *Epinephelus morio*, *Epinephelus niveatus*, *Mycteroperca acutirostris*, *Mycteroperca bonaci*, *Mycteroperca microlepis*, *Mycteroperca interstitialis* e *Epinephelus itajara*, apresentam juvenis na zona costeira, sugerindo que a fertilização ocorra perto do litoral e o crescimento das larvas ocorra na zona nerítica. No caso das três últimas espécies, sua ocorrência em estuário (Cananéia) indica o aproveitamento de mais um habitat.

4) Em relação ao número de óvulos podem ser considerados como "r" estrategistas. Entretanto, a estratégia "r" é seguida da estratégia "K", quando os jovens migram ao habitat dos adultos.

Distribuição dos juvenis de Epinephelinae

A estratégia brefoepipelágica requer como condição oceanográfica um meio de dispersão e principalmente um meio de retorno, já que o tamanho das larvas e juvenis não permite autonomia migratória. No Brasil, a Corrente do Brasil e a Corrente das Malvinas representam dois meios de transporte, um para o sul e outro para o norte. Assim, é muito provável que as pequenas larvas e juvenis se mantenham na mesma região nadando pequenas distâncias através da termoclina, além de utilizar os vórtices da Corrente do Brasil (Zavala-Camin, 1986). No norte do Brasil as condições são semelhantes em relação à Corrente Sul Equatorial e à Contracorrente Equatorial. Considerando que a maioria dos Serranidae utiliza-se da estratégia brefoepipelágica, o número de espécies na região, em especial de Epinephelinae, é um bom indicador das características oceanográficas. Mas também há Epinephelinae que utiliza outras estratégias de dispersão.

Das espécies citadas, juvenis de *E. fulva*, *E. venenosa* e *P. furcifer* foram encontrados em

estômagos de predadores pelágicos. Juvenis de *D. inermis* não foram localizados, enquanto *M. interstitialis*, *E. adscensionis*, *E. marginatus* e *E. itajara* somente foram encontradas no litoral. *M. bonaci* também foi encontrada somente no litoral, mas pode ter distribuição pelágica. No Atlântico ocidental observa-se que alguns juvenis, levados pelas correntes tropicais, têm uma distribuição mais ao sul e ao norte do que a dos adultos. No sul do Brasil acontece com *C. fulva*, *A. afer*, *P. furcifer* e *M. venenosa*. Nos Estados Unidos, Heemstra & Randall (1993) relatam o mesmo fenômeno para *M. microlepis* e *M. bonaci*.

A área de influência das Correntes do Brasil e das Malvinas inclui a ilha da Trindade, onde são citadas *C. fulva*, *D. inermis*, *E. adscensionis*, *M. venenosa*, *M. bonaci* e *M. interstitialis*, mais *M. venenosa* (Gasparini & Floeter, 2001). No Atol das Rocas e Fernando de Noronha os autores observaram *C. fulva* e *M. bonaci* e Faria & Silva (1937) também citaram *D. inermis*. Em Ascensão e Santa Helena, Lubbock (1980) cita *E. adscensionis* e *P. furcifer*.

Como exemplo de condições desfavoráveis temos as ilhas do Havaí, onde só ocorrem duas espécies nativas, *Epinephelus quernus* e *E. lanceolatus* (Heemstra & Randall, 1993), sugerindo dificuldades para o retorno. Nos Rochedos de São Pedro e São Paulo, Lubbock & Edwards (1981) não observaram nenhum Epinephelinae.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. José Lima Figueiredo pelos comentários ao texto. Parte do trabalho foi realizada com auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (1985-1986).

REFERÊNCIAS

- Anderson, W.D. Jr. & Heemstra, P.C. (1980). Two new species of western Atlantic *Anthias* (Pisces: Serranidae), redescription of *A. asperilinguis* and review of *Holanthias martinicensis*. *Copeia*, (1):72-87.
- Andrade, A.B.; Machado, L.F.; Hostin-Silva, M. & Barreiros, J.P. (2003). Reproductive biology of the dusky grouper

Epinephelus marginatus (Lowe, 1834). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(3):373-81.

Baldwin, C.C. (1990). Morphology of the larvae of American Anthiinae (Teleostei: Serranidae), with comments on relationships within the subfamily. *Copeia*, 1990(4):913-55.

Bullock, L.H.; Murphy, M.D.; Godcharles, M.F. & Mitchell, M.E. (1992). Age, growth, and reproduction of jewfish *Epinephelus itajara* in the Eastern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin U.S.*, 90(2):243-9.

Bullock, L.H. & Murphy, M.D. (1994). Aspects of the life history of the yellowmouth grouper, *Mycteroperca interstitialis*, in the Eastern Gulf of Mexico. *Bulletin Marine Science*, 55(1):30-45.

Cervigón, F. (1966). *Los peces marinos de Venezuela*. Caracas: Fundación La Salle de Ciencias Naturales.

Cervigón, F. & Velasquez, E. (1966). Las especies del género *Mycteroperca* de las costas de Venezuela. *Memorias Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 26(74):77-143.

Faria, A. & Silva, D. (1937). Fauna ichthyológica de Rocas: observações sobre maturidade dos órgãos genitais e frequência das principais espécies. *Revista do Departamento Nacional da Produção Animal*, 4(1-3): 1-20.

Figueiredo, J.L. & Menezes, N.A. (1980). *Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2)*. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

Fischer, W. (Ed.) (1978). *FAO species identification sheets for fisheries purposes, Western Central Atlantic* (fishing area 31). Roma: FAO.

Gasparini, J.L. & Floeter, S.R. (2001). The shore fishes of Trindade island, Western South Atlantic. *J. Natural History*, 35(11):1639-56.

Gosline, W.A. (1966). The limits of the fish family Serranidae, with notes on other percoids. *Proceedings, California Academy of Science. Fourth Series*, 33(6): 91-112.

Heemstra, P.C. & Randall, J.E. (1993). Groupers of the world (Family Serranidae, subfamily Epinephelinae). *FAO Species Catalogue*, 16(125)1-382.

Heemstra, P.C.; Anderson, W.D. Jr. & Lobel, P.S. (2003). Serranidae. In: Carpenter, K.E. (Ed). *The living marine resources of the Western Central Atlantic*. FAO species identification guide for fisheries purposes. Rome: FAO. v. 2.

Johnson, G.D. & Keener, P. (1984). Aid to identification of American grouper larvae. *Bulletin of Marine Science*, 34(1):106-34.

Keener, P.; Johnson, G.D.; Stender, B.W.; Brothers, E.B. & Beatty, H.R. (1988). Ingress of postlarval gag,

Mycteroperca microlepis (Pisces: Serranidae), through a South Carolina barrier island inlet. *Bulletin of Marine Science*, 42(3):376-96.

Kendall, A.W. Jr. (1979). Morphological comparisons of North American sea bass larvae (Pisces: Serranidae). *National Oceanographic and Atmospheric Administration (NOAA) Tec. Rep. NMFS Circ*, 428:1-50.

Kendall, A.W. Jr. (1984) Serranidae: Development and relationships. In: Ontogeny and systematics of fishes, based on an international symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstron. August 15-181, 1983, La Jolla, California. *American Society of Ichthyology and Herpetology*, (1):499-510.

Lubbock, R. (1980). The shore fishes of Ascension island. *Journal of Fish Biology*, 17(3):283-303.

Lubbock, R. & Edwards, A. (1981). The fishes of Saint Paul's Rocks. *Journal of Fish Biology*, 18(2):135-57.

Manooch III, C.S. & Mason, D.L. (1987). Age and growth of the warsaw grouper and black grouper from the Southern region of the United States. *Northeast Gulf Science*, 9(2):65-75.

Matsuura, K. (1983). Serranidae. In: Uyeno, T.; Matsuura, K. & Fuji, E. (Ed.). *Fishes trawled off Suriname and French Guiana*. Tokyo: J. Marine Fishery Resources Research Center. p.299-315.

Menezes, N.A.; Buckup, P.A.; Figueiredo, J.L. & Moura, R.L. (2003). *Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

Moe, M.A. Jr. (1969). *Biology of the red grouper Epinephelus morio (Valenciennes) from the eastern Gulf of Mexico*. Petersburg: Florida Department of National Resources, Marine Research Laboratory. Professional Paper Series.

Moore, C.M. & Labisky, R.L. (1984). Population parameters of a relative unexploited stock of snowy grouper in the lower Florida keys. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113(2):322-9.

Mullaney, M.D. Jr. & Gale, L.D. (1996). Ecomorphological relationships in ontogeny: anatomy and diet in gag, *Mycteroperca microlepis* (Pisces, Serranidae). *Copeia*, 1996(1):167-80.

Paiva, M.P. & Fonteles-Filho, A.A. (1995). Distribuição e abundância de alguns peixes bentônicos na área de Abrolhos (Brasil). *Arquivos de Ciências Marinhas*, 29(1-2):36-41.

Parin, N.V. (1968). *Ichthyofauna of the epipelagic zone*. Moscow: Academy of Sciences of the U.S.S.R. Institute of Oceanology. Translated from Russian by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.

Sadovy, Y. & Shapiro, D.V. (1987). Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia*, 1:136-56.

- Smith, C.L. (1965). The patterns of sexuality and the classification of serranid fishes. *American Museum Novitates*, 2207:1-20.
- Smith, C.L. (1971). A revision of the American groupers: *Epinephelus* and allied genera. *Bulletin American Museum of Natural History*, 146(2207):69-241.
- Smith, C.L. (1972). A spawning aggregation of Nassau grouper *Epinephelus striatus* (Bloch). *Transaction of the American Fishery Society*, 101:257-61.
- Taylor, W.R. (1967). An enzyme method of cleaning and staining small vertebrates. Proceedings of the U.S. National Museum. *Smithsonian Institute*, 122(3596): 1-17.
- Teixeira, S.F.; Ferreira, B.P. & Padovan, I.P. (2004). Aspects of fishing and reproduction of the black grouper *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Serranidae: Epinephelinae) in the northeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 2(1):19-30.
- Tutui, S.L.S.; Bastos, G.C.C.; Tomás, A.R.G.; Tiago, G.G. & Zavala-Camin, L.A. (2000). Species composition of the exploratory fisheries with bottom longline off southeastern Brazil. *Ciência e Cultura*, 52(1):55-8.
- Zavala-Camin, L.A. & Puzzi, A. (1974). *Relatório da pescaria de linha no Arquipélago de Abrolhos e Mar Novo: Sudepe. PDP/Sudepe, Rio de Janeiro. Série Documentos Técnicos*, 7:114-7.
- Zavala-Camin, L.A. (1986). Possíveis estratégias de distribuição e retorno de peixes brefoepipelágicos do Brasil (20°S - 32°S). *Boletim do Instituto de Pesca*, 13(2):103-13.
- Zavala-Camin, L.A. (1987). Ocorrência de peixes, cefalópodos e crustáceos em estômagos de atuns e espécies afins capturados com espinhel no Brasil (23°S - 34°S), 1972 -1985. *Boletim do Instituto de Pesca*, 14(1):93-102.

Recebido em: 29/8/2008

Aprovado em: 23/9/2008



ARTIGO | ARTICLE

Crioconservação do sêmen da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*

Semen cryopreservation of the dusky grouper Epinephelus marginatus

Eduardo Gomes Sanches¹

Idili da Rocha Oliveira²

Pedro Carlos da Silva Serralheiro¹

RESUMO

Este trabalho teve a finalidade de desenvolver um protocolo de crioconservação do sêmen da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*. Em três experimentos foram analisados os efeitos de três diluentes (pH 6,1; 7,8 e 8,2), quatro diluições (1:0; 1:1; 1:2 e 1:3), seis concentrações de crioprotetor dimetilsulfóxido (0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5%) e cinco velocidades de congelamento (90, 60, 45, 30 e 15°C.min⁻¹) sobre a motilidade e o tempo de motilidade espermáticas no sêmen crioconservado. O sêmen foi congelado em vapor de nitrogênio empregando-se palhetas criogênicas, e posteriormente mantido em nitrogênio líquido. O tratamento que propiciou maior motilidade e tempo de motilidade espermáticas ($p < 0,05$) foi aquele proporcionado pelo emprego do diluente B (pH 7,8), na proporção de 1:3 (v/v), com crioprotetor (dimetilsulfóxido) a 5% e em uma velocidade de congelamento de 60°C.min⁻¹. Estes resultados possibilitaram a implantação do primeiro banco de sêmen da garoupa-verdadeira no Brasil.

Palavras-chave: Crioconservação. Sêmen. *Epinephelus marginatus*. Garoupa-verdadeira. Reprodução. Maricultura.

ABSTRACT

This study aimed to develop a semen cryopreservation protocol for the dusky grouper, Epinephelus marginatus. In three separate experiments, the effects of

¹ Instituto de Pesca, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Litoral Norte. R. Joaquim Lauro Monte Claro Neto, 2275, Itaguá, 11680-000, Ubatuba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: E.G. SANCHES. E-mails: <esanches@pesca.sp.gov.br>, <idili@pesca.sp.gov.br>, <carlos@pesca.sp.gov.br>.

² Instituto de Pesca, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Litoral Sul. Cananéia, SP, Brasil.

three diluents (pH 6.1, 7.8 and 8.2), four dilutions (1:0; 1:1; 1:2 and 1:3), six concentrations of the cryoprotectant dimethyl sulfoxide (0; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0 and 12.5%) and five freezing speeds (90, 60, 45, 30 and 15°C.min⁻¹) on the motility and time of sperm motility on the cryopreserved semen were analyzed. The semen was frozen in nitrogen vapor using cryogenic slats, and was subsequently transferred to liquid nitrogen. The highest sperm motility rate and time of motility ($p < 0.05$) were achieved by combining diluent (pH 7.8), in a 1:3 (v/v) proportion, with a 5% concentration of cryoprotector (dimethyl sulfoxide) and freezing speed of 60°C.min⁻¹. These results enabled the implantation of the first semen bank in Brazil for the dusky grouper.

Key words: Cryopreservation. Semen. *Epinephelus marginatus*. Dusky grouper. Reproduction. Mariculture.

INTRODUÇÃO

No Brasil a piscicultura marinha ainda é incipiente, embora a atividade venha ganhando impulso nos últimos anos a partir da consolidação dos resultados de pesquisas desenvolvidas por diversas universidades e instituições de pesquisa e despertando um grande interesse junto à iniciativa privada (Sanches, 2007).

O litoral brasileiro dispõe de vastos recursos para propiciar o desenvolvimento desta atividade, entretanto, a oferta de formas jovens vem sendo o fator que restringe este desenvolvimento (Cerqueira, 2005). Da mesma forma, Sanches et al. (2006) apontaram a dificuldade de obtenção de formas jovens como um dos maiores entraves para o cultivo desta espécie, ao demonstrarem a viabilidade econômica do cultivo da garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) em tanques-rede, no litoral sudeste do Brasil. Cox et al. (2006) também destacaram que a produção de larvas e formas jovens é essencial para o desenvolvimento e a sustentabilidade da piscicultura marinha. Frente ao exposto, é sugestiva a necessidade de desenvolvimento de pesquisas na área de reprodução de peixes marinhos em busca de tecnologia para a solução deste problema.

Segundo Rocha & Costa (1999) o gênero *Epinephelus* apresenta onze espécies com registro de ocorrência para a costa brasileira, sendo que a garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* é destacada por sua grande importância comercial nas regiões sudeste e sul do Brasil. Machado et al. (2003) apontaram que esta espécie apresenta importância

do ponto de vista econômico e turístico (grande interesse na pesca esportiva e no mergulho contemplativo) e outros autores ressaltaram a garoupa-verdadeira como uma candidata para a piscicultura marinha (Marino et al., 2000; Sanches, 2006).

De acordo com Marino et al. (2003) o valor comercial da garoupa-verdadeira estimulou a sobrepesca deste recurso, sendo que a partir de 1995, passou a ser incluído na lista de peixes ameaçados (*Berne Convention, Annex 3 - Protocol for Mediterranean Biodiversity*). Recentemente, Fennessy (2006) também afirmou que *E. marginatus* é considerada, nos dias atuais, uma espécie ameaçada e, por isso, incluída na lista vermelha da *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN).

A garoupa-verdadeira, como os demais membros da subfamília Epinephelinae, é uma espécie hermafrodita protogínica, ou seja, matura inicialmente como fêmea e em dado momento de seu desenvolvimento sofre inversão sexual (Liao, 1993; Zabala et al., 1997). Dada a complexidade do processo de inversão sexual associada a fatores como a estrutura sócio-demográfica desses peixes, a obtenção de machos torna-se um problema para a realização da reprodução em cativeiro (Tucker & Fitzgerald, 1994; Sadovy & Colin, 1995; Barreiros, 1998).

A dificuldade da disponibilidade de reprodutores da espécie é agravada pelo comportamento de formação de haréns com poucos machos e muitas fêmeas. A ocorrência dos machos predomi-

nantemente em profundidades maiores que 30 metros o que dificulta a captura e reduz a sobrevivência dos indivíduos capturados (Grier & Neiding, 2000).

A crioconservação do sêmen é uma técnica empregada em mais de 200 espécies de peixes (sendo 40 delas marinhas), contribuindo significativamente para o controle da reprodução na piscicultura moderna (Gwo, 2000; Tierch, 2000). Esta técnica foi considerada por Cloud *et al.* (1990) de especial interesse para espécies ameaçadas de extinção, por possibilitar a preservação da estrutura genética da população. Já Gwo (2000) e Grier & Neiding (2000) vêem a crioconservação como uma ferramenta importante para o cultivo de peixes da família Serranidae, pois permite a formação de bancos de sêmen e viabiliza a reprodução em condições de cativeiro.

Embora possa ser uma interessante estratégia, poucos trabalhos (Withler & Lim, 1982; Chao *et al.*, 1992; Gwo, 1993; Miyaki *et al.*, 2005) tem focado a crioconservação do sêmen de espécies dessa família.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tipo de diluente, do nível de diluição, da concentração de crioprotetor e da velocidade de congelamento no sucesso da crioconservação do sêmen da garoupa-verdadeira, contribuindo para a reprodução da espécie em cativeiro e permitindo a implantação de um banco de sêmen da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Instituto de Pesca, em Ubatuba (SP) (23 27'04''S e 45 02'48''W). Um exemplar macho de garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* foi capturado, em dezembro de 2006, por meio de linha e anzol e transportado até o laboratório. O exemplar, com 1,12m e 32kg, encontrava-se sexualmente maduro e espermante. Esta condição merece destaque por ter sido a primeira captura de um exemplar macho com sucesso, registrada no Brasil, e a primeira oportunidade de se estudar *in vivo* o sêmen deste serranídeo.

O sêmen fresco foi avaliado em relação ao volume, à densidade, à motilidade e ao tempo de motilidade espermática. O sêmen foi extraído do exemplar mediante leve massagem abdominal, com o uso de seringas plásticas de 5mL, envoltas em papel opaco (para evitar a incidência de luz sobre as amostras).

Após a anotação do volume do sêmen colhido, o material contido na seringa foi transferido para um único frasco plástico opaco graduado (0,5mL) de 20mL e mantido imerso em recipiente com água na temperatura de 26°C (mesma temperatura em que era mantido o exemplar de *E. marginatus* no laboratório).

A densidade espermática foi estimada após a diluição do sêmen em duas etapas, até atingir a diluição final de 1:10⁴. Na primeira etapa uma alíquota de 10µL de sêmen foi adicionada a 990µL de solução de formol salino (5mL de solução de formaldeído e 95mL de água marinha a 35‰). Na segunda etapa (momento da realização da contagem), o sêmen foi novamente diluído, na mesma solução e mesmo fator de diluição. A seguir, a contagem foi feita em câmara de Neubauer Improved (1mm³), sob microscopia óptica de contraste de fase e aumento de 200 vezes.

A motilidade espermática (porcentagem de células da amostra que apresentam movimento) e o tempo da motilidade espermática (duração do movimento celular, em segundos) foram estimadas em seguida à coleta de sêmen. Ambas foram realizadas em microscópio óptico com contraste de fase (aumento de 400x), após mistura de uma alíquota de 15µL de sêmen fresco com igual volume de água marinha 35‰, em uma lâmina de vidro, sobre a qual foi colocada uma lamínula. A valorização da motilidade foi baseada na estimativa da porcentagem de células móveis no campo microscópico focalizado, seguindo uma escala arbitrária de 0% a 100% (Salisbury & Vandemark, 1964). O tempo de motilidade espermática foi cronometrado (em segundos) desde o momento em que se iniciou a mistura do sêmen com a água marinha (ativação) até o momento em que todas as células se imobilizaram. O tempo de motilidade espermática foi

aferido com a mesma amostra preparada para se observar a motilidade espermática. O tempo de ativação foi de dez segundos. Para cada tratamento foram congeladas seis palhetas plásticas seladas com álcool polivinílico (replicatas) em botijão criogênico contendo vapor de nitrogênio (-196°C), seguindo as etapas enumeradas em Wayman & Tiersch (2000).

Visando-se avaliar o efeito de diferentes fatores (tipos de diluente, diluição, concentração de crioprotetor e velocidade de congelamento) foram montados três experimentos de crioconservação de sêmen descritos a seguir:

Experimento 1 - efeito do diluente e fator de diluição: De acordo com Babiak et al. (2000), afirmaram que esquemas fatoriais se aplicam aos experimentos de crioconservação, para este experimento foi desenvolvido um modelo fatorial envolvendo as três soluções diluidoras de sêmen (A, B, C) e quatro proporções do volume de diluente adicionadas ao sêmen 1:0, 1:1, 1:2, 1:3 (v/v). As soluções diluidoras de sêmen com diferentes composições iônicas e pH (Tabela 1) foram baseadas na composição química da solução fisiológica para teleósteos marinhos, com valores de pH ajustados para 6,1; 7,8 e 8,2. A concentração do crioprotetor dimetilsulfóxido (DMSO) foi fixada em 10% e a velocidade de congelamento em $60^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. O tempo de equilíbrio entre o início da diluição do sêmen e o início do congelamento foi de 60 segundos. Para cada tratamento foram congeladas 6 réplicas.

Experimento 2 - determinação da concentração de crioprotetor: Neste experimento testou-se diferentes concentrações do crioprotetor dimetilsulfóxido (DMSO). Foram estabelecidas seis concentrações

(zero, 2,5%, 5,0%, 7,5%, 10,0% e 12,5%). Para este experimento foi empregada a solução diluidora C. A proporção de sêmen para diluente foi de 1:3. A velocidade de congelamento foi $90^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e o tempo de equilíbrio entre o início da diluição do sêmen e o início do congelamento foi 60 segundos. Para cada tratamento foram congeladas 6 réplicas.

Experimento 3 - determinação da velocidade de congelamento: Para a definição da velocidade de congelamento mais adequada para a conservação das características do sêmen testaram-se velocidades de: 15, 30, 45, 60 e $90^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Para a obtenção das diferentes velocidades, as palhetas foram confeccionadas manualmente a partir de tubos de plástico criogênico, com diâmetro interno de 4mm, utilizados rotineiramente na inseminação artificial de bovinos, de modo a conter os seguintes volumes: 0,25, 0,50, 0,75, 1,00 e 1,25mL. Os tubos foram cortados, em seu comprimento, mantendo inalterado seu diâmetro, em tamanhos adequados para armazenar diferentes volumes de sêmen diluído, para que, durante o resfriamento, pudessem refletir as velocidades de congelamento examinadas neste estudo. Cada palheta foi selada em uma das extremidades com tampão formado de algodão hidrófilo - álcool polivinílico em pó - algodão hidrófobo. A determinação das velocidades foi realizada previamente, antes do início deste experimento, em amostras de sêmen e diluidores, em palhetas teste, com auxílio de um par termoeletrônico. A amplitude de variação de temperatura considerada foi entre 26°C e -196°C . Para este experimento o sêmen foi

Tabela 1. Composição química das soluções diluidoras.

Diluentes	NaCl	KCl	CaCl ₂	(g/L)		
				MgCl ₂	NaHPO ₄	NaHCO ₃
A (pH =6,1)	7,89	1,19	0,20	0,4266	-	-
B (pH =7,8)	6,50	3,00	0,30	-	0,2000	-
C (pH =8,2)	7,89	1,19	0,22	0,7253	0,0805	0,84

NaCl (Cloreto de Sódio), KCl (Cloreto de Potássio), CaCl₂ (Cloreto de Cálcio), MgCl₂ (Cloreto de Magnésio), NaHPO₄ (Fosfato de Sódio), NaHCO₃ (Bicarbonato de Sódio).

diluído com a solução diluidora C. A proporção de sêmen para diluente foi de 1:3 e a concentração de DMSO fixada em 10%. O tempo de equilíbrio entre o início da diluição do sêmen e o início do congelamento foi de 60 segundos. Para cada tratamento foram congeladas 6 réplicas.

Após 180 dias de congelamento, todas as palhetas de todos os experimentos foram descongeladas em água (26°C), durante 2 minutos, para nova aferição da motilidade e do tempo de motilidade espermática. Ambos serviram para avaliar a eficácia do congelamento em função dos fatores envolvidos em cada tratamento testado.

Para a análise estatística dos dados utilizou-se o *Statistical Analyses System (SAS)*, o *SAS/STAT*, versão 6.11 (1990). A significância das diferenças obtidas entre os tratamentos em cada experimento foram obtidas pelo método ANOVA, usando procedimentos paramétricos, com base no teste de variação múltipla de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exemplar capturado apresentava um comprimento total de 112cm, pesando 32kg. A primeira coleta do sêmen gerou um volume de 12mL. Na análise das características da qualidade do sêmen fresco observou-se uma densidade de $M=2,9$ DP= $0,4 \times 10^9$ células/mL, com uma motilidade de 100% e um tempo de motilidade de $M= 3300$ DP= 456 segundos (médias obtidas de seis leituras).

Experimento 1 - efeito do diluente e fator de diluição: Os valores obtidos para a motilidade do sêmen indicaram que o comportamento da motilidade média entre os diluentes nas diferentes diluições não foi significativo ($p=0,746$), entretanto, considerando-se isoladamente o fator diluição, a motilidade média foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Os resultados de comparação entre as médias são apresentados na Tabela 2.

Os resultados mostraram que a diferença da motilidade espermática média do sêmen de *E. marginatus* não foi estatisticamente significativa a partir da diluição 1:1 ($p > 0,05$) e que apenas quando não ocorreu diluição (1:0) as motilidades médias são inferiores as demais relações ($p < 0,05$).

Os valores obtidos para o tempo de motilidade espermática do sêmen demonstraram que o tempo médio de motilidade espermática comportou-se de forma diferente entre os diluentes ($p=0,002$). Os resultados de comparação entre as médias são apresentados na Tabela 3.

Na Tabela 3, pode-se observar que o tempo de motilidade no diluente B e na relação 1:3 apresentou maior média do que as demais combinações de diluições e diluentes ($p < 0,05$).

Experimento 2 - determinação da concentração de crioprotetor: A concentração de crioprotetor DMSO de 5,0% apresentou melhor desempenho na crioconservação do sêmen de *E. marginatus*, em termos de motilidade (%) e em tempo de motilidade (segundos) espermáticas, com diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação às demais concentrações (Tabela 4).

Tabela 2. Médias (M) e desvios-padrão (DP) da motilidade espermática (expressos em porcentagem) de *Epinephelus marginatus* submetidos a diferentes diluentes e diferentes diluições (n= 60). Ubatuba (SP), 2007.

Diluentes	Diluições							
	1 : 0		1 : 1		1 : 2		1 : 3	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
A	3,3	2,9 ^b	91,7	5,8 ^a	96,7	2,9 ^a	91,7	5,8 ^a
B	3,3	2,9 ^b	88,3	5,8 ^a	88,3	5,8 ^a	88,3	5,8 ^a
C	3,3	2,9 ^b	86,7	2,9 ^a	91,7	5,8 ^a	91,7	5,8 ^a

^{a,b} Médias e desvios-padrão com diferentes sobrescrito apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 3. Médias (M) e desvios-padrão (DP) do tempo de motilidade espermática (expressos em segundos) de *E. marginatus* submetidos a diferentes diluentes e diferentes diluições (n= 60). Ubatuba (SP), 2007.

Diluentes	Diluições							
	1 : 0		1 : 1		1 : 2		1 : 3	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
A	139	48 ^c	2515	280 ^b	3285	373 ^{ab}	3331	561 ^{ab}
B	139	48 ^c	2624	500 ^b	2672	518 ^b	4126	505 ^a
C	139	48 ^c	2883	432 ^b	3040	436 ^{ab}	2505	77 ^{ab}

^{a-b} Médias e desvios-padrão com diferentes sobrescrito apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 4. Médias e desvios-padrão da motilidade (%) e do tempo de motilidade (segundos) de *Epinephelus marginatus* submetido a diferentes concentrações de crioprotetor DMSO (n=36). Ubatuba (SP), 2007.

DMSO (%)	Motilidade (%)		Tempo de motilidade (s)	
0,0	3,3	2,9 ^e	238,3	135,3 ^d
2,5	46,7	2,9 ^c	1463,7	110,3 ^c
5,0	96,7	2,9 ^a	3355,0	141,5 ^a
7,5	78,3	5,8 ^b	2609,0	191,7 ^b
10,0	36,7	2,9 ^{cd}	1533,3	526,0 ^c
12,5	26,7	2,9 ^{cd}	340,0	159,0 ^d

^{a-e} Médias e desvios-padrão com diferentes sobrescrito na mesma coluna apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 5. Médias (M) e desvios-padrão (DP) da motilidade (%) e do tempo de motilidade (segundos) de *Epinephelus marginatus* submetido a diferentes velocidades de congelamento (n= 30). Ubatuba (SP), 2007.

Volume (mL)	Velocidade	Motilidade		Tempo de motilidade(s)	
	°C.min ⁻¹	%	%	M	M
0,25	90	86,7	5,8 ^a	2850,7	133,4 ^{ab}
0,50	60	91,7	5,8 ^a	3335,0	237,9 ^a
0,75	45	76,7	2,9 ^{ab}	2277,7	197,4 ^{bc}
1,00	30	61,7	15,3 ^b	1899,7	637,8 ^c
1,25	15	78,3	7,6 ^{ab}	2286,7	301,4 ^{bc}

^{a-c} Médias e desvios-padrão com diferentes sobrescrito na mesma coluna apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Experimento 3 - determinação da velocidade de congelamento: os resultados deste experimento indicaram que as velocidades de congelamento 90°C.min⁻¹ e 60°C.min⁻¹ apresentaram os melhores desempenhos, de acordo com os valores de motilidade e tempo de motilidade espermáticas, sem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre elas (Tabela 5).

Em reprodutores de grande porte e com poro genital isolado durante o procedimento de colheita, a pressão manual do abdômen exercida para a liberação do sêmen pode resultar em quantidades variáveis de urina e fezes, alterando o volume total.

A colheita do sêmen de *E. marginatus* diretamente do poro genital com seringas (5mL/0,2) possibilitou eliminar esse material indesejado, mostrando-se uma técnica a ser adotada neste procedimento. A contaminação do sêmen, principalmente por urina, pode aumentar em até 80% no volume resultante, refletindo significativamente na qualidade do produto coletado (Rana, 1996).

Neste estudo a densidade espermática encontrada foi de $M = 2,9$ DP = $0,4 \times 10^9$ células/mL. Estes valores são ligeiramente inferiores ao reportado para a espécie por Spedicato et al. (1995), de $4,7$ a $8,6 \times 10^9$, embora contrastem com a menor densidade obtida por Kuo et al. (1988) em *Epinephelus fario* de $8,0 \times 10^7$ células/mL.

A motilidade e o tempo de motilidade vêm sendo correlacionadas com a fertilidade do sêmen desde os primórdios das técnicas de fertilização dos peixes (Rana, 1996). Diversos autores destacaram a correlação positiva entre a motilidade espermática e a taxa de fertilização (Mounib et al., 1968; Harvey, 1982; Chereguini et al., 2001; Horváth et al., 2006), destacando a importância destes parâmetros na avaliação dos processos de crioconservação de sêmen de peixes.

O sêmen de *E. marginatus* examinado, após o processo de crioconservação, mostrou uma alta porcentagem de células móveis (96,7%), indicando

que as técnicas empregadas neste estudo foram adequadas na preservação da qualidade espermática. Os valores de motilidade, obtidos neste estudo, foram superiores aos encontrados no sêmen de *Epinephelus malabaricus* por Chao *et al.* (1992) com valores de 40,0% a 60,0%, de *Epinephelus moara* com 42,0% a 52,0% (Miyaki *et al.*, 2005), de *Dicentrarchus labrax* (Fauvel *et al.*, 1999), de *Centropomus undecimalis* (Tiersch *et al.*, 2004) ambos com taxa de motilidade ao redor de 80,0% e ao obtido por Riley *et al.* (2004) com o *Lutjanus campechanus*, ao redor de 95,0%.

Os valores médios do tempo de motilidade espermática obtidos para *E. marginatus*, de 3300 segundos, foram muito superiores aos obtidos para várias outras espécies de peixes marinhos, ao redor de 500 segundos (Billard, 1978), embora valores elevados de tempo de motilidade espermática também tenham sido reportados por Chao *et al.* (1992) para *E. malabaricus*, superiores a 4500 segundos.

Segundo Gwo (2000), quando o sêmen é exposto a temperaturas criogênicas, as características seminais são duramente afetadas e somente podem ser preservadas se, antes do início do congelamento, o sêmen for diluído em soluções adequadas.

De acordo com Foote (1975), um diluente deve apresentar as seguintes funções: prover nutrientes como fonte de energia, possuir um efeito tampão para prevenir mudanças bruscas no pH resultantes do metabolismo dos espermatozoides, manter a pressão osmótica apropriada e inibir o crescimento bacteriano. Legendre & Billard (1980) acrescentam a estas funções uma elevada condutividade térmica e a solubilidade ao crioprotetor.

Muitos diluentes empregados na crioconservação de sêmen de peixes marinhos baseiam-se na sua composição e no plasma sanguíneo e/ou seminal (Rana, 1996). Diversos autores (Lahnsteiner *et al.*, 1997; Chereguini *et al.*, 2001) reportaram uma significativa correlação entre o pH do plasma seminal e a motilidade espermática, sugerindo que o pH possa ser uma importante característica do plasma seminal que influencie a motilidade espermática.

O melhor desempenho para motilidade e tempo de motilidade espermáticas foi obtido com o uso do diluente B com pH ajustado em 7,8 e diluição de 1:3 (v/v). Este resultado concorda com Peleteiro *et al.* (1996) que ressaltaram que na composição dos diluentes para peixes marinhos, o pH e a capacidade de tamponamento merecem atenção especial. Estes mesmos autores afirmaram que diluentes com pH ajustado entre 7,8 e 8,5 (alcalinos) e adequadamente tamponados com substâncias inorgânicas, como fosfatos e/ou bicarbonatos de sódio e/ou de potássio, têm apresentado melhor desempenho na preservação da viabilidade dos espermatozoides, ao contrário de diluentes sem capacidade de tamponamento e com pH ácido ou próximo ao neutro. Ao estudar a crioconservação do sêmen de *E. malabaricus*, Chao *et al.* (1992) obtiveram sucesso ao empregar um diluente tamponado para pH 8,0, demonstrando a importância do pH básico para a manutenção das características do sêmen. Segundo Gwo (2000) o emprego de diluentes tamponados objetiva impedir que metabólitos produzidos pelos espermatozoides, acumulados no decorrer do processo de congelamento, provoquem mudanças no pH do sêmen, com efeitos deletérios às células espermáticas.

A diluição do sêmen antes do congelamento tem sido recomendada em peixes de água doce e marinhos para otimizar a viabilidade dos espermatozoides após o descongelamento (Scott & Baynes, 1980). A proporção de sêmen: diluente pode variar de 1:1 a 1:20 (Peleteiro *et al.*, 1996; Suquet *et al.*, 2000) porém, na maioria dos estudos conclui-se por proporções de diluição de 1:3 a 1:6 (Mc Andrew *et al.*, 1993).

Dreanno *et al.* (1997) testaram quatro diluições (1:1, 1:2, 1:4 e 1:9) no sêmen do linguado *Scophthalmus maximus*, não observando diferenças significativas entre elas na motilidade e no tempo de motilidade espermática. Withler & Lim (1982) reportaram resultados promissores com o emprego de uma diluição de 1:24 para sêmen de *E. tauvina*, contrariando o exposto por Gwo (2000) de que altas diluições poderiam estar vinculadas à queda na

sobrevivência dos espermatozoides, aparentemente pela exaustão das células espermáticas provocada pelo "efeito diluição". Miyaki et al. (2005) empregaram proporções de 1:2 e 1:4 na crioconservação do sêmen de *E. moara*, não obtendo diferenças significativas entre as mesmas.

Mazur (1970) afirmou que os efeitos da variação contínua do pH, nos meios intra e extracelular, sobre os espermatozoides, dependem da velocidade de resfriamento empregada ao sêmen. Uma velocidade relativamente baixa predisporia as células a uma perda rápida de água, com desidratação e redução do tamanho e posteriormente, do pH. Por outro lado, uma velocidade muito rápida pode não dispor às células o tempo necessário para concluir o fluxo de água e o equilíbrio dos solutos, favorecendo, ainda, a formação de cristais de gelo no seu interior. Em estudos posteriores, Mazur (1977) demonstrou que durante o descongelamento, o gelo pode se recrystalizar, formando blocos maiores que podem danificar/romper as membranas celulares.

De acordo com Suquet et al. (2000), a velocidade de congelamento em peixes marinhos pode variar de 8 a 99°C.min⁻¹, sendo realizada em duas etapas: a primeira em vapor de nitrogênio e a segunda em nitrogênio líquido. Os resultados deste experimento indicaram que as velocidades de congelamento 90°C.min⁻¹ e 60°C.min⁻¹ apresentaram os melhores desempenhos, sem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre elas. Porém, pela praticidade e pela maior capacidade de armazenamento de sêmen das palhetas de 0,50mL (que proporcionam a velocidade de congelamento de 60°C.min⁻¹), recomenda-se o seu emprego na crioconservação do sêmen de *E. marginatus* em detrimento às palhetas de 0,25mL (que proporcionam a velocidade de congelamento de 90°C.min⁻¹).

Withler & Lim (1982) obtiveram resultados adversos empregando a velocidade de 25°C.min⁻¹ para sêmen de *E. tauvina*. Os resultados obtidos na presente pesquisa concordaram com os obtidos por Chao et al. (1992) que, estudando a crioconservação do sêmen de *E. malabaricus*, obtiveram os melhores resultados ao empregar a velocidade de conge-

lamento de 60°C.min⁻¹. Miyaki et al. (2005) obtiveram resultados semelhantes ao empregar a mesma velocidade na crioconservação do sêmen de *E. moara*.

Os crioprotetores empregados para o sêmen de peixes marinhos foram revisados por Suquet et al. (2000) e Gwo (2000). O dimetilsulfóxido (DMSO) tem sido considerado de baixa toxicidade e eficiente na ação de proteger os espermatozoides durante o resfriamento, reduzindo a formação de gelo por meio da diminuição do ponto de congelamento do fluido intracelular durante o processo (Peleteiro et al., 1996). Segundo Chao & Liao (2001) o DMSO é um dos crioprotetores mais amplamente empregado no congelamento de sêmen. Embora de ação não completamente elucidada, sabe-se que o DMSO interage com os fosfolípidos estruturais da membrana da célula espermática, mantendo a propriedade de transporte de água em temperaturas abaixo de 0°C (Thirumala et al., 2006).

Para Wayman et al. (1997), os melhores resultados no uso de DMSO em sêmen de peixes marinhos têm sido obtidos com concentrações variando de 10% a 20%, embora as mais utilizadas estejam entre 7% e 10% (Billard et al., 1995). Mongkonpunya et al. (1995) afirmaram, porém, que o incremento na concentração do DMSO pode provocar redução da motilidade espermática e da vitalidade dos espermatozoides. Neste trabalho os melhores resultados foram obtidos empregando-se uma concentração de DMSO de 5% para o sêmen de *E. marginatus* similar a concentração recomendada por Leung (1987) para o robalo asiático *Lates calcarifer*. Entretanto, os resultados desta pesquisa contrastaram com os resultados obtidos por outros autores para espécies do gênero *Epinephelus*. Withler & Lim (1982) com sêmen de *E. tauvina* e Chao et al. (1992) estudando a crioconservação do sêmen de *E. malabaricus* que obtiveram os melhores resultados empregando uma concentração de 10% de DMSO. Gwo (1993), por sua vez, empregou uma concentração ainda mais alta, de 20%, alcançando bons resultados na crioconservação do sêmen de *E. malabaricus*. Mais estudos em diferentes espécies de *Epinephelus* são necessários para se obter uma visão mais clara sobre esta questão.

CONCLUSÃO

O sêmen da garoupa-verdadeira *E. marginatus* pode ser crioconservado, sem perda significativa de sua qualidade, empregando-se o diluente B (pH 7,8) na proporção de 1:3 (v/v), com crioprotetor (dimetilsulfóxido) a 5% e em uma velocidade de congelamento de 60°C.min⁻¹, proporcionada com o uso de palhetas de 0,50mL.

REFERÊNCIAS

- Babiak, I.; Brzuska, E. & Perkowski, J. (2000). Fractional factorial design of screening experiments on cryopreservation of fish sperm. *Aquaculture Research*, 31(1):273-82.
- Barreiros, J.P. (1998). Sexual inversion in *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces: Serranidae, Epinephelinae) nos Açores. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, 5(1):81-90.
- Billard, R. (1978). Some data on gametes preservation and artificial insemination in teleost fish. *Actes de Colloques du CNEOX*, 8(2):59-73.
- Cerqueira, V.R. Cultivo de peixes marinhos. In: Baldisseroto, B. & Gomes, L.L. (Ed.) 2005. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: Editora UFSM. p.369-406.
- Chao, N.H.; Tsai, H.P. & Liao, I.C. (1992). Short and long-term cryopreservation of sperm and sperm suspension of the grouper, *Epinephelus malabaricus* (Bloch and Schneider). *Asian Fisheries Science*, 5(1):103-116.
- Chao, N.H. & Liao, I.C. (2001). Cryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos. *Aquaculture*, 197(1):161-89.
- Chereguini, O.; Banda, I.G. de La; Rasines, I. & Fernandez, A. (2001). Larval growth of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) produced with fresh and cryopreserved sperm. *Aquaculture Research*, 32(1):133-43.
- Cloud, J.G.; Miller, W.H. & Levanduski, M.J. (1990). Cryopreservation of sperm as a means to store salmonid germ plan and to transfer genes from wild fish to hatchery populations. *Progressive Fish Culturist*, 52(1):51-3.
- Cox, E.; Fry, P. & Johnston, A. (2006). Mesocosm technology advances grouper culture in northern Australia. *Aquaculture Asia Magazine J.*, 36(6):34-6.
- Dreanno, C.; Suquet, M.; Quemener, L.; Cosson, J.; Fierville, F.; Normant, Y. & Billard, R. (1997). Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa. *Theriogenology*, 48(3):589-603.
- Fauvel, C.; Savoye, O.; Dreanno, C.; Cosson, J. & Suquet, M. (1999). Characteristics of sperm of captive sea bass, *Dicentrarchus labrax* in relation to its fertilization potential. *Journal of Fish Biology*, 54(2):356-69.
- Fennessy, S.T. (2006) Reproductive biology and growth of the yellowbelly rockcod *Epinephelus marginatus* (Serranidae) from South-East Africa. *África Journal of Marine Science*, 28(1):1-11.
- Foote, R.H. (1975). Semen quality from the bull to the freezer. *Theriogenology*, 3(1):219.
- Grier, H. & Neiding, C. (2000). Gonads and gametes of fishes. In: Tiersch, T.R. & Mazik, P.M. (Ed.). *Cryopreservation in Aquatic Species*. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society. p.1-12.
- Gwo, J.C. (1993). Cryopreservation of black grouper (*Epinephelus malabaricus*) spermatozoa. *Theriogenology*, 39(2):1331-42.
- Gwo, J.C. (2000). Cryopreservation of sperm of some marine fishes. In: Tiersch, T.R. & Mazik, P.M. (Ed.). *Cryopreservation in Aquatic Species*. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society. p.138-60.
- Harvey, B. (1982). Cryobiology and the storage of teleost gametes. In: Goos H.J.T. & Richter. J.J. (Ed.) *Proceeding of the international symposium on the reproductive physiology of fish*. World Aquaculture Society. Wageningen, Netherlands. p.123-7.
- Horváth, A.; Urbányi, B.; Mims, S.D.; Bean, W.B.; Giomelsky, B. & Tierch, T.R. (2006). Improved cryopreservation of sperm of paddlefish (*Polyodon spathala*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 37(4):356-62.
- Kuo, C.M.; Ting, Y.Y. & Yeh, S.L. (1988). Induced sex reversal and spawning of blue-spotted grouper *Epinephelus fario*. *Aquaculture*, 74(1):113-26.
- Lahnsteiner, F., Weismann, T. & Patzner, R.A. (1997). Methanol as cryoprotectant and the suitability of 1,2ml and 5ml strans for cryopreservation of semen from salmonid fishes. *Aquaculture Research*, 28(2):471-9.
- Legendre, M. & Billard, R. (1980). Cryopreservation of rainbow trout sperm by deep freezing. *Reproduction, Nutrition, and Development*, 20(3):1859-68.
- Leung, L.K. (1987). Cryopreservation of spermatozoa of the barramundi, *Lates calcarifer* (Teleostei: Centropomidae). *Aquaculture*, 64(1):243-7.
- Liao, I. C. (1993). Finfish hatcheries in Taiwan. In: LEE, C. S.; Su, M. S. & Liao, I. C. (Ed.). *Finfish hatchery in Asia: proceedings of finfish hatchery in Asia 91*. Tungkang Marine Laboratory, Taiwan Fisheries Research Institute, Taiwan. p.1-25.
- Machado, L.F.; Andrade, A.B.; Hostim-Silva, M. & Barreiros, J.P. (2003). Habitat use by the juvenile dusky grouper *Epinephelus marginatus* and relative abundance, in Santa Catarina, Brazil. *Journal of Ichthyology and Aquatic Biology*, 6(4):133-8.

- Marino, G.; Azzurro, E.; Finoia, M.G.; Messina, M.T.; Massari, A. & Mandich, A. (2000). Recent advances in induced breeding of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Cahiers Options Mediterraneennes*, 47:215-25.
- Marino, G.; Panini, E.; Longobardi, A.; Mandich, A.; Finoia, M.G.; Zohar, Y. & Mylonas, C.C. (2003). Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRH implant. *Aquaculture*, 219(3):841-58.
- Mazur, P. (1970). The freezing of biological systems. *Science Cryobiology*. 168(4):939-49.
- Mazur, P. (1977). The role of intracellular freezing in the death of cells cooled at supraoptimal rates. *Cryobiology*, 14(1):251-72.
- McAndrew, B.J.; Rana, K.J. & Penman, D.J. (1993). Conservation and preservation of genetic variation in aquatic organism. In: Muir, J.F. & Roberts, R.J. *Recent advances in aquaculture*. Oxford: Blackwell. v. 4. p.295-336.
- Miyaki, K.; Nakano, S.; Ohta, H. & Kurokura, H. (2005). Cryopreservation of kelp grouper (*Epinephelus moara*) sperm using only a trehalose solution. *Fisheries Science*, 71(2):457-8
- Mongkonpunya, K., Chairak, N., Pupipat, T. & Tiersch, T.R. (1995). Cryopreservation of sperm of the Mekong giant catfish. *Asian Fisheries Science*, 3(1):211-21.
- Mounib, M.S.; Hwang, P.C. & Idler, D.R. (1968). Cryogenic preservation of Atlantic cod *Gadus morhua* sperm. *Journal of the Fisheries*, 25(3):2623-32.
- Peleteiro, J.B.; Chereguini, O. & Cal, R.M. (1996). Preliminary results of artificial fertilization carried out with cryopreserved sperm of turbot *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758). *Informe Técnico Del Instituto Espanol de Oceanografía*, 162(1):1-13.
- Rana, K.J. (1996). Preservation of gametes. In: Bromage, N.R. and Roberts, R.J. *Broodstock Management and egg and Larval Quality*. Oxford: Blackwell Science. p.53-75.
- Riley, K., L., Holladay, C.G., Chesney, E.J. & Tiersch, T. R. (2004). Cryopreservation of sperm of red snapper (*Lutjanus campechanus*). *Aquaculture*, 238(1):183-94.
- Rocha, L.O.F. & Costa, P.A.S. (1999). Manual de identificação de peixes marinhos para a costa central. Rio de Janeiro: Revizee.
- Sadovy, Y. & Colin, P.L. (1995). Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. *Journal of Fish Biology*, 46(3):961-76.
- Salisbury, G.W. & Vandemark, N.L. (1964). *Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bovidos*. Zaragoza: Acribia. 707p.
- Sanches, E.G.; Henriques, M.B. & Fagundes, L. (2006). Viabilidade econômica do cultivo da garoupa verdadeira (*Epinephelus marginatus*) em tanques-rede, região Sudeste do Brasil. *Informações Econômicas*, 36(8):15-25.
- Sanches, E.G. (2006). Boas perspectivas para o cultivo de meros, garoupas e badejos no Brasil. *Panorama da Aquicultura*, 16(93):44-51.
- Sanches, E. G. (2007). Piscicultura marinha no Brasil: uma alternativa de produção e conservação. *Revista Aquicultura e Pesca*, 14(4):16-22.
- Scott, A.P. & Baynes, S.M. (1980). A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 17(3):707-39.
- Spedicato, M.T.; Lembo, G.; Di Marco, P. & Marino, G. (1995). Preliminary results in breeding of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Cahiers Options Mediterraneennes*, 16(1):131-48.
- Suquet, M., Dreanno, C., Fauvel, C., Cosson, J. & Billard, R. (2000). Cryopreservation of sperm in marine fish. *Aquaculture Research*, 31(1):231-43.
- Tiersch, T.R. (2000). Introduction. In: Tierch, T.R. & Mazik, P.M. (Ed). *Cryopreservation in Aquatic Species*. Baton Rouge, Louisiana: Word Aquaculture Society. p. xix-xxvi.
- Tierch, T. R., Waymann, W.R., Skapura, D.P., Neidig, C.L. & Grier, H.J. (2004). Transport and cryopreservation of sperm of the common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch). *Aquaculture Research*, 35(1):278-88.
- Thirumala, S.; Campbel, W.T.; Vicknair, M.R.; Tiersch, T.R. & Devireddy, R.V. (2006). Freezing response and optimal cooling rates for cryopreserving sperm cells of striped bass, *Morone saxatilis*. *Theriogenology*, 66(3):964-73.
- Tucker, J.W., Jr. & Fitzgerald, W.J. (1994). Induced spawning in two Western Tropical Pacific groupers, *Plectropomus areolatus* and *Epinephelus fuscoguttatus*, in Palau. *Asian Fisheries Science*, 7(1):57-62.
- Wayman, W.R.; Thomas, R.G. & Tiersch, T.R (1997). Refrigerated storage and cryopreservation of black drum (*Pogonias cromis*) spermatozoa. *Theriogenology*, 47(4):1519-29.
- Wayman, W.R. & Tiersch, T.R (2000). Research methods for cryopreservation of sperm. In: Tiersch, T.R. & Mazik, P.M (Ed.). *Cryopreservation in Aquatic Species*. Baton Rouge: The World Aquaculture Society. p.264-79.
- Withler, F.C. & Lim, L.C. (1982). Preliminary observations of chilled and deep-frozen storage of grouper (*Epinephelus tauvina*) sperm. *Aquaculture*, 37(2):389-92.
- Zabala, M.; Garcia-Rubies, A.; Louisy, P. & Sala, E. (1997) Spawning behavior of the Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus* (LOWE, 1834) (Pisces, Serranidae) in the Medes Islands Marine Reserve (NW Mediterranean, Spain). *Scientia Marina*, 61(1):65-77.

Recebido em: 25/3/2008

Versão final reapresentada em: 17/6/2008

Aprovado em: 12/8/2008



ARTIGO | ARTICLE

Utilização de recursos alimentares presentes no ambiente antrópico pelo caramujo gigante africano *Achatina fulica* Bowdich, 1822: subsídios para o manejo

Use of alimentary resources present in the anthropic environment by the giant African snail Achatina fulica Bowdich, 1822: background information for management

Marta Luciane Fischer¹
Leny Cristina Milléo Costa¹
Izabel Schneider Nering¹

RESUMO

O caramujo invasor *Achatina fulica* ocorre em abundância na área urbana de inúmeros municípios brasileiros. Partindo da premissa que a presença de resíduos sólidos orgânicos e inorgânicos fornece substratos para refúgio e recursos alimentares para os caramujos contribuindo para a sua proliferação, o presente estudo teve como objetivo avaliar o consumo e a preferência de *A. fulica* por esses recursos. O estudo foi desenvolvido no Núcleo de Estudos do Comportamento Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná de 2002 a 2005 e constou da realização de seis experimentos para avaliar o consumo em diferentes classes de tamanho de caramujo, o consumo de hortaliças, plantas ornamentais e resíduos sólidos, expansão do horário de forrageamento e preferência alimentar. Foi constatada diferença de consumo nos diferentes tamanhos do animal e variação no consumo qualitativo e quantitativo dos itens oferecidos. A expansão do horário de forrageamento ocorreu apenas diante de alguns itens alimentares. O presente estudo evidenciou a utilização dos resíduos sólidos pelo caramujo-africano. Os dados servem como subsídio para ações de controle dessa espécie invasora.

Palavras-chave: Dieta. Espécie invasora. Forrageamento. Paraná, Brasil.

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Departamento de Biologia, Núcleo de Estudos do Comportamento Animal. R. Imaculada Conceição, 1155, 80215-901, Curitiba, PR, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: M.L. FISCHER. E-mail: <marta.fischer@puçpr.br>.

ABSTRACT

The invader snail *Achatina fulica* occurs in abundance in the urban area of numerous Brazilian cities. Based on the assumption that the presence of organic and inorganic solid residues supplies substrate for refuge and alimentary resources, thereby contributing to snail proliferation, the present study aimed to evaluate the consumption and the preference of *A. fulica* for the available resources. The study was conducted at the NEC-PUC-PR (Center for Animal Behavior Studies at the Catholic University of Paraná) between 2002 and 2005, and consisted of six experiments that evaluated consumption in different classes of snail size, the consumption of vegetables, ornamental plants and solid waste, extension of the foraging period and alimentary preference. We verified the difference in consumption according to snail size and the variation in qualitative and quantitative consumption. The extension of the foraging period only occurs with some items of food. The present study witnessed the consumption of solid waste by the giant African snail and this data serves as support for the control actions, since residue management and ecological attitudes will benefit the actions, and help to decrease the resources available for the invading species.

Key words: Diet. Foraging. Invading species. Paraná, Brazil.

INTRODUÇÃO

O caramujo africano *Achatina fulica* Bowdich, 1822 tem sido considerado como espécie invasora em inúmeros países (Lowe et al., 2004). Dentre os problemas causados pela espécie destaca-se o impacto na saúde humana (por ser potencialmente hospedeiro de nematóides de interesse médico como *Angiostrongylus cantonensis* e *Angiostrongylus costaricensis* e de interesse veterinário tais como *Angiostrongylus vasorum* e *Angiostrongylus abstrusus*), impactos ambientais (por competir com espécies nativas por substratos de repouso e alimento), e impacto econômico (através do consumo de hortaliças e plantas ornamentais). O hábito alimentar generalista, incluindo plantas nativas, e a alta voracidade atribuída à espécie podem maximizar o dano (Mead, 1961, 1979).

A espécie foi introduzida no Brasil ilegalmente, provavelmente na década de 1980 através do Paraná (Teles & Fontes, 2002). O primeiro registro de animais livres neste estado foi em Morretes e Antonina em 1994, sendo que em 2002 já estavam disseminados por todo litoral paranaense (Kosloski & Fischer, 2002). Foram realizados diagnósticos da invasão em Pontal do Paraná (Simião & Fischer, 2004), Guaraqueçaba

(Fischer & Colley, 2004) e Ilha Rasa (Fischer & Colley, 2005). Em todos esses locais o caramujo foi registrado apenas na área urbana, principalmente em terrenos baldios e em cercas vivas, que apresentavam resíduos sólidos orgânicos e inorgânicos. Assim, parte-se da premissa que a complexidade estrutural do ambiente, devido aos inúmeros substratos possíveis de serem utilizados como refúgio, somado à disponibilidade de alimentos de fácil consumo é um dos principais fatores que favorecem o aumento populacional dessa espécie invasora. Por isso, é urgente o manejo dessas populações, tendo como participantes das ações os moradores locais.

A. fulica alimenta-se naturalmente de plantas vivas e mortas, porém há indícios que a preferência e a taxa de consumo diferem ao longo do desenvolvimento pós-embriônico (Raut & Chose, 1983; Pacheco et al., 1998; Raut & Barker, 2002). Segundo Raut & Chose (1983), a voracidade do caramujo diminui com a distância do epicentro da invasão, em decorrência da diminuição da população. Além disso, propriedades físicas (pH, cálcio) e biológicas do solo têm ação direta no tamanho, peso, forma e coloração da concha (Mead 1961, 1979; Ireland, 1991, Pacheco et al., 1998). Foram realizados vários levantamentos de plantas de importância econômica

que são consumidas pela *A. fulica*, incluindo informações sobre o grau de suscetibilidade das espécies vegetais. Raut & Barker (2002) fizeram uma compilação desses dados apresentando 46 espécies de plantas de interesse econômico e 37 ornamentais e medicinais susceptíveis ao ataque pelo caramujo. No entanto, segundo os autores algumas plantas são imunes, principalmente as aromáticas e as gramineas.

Apesar de serem conhecidas as plantas suscetíveis ao caramujo-africano, pouco foi estudado a respeito do consumo de resíduos gerados nos centros urbanos e variáveis como diferença entre estágios ontogenéticos e ampliação do horário de forrageamento. Esses dados são extremamente importantes para a compreensão dos mecanismos que favorecem sua presença no ambiente antrópico. Segundo Raut & Barker (2002), a disponibilidade de diferentes recursos alimentares que gere possibilidade de escolha, bem como a abundância de alimentos, pode ter um efeito importante na dinâmica da população. Estes fatores podem influenciar a taxa de crescimento, a sobrevivência, a fecundidade e o recrutamento, uma vez que a aquisição de diferentes nutrientes resulta em indivíduos maiores em um curto espaço de tempo. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar, em experimentos de laboratório, o consumo e a preferência de alimentos encontrados no ambiente urbano pelo caramujo-africano *A. fulica*.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no laboratório do Núcleo de Estudos do Comportamento Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (NEC-PUCPR) de 2002 a 2005. Os animais foram coletados na área urbana do município de Guaraqueçaba, litoral norte do Paraná (25°18'24"S; 48°19'44"W) e acondicionados em terrários de 100L mantidos a temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade ambientais. Para avaliação do consumo e da preferência de alimentos foram realizados seis experimentos, cada um com 90 animais com

comprimento da concha variando de 5,0 a 9,5cm, isolados em recipientes plásticos de 5L contendo terra e um recipiente com água. Os itens alimentares foram fornecidos, individualmente, às 10h e verificada a taxa de consumo após 24 horas, categorizando as sobras em proporções de 0, 5% e 100,0% do original ofertado.

Experimento I: Consumo alimentar por animais de diferentes tamanhos. Foram utilizados 30 caramujos pequenos (1,0 a 4,0cm de comprimento de concha), 30 médios (4,0 a 9,0cm) e 30 grandes (acima de 9,0cm). As classes de tamanho basearam-se nos dados de Tomiyama (2002). Os moluscos receberam dez variedades de alimentos separados em hortaliças (couve, alface, agrião e repolho), folha de milho, frutas (banana, laranja e mamão) e cascas (batata e chuchu). A determinação dos itens alimentares teve como base uma avaliação preliminar dos recursos disponíveis em terrenos baldios e quintais em Guaraqueçaba. Cada item alimentar foi oferecido uma vez, sendo testado um item por vez com um intervalo de dois dias entre os testes. No período de intervalo havia apenas água à disposição dos caramujos. Para a avaliação de ganho de peso, antes e após o oferecimento do alimento, o animal era pesado em balança analítica de precisão (0,001 mg).

Experimento II: Consumo de hortaliças. Foram testados seis tipos de hortaliças: alface, rúcula, repolho japonês, couve, agrião e talo do agrião. Cada item foi oferecido uma vez, sendo testado um tipo por vez com um intervalo de dois dias entre os testes. O teste com o alimento mais consumido foi repetido três vezes.

Experimento III: Consumo de plantas ornamentais. Utilizando-se o mesmo procedimento e mesmos animais do experimento II, foram testadas folhas de buganvília (*Bougainvillea spectabilis* Willd), hibisco (*Hibiscus* sp.), cheflera-pequena (*Schefflera arboricola* (Hayata) Merr.) e figueira (*Ficus* sp.), flor de buganvília, hibisco (*Hibiscus sinensis* Mill.), beijinho (*Impatiens walleriana* Hook. f.), hortênsia (*Hydrangea macrophylla* Thunb.), grama (Gramineae) e serrapilheira.

Experimento IV: Horário de desencadeamento do forrageamento. A avaliação foi feita com mesmo método e animais do experimento I, determinando-se a frequência de consumo em dois períodos: tarde (16h às 17h) e noite (19h às 20h).

Experimento V: Consumo de resíduos sólidos. Para esta análise, foi realizada uma vistoria dos locais de ocorrência de *A. fulica* em Guaraqueçaba, e avaliada a presença dos seguintes resíduos: papelão, isopor, plástico, gaze e papel; arroz, feijão, lentilha, macarrão e carne cozidos; além de alimentos industriais à base de milho. No laboratório foi realizada a análise do consumo desses resíduos utilizando o mesmo procedimento do experimento II.

Experimento VI: Preferência alimentar. O último estudo constou da análise da preferência alimentar, sendo que para cada caramujo foram oferecidos em proporções iguais e simultaneamente os alimentos mais consumidos nos experimentos com hortaliças (Exp. II), plantas ornamentais (Exp. III) e resíduos sólidos (Exp. V).

Os dados de frequência foram analisados através do teste do qui-quadrado, sendo considerados significativos os resultados com $p < 0,05$. Para comparação de ganho médio de peso foi utilizado o teste paramétrico ANOVA e teste a posterior de Tukey.

A pesquisa foi desenvolvida segundo a legislação vigente no País, possuindo licença para captura e transporte dos animais emitida pelo IBAMA-PR (02017.003886/2003-41) e aval do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da PUCPR (CEUA-PUCPR) (CEUA-PUCPR n.36). O material de referência está tombado na coleção científica do Museu de Zoologia da PUCPR (n.11611).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos, o desencadeamento do forrageamento e o consumo alimentar diferem com o estágio do desenvolvimento ontogenético, o tipo de alimento e o período do dia. A frequência de consumo e o alimento preferencial podem apresentar grandes variações relacionadas com o tamanho do animal e com as condições ambientais.

Consumo alimentar por animais de diferentes tamanhos

Durante todo o período do experimento foram consumidos 30,0% das hortaliças, 30,0% das cascas, 12,9% das frutas e não houve consumo da folha de milho (Figura 1). O número de indivíduos

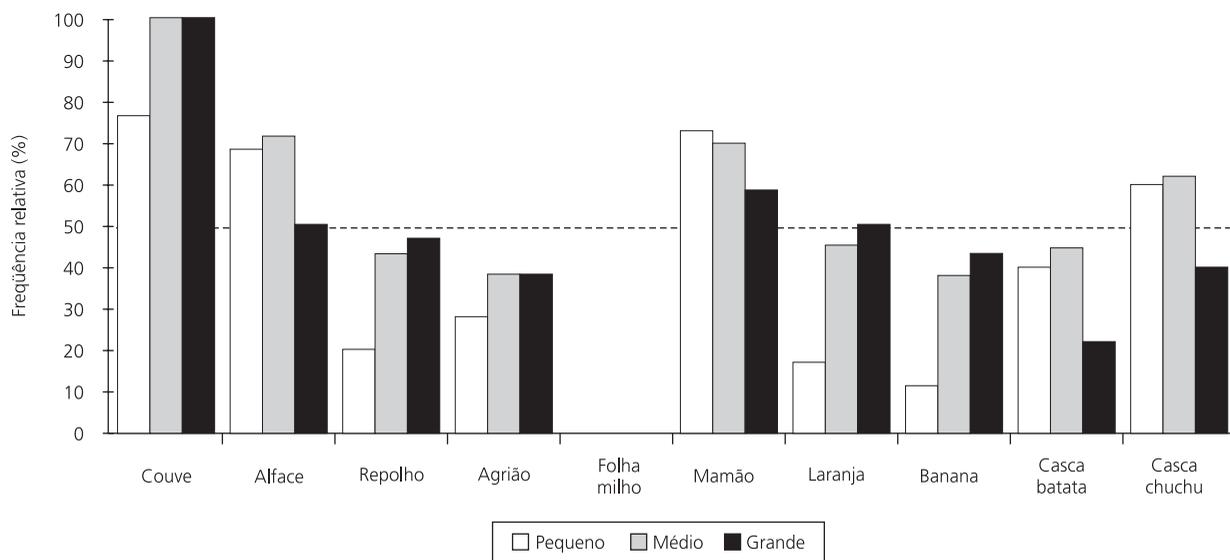


Figura 1. Consumo de hortaliças, frutas e cascas por indivíduos pequenos, médios e grandes de *Achatina fulica*. Curitiba (PR), 2002.

que não comeram foi significativamente maior dos que comeram ($\chi^2=10,4$; g.l.=1; $p<0,01$). Foram consumidas significativamente mais verduras ($\chi^2=55$; g.l.=3; $p<0,001$); das quais, a couve foi a mais utilizada ($\chi^2=97,2$; g.l.=3; $p<0,001$). Entre as frutas, o mamão ($\chi^2=48,9$; g.l.=2; $p<0,001$) foi a mais consumida e, entre as cascas, a do chuchu ($\chi^2=4,8$; g.l.=1; $p<0,05$).

O consumo diferiu conforme a classe de tamanho do caramujo (grande e pequeno: $\chi^2=84,9$; g.l.=8; $p<0,001$; médio e pequeno: $\chi^2=42,9$; g.l.=8; $p<0,001$). Animais grandes e médios consumiram mais laranja, banana e repolho, enquanto os médios comeram mais casca de batata. A maioria significativa dos caramujos médios e grandes que começaram a ingestão consumiu 100% do alimento ($\chi^2=15,6$; g.l.=3; $p<0,01$ e $\chi^2=24,5$; g.l.=1; $p<0,01$, respectivamente). Já nos pequenos não houve diferenças entre as taxas de consumo.

O ganho de massa corporal, por classe de tamanho, com consumo de todas as variedades de alimento foi maior nos pequenos (ANOVA $F=14$; $p<0,01$): média - $M=0,53$ desvio-padrão - $DP=0,47g$ ($n=47$; i.v.=0,01-2,00), sendo equivalente a 7,2% do peso inicial. Nos médios foi de $M=1,10$, $DP=0,82g$ ($n=47$; i.v.=0,01-3,33), equivalente a 5,0% do peso inicial. Finalmente, nos grandes foi de $M=1,92$, $DP=1,97g$ ($n=31$; i.v.=0,29-9,60) equivalente a 1,8% do peso inicial.

A diferença obtida na freqüência de consumo e na utilização de diferentes recursos alimentares entre as três classes de tamanho reflete o papel ecológico de cada fase do desenvolvimento ontogenético. O maior consumo em relação ao próprio peso registrado nos animais menores reflete a fase de desenvolvimento mais rápida e a necessidade de maiores recursos energéticos. Indivíduos de *A. fulica* com mais de 6cm de comprimento de concha consomem até 10% do seu peso diariamente. Raut & Barker (2002) e Sidel'nikov & Stepanov (2000), consideram que o crescimento de *A. fulica* decresce com o aumento da população, uma vez que ao aumentar o número de animais no terrário de 10 a 60 caramujos/m² para 48 a 163 caramujos/m² diminui

a taxa de consumo e, automaticamente, a velocidade de crescimento. A diferença quantitativa e qualitativa na utilização dos itens alimentares também foi registrada por Raut & Chose (1983) e atribuída principalmente ao aparato alimentar, que demanda alimentos mais macios e suculentos para os animais menores. Já Ireland (1991) relaciona a taxa de crescimento e o tamanho do adulto com as quantidades de cálcio ingeridos durante o desenvolvimento. Segundo Raut & Barker (2002), os requerimentos nutricionais dos recém-eclodidos, dos jovens e dos adultos também são diferentes. Assim que eclodem, os juvenis retiram o cálcio das cascas dos ovos e os nutrientes do solo. Após algumas semanas de vida, desenterram-se e deslocam-se verticalmente, passando a usar vegetais vivos de folhas macias. Esta é a fase em que há o maior consumo e que, de fato, gera os maiores prejuízos econômicos. Quando atingem tamanhos maiores permanecem mais ao nível do solo, principalmente sob a serrapilheira, consumindo predominantemente folhas mortas. Diferenças comportamentais durante o desenvolvimento corroboram com essas informações, sendo que Tomiyama (2002) verificou que os jovens são mais ativos e os adultos mais territoriais.

Consumo de hortaliças

A maioria das hortaliças desencadeou o forrageamento ($\chi^2=258$; g.l.=6; $p<0,01$), porém houve variação na freqüência de consumo. Dos itens consumidos totalmente ($\chi^2=142$; g.l.=6; $p<0,01$) houve prevalência da alface e da rúcula. Já o consumo parcial do alimento fornecido (Figura 2) foi significativo para o repolho japonês, folha de agrião e couve ($\chi^2=186$; g.l.=6; $p<0,01$). Observou-se a maior freqüência do consumo de alface. Quando repetido os testes com alface, em três amostras predominou 100% de consumo ($\chi^2=9,6$; g.l.=3; $p<0,05$).

A preferência por certos alimentos, como a couve e a alface, sugere a existência de seleção. Segundo Carefoot & Switzer-Dunlap (1989), a seleção de alimento pode se dar antes e depois da ingestão, sendo na primeira fase avaliados cheiro, textura,

palatabilidade e habilidade na manipulação e na segunda, a digestibilidade e os nutrientes. A avaliação pós-ingestão se constitui no mecanismo mais importante no aprendizado à aversão aos alimentos nocivos e irá determinar escolhas futuras. Porém, Carefoot & Switzer-Dunlap (1989) verificaram que, para essa memorização, é necessário um contato freqüente com o alimento. Raut & Chose (1983) relataram que animais mantidos sob alimentação restrita apresentaram as mesmas preferências que os mantidos com dieta diversificada, sugerindo uma influência genética

na preferência alimentar. Já Croll & Chase (1977, 1980) verificaram que *A. fulica* apresenta uma memória de longa duração associando os odores do alimento com os seus valores nutricionais. Assim, um animal que fica 12 horas em contato com um alimento, após o período de repouso diurno, se direcionará para o mesmo alimento na próxima fase de atividade noturna. Os dados do presente estudo corroboram com essas conclusões, uma vez que, além do consumo total variar de acordo com o teste, no experimento II a alface foi o alimento mais consumido em todas as repetições, pois os animais em cativeiro são alimentados principalmente com essa hortaliça. Essa informação é extremamente importante para programas de manejo, uma vez que há a possibilidade de o recém-eclodido memorizar o odor da planta onde eclodiu e a utiliza como referencial para sítio de repouso.

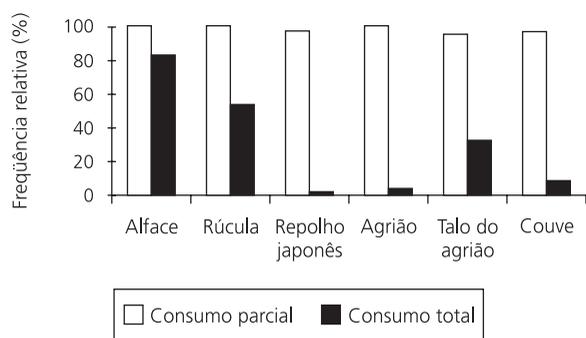


Figura 2. Frequência relativa de indivíduos de *Achatina fulica* que consumiram alguma parte (0,1%-75,0%) das hortaliças (consumo parcial) e dos que as consumiram totalmente (76,0%-100,0%). Curitiba (PR), 2004.

Consumo de plantas ornamentais e serrapilheira

O consumo das plantas ornamentais não diferiu do esperado estatisticamente ($\chi^2=34,4$; g.l.=9; $p<0,01$), exceto para as folhas de cheflera e a de figueira que apresentam frequência de consumo abaixo do esperado. O consumo total do item ofe-

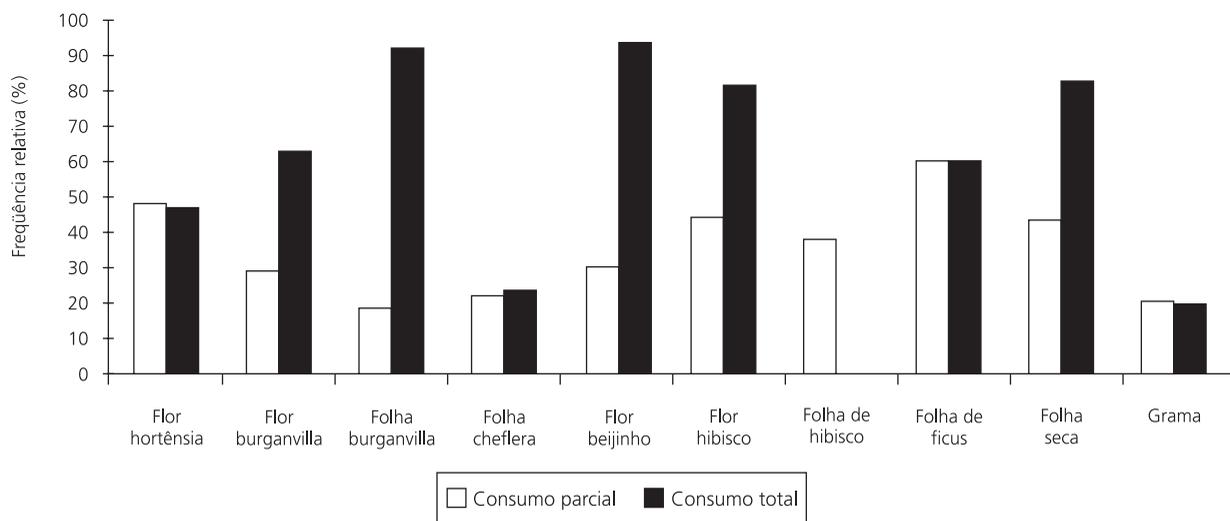


Figura 3. Frequência relativa de indivíduos de *Achatina fulica* que consumiram alguma parte (0,1%-75,0%) das plantas ornamentais (consumo parcial) e dos que as consumiram totalmente (76%-100%). Curitiba (PR), 2004.

recido ($\chi^2=54,2$; g.l.=9; $p<0,01$) também não foi significativo, sendo os itens folha de cheflera, serrapilheira, folha de hortênsia, folha de hibisco, grama e figueira consumidos significativamente menos. Dos animais que iniciaram a alimentação, as maiores porcentagens de consumo total (Figura 3) foi para folha de buganvília (93%), flor de beijinho (93%), serrapilheira (82%) e flor de hibisco (82%).

O papel de praga de *A. fulica* foi relacionado principalmente com a destruição de jardins domésticos, sendo as plantas ornamentais mais susceptíveis (Mead, 1961, 1979). Segundo Raut & Chose (1983), essas plantas são as preferidas por serem mais suculentas e, geralmente, são consumidas em diferentes países, podendo se constituir em uma alternativa para planos de manejo ao serem utilizadas como barreira biológica. Segundo Mead (1961), os dados de literatura são conflitantes, pois uma planta que é totalmente consumida em uma área, nem é tocada em outra. O autor acredita que variáveis ambientais, sazonais e ontogenéticas sejam muito mais importantes, devendo-se até mesmo considerar a presença de outro recurso alimentar mais atrativo. As plantas ornamentais, na sua maioria, são espécies exóticas o que pode ser mais um fator favorável a grandes populações desse caramujo.

Fischer & Colley (2005) estudaram a dinâmica populacional em uma pequena ilha do Paraná e verificaram que *A. fulica* se concentrava em plantas ornamentais (sapateira e pau-d'água) utilizadas como cercas-vivas, onde além do refúgio, encontram alimento e resíduos sólidos orgânicos e inorgânicos depositados pelos moradores. Segundo Raut & Chose (1983), a maioria dos moluscos terrestres prefere folhas mortas, pois bactérias e fungos quebram a parede celulósica e *A. fulica* possui um odontóforo delicado, o que aumenta a dependência de matéria vegetal em decomposição. Segundo Mead (1961), o consumo de planta nativa não é comum, sendo provável que, nos ambientes de mata nativa invadidos, *A. fulica* consuma principalmente a serrapilheira. Em uma área natural em Morretes, na Serra-do-Mar paranaense, não foram observadas plantas nativas com sinal de consumo por uma invasão de

A. fulica. As poucas plantas que apresentavam sinais de consumo eram exóticas e os caramujos foram registrados principalmente no solo (Fischer et al., 2006). Já Paiva (2004) registrou que em laboratório ocorre o consumo de plantas e frutos de diversas espécies de plantas nativas do sudeste brasileiro (acantáceas, arecáceas, cactáceas, piperáceas, zingiberáceas), fato que poderia ser utilizado para subsidiar a hipótese de que as populações podem se estabelecer em áreas naturais, especialmente em bordas de florestas.

Horário de desencadeamento do forrageamento

O consumo no período da noite diferiu conforme o alimento ($\chi^2=213$; g.l.=9; $p<0,001$), revelando preferência por couve, alface, mamão, laranja, repolho, agrião e casca de chuchu. Durante a tarde foi consumido significativamente somente a couve ($\chi^2= 266,5$; g.l.=9; $p<0,001$). A couve e a alface foram mais consumidas no período da tarde, enquanto que a laranja, o repolho, o agrião, as cascas de batata e o chuchu precisaram de mais tempo para desencadear a percepção e o consumo. Embora tenha havido diferenças no desencadeamento do consumo, quando o animal se predispôs a se alimentar, a maioria significativa utilizou 100% do alimento ($\chi^2 =639$; g.l.=3; $p<0,001$) (Figura 4).

Os dados deste teste evidenciaram a possibilidade da expansão do horário de alimentação, embora não seja qualquer alimento que desencadeia o forrageamento. Esses dados, apesar de terem sido observados somente por uma hora após o crepúsculo, demonstram que, na presença de certos alimentos, o animal pode permanecer mais tempo forrageando, aumentando o consumo e, conseqüentemente, o ganho de massa corporal, o que pode culminar no aumento da fertilidade na diminuição do tempo de desenvolvimento ontogenético. Deve-se considerar que, até mesmo no período noturno, o forrageamento é apenas uma das atividades exibidas pelo animal, representando em torno de 15% (Mead, 1979). Segundo Raut & Chose (1983), os caramujos-africanos

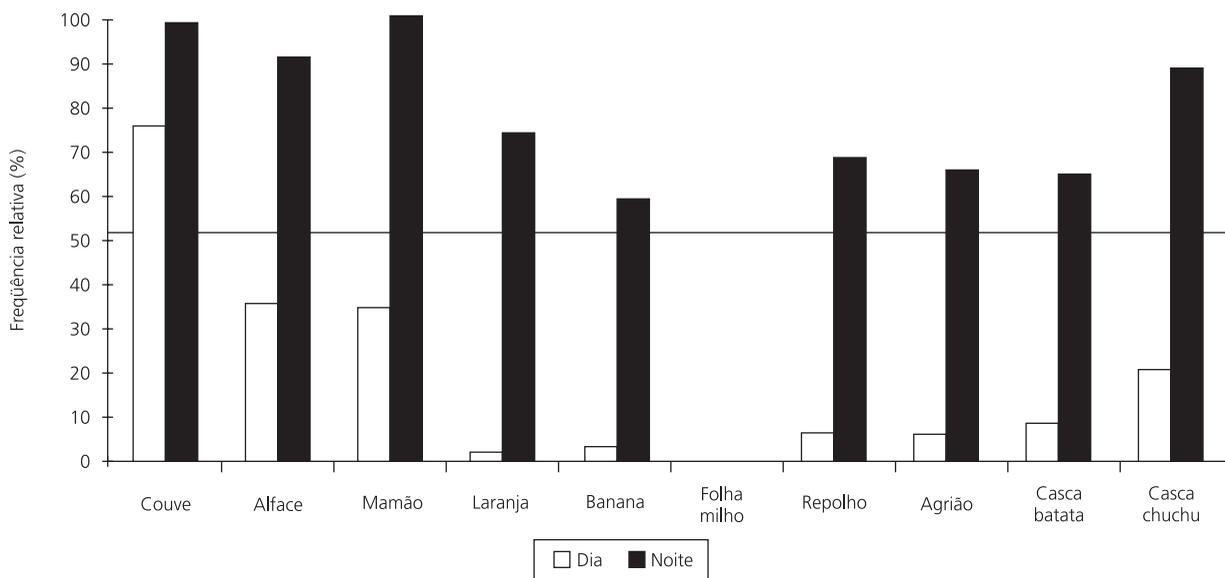


Figura 4. Frequência relativa de consumo de diferentes alimentos por *Achatina fulica* nos períodos diurno e noturno. Curitiba (PR), 2002.

começam a se alimentar quando o ambiente escurece independente do ciclo circadiano e, dependendo da quantidade de alimento, podem estender o forrageamento por até três horas após o amanhecer. Em mata nativa de Morretes foram registrados indivíduos de *A. fulica* forrageando no período da manhã, porém a mata fechada proporcionava luminosidade e umidade semelhantes ao crepúsculo em um ambiente aberto (Fischer et al., 2006). Assim, acredita-se que a colonização do ambiente urbano pelo caramujo invasor pode ser muito favorecida pela presença de resíduos sólidos que estimulem o animal a expandir o seu período de forrageamento.

Consumo de resíduos sólidos orgânicos

Nas observações dos animais em vida livre no ambiente urbano foi constatada a presença de elevadas densidades em quintais ou terrenos baldios que dispunham de grandes quantidades de resíduos orgânicos e inorgânicos. Em Pontal do Paraná foi presenciado o descarte, por parte um morador, de arroz cozido em um terreno baldio no período diurno que atraiu, depois do escurecer, inúmeros animais

que forragearam até as 6h da manhã do dia seguinte. Esses animais se deslocaram por mais de um metro do sítio de repouso e no início da manhã voltaram para o local de origem. Nesse mesmo terreno foi registrado o consumo de resíduos sólidos orgânicos (milho cozido) durante o dia.

Dentre os resíduos testados em laboratório, apenas para o industrial à base de milho (salgadinho), o número de animais que consumiram foi significativamente maior do que os que não consumiram ($\chi^2=8,7$; g.l.=1; $p<0,01$). A frequência de indivíduos que consumiram macarrão e papel não diferiu do acaso e a maioria significativa não consumiu os demais resíduos. Os animais que foram colocados na presença de papel, isopor e alimentos cozidos, consumiram até 50%. A maior frequência de consumo total foi registrada para papel e alimento industrializado, enquanto plástico e gaze não foram consumidos. A maioria significativa dos caramujos que não consumiu papelão ($\chi^2=13$; g.l.=1; $p<0,01$), papel ($\chi^2=26,2$; g.l.=1; $p<0,01$) e alimento industrializado à base de milho ($\chi^2=23,5$; g.l.=1; $p<0,01$) estava estivado. Mesmo ativos, os animais não consumiram os demais resíduos (Figura 5).

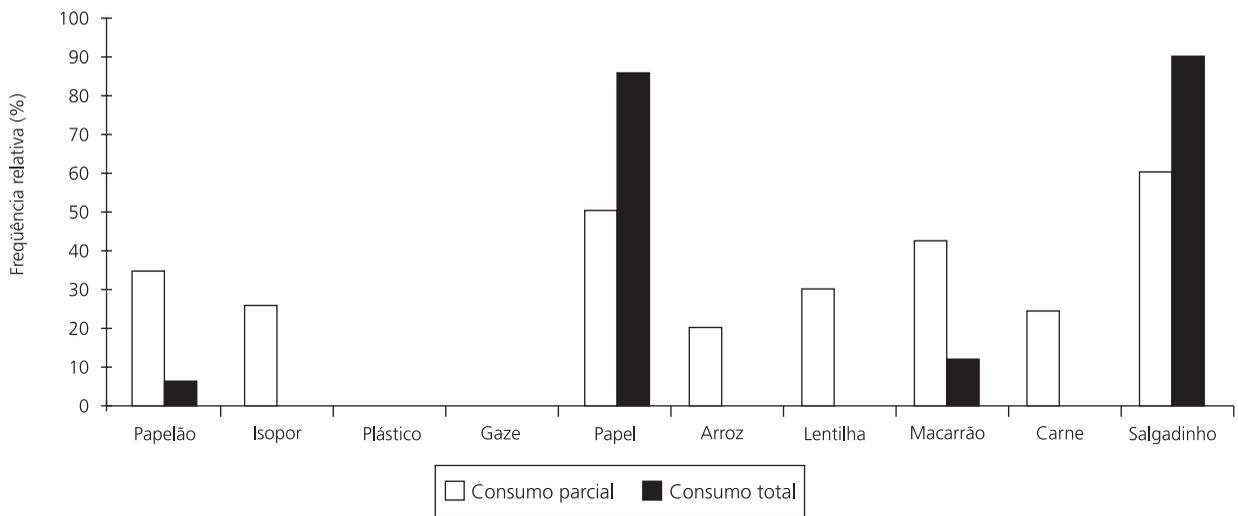


Figura 5. Consumo parcial (0%-75%) e total (76%-100%) de resíduos sólidos encontrados em terrenos baldios no litoral do Paraná pelo caramujo *Achatina fulica*. Curitiba (PR), 2004.

Preferência alimentar

Ao serem oferecidos os itens preferenciais de cada experimento - alface, papel e hibisco - *A. fulica* não apresentou consumo significativo de nenhum dos três ($\chi^2=22,4$; g.l.=2; $p<0,01$), porém a alface e o hibisco foram significativamente menos consumidos, enquanto o consumo do papel não diferiu do acaso.

A utilização do lixo orgânico como fonte de alimento favorece a manutenção da espécie ao redor das residências. A presença de restos de comida e resíduos industriais, como papéis e isopor, em quintais e terrenos baldios além de oferecerem substratos para *A. fulica* se refugiar, podem também ser consumidos, favorecendo o estabelecimento dessa espécie em áreas urbanas. Mead (1961) relatou o hábito alimentar generalista de *A. fulica*, principalmente depois do quarto mês de vida, registrando até mesmo animais em putrefação e fezes humanas e de animais. Vasconcellos & Pile (2001) e Mead (1961) também registraram *A. fulica* consumindo lixo (caixa de papelão e restos de comida), principalmente resíduos úmidos.

Fischer & Colley (2004) observaram que a manutenção de terrenos urbanos limpos, ou seja,

sem resíduos orgânicos e inorgânicos, dificulta ou inviabiliza a instalação, a reprodução e o recrutamento dos caramujos-africanos. Assim, uma vez que a presença de alimentos de fácil ingestão e processamento maximiza o potencial de colonização desses animais o controle desta nova praga urbana está associado a procedimentos ambientais simples, como reciclagem do lixo e utilização de compostagem para resíduos orgânicos. Com a ajuda da comunidade no manejo desses resíduos em seus quintais e nos terrenos baldios, aliada à retirada dos animais encontrados, será possível reduzir o número desses caramujos nas áreas urbanas e impedir a sua entrada nas matas nativas.

AGRADECIMENTOS

A colaboração do Biólogo Marcelo Kosloski e aos graduandos do curso de Biologia, PUCPR, Karla T. Beato, Ana Claudia Fernandez, Eduardo Colley, Lygia Hasselman, Anderson P. Scorsato e Jéssica Tavares.

REFERÊNCIAS

Carefoot, T.H. & Switzer-Dunlap, M. (1989). Effect of amino acid imbalance in artificial diets on food choice

and feeding rates in two species of terrestrial snails *Cepaea nemoralis* and *Achatina fulica*. *Journal of Molluscan Studies*, 55(3):323-8.

Croll, R.P. & Chase, R. (1977). A long-term memory for food odors in the land snail, *Achatina fulica*. *Behavioral Biology*, 19(2):261-8.

Croll, R.P. & Chase, R. (1980). Plasticity of olfactory orientation to foods in the snail *Achatina fulica*. *Journal of Comparative Physiology*, 136(3):267-77.

Fischer, M.L. & Colley, E. (2004). Diagnóstico da ocorrência do caramujo gigante africano *Achatina fulica* Bowdich, 1822 na APA de Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. *Estudos de Biologia*, 26(54):43-50.

Fischer, M.L. & Colley, E. (2005). Espécie invasora em reservas naturais: caracterização da população de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca - Achatinidae) na Ilha Rasa, Guaraqueçaba, Paraná. *Biota Neotropica*, 5(1):1-18.

Fischer, M.L.; Simião, M.S.; Colley, E.; Zenni, R.D.; Silva, D.A.T. & Latoski, N. M. (2006). O caramujo exótico invasor na vegetação nativa em Morretes, PR: diagnóstico da população de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 em um fragmento de Floresta Ombrófila Densa aluvial. *Biota Neotropica*, 6 (2); 2006. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n2/pt/abstract?short-communication+bn03306022006>>. (acesso: 29 out. 2008).

Ireland, M.P. (1991). The effect of dietary calcium on growth, shell thickness and tissue calcium distribution in the snail *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 98(1):111-6.

Kosloski, M.A. & Fischer, M.L. (2002). Primeira ocorrência de *Achatina fulica* (Bowdich, 1822) no litoral do estado do Paraná (Mollusca; Stylommatophora; Achatinidae). *Estudos de Biologia*, 24(49):65-9.

Lowe, S.; Browne, M. & Boudjelas, S. (2004). *100 of the world's worst invasive alien species*. A selection from the global invasive species database. Available from: <<http://www.issg.org/database>>. (cited: 27 set. 2004).

Mead, A.R. (1961). *The giant african snail: a problem in economic malacology*. Chicago: University of Chicago.

Mead, A.R. (1979). Pulmonates, economic malacology with particular reference to *Achatina fulica*. London: Academic Press.

Pacheco, P.; Martins, M.F.; Luchesi, M.; Ribeiro, S.A.; Spers, A. & Rodrigues, P.H.M. (1998). Estudo do desempenho ponderal do escargot *Achatina fulica* em diferentes tipos de solo. *Arquivos do Instituto Biológico*, 65(2):9-12.

Paiva, C.L. (2004). *Achatina fulica* (Moluscos) praga agrícola e ameaça à saúde pública no Brasil. Disponível em: <http://www.geocities.com/RainForest/9468/achat_tr.htm>. (acesso: 27 set. 2005).

Raut, S.K. & Barker, G.M. (2002). *Achatina fulica* Bowdich and other Achatinidae as pests in tropical agriculture. In: Barker, G.M. (Ed.). *Mollusks as crop pests*. Wallingford: CABI Publishing. p.55-114.

Raut, S.K. & Chose, K.C. (1983). Food preference and feeding behavior of two pestiferous snails, *Achatina fulica* Bowdich and *Macrochlamys indica* Godwin-Austen. *Records of the Zoological Survey of India*, 80(1):421-40.

Sidel'nikov, A.P. & Stepanov, I.I. (2000). Effect of the population density on growth and regeneration in the snail *Achatina fulica*. *Izvestiya Rossijskoi Akademii Nauk - Seriya Biologicheskaya*, 5(5):525-32.

Simião, M.S. & Fischer, M.L. (2004). Estimativa e inferências do método de controle do molusco exótico *Achatina fulica* Bowdich 1822 (Stylommatophora; Achatinidae) em Pontal do Paraná, litoral do Estado do Paraná. *Cadernos da Biodiversidade*, 4(2):74-82.

Teles, H.M.S. & Fontes, L.R. (2002). Implicações da introdução e dispersão de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 no Brasil. *Boletim do Instituto Adolfo Lutz*, 12(1):3-4.

Tomiyama, K. (2002). Age dependency of sexual role and reproductive ecology in a simultaneously hermaphroditic land snail, *Achatina fulica* (Stylommatophora: Achatinidae). *Venus*, 60(4):273-83.

Vasconcellos, M.C. & Pile, E. (2001). Ocorrência de *Achatina fulica* no Vale do Paraíba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 35(6):582-4.

Recebido em: 12/5/2008

Versão final reapresentada em: 20/8/2008

Aprovado em: 19/9/2008



ARTIGO | ARTICLE

Levantamento herpetofaunístico em uma localidade no município de Cacoal, Rondônia, Brasil

Herpetofaunistic survey in a location in the municipality of Cacoal, Rondônia, Brazil

Luiz Carlos Batista Turci¹

Paulo Sérgio Bernarde²

RESUMO

Na Amazônia brasileira é encontrada uma rica fauna de anfíbios e répteis. Entretanto, ainda se fazem necessários trabalhos de inventários de espécies devido às várias regiões que ainda permanecem pouco ou nada amostradas. Isso é ainda mais importante em locais que estão sendo rapidamente degradados devido ao desmatamento, à pecuária e à agricultura. Nesse estudo apresenta-se a lista de anfíbios e répteis, obtida em fragmento de floresta secundária no município de Cacoal, Rondônia. O trabalho de campo foi realizado entre o período de março de 2005 a outubro de 2006. Foram utilizados três métodos de amostragem: procura limitada por tempo; armadilhas de interceptação e queda (Pitfall) e encontros ocasionais. Um total de 17 espécies de anfíbios e 40 de répteis foram registrados. Das 40 espécies de répteis encontradas, 23 foram serpentes, 15 de lagartos, um anfisbênio e um quelônio. A maioria das espécies foi encontrada durante a procura noturna limitada por tempo durante a noite. Sugere-se que o pequeno tamanho da área associado a sua estrutura de hábitat além do menor esforço amostral empregado seja o fator responsável pelo menor número de espécies do que no município vizinho de Espigão do Oeste, Rondônia.

Palavras-chave: Herpetofauna. Reptilia. Squamata. Amphibia. Anura.

ABSTRACT

A very species-rich fauna of amphibians and reptiles can be found in the Brazilian Amazon. However, most regions remain under-sampled, and a species inventory

¹ Universidade Federal do Acre, Curso de Pós-Graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais. *Campus* Universitário Reitor Aulio Gelio Alves de Souza, Rod. BR 364, 6637 (km 4), Distrito Industrial, 69915-900, Rio Branco, AC, Brasil. Correspondência para/ *Correspondence to:* L.C.B. TURCI. E-mail: <luiz_turci@yahoo.com.br>.

² Universidade Federal do Acre, Centro Multidisciplinar, Laboratório de Herpetologia. *Campus* Floresta. Cruzeiro do Sul, AC, Brasil.

is still required. This is even more important in places that are rapidly being degraded due to logging, cattle ranching and farming. The present study presents a list of amphibians and reptiles in the secondary forest near Cacoal, Rondônia. The field work was carried out between March 2005 and October 2006. Three sampling methods were used: time-constrained search, pitfall traps with drift fences and chance encounters. A total of 17 amphibious species and 40 reptiles were recorded. Of the reptiles, 23 species were snakes, 15 were lizards, one amphisbaenian and one turtle. The majority of the species were found during time-constrained search at nighttime. It is suggested that the small size of the area, the structure of the habitat, and the less intensive sampling effort are the factors responsible for the lower number of species than in the neighboring locality of Espigão do Oeste, Rondônia.

Key words: Herpetofauna. Reptilia. Squamata. Amphibia. Anura.

INTRODUÇÃO

Na Amazônia brasileira é encontrada uma rica fauna de anfíbios e répteis (Ávila-Pires *et al.*, 2007), entretanto ainda se fazem necessários trabalhos de inventários de espécies devido às várias regiões que ainda permanecem pouco ou nada amostradas (Ávila-Pires, 1995; Azevedo-Ramos & Gallati, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Regiões com intensa atividade antrópica e com degradação dos habitats naturais como o Estado de Rondônia (Vanzolini, 1986; Bernarde, 2007), tornam essa necessidade mais urgente (Vogt *et al.*, 2001).

O primeiro inventário realizado sobre herpetofauna em Rondônia foi uma lista de serpentes coletadas durante a abertura de um "picadão" pela Comissão Rondon para instalação das linhas telegráficas entre 1907 a 1914 (Amaral, 1948). Essa trilha atravessou todo o estado ligando o Mato Grosso ao Amazonas e foi importante para a construção da BR 364 (Oliveira, 2002). Posteriormente, foram realizados dois trabalhos sobre inventários herpetofaunísticos em Rondônia na década de 80, através de coletas ao longo da Br 364 (Vanzolini, 1986; Nascimento *et al.*, 1988) durante o Programa Polono-roeste. Esse programa visava realizar um amplo diagnóstico dos recursos naturais dessa região frente os impactos causados pelo ritmo acelerado do processo de colonização. Esses dois trabalhos de levantamentos forneceram as primeiras listas de espécies para o estado. Vanzolini (1986) apresentou uma lista de anfíbios e répteis, enquanto Nascimento *et al.* (1988) uma de répteis Squamata.

Recentemente, outros inventários foram realizados com a herpetofauna nesse estado. Jorge-Da-Silva (1993) apresentou uma lista de serpentes obtidas durante o resgate de fauna durante o enchimento do lago na Usina Hidrelétrica de Samuel em Candeias. Esse autor também elaborou uma chave para identificação dos gêneros de serpentes para o estado. Yuki *et al.* (1999) realizaram um levantamento de répteis Squamata no Rio Barão do Melgaço em Pimenta Bueno. Brandão (2002) realizou uma avaliação ecológica rápida nas reservas extrativistas de Pedras Negras e Currealinho em Costa Marques, apresentando uma lista de anfíbios e répteis. As comunidades de lagartos em três áreas de Cerrado dos municípios de Guajará-Mirim, Pimenta Bueno e Vilhena foram estudadas por Gainsbury & Colli (2003). Em Espigão do Oeste, foram desenvolvidos estudos sobre as comunidades de anfíbios anuros (Bernarde *et al.*, 1999; Bernarde, 2007), serpentes (Bernarde & Abe, 2006) e lagartos (Macedo *et al.*, 2008).

Apresenta-se aqui nesse estudo a lista de anfíbios e répteis obtida em uma área com fragmento de floresta secundária no município de Cacoal, Rondônia.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo corresponde à Escola Família Agrícola Padre Ezequiel Ramim (Figura 1), localizada na linha 10, km 4 (11°28'00S; 61°19'51 W), município de Cacoal, Estado de Rondônia, Brasil. A área

apresenta 25 hectares (ha), correspondendo a três tipos de ambientes: Floresta Ombrófila Aberta (Mata secundária) 10ha, área de pastagem 10ha e plantações (café e milho) 5ha.

A vegetação original nessa região era a Floresta Ombrófila Aberta (Oliveira, 2002), entretanto após a colonização iniciada a partir da década de 70, essa paisagem foi modificada, principalmente pela implantação de áreas de pastagens e de lavouras (Kemper, 2002). A região é caracterizada pelo Clima Tropical Chuvoso (Oliveira, 2002), apresentando média pluviométrica anual de 2300mm, com um período de seca geralmente entre abril e setembro, e temperatura média anual de 26°C.

Os ambientes aquáticos nessa localidade são um açude (8 x 8m) e um riacho (2m de largura) em borda de mata, além de poças temporárias.

A coleta de dados compreendeu o período de março de 2005 a outubro de 2006 (20 meses), sendo utilizados três métodos de amostragem: procura limitada por tempo; armadilhas de interceptação e queda ("Pitfall") e encontros ocasionais.

A procura limitada por tempo (Campbell & Christman, 1982) se consistiu no deslocamento a pé, lentamente, através de trilhas dentro de mata, à procura de espécimes de anfíbios e répteis que

estivessem visualmente expostos. O esforço de procura abrangeu todos os micro-habitats visualmente acessíveis (chão, troncos caídos, vegetação, dentre outros). Foram realizadas 200 horas de procura, sendo 120 durante a noite e 80 durante o dia. A cada mês foram efetuadas 10 horas de procura, sendo seis durante a noite e quatro durante o dia.

Para as armadilhas de interceptação e queda (Campbell & Christman, 1982; Cechin & Martins, 2000): Neste método foram utilizados tambores plásticos (20 litros, com 40cm de altura), enterrados a cada cinco metros e interceptados por uma cerca-guia de lona plástica com 80cm de altura. Foi instalada uma série de armadilhas em linha reta, constituída por cinco tambores, com uma cerca-guia de 30 metros. As armadilhas permaneceram abertas 20 dias por mês durante os meses de setembro de 2005 a agosto de 2006, totalizando 240 dias de amostragem.

Encontros ocasionais são os espécimes coletados durante outras atividades que não sejam de procura.

Os espécimes capturados foram sacrificados e fixados conforme as técnicas usuais para anfíbios (Callefo, 2002) e répteis (Franco *et al.*, 2002). Alguns espécimes de serpentes, onde foi notado volume no corpo, foram abertos para análise de conteúdo estomacal.

Para a identificação dos espécimes foram utilizadas as chaves taxonômicas e descrições disponíveis para cada grupo na Amazônia: anfíbios (Duellman, 1978; Rodríguez & Duellman, 1994; De La Riva *et al.*, 2000), lagartos (Ávila-Pires, 1995), serpentes (Campbell & Lamar, 1989; Cunha & Nascimento, 1993; Jorge-Da-Silva, 1993) e anfisbênios (Vanzolini, 2002).

Este estudo foi realizado com a Licença 148/05 do Centro de Conservação de Répteis e Anfíbios (IBAMA/RAN). Espécimes-testemunhos foram depositados na Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Acre (UFAC), *Campus Floresta* em Cruzeiro do Sul, AC.

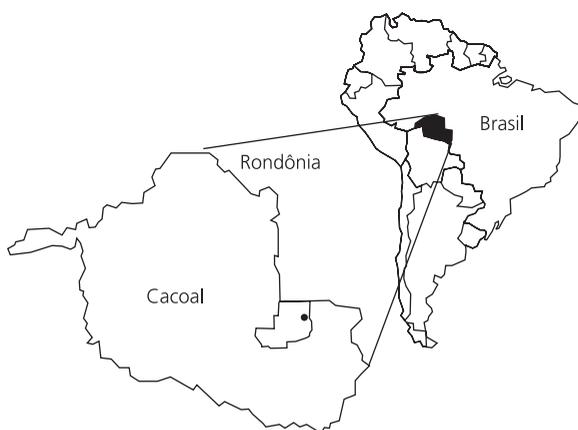


Figura 1. América do Sul, mostrando a localização de estado de Rondônia o município de Cacoal e o local de coleta de dados, 2004.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas 57 espécies, sendo 17 de anfíbios e 40 de répteis (Anexo). Os anfíbios pertencem a sete famílias, sendo Hylidae a mais representativa com oito espécies. Das 40 espécies de répteis encontradas, 23 são serpentes, 15 são lagartos, uma é anfisbênio e uma é quelônio. A família com mais espécies foi Colubridae com 13. A curva do coletor (Figura 2) atingiu a assíntota no 15º mês, a partir daí foi adicionado na lista somente um espécime de *Bothriopsis bilineatus*, encontrado por terceiros em fragmento florestal próximo da área de estudo.

Rondônia é considerada uma região de complexa interação de faunas, fato relacionado com a complexidade de sua história ambiental e geológica (Ávila-Pires, 1995). Essa região é caracterizada fisionomicamente por ser um mosaico entre cerrado e floresta amazônica (Vanzolini, 1986; Jorge-Da-Silva, 1993), com predomínio dessa última formação vegetal. Apesar da proximidade de áreas de cerrado em Pimenta Bueno (Gainsbury & Colli, 2003), assim como em Espigão do Oeste (Bernarde & Abe, 2006; Bernarde, 2007; Macedo *et al.*, 2008), na área de estudo também foram encontradas formas predominantemente amazônicas.

A maioria das espécies foi obtida em procura noturna limitada por tempo (30 espécies), seguida pelos encontros ocasionais (21 espécies), pela procura diurna limitada por tempo (15 espécies) e pelas armadilhas de interceptação e queda (4 espécies).

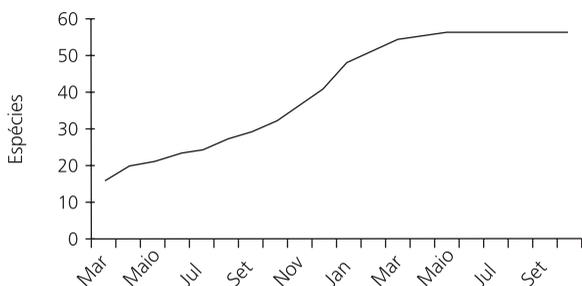


Figura 2. Curva do Coletor, amostragem de espécies de anfíbios e répteis entre os meses de março de 2005 a outubro de 2006.

A procura noturna na Amazônia tem maior taxa de encontro de serpentes (Martins & Oliveira, 1998; Bernarde & Abe 2006) e, também, de anuros que apresentam em sua maioria atividade de vocalização nesse período (Bernarde, 2007). A pouca obtenção de espécies nas armadilhas de interceptação e queda se deve provavelmente ao pequeno tamanho dos baldes (Cechin & Martins, 2000), além disso, apenas uma série de armadilha foi construída.

Lagartos do Gênero *Ophiodes* não eram conhecidos para o Estado de Rondônia (Ávila-Pires, 1995). Martins (1998) realizou uma revisão sobre esse gênero e a espécie aqui registrada se trata de uma espécie em fase de descrição por esse autor.

Alguns registros anedóticos sobre a história natural de serpentes foram obtidos nesse estudo; durante a manhã no mês de outubro. Um casal de *Liophis reginae* foi encontrado em cópula debaixo de um tronco caído. Uma *Anilius scytale*, espécie que se alimenta de vertebrados alongados (Martins & Oliveira, 1998), regurgitou uma serpente *Atractus albuquerquei* após a captura. *Oxyrhopus melanogenys* é uma serpente que preda principalmente lagartos e roedores (Bernarde & Abe, 2006). Nesse estudo foi encontrada uma lagartixa *Hemidactylus mabouia* no conteúdo estomacal de um espécime juvenil dessa espécie e um roedor em um adulto.

No município vizinho de Cacoal em Espigão do Oeste (RO), estudos sobre a herpetofauna registraram a ocorrência de 132 espécies de anfíbios e répteis em áreas florestadas e de pastagem (Bernarde *et al.*, 1999; Bernarde & Abe, 2006; Bernarde, 2007; Macedo *et al.*, 2008). A diferença entre os tamanhos das áreas pesquisadas é um fator responsável pela menor riqueza de espécies obtidas nesse estudo em relação aos de Espigão do Oeste. Enquanto a área de estado atual apresenta 25 hectares (ha), as riquezas de anuros e lagartos em Espigão do Oeste foram registradas em uma fazenda de 4 mil ha (Bernarde & Abe, 2006; Bernarde, 2007) e as serpentes foram localizadas em vários pontos de Espigão do Oeste (Bernarde & Abe, 2006).

Outro possível fator responsável pelo resultado atual é a estrutura dos habitats. Esses mesmos

trabalhos em Espigão do Oeste e também na região de Manaus no Amazonas (Tocher, 1998), demonstraram que ocorre uma diminuição de espécies, principalmente de anuros e lagartos, nas áreas onde as florestas foram derrubadas e transformadas em pastagens. De 47 espécies de anuros e 29 de lagartos registradas em Espigão do Oeste, 20 e 8 respectivamente, foram encontradas em área de pastagem (Bernarde, 2007; Macedo *et al.*, 2008). Com a diminuição do tamanho dos fragmentos florestais, ocorre uma diminuição das espécies de anuros florestais (Gascon *et al.*, 1999). Evidencia-se que esse fragmento florestal com 10 hectares de mata secundária não apresenta condições de sobrevivência para várias espécies florestais conhecidas para a região (Bernarde, 2007; Macedo *et al.*, 2008). Entretanto, algumas espécies florestais foram encontradas como o anuro *Adelphobates quinquevittatus*, os lagartos *Anolis* spp. e as serpentes *Corallus caninus*, *Micrurus hemprichii* e *Bothrops bilineatus*.

As diferenças no esforço amostral nesse estudo com os realizados em Espigão do Oeste também é outro fator responsável pelos resultados obtidos. Em Espigão do Oeste foram empregadas 960 horas de procura limitada por tempo contra 200 horas em Cacoal. O número e o tamanho das armadilhas de interceptação e queda também foram diferentes; 24 tambores de 200L permaneceram abertos durante 365 dias (Bernarde & Abe, 2006; Bernarde, 2007), enquanto em Cacoal apenas cinco tambores de 20 litros permaneceram abertos durante 240 dias.

Foram registradas para essa localidade 57 espécies, sendo 17 anfíbios e 40 répteis. A curva de coletor indica que poucos acréscimos de espécies ocorreriam se houvesse continuidade na amostragem. Na procura noturna limitada por tempo foi registrado o maior número de espécies. Sugere-se que o pequeno tamanho da área associado à sua estrutura de hábitat e ao menor esforço amostral empregado, seja o fator responsável pelo menor número de espécies quando comparado à riqueza da herpetofauna do município vizinho, Espigão do Oeste (RO).

A G R A D E C I M E N T O S

A Reginaldo A. Machado pela leitura e sugestões ao manuscrito. Ao RAN-IBAMA pela expedição da licença de coleta. Aos funcionários, professores e alunos da Escola Família Agrícola Padre Ezequiel pelo apoio nesse estudo.

R E F E R Ê N C I A S

- Amaral, A. (1948). *Ofídios de Mato Grosso*. 2a. ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. (Publicação n.84, Anexo n.5).
- Ávila-Pires, T.C.S. (1995). Lizards of Brazilian Amazônia (Reptilia - Squamata). *Zoologische Verhandelingen*, 1995(299):1-706.
- Ávila-Pires, T.C.S.; Hoogmoed, M.S. & Vitt, L.J. (2007). Herpetofauna da Amazônia. In: Nascimento, L.B. & Oliveira, M.E. (Ed.). *Herpetologia no Brasil II*. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia. p.13-43.
- Azevedo-Ramos, C. & Gallati, U. (2001). Relatório técnico sobre a diversidade de anfíbios na Amazônia Brasileira. In: Capobianco, J.P.R. (Org.). *Biodiversidade na Amazônia brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios*. São Paulo: Instituto Sócio Ambiental. p.79-88.
- Bernarde, P.S.; Kokubum, M.C.N.; Machado, R.A. & Anjos, L. (1999). Uso de habitats naturais e antrópicos pelos anuros em uma localidade no Estado de Rondônia, Brasil (Amphibia: Anura). *Acta Amazônica*, 29(4):555-62.
- Bernarde, P.S. & Abe, S.A. (2006). A snake community at Espigão do Oeste, Rondônia, Southwestern Amazon, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 1(2): 102-113.
- Bernarde, P.S. (2007). Ambientes e temporada de vocalização da anurofauna no Município de Espigão do Oeste, Rondônia, Sudoeste da Amazônia - Brasil (Amphibia: Anura). *Biota Neotropica*, 7(2):87-92.
- Brandão, R.A. (2002). Avaliação ecológica rápida da herpetofauna nas reservas extrativistas de Pedras Negras e Currealinho, Costa Marques, RO. *Brasil Florestal*, 21(74): 61-73.
- Callefo, M.E.V. (2002). Anfíbios. In: Auricchio, P. & Salomão, G.M. (Ed). *Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos*. São Paulo: Terra Brasilis. p.43-73. (Instituto Pau Brasil de História Natural, 2).
- Campbell, H.W. & Christman, S.P. (1982). Field techniques for herpetofaunal community analysis, a Symposium of the Society for the Study of Amphibians and Reptiles and

- the Herpetologists' League. In: Scott Jr, N.J. (Ed.). *Herpetological communities*. Washington: Fish Wildlife Service. p.193-200.
- Campbell, H.W. & Lamar, W.W. (1989). *The venomous reptiles of Latin America*. New York: Cornell University Press. p.425.
- Cechin, S.Z. & Martins, M. (2000). Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em amostragem de anfíbios e répteis no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 17(3): 729-40.
- Cunha, O.R. & Nascimento, F.P. (1993). Ofídios da Amazônia. As cobras da região Leste do Pará. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi série Zoologia*, 9(31):1-191.
- De La Riva, I.; Kohler, J.; Lotters, S. & Reichle, S. (2000). Ten years of research on Bolivian amphibians: Update checklist, distribution, taxonomic problems, literature and iconography. *Revista Española de Herpetología*, 14:19-164.
- Duellman, W.E. (1978). The biology of an equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. *Museum of Natural History Miscellaneous Publications*, 65:1-352.
- Franco, F.L.; Salomão, M.G. & Auricchio, P. (2002). Répteis. In: Auricchio, P. & Salomão, G.M. (Ed.). *Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos*. São Paulo: Terra Brasilis. p.75-125. (Instituto Pau Brasil de História Natural, 3).
- Gainsbury, A.M. & Colli, G.R. (2003). Lizard assemblages form natural Cerrado enclaves in southwestern Amazonia: the role of stochastic extinctions and isolation. *Biotropica*, 35(4):503-19.
- Gascon, C.; Lovejoy, E.T.; Bierregaard Jr, O.R.; Malcolm, R.J.; Stouffer, C.P.; Vasconcelos, L.; Laurance, F.W.; Zimmerman, B.; Tocher, M. & Borges, S. (1999). Biological dynamics of forest fragments project, National Institute for Research in the Amazon (INPA), Manaus, AM. *Biological Conservation*, 91(2-3):223-9.
- Jorge-Da-Silva Jr., N. (1993). The snakes from Samuel hydroelectric power plant and vicinity, Rondônia, Brasil. *Herpetological Natural History*, 1(1):37-86.
- Kemper, L. (2002). *Cacoal, sua história, sua gente*. Goiânia: Grafopel Gráfica.
- Macedo, L.C.; Bernarde, P.S. & Abe, A.S. (2008). Lagartos (Squamata: Lacertilia) em áreas de floresta e de pastagem em Espigão do Oeste, Rondônia, sudoeste da Amazônia, Brasil. *Biota Neotropica*, 8(1):133-9.
- Martins, B.M. (1998). *Revisão taxonômica e sistemática filogenética do gênero Ophiodes Wagler, 1828 (Sauria, Anguillidae, Diploglossinae)*. Tese de doutorado em Zoologia. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
- Martins, M. & Oliveira, M.E. (1998). Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History*, 6(2):78-150.
- Nascimento, F.P.; Ávila-Pires, T.C. & Cunha, O.R. (1988). Répteis Squamata de Rondônia e Mato Grosso coletados através do programa Polonoroeste. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia*, 4(1):21-66.
- Oliveira, O.A. 2002. *Geografia de Rondônia: espaço e produção*. Porto Velho: Dinâmica Editora.
- Rodriguez, L.O. & Duellman, W.E. (1994). *Guide to the Frogs of the Iquitos Region, Amazonian Peru*. Lawrence: University of Kansas. Asociación de Ecología y Conservación Amazon Center for Environmental Education and Research, and Natural History Museum.
- Tocher, M. (1998). Diferenças na composição de espécies de sapos entre três tipos de floresta e campo de pastagem na Amazônia central. In: Gascon, C. & Moutinho, P. (Ed.). *Floresta Amazônica: dinâmica, regeneração e manejo*. Manaus: Instituto de Pesquisas da Amazônia. p.219-32.
- Vanzolini, P.E. (1986). Levantamento herpetológico da área do Estado de Rondônia sob a influência da rodovia BR-364. Polonoroeste/Ecologia Animal. *Relatório de Pesquisa n.1*. Brasília: CNPq. p.50.
- Vanzolini, P.E. (2002). An aid to the identification of the South Americas species of *Amphisbaena* (Squamata, Amphisbaenidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 42(15): 351-62.
- Vogt, R.C.; Moreira, G. & Duarte, A.C.O.C. (2001). Biodiversidade de répteis do bioma floresta Amazônica e Ações prioritárias para sua conservação. In: Capobianco, J.P.R. (Org.). *Biodiversidade na Amazônia brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios*. São Paulo: Instituto Sócio Ambiental. p.89-96.
- Yuki, R.N.; Galatti, U. & Rocha, R.A.T. (1999). Contribuição ao conhecimento da fauna de Squamata de Rondônia, Brasil, com dois novos registros. *Boletim Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia*, 15(2):181-93.

Recebido em: 3/3/2008

Versão final reapresentada em: 12/6/2008

Aprovado em: 12/8/2008

Anexo

LISTAGEM DAS ESPÉCIES E O NÚMERO DE ESPÉCIES REGISTRADAS EM CADA MÉTODO DE AMOSTRAGEM, CACOAL, RONDÔNIA, BRASIL.

Classe/ordem/família/espécie	PLT			
	Diurna	Noturna	Pitfall	E.O
Amphibia				
Anura				
Bufonidae				
<i>Rhinella marina</i> (Linnaeus, 1758)		7		
<i>R. schneideri</i> (Werner, 1894)		16		
Dendrobatidae				
<i>Adelphobates quinquevittatus</i> (Steindachner, 1864)	2			
Hylidae				
<i>Dendropsophus leucophyllatus</i> (Beireis, 1783)		1		
<i>D. microcephalus</i> (Cope, 1886)		8		
<i>D. minutus</i> (Peters, 1872)		6		
<i>Hypsiboas boans</i> (Linnaeus, 1758)		1		
<i>H. geographicus</i> (Spix, 1824)		17		
<i>Phyllomedusa camba</i>		1		
<i>Scinax ruber</i> (Laurenti, 1768)		1		12
<i>Trachycephalus venulosus</i> (Laurenti, 1768)		1		
Brachycephalidae				
<i>Pristimantis fenestratus</i> (Steindachner, 1864)		3		
Leiuperidae				
<i>Engystomops petersi</i> (Jiménez-de-la-Espada, 1872)		2	43	
Microhylidae				
<i>Elachistocleis ovalis</i> (Schneider, 1799)		7	1	2
Leptodactylidae				
<i>Leptodactylus andreae</i> (Müller, 1923)	2	12	1	
<i>L. fuscus</i> (Schneider, 1799)		17		
<i>L. pentadactylus</i>		8		
Reptilia				
Testudines				
Testudinidae				
<i>Geochelone denticulata</i> (Linnaeus, 1766)	1			
Squamata				
Gekkonidae				
<i>Coleodactylus amazonicus</i> (Anderson, 1918)	1		1	
<i>Gonatodes hasemani</i> (Griffin, 1917)	2			
<i>G. humeralis</i> (Guichenot, 1855)	1			
<i>Hemidactylus mabouia</i> (Moreau de Jonnés, 1818)		1		
<i>Thecadactylus rapicauda</i> (Houttuyn, 1782)		1		
Iguanidae				
<i>Iguana iguana</i> (Linnaeus, 1758)				1
Anguidae				
<i>Ophiodes</i> sp.		2		
Polychrotidae				
<i>Anolis nitens</i> (Wagler, 1830)	1			
<i>A. fuscoauratus</i> (Duméril & Bibron, 1837)	1			
<i>A. ortonii</i> (Cope, 1869)	1			
<i>A. punctatus</i> (Daudin, 1802)	1	1		
<i>Polychrus marmoratus</i> (Linnaeus, 1758)				1
Gymnophthalmidae				
<i>Bachia dorbignyi</i> (Duméril & Bibron, 1839)				1

Conclusão

Classe/ordem/familia/espécie	PLT			
	Diurna	Noturna	Pitfall	E.O
<i>Cercosaura eigenmanni</i> (Griffin, 1917)	1			
Teiidae				
<i>Ameiva ameiva</i> (Linnaeus, 1758)	13			10
Amphisbaenidae				
<i>Amphisbaena</i> sp.				1
Typhlopidae				
<i>Typhlops reticulatus</i> (Linnaeus, 1776)				1
Aniliidae				
<i>Anilius scytale</i> (Linnaeus, 1758)		2		
Boidae				
<i>Boa constrictor</i> (Linnaeus, 1758)	1			1
<i>Corallus caninus</i> (Linnaeus, 1758)				1
<i>Epicrates cenchria</i> (Linnaeus, 1758)		1		1
Colubridae				
<i>Atractus albuquerquei</i> Cunha & Nascimento, 1983		3		
<i>Chironius exoletus</i> (Linnaeus, 1758)	1			
<i>Dipsas catesbyi</i> (Santzen, 1796)		4		
<i>Drepanoides anomalus</i> (Jan, 1863)				1
<i>Drymarchon corais</i> (Boie, 1827)	1			1
<i>Leptodeira annulata</i> (Linnaeus, 1758)		1		
<i>Leptophis ahaetulla</i> (Linnaeus, 1758)				1
<i>Liophis almadensis</i> (Wagler, 1824)				1
<i>L. reginae</i> (Linnaeus, 1758)				2
<i>Mastigodryas boddaerti</i> (Santzen, 1796)				1
<i>Oxyrhopus melanogenys</i> (Tschudi, 1845)		1		
<i>Philodryas olfersii</i> (Lichtenstein, 1823)				1
<i>Rhinobothryum lentiginosum</i> (Scopoli, 1785)				1
Elapidae				
<i>Micrurus hemprichii</i> (Jan, 1858)		1		
<i>M. lemniscatus</i> (Linnaeus, 1758)		1		
<i>M. spixii</i> (Wagler, 1824)				1
<i>M. surinamensis</i> (Cuvier, 1817)		1		
Viperidae		1		
<i>Bothriopsis bilineatus</i> (Wied, 1825)				1
Total de espécimes registrados	30	129	46	43
Total de espécies registradas	15	30	04	21

PLT: procura limitada por tempo. PITFALL: armadilha de interceptação de queda; E.O: Encontros ocasionais.



ARTIGO | ARTICLE

Avaliação do efeito do ácido pirolenhoso de três espécies arbóreas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

Evaluation of the effect of pyroligneous acid from three arboreal species on Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

Paulo César Bogorni¹

Vanessa Cordeiro Pansiera¹

José Djair Vendramim¹

Leandro do Prado Ribeiro²

Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves-Gervásio³

José Otávio Brito⁴

RESUMO

O uso de ácido ou extrato pirolenhoso, obtido através da condensação de vapores liberados durante o processo da queima da madeira para a produção de carvão, vem sendo recomendado e utilizado pelos agricultores no manejo fitossanitário da cultura do tomateiro. Entretanto, estudos visando avaliar a ação desses produtos no manejo fitossanitário são ainda limitados. Nesse sentido, este trabalho objetivou avaliar a ação do ácido pirolenhoso obtido de *Eucalyptus grandis*, *Melia azedarach* e *Pinus caribaea* sobre a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*, importante inseto-praga nos cultivos de tomate em todo o Brasil. Os tratamentos foram avaliados em relação à sobrevivência larval, preferência alimentar das larvas e oviposição dos adultos. Com base nos dados obtidos, constatou-se que o ácido pirolenhoso proveniente das três espécies arbóreas testadas não afeta o desenvolvimento, alimentação e oviposição de *Tuta absoluta*.

Palavras-chave: Traça-do-tomateiro. *Lycopersicon esculentum*. *Eucalyptus grandis*. *Melia azedarach*. *Pinus caribaea*.

¹ Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola. Caixa Postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: P.C. BOGORNI. E-mail: <paulobogorni@terra.com.br>.

² Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Defesa Fitossanitária. Santa Maria, RS, Brasil.

³ Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Engenharia Agrícola e Ambiental. Juazeiro, BA, Brasil.

⁴ Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Ciências Florestais. Piracicaba, SP, Brasil.

ABSTRACT

The use of the pyroligneous acid or liquid, obtained through the condensation of vapors released when hardwood is converted to charcoal, has been recommended and used by tomato producers as a phytosanitary measure. However, only a few studies have evaluated the impact of these products on crop protection management. Thus, this work has aimed to evaluate the action of the pyroligneous acid obtained from Eucalyptus grandis, Melia azedarach and Pinus caribaea on the tomato pinworm Tuta absoluta, a serious tomato crop pest in Brazil. Treatments were evaluated regarding larva survival, larval feeding preference and adult oviposition. Results showed that the pyroligneous acid, from the three arboreal species tested, has no effect on the development, feeding behavior or oviposition of T. absoluta.

Key words: Tomato pinworm. *Lycopersicon esculentum*. *Eucalyptus grandis*. *Melia azedarach*. *Pinus caribaea*.

INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) é uma importante olerícola cultivada em todo o mundo. No Brasil, o tomateiro é a hortaliça de maior interesse econômico e social devido à extensa área cultivada, tanto para consumo *in natura* como para processamento industrial, bem como pelo grande envolvimento de mão-de-obra. O País é o nono maior produtor mundial dessa solanácea, com produção anual de 3,4 milhões de toneladas (FNP Consultoria & Comércio, 2006). Entretanto, essa é a espécie olerícola cultivada mais sujeita a problemas fitossanitários decorrentes do ataque de pragas (Prattisoli et al., 2006), exigindo grande número de aplicações de defensivos durante todo o seu ciclo de desenvolvimento (Gravena, 1984).

A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma das principais espécies de insetos-praga da cultura em vários países latino-americanos, incluindo Argentina, Brasil, Uruguai, Bolívia, Chile, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela (Maluf et al., 1997). Ocorre tanto em cultivos a campo como em ambiente protegido ocasionando sérios danos quantitativos e qualitativos na produção.

O dano no tomateiro é provocado pelas larvas do *T. absoluta* que se alimentam do mesófilo foliar, deixando apenas a epiderme, sendo possível, assim, observar regiões transparentes nas folhas (galerias), quando as larvas atingirem os últimos instares larvais.

Brotações novas, flores e frutos também podem ser danificados por este inseto-praga (Coelho & França, 1987; Haji et al., 1989; Fernandez & Montagne, 1990). Além do dano direto, este inseto pode ser vetor de importantes viroses para a cultura (Embrapa, 2006). Perdas totais da produção já foram observadas pelo ataque dessa espécie (Haji et al., 1989), sendo o quarto instar larval o estágio que ocasiona os maiores danos decorrentes do consumo de mesófilo foliar (Bogorni et al., 2003).

O controle desse inseto-praga vem sendo feito com o emprego de inseticidas sintéticos. Entretanto, o uso contínuo desses produtos vem acarretando o desenvolvimento de populações resistentes (Siqueira et al., 2000), a ocorrência de desequilíbrios biológicos, o aumento dos custos de produção, além da contaminação do homem e do ambiente (Rodríguez & Vendramim, 1996).

O uso de ácidos ou extratos pirolenhosos, vem sendo recomendado e utilizado pelos agricultores. Obtido através da condensação de vapores liberados durante o processo da queima da madeira para a produção de carvão, o pedido se consolidar como uma alternativa para o manejo desse inseto. Embora essa utilização seja considerada de grande interesse por causar menor impacto ao meio ambiente e ser de baixo custo, ainda não existem dados de pesquisas que comprovem a sua eficiência como produto fitossanitário na cultura do tomateiro.

Assim, no intuito de elucidar questões relativas ao efeito desses compostos sobre insetos-praga, este trabalho avalia o efeito de três ácidos pirolenhosos obtidos de *Eucalyptus grandis*, *Melia azedarach* e *Pinus caribaea*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições controladas (Temp.: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; U.R.: $70\pm 10\%$; fotofase: 14h) no Laboratório de Plantas Inseticidas do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), em Piracicaba (SP).

Os tratamentos foram constituídos de ácidos pirolenhosos provenientes de três espécies arbóreas (*E. grandis*, *M. azedarach* e *P. caribaea*), além da testemunha (água destilada). A criação de *T. absoluta* foi mantida em folhas de tomateiro sob condições de laboratório.

O ácido pirolenhoso de cada uma das espécies arbóreas foi produzido no Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP. Os caules das espécies foram submetidos ao processo de carbonização em pequenos fornos, e a fumaça proveniente deste processo foi condensada, dando origem ao ácido pirolenhoso.

Os testes foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado e em condições ambientais controladas (Temp.: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; U.R.: $70\pm 10\%$; fotofase: 14h). Avaliou-se o efeito dos tratamentos na sobrevivência larval de *T. absoluta*, por meio das ações de contato e ingestão, bem como na preferência alimentar de larvas e na oviposição de adultos. As concentrações dos produtos e a metodologia utilizada foram definidas a partir de testes preliminares.

Avaliação do efeito inseticida pela ação de contato: Nesse teste foram utilizadas caixas plásticas circulares (6,0cm de diâmetro x 2,1cm de altura) onde foi colocado um folíolo de tomateiro com o pecíolo envolto por algodão umedecido para evitar

a desidratação. Cada folíolo foi infestado com três lagartas de *T. absoluta* (terceiro ínstar), sendo aplicado sobre estas, separadamente, os ácidos pirolenhosos das três espécies avaliadas, na concentração de 20%, por meio da utilização de seringa de Hamilton em um volume aplicado de aproximadamente 1 μL (Ventura & Vendramim, 1995). Cada repetição foi composta por cinco placas com três lagartas cada, totalizando 15 lagartas por repetição. Para cada tratamento foram realizadas seis repetições. No terceiro dia, realizou-se a troca dos folíolos e no sétimo dia, após a exposição das lagartas aos tratamentos, foi feita a avaliação da mortalidade larval. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias foi feita pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Avaliação do efeito inseticida pela ação de ingestão: Nesse teste, folíolos de tomateiro foram tratados por imersão nas soluções, na concentração de 1%, durante dois segundos, colocados em caixas plásticas circulares (6,0cm de diâmetro x 2,1cm de altura) e infestados com três lagartas de *T. absoluta* recém-eclodidas. Os pecíolos dos folíolos foram envoltos por algodão umedecido para evitar sua desidratação. Cada repetição foi composta por cinco placas com três lagartas cada, totalizando 15 lagartas por repetição. Para cada tratamento foram realizadas seis repetições. No terceiro dia, foi feita a troca dos folíolos por novos folíolos tratados. A mortalidade larval foi avaliada no quinto dia após a instalação. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan com 5% de probabilidade de erro.

Avaliação do efeito dos ácidos pirolenhosos na preferência alimentar: Foram utilizadas placas de Petri de 15cm de diâmetro com o fundo preenchido com gesso umedecido. Sobre ele foi colocado papel filtro para manter a umidade na placa. Em cada placa foram distribuídas, equidistantes de um ponto central e de forma alternada, quatro seções circulares de folhas de tomate (6,6cm² cada). Duas placas foram tratadas com um dos ácidos pirolenhosos, na concentração de 5%, por meio de imersão por dois segundos. As outras duas foram tratadas com água

destilada. Em cada placa foram colocadas dez lagartas de terceiro ínstar, sendo dez repetições por ácido pirolenhoso. Após 24 horas, procedeu-se a contagem do número de lagartas sobre cada folíolo tratado. Para a análise estatística foi utilizado o teste *t* de Student, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Avaliação do efeito dos ácidos pirolenhosos na oviposição: Realizaram-se testes em gaiolas e em olfatômetro. Para as duas análises estatísticas, foi utilizado o teste *t* de Student ao nível de 5% de probabilidade de erro.

O teste em gaiolas necessitou de recipientes telados com volume aproximado de 20 litros. Cada repetição foi composta por quatro folíolos, sendo dois pulverizados com o ácido pirolenhoso na concentração de 5%, e dois (testemunha) pulverizados com água destilada. Os folíolos foram arranjados de forma alternada e eqüidistantes no interior da gaiola, onde foram liberados cinco casais previamente acasalados e alimentados com solução de mel a 10%. As avaliações constaram da contagem do número de ovos/folíolo 48 horas após a liberação dos casais. Foram realizadas seis repetições por tratamento.

O segundo teste foi feito com o emprego de um olfatômetro em Y com circulação de ar forçada. Em uma das câmaras do olfatômetro foi colocado um folíolo de tomateiro pulverizado com um dos ácidos pirolenhosos, na concentração de 5%. Na outra câmara foi colocado um folíolo pulverizado com água destilada (testemunha). Após, procedeu-se a liberação de três casais previamente acasalados. A avaliação foi realizada 12 horas após a liberação dos adultos no interior do olfatômetro, contando-se o número de ovos/folíolo. Cada tratamento constou de dez repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do efeito inseticida pela ação de contato: Não houve diferença significativa entre os tratamentos de mortalidade de lagartas de *T. absoluta* para os ácidos pirolenhosos. A variação nos tratamentos foi de 3,3% a 8,4%, enquanto, a

testemunha atingiu a mortalidade de 7,2% (Tabela 1). Sendo assim, os ácidos pirolenhosos testados não apresentaram toxicidade à fase larval desse inseto.

Avaliação do efeito inseticida por ingestão: No tratamento com ácido pirolenhoso proveniente de *E. grandis*, a mortalidade larval (39,4%) de *T. absoluta* foi significativamente superior aos valores registrados nos demais tratamentos (28,1% e 30,1%) e na testemunha (26,6%).

Avaliação do efeito dos ácidos pirolenhosos na preferência alimentar: Nesse teste, não se observou diferença significativa no número de lagartas nos folíolos tratados com ácido pirolenhoso em relação aos respectivos folíolos tratados com água destilada (testemunha) (Tabela 2), o que indica que os tratamentos com o referido ácido não afetam a preferência alimentar das lagartas de *T. absoluta*.

Tabela 1. Mortalidade larval (%) de *Tuta absoluta*, aos sete dias após ser submetida, no terceiro ínstar, à ação de contato do ácido pirolenhoso a 20%, proveniente de três espécies arbóreas. Piracicaba (SP).

Tratamentos	Mortalidade (%) ¹
Testemunha (água)	7,2
Ácido pirolenhoso de <i>E. grandis</i>	3,3
Ácido pirolenhoso de <i>M. azedarach</i>	8,4
Ácido pirolenhoso de <i>P. caribaea</i>	8,3

¹ Diferença não significativa pelo teste F ($p>0,05$).

Tabela 2. Número médio de lagartas de *Tuta absoluta* por folíolo de tomateiro tratado com ácido pirolenhoso a 5%, proveniente de três espécies arbóreas, em relação a folíolos não tratados. Piracicaba (SP).

Tratamento	Média de lagartas/folíolo	Teste-t ¹
Testemunha	5,0	1,134ns
Ácido pirolenhoso de <i>E. grandis</i>	4,0	
Testemunha	5,4	1,854ns
Ácido pirolenhoso de <i>M. azedarach</i>	3,6	
Testemunha	4,3	0,568ns
Ácido pirolenhoso de <i>P. caribaea</i>	4,8	

¹ ns= Diferença não significativa pelo teste *t* de Student ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Avaliação do efeito dos ácidos pirolenhosos na oviposição: Os dados de oviposição de *T. absoluta* nos testes realizados em gaiolas de tela e em olfatômetro (Tabelas 4 e 5) indicam que o efeito dos tratamentos variou em função do teste realizado. Assim, no teste em olfatômetro, o efeito foi constatado apenas com o ácido pirolenhoso proveniente de *M. azedarach* que causou redução significativa no número médio de ovos/folículo em relação à respectiva testemunha. Já no teste em gaiolas de tela, o efeito somente foi observado com o ácido pirolenhoso proveniente de *E. grandis* que, igualmente, causou redução significativa no número médio de ovos/folículo.

Em avaliações preliminares com concentrações mais elevadas, não houve diferença significativa em ambos os testes. A utilização de concentrações mais elevadas de ácido pirolenhoso provavelmente provoca a saturação do ar dentro do olfatômetro e da gaiola de tela, o que impossibilita testá-lo em concentrações elevadas. A diferença observada (Tabelas 3 e 4) pode estar associada à possível presença de diferentes compostos voláteis nos ácidos pirolenhosos. O tamanho do local de oviposição e o arraste destes compostos através da corrente de ar forçada do olfatômetro podem ter influenciado de forma diferenciada na expressão de suas características, influenciando, conseqüentemente, na preferência para oviposição de *T. absoluta* nos diferentes folículos tratados e locais testados.

A baixa eficiência observada neste experimento pode estar associada à capacidade desse inseto de não prejudicar seu metabolismo ao se alimentar de plantas com substâncias tóxicas. Segundo Gillot (1995), essa capacidade de alguns insetos se deve, principalmente, a mecanismos enzimáticos que provocam a inativação dos princípios ativos.

Outros trabalhos realizados até o momento apresentam resultados semelhantes ao obtido nessa pesquisa. Souza-Silva et al. (2005) não observaram efeito de repelência ou de inibição nas atividades de forrageamento de *Atta sexdens rubropilosa* em

Tabela 3. Número médio de ovos de *Tuta absoluta*, por folículo de tomateiro tratado com ácido pirolenhoso a 5%, proveniente de três espécies arbóreas., em relação a testemunha, em gaiola de tela. Piracicaba (SP).

Tratamento	Média de ovos/folículo	Teste-t ¹
Testemunha	27,2	
Ácido pirolenhoso de <i>E. grandis</i>	19,2	3,810*
Testemunha	26,5	1,758ns
Ácido pirolenhoso de <i>M. azedarach</i>	17,3	
Testemunha	11,2	1,034ns
Ácido pirolenhoso de <i>P. caribaea</i>	8,6	

¹ Teste-t ao nível de 5% de probabilidade de erro; *: diferença significativa pelo teste-t. ns: diferença não significativa pelo teste-t.

Tabela 4. Número médio de ovos de *Tuta absoluta*, por folículo de tomateiro tratado com ácido pirolenhoso a 5%, proveniente de três espécies arbóreas, em relação a testemunha, em olfatômetro em Y. Piracicaba (SP).

Tratamento	Média de ovos/folículo	Teste-t ¹
Testemunha	9,60	
Ácido pirolenhoso de <i>E. grandis</i>	9,20	0,014ns
Testemunha	26,30	3,177*
Ácido pirolenhoso de <i>M. azedarach</i>	6,58	
Testemunha	8,27	0,755ns
Ácido pirolenhoso de <i>P. caribaea</i>	12,45	

¹ Teste-t ao nível de 5% de probabilidade de erro; *: diferença significativa pelo teste-t. ns: diferença não significativa pelo teste-t.

mudas de eucalipto tratadas com ácido pirolenhoso. Morandi Filho et al. (2006), avaliando um formulado comercial de ácido pirolenhoso (Biopiro 7M[®]), também não constataram efeito do produto sobre *Argyrotaenia sphaleropa* (Lepidoptera: Tortricidae).

Entretanto, em todos esses trabalhos, o ácido pirolenhoso foi avaliado em condições de laboratório, com folhas retiradas das plantas. Segundo Tsuzuki et al. (2000), em condições de campo, o ácido pirolenhoso ativaría substâncias do metabolismo secundário, induzindo a resistência das plantas ao ataque dos insetos.

Azevedo et al. (2005) concluíram que a aplicação de ácido pirolenhoso no decorrer do desenvolvimento da cultura do melão funciona como um

ativador fisiológico, tornando-a resistente ao ataque da mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B), foi observado o aumento da eficiência de controle com o aumento da concentração do produto ao longo do ciclo de desenvolvimento da cultura e do acúmulo de produto na planta. Esse efeito também foi constatado por Campos et al. (2005), que relataram aumento na concentração de compostos fenólicos em frutos de morango através da aplicação de ácido pirolenhoso. Segundo os autores, a utilização de ácido pirolenhoso pode contribuir na indução de resistência do morangueiro a fitopatógenos.

Apesar da repelência na oviposição causada pelo ácido pirolenhoso de *M. azedarach* e de *E. grandis* na concentração de 5%, esse efeito não foi constante nos dois testes (gaiolas e olfatómetro). Além disso a mortalidade (Tabela 5) foi estatisticamente significativa para o ácido pirolenhoso de *E. grandis* em relação à testemunha. Apesar dessa significância, o nível de controle obtido com a utilização deste tratamento é insatisfatório do ponto de vista da eficiência agrônômica de controle. A partir dos resultados expostos acima, visto à baixa eficiência no controle de *T. absoluta* em condições de laboratório, verifica-se que o ácido pirolenhoso proveniente das três espécies arbóreas estudadas não apresenta potencialidade para emprego no manejo desta espécie de inseto-praga.

Embora os ácidos pirolenhosos nas condições testadas não tenham apresentado efeito sobre *T. absoluta*, estudos complementares podem ser reali-

zados, em condições de campo, visando detectar o potencial como indutor de resistência. Sugere-se, também, a realização de testes com ácidos pirolenhosos provenientes da queima de outras espécies arbóreas, além de avaliar o uso conjunto com outros métodos de manejo fitossanitário da cultura do tomate.

CONCLUSÃO

Nas condições em que se desenvolveu este trabalho, o ácido pirolenhoso proveniente das três espécies arbóreas (*E. grandis*, *M. azedarach* e *P. caribaea*) não afeta o desenvolvimento, a alimentação e a oviposição da traça-do-tomateiro, *T. absoluta*.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa à Vanessa C. Pansiera.

REFERÊNCIAS

- Azevedo, F. R.; Guimarães, J. A.; Braga Sobrinho, R.; Lima, M. A. A. (2005). Eficiência de produtos naturais para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em meloeiro. *Arquivos do Instituto Biológico*, 72(1):73-9.
- Bogorni, P.C.; Silva, R.A. & Carvalho, G.S. (2003). Consumo de mesofilo foliar por *Tuta absoluta* (Meyrick, 1971) (Lepidoptera: Gelechiidae) em três cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. *Ciência Rural*, 33(1):2003. Disponível em: <www.scielo.br>. (Acesso: 6 set 2007).
- Campos, A.D; Antunes, L.E. C; Fortes, J. & Osório, V. A Potencial do extrato de *Cymbopogon citratus* e extrato pirolenhoso para induzir resistência do morangueiro. *Anais do Congresso Nacional de Hortifruticultura*, 10., 2005, Montevideo. Montevideo: Sociedad Uruguya Hortifruticultura, 2005. 1 CD-ROM.
- Coelho, M.C.F. & França, F.H. (1987). Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22(2):129-35.
- Fernandez, S. & Montagne, A. (1990). Biología del minador del tomate, *Scrobipalpa absoluta* (Meyrick)

Tabela 5. Mortalidade larval (%) de *Tuta absoluta* alimentada-durante cinco dias com folhas de milho tratadas com ácido pirolenhoso a 1%, proveniente de três espécies arbóreas. Piracicaba (SP).

Tratamentos	Mortalidade (%) ¹
Testemunha (água)	26,6 ^b
Ácido pirolenhoso de <i>E. grandis</i>	39,4 ^a
Ácido pirolenhoso de <i>M. azedarach</i>	28,1 ^b
Ácido pirolenhoso de <i>P. caribaea</i>	30,1 ^b

¹ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

- (Lepidoptera: Gelechiidae). *Boletín de Entomología Venezolana*, 5(12):89-99.
- FNP Consultoria & Comércio (2006). *Agrianual 2006*: Anuário de agricultura brasileira. São Paulo. p.477-482: Tomate.
- Gillott, C. (1995). *Entomology*. New York: Plenum.
- Gravena, S. (1984). Manejo Integrado de Pragas do Tomateiro. *Anais do Congresso brasileiro de olericultura*, 25., Jaboticabal. Jaboticabal: FUNEP. p.129-49.
- Haji, F.N.P.; Dias, R.C.S. & Andrade, M.W. (1989). *Controle da traça do tomateiro*. Petrolina: Embrapa. 2p. (Comunicado Técnico, 39).
- Maluf, W.R.; Barbosa, L. & Santa Cecilia, L.C. (1997). 2-tridecanone mediated mechanism of resistance to the South American tomato pinworm *Scrobipalpaloides absoluta* Meyrick (Lepidoptera-Gelechiidae) in *Lycopersicon* spp. *Euphytica*, 93(2):189-94.
- Morandi Filho, W.J.; Botton, M.; Grützmacher, A.D.; Giolo, F.P. & Manzonni, C.G. (2006). Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciência Rural*, Santa Maria, 36(4). Disponível em: <www.scielo.br>. (acesso: 4 set. 2007).
- Pratissoli, D.; Oliveira, H.N.; Espindula, M.C. & Magevski, G.C. (2006). Ocorrência da lagarta-da-maçã-do-algodoeiro em frutos de tomateiro no estado do Espírito Santo. *Hortic Bras.* 24(2). Disponível em: <www.scielo.br>. (acesso: 6 set 2007).
- Rodríguez H.C. & Vendramim, J.D. (1996). Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Manejo Integrado de Plagas*, 42:39-44.
- Siqueira, H.A.A.; Guedes, R.N.C.; Picanço, M. & Oliveira, E.E. (2000). Cartap resistance and synergism in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Abstracts of the 2st International Congress Of Entomology, Abstract of the 18th Brazilian Congress of the Entomology, Foz do Iguaçu. Londrina: Embrapa Soja. v.1: p.353.
- Souza-Silva, A.; Zanetti, R.; Carvalho, G.A.; Santos, A. & Mattos, J.O.S. (2005). Preferência de formigas cortadeiras por mudas de eucalipto pulverizadas ou imersas em soluções de extrato pirolenhoso em diferentes concentrações. *Scientia Florestalis*, (67):9-13.
- Tsuzuki, E.; Morimitsu, T. & Matsui, T. (2000). Effect of chemical compounds in pyroligneous acid on root growth in rice plant. *Japan Journal Crop Science*, 66(4):15-6.
- Ventura, M.U. & Vendramim, J.D. (1995). Toxicidade para lagartas de *Phthorimaea operculella* (Zell.) dos aleloquímicos 2-tridecanona e 2-undecanona presentes em tomateiro (*Lycopersicon* spp.). *Scientia Agricola*, 52(3):458-61.

Recebido em: 3/3/2008

Versão final reapresentada em: 23/7/2008

Aprovado em: 12/9/2008

ÍNDICE DE AUTORES

B

Bernarde, Paulo Sérgio	101
Berti Filho, Evoneo	3
Bogorni, Paulo César	109
Brito, José Otávio	109

C

Carvalho, Emerson Machado de	37
Castro, Paula Maria Gênova de	15
Costa, Leny Cristina Milléo	91

D

Dias, Danielle de Carla	29
Diehl, Elena	3

E

Egami, Mizue Imoto	29
--------------------	----

F

Fischer, Marta Luciane	91
------------------------	----

G

Gonçalves-Gervásio, Rita de Cássia Rodrigues	109
--	-----

J

Junqueira, Luciane Kern	3
-------------------------	---

M

Madi, Rubens Riscala	45
Maruyama, Lidia Sumile	15
Motta, Rosinês Luciana da	37
Müller, Maria Isabel	45

N

Nering, Izabel Schneider	91
--------------------------	----

O

Oliveira, Idili da Rocha	81
--------------------------	----

P

Paiva, Patricia de	15
Pansiera, Vanessa Cordeiro	109

R

Ranzani-Paiva, Maria José Tavares	29
Ribeiro, Leandro do Prado	109

S

Sanches, Eduardo Gomes	81
Santos, Antenor Aguiar	29
Seriani, Robson	29
Serralheiro, Pedro Carlos da Silva	81

T

Turci, Luiz Carlos Batista	101
----------------------------	-----

U

Ueta, Marlene Tiduko	45
Uieda, Virgínia Sanches	37

V

Vendramim, José Djair	109
-----------------------	-----

Z

Zavala-Camin, Luis Alberto	63
----------------------------	----

ÍNDICE DE ASSUNTOS

A		L	
Amphibia	101	<i>Lycopersicon esculentum</i>	109
Anura	101	M	
B		Manipulação experimental	37
Bothriocephalidae (Pseudophyllidea)	45	Mapeamento da pesca	15
<i>Bothriocephalus cuspidatus</i>	45	Maricultura	81
C		Médio e Baixo rio Tietê	15
Cestódeos	45	<i>Melia azedarach</i>	109
<i>Cichla monoculus</i>	45	Migração de macrófagos	29
Colonização	37	P	
Conteúdo estomacal	63	Paraná, Brasil	91
Crioconservação	81	Peixes pelágios	63
D		Perturbações florestais	3
Dieta	91	Pesca artesanal profissional	15
Diversidade de térmitas	3	<i>Pinus caribaea</i>	109
E		R	
<i>Epinephelus marginatus</i>	81	Reprodução	81
Espécie invasora	91	Reptília	101
<i>Eucalyptus grandis</i>	109	Riacho tropical	37
F		Robalo	29
Fagocitose	29	S	
Forrageamento	91	Sêmen	81
G		<i>Serranidae</i>	63
Garoupa-verdadeira	81	Squamata	101
Grupos funcionais	3	Substrato artificial	37
H		Sucessão ecológico	37
Hematologia	29	Sudeste do Brasil	63
Herpetofauna	101	T	
J		Traça-do-tomateiro	109
Juvenis	63	U	
		Uso do solo	3

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Bioikos publica trabalhos científicos originais, artigos de revisão e comunicações científicas relacionados às diversas áreas da Biologia, em especial Botânica, Ecologia, Recursos Pesqueiros e Zoologia.

PROCEDIMENTOS EDITORIAIS

1. Avaliação de manuscritos

Os manuscritos submetidos à revista que atenderem à política editorial e às instruções aos autores são pré-selecionados pelos editores, que consideram o mérito científico da contribuição. Caso contrário, são devolvidos para adequação às normas, inclusão de carta ou de outros documentos eventualmente necessários.

Recomenda-se fortemente que o(s) autor(es) busque(m) assessoria linguística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e inglesa) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo. Devem ainda evitar o uso da primeira pessoa (“meu estudo...”) ou da primeira pessoa do plural (“percebemos...”), pois em textos científicos o discurso deve ser impessoal e sem juízo de valor.

Originais identificados com incorreções e/ou inadequações morfológicas ou sintáticas são devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Aprovados nesta fase, os manuscritos são encaminhados aos revisores *ad hoc* selecionados pelos editores. Cada manuscrito é enviado para dois revisores de reconhecida competência na temática abordada. Em caso de desacordo, o original é enviado para uma terceira avaliação.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, em procedimento sigiloso quanto à identidade tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso, os autores devem empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

No caso da identificação de conflito de interesse por parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminha o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Os pareceres dos consultores comportam três possibilidades: a) aceitação integral; b) aceitação com reformulações; c) recusa integral. Em qualquer desses casos, o autor é comunicado.

A decisão final sobre a publicação ou não do manuscrito é sempre dos editores, aos quais é reservado o direito de efetuar os ajustes que julgarem necessários. Na detecção de problemas de redação, o manuscrito é devolvido aos autores para as alterações devidas; o trabalho reformulado deve retornar no prazo máximo determinado.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos podem retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da revista.

Provas: são enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar ao Núcleo de Editoração na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não são aceitas nesta fase.

2. Submissão de trabalhos

São aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Bioikos e de concordância com a cessão de direitos autorais.

Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso. A carta deve indicar nome, endereço, números de telefone e *e-mail* do autor para o qual a correspondência deve ser enviada.

Autoria: O número de autores deve ser coerente com as dimensões do projeto. O crédito de autoria deve ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho ou análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nomes de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima; neste caso, devem figurar na seção de agradecimentos.

3. Estrutura do artigo

Enviar quatro cópias do manuscrito, que deve ser formatado com espaço 1,5 entrelinhas e fonte arial tamanho 11, para o Núcleo de Editoração da revista, acompanhadas de cópia em disquete ou CD-ROM. O arquivo deve ser gravado em editor de texto similar ou superior à versão 97-2003 do *Word (Windows)*. O(s) nome(s) do(s) autor(es) e do arquivo devem estar indicados no rótulo do disquete ou CD-ROM.

Das quatro cópias descritas no item anterior, três devem vir sem nenhuma identificação dos autores, para que a avaliação possa ser realizada com sigilo; porém, devem ser completas e idênticas ao manuscrito original, omitindo-se apenas esta informação. É fundamental que o escopo do artigo não contenha qualquer forma de identificação da autoria, o que inclui referência a trabalhos anteriores do(s) autor(es) ou da instituição de origem, por exemplo.

O texto deve ter de 15 a 20 laudas. As folhas devem ter numeração personalizada desde a folha de rosto (que deve apresentar o número 1). O papel deve ser de tamanho A4, com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).

Os artigos (originais, nota científica) devem ter, aproximadamente, trinta referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de cinquenta.

Todas as páginas devem ser numeradas a partir da página de identificação. Para esclarecimentos de eventuais dúvidas quanto à forma, sugere-se consulta a este fascículo.

Versão reformulada: a versão reformulada deve ser encaminhada em três cópias completas, em papel e em disquete ou CD-ROM etiquetado, indicando o número do protocolo, o número da versão, o nome dos autores e o nome do arquivo. O(s) autor(es) deve(m) enviar apenas a última versão do trabalho.

O texto do artigo deve empregar fonte colorida (cor azul) para todas as alterações, juntamente com uma carta ao editor, reiterando o interesse em publicar nesta revista e informando quais alterações foram processadas no manuscrito. Se houver discordância quanto às recomendações dos revisores, o(s) autor(es) deve(m) apresentar argumentos que justifiquem sua posição. O título e o código do manuscrito devem ser especificados.

A página do título deve conter:

a) Título completo - deve ser conciso, evitando excesso de palavras, como "avaliação do...", "considerações acerca de...", "estudo exploratório...";

b) *Short title* com até quarenta caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol, caso seja o idioma do artigo) e inglês;

c) Nomes de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um. Será aceita uma única titulação e filiação por autor. O(s) autor(es) deve(m), portanto, escolher entre suas titulações e filiações institucionais aquela que julgar(em) a mais importante.

d) Todos os dados da titulação e da filiação devem ser apresentados por extenso, sem siglas.

e) Indicação dos endereços completos de as universidades às quais estão vinculados os autores;

f) Indicação de endereço para correspondência com o autor para a tramitação do original, incluindo fax, telefone e endereço eletrônico;

Observação: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

Resumo: todos os artigos submetidos em português ou espanhol devem ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras.

Os artigos submetidos em inglês devem vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês.

Os resumos devem destacar objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho e indicando formas de continuidade do estudo.

O resumo não deve conter citações, siglas e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis palavras-chave.

Texto: com exceção dos manuscritos apresentados como artigo de revisão, nota científica, os trabalhos devem seguir a estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema e que

destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como artigo de revisão.

Métodos: deve conter descrição clara e sucinta do método empregado, acompanhada da correspondente referência bibliográfica, incluindo procedimentos adotados, universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Em relação à análise estatística, os autores devem demonstrar que os procedimentos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex. $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) devem ser mencionados.

Ao relatar experimentos com animais, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas, e fornecer o número do processo.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma que sejam autoexplicativas e com análise estatística. Deve-se evitar repetir dados no texto.

Tabelas, quadros e figuras devem ser limitados a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados; devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. É imprescindível a informação do local e ano do estudo. A cada um deve-se atribuir um título breve. Os quadros e tabelas devem ter as bordas laterais abertas.

O(s) autor(es) responsabiliza(m)-se pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que devem permitir redução sem perda de definição para os tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente). Não é permitido o formato paisagem. Figuras digitalizadas devem ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 dpi.

A publicação de imagens coloridas, após avaliação da viabilidade técnica de sua reprodução, é custeada pelo(s) autor(es). Em caso de manifestação de interesse por parte do(s) autor(es), a Bioikos providencia um orçamento dos custos envolvidos, que podem variar de acordo com o número de imagens, sua distribuição em páginas diferentes e a publicação concomitante de material em cores por parte de outro(s) autor(es).

Uma vez apresentado ao(s) autor(es) o orçamento dos custos correspondentes ao material de seu interesse, este(s) deve(m) efetuar depósito bancário. As informações para o depósito são fornecidas oportunamente.

Discussão: deve explorar adequada e objetivamente os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura.

Conclusão: deve apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Não são aceitas citações bibliográficas nesta seção.

Agradecimentos: pode existir uma seção de agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que tenham prestado efetiva colaboração para o trabalho.

- **Nome científico:** o nome científico completo de uma espécie deve ser mencionado nas legendas das ilustrações (figuras, tabelas e quadros), no *abstract*, resumo e introdução; posteriormente, o nome genérico deve ser abreviado.

- **Anexos:** devem ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Cabe aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

- **Abreviaturas e siglas:** devem ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, na primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

- **Referências:** devem ser relacionadas alfabeticamente, no final do texto, pelos sobrenomes dos autores e cronologicamente por autor. No caso de publicações com mais de dois autores, citam-se todos. Os títulos dos periódicos devem ser referidos por extenso.

Não são aceitas citações/referências de monografias de conclusão de curso de graduação, de resumos de trabalhos de congressos, simpósios, *workshops*, encontros, entre outros, bem como de textos não publicados (exemplos, aulas, entre outros). Citações de dissertações e teses devem ser evitadas ao máximo.

Se um trabalho não publicado de autoria de um dos autores do manuscrito for citado (ou seja, um artigo *in press*), é necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo. Se dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados no manuscrito, é necessário incluir uma carta de autorização do uso dos mesmos por seus autores.

- **Citações no texto:** devem constar na lista de referências. Citar o sobrenome do autor, seguido do ano de publicação, como em Rocha (2008); se forem dois autores, o último sobrenome de ambos separados por &, como em Santos & Martins (2008); e se forem três ou mais autores, o sobrenome do primeiro autor seguido de *et al.* e do ano da publicação, como em Rafael *et al.* (2008). As citações devem ser separadas por ponto e vírgula e em ordem cronológica, como no exemplo: (Santos, 2003; Almeida *et al.*, 2004; Oliveira & Rocha, 2006).

A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor.

Exemplos de referências

Periódico

Dois autores

Thatcher, V.E. & Brasil-Sato, M.C. (2008). *Ergasilussalmi* sp. nov. (Copepoda: Ergasilidae) a branchial parasite of "dourado", *Salminus franciscanus* from the upper São Francisco River, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(3):555-7.

Mais de dois autores

Rafael, J.A.; Silva, N.M. & Dias, R.M.N.S. (2008). Baratas (Insecta, Blattaria) sinantrópicas na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 38(1):173-8.

Livro

Ângelo, C. & Mayr, E. (2008). *Isto é biologia: a ciência do mundo vivo*. São Paulo: Companhia das Letras.

Mais de dois autores

Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Johnson, A.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. & Hopkin, K. (2007). *Fundamentos da biologia celular*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed.

Capítulo de Livro

Alterthum, F. (2005). Crescimento bacteriano. In: Trabulsi, L.R. & Alterthum, F. *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu. Biblioteca Biomédica.

Dissertações e Teses

Silva, A.B. (2008). *Planejamento experimental e modelagem estatística do efeito do uso do lodo de esgoto em solos*. Dissertação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco.

Trabalhos apresentados em congressos e similares

Tubino, R.A.; Paes, E.T. & Monteiro-Neto, C. (2007). Determinação objetiva de guildas ecológicas de peixes da região costeira de Itaipua, Niterói-Rj, Brasil. *Anais do XII Congresso Latino Americano de Ciências do Mar - COLACMAR, 2007*, Florianópolis. v.1.

Material eletrônico deverá informar: disponível em: <<http://www...>>. (acesso: 4 jun. 2008).

LISTA DE CHECAGEM

- Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por cada autor;

- Enviar ao editor quatro vias do original (um original e três cópias) e um disquete ou CD-ROM etiquetado com as seguintes informações: nome do(s) autor(es) e do arquivo. Na reapresentação, incluir o número do protocolo;

- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências, está reproduzido com letra arial, tamanho 11 e espaçamento entrelinhas 1,5, e com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm);

- Verificar se estão completas as informações de legendas das figuras e tabelas;

- Preparar página de rosto com as informações solicitadas;

- Incluir nomes de agências financiadoras e número do processo;

- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, o ano de defesa e o número de páginas;

- Incluir título do manuscrito, em português e inglês;

- Incluir título abreviado (*short title*) com quarenta caracteres, para fins de legenda em todas as páginas;

- Incluir resumos com no mínimo 150 e no máximo 250 palavras nos dois idiomas, português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com palavras-chave;

- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo adotado pela revista, ordenadas alfabeticamente, e se todas estão citadas no texto;

- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas;

- Incluir parecer do Comitê de Ética da instituição.

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS

Cada autor deve ler e assinar os documentos Declaração de Responsabilidade (1) e Transferência de Direitos Autorais (2), nos quais devem constar:

- Título do manuscrito;

- Nome por extenso dos autores (na mesma ordem em que aparecem no manuscrito);

- Autor responsável pelas negociações.

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autoras devem assinar declarações de responsabilidade nos termos abaixo:

– “Certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo”;

– “Certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar de minha autoria não foi enviado a outra revista e não o será enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Bioikos, quer seja no formato impresso ou no eletrônico”.

2. Transferência de direitos autorais:

– “Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Bioikos passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da revista, e fica vedada qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à revista”.

Assinatura do(s) autores(s) Data ____/____/____

Toda correspondência deve ser enviada à revista Bioikos no endereço abaixo:

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II
Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.
Fone/Fax: +55-19-3343-6875
E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br
Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/ccv>

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

BIOIKOS publishes original scientific studies, review articles and scientific communications related to many areas of Biology, especially Botany, Ecology, Fishing resources and Zoology.

EDITORIAL PROCEDURES

1. Manuscript evaluation

Texts submitted to the journal for review that are in agreement with the editorial policy will only start if they are also in agreement with the "instructions to the authors." If not, they will be returned so that they can be formatted according to the rules or to include a letter or other documents that may become necessary.

It is strongly recommended that the authors seek for professional linguistic advisement (certified reviewers or translators of Portuguese and English) before they submit articles that may contain errors and/or morphological, syntax, idiomatic or stylistic inadequacies. The use of the first person of the singular or plural should be avoided since scientific discourses should be impersonal and not contain judgment of value.

Original articles identified with errors or morphological and syntax inadequacies will be returned even before they are submitted to assessment regarding the merit of the work and the convenience of its publication.

The manuscripts that are approved in this phase will be sent to *ad hoc* referees (reviewers) selected by the editors. Each manuscript will be sent to two reviewers of known competence in the selected theme. If they are not in agreement, the manuscript will be sent to a third referee.

The peer review assessment is the blind review system where the identity of the authors and the referees are kept secret. Thus, the authors should do everything possible to avoid the identification of the authors of the manuscript.

If there is a conflict of interest on the part of the referees, the Editorial Committee will send the manuscript to another *ad hoc* referee.

The opinions of the referees consist of three possibilities: a) full acceptance; b) accepted with reformulations; c) fully refused. They authors will be notified whatever the case.

The final decision regarding the publishing of the article is always from the editors and they are allowed to make any adjustments they find necessary. If there are essay problems, the text will be returned to the authors so that corrections are made within the maximum stipulated period.

Accepted manuscripts: accepted manuscripts can be returned to the authors for approval of changes that were made in the editing and formatting processes, according to the style of the journal.

Copies: typographical copies will be sent to the others for correction of printing errors. The copies should return to the *Núcleo de Editoração* on the stipulated deadline. Other changes in the original manuscript will not be accepted during this phase.

2. Submission of works

Works must be accompanied by a letter signed by all authors describing the type of work and thematic area, declaring that the manuscript is being presented only to the Bioikos and agreeing to transfer the copyright to the journal.

If figures and tables published elsewhere are used, the authorization for their use must also be attached to the manuscript.

Authorship: the number of authors must be coherent with the dimensions of the project. Authorship credit must be based on substantial contributions, such as conception and design, or data analysis and interpretation. Including the names of authors who do not fit within the parameters listed above is not justified. Other contributors may be cited in the Acknowledgement section.

3. Presentation of the manuscript

Please send four copies of the manuscript to the *Núcleo de Editoração* of the Journal formatted with double spacing between the lines and font Arial 11. The material should also be sent in floppy disc or CD-ROM. The file should be saved in a text editor similar or above version 97-2003 of MSWord (Windows). The names of the authors or file should be printed on the label of the floppy disc or CD-ROM.

Of the four copies mentioned above, three should come without any identification of the authors so that the assessment can be done secretly; however they should be complete and identical to the original manuscript, omitting only the authorship. It is essential that the scope of the article *does not contain any form of identification of the authors*, which includes, for example, references to previous works of one or more of the authors or the institution where the work was done.

The text should contain from 15 to 20 pages. The pages must have personalized numbering starting with the cover page which should be number 1. The paper must be size A4 with at least 2.5cm of upper and lower margins and 3cm of left and right margins.

The articles (originals, research note) should have approximately 30 references, except for review articles which can have around 50.

All pages should be numbered starting from the identification page. This document contains information that should clarify doubts regarding the formatting.

Reformulated version: The reformulated version must be sent in three complete copies, in paper and in a floppy disc or CD-ROM with a label indicating the number of the protocol, the version number, the name of the authors and the name of the file. It is absolutely forbidden to return the previous version.

The text of the article must use a colored font (blue) for all changes, together with a letter to the editor confirming the interest in publishing in this journal and informing what changes were made in the manuscript. If there is disagreement regarding the recommendations of the referees, the authors should present the arguments that justify their stance. The manuscript title and code should be specified.

The **title page**: should contain:

a) full title - must be concise, avoiding excess words such as "assessment of...", "considerations on...", "exploratory study...";

b) short title with up to 40 characters in Portuguese (or Spanish) and English;

c) full name of all the authors indicating where each one works. Each author is allowed one employee and one title. The authors should therefore choose among their titles and employees those that they judge to be most important.

d) All data regarding titles and employees should be presented in full, without abbreviations.

e) List the full addresses of all the universities with which the authors have affiliations;

f) Indicate an address to exchange correspondence, including the manuscript, with the editor, including facsimile, telephone and e-mail address;

g) full address to correspond with the authors, including contact name, telephone, facsimile and e-mail.

Observation: this should be the only part of the text with identification of the authors.

Abstract: all articles submitted in Portuguese or Spanish should have an abstract in the original language and English, with at least 150 words and at most 250 words.

The articles submitted in English should contain the abstract in Portuguese or Spanish and in English.

For original articles, the abstracts must be objectives, basic methods adopted, information on the location, population and sample of the research, most relevant results and conclusions, considering the objectives of the work and indicating ways to continue the study.

The text should not contain citations and abbreviations. Highlight at least three and at most six keywords.

Text: except for manuscripts presented as Review and Research Note, the works should follow the formal structure for scientific works:

Introduction: must contain current literature review and pertinent to the theme, adequate to the presentation of the problem and that highlights its relevance. It should not be extensive unless it is a manuscript submitted as Review.

Methods: must contain a clear and brief description of the method employed along with the correspondent bibliography, including: adopted procedures, universe and sample; measurement instruments and if applicable, validation method; statistical treatment.

Statistical analysis: The authors must demonstrate that the statistical procedures employed were not only appropriate to test the hypotheses of the study but have also been correctly interpreted. Do not forget to mention the level of significance adopted (e.g. $p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$).

If experiments with animals are reported, indicate if the directives of the institutional or national research councils - or any law regarding the care and use of laboratory animals - were followed and inform the number of the procedure.

Results: whenever possible, the results should be presented in tables and figures and constructed in a way as to be self-explanatory and contain statistical analysis. Avoid repeating the data within the text.

Tables, charts and figures together should be limited to five and numbered consecutively and independently with Arabic characters according to the order in which data is mentioned and must come in individual and separate sheets. Their locations should be indicated in the text. Information on the location and year of the study is absolutely necessary.

Each element should have a brief title. Tables and charts must have open side borders.

The author is responsible for the quality of the figures (drawings, illustrations, tables, charts and graphs). It must be possible to reduce their size to one or two columns (7 and 15cm respectively) without loss of sharpness. Landscape format is absolutely forbidden. Digital figures should have the jpeg extension and a minimum resolution of 300 dpi. Printing of colored images when this printing is possible is paid by the authors. If the authors are interested, the Bioikos will inform them of the costs which will vary according to the number of images, their distribution in different pages and the concomitant publication of colored material by other authors.

Once the costs are presented to the authors, these are asked to deposit the amount in a bank account. The information regarding the account will be disclosed when necessary.

Discussion: should explore adequately and objectively the results and discuss them in light of other observations already registered in the literature.

Conclusion: present the relevant conclusions taking into account the objectives of the work and indicate ways that the study can be continued. Bibliographical citations in this section are absolutely forbidden.

Acknowledgements: acknowledgments are accepted in a paragraph with no more than three lines and may contain the names of institutions or individuals who actually collaborated with the research.

- **Scientific name:** the full scientific name of a species must be mentioned in the subtitles of the figures, tables and charts, in the abstract, *resumo* and introduction; later, the generic name must be abbreviated.

- **Attachments:** only include attachments if they are vital for understanding of the text. The editors will judge if they are indeed necessary.

- **Abbreviations and acronyms:** must be used in a standardized manner and restricted only to those used conventionally or sanctioned by use followed by their full meaning when first cited in the text.

- **References:** the references must be in alphabetical order according to the author's last name, chronological by author and located at the end of the text. All authors must be cited when more than two authors are involved. Include the full journal title. We present some examples of the most common cases for reference. Undergraduate papers, congress abstract, symposiums, workshops etc. will not be accepted. Dissertations and theses should be avoided whenever possible.

If an unpublished work of one of the authors of the study is mentioned (that is, an article in press) it is necessary to include the letter of acceptance of the journal who accepted the article for publication. If unpublished data obtained by other researchers are cited in the manuscript, it is necessary to include a letter authorizing the disclosure of the data by their authors.

- **Citations in text:** must be included in the reference list. Cite the author's last name followed by the year of publication, for example, Rocha (2008); if two authors are involved, cite both, for example, Santos & Martins (2008); if three or more are involved, cite the first one followed by *et al.*, for example, Funari *et al.* (2008). Citations are separated by a semicolon (;) and in chronological order, for example, (Santos, 2005; Almeida *et al.*, 2007; Oliveira & Rocha, 2008).

The exactness and adequateness of the references to works that have been consulted and mentioned in the text of the article are of responsibility of the authors. All authors whose works are cited in the text should be listed in the "References" section.

References examples

Journal

Two authors

Thatcher, V.E. & Brasil-Sato, M.C. (2008). *Ergasilussalmi* sp. nov. (Copepoda: Ergasilidae) a branchial parasite of "dourado", *Salminus franciscanus* from the upper São Francisco River, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(3):555-7.

More than two authors

Rafael, J.A.; Silva, N.M. & Dias, R.M.N.S. (2008). Baratas (Insecta, Blattaria) sinantrópicas na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 38(1):173-8.

Book

Ângelo, C. & Mayr, E. (2008). *Isto é biologia: a ciência do mundo vivo*. São Paulo: Companhia das Letras.

More than two authors

Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Johnson, A.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. & Hopkin, K. (2007). *Fundamentos da biologia celular*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed.

Book chapter

Alterthum, F. (2005). Crescimento bacteriano. In: Trabulsi, L.R. & Alterthum, F. *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu. Biblioteca Biomédica.

Dissertations and theses

Silva, A.B. (2008). *Planejamento experimental e modelagem estatística do efeito do uso do lodo de esgoto em solos*. Dissertação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco.

Paper presented in congress whose article was published in proceedings

Tubino, R.A.; Paes, E.T. & Monteiro-Neto, C. (2007). Determinação objetiva de guildas ecológicas de peixes da região costeira de Itaipu, Niterói-Rj, Brasil. *Anais do XII Congresso Latino Americano de Ciências do Mar - COLACMAR, 2007, Florianópolis*. v.1.

Electronic material must inform: Available from: <http://www...>. (accessed: 4 June 2008).

CHECKLIST

- Declaration of responsibility and transfer of copyright signed by each author.
- Send four copies of the original to the Editor (one original and three copies) and a floppy disc or CD-ROM labeled with the following information: name of the authors and name of the file. If it is a second or more version, include the number of the protocol.
- Verify if the text, including abstract, tables and references, is written with Arial font size 11 and double spaced. The upper and lower margins should have at least 2.5 cm and the lateral margins should have at least 3cm.
- Verify if the information of the legends of the figures and tables is complete.
- Prepare a cover page with the requested information.
- Include the name of the sponsors and the number of the proceeding.
- Indicate if the article is based on a thesis/dissertation placing the title, name of the institution, year of defense and number of pages.
- Include the title of the manuscript in Portuguese and in English.
- Include a short title with 40 characters at most for the legend of each page.
- Include abstracts with a minimum 150 words and a maximum of 250 words, in Portuguese or Spanish and English, and keywords when applicable.
- Verify if the references are in accordance with the standard of the Journal and if they are all cited in the text.
- Include permission of the editors for tables and figures that have been published before.
- Include the opinion of the Ethics Committee of the Institution.

**DECLARATION OF RESPONSIBILITY
AND COPYRIGHT TRANSFER**

Each author must read and sign the documents (1) Declaration of Responsibility and (2) Copyright Transfer.

First author:

Author responsible for the negotiations: Title of the manuscript:

1. Declaration of responsibility: all the persons mentioned as authors must sign the declarations of responsibility in the terms mentioned below:

– I certify that I have participated in the creation of this work and render public my responsibility for its content; I have not omitted any affiliations or financial agreements between the authors

and companies that may be interested in the publication of this article;

– I certify that the manuscript is original and the work, in part or in full, or any other work with a substantially similar content of my authorship was not sent to another journal and will not be sent to another journal while its publication is being considered by the Bioikos, whether in the printed or electronic format.

Signature of the author(s) Date ____/____/____

2. Copyright transfer: "I declare that, if this article is accepted, the Bioikos will have its copyright and exclusive ownership and any reproduction, in part or in full, printed or electronic, is forbidden without the previous and necessary consent of this journal. If the consent is granted, I will include my thanks for this journal."

Signature of the author(s) Date ____/____/____

All correspondence should be sent to journal of Bioikos at the address below

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II
Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.
Fone/Fax: +55-19-3343-6875
E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br
Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/centros/ccv>

ISSN 0102-8908
BIOIKOS



PUC
CAMPINAS

Prezado amigo,

É com satisfação que vimos convidá-lo **ASSINAR** ou **RENOVAR** a revista *BIOIKOS*, a melhor forma de ter contato com os trabalhos desenvolvidos por pesquisadores da área através de uma publicação nacional, indexada pela ASFA - Aquatic Sciences & Fisheries Abstracts, CAB Abstracts and Global Health, Base de Dados Periódica (Índice de Revistas Latinoamericano em Ciências).

Esperamos contar com sua presença entre nossos assinantes regulares.

Preencha o canhoto abaixo.

Um abraço,

Comissão Editorial

ASSINATURA

RENOVAÇÃO

<input type="checkbox"/> Volume 19 (1 e 2) (2005)	⇒ Pessoas Físicas	R\$ 20,00	<input type="checkbox"/> ⇒ Institucional	R\$ 20,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 20 (1 e 2) (2006)	⇒ Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/> ⇒ Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 21 (1 e 2) (2007)	⇒ Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/> ⇒ Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 22 (1 e 2) (2008)	⇒ Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/> ⇒ Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 23 (1 e 2) (2009)	⇒ Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/> ⇒ Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>

Nome: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: _____

CNPJ/CPF: _____ E-mail: _____

Anexo cheque número: _____ Banco: _____ Valor: _____

Cheque nominal à SOCIEDADE CAMPINEIRA DE EDUCAÇÃO E INSTRUÇÃO.

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

FORMAS DE PAGAMENTO

PARCELADO

- Pré-datado para 30 dias
- Pagamentos em 2 vezes: 1 entrada e o restante para 30 dias

À VISTA

- Cheque ou depósito bancário: depósito bancário: Banco Itaú ag. 0009 cc 49371-9
Código de Identificação do assinante: **Institucional** CNPJ **Pessoas Físicas** CPF

Razão Social: Sociedade Campineira de Educação e Instrução. CNPJ: 46.020.301/0001-88

Enviar pedido juntamente com seu pagamento para:

Bioikos - Núcleo de Editoração - Prédio de Odontologia - Campus II

Av. John Boyd Dunlop, s/n., Jd Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP. Fone/Fax: (19) 3343-6875

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br - Home Page: www.puc-campinas.edu.br/ccv

Pontifícia Universidade Católica de Campinas

(Sociedade Campineira de Educação e Instrução)

Grão-Chanceler: Dom Bruno Gamberini

Reitor: Prof. Pe. Wilson Denadai

Vice-Reitora: Profa. Angela de Mendonça Engelbrecht

Pró-Reitoria de Graduação: Prof. Germano Rigacci Júnior

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação: Profa. Vera Engler Cury

Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários: Prof. Paulo de Tarso Barbosa Duarte

Pró-Reitoria de Administração: Profa. Angela de Mendonça Engelbrecht

Diretora do Centro de Ciências da Vida: Profa. Miralva Aparecida de Jesus Silva

Diretor-Adjunto: Prof. José Gonzaga Teixeira de Camargo

Diretora da Faculdade de Ciências Biológicas: Profa. Mariangela Cagnoni Ribeiro

Bioikos

Com capa impressa no papel supremo 250g/m² e miolo no papel couchê fosco 90g/m²

Editoração eletrônica / DTP

Beccari Propaganda e Marketing

Impressão / Printing

Gráfica Editora Modelo Ltda

Tiragem / Edition

800

Distribuição / Distribution

Sistema de Bibliotecas e Informação da PUC-Campinas - Serviço de Publicação, Divulgação e Intercâmbio



BIOIKOS

SUMÁRIO | CONTENTS

ISSN 0102-9568

Artigos | Articles

- 63 Ocorrência de juvenis de Serranidae nas regiões Sudeste e Sul do Brasil
Occurrence of juvenile serranids in the Southeast and Southern Regions of Brazil
• Luis Alberto Zavala-Camin
- 81 Crioconservação do sêmen da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*
Semen cryopreservation of the dusky grouper Epinephelus marginatus
• Eduardo Gomes Sanches, Idili da Rocha Oliveira, Pedro Carlos da Silva Serralheiro
- 91 Utilização de recursos alimentares presentes no ambiente antrópico pelo caramujo gigante africano *Achatina fulica* Bowdich, 1822: subsídios para o manejo
Use of alimentary resources present in the anthropic environment by the giant African snail Achatina fulica Bowdich, 1822: background information for management
• Marta Luciane Fischer, Leny Cristina Milléo Costa, Izabel Schneider Nering
- 101 Levantamento herpetofaunístico em uma localidade no município de Cacoal, Rondônia, Brasil
Herpetofaunistic survey in a location in the municipality of Cacoal, Rondônia, Brazil
• Luiz Carlos Batista Turci, Paulo Sérgio Bernarde
- 109 Avaliação do efeito do ácido pirolenhoso de três espécies arbóreas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)
Evaluation of the effect of pyroligneous acid from three arboreal species on Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)
• Paulo César Bogorni, Vanessa Cordeiro Pansiera, José Djair Vendramim, Leandro do Prado Ribeiro, Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves-Gervásio, José Otávio Brito