**Isótopos estáveis de C e de N como indicadores qualitativo e
quantitativo da dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*)
da Amazônia Central**

ANA CRISTINA BELARMINO DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Centro de Energia
Nuclear na Agricultura, Universidade de São
Paulo, para a obtenção de título de Doutor em
Ciências, Área de Concentração: Energia
Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo – Brasil
Novembro – 2003

**Isótopos estáveis de C e de N como indicadores qualitativo e
quantitativo da dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*)
da Amazônia Central**

ANA CRISTINA BELARMINO DE OLIVEIRA

Engenheira de Pesca

Orientador: Prof. Dr. **LUIZ ANTONIO MARTINELLI**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para a obtenção de título de Doutor em Ciências, Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo – Brasil
Novembro - 2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Oliveira, Ana Cristina Belarmino de

Isótopos estáveis de C e de N como indicadores qualitativo e quantitativo da dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*) da Amazônia Central / Ana Cristina Belarmino de Oliveira.

- - Piracicaba, 2003.

86p. : il.

Tese (doutorado) - - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2003.

1. Carbono 2. Dieta animal 3. Hábito alimentar animal
4. Nitrogênio 5. Peixes tropicais 6 Várzeas I. Título

CDU 504:639.3.043

A minha mãe, irmãs e irmãos pela educação,
confiança e estímulos constantes em todos
os momentos da minha vida
e aos meus amores, Raimundo, Camila e João Vicente pelo apoio, carinho e dedicação
em todos esses anos que estamos juntos

Ao meu pai João Francisco de Oliveira (*in memoriam*)

*“As pessoas entram e saem de nossas vidas;
mas elas não vão sós, sempre levam um
pouco de nós e deixam um pouco de si...
Você, porém, levou muito de nós e deixou
tudo de si...”*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli, pela orientação segura, confiança, amizade, e pela ajuda em alguns momentos difíceis durante a realização deste trabalho, meu AGRADECIMENTO ESPECIAL;

Aos Profs. Dr. Marcelo Zacharias Moreira e Dr. José Eurico Possebon Cyrino, na co-orientação, no empenho incansável para o sucesso deste trabalho, além da valiosa amizade;

A pesquisadora do INPA, Dra. Maria Gercília Mota Soares, coordenadora do projeto que originou este trabalho pelo apoio irrestrito e incentivo em todas as fases da pesquisa;

Aos pesquisadores do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP, bem como de todo o grupo liderado pelo Prof. Dr. Reynaldo L. Victoria de reconhecida excelência em estudos de Biogeoquímica e Ecologia Isotópica;

À Universidade Federal do Amazonas - UFAM, pela minha liberação, apoio financeiro, institucional e concessão de bolsa PICDT/CAPES para a realização deste trabalho, em especial a todos os colegas do Departamento de Ciências Pesqueiras - DEPESCA;

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e ao Instituto Max-Planck de Limnologia/Grupo de trabalho de ecologia tropical, pelo apoio, institucional e logístico que possibilitaram as coletas no campo;

À Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP/Ministério da Ciência e Tecnologia (PPG7-PPD), pela concessão de recursos financeiros ao projeto que originou este trabalho;

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão de recursos financeiros ao projeto que originou este trabalho;

Aos funcionários do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP: Neusa Maria Augusti, Maria Antonia Z. Perez, José A. Bonassi, Geraldo de Arruda Jr., Edmar Antonio Mazzi, Fabiana C. Fracassi, e estagiários;

Às funcionárias do CENA da Seção de Pós-graduação Neuda F. Oliveira, Maria Regina S. Rodrigues, Cláudia M. F. Correa e Alzira F. Adão;

Às bibliotecárias do CENA, Marília R. G. Henyei, Raquel C. T. Carvalho e Cleide A. Ferraz;

Ao corpo docente e técnico do Curso de Pós-Graduação do CENA, e ESALQ da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realizar este curso e em especial ao Prof. Dr. Silvio Sandoval Zocchi, Departamento de Ciências Exatas pelo auxílio na análise estatística, além da Profa. Dra. Marília Oetterer do Laboratório de Agroindústria pelas análises químicas;

Aos funcionários do Setor de Piscicultura, Ismael Baldessin Júnior e Sérgio Pena pela ajuda na montagem da estrutura e na condução dos experimentos, além dos pós-graduandos e estagiários;

Aos estagiários bolsistas do CNPq/PIBIC da UFAM e INPA, Kedma Cristine Yamamoto, Andréa L. Ribeiro, Sérgio F. Neto, Afrânio.César S. Pereira, Aprígio M. Moraes e tantos outros que auxiliaram nas coletas e no preparo de amostras e em especial à Ana Rita S. Silva pelo valioso apoio “logístico” e organização das excursões;

À pesquisadora da EMBRAPA Pantanal Débora Fernandes Calheiros, pelas valiosas críticas e sugestões neste trabalho e por dividir comigo as dúvidas, erros e acertos durante o curso e a amiga Dra. Andréa C. Belém pela ajuda no manejo sanitário dos peixes;

Aos amigos e colegas pós-graduandos do CENA e ESALQ, pelo companheirismo, troca de experiências que em muito contribuiu para o sucesso deste trabalho;

Aos meus familiares, marido e filhos, mãe, irmãs e irmãos pela paciência, carinho, confiança e apoio decisivos neste período;

E finalmente um agradecimento sincero a todas as demais pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xii
SUMMARY	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Tambaqui e sua alimentação	4
2.2. Isótopos estáveis e sua aplicação em estudos alimentares.....	5
2.2.1 Metodologia isotópica.....	5
2.2.2 Determinação da dieta através de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$	8
2.2.3 Utilização do método isotópico em estudos alimentares na América do Sul	9
2.2.3.1 Ecologia alimentar	9
2.2.3.2 Fontes de carbono do tambaqui.....	12
2.3 Causas de variação da razão isotópica.....	13
2.3.1 Variação individual	13
2.3.2 Variação com o tamanho dos indivíduos.....	14
2.3.3 Variação no fracionamento isotópico	15
2.3.4 Variação nos tecidos	17
2.3.5 Qualidade da dieta	19
2.3.6 <i>Turnover</i> isotópico	22
3 SAZONALIDADE ALIMENTAR E FONTES DE ENERGIA DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) DETERMINADAS POR ISÓTOPOS ESTÁVEIS E POR CONTEÚDO ESTOMACAL	25

RESUMO	25
SUMMARY	26
3.1 INTRODUÇÃO	27
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.2.1 Área de estudo e coletas	29
3.2.2 Análise da dieta	30
3.2.3 Análise isotópica	31
3.2.4 Determinação da contribuição das fontes alimentares	32
3.2.5 Análise estatística	33
3.3 RESULTADOS	33
3.3.1 Atividade alimentar	33
3.3.2 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das fontes de energia	36
3.3.3 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do tambaqui	37
3.3.4 Fontes de energia do tambaqui estimada pelos isótopos	38
3.4 DISCUSSÃO	41
3.4.1 Possíveis interferências na interpretação das razões isotópicas	41
3.4.2 A importância do ciclo hidrológico na dieta do tambaqui	44
3.5 CONCLUSÕES	47
4 DINÂMICA DE INCORPORAÇÃO DE CARBONO E DE NITROGÊNIO EM ALEVINOS DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) COM BASE NA COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA	48
RESUMO	48
SUMMARY	49
4.1 INTRODUÇÃO	50
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	52
4.2.1 Ensaios experimentais	52
4.2.2 Análise isotópica	54
4.2.3 Determinação do <i>turnover</i> isotópico	54
4.2.4 Estatística dos dados	56
4.3 RESULTADOS	57
4.3.1 Taxa de crescimento	57

4.3.2 Variação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nos tecidos	57
4.3.2.1 Dieta C_3	59
4.3.2.2 Dieta C_4	59
4.3.3 <i>Turnover</i> isotópico	60
4.3.3.1 Dieta C_3	60
4.3.3.2 Dieta C_4	60
4.4 DISCUSSÃO	65
4.4.1 Dieta C_3 vs C_4 e variação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$	65
4.4.2 <i>Turnover</i> isotópico de C_3 e C_4	68
4.4.2.1 Dieta C_3	68
4.4.2.2 Dieta C_4	70
4.5 CONCLUSÕES	71
5 CONCLUSÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Localização do lago Camaleão, Ilha da Marchantaria, Amazônia Central. Falsa composição colorida (5, 4, 3). Landsat 7, sensor ETM+, janeiro de 2002.	30
2 Número relativo de estômagos de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) agrupados em quatro categorias de grau de repleção.....	34
3 Índice Alimentar (IAi) para os principais itens alimentares identificados no estômago de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) nos períodos de enchente, cheia, vazante e seca.	35
4 Relação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ($\mu \pm \text{E.P.}$) dos tecidos de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) na enchente (EM); cheia (CH); vazante (VZ) e seca (SC), seca e as fontes alimentares do lago Camaleão.....	37
5 Contribuição fracional de biomassa (A), carbono (B) e nitrogênio (C) para tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) nos períodos de enchente, cheia, vazante e seca.	40
6 Relação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do tecido e material encontrado no estômago de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) do lago Camaleão. Cada ponto representa a média mensal.	43
7 Curvas de crescimento de alevinos de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas C_3 e C_4 por 60 dias (médias de 4 repetições).	57
8 Variabilidade temporal de valores de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo, fígado, escama e gordura visceral de alevinos de tambaqui alimentados	

com dieta C ₃ (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação exponencial negativa (P<0,05). A linha pontilhada representa o <i>turnover</i> isotópico calculado em função do crescimento, sendo coincidentes com o <i>turnover</i> metabólico no caso do músculo e escama.	61
9 Variabilidade temporal de valores de $\delta^{15}\text{N}$ do músculo, fígado e escama de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C ₃ (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação exponencial negativa (P<0,05). A linha pontilhada representa o <i>turnover</i> isotópico calculado em função do crescimento, sendo coincidentes com o <i>turnover</i> metabólico no caso do músculo e escama.	62
10 Variabilidade temporal de valores de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo, fígado, escama e gordura visceral de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C ₄ (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação linear (P<0,05) para o músculo, escama e gordura. Dados do fígado ajustados com equação exponencial negativa (P<0,05). A linha pontilhada representa o <i>turnover</i> isotópico calculado em função do crescimento.....	63
11 Variabilidade temporal de valores de $\delta^{15}\text{N}$ do músculo, fígado e escama de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C ₄ (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação linear (P<0,05) A linha pontilhada representa o <i>turnover</i> isotópico calculado em função do crescimento.....	64

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Frequência de ocorrência relativa (Fo) dos itens alimentares identificados nos estômagos de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>).....	35
2 Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ($\mu \pm \text{E.P.}$) de tecido e material encontrado no estômago de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) e fracionamento isotópico ($\Delta_{\text{tecido- estômago}}$).	38
3 Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de <i>end-member</i> ($\mu \pm \text{E.P.}$) e carbono e nitrogênio elementar (%) de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	39
4 Composição percentual nutricional, centesimal e isotópica das dietas experimentais.....	53
5 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e fracionamento isotópico ($\Delta^{13}\text{C}$) nos tecidos de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) após 60 dias experimentais	58
6 Valores de $\delta^{15}\text{N}$ e fracionamento isotópico ($\Delta^{15}\text{N}$) nos tecidos de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) após 60 dias experimentais	58

Isótopos estáveis de C e de N como indicadores qualitativo e quantitativo da dieta de tambaqui (*Colossoma macropomum*) da Amazônia Central

Autora: ANA CRISTINA BELARMINO DE OLIVEIRA

Orientador: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO MARTINELLI

RESUMO

As áreas alagadas dos rios de água branca da Bacia Amazônica – várzeas – são responsáveis por mais de 90% da captura total de peixes. O ciclo anual de inundações provoca variações qualitativas e quantitativas na dieta, influenciando diretamente a condição nutricional dos organismos que habitam essas águas, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), um peixe de várzea, de importância econômica para a região amazônica, mas que tem apresentado decréscimo em sua captura nos últimos anos. Este trabalho teve como objetivo determinar a importância quantitativa e qualitativa das principais fontes de energia do tambaqui do lago Camaleão, Amazônia Central, durante um ciclo hidrológico, utilizando ambos os métodos de análise, de conteúdo estomacal e de composição isotópica, e investigar a dinâmica de incorporação de carbono e de nitrogênio nos tecidos dos peixes. O grau de repleção estomacal e a importância relativa dos itens alimentares variaram com o nível de água, enquanto os isótopos estáveis de C e N mostraram a importância das plantas de via fotossintética C_3 e C_4 , e da macro e microfauna acompanhante, na dieta do tambaqui, e do zooplâncton, principal provedor de N para a espécie. O padrão de incorporação de C e N alimentar em tambaqui foi diferente para as dietas C_3 e C_4 . Diferenças nos valores nutricionais entre as dietas e a taxa de crescimento influenciaram a dinâmica de incorporação de C e N. A velocidade de reposição do C e N foi relacionada diretamente com a qualidade da fonte e da funcionalidade do tecido. O tempo mínimo para a substituição de 99% do sinal isotópico da dieta C_3 no músculo dos alevinos foi

85 dias. A combinação dos dois métodos mostra a complexidade do hábito alimentar do tambaqui e sua dependência do pulso de inundação. Tanto a intervenção no ciclo hidrológico dos rios da Amazônia, como a alteração na paisagem de suas várzeas, podem ser desastrosas para a sobrevivência da espécie.

Stable isotopes C and N as indicators of qualitative and quantitative dietary variations of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in Central Amazonian

Author: ANA CRISTINA BELARMINO DE OLIVEIRA

Adviser: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO MARTINELLI

SUMMARY

The flooded areas of white-water rivers of the Amazon Basin – “várzeas” – are responsible for more than 90% of the total capture fisheries in the region. The annual flooding cycle elicits qualitative and quantitative variations of fish natural diet, with direct influence nutritional condition of several fish species, such as the tambaqui (*Colossoma macropomum*), an economically important amazonian food fish which dwells in the “várzea”, and has presented decreasing capture potential over the last decade. This work aims to determine how the hydrological cycle influences, both quantitatively and qualitatively, alimentary seasonality of the main energy sources for tambaqui at lake Camaleão, Central Amazon, through the analysis of stomach contents and isotopic composition of food items, and the incorporation dynamics of alimentary carbon and nitrogen in different fish tissues. Stomach repletion degree and relative importance of the alimentary items varied with the water level, while stable C and N isotopes showed the relative dietary importance of either C₃ or C₄ photosynthetic-pathway plants, and their accompanying macro fauna for tambaqui, and the zooplankton, the main supplier of N to the species. The pattern of incorporation of alimentary C and N in tambaqui differed for C₃ and C₄ diets. Differences in the nutritional values of diets and the growth rate influenced the incorporation dynamics of C and N. The velocity of substitution of alimentary C and N was directly related to the quality of the source and to the functionality of the body tissue. The minimum time for

substitution of 99% of the isotopic sign of the C_3 diet in muscle tissue of fingerling tambaqui was 85 days. The combination of the two analysis methodologies revealed how complex are the feeding habit and alimentary behavior of the tambaqui, and how much it depends on the flood pulse. Both the intervention in the hydrological cycle of the Amazonian rivers and the alteration in the landscape of their “várzeas”, can be disastrous for the survival of the species.

1 INTRODUÇÃO

Entre os diferentes ambientes da bacia Amazônica, as áreas alagadas dos rios de água branca, as várzeas, são as mais produtivas (Bayley & Petrere, 1989). Mais de 90% da captura total de peixes (Junk, 1984) provêm dessas áreas, que atingem cerca de 105.000 km² (Bayley & Moreira, 1980; Petrere, 1982). A grande importância das várzeas está relacionada à variação sazonal do nível da água, 10 m a 15 m na Amazônia Central, com períodos bem definidos de cheia e de seca. Esse ciclo anual de inundação é de fundamental importância para os organismos, o balanço de nutrientes, a cadeia alimentar e o ciclo de energia (Junk, 1984).

A crescente ocupação humana tem provocado o desmatamento das florestas alagáveis, alterando as condições ecológicas e comprometendo a biodiversidade de plantas e animais, da qual destacamos a ictiofauna dos lagos de várzea. Grande complexidade pode ser encontrada entre as espécies que habitam as áreas alagadas, onde variáveis importantes para a coexistência das espécies são desconhecidas. A sazonalidade do nível da água provoca variações qualitativa e quantitativa na dieta, influenciando diretamente na condição nutricional dos indivíduos.

Tais áreas são consideradas criatórios naturais de peixes de importância econômica para a região amazônica, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Um considerável decréscimo nos registros de desembarques pesqueiros dessa espécie e, por outro lado, um significativo aumento de sua produção em confinamento nas últimas décadas (Batista, 1998; IBAMA, 2000) exigem esforços para gerar mais informações que subsidiem tanto o manejo ecológico como o de cultivo em tempo cada vez menor.

Embora vários estudos, abordando aspectos de sua auto-ecologia, tenham definido seu hábito alimentar onívoro (Honda, 1974, Goulding & Carvalho, 1982, Silva et al., 2000), muito pouco se pôde conhecer sobre a nutrição do tambaqui. Os resultados obtidos com o método de análise de conteúdo estomacal refletem apenas a

dieta aparente, ingerida pelo animal, e não a que foi efetivamente incorporada aos tecidos. Portanto, por meio unicamente deste método, é difícil inferir com exatidão quais e quanto das fontes alimentares disponíveis no seu habitat são importantes para a manutenção dos estoques da espécie.

A razão entre os isótopos estáveis de alguns elementos possibilita traçar os fluxos desses elementos na cadeia alimentar, até a sua deposição no tecido animal. Este método vem sendo empregado extensivamente em estudos de ecologia alimentar (Ben-David et al., 1997; Fry et al., 1999; Guiguer et al., 2001; Harvey & Kitchell, 2000; Kline et al., 1993; Post, 2002; Smit, 2001).

As fontes autotróficas de energia para o tambaqui adulto foram investigadas através de técnicas isotópicas (Forsberg et al., 1993; Araújo-Lima et al., 1998; Benedito-Cecilio et al., 2000). Resultados baseados na composição isotópica de carbono de um número relativamente pequeno de indivíduos, coletados numa grande área, com uma alta variabilidade, permitiram inferir que frutos e sementes da floresta inundada e zooplâncton dos lagos de várzeas são importantes fontes alimentares (Araújo-Lima et al., 1998; Forsberg et al., 1993), mas a contribuição relativa de cada item alimentar, bem como sua importância sazonal, ainda não foram claramente estabelecidas (Benedito-Cecilio et al., 2000).

Resultados obtidos para a espécie apenas com o carbono e um pequeno número de amostragem podem conduzir a interpretações equivocadas da contribuição das diferentes fontes alimentares. Em adição, os peixes onívoros mudam constantemente sua dieta, o que implica grande faixa de variação nos valores isotópicos. A utilização simultânea dos isótopos de C e N amplia a aplicação da técnica isotópica e reduz consideravelmente a complexidade que as variações sazonais e individuais poderiam sugerir. Enquanto os valores de carbono refletem mais claramente as variações espaciais, os valores isotópicos do nitrogênio refletem um padrão sazonal (Harvey & Kitchell, 2000; Johannsson et al., 2001; Overman & Parrish, 2001).

A consistência e a confiabilidade dos resultados isotópicos, quando da indicação da dieta dos peixes, no curto e no longo prazos, pode ser alcançada com a combinação do método isotópico com a análise de conteúdo estomacal. Tal combinação de métodos pode elucidar melhor complexas relações, para as quais o uso de um ou de outro método sozinho não seria suficiente, removendo parte da

subjetividade normalmente encontrada, quando se avalia o papel das fontes potenciais (Ben-David et al., 1997; Guiguer et al., 2002; Johannsson et al., 2001; Persson & Hansson, 1998).

Várias lacunas persistem e dificultam a explicação dos atuais resultados de fontes de energia do tambaqui. É preciso muito mais que identificar as principais fontes na natureza e as implicações decorrentes do ciclo anual de inundação. É necessário conhecer melhor alguns aspectos nutricionais relacionados ao regime alimentar da espécie, como diferenças na utilização das fontes e qualidade e quantidade dos nutrientes incorporados aos tecidos.

Dentro dessa perspectiva, a hipótese de que a importância das fontes de energia do tambaqui varia, acarretando diferenças na incorporação de carbono e de nitrogênio, decorrentes da disponibilidade e do valor nutritivo das fontes, com o ciclo hidrológico, foi investigada. Para tanto, este trabalho teve como objetivo determinar quantitativa e qualitativamente a importância das principais fontes de energia do tambaqui do lago Camaleão, num ciclo hidrológico, por meio de ambos os métodos, análise de conteúdo estomacal e composição isotópica de carbono e de nitrogênio, bem como a dinâmica de incorporação desses elementos aos diferentes tecidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tambaqui e sua alimentação

Dentre as espécies nativas da região amazônica, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma das mais apreciadas e de alto valor econômico. É o segundo maior peixe de escama nas águas sul-americanas, podendo alcançar mais de 1m de comprimento total e 30 kg. Habita os rios, lagos de várzeas e a floresta periodicamente inundada (Araujo-Lima & Goulding, 1998).

Até os anos 80, representava cerca de 42% do total dos peixes desembarcados no mercado de Manaus (Merona & Bittencourt, 1988), tendo reduzido a sua participação em 1998 para 5,4% (Batista, 1998). O decréscimo nos desembarques de tambaqui nos últimos anos indica provável sobrepesca (Isaac & Rufino, 1996).

Apresenta excelentes qualidades zootécnicas e facilidade de manejo (Graef, 1995), sendo considerada uma espécie nativa de grande potencial para produção, na América Latina (Saint-Paul, 1991; Araujo-Lima & Goulding, 1998). Atualmente, já apresenta uma significativa produção em confinamento. É responsável por 73,5% do pescado cultivado no Estado do Amazonas, por 30% na região Norte e por 11,5% na produção nacional (IBAMA, 2000).

A maioria dos estudos de ecologia alimentar realizados com essa espécie identifica os principais itens alimentares consumidos na natureza através de análise de conteúdo estomacal (Ayres, 1993; Carvalho, 1981; Gosttsberger, 1978; Goulding & Carvalho, 1982; Graef, 1995; Honda, 1974; Roubach, 1991; Smith, 1979; Saint-Paul, 1986; Soares et al., 1986; Saldaña & Lopez, 1988; Silva, 1997; Silva et al., 2000; Tello et al., 1992; Ziburski, 1990). É uma espécie de hábito alimentar onívoro, com trato digestivo característico de uma alimentação diversificada. Apresenta dentição modificada para o aproveitamento de frutos e sementes e um eficiente aparelho

filtrador para a captura de zooplâncton. Nos períodos de enchente-cheia, os frutos e as sementes são os itens alimentares mais consumidos, predominando uma alimentação rica em carboidratos e lipídios, com elevado teor energético. No período de vazante-seca, apesar de corresponder também ao período de menor consumo, o zooplâncton funciona como principal alimento, o que caracteriza uma dieta rica em proteínas (Silva et al., 2000).

Vários experimentos de nutrição com tambaqui foram realizados na tentativa de se determinar uma dieta eficiente e que atenda a suas exigências nutricionais (Andrade & Oliveira, 1998; Arbeláez-Rojas et al., 2002; Eckmann, 1987; Graef, 1995; Macedo, 1979; Mori, 1993; Oliveira et al., 1998; Pérez, 1995; Roubach, 1991; Roubach & Saint-Paul, 1993; Saint-Paul, 1986, 1990, 1991; Silva, 1997; Van der Meer et al., 1996). No entanto pouco pôde ser concluído sobre sua nutrição e seu metabolismo. Os resultados até aqui gerados não são suficientes para o entendimento de sua nutrição, e muito poucos têm aplicação direta na produção em cativeiro que satisfaça aos critérios de quantidade e de qualidade.

2.2 Isótopos estáveis e sua aplicação em estudos alimentares

2.2.1 Metodologia isotópica

Nos últimos 30 anos, esta metodologia vem sendo utilizada em estudos ecológicos, com bastante sucesso. Além da determinação das fontes alimentares, a técnica de isótopos estáveis pode prover uma contínua mensuração da posição trófica que integra a assimilação de energia ou o fluxo de massa através de todas as diferentes vias tróficas de um organismo (Post, 2002).

A utilização deste método baseia-se na premissa de que a razão isotópica, a proporção entre o isótopo mais pesado e o mais leve, varia de uma forma previsível, conforme o elemento cicla na natureza. A cada transformação física, química e biológica por que passa a matéria orgânica, ocorre uma discriminação entre os seus isótopos, possibilitando sua utilização como traçadores naturais (Boutton, 1991). Dessa forma, o animal, ao ingerir e assimilar um determinado alimento, reflete-o no sinal isotópico de seus tecidos. A determinação da composição isotópica do tecido animal e suas prováveis fontes fornece informações quantitativas sobre as contribuições relativas de cada uma dessas fontes (DeNiro & Epstein, 1978).

Os isótopos dos elementos leves, como o carbono e o nitrogênio, são os mais usados em estudos ambientais. A razão isotópica da matéria orgânica é mensurada através de espectrômetro de massa, que mede a razão entre o isótopo pesado e o leve de uma amostra, em comparação a um padrão. O padrão para o carbono é o PDB, um fóssil de *Belemnitella americana* da formação Peedee da Carolina do Sul (EUA) e, para o nitrogênio, o N₂ atmosférico (Lajtha & Marshall, 1994). As razões isotópicas são expressas pela notação delta (δ), com unidade por mil (‰), que mede a diferença entre a razão na amostra e no produto, podendo ser positiva ou negativa.

Uma das condições básicas para o uso dos isótopos estáveis, como metodologia em estudos alimentares, é que as fontes que compõem a dieta do animal em questão tenham sinais isotópicos distintos. Nos ecossistemas aquáticos, as plantas aquáticas e, direta ou indiretamente, as terrestres são as fontes primárias de energia utilizadas pelos animais (Boutton, 1991; Forsberg et al., 1993).

As plantas são bem caracterizadas isotopicamente, de acordo com a via fotossintética de assimilação do carbono (C₃, C₄ e CAM), devido às diferenças no fracionamento durante a difusão, a dissolução e a carboxilação do CO₂ atmosférico (Lajtha & Marshall, 1994). As plantas C₃ reduzem o CO₂ para fosfoglicerato, um composto de três carbonos, através da enzima RuBP carboxilase. Tal enzima discrimina o ¹³CO₂, resultando em valores de $\delta^{13}\text{C}$ relativamente mais leves (mais negativos), entre -32 e -20‰, com média de -27‰. As plantas C₄ reduzem o CO₂ a ácido aspártico ou ácido málico, ambos compostos com quatro carbonos, através da enzima PEP carboxilase. Tal enzima não discrimina o ¹³C como a RuBP carboxilase. Dessa forma, plantas C₄ têm valores de $\delta^{13}\text{C}$ relativamente mais pesados (mais positivos). Tais valores variam entre -17 e -9‰, com média de -12‰. As plantas CAM, por sua vez, apresentam valores intermediários entre as duas anteriores (Boutton, 1991).

O fitoplâncton, embora de metabolismo semelhante as das plantas de via fotossintética C₃, são produtores primários mais empobrecidos. Enquanto as outras plantas C₃ utilizam o CO₂ atmosférico (-8‰) como substrato, o fitoplâncton utiliza preferencialmente o CID (carbono inorgânico dissolvido). Em lagos e rios, o $\delta^{13}\text{C}$ do CID varia consideravelmente (próximo de -15‰), sendo reflexo de ambas as fontes,

CO₂ atmosférico e CO₂ da respiração dissolvidos, além do bicarbonato e carbonato proveniente do intemperismo das rochas (Boutton, 1991; Hershey & Peterson, 1996). Valores isotópicos para fitoplâncton em água doce são principalmente dependentes da origem da forma inorgânica de carbono fixado. Cada ecossistema aquático tem sua própria característica físico-química, que determina a concentração relativa e absoluta das espécies inorgânicas carbonatadas (Martinelli et al., 1988). O fitoplâncton é a fonte de carbono mais negativa nos lagos de várzea da região amazônica, variando entre –40 a –30, com média de –33‰. É responsável por até 60% do COP (Carbono Orgânico Particulado) e pela sua composição isotópica (Araújo-Lima et al., 1986; Forsberg et al., 1993). Nas áreas alagadas do rio Orinoco, pode alcançar valores médios mais negativos, próximos a –38‰ (Hamilton et al., 1992).

A consolidação do uso deste método nos estudos de dieta e de fluxo de energia nos ecossistemas foi efetuada a partir de estudos laboratoriais. Animais mantidos em laboratório, com dietas de sinal isotópico conhecido, apresentaram o $\delta^{13}\text{C}$ do tecido mais pesado que a respectiva dieta, variando entre –0,6 e 2,7‰, com média de $0,8 \pm 1,1\%$. A diferença entre o sinal isotópico do tecido animal e o de sua dieta, designada como fracionamento isotópico, é resultante dos processos decorrentes durante a digestão, a absorção, a assimilação e a excreção dos nutrientes (DeNiro & Epstein, 1978). Contudo a complexidade na interpretação dos valores isotópicos de carbono nas investigações sobre possíveis fontes alimentares sugere a necessidade de complementação com outros isótopos, como hidrogênio, nitrogênio ou enxofre (Fry & Sherr, 1984).

A investigação da influência da dieta na distribuição de isótopos de nitrogênio em animais evidenciou que o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do animal, como de seus tecidos e frações bioquímicas, também varia com o $\delta^{15}\text{N}$ da dieta. Estudos realizados por Minagawa & Wada (1984) mostram o enriquecimento de ^{15}N na cadeia alimentar, com $\delta^{15}\text{N}$ dos consumidores sendo isotopicamente mais pesado que a respectiva dieta de 1,3 a 5,3‰ e o valor médio para cada transferência trófica de $3,4 \pm 1,1\%$.

As fontes autóctones e alóctones dos ambientes aquáticos podem frequentemente diferir seus valores de $\delta^{15}\text{N}$. A utilização simultânea dos dois isótopos de C e N amplia a aplicação do método isotópico nos estudos de ecologia alimentar em

ambientes aquáticos, nos quais os peixes ocupam os níveis mais elevados da cadeia alimentar (DeNiro & Epstein, 1981; Fry & Sherr, 1984; Fry, 1991; France, 1995).

2.2.2 Determinação da dieta através de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

Os resultados da determinação das dietas, através dos isótopos estáveis, comparados com os do método tradicional de análise de conteúdo estomacal, demonstram que a análise isotópica na determinação da dieta animal é mais exata que a análise estomacal, pois pode ocorrer uma digestão diferenciada dos diversos tipos de alimentos que, porventura, o animal tenha ingerido, e que o método tradicional não pode evidenciar (Fry et al., 1978). Diferentemente do método tradicional, os isótopos estáveis de um animal refletem a sua história alimentar porque o carbono em um animal é acumulado via dieta, durante sua vida (Fry et al., 1999).

Contudo os peixes, grupo animal muito diversificado, apresenta espécies com hábitos alimentares e metabolismo energéticos distintos. Essa grande complexidade e diversidade exigem geralmente uma interpretação mais precisa das relações tróficas estabelecidas em cada sistema. A aplicabilidade da análise de isótopos estáveis do tecido de peixes, para determinar a dieta, tem sido avaliada e as conclusões apontam para o fato de que, devido à grande variação encontrada nos valores isotópicos, a análise isotópica dos tecidos do consumidor e de sua presa não pode substituir os métodos tradicionais de determinação de dieta, mas pode fornecer informações complementares, removendo parte da subjetividade normalmente encontrada, quando se avalia o papel das fontes potenciais (Ben-David et al., 1997; Persson & Hansson, 1999; Smit, 2001).

Muitos são os modelos empregados para estimar a contribuição das fontes consumidas pelo animal em seu ambiente natural. De modelos simples, usando apenas um isótopo (Fry & Sherr, 1984), a modelos onde se admitem tantos isótopos quantos forem necessários para determinar as diferentes fontes (Ben-David et al., 1997; Kline et al., 1993; Phillips, 2001; Phillips & Koch, 2002).

A possível diferença na qualidade nutricional entre as fontes pode gerar erros na interpretação de modelos que consideram igual a assimilação entre as diversas fontes. A diferença na concentração elementar, entre fontes de origem vegetal e animal, na dieta de consumidor onívoro pode reduzir a proporção da fonte animal e aumentar o componente vegetal, quando as fontes são consideradas iguais em suas

concentrações elementares. Phillips & Koch (2002) ampliaram o *linear mixing model*, incluindo como fonte de variação, além das diferenças no sinal isotópico entre as fontes, a concentração dos elementos dos isótopos empregados. Embora não contemple a maioria dos fatores de variação possíveis para a estimativa das proporções das diferentes fontes alimentares no tecido animal, pelo menos esse método é mais completo, ao incorporar o desvio-padrão das médias das fontes e dos consumidores e a proporção de C e de N das respectivas fontes. Ou seja, avança no sentido de que um parâmetro de comparação da qualidade entre as fontes seja contemplado. O modelo denominado de *concentration-weighted linear mixing model* assume implicitamente que, para cada elemento, a contribuição de uma fonte de alimento para o consumidor é proporcional ao produto da biomassa assimilada pela concentração elementar nessa fonte. A importância deste modelo é sua aplicabilidade para determinar, mais precisamente, a contribuição das fontes alimentares, principalmente em espécies onívoras, que consomem tanto fontes de origem animal como vegetal, com considerável diferença nas concentrações elementares de C e de N. Para a utilização e o cálculo deste modelo, os autores disponibilizam planilhas no site <http://www.epa.gov/wed/pages/models.htm>.

Na verdade, segundo Ben-David & Schell (2001), os resultados obtidos pelos diversos modelos têm sua importância nas investigações no ambiente natural, quando interpretados mais como um índice, do que uma correta estimativa das proporções da dieta. Já para Robbins et al. (2002), há, ainda, a necessidade de mais estudos para que os modelos possam contemplar as relações entre composição da dieta, vias metabólicas dos consumidores e dados isotópicos associados.

2.2.3 Utilização do método isotópico em estudos alimentares na América do Sul

2.2.3.1 Ecologia alimentar

As razões isotópicas de carbono e de nitrogênio em autótrofos, invertebrados e peixes da várzea do rio Orinoco revelaram que microalgas, incluindo fitoplâncton e formas epifíticas, são as fontes predominantes de energia para muitos animais aquáticos. As algas apresentaram importância trófica, em contraposição à tradicional interpretação de que as cadeias alimentares de sistemas de áreas alagadas

eram baseadas em detritos originários das plantas vasculares principalmente C₄ (Hamilton et al., 1992).

O regime alimentar de peixes detritívoros do rio Jacaré Pepira (bacia do rio Paraná), investigado por ambos os métodos, conteúdo estomacal e isótopos estáveis, evidenciou a inexistência de variação sazonal, mas de variação espacial na alimentação dos peixes ao longo do rio. As plantas C₄ não apresentaram importância ou influência na dieta desses peixes (Vaz et al., 1999).

A influência da inundação anual na dieta e na composição isotópica dos peixes do lago Coqueiro no Pantanal foi também estudada, combinando-se análise isotópica e de conteúdo estomacal (Wantzen et al., 2002). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ indicaram uma cadeia alimentar com 3 a 4 níveis tróficos. A ampla sobreposição dos valores de nitrogênio sugeriu que os organismos funcionam mais num contínuo nível trófico do que em distintos níveis. A cadeia alimentar desse ambiente foi baseada principalmente em carbono de origem C₃. Entretanto peixes capazes de alimentar-se de invertebrados terrestres, como o *Brycon microlepis*, apresentaram 13 a 30% do carbono de plantas C₄, durante o período de cheia. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ apresentaram mudanças sazonais altamente significativas para alguns grupos alimentares. As mudanças isotópicas dos peixes entre os períodos hidrológicos foram mais acentuadas nas espécies menos especializadas, os onívoros. As espécies mais especializadas, herbívoras e detritívoras, foram mais influenciadas pelas mudanças na razão isotópica de carbono da dieta, afetada pelos processos biogeoquímicos, assim como respiração e metanogênese. Mudanças isotópicas dos peixes, neste estudo, representam um gradiente sazonal, associado com mudanças de habitat, devido à inundação periódica. Isso indicou que mudanças tróficas e *background* ocorrem em lagos de várzeas tropicais, de acordo com a variação sazonal do nível da água (Wantzen et al., 2002).

Com base na determinação isotópica de $\delta^{13}\text{C}$, foram realizados estudos sobre a ecologia trófica da ictiofauna da região amazônica, apontando como fonte primária de energia, para espécies detritívoras, o fitoplâncton/COP, enquanto os métodos tradicionais sugeriam as gramíneas C₄, de grande abundância. Nesse mesmo trabalho, os autores não puderam precisar a fonte primária de energia dos peixes siluriformes, em razão da grande faixa de variação apresentada por esses peixes.

Provavelmente mais de duas fontes estavam envolvidas, contudo, nem fitoplâncton, nem macrófitas C_4 mostraram-se como as fontes de energia para essas espécies (Araújo-Lima et al., 1986).

A fonte primária de carbono para 34 espécies de peixes da região amazônica foi estimada por Forsberg et al. (1993). A principal fonte para essas espécies foi proveniente das plantas C_3 , como um grupo (árvores da floresta alagada, macrófitas C_3 , perifiton e fitoplâncton), responsáveis em média, por 82% a 98%, do carbono dos adultos. Por outro lado, as plantas C_4 foram consideradas importantes fontes de carbono para as larvas de peixes (acima de 42%), o que em parte decorre da cadeia alimentar microbiana, com substrato no detrito das gramíneas C_4 (Forsberg et al., 1995). Os autores sugerem que, para se obter um completo entendimento da produtividade dos peixes, é necessário investigar as mudanças na estrutura e na dinâmica da cadeia alimentar que ocorrem durante o completo ciclo de vida de cada espécie.

As fontes autotróficas de energia para juvenis de jaraqui, *Semaprochilodus insignis*, e curimatã, *Prochilodus nigricans*, da Amazônia Central, também foram as algas fitoplanctônicas e perifíticas. Embora as plantas C_4 não sejam a maior fonte de energia para os alevinos, contribuem significativamente na fase inicial do crescimento (Fernandez, 1993). A curimatã, *P. nigricans*, mostrou variação espacial na sua composição isotópica de $-36,6$ a $-26,6\text{‰}$ (Araújo-Lima et al., 1997).

As fontes primárias de energia em artrópodos semi-aquáticos e terrestres, das várzeas da região amazônica, foram também determinadas pela técnica isotópica. Duas espécies de insetos semi-aquáticos obtiveram seu carbono de fontes C_4 e duas espécies de fontes C_3 . Os artrópodos terrestres utilizam distintamente fontes C_3 e C_4 , porém indivíduos imaturos usaram ambas as fontes e diferiram das fontes dos adultos (Adis & Victoria, 2001).

Para camarões em lagos de várzea, a principal fonte de carbono foram as plantas C_3 , com no mínimo de 85,3%, embora tenha havido variação significativa nos valores isotópicos das três espécies de camarões estudadas, em decorrência dos fatores local, época de coleta e tamanho (Padovani, 1992).

Os resultados da estimativa das fontes de energia, de larvas de oito espécies de peixes da várzea amazônica, indicaram que muitas larvas em alguns estágios são herbívoras ou carnívoras primárias, e que a cadeia trófica que suporta a

produção larval é pequena. A energia fixada pelas plantas é passada quase diretamente para as larvas dos peixes, sem completar o ciclo alimentar microbial da cadeia. A principal fonte de energia das larvas foram as plantas C_3 , embora a contribuição das gramíneas C_4 seja importante para algumas espécies. Algas microscópicas, planctônicas ou epífitas são provavelmente as principais plantas C_3 que suportam a produção larval dos peixes (Leite et al., 2002).

A variação na composição isotópica de jaraqui (*S. insignis*) indicou que o carbono produzido no sistema de águas pretas contribui para o estoque dessa espécie, capturada nos sistemas de rios de águas brancas, demonstrando que as populações de jaraqui da Amazônia Central são mais integradas do que se previa anteriormente (Benedito-Cecilio & Araújo-Lima, 2002).

2.2.3.2 Fontes de carbono do tambaqui

Com base na composição isotópica, exemplares de tambaqui adultos, provenientes de várias localidades da Amazônia, apresentaram, como principal fonte autotrófica de energia, os frutos e as sementes das plantas C_3 , que compõem a floresta alagada (Forsberg et al., 1993). Também foi estimada a contribuição média dos principais itens alimentares na composição isotópica do carbono de exemplares adultos. Cerca de 60% da alimentação foi constituída de frutos e sementes, 30% de zooplâncton e 10% de gramíneas C_4 (Araújo-Lima et al., 1998).

Benedito-Cecilio et al. (2000) evidenciaram variação na contribuição relativa das fontes do tambaqui, de acordo com os períodos de cheia e de seca e com sua distribuição espacial ao longo dos rios Solimões e Amazonas. Para indivíduos capturados na região do baixo rio Solimões (Amazonas), durante o período de cheia, esses autores obtiveram o valor médio de $\delta^{13}C$ de -30‰ . Os mesmos autores estimaram, baseando-se na composição isotópica do carbono, que as principais fontes de carbono para essa espécie seriam: plantas do tipo fotossintético C_3 (38%), plantas do tipo fotossintético C_4 (10%) e do fitoplâncton (52%), este calculado indiretamente através da ingestão de zooplâncton. No período de seca, os autores identificaram uma variação ao longo do canal principal dos rios, com os peixes tornando-se isotopicamente mais pesados rio abaixo. Nesse período, as contribuições das diversas fontes foram estimadas como de 34% a 24% para C_3 ; 58% a 87% para fitoplâncton e 38% a 9% para C_4 .

No entanto cuidados na interpretação da ecologia alimentar do tambaqui, por meio de análise isotópica, devem ser tomados, pois esses estudos foram realizados com base em um único traçador isotópico, o carbono, apenas com indivíduos adultos, representantes de uma ampla distribuição geográfica (do alto ao baixo Amazonas) e com uma amostragem relativamente pequena (menos que 20 indivíduos). Por conseguinte os resultados apresentam uma grande variação nos valores de $\delta^{13}\text{C}$, além de apontarem diferentes percentuais de contribuição das fontes primárias de energia. Segundo Harvey et al. (2002), a grande variabilidade encontrada para razões isotópicas entre os animais e suas fontes sugere que o tamanho da amostragem é importante para detectar pequenas alterações de dieta, ou sazonalidade alimentar.

2.3 Causas de variação da razão isotópica

Para a melhor interpretação dos resultados obtidos pela técnica de isótopos estáveis, em estudos alimentares, devem ser consideradas as possíveis causas de variação na razão isotópica do animal. São apontadas como as principais causas: a variação individual, o tamanho dos indivíduos, o fracionamento isotópico, os tipos de tecido analisados, qualidade da dieta e o *turnover* isotópico ou taxa de reposição (Fry et al., 1999; Johannsson et al., 2001; Overman & Parrish, 2001; Post, 2002; Smit, 2001).

Independentemente do padrão individual, a composição isotópica animal varia consistentemente de acordo com a sazonalidade e os locais onde os animais exploram suas fontes (Fry & Arnold, 1982; Hesslein et al., 1993; Smith et al., 1996). Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ refletem mais claramente um padrão sazonal, enquanto os valores de $\delta^{13}\text{C}$, as variações espaciais, o padrão migratório e o monitoramento do uso de habitats (Harvey & Kitchell, 2000; Johannsson et al., 2001; Overman & Parrish, 2001).

2.3.1 Variação individual

Há uma variação significativa na razão isotópica de cada indivíduo, seja planta, seja animal, que pode ser maior que aquelas exibidas entre diferentes organismos. Essa grande variabilidade intraespecífica pode reduzir a precisão do método isotópico na determinação de fontes alimentares (Post, 2002; Smit, 2001). O

padrão observado da razão de isótopos estáveis, em nível de indivíduo, pode ser resultado da interação entre processos ecológicos, fisiológicos e bioquímicos (Gannes et al., 1997).

A amplitude de variação de fracionamento de C, para indivíduos de uma mesma espécie, alimentada com a mesma dieta em laboratório, pode oscilar entre 0,2 a 1,8‰. Tal variação pode ser atribuída a uma perda mais rápida de $^{12}\text{CO}_2$, em relação ao $^{13}\text{CO}_2$, durante a respiração (DeNiro & Epstein, 1978). Fry et al. (1999) estudaram a posição trófica e a história alimentar dos peixes do lago Okeechobee, com isótopos estáveis. Nos 500 indivíduos de 29 espécies analisadas, o nível trófico variou de 2 (herbívoros) para 4,3 (carnívoros de segundo nível). Houve uma grande diferença isotópica (1 - 5‰) entre indivíduos em quase todas as espécies de peixes examinadas. Valores isotópicos entre indivíduos, acima dessa faixa de variação, foram atribuídos às diferenças na dieta para indivíduos de uma mesma espécie.

A especificidade metabólica e nutricional entre os indivíduos pode contribuir também para aumentar a variação das razões isotópicas nos animais. Indivíduos com dieta similar podem exibir diferentes razões isotópicas, devido à intrínseca variabilidade na eficiência de assimilação, na incorporação de nutrientes e em outros processos internos do metabolismo dos nutrientes. O status nutricional do animal, junto com a composição da dieta, podem influenciar o destino dos diferentes componentes dietéticos nos tecidos (Ben-David & Schell, 2001).

2.3.2 Variação com o tamanho dos indivíduos

As diferenças nas composições isotópicas entre organismos são também resultantes de diferenças ontogenéticas, durante a vida do organismo, sendo o tamanho um importante fator de variação nos animais. Uma relação positiva entre enriquecimento isotópico e tamanho dos peixes foi observada para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (Beaudoin et al., 1999; Gu et al., 1996; Kwak & Zedler, 1997; Minagawa & Wada, 1984).

A relação entre valor isotópico e idade pode ser obscurecida para aquelas espécies que mudam a dieta durante o seu ciclo de desenvolvimento. Guiguer et al. (2002) observaram um contínuo enriquecimento em $\delta^{13}\text{C}$ com a idade dos peixes. Tal enriquecimento foi típico de uma mudança ontogênica dietética. Os indivíduos menores

apresentaram tendências para valores mais empobrecidos em $\delta^{13}\text{C}$, em relação aos maiores, provavelmente por terem mais acesso a diferentes fontes que a análise de conteúdo estomacal não indicou. Um enriquecimento médio em $\delta^{13}\text{C}$ de 3,4‰, entre indivíduos pequenos e grandes, é muito elevado para ser considerado como resultante de uma relação predador e presa entre as duas classes de tamanho. O efeito do tamanho parece ter sido mais determinante para a variação dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre os indivíduos.

Os resultados de isótopos de nitrogênio são particularmente importantes para a análise trófica de espécies de vida longa; ignorar a idade resultaria numa interpretação equivocada. Em *Stizostedion vitreum*, foi observada uma contribuição da idade de 81% para a variação dos valores de $\delta^{15}\text{N}$. A variação na dieta não foi suficiente para explicar o aumento de 3,9‰ nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos adultos. Os resultados mostraram que um aumento de, pelo menos um nível trófico de diferença na dieta deveria existir entre os indivíduos jovens e os mais velhos. Um fator de correlação específico é necessário para calcular a taxa de acumulação de $\delta^{15}\text{N}$ com a idade, ou então a interpretação da dieta baseada em isótopos deveria ser limitada para indivíduos de mesma idade (Kurle & Worthy, 2001; Overman & Parrish, 2001).

2.3.3 Variação no fracionamento isotópico

Os estudos de ecologia alimentar que utilizam o método isotópico assumem, como constante, o fracionamento isotópico ou trófico, a diferença entre a fonte alimentar e seu consumidor. Os valores apontados por DeNiro & Epstein (1978) e Minagawa & Wada (1984) são amplamente aceitos e confirmados para um grande número de animais de diferentes espécies (Fry & Sherr, 1984; Hesslein et al., 1993; Hobson, 1995; Johannsson et al., 2001; Schroeder, 1983). A grande diversidade de hábito e de comportamento alimentar entre os peixes exerce significativo efeito no valor do fracionamento trófico, ou na amplitude de sua variação. Vários fatores podem ser apontados: sazonalidade, hábito alimentar, estado nutricional do consumidor, tamanho e idade, ontogenia da dieta, intrínseca variabilidade da resposta fisiológica do animal, eficiência alimentar, tipo de tecido amostrado, qualidade da dieta e taxa metabólica de *turnover* (Ben-David & Schell, 2001; Hobson & Clark, 1992; Hobson & Welch 1995; Hobson et al., 1996; Harvey et al., 2002; Kline et al., 1993; Kurle & Worthy, 2001;

Minagawa & Wada, 1984; Overman & Parrish, 2001; Post, 2002; Smit, 2001; Tieszen et al., 1983).

Focken & Becker (1998) determinaram o fracionamento “metabólico” de isótopos estáveis de carbono de duas espécies de peixes (carpa e tilápia) em cativeiro. Encontraram uma grande variação, interespecífica e intraespecífica, nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e o fracionamento de $\delta^{13}\text{C}$ foi maior do que aqueles apontados por DeNiro & Epstein (1978).

As razões isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ em juvenis de “striped bass” (*Morone saxatilis*) apresentaram uma diferença significativa com a taxa de crescimento entre indivíduos, que pode estar associada à mudança na posição trófica (Wainright et al., 1996). Entre os peixes, foi evidenciado que, quanto maior o tamanho dos indivíduos, maior sua posição trófica (Fry et al., 1999; Vander Zanden et al., 1997).

Adams & Sterner (2000) estudaram o efeito do conteúdo de nitrogênio da dieta no nível de enriquecimento trófico, em condições controladas em laboratório, de *Daphnia magna*, alimentadas com *Scenedesmus acutus*, e que apresentaram diferentes valores na razão C:N. Demonstraram que há um alto grau de variabilidade nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ do animal, sendo seu fator de fracionamento inversamente relacionado com o conteúdo de nitrogênio do alimento, indo ao encontro dos resultados obtidos por Post (2002), que apontou que a qualidade do alimento influencia o fracionamento de $\delta^{13}\text{C}$ em peixes.

Vander-Zanden & Rasmussen (2001), conduzindo análise de grande escala de fracionamento trófico (diferença entre a presa e o predador) em sistemas aquáticos, encontraram que os carnívoros, além de terem significativamente maiores valores no fracionamento trófico de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ que os herbívoros, mostraram também menor variação. O fracionamento pode ser resultante da discriminação isotópica durante a assimilação do nitrogênio ou das diferenças isotópicas entre o nitrogênio do *pool* assimilado e não assimilado. O fator metabólico pode ser mais importante nos carnívoros, porque o nitrogênio animal é mais homogêneo bioquimicamente e dominante nas proteínas (principal componente de sua dieta carnívora). Para os herbívoros, ambos, assimilação e fatores metabólicos, podem afetar o fracionamento trófico. Plantas aquáticas podem conter compostos nitrogenados de defesa que não são rapidamente assimilados, como também diferenças isotópicas entre frações

bioquímicas do *pool* de nitrogênio da planta. Tudo isso, associado com a alta variabilidade no conteúdo de nitrogênio e na eficiência na assimilação, cria potencial para que o fracionamento trófico do nitrogênio seja maior. Outros fatores podem também contribuir, como baixos valores de conteúdo de nitrogênio das plantas e a dinâmica individual dos aminoácidos. Enquanto o sinal isotópico do aminoácido essencial pode diferir pouco do da dieta, a síntese de não essenciais pode envolver um maior fracionamento isotópico (Vander-Zanden & Rasmussen, 2001).

A razão isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ é uma importante ferramenta para estimativas de posição trófica e de fluxo de carbono para consumidores em cadeias alimentares. Entretanto o sinal isotópico do consumidor apenas não é suficiente para inferir a posição trófica ou a fonte de carbono, sem um apropriado *isotopic baseline* (linha de base). Essa linha de base isotópica é a adoção de um valor de fracionamento de um consumidor primário, que apresente menos variação e que represente o valor de fracionamento básico para os demais níveis tróficos componentes da cadeia alimentar em estudo. Com base nesse conceito, uma linha de base foi definida por Post (2002) que utilizou dados de literatura proveniente de vários ambientes aquáticos. Os resultados mostraram que um valor para o fracionamento médio de $3,4 \pm 1\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$ e $0,4 \pm 1,3\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$, em sistemas com múltiplas vias tróficas e em um grande número de espécies, é amplamente aplicável. As características apontadas para a escolha do organismo mais adequado a considerar como *isotopic baseline* são: 1) integrar mudanças isotópicas no tempo, numa escala de tempo próxima à do consumidor secundário de interesse; 2) poder coletar no mesmo período de tempo do consumidor secundário de interesse e 3) captar a variabilidade espacial que contribui para o sinal isotópico do consumidor secundário de interesse (Post, 2002).

2.3.4 Variação nos tecidos

A variação na composição isotópica é geralmente observada entre tecidos corporais de uma mesma espécie. O músculo e outros tecidos ricos em proteína, de um modo geral, exibem um valor mais enriquecido de $\delta^{13}\text{C}$ relativo àquele do organismo inteiro, e particularmente àquele de tecidos rico em lipídios (DeNiro & Epstein, 1978; Fry & Arnold, 1982; Hobson & Clark, 1992; Hobson et al. 1993; Kline et al., 1993; Schroeder, 1983; Schmith et al., 1999; Smit, 2001; Tieszen et al., 1983).

Schroeder (1983) determinou o $\delta^{13}\text{C}$ do músculo, da escama e da nadadeira de titápia e carpa e observou que os valores de $\delta^{13}\text{C}$ tornaram-se mais negativos da escama para a nadadeira e para o músculo. Porém a grande variabilidade dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, entre os tecidos das espécies estudadas, inviabilizou a generalização de uma faixa de variação, ou uma tendência entre os tecidos dos peixes.

Os efeitos do jejum ou do estresse nutricional causam mudanças fisiológicas no animal, que podem influenciar os valores isotópicos dos tecidos. Um enriquecimento isotópico de nitrogênio em tecidos de aves, durante período de jejum e de estresse nutricional, foi verificado. Sob essas condições, a maior proporção de compostos nitrogenados disponíveis para a síntese de proteína são derivados do catabolismo e, assim, esta fonte de nitrogênio já enriquecida em ^{15}N , relativamente à dieta, sofre um adicional enriquecimento no *pool* de nitrogênio metabólico disponível para a síntese. A consequência de tal processo é um eventual enriquecimento em ^{15}N em todos os tecidos relativos ao período sem estresse nutricional. Não foi encontrada evidência de que o mesmo ocorra em relação ao carbono (Hobson et al., 1993).

Diferentemente das aves, Doucett et al. (1999) mostraram não haver mudança nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ do músculo branco de salmão *Salmo salar*, submetido ao jejum durante o período de migração reprodutiva. Os autores atribuíram o enriquecimento em $\delta^{13}\text{C}$ antes à depleção de lipídios extracelular que ao enriquecimento no músculo, resultado que vai ao encontro dos obtidos por Focken & Becker (1998).

Diferentes tecidos podem refletir a composição isotópica de diferentes constituintes da dieta. A suposição de que a composição isotópica do tecido do consumidor é uma média aritmética da composição isotópica de seus constituintes dietéticos nem sempre é verdadeira. Os diferentes componentes da dieta (carboidrato, lipídios e proteínas) são usualmente direcionados para diferentes tecidos, sem ser homogeneizados e reparticionados, como uma média aritmética da composição isotópica de seus constituintes dietéticos (Ben-David & Schell, 2001). Há diferentes alocações de nutrientes para diferentes tecidos (Focken & Becker, 1998; Gannes et al., 1998). Se o animal cataboliza carboidratos e lipídios completamente e usa aminoácidos para a síntese de proteína, a composição isotópica de carbono de seu corpo deveria refletir o valor isotópico da proteína da dieta. Por outro lado, se o

carbono das fontes de energia dietética (lipídios e carboidratos) e das fontes de proteína são misturados na síntese protéica, o valor de $\delta^{13}\text{C}$ da proteína animal deveria refletir o total da dieta. O valor isotópico da proteína do animal alimentado com dieta rica em proteína parece refletir o valor isotópico da proteína da dieta, e não do total da dieta. A composição isotópica do colágeno e do músculo reflete a proteína da dieta. Em contraste, a composição isotópica dos ossos reflete melhor a composição do total da dieta. Mesmo a composição isotópica do animal com aparente dieta homogênea, assim como herbívoros, pode grandemente refletir a proteína dietética, se o animal mistura duas dietas com diferentes conteúdos de proteína (Gannes et al., 1998).

Os valores mais empobrecidos dos lipídios em relação às outras frações bioquímicas constituintes dos tecidos, podem gerar interpretações equivocadas, pois é atribuído à presença dos lipídios no tecido amostrado um provável empobrecimento nos valores isotópicos do tecido animal (Focken & Becker, 1998; Hesslein et al., 1993; Hobson, 1995; Kline et al., 1993; Rau et al., 1992).

A influência dos lipídios pode ser um fator de maior interferência nos valores isotópicos quando sua deposição no tecido animal for proveniente de um fator fisiológico, isto é, quando um maior acúmulo de lipídios ocorre independentemente de uma mudança da dieta (Hobson et al. 1993; Doucett et al. 1999), como pode ser o caso do animal que se prepara para realizar movimentos migratórios reprodutivos, ou a produção de gônadas (Kline et al., 1993). Mas, se o teor de lipídios for alterado pela mudança da dieta, a análise com os lipídios é importante para refletir a dieta ingerida naquele período (Ben-David & Schell, 2001). Por outro lado, a extração dos lipídios do tecido original pode levar também a uma maior variação na composição isotópica e dificilmente representaria a dieta ingerida pelo animal (Pinnegar & Polunin, 1999).

2.3.5 Qualidade da dieta

Diferenças na assimilação do alimento natural e do artificial por *Notemignus crysoleucas* em tanques evidenciaram a influência da qualidade da dieta na composição isotópica em peixes. Entre as três dietas testadas, aquela que menos foi assimilada pelo peixe foi a dieta baseada em milho, uma planta C_4 . Apenas 17% do tecido corporal foi derivado dessa fonte, embora tenha sido administrada diariamente, sob as mesmas condições das demais. Os peixes alimentados com milho

preferencialmente assimilaram o alimento natural disponível no tanque (Lochmann & Phillips, 1996).

O emprego do método isotópico na determinação da contribuição relativa dos diferentes itens alimentares, muitas vezes, assume, como verdadeiro, que a composição isotópica do tecido animal é igual à média ponderada da composição isotópica dos constituintes de sua dieta (Gannes et al., 1997). Estes autores apontam três razões para que essa condição de validade não seja totalmente satisfeita: 1) os animais assimilam os componentes da dieta com eficiência variada; 2) os tecidos animais fracionam os isótopos de sua dieta (mudam a razão isotópica) e 3) os animais alocam os nutrientes da dieta diferencialmente para específicos tecidos.

A interpretação da composição isotópica do tecido animal é também complicada pelo fenômeno *isotopic routing*. Os isótopos contidos nos diferentes componentes da dieta são conduzidos diferencialmente para específicos tecidos e compartimentos do corpo. Como decorrência, o tecido frequentemente não reflete a composição isotópica da dieta como um todo, mas a composição isotópica do nutriente que compõe a dieta, do qual o tecido foi sintetizado. Mesmo que alguns animais tenham recebido uma dieta homogênea, o fracionamento resultante do metabolismo pode ser diferente entre os seus tecidos, por haver diferentes vias bioquímicas (Gannes et al., 1997).

O efeito do balanço de energia e de proteína no destino do esqueleto carbônico de animais onívoros, carnívoros e talvez alguns herbívoros, pode ser muito mais bem entendido depois de uma completa interpretação da construção dietética, usando-se isótopos estáveis. Em alguns estudos, a maior ingestão de uma dieta de plantas C_3 pode ser atribuída à maior digestibilidade delas, mas pode ser também atribuída ao fato de ter havido uma assimilação preferencial do carbono ingerido de plantas C_3 , do que à sua maior digestibilidade (Gannes et al., 1998).

Dessa forma, indivíduos com dieta similar podem exibir diferentes razões isotópicas, devido à variabilidade intrínseca na eficiência de assimilação, de deposição de nutrientes e de outros processos internos, como o metabolismo de nutrientes. A condição nutricional do animal (que pode, em parte, depender de prévia dieta, de balanço de energia e proteína e de estágio reprodutivo), junto com a composição da dieta (carboidrato, lipídios e proteínas, como também composição de aminoácidos e ácidos graxos), podem influenciar o destino dos diferentes componentes dietéticos.

Enquanto um consumidor pode assimilar lipídios e proteínas de uma fonte, mas sua energia deriva de uma outra fonte, o valor isotópico dos seus tecidos pode ser subestimado em relação à última. Por outro lado, outros indivíduos com diferentes estados fisiológicos podem assimilar lipídios e proteína de ambas as fontes. Assim, diferentes componentes da dieta (i.e. carboidrato, lipídios e proteínas) são usualmente direcionados para diferentes tecidos, sem ser homogeneizados e repartidos eqüitativamente. Os resultados isotópicos do tecido adiposo de marta *Mustela vison* exemplificam essa afirmação. Eles indicaram que os lipídios de apenas um dos itens da dieta foram assimilados e depositados no tecido adiposo, representando um caso específico de rota isotópica de fontes (Ben-David & Schell, 2001).

Como visto, tanto os estudos laboratoriais como os em ambiente natural têm indicado que o fracionamento isotópico do carbono não é constante, mas depende da qualidade nutricional da dieta (Post, 2002; Smit, 2001). Um modelo conceitual foi desenvolvido, para explicar a possível relação entre o fracionamento isotópico e a qualidade do alimento, por Fantle et al. (1999). De acordo com o modelo, caranguejos com rápido crescimento se alimentam com fonte de alimento nutricionalmente provida de ambos, energia e metabólicos ativos, e de aminoácidos para a biossíntese de novos tecidos. Como a maior quantidade de C da dieta é incorporada no tecido, o $\delta^{13}\text{C}$ do novo tecido sintetizado foi similar ao do alimento ingerido. Em contraste, um lento crescimento individual, sustentado por uma dieta pobre em proteína, levaria a um maior fracionamento de C e a um valor de $\delta^{13}\text{C}$ mais pesado que de sua dieta. Isso porque a baixa qualidade da fonte de alimento não proveria energia suficiente para sustentar as necessidades metabólicas básicas, e as proteínas e os lipídios do estoque do caranguejo seriam catabolizados, para prover o seu requerimento energético.

A importância e a necessidade de mais investigações laboratoriais acerca da dinâmica de incorporação de C e de N nos peixes, a partir do método isotópico é inquestionável. Elas possibilitarão determinar contribuições relativas de determinada fonte na composição dos peixes, e até mesmo dos seus diferentes tecidos, relacionando fontes, suas qualidades e suas quantidades.

2.3.6 Turnover isotópico

Os isótopos estáveis em animais adultos, submetidos a mudanças da fonte alimentar, tendem a refletir a nova dieta; entretanto, com a considerável variabilidade, é improvável que mudanças na dieta, num período de curto tempo, sejam refletidas no tecido animal (Jackson & Harkness, 1987; Smit, 2001). Os valores isotópicos dos tecidos são próximos, ou refletem, o valor da dieta, quando decorrido um tempo mínimo para sua integralização. Valores isotópicos mensurados dentro desse período estão sujeitos aos efeitos da *isotopic memory* (Hesslein et al., 1993).

O período de tempo para a mensuração do valor isotópico, sem o efeito da *isotopic memory*, dependerá, em parte, da taxa de movimentação do tecido animal. A taxa é dependente do metabolismo específico e este, por sua vez, do aporte dos nutrientes assimilados durante o processo alimentar (Hobson & Clark, 1992).

A taxa de movimentação ou reposição é conhecida como *turnover*. O *turnover* isotópico é definido como a mudança isotópica, devida ao crescimento e ao repasse metabólico aos tecidos, associados com a mudança na dieta. Sua determinação é importante para o entendimento da relação temporal entre o sinal isotópico do predador e aquele da sua presa. Alguns períodos de tempo podem ser requeridos para o predador refletir o valor isotópico de uma nova presa. O *turnover* isotópico máximo é definido como a mudança em 100% nos valores isotópicos do animal, em resposta à mudança de uma dieta original para uma nova (MacAvoy et al., 2001).

Fry & Arnold (1982) estudaram a taxa de *turnover* de ^{13}C em camarões. O *turnover* do carbono estrutural dessa espécie foi rigorosamente devido ao aumento em peso durante o crescimento, e não à decorrência do tempo. A maior taxa de reposição foi obtida depois de aumentado em quatro vezes o peso inicial, quando o valor de $\delta^{13}\text{C}$ do camarão foi mais enriquecido, aproximadamente em 1‰, com a nova dieta. Para os animais adultos, com baixa taxa de crescimento, o *turnover* foi relacionado mais com o metabolismo de manutenção que com o crescimento. Um rápido ou lento *turnover* pode ser característico do crescimento animal (interespecífico), ou dos tecidos individuais (intraespecífico), como é o caso da gordura de inverno de alguns animais, que são rapidamente reutilizados na manutenção de outros tecidos.

Seguindo essa linha de pesquisa aplicada, Tieszen et al. (1983) estudaram o fracionamento e o *turnover* de isótopos de carbono em tecidos de aves. Os

resultados mostraram que os tecidos com maior atividade metabólica, como o fígado e a gordura, tiveram um *turnover* mais rápido que os tecidos de menor atividade metabólica, como a pena. A meia vida do carbono (tempo estimado para o repasse de 50 % do carbono original para o novo no tecido) variou de 6,4 dias, no fígado, para 47,5 dias, na pena. Portanto diferentes tecidos repassam carbono em diferentes taxas, sendo o *turnover* dos tecidos decrescente na seguinte ordem: fígado > gordura > músculo > cérebro > pena. Baseados nesses resultados, os autores sugerem que, quando possível, as análises de dieta, por meio de valores de $\delta^{13}\text{C}$, não devem basear-se na análise de um único tecido. O fracionamento apresenta diferentes valores, em função do repasse do carbono da dieta para os tecidos, e o relativamente rápido *turnover* de alguns tecidos pode obscurecer a relativa importância de dois componentes da dieta isotopicamente distintos, se a dieta animal variar através do tempo. Os estudos de dieta animal deveriam ser realizados por uma análise múltipla, envolvendo mais de uma origem de amostra, como amostra do tecido ósseo, do colágeno (indicador de dieta mais antiga, lento *turnover*), das fezes ou do conteúdo estomacal (indicador de dieta recente).

Peixes da espécie *Coregonus nasus* foram confinados, pelo período de um ano, com dietas de distintas fontes isotópicas. A mudança nos valores isotópicos do músculo e do fígado foi atribuída à acumulação de tecidos com o crescimento. O repasse metabólico expresso como *turnover* foi apenas de 0,1 – 0,2% d⁻¹, e semelhante para os dois tecidos analisados (Hesslein et al., 1993). Esses autores concluíram que uma completa mudança na composição isotópica dos tecidos dos peixes, em resposta à mudança da dieta, deve refletir diretamente a taxa de crescimento. Se o peixe tem crescimento rápido, a mudança na composição isotópica dos tecidos, em resposta à nova dieta, será mais rápida e determinada pela adição de novos tecidos. O tempo para que a composição isotópica dos peixes de lento crescimento entre em equilíbrio com a nova dieta pode ser de alguns anos.

O *turnover* isotópico do bagre azul, *Ictalurus furcatus*, foi determinado em laboratório por um período de 84 dias. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do sangue e do músculo foram enriquecidos em relação à dieta 1,5‰ e 1,3‰, respectivamente. O valor isotópico da nova dieta seria repassado 100%, após um período de 400 e 450 dias, para o sangue e o músculo, respectivamente. Fatores que contribuíram para um lento

turnover isotópico do bagre azul foram, primeiro, o lento metabolismo de poiquilotermos e, segundo, a sua lenta taxa de crescimento (MacAvoy et al., 2001).

A mudança de $\delta^{15}\text{N}$ no tecido muscular de *Rhinogobius sp* em crescimento foi monitorada por um período de um ano, no ambiente natural. O nitrogênio foi repassado numa taxa de reposição metabólico de 5 a 20% ao mês. Aproximadamente 80% da mudança no $\delta^{15}\text{N}$ foram atribuídos ao crescimento, e não à mudança da dieta. Os resultados confirmaram que o crescimento é o fator dominante e responsável pela mudança isotópica no músculo de peixe em crescimento (Maruyama et al., 2001).

A investigação das mudanças alimentares de uma espécie de mexilhão, *Mysis relicta*, sugeriu que as mudanças na dieta são mais rapidamente refletidas no $\delta^{15}\text{N}$, que no $\delta^{13}\text{C}$. O *turnover* do C parece ser muito mais lento, se comparado ao de N (Johannsson et al., 2001).

3 SAZONALIDADE ALIMENTAR E FONTES DE ENERGIA DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) DETERMINADAS POR ISÓTOPOS ESTÁVEIS E POR CONTEÚDO ESTOMACAL

RESUMO

O ciclo anual de inundações da Bacia Amazônica condiciona sazonalidade alimentar da ictiofauna da região. As técnicas de análise de conteúdo estomacal e de isótopos estáveis foram combinadas para investigar a sazonalidade alimentar e as fontes de energia do tambaqui (*Colossoma macropomum*), capturados no lago do Camaleão, Amazônia Central. O tamanho dos indivíduos, o teor de lipídios, o fator de fracionamento e a memória isotópica foram discutidos para interpretar as variações na composição isotópica dos peixes. O grau de repleção estomacal e a importância relativa dos itens alimentares variaram significativamente com o nível de água. As plantas C₃ foram responsáveis por 55 a 95% da fração biomassa do tambaqui, enquanto o zooplâncton contribuiu com um mínimo de 26% da fração de nitrogênio, na cheia e com um máximo de 67%, na seca. Gramíneas C₄ foram responsáveis pela menor contribuição, com o máximo de 26% na fração biomassa e de 13% na fração N, durante o período de enchente. O hábito alimentar do tambaqui é complexo e depende do pulso de cheias e vazantes. Desse modo, tanto a intervenção no ciclo hidrológico dos rios da Amazônia como a alteração na paisagem de suas várzeas, terão consequências negativas para a manutenção dos estoques dessa espécie.

DEFINITION OF ALIMENTARY SEASONAL VARIATION AND SOURCES OF ENERGY OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) BY THE USE OF STABLE ISOTOPES AND STOMACH CONTENT ANALYSIS TECHNIQUES

SUMMARY

The annual flooding cycles of the Amazon Basin conditions alimentary seasonality of its ichthyic fauna. Stomach content analysis and stable isotopes techniques were combined to investigate the alimentary seasonal variation of energy sources of the fish tambaqui (*Colossoma macropomum*) from lake Camaleão, Central Amazon. Individual size, lipid contents, fractionation factor and isotopic memory were discussed to interpret the variations in the fish isotopic composition. The degree of stomach repletion and the relative importance of the alimentary items varied significantly with the water level. The C₃ plants were responsible for 55 to 95% of the biomass fraction of the tambaqui, while zooplankton contributed with a minimum of 26% of the nitrogen fraction during floodings, and a maximum of 67% in the dry seasons. C₄ grasses were responsible for the smallest contribution, with the maximum of 26% of the biomass and 13% of the N during flooding. Feeding habit and alimentary behavior of tambaqui are complex and depend on the flooding pulse. Therefore, not only interventions in the hydrological cycle of the rivers of the Amazon Basin, but also alterations in the landscape of their meadows, can be disastrous for the survival of the species.

3.1 INTRODUÇÃO

As várzeas do rio Amazonas provêem hábitat e abrigo para algumas espécies de peixes (Araújo-Lima & Goulding 1998; Goulding & Carvalho, 1982; Lowe-McConnel, 1987; Soares et al., 1986; Zuanon, 1990). Durante o período de inundação, os peixes têm acesso a várias fontes de alimento da floresta alagada – frutas, sementes, folhas e a macro e a microfaunas associadas. Durante a estação seca, os lagos de várzea ficam isolados da floresta e o fitoplâncton, perifiton, zooplâncton, macrófitas aquáticas e os macroinvertebrados tornam-se fontes importantes de carbono e de nitrogênio (Junk et al., 1997; Saint-Paul et al., 2000). Essa elevada inter-relação entre os ambientes aquático e terrestre disponibiliza uma grande variedade de itens alimentares e promove um alto nível de onivoria (Santos & Ferreira, 1999).

Entre os vários grupos favorecidos pela riqueza das áreas de várzea, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma das espécies de peixe comercial mais importante na região. Estudos baseados em análise de conteúdo estomacal demonstram, que durante o período de inundação, frutas e sementes de florestas inundadas são a principal fonte de alimento do tambaqui. Por outro lado, zooplâncton é especialmente importante durante o período de secas (Carvalho, 1981; Gottsberger, 1978; Goulding & Carvalho, 1982; Honda, 1974; Saint-Paul, 1984; Silva et al., 2000).

O método de isótopos estáveis, utilizando o carbono, foi usado por Araújo-Lima et al. (1998) e Forsberg et al. (1993), para complementar os estudos sobre dieta de tambaqui. Obtiveram-se resultados similares aos dos estudos baseados em conteúdo estomacal, em que frutos e sementes de plantas C_3 (60 – 65 %) e zooplâncton (30 – 35 %) foram as principais fontes de carbono. Porém não foi detectada qualquer diferença sazonal significativa na composição de isótopos estáveis de carbono desses peixes. Por outro lado, Benedito-Cecílio et al. (2000) analisaram a composição isotópica de carbono de 10 indivíduos coletados na estação seca e de 7 indivíduos coletados durante inundação ao longo dos rios Solimões e Amazonas, e concluíram que as fontes de carbono do tambaqui diferem sazonalmente. As algas, a partir do zooplâncton, e não as plantas C_3 , foram a principal fonte de carbono para o tambaqui, especialmente durante o período de seca, contribuindo com o máximo de 87 %, seguidos das macrófitas C_4 (22 %). As plantas C_3 só foram importantes durante o período de cheia (38 %).

Estes resultados foram baseados em um número relativamente pequeno de indivíduos, coletados numa grande área. A grande variabilidade encontrada para as razões isotópicas dos animais e de suas fontes sugere que o tamanho da amostra e as variações individual, temporal e espacial são fatores importantes a considerar, para detectar pequenas alterações de dieta ou a sazonalidade alimentar (Fry et al., 1999; Harvey et al., 2002; Johannsson et al., 2001; Overman & Parrish, 2001; Post, 2002; Smit, 2001). Devido à grande importância ecológica e comercial do tambaqui, a estimativa mais precisa da contribuição relativa de cada fonte alimentar potencial e de sua importância sazonal torna-se essencial para o efetivo e responsável manejo ambiental.

Nos últimos anos, o uso do método isotópico em investigações da dieta animal tem avançado e modelos matemáticos, envolvendo mais de um isótopo, podem estimar os valores percentuais da contribuição das principais fontes na dieta animal (Ben-David et al., 1997; Kline et al., 1993; Phillips, 2001; Phillips & Gregg, 2001; Phillips & Koch, 2002). Contudo a complexidade que envolve a ecologia alimentar de uma espécie exige o uso, em conjunto, da metodologia isotópica e de outros métodos tradicionais para melhor esclarecer as interações tróficas. A análise do conteúdo estomacal, em conjunto com a análise de composição isotópica, possibilitam uma investigação mais completa do que é ingerido e realmente assimilado nos tecidos (Post, 2002).

Este estudo teve como objetivo investigar a sazonalidade alimentar do tambaqui, numa área de várzea do rio Amazonas, combinando o método de análise do conteúdo estomacal e de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio. Foram determinadas as composições isotópicas desses elementos em amostras de tecido e de material encontrado no conteúdo estomacal de tambaquis jovens, coletados no lago de Camaleão, durante um ciclo anual, além de em amostras de itens alimentares representativos. Também foi examinado como e se a importância relativa das principais fontes de alimento da espécie variam sazonalmente com o nível das águas, usando-se o *concentration-weighted linear mixing model*, que, além das proporções de biomassas, fornece informações sobre contribuições elementares de cada fonte dietética.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Área de estudo e coletas

Os peixes foram coletados no lago de Camaleão (Figura 1), Ilha de Marchantaria, rio Solimões (3°15' 12" S e 59°57'37" W), um lago de várzea com 7 km de comprimento, 11 m de profundidade e 500 m de largura, quando inundado; 2,5 m de profundidade e 100 m de largura quando isolado do rio (Darwich, 1995). É um lago característico da Amazônia Central. A variação anual do nível das águas do rio Solimões é aproximadamente 10 m. A água começa a subir em janeiro, e atinge o máximo no final de junho ao começo de julho. O nível mais baixo da água acontece entre o final de novembro e o começo de dezembro. Do final de outubro ao começo de janeiro, o lago Camaleão permanece hidrologicamente isolado do rio Solimões.

Um total de 201 peixes jovens, com comprimento padrão variando de 8 a 38 cm, média de $23,2 \pm 6,6$ cm, foram capturados entre maio de 1999 e julho de 2001. As pescarias foram mensais e efetuadas com redes de emalhar de 25 m de comprimento por 2 m de altura, malhas com 30 a 200 mm entre nós e expostas durante um período de 24 horas, com despescas em intervalos de 6 horas. Os peixes foram agrupados de acordo com o nível da água nas quais foram capturados. Foram capturados 31 peixes durante a enchente (março a maio); 32 peixes na cheia (junho e julho); 96 peixes na vazante (outubro e novembro), e 42 na seca (dezembro a fevereiro). Após a coleta, os peixes foram refrigerados, transportados para o laboratório, pesados e medidos com precisão de 0,1 g e 0,1 cm, respectivamente. Foram removidos os estômagos dos peixes, para posterior análise de conteúdo estomacal, e retiradas 160 amostras para a composição isotópica do material ingerido. O peixe inteiro, exceto o intestino, foi moído cuidadosamente. Assim, cada amostra de peixe foi composta de músculo, pele, osso e escama. Cinquenta e uma amostras de itens alimentares do tambaqui foram também coletadas nos mesmos locais onde foram capturados os peixes, por meio de diferentes equipamentos. Dezesesseis amostras de plantas C_3 (frutos e sementes), duas plantas C_4 (folhas e raiz), quatro amostras de zooplâncton, três de fitoplâncton na forma de COP, 11 insetos associados a macrófitas e, na floresta inundada, seis moluscos, quatro camarões e cinco amostras de sedimentos superficiais. Cada amostra foi composta de vários indivíduos. Depois de secas a 60°C, todas as amostras foram moídas em almofariz e pistilo até a forma de pó fino.

Figura 1. Localização do lago Camaleão, Ilha da Marchantaria, Amazônia Central. Falsa composição colorida (5, 4, 3). Landsat 7, sensor ETM+, janeiro de 2002.

3.2.2 Análise da dieta

Dos 201 espécimes de peixes capturados, 162 apresentaram estômagos parcialmente ou totalmente cheios. A análise da dieta foi determinada pela frequência de ocorrência (F_o = percentual em que cada item alimentar ocorreu, em relação ao número total de estômagos com alimento), e o volume relativo de cada item alimentar foi calculado de acordo com o grau de repleção dos estômagos (Hyslop, 1980). O índice alimentar (IA_i), que avalia o grau de importância relativa que cada item alimentar possui na dieta, considerando a F_o e o volume de cada item, foi calculado de acordo com o método descrito por Kawakami & Vazzoller (1980), e expresso em percentagem, por meio da expressão:

$$IA_i = \frac{F_{oi} * V_i}{\sum_{n=1}^n (F_{oi} * V_i)} \quad (1)$$

onde i é o item alimentar; F_{oi} é a frequência de ocorrência (%) do item i e V_i é o volume (%) do item i .

A atividade alimentar também foi avaliada de acordo com o grau de repleção dos estômagos (Yabe & Bennemann, 1994). O percentual atribuído para os estômagos seguiu a escala: 100% (estômago cheio), 75%, 50%, 25% e 0% (estômago vazio).

As fontes alimentares potenciais do tambaqui foram agrupadas nas seguintes categorias: (i) insetos – insetos imaturos, larvas, ninfas, insetos adultos e restos de insetos; (ii) crustáceos – camarões inteiros e restos de camarões; (iii) peixes – restos de peixes, escamas e larvas de peixes; (iv) zooplâncton – cladóceros, copépodos, ostrácos, e rotíferos; (v) moluscos – animais inteiros ou fragmentos de concha; (vi) frutos e sementes – frutos inteiros e sementes, pedaços de frutos e infrutescências; (vii) material vegetal – fragmentos de galhos, casca, folhas, flores, e raízes; (viii) algas – unicelulares, filamentosas e coloniais; (ix) sedimento.

3.2.3 Análise isotópica

As composições isotópicas em carbono e em nitrogênio das amostras foram determinadas a partir da tomada de uma alíquota de aproximadamente um miligrama de amostra, para posterior análise no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA (USP), através da combustão das amostras sob fluxo contínuo de hélio, em um analisador elementar (Carlo Erba, CHN – 1110) acoplado ao espectrômetro de massa Thermo Finnigan Delta Plus. Os gases CO_2 e N_2 , resultantes da combustão das amostras, foram analisados em duplicata, com erro analítico de 0,3‰ e 0,5‰, respectivamente. As razões isotópicas são expressas pela notação delta (δ), em partes por mil (‰), dos padrões internacionais, PDB para carbono e ar atmosférico para nitrogênio e calculadas por meio da fórmula:

$$\delta_{amostra} (\text{‰}) = \frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \times 1000 \quad (2)$$

3.2.4 Determinação da contribuição das fontes alimentares

A contribuição relativa das fontes alimentares do tambaqui foi estimada pelo *concentration-weighted linear mixing model*, de acordo com Phillips & Koch (2002). Esse modelo assume implicitamente que, para cada elemento, a contribuição de uma fonte alimentar para um consumidor é proporcional à biomassa assimilada vezes a concentração elementar daquela fonte, o que permite estimar os resultados em fração de biomassa total, carbono e nitrogênio. O modelo resulta de um amplo debate em que a obtenção de diferentes resultados para uma mesma espécie, por diferentes métodos, é atribuída a fatores de interferência na incorporação das fontes no tecido animal, como qualidade das fontes, estado nutricional e fisiológico do animal entre outros (Ben-David & Schell, 2001; Harvey et al., 2002; Phillips, 2001; Phillips & Gregg, 2001; Phillips & Koch, 2002; Robbins et al., 2002). Embora esse modelo não contemple todas os potenciais fatores de interferência, permite maior acurácia em relação aos demais modelos até então utilizados, por contemplar a diferença elementar de C e de N como indicação da qualidade da fonte de alimento (Thorp et al., 1998). A importância da aplicação desse modelo para o tambaqui é que, sendo onívora, essa espécie consome tanto fontes de origem animal como vegetal, com diferentes concentrações elementares de C e de N, e isso pode influenciar diretamente a proporção de incorporação das fontes.

Foram selecionadas três fontes alimentares de importância na dieta do tambaqui e seus valores de composição isotópica foram ajustados pelo fator de fracionamento trófico de 1‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e 3,4‰ para $\delta^{15}\text{N}$, como proposto por DeNiro & Epstein (1978) e Minagawa & Wada (1984), respectivamente, e adotado por Phillips & Koch (2002). Esses fatores de fracionamento são empregados amplamente para um grande número de diferentes consumidores e foram recentemente confirmados por Post (2002) para ecossistemas aquáticos, por meio de *isotopic baseline*. Com as fontes ajustadas, o cálculo das estimativas pelo modelo citado foi efetuado, usando-se a planilha eletrônica disponibilizada por Phillips & Koch (2002) no endereço eletrônico <http://www.epa.gov/wed/pages/models.htm>.

3.2.5 Análise estatística

Os resultados das composições isotópicas do tecido do peixe inteiro e do material do conteúdo estomacal nos períodos hidrológicos foram analisados pela ANOVA e a comparação entre médias, realizada pelo teste de múltiplo alcance de Tukey ($P < 0,05$). A análise dos dados foi realizada pelo aplicativo estatístico SAS, versão 2.16 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Atividade alimentar

O grau de repleção dos estômagos aumentou do período de enchente para o de cheia, quando o grau máximo de repleção foi observado (Figura 2). Houve uma redução significativa do grau de repleção no período de vazante, alcançando seu mínimo na seca, quando 65% dos estômagos apresentaram grau de repleção menor que 25% (Figura 2). Nove itens alimentares foram identificados na dieta do tambaqui, ao longo do ano. Material vegetal e zooplâncton foram os únicos itens consumidos pelo tambaqui durante todo o ano (Tabela 1). Os frutos e as sementes também foram importantes, exceto durante o período da seca, quando estiveram ausentes (Tabela 1). Outros itens como insetos, sedimento, moluscos e peixes foram consumidos principalmente na seca, considerado um período de restrição alimentar pronunciada.

O índice alimentar variou entre os períodos hidrológicos (Figura 3). Durante o período de enchente, os principais itens alimentares foram material vegetal, frutos e sementes, e o terceiro item mais importante foi o zooplâncton. Durante o período de cheia, houve domínio quase total de frutos e sementes, enquanto, durante a vazante e a seca, houve predominância de zooplâncton (Figura 3). A somatória dos outros itens alimentares, como sedimento, moluscos, insetos, camarões, peixes e algas, representou um índice alimentar menor que os três itens principais discutidos acima. Adequadamente, eles foram agrupados em uma só categoria – outros (Figura 3).

Figura 2. Número relativo do estômagos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) agrupados em quatro categorias de grau de repleção.

Tabela 1. Frequência de ocorrência relativa (Fo) dos itens alimentares identificados nos estômagos do tambaquis (*Colossoma macropomum*)

Item alimentar	Enchente	Cheia	Vazante	Seca
----- % -----				
Frutos/sementes	32	86	43	-
Material vegetal	36	14	36	50
Zooplâncton	24	24	63	72
Sedimento	16	-	-	33
Moluscos	8	-	-	22
Insetos	-	3	14	50
Camarões	-	-	2	6
Peixes	4	-	4	22
Algas	-	-	4	6

Figura 3. Índice Alimentar (IAi) para os principais itens alimentares identificados no estômago do tambaqui (*Colossoma macropomum*) nos períodos de enchente, cheia, vazante e seca.

3.3.2 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das fontes de energia

Os frutos e as sementes ingeridos pelo tambaqui foram provenientes de espécies de plantas com via fotossintética C_3 . Os valores médios para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de 16 frutos e sementes originários da várzea da Amazônica foi $-29,3\text{‰}$ e $4,5\text{‰}$, respectivamente (Figura 4). O valor médio $\delta^{13}\text{C}$ de duas espécies de gramíneas C_4 , típicas da várzea Amazônica – *Echinochloa polystachya* e *Paspalum repens* –, foi de $-12,9\text{‰}$, e o seu valor médio, de $\delta^{15}\text{N}$ foi, mais enriquecido do que os das plantas C_3 , $6,6\text{‰}$. Outra fonte importante de energia para o tambaqui foi o zooplâncton, que apresentou um valor menor de $\delta^{13}\text{C}$ ($-37,7\text{‰}$) e também um valor médio maior de $\delta^{15}\text{N}$ de $7,3\text{‰}$ (Figura 4).

Além desses itens alimentares potenciais, foram determinadas também as composições isotópicas de outras fontes secundárias (Figura 4). Amostras de sedimento e de insetos que vivem em plantas C_3 apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$, semelhantes a frutos e sementes. A diferença principal é que, para ambos, os valores $\delta^{15}\text{N}$ foram maiores que os dos frutos e sementes (Figura 4). Os insetos que vivem em plantas C_4 também apresentaram uma composição isotópica semelhante à das plantas C_4 (Figura 4). Finalmente, moluscos e camarões apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ semelhantes, aproximadamente -24‰ , mas com valores de $\delta^{15}\text{N}$ totalmente distintos. O valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ dos camarões foi quase 5‰ maior que o dos moluscos. A grande diferença nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre esses dois itens indica uma maior proximidade entre camarões e tambaqui, em termos de composição isotópica (Figura 4).

Figura 4. Relação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ($\mu \pm \text{E.P.}$) dos tecidos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) na enchente (EM); cheia (CH); vazante (VZ) e seca (SC), e as fontes alimentares do lago Camaleão.

3.3.3 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do tambaqui

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de tecidos de tambaqui variaram durante o ciclo hidrológico, mas não houve diferença estatística entre o período de cheia e de seca, apresentando médias de $\delta^{13}\text{C}$ semelhantes (Tabela 2). O $\delta^{13}\text{C}$ do tecido diminuiu do período da enchente para o da vazante, aumentando em seguida durante o período da seca. O maior valor de $\delta^{13}\text{C}$ do material encontrado no estômago foi também observado durante a enchente (Tabela 2). O valor isotópico do material encontrado no estômago decresceu do período da enchente para o da seca. Porém os valores de $\delta^{13}\text{C}$ não foram estatisticamente diferentes entre os períodos de cheia e de seca. Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos tecidos do peixe também variaram durante o ciclo hidrológico (Tabela 2). Os períodos de cheia e de seca diferiram ($P < 0,05$) e os valores de $\delta^{15}\text{N}$ decresceram do período de enchente para o da cheia, aumentando deste para o período da seca. Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ do material encontrado no estômago seguiram a mesma tendência observada para os $\delta^{15}\text{N}$ dos tecidos de tambaqui. Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ foram diferentes ($P < 0,05$) entre os períodos de cheia e de seca (Tabela 2).

O fracionamento isotópico, diferença entre o valor da composição isotópica do tecido do peixe inteiro e o valor do material encontrado no seu respectivo estômago ($\Delta_{\text{tecido-estômago}}$), variou de 0,9 a 2,7‰ para carbono, e de 1,6 a 2,8‰ para nitrogênio, mas não houve diferença estatística entre esses valores.

Tabela 2. Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ($\mu \pm \text{E.P.}$) de tecido e material encontrado no estômago do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e fracionamento isotópico ($\Delta_{\text{tecido-estômago}}$).

	Enchente	Cheia	Vazante	Seca
	----- ‰ -----			
$\delta^{13}\text{C-tecido}$	$-25,9 \pm 0,5^c$	$-28,6 \pm 0,2^{ab}$	$-28,8 \pm 0,2^a$	$-27,9 \pm 0,2^b$
$\delta^{13}\text{C-estômago}$	$-28,4 \pm 0,5^a$	$-29,5 \pm 0,2^{ab}$	$-31,2 \pm 0,3^b$	$-31,7 \pm 0,5^b$
$\Delta^{13}\text{C}_{\text{tecido-estômago}}$	2,5 ^a	0,9 ^a	2,5 ^a	2,7 ^a
$\delta^{15}\text{N-tecido}$	$9,8 \pm 0,3^{ab}$	$8,9 \pm 0,2^b$	$9,9 \pm 0,1^a$	$10,5 \pm 0,3^a$
$\delta^{15}\text{N-estômago}$	$7,3 \pm 0,2^{ab}$	$6,7 \pm 0,3^b$	$7,0 \pm 0,2^b$	$8,3 \pm 0,5^a$
$\Delta^{15}\text{N}_{\text{tecido-estômago}}$	2,5 ^a	2,2 ^a	2,8 ^a	1,6 ^a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tukey

3.3.4 Fontes de energia do tambaqui estimadas pelos isótopos

Frutos e sementes, material vegetal e zooplâncton foram responsáveis por quase 95% de todo o alimento ingerido pelo tambaqui do lago Camaleão (Figura 3). Portanto é razoável assumir que sejam as principais fontes a usar no modelo proposto por Phillips & Koch (2002). Os frutos e as sementes consumidos pelo tambaqui são originários de plantas C_3 de várzea (Silva et al., 2000). Por outro lado, na categoria material vegetal, pode estar presente material de plantas C_3 ou C_4 . Dessa forma, foi usada, no referido modelo, a média do valor isotópico do carbono e de nitrogênio dos frutos e das sementes das plantas de várzea como o valor *end-member* para as plantas C_3 , macrófitas C_4 como valor *end-member* para as plantas C_4 , e zooplâncton como terceiro *end-member* (Tabela 3). As plantas C_3 (incluindo frutos e sementes) foram o principal contribuinte da fração biomassa do tambaqui. A contribuição das plantas C_3 foi especialmente maior durante os períodos de cheia e de vazante e menor durante a seca (Figura 5A). Durante a cheia, a contribuição da fonte C_3 foi superior a 90%, e, na seca, foi

responsável por aproximadamente 60% da fração biomassa (Figura 5A). A contribuição do zooplâncton na fração biomassa aumentou com a descida do nível das águas, alcançando seu valor máximo no período de seca (20%). As plantas C_4 apresentaram uma contribuição na fração biomassa considerável, durante os períodos de enchente e de seca (Figura 5A). A contribuição na fração carbono, de cada fonte alimentar, foi semelhante à contribuição na fração biomassa (Figura 5B). Por outro lado, contribuíram diferentemente na fração nitrogênio (Figura 5C). A contribuição do zooplâncton na fração nitrogênio aumentou em todos os períodos, se comparada à sua contribuição na fração biomassa, especialmente durante os períodos de enchente e de vazante, quando sua contribuição foi semelhante à da fonte C_3 . No período de seca, sua contribuição foi a maior entre as fontes. Nele, o zooplâncton contribuiu com mais que 60% do nitrogênio do tambaqui (Figura 5C). O nitrogênio da fonte C_4 foi perceptível apenas durante o período de enchente, quando contribuiu com 14%. Entretanto, no período de cheia, não foi registrada qualquer contribuição dessa fonte na fração nitrogênio (Figura 5C).

Tabela 3. Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de *end-member* ($\mu \pm \text{E.P.}$) e carbono e nitrogênio elementar do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

	C3-material	C4-material	Zooplâncton
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$-29,1 \pm 0,3$	$-12,9 \pm 0,5$	$-37,7 \pm 0,1$
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$4,5 \pm 0,5$	$6,7 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,1$
C (%)	45,9	32,1	49,7
N (%)	1,7	1,4	11,0

Figura 5. Contribuição fracional de biomassa (A), carbono (B) e nitrogênio (C) para tambaqui (*Colossoma macropomum*) nos períodos de enchente, cheia, vazante e seca.

3.4 DISCUSSÃO

3.4.1 Possíveis interferências na interpretação das razões isotópicas

Significativa variação sazonal na dieta foi constatada, tanto pela análise de conteúdo estomacal como pelas razões isotópicas de C e de N dos tecidos e do material encontrado no estômago do tambaqui. É importante considerar fatores que podem confundir a interpretação da aparente sazonalidade das fontes alimentares com: a ingestão de alimento de outros locais não amostrados, a variação em conteúdo de lipídios dos indivíduos, o tamanho dos indivíduos, o fracionamento e o *turnover* isotópico dos tecidos.

O consumo de alimento fora do local de coleta dos peixes, como outros lagos ou rios, que poderia alterar as fontes alimentares e potencialmente causar uma maior variação nas razões isotópicas, foi descartado. Foram capturados apenas peixes sexualmente imaturos (8 – 38 cm), com comprimentos inferiores àqueles correspondentes aos de maturidade sexual (~ 60 cm) e inabilitados à migração e à reprodução (Araújo-Lima & Goulding, 1998). Portanto os indivíduos amostrados tiveram acesso exclusivo às fontes alimentares do lago Camaleão.

Variações no tamanho individual e a quantidade de lipídios dos tecidos dos peixes podem alterar a razão isotópica, independentemente de mudanças na dieta. Assim, indivíduos maiores podem ser isotopicamente mais pesados que os menores, enquanto indivíduos com maior teor de lipídios seriam mais leves, porque os lipídios geralmente apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais negativos que outras frações químicas (Gu et al., 1996; Hesslein et al., 1993; Kline et al., 1993; Kwak & Zedler, 1997). Considerando o comprimento de um tambaqui adulto, a variabilidade de comprimento dos peixes coletados foi pequena. Não obstante, foi correlacionado o comprimento do peixe com a sua razão isotópica de tecido, mas nenhuma correlação significativa foi encontrada. Como a razão C:N é inversamente proporcional ao conteúdo de lipídios em tecidos animais (Rau et al., 1992; Gu et al., 1996), uma correlação entre a razão C:N e os valores $\delta^{13}\text{C}$ pode evidenciar o efeito do conteúdo dos lipídios na composição isotópica dos tecidos. Embora o conteúdo de lipídios do tambaqui varie durante o ciclo hidrológico (Junk, 1985; Saint-Paul, 1984), nenhuma correlação entre os valores de

$\delta^{13}\text{C}$ e razão C:N foi encontrada. Portanto o conteúdo de lipídios não influenciou o valor isotópico dos tecidos dos peixes (France, 1996).

Outro fator que poderia dificultar, ou produzir interpretação errônea, quando o método de isótopos estáveis é utilizado para inferir mudanças de dieta dos peixes, é o *turnover* isotópico dos tecidos (taxa de reposição). Para que o sinal isotópico de um item alimentar seja refletido no tecido do peixe, é necessário ter decorrido um período de tempo de sua ingestão. A meia-vida isotópica é função da taxa de crescimento do consumidor. Então, para consumidores de grande comprimento e com baixa taxa de crescimento, e.g. peixes adultos, a assinatura isotópica é integrada durante um tempo relativamente longo, de um ou alguns anos (Hesslein et al., 1993). Por outro lado, para os consumidores de pequeno comprimento e indivíduos jovens com alta taxa de crescimento, a assinatura isotópica da dieta é integrada aos tecidos dentro de um período menor de tempo.

Como só foram coletados peixes jovens, dentro de uma faixa de tamanho correspondente a uma alta taxa de crescimento relativo, em torno de $0,47\% \text{ d}^{-1}$; conforme Isaac & Rufino (1996), é razoável assumir que o sinal isotópico das fontes alimentares seja refletido rapidamente nos tecidos. Em adição, comparou-se a razão isotópica do material encontrado no estômago com a razão isotópica do tecido do respectivo peixe. O primeiro representa um valor médio dos itens alimentares encontrados no estômago do peixe, na ocasião em que este foi capturado, enquanto o segundo representa a integração da dieta aos tecidos durante um período de tempo. Neste trabalho, os indivíduos foram coletados mensalmente e agrupados em períodos com duração de três meses. Uma regressão entre as médias mensais da razão isotópica do material encontrado no estômago e a razão isotópica dos tecidos dos peixes mostrou que aproximadamente 80% da variação observada na composição isotópica do tecido foram explicados pela composição isotópica do material encontrado no estômago dos peixes (Figura 6).

Figura 6. Relação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do tecido e material encontrado no estômago do tambaqui (*Colossoma macropomum*) do lago Camaleão. Cada ponto representa a média mensal.

Essa é uma evidência direta de que o *turnover* do tambaqui jovem é rápido o bastante para permitir uma interpretação acurada das diferenças sazonais e de que o período de três meses foi suficiente para não permitir a influência da “memória isotópica” (Hesslein et al., 1993). Finalmente, um pequeno fracionamento isotópico ($\Delta_{\text{tecido-dieta}}$) também é evidência indireta de um rápido *turnover* isotópico (Harrigan et al., 1989). Neste estudo, em vez de usar a diferença entre o tecido do peixe e a dieta (impossível de ser prevista com exatidão no ambiente natural) para calcular o fator de fracionamento, este foi estimado pela diferença entre as razões isotópicas do tecido e o material encontrado no estômago dos peixes ($\Delta_{\text{tecido-estômago}}$). Os $\Delta^{13}\text{C}_{\text{tecido-estômago}}$ foram 2,5; 2,5 e 2,7‰ respectivamente, para os períodos de enchente, de vazante e de seca, e diminuiu para 0,9‰ na cheia (Tabela 2). Tais valores estão na faixa de variação dos valores de fracionamento encontrado em experimentos laboratoriais (-0,6 a 2,7‰), conduzidos por DeNiro & Epstein (1978), e próximos aos 2,2‰ reportados por Pinnegar & Polunin (1999) para peixes juvenis em laboratório. O menor $\Delta^{13}\text{C}_{\text{tecido-estômago}}$ (0,9‰), encontrado durante o período de cheia provavelmente foi consequência de uma dieta mais uniforme disponível para os peixes. Durante esse período, frutos e sementes foram responsáveis por mais que 90% da dieta dos peixes

(Figura 3). O $\Delta^{15}\text{N}_{\text{tecido-estômago}}$ variou sazonalmente de 1,6 a 2,8‰ (Tabela 2). Esses valores estão na faixa de variação para fator de fracionamento de nitrogênio, indicado em experimentos laboratoriais, de 1,3 a 5,3‰ (Minagawa & Wada, 1984). Os $\Delta^{15}\text{N}_{\text{tecido-estômago}}$ encontrados neste estudo também são semelhantes a fatores de fracionamento encontrados em estudos no ambiente, para regiões temperadas e tropicais (Hansson et al., 1997; Johannsson et al., 2001; Jepsen & Winemiller, 2002; Pinnegar & Polunin, 1999; Post, 2002). Um $\Delta^{15}\text{N}_{\text{tecido-estômago}}$ menor que 3‰ sugere um significativo nível de onivoria (Marguillier et al., 1997), característica típica do peixe tambaqui.

Portanto, na discussão acima, pôde-se assumir que a variação na composição isotópica do tecido do tambaqui refletiu diretamente as mudanças sazonais, observadas na dieta do tambaqui, ao longo do ciclo hidrológico.

3.4.2 A importância do ciclo hidrológico na dieta do tambaqui

Este estudo corrobora a importância vital do regime de inundação das várzeas do rio Amazonas para o tambaqui (Araújo-Lima et al., 1998; Araújo-Lima & Goulding, 1998; Benedito-Cecilio et al., 2000; Forsberg et al., 1993; Soares et al., 1986; Silva et al., 2000). Durante as fases de enchente e de cheia, a água de inundação invade a floresta, formando e permitindo o acesso às florestas inundadas, onde uma miríade de frutos e de sementes está disponível (Araújo-Lima & Goulding, 1998). Nesse período, o grau de repleção dos estômagos do tambaqui foi máximo, quando apenas 26% dos estômagos apresentaram o grau de repleção menor que 25%, enquanto 37% dos estômagos apresentaram um grau de repleção maior que 75% (Figura 2). Embora a frequência de ocorrência relativa tenha mostrado que frutos e sementes, material vegetal, zooplâncton, sedimentos, moluscos, insetos, camarões, peixes e algas foram itens ingeridos pelo tambaqui, o índice alimentar mostrou que frutos e sementes, material vegetal e zooplâncton foram os itens alimentares mais importantes, responsáveis por mais de 90% do alimento ingerido (Figura 3). Na contribuição fracionária de biomassa e de carbono desses três itens, os frutos e as sementes participaram com, no mínimo, 55 % nos tecidos do tambaqui (Figura 5A e B).

Durante o período de seca, os lagos são desconectados dos rios e os peixes não têm mais acesso aos recursos da floresta; por isso o grau de repleção dos estômagos passa a ser mínimo. Aproximadamente 65% dos estômagos apresentaram

grau de repleção menor que 25%, e apenas 4% dos estômagos apresentaram grau de repleção maior que 75% (Figura 2). Nesse período, foram identificados oito itens alimentares de origem tanto animal como vegetal nos estômagos do tambaqui (Tabela 1), caracterizando a espécie como verdadeiramente onívora (Goulding & Carvalho, 1982; Honda, 1974; Soares et al., 1986; Silva et al., 2000). Embora todos esses itens alimentares tenham sido encontrados no período de seca, o índice alimentar revelou que o zooplâncton foi o mais importante (Figura 3), e foi apontado, pelos isótopos estáveis, como um item que desempenha papel muito importante no suprimento de nitrogênio para o tambaqui (Figura 5C). De um modo geral, as fontes de proteína de origem animal apresentam melhor valor nutricional em comparação às fontes vegetais (Tacon & Jackson, 1985). Comparando o valor nutricional das duas principais fontes alimentares, com base apenas no percentual de proteína bruta, o zooplâncton contém 61% (Araújo-Lima & Goulding, 1998) e os frutos e as sementes, 7,7 e 11,2%, respectivamente (Silva, 1997). O alto valor protéico do zooplâncton justifica o considerável aumento na fração N, em todos os períodos. Como o nitrogênio faz parte da composição apenas das proteínas, sua incorporação ao tecido animal é diretamente relacionada com a composição em aminoácidos (Wilson, 1989). Dessa forma, a fonte absorvida com melhor perfil de aminoácidos comporá a fração N numa maior proporção, em relação àquela de valor inferior, compensando, de certo modo, uma menor quantidade ingerida.

Durante o período de cheia, a maior parte do nitrogênio alimentar é provido pelas plantas C_3 (Figura 5C). Nesse período, a ingestão de zooplâncton foi mínima (Figura 3). A diferença na ingestão entre as fontes foi tal, que a melhor qualidade da proteína do zooplâncton não foi bastante para compensar a quantidade de proteína ingerida das fontes C_3 (Figura 5C). Tais resultados também confirmam a grande habilidade, atribuída ao tambaqui, de assimilar proteína tanto de origem vegetal como animal, principalmente na sua fase jovem (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Silva, 1997; Van der Meer et al., 1996).

Por outro lado, a maior contribuição fracionária de biomassa e de carbono, estimada para a fonte C_3 em comparação ao zooplâncton durante o período de seca, é intrigante (Figura 5A e 5B), especialmente porque frutos e sementes da floresta inundada não são disponíveis nesse período do ano, e o índice alimentar indicou que o zooplâncton foi o item mais importante, representando 95% do total do alimento

ingerido (Figura 3). Tal tendência difere dos resultados reportados por Benedito-Cecílio et al. (2000), que apresentaram o zooplâncton como a principal fonte de energia para o tambaqui, com contribuição de 52%, durante a cheia, e 74%, durante a seca.

A discrepância entre os resultados encontrados neste estudo e aqueles reportados por Benedito-Cecílio et al. (2000) pode conduzir à hipótese de que outras fontes alimentares, com composição isotópica semelhantes às plantas C_3 , são também importantes itens alimentares. Por exemplo, insetos que se alimentam de plantas C_3 e matéria orgânica de sedimentos apresentaram composição isotópica semelhantes à das plantas C_3 (Figura 4). Insetos (geralmente pequenas partes) e restos de sedimentos foram frequentemente encontrados no estômago dos peixes, durante o período de seca. Dessa forma, tais itens podem representar importantes fontes secundárias de energia, durante o período da seca, embora seus valores de índice alimentar tenham sido baixos, por causa do pequeno volume ocupado pelos seus restos no estômago. Os valores mais altos de $\delta^{15}N$ nos tecidos dos peixes suportam essa hipótese, indicando um consumo de alimento mais enriquecido em ^{15}N , o que provocou um deslocamento para um nível trófico mais alto do tambaqui, no período da seca (Tabela 2). Os aportes terrestres disponíveis, assim como insetos ou pólen, foram considerados especialmente importantes na dieta de peixes em pequenos lagos, ou para pequenos períodos de tempo, também por Post (2002).

As macrófitas C_4 respondem por mais de 50% da produtividade primária nas várzeas da Amazônia (Junk, 1985). A interpretação dos resultados isotópicos mostrou que, apesar de sua abundância nas várzeas, a contribuição máxima das gramíneas C_4 na biomassa do tambaqui foi de apenas 26% durante a enchente – maior que os 5% reportados por Araújo-Lima et al. (1998), e próximo aos 22% calculados por Benedito-Cecílio et al. (2000). A proporção de plantas C_4 na biomassa de tambaqui é baixa, se comparada à sua disponibilidade, provavelmente devido ao seu baixo valor nutricional (Forsberg et al., 1993). É importante notar que o sinal isotópico das plantas C_4 pode ser incorporado no peixe não apenas pela ingestão direta de plantas C_4 , mas também pela ingestão de insetos, moluscos e camarões que apresentaram o sinal isotópico ou parte dele, originado das plantas C_4 . Os $\delta^{13}C$ dos insetos que vivem nas macrófitas C_4 foram muito mais pesados que os dos insetos que se mantêm junto às plantas C_3 (Figura 4). Resultados semelhantes para $\delta^{13}C$ de insetos foram reportados por Adis & Victoria

(2001), analisando espécies de gafanhotos que obtiveram suas fontes de energia vindo das macrófitas C_4 , como das plantas C_3 .

3.5 CONCLUSÕES

A várzea amazônica é um sistema complexo e o tambaqui, por explorar seus vários recursos, apresenta um hábito alimentar também envolvido por complexas relações tróficas. Pelos resultados deste trabalho, ficou evidente a importância da combinação do método clássico de análise de conteúdo estomacal e o método de isótopos estáveis com C e N, já que a ausência dessa consideração nas investigações anteriores resultou em subestimativas das plantas C_3 e superestimativas do zooplâncton, como fontes de energia para o tambaqui. A análise de conteúdo estomacal mostrou que o grau de repleção e a importância dos itens alimentares variaram significativamente com o nível das águas. Por outro lado, o uso de isótopos estáveis tornou possível mostrar a contribuição relativa, em nível de biomassa total, de carbono e de nitrogênio das plantas C_3 e C_4 e a importância da sua fauna associada na alimentação desta espécie, além de explicitar a importância do zooplâncton como fonte de N. O tambaqui é um importante peixe da bacia amazônica, como fonte de proteína e de renda para a população local. Qualquer intervenção no ciclo hidrológico dos rios da Amazônia ou alteração na paisagem das várzeas pode ser desastrosa para a manutenção e a sustentabilidade desse importante recurso pesqueiro.

4 DINÂMICA DE INCORPORAÇÃO DE CARBONO E DE NITROGÊNIO EM ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*), COM BASE NA COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA

RESUMO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*), um peixe de importância econômica para a região amazônica, demanda esforços para a geração de informações que subsidiem tanto o manejo ecológico como o de produção da espécie. Este trabalho teve como objetivo investigar a dinâmica de incorporação de C e de N em alevinos de tambaqui, utilizando-se a variação natural de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. Quatrocentos e noventa alevinos foram alimentados por 60 dias, com dietas à base de soja (C_3) e de milho (C_4). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, o fracionamento (Δ) e o *turnover* isotópico foram determinados para músculo, fígado, escama e gordura visceral. O padrão de incorporação de C e de N em tambaqui foi diferente para as dietas C_3 e C_4 . A dieta C_3 proporcionou valores de $\Delta^{13}\text{C}$ diferentes entre os tecidos, e em relação à dieta C_4 ; contudo os valores de $\Delta^{15}\text{N}$ foram semelhantes entre as dietas e entre os tecidos. Os valores médios de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ no músculo dos peixes alimentados com dieta C_3 e C_4 foram, respectivamente, 1,6 e 2,7‰; -5,1 e 2,0‰. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos alevinos alimentados com dieta C_3 permitiram a estimativa da taxa de *turnover* nos tecidos. Diferenças no valor nutricional entre as dietas e a taxa de crescimento influenciaram a dinâmica de incorporação de C e de N em alevinos de tambaqui. O tempo mínimo para a substituição de 99% do sinal isotópico da dieta C_3 , no músculo dos alevinos, foi 85 dias. Para C_4 , com exceção do fígado, foi possível apenas comparar entre os tecidos o valor do incremento na substituição de C e de N, no tempo experimental.

ISOTOPIC COMPOSITION AND INCORPORATION DYNAMICS CARBON AND NITROGEN IN FINGERLINGS OF THE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

SUMMARY

The tambaqui (*Colossoma macropomum*), a fish of economical importance for the Amazonian area, demands efforts for generation of information that subsidize both the ecological and the farming management of the species. This work investigates the incorporation dynamics of C and N in tambaqui fingerlings through $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. Four hundred and ninety fingerlings were fed for 60 d with diets based on soybean (C_3) and corn (C_4). The values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, the fractionation factor (Δ) and the isotopic turnover were then determined in muscle and liver tissues, scales and visceral fat. Incorporation of C and N in tambaqui followed different patterns for the C_3 and C_4 diets. The C_3 diet yielded different values of $\Delta^{13}\text{C}$ among the tissues and relatively to the diet C_4 ; however the values of $\Delta^{15}\text{N}$ were similar among both diets and tissues. Values of $\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$ in the muscle of fish fed on C_3 and C_4 diets averaged, respectively, 1.6 and 2.7‰; -5.1 and 2.0‰. Values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ for fingerlings fed with C_3 diet allowed to estimate the turnover ratio in the tissues. Differences in the nutritional value between the diets and the growth rate influenced the incorporation dynamics of C and N in tambaqui fingerlings. The minimum time for 99% replacement of the isotope signal of the C_3 diet in the muscle of the fingerlings was 85 days. In regard to C_4 diet except for the liver, it was only possible to compare the replacement rate of C and N during the experiment.

4.1 INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*), é uma espécie de grande importância econômica para a região amazônica. Até os anos 80, representava cerca de 42% do total dos peixes desembarcados no mercado de Manaus (Merona e Bittencourt, 1988), tendo reduzido a sua participação, em 1998, para 5,4% (Batista, 1998). O decréscimo nos desembarques de tambaqui nos últimos anos indica provável sobrepesca (Isaac & Rufino, 1996).

Por outro lado, o tambaqui é considerado como uma das espécies nativas de grande potencial para cultivo na América Latina (Saint-Paul, 1991), por apresentar excelentes qualidades zootécnicas e fácil manejo (Graef, 1995). Sua produção em cativeiro vem aumentando nos últimos anos em todo o país, sendo responsável por 11,5% de toda a produção nacional (IBAMA, 2000).

Além de alguns aspectos de sua auto-ecologia, como o hábito alimentar onívoro já bem definido, muito pouco se pode concluir sobre sua nutrição. Ainda se faz necessário conhecer melhor a nutrição, quanto à determinação de quantidade e de qualidade das fontes assimiladas nos tecidos por esta espécie.

As fontes autotróficas de energia assimiladas pelo tambaqui no ambiente natural foram investigadas pelo método isotópico, abrindo novas perspectivas nos estudos de sua ecologia trófica. Contudo, até onde se sabe, nenhum estudo laboratorial foi realizado com esta espécie, para avaliar possíveis diferenças nos valores isotópicos que podem apresentar o animal e seus tecidos, devido a efeitos fisiológicos, preferencialmente àqueles causados por sua dieta, como proposto por Hobson et al. (1993).

O emprego desse método isotópico para determinar a contribuição relativa dos diferentes itens alimentares, muitas vezes, assume como verdadeiro que a composição isotópica do tecido animal é igual à média ponderada da composição isotópica dos constituintes de sua dieta. Entretanto os diferentes isótopos componentes da dieta são conduzidos diferencialmente para específicos tecidos e compartimentos do corpo. Como decorrência, o tecido freqüentemente não reflete a composição isotópica da dieta como um todo, mas a composição isotópica do nutriente componente da dieta, do qual o tecido foi sintetizado (Gannes et al., 1997).

As variações de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nos tecidos de peixes foram pouco investigadas. Para peixes como tilápia e carpa, o valor de $\delta^{13}\text{C}$ nos tecidos tornou-se mais negativo na seguinte ordem: escama > nadadeira > músculo (Schroeder, 1983). Essas espécies apresentaram variações interespecífica e intraespecífica nos valores de $\delta^{13}\text{C}$. O fracionamento de $\delta^{13}\text{C}$ foi maior que 1‰, indicando que a composição isotópica do tecido dos peixes não está relacionada com a composição da dieta, mas apenas com aquelas frações químicas que foram usadas na constituição dos tecidos (Focken & Becker, 1998).

Além das variações nos valores isotópicos causadas pela mudança de fontes, o carbono do tecido animal é permanentemente renovado. O período no qual a razão do $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ do tecido refletirá o valor isotópico de uma dieta dependerá, em parte, de sua taxa de movimentação (Hobson & Clark, 1992). A mudança isotópica, devida ao crescimento e ao repasse metabólico aos tecidos, associados com a mudança na dieta, é definida como *turnover* isotópico. A taxa máxima de reposição isotópica é definida como o resultado de uma mudança em 100% no tecido da dieta anterior para uma nova (MacAvoy et al., 2001). Um rápido ou lento *turnover* pode ser característico do crescimento animal, ou dos tecidos individuais (Fry & Arnold, 1982; Hesslein et al., 1993).

Para o tambaqui, espécie nativa da região amazônica, o tempo necessário para a incorporação de diferentes fontes nos tecidos não é conhecido, e nem como as fontes são alocadas. Contribuindo para a elucidação dessas questões, o presente trabalho teve como objetivo investigar a dinâmica de incorporação de C e de N em alevinos de tambaqui, utilizando-se a variação da composição isotópica do carbono e do nitrogênio nos tecidos. Foram determinados os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, o fator de fracionamento e o *turnover* isotópico em diferentes tecidos (músculo, fígado, escama e gordura visceral) de alevinos, alimentados com dieta com fontes exclusivamente C_3 ou C_4 .

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Ensaios experimentais

Quatrocentos e noventa alevinos de tambaqui ($2,7 \pm 1,2$ g; $3,8 \pm 0,6$ cm) foram estocados em 8 aquários de cimento amianto, com capacidade de 500 L, com renovação contínua de água e aeração forçada por soprador de fluxo contínuo, e pedras difusoras. A temperatura da água foi controlada e mantida em $26 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ e os parâmetros de qualidade da água (oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, pH, alcalinidade e níveis de amônia não ionizada) foram monitorados diariamente. Dez indivíduos aleatoriamente amostrados da população foram sacrificados para determinação do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ inicial dos peixes, após as primeiras 24 horas de jejum. Os restantes foram distribuídos na densidade de 60 peixes por aquário. Em quatro aquários, sorteados ao acaso, os peixes foram alimentados com dieta à base de ingredientes de plantas de via fotossintética C_3 e os outros quatro, com dietas à base de ingredientes de plantas C_4 . Os ingredientes utilizados nas rações experimentais foram: arroz (quirera) e farelo de soja, representativos de plantas C_3 ; milho e glúten de milho para a dieta representativa do sinal isotópico de plantas do ciclo C_4 . As dietas continham 25% de proteína bruta (Pb), 3000 kcal kg^{-1} de energia digestível e foram acrescidas de suplemento vitamínico e mineral e confeccionadas conforme recomendações do NRC (1993) e de Vidal Júnior, (1995). As dietas foram pelletizadas em grânulos de 2 mm de diâmetro e administradas duas vezes ao dia *ad libitum* às 8:00 e às 16:00 (Tabela 4).

Foi considerado um período inicial de alimentação com as dietas experimentais, para possibilitar o repasse do sinal isotópico C_3 e C_4 aos tecidos dos peixes, apagando, assim, nos tecidos, a memória do sinal isotópico de uma dieta anterior ao experimento. A memória isotópica foi considerada apagada ao final de 22 dias, quando os grupos alimentados com C_3 e C_4 apresentaram valores para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ $-25,2\text{‰}$ e $4,2\text{‰}$; $-15,3\text{‰}$ e $6,4\text{‰}$, respectivamente. No tempo zero do período experimental, os indivíduos que inicialmente receberam a dieta C_3 passaram a receber a dieta C_4 e vice-versa. Em decorrência da diferença na qualidade nutricional entre os ingredientes das dietas C_3 e C_4 , os dois grupos iniciaram o período experimental com diferentes comprimentos e pesos médios.

Tabela 4. Composição percentual nutricional, centesimal e isotópica das dietas experimentais

Ingredientes	Dieta C ₃	Dieta C ₄
	----- % -----	
Arroz, quirera	48,50	-
Soja, farelo	42,50	-
Óleo vegetal de soja	8,50	-
Milho moído	-	60,10
Glútem de milho	-	32,80
Óleo de milho	-	6,50
Suplemento Vit. + Mineral	0,50	0,50
Composição centesimal ¹		
Umidade (%)	7,31	7,14
PB (%)	22,66	25,91
Lipídeo (%)	9,18	10,67
Cinza (%)	2,87	1,57
Carboidrato (%)	57,98	54,71
Fibra Bruta (%)	1,80	1,42
ED, kcal kg ⁻¹ (NRC, 1993)	3053	3023
Composição isotópica		
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-27,49	-12,34
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	1,93	3,26

¹Laboratório de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Setor de Processamento de Alimentos ESALQ/USP.

O grupo que passou a receber dieta C₃ iniciou o período experimental com peso médio de $3,2 \pm 0,4$ g e comprimento padrão médio de $4,4 \pm 0,2$ cm. O grupo que passou a receber dieta C₄ iniciou o período experimental com peso médio de $9,7 \pm 2,8$ g e comprimento padrão médio de $6,0 \pm 0,6$ cm. A cada dez dias, três peixes de cada aquário foram sacrificados, pesados, dissecados e imediatamente separadas amostras compostas de fígado, músculo, escama e gordura visceral. O período experimental foi encerrado decorridos 60 dias, tendo em vista que os alevinos alimentados com dieta C₄

diminuíram o consumo de ração e a resistência aos agentes patogênicos, como fungos e bactérias. Tal período foi suficiente para que se observasse a constância nos valores isotópicos no músculo, tecido assumido como referência para a determinação do *turnover* isotópico.

4.2.2 Análise isotópica

Todas as amostras provenientes dos ensaios experimentais foram secas em estufa a 55°C e trituradas em almofariz, até a obtenção de pó fino. As composições isotópicas das amostras para carbono e nitrogênio foram determinadas a partir de uma alíquota de cerca de um miligrama e analisadas no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA (USP), através da combustão das amostras sob fluxo contínuo de hélio, em um analisador elementar (Carlo Erba, CH – 1110), acoplado ao espectrômetro de massas Thermo Finnigan Delta Plus. Os gases CO₂ e N₂, resultantes da combustão das amostras, foram analisados em duplicata, com erro analítico de 0,3‰ e 0,5‰, respectivamente. As razões isotópicas são expressas pela notação delta (δ), em partes por mil (‰), dos padrões internacionais, PDB para carbono e ar atmosférico para nitrogênio, e calculadas por meio da fórmula:

$$\delta_{amostra} (‰) = \frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \times 1000 \quad (2)$$

4.2.3 Determinação do *turnover* isotópico

Entende-se como *turnover* isotópico a taxa de reposição de um isótopo por outro de um mesmo elemento, num determinado tecido. Essa taxa reflete a dinâmica de incorporação do elemento em questão aos diferentes tecidos do animal. O *turnover* isotópico foi calculado de acordo com MacAvoy et al. (2001), baseado em Hesslein et al. (1993). O modelo considera separadamente os efeitos do crescimento e do metabolismo de repasse aos tecidos. Para a determinação do *turnover* isotópico, considerando apenas o efeito do crescimento, em um determinado intervalo de tempo após a troca da dieta original para uma nova, o valor de δ‰ do peixe foi expresso como:

$$\delta = \frac{[(W_o \delta_o) + (W - W_o) \delta_n]}{W} \quad (3)$$

onde δ_o é o valor de δ do peixe em equilíbrio com a dieta original; δ_n é o valor de δ em equilíbrio com a nova dieta; W_o é o peso inicial do peixe (g), quando o alimento foi mudado, e W é o peso do peixe (g) no tempo mensurado.

Para o cálculo da constante metabólica de *turnover* “ m ”, onde apenas o repasse nos tecidos é considerado, foi adotada a equação:

$$\delta = \delta_n + (\delta_o - \delta_n) e^{-(k+m)t} \quad (4)$$

onde k é a taxa de crescimento por dia, calculada a partir da expressão $K = \ln(w/w_o)/t$ e t é o tempo em dias. O valor do *turnover* metabólico (m) foi determinado pelo ajuste (mínimos quadrados) dos valores, calculados com os dados observados.

O *turnover* total (c) consiste na soma do efeito do crescimento (k) com o *turnover* metabólico constante (m) (Hesslein et al., 1993). Quando c é igual a k , m é igual a zero, e o *turnover* isotópico é reflexo apenas do crescimento, ou seja, não há um *turnover* metabólico estrutural; a dieta original é apenas diluída pela adição da nova dieta durante o crescimento (Fry & Arnold 1982). Os valores de *turnover* isotópico dos alevinos de tambaqui foram calculados para as duas condições no intuito de averiguar o possível efeito da diferença na qualidade das dietas sobre a deposição de novos tecidos.

O padrão observado de *turnover* de carbono e de nitrogênio nos tecidos do tambaqui alimentado com dieta C_3 seguiu um modelo exponencial e, assim, valores gerados para cada tecido foram ajustados, com análise de regressão não linear para equação da forma $Y = a + be^{ct}$, usando PROC NLIN do aplicativo estatístico SAS (versão 2.16): Y representa o $\delta^{13}C$ ou $\delta^{15}N$ em questão; a e b são parâmetros determinados pela condição inicial e assintótica; c é o valor de *turnover* de carbono ou de nitrogênio do tecido, e t é o tempo (dias) a partir do início da mudança da dieta (Hobson & Clark, 1992).

A meia-vida e o tempo estimado para que 99% do carbono e do nitrogênio da nova dieta sejam repassados aos tecidos foram calculados de acordo com Tieszen et al. (1983) pela equação:

$$T(\alpha) = \frac{\ln(100 - \alpha)/100}{c} \quad (5)$$

onde α é a porcentagem de mudança isotópica no tecido e c é o valor de *turnover* isotópico.

Para os peixes alimentados com dieta C_4 , o repasse do carbono e do nitrogênio aos tecidos não seguiu um modelo exponencial, pois os valores assintóticos de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ não foram atingidos, mesmo após 60 dias experimentais, com exceção do carbono do fígado.

Os valores de $\delta^{13}C$ do músculo, da escama e da gordura visceral e os valores de $\delta^{15}N$ do fígado, do músculo e da escama dos peixes alimentados com dieta C_4 foram ajustados com análise de regressão linear para equação da forma $Y = a + bx$, usando PROC NLIN do aplicativo estatístico SAS (versão 2.16): Y é o $\delta^{13}C$ ou $\delta^{15}N$ em questão; a é o parâmetro determinado pela condição inicial e final; b representa a taxa de substituição do carbono ou do nitrogênio da dieta original pelos da nova dieta, em função do tempo.

4.2.4 Estatística dos dados

Para a avaliação dos efeitos das dietas C_3 e C_4 sobre os valores isotópicos dos tecidos foi utilizado um delineamento estatístico inteiramente casualizado, com dois tratamentos (dieta C_3 e dieta C_4) e 4 repetições. As médias de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ e respectivos fracionamentos dos tecidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias Tukey ($P < 0,05$). A taxa de crescimento dos alevinos foi calculada pela regressão exponencial do peso em gramas, em função do tempo em dias. Todos os dados foram analisados pelo aplicativo estatístico SAS, versão 2.16 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Taxa de crescimento

A taxa de crescimento dos alevinos de tambaqui, durante o período experimental, foi distinta para as dietas C₃ e C₄. Os peixes alimentados com dieta C₃ apresentaram uma taxa de crescimento de 0,06 g d⁻¹, enquanto os peixes alimentados com dieta C₄ apresentaram uma taxa de 0,02 g d⁻¹ (Figura 7).

Figura 7. Curvas de crescimento de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas C₃ e C₄ por 60 dias (médias de 4 repetições).

4.3.2 Variação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nos tecidos

Após 60 dias, os alevinos de tambaqui refletiram a mudança de carbono de uma dieta C₄ para C₃ e vice-versa (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e fracionamento isotópico ($\Delta^{13}\text{C}$) nos tecidos do tambaqui (*C. macropomum*) após 60 dias experimentais

Tecido	Dieta C ₃ (-27,5)		Dieta C ₄ (-12,3)	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\Delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\Delta^{13}\text{C}$
	----- ‰ -----			
Músculo (inicial)	-15,3		-25,2	
Músculo (final)	-25,9 ^b	1,6 ^b	-17,4 ^b	-5,1 ^{ed}
Fígado (inicial)	-11,5		-25,7	
Fígado (final)	-26,0 ^b	1,5 ^b	-12,7 ^a	-0,4 ^{bc}
Escama (inicial)	-14,1		-22,4	
Escama (final)	-22,8 ^a	4,7 ^a	-15,6 ^b	-3,3 ^b
Gordura (inicial)	-14,5		-26,5	
Gordura (final)	-28,3 ^c	-0,8 ^c	-17,1 ^b	-4,8 ^{ed}
Médias de $\delta^{13}\text{C}$ na mesma coluna com mesma letra não diferem pelo teste deTukey				
Médias de $\Delta^{13}\text{C}$ com mesma letra não diferem pelo teste deTukey				
CV% da dieta C ₃ , para $\delta^{13}\text{C}$ = 2%				
CV% da dieta C ₄ , para $\delta^{13}\text{C}$ = 7%				

Tabela 6. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ e fracionamento isotópico ($\Delta^{15}\text{N}$) nos tecidos do tambaqui (*C. macropomum*) após 60 dias experimentais

Tecido	Dieta C ₃ (1,9)		Dieta C ₄ (3,3)	
	$\delta^{15}\text{N}$	$\Delta^{15}\text{N}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\Delta^{15}\text{N}$
	----- ‰ -----			
Músculo (inicial)	6,4		4,2	
Músculo (final)	4,6 ^{ab}	2,7 ^{ab}	5,3 ^a	2,0 ^{ad}
Fígado (inicial)	8,1		4,3	
Fígado (final)	5,1 ^a	3,2 ^{ab}	6,6 ^a	3,3 ^a
Escama (inicial)	5,8		3,9	
Escama (final)	4,0 ^{bc}	2,1 ^{ab}	5,8 ^a	2,5 ^{ab}
Médias de $\delta^{15}\text{N}$ na mesma coluna com mesma letra não diferem pelo teste deTukey				
Médias de $\Delta^{15}\text{N}$ com mesma letra não diferem pelo teste deTukey				
CV% da dieta C ₃ , para $\delta^{15}\text{N}$ = 6%				
CV% da dieta C ₄ , para $\delta^{15}\text{N}$ = 14%				

4.3.2.1 Dieta C₃

Foi alcançado o equilíbrio do sinal isotópico da dieta nos tecidos dos alevinos alimentados com C₃. A gordura visceral apresentou o valor mais empobrecido de $\delta^{13}\text{C}$ ($-28,3\text{‰}$) e a escama foi o mais enriquecido ($-22,8\text{‰}$). O músculo e o fígado apresentaram médias de $-25,9\text{‰}$ e $-26,0\text{‰}$, respectivamente, não diferindo estatisticamente. O maior fracionamento isotópico, expresso pela diferença entre o valor do tecido e o alimento ingerido ($\Delta^{13}\text{C}$), foi de $4,7\text{‰}$ na escama, o qual diferiu ($P<0,05$) dos demais tecidos. Esse valor correspondeu a aproximadamente 3 vezes o valor do músculo ($1,6\text{‰}$). Os valores de fracionamento do músculo e do fígado não diferiram. A gordura apresentou fracionamento negativo de $-0,8\text{‰}$, e diferiu ($P<0,05$) dos demais tecidos (Tabela 5).

Para o $\delta^{15}\text{N}$, o fígado foi o tecido mais enriquecido, sendo semelhante ao músculo e diferente ($P<0,05$) da escama, com médias de $5,1\text{‰}$; $4,6\text{‰}$ e $4,0\text{‰}$, respectivamente. O fracionamento para ^{15}N ($\Delta^{15}\text{N}$) da dieta C₃ não diferiu entre os tecidos músculo, fígado e escama, apresentando valores de $2,7\text{‰}$; $3,2\text{‰}$ e $2,1\text{‰}$, respectivamente (Tabela 6).

4.3.2.2 Dieta C₄

Para os peixes alimentados com dieta C₄, a incorporação do carbono aos tecidos, ao final de 60 dias, alcançou equilíbrio isotópico, com a dieta, apenas no fígado. O valor de $\delta^{13}\text{C}$, em todos os tecidos analisados, foi menor que a dieta ingerida (Tabela 5). O $\delta^{13}\text{C}$ do fígado foi diferente ($P<0,05$) do músculo, da escama e da gordura visceral com valores, respectivamente, de $-12,7$; $-17,4$; $-15,6$ e $-17,1\text{‰}$. O $\Delta^{13}\text{C}$ no músculo foi semelhante à gordura e diferente ($P<0,05$) do fígado e da escama, com valores de $-5,1$; $-4,8$; $-0,4$ e $-3,3\text{‰}$, respectivamente (Tabela 5).

O $\delta^{15}\text{N}$ do músculo, do fígado e da escama não diferiram, apresentando valores médios de $6,7$; $5,3$; $6,6$ e $5,8\text{‰}$, respectivamente (Tabela 6). O valor máximo de $\Delta^{15}\text{N}$ ($3,3\text{‰}$) foi observado no fígado e o mínimo ($2,0\text{‰}$), no músculo, mas não diferiram entre si (Tabela 6).

Foram comparados os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ entre as dietas C₃ e C₄, e entre os tecidos. Os $\Delta^{13}\text{C}$ da dieta C₃ foram diferentes ($P<0,05$) da dieta C₄ no músculo,

na escama e na gordura, enquanto os $\Delta^{15}\text{N}$ entre as duas dietas não diferiram em nenhum tecido.

4.3.3 *Turnover* isotópico

A taxa de reposição de carbono e de nitrogênio (*turnover* isotópico) nos tecidos de tambaqui foi diferente para os peixes alimentados com dieta C₃ e C₄. Ao final do experimento, os tecidos alcançaram o equilíbrio isotópico com a dieta C₃, mas não com a dieta C₄, à exceção do fígado (Figuras 8 e 9; Figuras 10 e 11).

4.3.3.1 Dieta C₃

O *turnover* isotópico, para o carbono dos peixes alimentados com dieta C₃, decresceu na seguinte ordem: fígado > músculo > escama > gordura visceral, com os valores, respectivamente, de 0,108; 0,059; 0,044 e 0,025‰ d⁻¹ (Figura 8). O menor tempo estimado para a substituição de 99% do carbono da dieta foi 42,7 dias, para o fígado, e o maior foi de 184,7 dias, para a gordura visceral.

O *turnover* do nitrogênio apresentou diferenças entre os tecidos semelhantes à do carbono, sendo fígado > músculo > escama, respectivamente 0,159; 0,054 e 0,037‰ d⁻¹ (Figura 9). O menor tempo estimado para a substituição de 99% do nitrogênio da dieta C₃ foi de 28,9 dias, para o fígado, e o maior foi de 125,7 dias, para a escama. Comparando os *turnover* entre os isótopos de carbono e de nitrogênio, em cada tecido analisado, o *turnover* do carbono foi mais rápido que o do nitrogênio no músculo e na escama, e mais lento no fígado.

4.3.3.2 Dieta C₄

Para os peixes alimentados com dieta C₄, apenas no fígado o $\delta^{13}\text{C}$ alcançou o equilíbrio com a dieta, apresentando um *turnover* de 0,054‰ d⁻¹ (Figura 10). A regressão linear entre valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos outros tecidos e o tempo experimental resultou uma taxa de substituição de carbono decrescendo na ordem de gordura visceral > músculo > escama, com os valores respectivamente de 0,147; 0,128; e 0,100‰ d⁻¹. O equilíbrio com a dieta não foi observado em nenhum tecido para os valores de $\delta^{15}\text{N}$. A taxa de substituição decresceu fígado > escama > músculo, com valores de 0,038; 0,027 e 0,019‰ d⁻¹, respectivamente (Figura 11). Comparando os

valores da taxa de substituição entre os isótopos de carbono e de nitrogênio da dieta C_4 , em cada tecido analisado, o carbono apresentou substituição mais rápida que o nitrogênio, em todos os tecidos (Figuras 10 e 11).

Figura 8. Variabilidade temporal de valores de $\delta^{13}C$ do músculo, fígado, escama e gordura visceral de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C_3 (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação exponencial negativa ($P < 0,05$). A linha pontilhada representa o *turnover* isotópico calculado em função do crescimento, sendo coincidentes com o *turnover* metabólico no caso do músculo e escama.

Figura 9. Variabilidade temporal de valores de $\delta^{15}\text{N}$ do músculo, fígado e escama de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C_3 (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação exponencial negativa ($P < 0,05$). A linha pontilhada representa o *turnover* isotópico calculado em função do crescimento, sendo coincidentes com o *turnover* metabólico no caso do músculo e escama.

Figura 10. Variabilidade temporal de valores de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo, fígado, escama e gordura visceral de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C_4 (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação linear ($P < 0,05$) para o músculo, escama e gordura. Dados do fígado ajustados com equação exponencial negativa ($P < 0,05$). A linha pontilhada representa o *turnover* isotópico calculado em função do crescimento

Figura 11. Variabilidade temporal de valores de $\delta^{15}\text{N}$ do músculo, fígado e escama de alevinos de tambaqui alimentados com dieta C_4 (médias entre 4 repetições). Dados ajustados com equação linear ($P < 0,05$). A linha pontilhada representa o *turnover* isotópico calculado em função do crescimento.

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Dieta C₃ vs C₄ e variação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

A incorporação dos nutrientes aos tecidos está relacionada com a taxa de crescimento. O crescimento é o fator dominante e responsável pela mudança isotópica no peixe em crescimento (Maruyama et al., 2001). Os alevinos de tambaqui, mantidos sob as mesmas condições, alimentados com dietas C₃ e C₄, isoprotéicas e isoenergéticas, apresentaram diferentes taxas de crescimento. A dieta C₃, à base de soja, proporcionou uma taxa de crescimento aproximadamente três vezes maior que a dieta C₄, à base de milho, confirmando, assim, o efeito do seu melhor perfil de aminoácidos em relação à proteína de milho (NRC, 1993). As diferentes taxas de crescimento entre os indivíduos alimentados com dieta C₃ e C₄ tiveram implicação direta na incorporação de carbono e de nitrogênio. Há uma nítida diferenciação nos processos envolvidos na incorporação dos isótopos aos tecidos dos peixes alimentados com diferentes dietas (Schroeder, 1983). A melhor qualidade nutricional da fonte C₃ contribuiu para uma incorporação mais eficiente de carbono e de nitrogênio nos tecidos. Uma eficiência menor na assimilação de dieta à base de milho, planta C₄, também foi observada em “golden shiners”, *Notemignus crysoleucas* cultivados em tanques, comparando-se três diferentes fontes dietéticas (Lochmann & Phillips, 1996), e em aves de postura, alimentadas com ração à base de plantas C₃ e C₄ (Carrijo, 2000).

Nos peixes alimentados com dieta C₃, o $\delta^{13}\text{C}$ do músculo e do fígado foram semelhantes, mas os valores da escama e da gordura diferiram. A variação no sinal isotópico entre os tecidos corporais numa mesma espécie foi observado em vários animais (DeNiro & Epstein, 1978; Fry & Arnold, 1982; Schroeder, 1983; Tieszen et al., 1983; Hobson & Clark, 1992; Hobson et al., 1993; Kline et al., 1993; Schmith et al., 1999).

Os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ do músculo e do fígado foram próximos à média de 1‰ encontrada por DeNiro & Epstein (1978); entretanto a escama ficou bem acima (4,7‰). Este maior fracionamento na escama pode ser atribuído ao fato de ser ela um tecido onde a incorporação dos nutrientes se dá por acréscimo, e não por reposição. O carbono fornecido pela nova dieta é adicionado, no tecido, ao carbono da dieta original, fato que corrobora a hipótese de que o sinal isotópico da escama é função da diluição

do sinal do carbono inicial, com o crescimento do animal. Um valor mais pesado para a escama, em relação a outros tecidos, também foi observado em carpas e tilápias (Schroeder, 1983).

O $\Delta^{13}\text{C}$ da gordura visceral foi negativo ($-0,8\%$), ou seja, o valor de $\delta^{13}\text{C}$ desse tecido foi menor que o valor da dieta. Aos lipídios corporais são geralmente atribuídos valores mais empobrecidos que a outros tecidos e frações químicas (DeNiro & Epstein, 1978; Rau et al., 1992; Hobson, 1995; Focken & Becker, 1998). Valores negativos de $\Delta^{13}\text{C}$ foram também encontrados em lipídios de ovos de aves (Hobson, 1995). Diferenças no valor de fracionamento isotópico entre os diferentes tecidos é esperada, tendo em vista que o fracionamento resultante do metabolismo pode ser diferente entre os seus tecidos, por haver diferentes vias bioquímicas (Gannes et al., 1997). Diferentemente dos outros tecidos, o metabolismo de síntese da gordura visceral tem uma dinâmica de incorporação dos isótopos de carbono que foge aos padrões de fracionamento entre tecido e dieta. A síntese de gordura pode acontecer a partir dos lipídios, das proteínas ou dos carboidratos. Os lipídios da dieta normalmente geram depósitos de qualidade equivalente; contudo a síntese de lipídios, a partir da transformação dos carboidratos e proteínas, pode priorizar o carbono mais leve e gerar um tecido mais empobrecido que a dieta.

O valor de $\delta^{15}\text{N}$ do músculo foi semelhante ao do fígado e diferente daquele da escama, o que pode estar relacionado com a capacidade de síntese protéica. O músculo é um tecido característico para depósito de proteínas, com o crescimento, e o fígado é o tecido que centraliza o metabolismo animal. Ambos apresentam, como característica, maior mobilidade de nutrientes que a escama. Apesar dessa diferença nos valores de $\delta^{15}\text{N}$, todos os valores de $\Delta^{15}\text{N}$ dos tecidos apresentaram-se abaixo dos $3,4\%$ apontados como o valor médio entre os animais e sua dieta, mas dentro da faixa de variação (Minagawa & Wada, 1984).

Para os peixes alimentados com dieta C_4 , os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos tecidos foram menores do que os da dieta. Apenas o fígado apresentou $\delta^{13}\text{C}$ próximo à dieta, indicando que, nesse tecido houve um maior repasse do sinal isotópico da dieta, em decorrência da função metabólica desempenhada por esse tecido. A semelhança entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo, da escama e da gordura pode indicar que o efeito da qualidade nutricional inferior desta dieta foi de igual intensidade para tais tecidos.

Embora o valor de $\Delta^{13}\text{C}$ tenha variado entre os tecidos, todos apresentaram valores negativos e fora da faixa de valores ($-0,6$ a $2,7\text{‰}$) encontrada por DeNiro & Epstein (1978) para vários animais. Nos peixes alimentados com dieta C_4 , a mobilização dos nutrientes sintetizados, provenientes da dieta original, foi mais lenta, como também foi mais lenta a incorporação da nova dieta, como evidenciado pelo menor crescimento dos alevinos e pelos valores de $\Delta^{13}\text{C}$. Um lento crescimento individual, decorrente de uma dieta pobre em proteína, também ocasionou um maior fracionamento de $\delta^{13}\text{C}$ em caranguejos (Fantle et al., 1999).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ não variaram entre os tecidos. Diferentemente do $\Delta^{13}\text{C}$, os valores de $\Delta^{15}\text{N}$ foram muito próximos do valor médio ($3,4\text{‰}$), considerado como referência (Minagawa & Wada, 1984). Tal semelhança com o valor médio de referência pode ser explicada pela pequena diferença existente entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das dietas C_3 e C_4 ($\sim 1,4\text{‰}$), e não necessariamente pela substituição da dieta C_3 por C_4 . Comparando-se os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ entre as dietas C_3 e C_4 , para cada tecido analisado, verificam-se $\Delta^{15}\text{N}$ semelhantes para todos os tecidos, enquanto o $\Delta^{13}\text{C}$ foi semelhante apenas no fígado.

A semelhança encontrada entre os valores de $\Delta^{15}\text{N}$ dos tecidos dos peixes alimentados com C_3 e C_4 pode ser um reflexo direto da quantidade de nitrogênio do alimento (Adams & Sterner, 2000), já que as dietas foram isoprotéicas. Segundo Gannes et al. (1998), a proteína é incorporada ao tecido com uma menor transformação em relação a sua forma original contida na dieta. Já a diferença nos valores de $\Delta^{13}\text{C}$ entre os tecidos dos alevinos alimentados com C_3 e C_4 pode ser atribuída às diferenças na qualidade do alimento (Post, 2002), sendo um fator de importância para a incorporação diferenciada dos nutrientes. Todavia a semelhança do $\Delta^{13}\text{C}$ no fígado, para as duas dietas, pode ser justificada pela função metabólica desempenhada por esse tecido. Mesmo que haja diferença na qualidade nutricional entre as dietas C_3 e C_4 , o fígado tende a refletir o sinal isotópico da dieta, pois tem como função transformar os nutrientes e direcioná-los aos outros tecidos.

4.4.2 Turnover isotópico de C₃ e C₄

4.4.2.1 Dieta C₃

A dieta C₃ apresentou um padrão semelhante de incorporação de carbono e de nitrogênio aos tecidos, mas com valores de *turnover* isotópico diferentes para cada tecido analisado (Figura 8 e 9). Para os tecidos músculo e escama, o *turnover* isotópico, nos peixes alimentados com dieta C₃, variou apenas em função da diluição do sinal isotópico da dieta original (C₄) pela nova dieta (C₃), à medida que esta foi incorporada aos tecidos com o crescimento (acréscimo de novos tecidos), ou seja, a taxa de *turnover* metabólico constante (*m*) foi igual ou próximo de zero (Fry & Arnold, 1982). Tais resultados convergem com as estimativas de *turnover* isotópico em músculo e fígado de aves (Hesslein et al., 1993) e para músculo do bagre azul *Ictalurus furcatus* e “goby” *Rhinogobius* sp (MacAvoy et al., 2001; Maruyama et al., 2001). Os autores atribuíram também ao crescimento o maior efeito sobre o *turnover* isotópico.

Para os tecidos fígado e gordura, *m* foi diferente de zero, ou seja, além da diluição do valor isotópico da dieta original pela nova, houve a contribuição também do metabolismo no *turnover* isotópico. Esse efeito do metabolismo no *turnover* isotópico desses tecidos é esperado, tendo em vista sua natureza funcional. Como visto, o tecido hepático centraliza o metabolismo dos nutrientes absorvidos pelo animal e os distribui para a incorporação aos demais tecidos (Doucett et al., 1999). A gordura, por sua vez, é um tecido de reserva energética. Os lipídios da dieta não utilizados de imediato para atender à demanda energética do animal, são depositados principalmente no tecido adiposo, praticamente na mesma forma molecular como se encontram na dieta. Além dos lipídios dietéticos, parte considerável do tecido adiposo é proveniente de gorduras originadas da transformação de carboidratos e proteínas (lipogênese), que excederam as necessidades metabólicas do animal (Hendersons & Tocher, 1987).

Num mesmo tecido, os valores de *turnover* dos isótopos de carbono e de nitrogênio foram muito próximos, similaridade também observada em músculo de “blue catfish” *I. furcatus* (MacAvoy et al., 2001). Comparando o *turnover* isotópico entre os tecidos, apenas no fígado o nitrogênio apresentou *turnover* mais rápido que o carbono, o que pode estar relacionado com o efeito adicional do metabolismo dos aminoácidos, que ocorre no fígado. Em um animal em fase inicial de crescimento, o esforço metabólico é direcionado para processar compostos envolvidos no crescimento ou

responsáveis diretamente por ele, como os aminoácidos, que são os constituintes protéicos responsáveis pelo sinal isotópico de nitrogênio. Um *turnover* mais lento do nitrogênio nos demais tecidos foi também observado no mexilhão *Mysis relicta* (Johannsson et al., 2001).

Para o carbono em particular, o fígado apresentou o mais rápido *turnover*, similar ao observado nos tecidos de aves (Tieszen et al., 1983; Hobson & Clark, 1992), mas não no peixe “broad whitefish” *Coregonus nasus*, que apresentou *turnover* igual para fígado e músculo (Hesslein et al., 1993). No caso do tambaqui, o *turnover* do carbono no fígado foi aproximadamente duas vezes mais rápido que o do músculo, o que o caracteriza, mais uma vez, como tecido de grande mobilização de nutrientes (Doucett et al., 1999), de onde as proteínas e os ácidos graxos são repassados a uma taxa muito maior que nos outros tecidos corporais (Tieszen et al., 1983).

A gordura visceral foi o tecido onde o tempo para a substituição pelo carbono da nova dieta foi o mais longo. Para este tecido, a estimativa do valor assintótico para o $\delta^{13}\text{C}$ foi de $-32,5\text{‰}$, bem mais empobrecido que a dieta; e 99% deste valor seriam alcançados somente em 185 dias, o que implica um fracionamento de -5‰ . Considerado-se que um *turnover* completo seria o equilíbrio do sinal isotópico do tecido com o da dieta, mais o valor médio de fracionamento de 1‰ , poder-se-ia estimar que este tecido alcançaria o equilíbrio em 44 dias, ou seja, muito próximo ao tempo observado para o repasse de 99% do sinal isotópico da dieta no fígado, 43 dias. Por este raciocínio, o fígado e a gordura visceral apresentariam um mesmo valor de *turnover*. Um rápido *turnover* e um valor negativo para o fracionamento do tecido adiposo também foram detectados em aves (Tieszen et al., 1983). A ocorrência de um contínuo empobrecimento da gordura visceral, em relação à dieta, com o tempo, após alcançado o equilíbrio com a dieta, sinaliza a existência de efeitos metabólicos distintos entre o *turnover* da gordura visceral e o do fígado. No fígado, parece que os nutrientes são transformados para o repasse aos tecidos, mantendo-se numa razão isotópica muito próxima à da dieta. No tecido adiposo, os nutrientes são novamente transformados, gerando um fracionamento adicional por um processo metabólico que claramente demonstra uma preferência pelo carbono mais leve, na síntese dos lipídios.

Dentre os tecidos analisados, a escama confirma sua condição de mais lento *turnover*. O modelo para a estimativa de *turnover* de carbono prevê, para esse tecido, um valor assintótico muito mais enriquecido que o da dieta. É um tecido onde os

nutrientes não são substituídos, mas acumulados com o tempo, mantendo parte do valor da dieta anterior que será diluído à medida que uma nova dieta é ingerida. Tecidos de mesma natureza, como as penas de aves, também apresentaram um *turnover* mais lento, em comparação aos outros tecidos (Tieszen et al., 1983). Pelas estimativas de *turnover* apontadas pela regressão não linear, o valor de $\delta^{13}\text{C}$ assintótico, estimado para a escama, é de $-23,8\text{‰}$, sendo que 99% deste valor seriam repassados num tempo de 104,5 dias. Esta estimativa implica assumir que o repasse máximo do sinal isotópico da dieta conduziria a um fracionamento isotópico mínimo de $\delta^{13}\text{C}$ de $3,7\text{‰}$, neste tecido.

4.4.2.2 Dieta C4

Os alevinos alimentados com a dieta C₄ apresentaram um padrão linear de incorporação da dieta aos tecidos, com exceção do fígado. Esse padrão linear indicou que o sinal isotópico do músculo, da escama e da gordura não alcançou o equilíbrio com o sinal isotópico da dieta.

No fígado, único tecido que alcançou o equilíbrio com a dieta, o *turnover* do carbono foi igual à metade daquela estimada para os alevinos alimentados com C₃. O menor *turnover* do fígado de peixes alimentados com C₄, em relação a C₃, pode ser atribuído à diferença nas taxas de crescimento, influenciadas diretamente pela qualidade nutricional inferior da dieta C₄. Observação semelhante foi realizada por Carrijo, (2000) em fígado e ovos de aves de postura.

Depois do fígado, a gordura foi novamente o tecido que apresentou a mais rápida substituição do sinal do carbono, em função do tempo experimental, o que confirma o já observado para as gorduras dos alevinos alimentados com dieta C₃, por ser também um tecido de rápida mobilização. Por outro lado, a escama foi confirmada como o tecido de menor repasse do sinal do carbono, também para os peixes alimentados com dieta C₄, porém houve um incremento adicional no repasse do carbono pelo efeito metabólico ocorrido também neste tecido.

A substituição do nitrogênio da dieta C₄ deu-se com o aumento de biomassa durante o crescimento. Apenas no fígado, ocorreu um efeito metabólico no início do período experimental, mas que não se manteve até o final dos 60 dias. Diferente e curiosamente, o músculo foi o tecido que apresentou o menor incremento na

substituição de N proveniente da dieta C₄. Tal resultado é mais um indício de que a qualidade e o perfil de aminoácidos da dieta C₄ não são adequados para promover o crescimento da espécie. Não havendo um aporte mínimo de nutrientes, em termos qualitativos (aminoácidos essenciais), para a síntese de novos tecidos, os nutrientes, quando absorvidos, são utilizados por outras vias metabólicas como gluconeogênese e lipogênese, que podem converter aminoácidos, respectivamente, em glicose e lipídios (NRC, 1993). Provavelmente, para os alevinos alimentados com C₄, o metabolismo de síntese tissular ocorreu no seu limite de nutrientes disponíveis. Esta hipótese é reforçada pelo pequeno crescimento observado para os alevinos alimentados com essa dieta e também pela mais rápida substituição de nitrogênio na escama, tecido de menor atividade, que no músculo.

4.5 CONCLUSÕES

A dinâmica de incorporação e o *turnover* do carbono e do nitrogênio de fontes C₃ e C₄ em alevinos de tambaqui foi influenciada, primariamente pela taxa de crescimento, que reflete, por sua vez, a diferença nutricional entre as fontes. O valor de fracionamento isotópico para o carbono variou entre os tecidos e dependeu da qualidade da dieta, enquanto o do nitrogênio não. Os valores de fracionamento de nitrogênio no músculo em ambas as dietas (~ 2,5‰), estão dentro da faixa de variação observada em outras espécies; contudo, o valor para o carbono (~ 1,5‰) foi observado apenas nos peixes alimentados com a dieta C₃. A dieta C₃ substituiu tanto o carbono quanto o nitrogênio mais rapidamente que a dieta C₄. O fígado confirmou-se como o tecido de mais rápido *turnover* isotópico, para ambas as dietas, e a escama, o mais lento. O carbono apresentou maior velocidade de substituição nos tecidos que o nitrogênio, com exceção para o fígado dos alevinos alimentados com dieta C₃. Foi estimado o tempo mínimo de 85 dias para a substituição de 99% do carbono e do nitrogênio da dieta no músculo, sendo este um tecido adequado e representativo da composição isotópica do tambaqui, para estudos de ecologia alimentar, já que a dieta da espécie sofre variação entre períodos sazonais de aproximadamente 90 dias.

5 CONCLUSÕES FINAIS

A combinação dos dois métodos, análise de conteúdo estomacal e isótopos estáveis, confirmou a complexidade das relações tróficas do tambaqui e sua dependência do pulso de inundação, que possibilita o acesso sazonal a diferentes fontes de alimento. O método dos isótopos estáveis mostrou-se eficiente para evidenciar as diferenças na qualidade nutricional das principais fontes alimentares do tambaqui. As plantas C_3 , na forma de frutos e sementes, representaram a fonte mais importante de energia do tambaqui, durante todo o ciclo hidrológico. Foram assimiladas diretamente, ou indiretamente, através de outros itens alimentares, em diferentes níveis tróficos. O zooplâncton, independente da quantidade ingerida, mostrou-se uma fonte importante de nitrogênio para o tambaqui. Em laboratório, a fonte C_3 foi incorporada mais rapidamente que a C_4 , sendo a diferença na taxa de crescimento e a qualidade nutricional entre as fontes os fatores de maior importância na dinâmica tanto do carbono quanto do nitrogênio. O músculo mostrou-se como o tecido adequado e representativo da composição isotópica do tambaqui, para estudos de ecologia alimentar; contudo observou-se variação entre os tecidos que deve ser considerada, pois a taxa de reposição do carbono e do nitrogênio foi relacionada diretamente à qualidade da fonte e à funcionalidade do tecido.

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a sazonalidade alimentar do tambaqui, já observada em trabalhos anteriores, e fornece informações mais acuradas da contribuição das fontes, tanto na biomassa total, quanto nos principais nutrientes desta espécie. As informações geradas também contribuem para uma interpretação mais precisa das fontes alimentares, em estudos ecológicos, a partir de valores de referência para uma espécie nativa. Assim, amplia-se as informações sobre a nutrição do tambaqui, envolvendo a assimilação dos nutrientes e apoiando futuros trabalhos que

objetivem investigar a incorporação de dietas quanto à qualidade e à quantidade nos tecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, T. S.; STERNER, R. W. The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. **Limnology Oceanography**, v.45, p.601-607, 2000.
- ADIS, J.; VICTORIA, L. C3 or C4 macrophytes: a specific carbon source for the development of semi-aquatic and terrestrial arthropods in central amazonian river-floodplains according to $\delta^{13}\text{C}$ values. **Isotopes Environment Health Studies**, v.37, p.193-198, 2001.
- ANDRADE, S.M.S.; OLIVEIRA, A.C.B. Efeito da torta de dendê (*Elaeis guineensis*) no ganho de peso e qualidade de carcaça de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818). **Revista da Universidade do Amazonas. Série Ciências Agrárias**, v.7, n.1-2, p. 101-111, 1998.
- ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá, 1998. 186p.
- ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; FORSBERG, B. R.; VICTÓRIA, R.; MARTINELLI, L. A. Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. **Science**, v.234, p.256-1258, 1986.
- ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M; BENEDITO-CECÍLIO, E.; FORSBERG, B.R.; MARTINELLI, L.A.& VICTORIA, R.L. Variação espacial na composição isotópica de *Prochilodus nigricans* (Pisces, Prochilodontidae) na Amazônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA, 6., São Carlos, 1997. **Resumos**. São Carlos: UFSCar, 1997. p.22.
- ARAUJO-LIMA, C. A. R. M; GOULDING, M.; FORSBERG, B.R.; VICTÓRIA, R. L.; MARTINELLI, L. A. The economic value of the Amazonian flooded forest from a fisheries perspective. **Verhandlungen International Verein Limnology**, v.26, p.2177-2179, 1998.

- ARBELÁEZ-ROJAS, G. A., FRACALLOSSI, D. M. E FIM, J. D. I. Composição corporal de tambaqui, *Colossoma macropomum*, e matrinxã, *Brycon cephalus*, em sistemas de cultivo intensivo, em igarapé, e semi-intensivo, em viveiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.3, p.1059-1069, 2002.
- AYRES, J. M. (1993). **As matas de várzea do Mamirauá**. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá, 1993, 123p.
- BATISTA, V. S. Distribuição, dinâmica da frota e dos recursos pesqueiros da Amazônia central. Manaus, 1998. 291p. Thesis (Ph.D.) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- BAYLEY, P.B.; PETRERE, M. Jr. Amazon fisheries: assessment methods, current status and management options. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL LARGE RIVER SYMPOSIUM. Ottawa, 1989. Ottawa: Fisheries and Aquatic Sciences, 1989. v. 106, p.385-398. (Special Publication).
- BAYLEY, P.B. ; MOREIRA J. C. 1980. Preliminary interpretations of aquatic resources in the Central Amazon Basin using LANDSAT multippectral imagery. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE SOCIETY OF TROPICAL ECOLOGY, 5.,Kuala Lumpur, 1980. **Tropical ecology and development; proceedings**. Kuala Lumpur: International Society of Tropical Ecology, 1980. p.861-868.
- BEAUDOIN, C. P.; TONN, W. M.; PREPAS, E. E.; WASSENAAR, L. I. Individual specialization and trophic adaptability of northern pik (*Esox lucius*): an isotope and dietary analysis. **Oecologia**, v.120, 386-396, 1999.
- BENEDITO-CECÍLIO, E.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; FORSBERG, B. R.; BITTENCOURT, M. M.; MARTINELLI, L. A. C. Carbon sources of Amazonian fisheries. **Fisheries Management and Ecology**, v.7, p.1-10, 2000.
- BENEDITO-CECILIO, E.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Variation in the carbon isotope composition of *Semaprochilodus insignis*, a detritivorous fish associated with oligotrophic and eutrophic Amazonian rivers. **Journal of Fish Biology**, v.60, p.1603-1607, 2002.
- BEN-DAVID, M.; HANLEY, T. A.; KLEIN, D. R.; SCHELL, D. M. Seasonal changes in diets of coastal and riverine mink: the role of spawning Pacific salmon. **Canadian Journal of Zoology**, v. 75, p.803-811, 1997.
- BEN-DAVID, M.; SCHELL, D. M. Mixing model in analyses of diet using multiple stable isotopes: a response. **Oecologia**, v.127, p.180-184, 2001.

- BOUTTON, T. W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine, and freshwater environments. In: COLEMAN, D. C.; FRY, B. (Ed.) **Carbon Isotope Techniques**. New York: Academic Press, 1991. p.173-185.
- CARRIJO, A. S. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras, pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), provenientes de rações formuladas com plantas do ciclo C3 e C4. Botucatu, 2000, 65p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- CARVALHO, M.L. Alimentação do tambaqui jovem e sua relação com a comunidade zooplancônica do lago Grande-Manaquiri, Solimões-AM. Manaus, 1981. 90p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- DARWICH, A. J. Processo de decomposição da *Echinocoa polistachya* (H.B.K) Hitchcock (Gramínea, Poacea) capim semi-aquático da várzea Amazônica. Manaus, 1995. 327p. Tese (Doutorado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- DeNIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 42, p.495-506, 1978.
- DeNIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.45, p.341-351, 1981.
- DOUCETT, R. R.; POWER, G.; BARTON, D. R.; DRIMMIE, R. J.; CUNJAK, R. A. Stable isotope analysis of nutrient pathways leading to Atlantic salmon. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 53, p.2058-2066, 1999.
- ECKMANN, R. Growth and composition of juvenile *Colossoma macropomum* (characoidei) feeding on artificial diets. **Aquaculture**, v.64, p.293-303, 1987.
- FANTLE, M. S.; DITTEL, A. I.; SCHWALM, S. M.; EPIFANIO, C. E.; FOGEL, M. L. A food web analysis of the juvenile blue crab, *Callinectes sapidus*, using stable isotopes in whole animals and individual amino acids. **Oecologia**, v.120, p. 416-426, 1999.
- FERNANDEZ, J.M. 1993. Fontes autotróficas de energia em juvenis de jaraqui, *Semaprochilodus insignis* (Schomburgk, 1841) e curimatã, *Prochilodus nigricans* Agassiz, 1829 (Pisces: Prochilodontidae) da Amazônia Central. Manaus, 1993. 58p.

- Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- FOCKEN, U. & BECKER, K. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using $\delta^{13}\text{C}$ data. **Oecologia**, v.115, p.337-343, 1998.
- FORSBERG, B. R.; ARAUJO-LIMA, C. A R. M.; MARTINELLI, L. A.; VICTÓRIA, R. L.; BONASSI, J. A. Autotrophic carbon sources for fish of the Central Amazon. **Ecology**, v.74, p.643-652, 1993.
- FORSBERG, B.R.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M; PADOVANI, R.C.; FERNANDEZ, J.M.; MARTINELLI, L.A. & VICTORIA, R.L. Carbon flow in Amazon food webs. In: CONGRESS INTERNATIONAL ASSOCIATION OF THEORETICAL AND APLIED LIMNOLOGY, 26, São Paulo, 1995. **Resumos**. São Paulo, 1995. p.86
- FRANCE, R. L. Critical examination of stable isotope analysis as a means for tracing carbon pathways in stream ecosystems. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.52, p.651-656, 1995.
- FRANCE, R, L. Absence or masking of metabolic fractionations of ^{13}C in a freshwater benthic food web. **Freshwater Biology**, v.36, p.1-6, 1996.
- FRY, B. Stable isotope diagrams of freshwater food webs. **Ecology**, v.72, p.2293-2297, 1991.
- FRY, B.; ARNOLD, C. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brow shrimp (*Penaeus aztecus*). **Oecologia**, v.54, p.200-204, 1982.
- FRY, B. & SHERR, E. B. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indications of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. **Contributions in Marine Science**, v.27,p.13-47, 1984.
- FRY, B., JENG, W. - L., SCALON, R. S.; PARKER, P. L. $\delta^{13}\text{C}$ food web analysis of a texas sand dune community. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.42, p.1299-1302, 1978.
- FRY, B., MUNFORD, P. L.; FOX, D. D.; WARREN, G. L.; HAVENS, K. E.; STEINMAN, A. D. Trophic position and individual feeding histories of fish from lake Okeechobee, Florida. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.56, p.590-600, 1999.

- GANNES, L.Z.; O'BRIEN, D. M.; MARTINEZ DEL RIO, C. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. **Ecology**, v.78, n.4, 1271-1276, 1997.
- GANNES, L.Z.; MARTINEZ DEL RIO, C.; KOCH P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potencial use in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.119A, n.3, p.725-737, 1998.
- GOTTSBERGER, G. Seed dispersal by fish in the inundated regions of Hamitá. **Amazônia Biotropica**, v,10, n.3, p.170-183, 1978.
- GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Charachidae). An important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.1, p.107-133, 1982.
- GRAEF, E. W. As espécies de peixes com potencial para criação no Amazonas. In: Val, A. L.; Honczaryk, A. **Criando Peixes na Amazônia**. Manaus: INPA, 1995, p.29-43.
- GU, B.; SCHELSKE, C. L.; HOYER, M. V. Stable isotopes of carbon and nitrogen as indicators of diet and trophic structure of the fish community in a shallow hypertrophic lake. **Journal of Fish Biology**, v.49, p.1233-1243, 1996.
- GUIGUER, K. R. R. A.; REIST, J. D.; POWE, M.; BABALUK, J. A. Using stable isotopes to confirm the trophic ecology of Artic charr morphotypes from Lake Hazen, Nunavut, Canada. **Journal of Fish Biology**, v.60,p.348-362, 2002.
- HAMILTON, S. K.; LEWIS, W. M. JR.; SIPPEL, S. J. Energy sources for aquatic animals in the Orinoco River floodplain: evidence from stable isotopes. **Oecologia**, v.89, p.324-330, 1992.
- HANSSON, S.; HOBBIE, J. E.; ELMGREN, R.; LARSSON, U.; FRY, B.; JOHANSSON, S. The stable nitrogen isotope ratio as a marker of food-web interactions and fish migration. **Ecology**, v.78, n.7, p.2249-2257, 1997.
- HARRIGAN, P.; ZIEMAN, J. C.; MACKO, S. A. The base of nutritional support for the gray snapper (*Lutjanus griseus*): an evaluation based on a combined stomach content and stable isotope analysis. **Bulletin of Marine Science**, v.44, n.1, p.65-77, 1989.
- HARVERY, C. J.; HANSON, P. C.; ESSINGTON, T. E.; BROWN, P. B.; KITCHELL, J. F. Using bioenergetics models to predict stable isotope ratios in fishes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.59, p.115-124, 2002.

- HARVERY, C. J.; KITCHELL, J. F. A stable isotope evaluation of the structure and spatial heterogeneity of a Lake Superior food web. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.57, p.1395-1403, 2000.
- HENDERSONS, R.J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress in Lipid Research**, v.26, p. 281-347, 1987.
- HERSHEY, A. E.; PETERSON, B. J. Stream Food Webs. In: Richard, F.; Lambert, A (ed). **Methods in Stream Ecology**. San Diego. Academic Press, 1996. p.511-530.
- HESSLEIN, R. H.; HALLARD, K. A.; RALAL, P. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad white-fish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.50, p.2071-2076, 1993.
- HOBSON, K. A. Trophic relationships among high Arctic seabirds: insights from tissue-dependent stable-isotope models. **Marine Ecology Progress Series**, v.95, p.7-18, 1993.
- HOBSON, K. A. Reconstructing avian diets using stable-carbon and nitrogen isotope analysis of egg components: patterns of isotopic fractionation and turnover. **The Condor**, v.97, p.752-762, 1995.
- HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ^{13}C in tissues. **The Condor**, v. 94, p.181-188, 1992.
- HOBSON, K. A.; WELCH, H. E. Cannibalism and trophic structure in a high Arctic lake: insights from stable-isotope analysis. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.52, p.1195-1201, 1995.
- HOBSON, K. A.; ALISAUSKAS, R. T.; CLARK, R. G. Stable-Nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analysis of diet. **The Condor**, v.95, p.388-394, 1993.
- HOBSON, K. A.; SCHELL, D. M.; RENOUF, D.; NOSEWORTHY, E. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstruction involving marine mammals. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.53, p.528-533, 1996.
- HONDA, E. M. S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas. 2. Alimentação do tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). **Acta Amazônica**, v.4, p.47-53, 1974.

- HYSLOP, E. J. Stomach contents analysis review of methods and their applications. **Journal of Fish Biology**, v.17, p.411-429, 1980.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Estatística da Pesca 1998 Brasil**: Grandes Regiões e Unidades da Federação. Tamandaré: Centro de Pesquisa e Extensão Pesqueira do Nordeste – CEPENE, 2000. 96 p.
- ISAAC, V.J & M.L. RUFFINO. Population dynamics of tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818), in the Lower Amazon, Brazil. **Fisheries management and Ecology**, v.3, p.315-333, 1996.
- JACJON, D.; HARKNESS, D.D. The use and interpretation of $\delta^{13}\text{C}$ values as a means of establishing dietary composition. **Oikos**, v.48, p.258-264, 1987.
- JEPSEN, D.; WINEMILLER, K., O. Structure of tropical river food webs revealed by stable isotope ratios. **Oikos**, v.96, p.46-55, 2002.
- JOHANNSSON, O. E.; LAGGETT, M. F.; RUDSTAM, L. G.; SERVOS, M. R.; ALL MOHAMMADIAN, M.; GAL, G.; DERMOTT, R. M.; HESSLEIN, R. H. Diet of *Mysis relicta* in Lake Ontario as revealed by stable isotope and gut content analysis. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.58, p.1975-1986, 2001.
- JUNK, W.J. Ecology of the varzea floodplain of Amazonian whitewater rivers. In: H. SIOLI (ed). **The Amazon** - Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin. Dordrecht: Dr. W. Junk, 1984, p.215-243.
- JUNK, W. J. Temporary fat storage, an adaptation of some fish species to the water level fluctuations and related environmental changes of the Amazon river. **Amazoniana**, v.9, n.3, p.315-352, 1985.
- JUNK, W. J.; SOARES, M. G. M.; SAINT-PAUL, U. The fish. In: W. J. JUNK. **The central-Amazonian floodplain**: ecology of a pulsing system. Berlin: Springer, 1997. p.385-405.
- KAWAKAMI, E.; VAZZOLER, G. Métodos gráficos e estimative de índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v.29, n.2, p.205-207, 1980.
- KLINE, T. C. JR.; GOERING, J. J.; MATHISEN, O. A.; POE, P.H. Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific salmon: II $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ evidence in the Kvichak River, Bristol Bay, Southwestern Alaska. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.50, p.2350-2365, 1993.

- KURLE, C. M.; WORTHY, G. A. J. Stable isotope assessment of temporal and geographic differences in feeding ecology of northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). **Oecologia**, v.126, p.254-265, 2001.
- KWAK, T. J.; ZEDLER, J. B. Food web analysis of southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes. **Oecologia**, v.110, p.262-277, 1997.
- LAJTHA, K. MARSHALL, J. D. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: K. LAJTHA; R. H. MICHENER. **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. London: Blackwell Scientific Publications, 1994, p.1-21.
- LEITE, R. G.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; VICTÓRIA, R.; MARTINELLI, L. A. Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. **Ecology of Fishwater Fish**, v.11, p.56-63, 2002.
- LOCHMANN, R.; PHILLIPS, H. Stable isotopic evaluation of the relative assimilation of natural and artificial foods by golden shiners *Notemigonus crysoleucas* in ponds. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.27, n.2, p.168-177, 1996.
- LOWE-McCONNELL, R. H. **Ecological studies in tropical fish communities**. Cambridge: Cambridge University Press, 1987. 382p.
- MACAVOY, S. E.; MACKO, S. A.; GARMAN, G. C. Isotopic turnover in aquatic predators: quantifying the exploitation of migratory prey. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.58, p.923-932, 2001.
- MACEDO, E.M. 1979. Necessidades protéicas na nutrição do tambaqui. *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) (Pisces, Characidae). Jaboticabal, 1979, 71p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- MARGUILLIER, S.; VAN DER VELD, G.; DEHAIRS, F.; HEMMINGA, M. A.; RAJAGOPAL, S. Trophic relationships in an interlinked mangrove-seagrass ecosystem as traced by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. **Marine Ecology Progress Series**, v.151, p.115-121, 1997.
- MARTINELLI, L. A.; VICTÓRIA, R. L.; MATSUI, E.; FORSBERG, B. R.; MOZETO, A. A. Utilização das variações naturais de $\delta^{13}\text{C}$ no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. **Acta Limnológica Brasileira**, v.11, p.859-882, 1988.

- MARUYAMA, A.; YAMADA, Y.; RUSUWA, B.; YUMA, M. Change in stable nitrogen isotope ration in the muscle tissue of a migratory goby, *Rahinogobius* sp., in a natural setting. . **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.58, p.2125-2128, 2001.
- MERONA, B. & BITTENCOURT, M. M. A pesca na Amazônia através dos desembarques do mercado de Manaus: resultados preliminares. **Memórias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle**, v.48, p.433-453, 1988. Suplement.
- MINAGAWA, M.; WADA, E. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.28, p.1155-1164, 1984.
- MORI, L. A. P. Estudo da possibilidade de substituição do fubá de milho, pela pupunha, na alimentação de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Manaus, 1993. 62p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- NACIONAL RESEARCH COUCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish**. Washigton, 1993. 114p.
- OLIVEIRA, A.C.B.; RUBIM, M.A.L.; PEREIRA-FILHO, M.; GANDRA, L.A. Utilização do Arroz Silvestre (*Oryza glumaepatula*) no Arraçoamento de Alevinos de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Revista da Universidade do Amazonas. Série Ciências Agrárias**, v.7, n.1-2, p.113-123, 1998.
- OVERMAN, N. C.; PARRISH, D. L. Stable isotope composition of walleye: ^{15}N accumulation with age and area-specific differences in $\delta^{13}\text{C}$. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.58, p.1253-1260, 2001.
- PADOVANI, C.R. 1992. Determinação das fontes autotróficas de carbono para camarões em um lago de várzea da Amazônia Central, utilizando isótopos estáveis de carbono. Manaus, 1992. 72p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- PÉREZ, P.P.P. Influência do ensilado de pescado e do pescado cozido no crescimento e composição corporal de alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). Manaus, 1995. 72p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.

- PERSSON, A.; HANSSON, L. Diet shift in fish following competitive release. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.56, p.70-78, 1999.
- PETREIRE JUNIOR, M. Ecology of the fisheries in the river Amazon and its tributaries in the Amazonas State (Brasil). Norfolk, 1982. 96p. Thesis (Ph.D) - University of East Anglia.
- PHILLIPS, D. L. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. **Oecologia**, v.127, p.166-170, 2001.
- PHILLIPS, D. L.; GREGG, J. W. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. **Oecologia**, v.127, p.171-179, 2001.
- PHILLIPS, D. L.; KROCH, P. L. Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models. **Oecologia**, v.130, p.114-125, 2002.
- PINNEGAR, J. K.; POLUNIN, N. V. C. Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. **Functional Ecology**, v.13, p.225-231, 1999.
- POST, D. M. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. **Ecology**, v.83, n.3, p.703-718, 2002.
- RAU, G. H.; AINLEY, D. G.; BENGTSON, J.L.; TORRES, J. J.; HOPKINS T. L. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in weddell sea birds, seals, and fish: implications for diet and trophic structure. **Marine Ecology Progress Series**, v.84, p.1-8, 1992.
- ROBINNS, C. T.; HIDERBRAND, G. V.; FARLEY, S.D. Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models: a response to Phillips and Koch (2002). **Oecologia**, v.133, p.10-13, 2002.
- ROUBACH, R. 1991. Uso de frutos e sementes de florestas inundáveis na alimentação de *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). Manaus, 1991. 79p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- ROUBACH, R.; SAINT-PAUL, U. Use of fruits and seeds from Amazonian inundated forests in feeding trials with *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818). **Journal of Applied Ichthyology**, v.10, p.134-140, 1993.
- SAINT-PAUL, U. Investigation on the seasonal changes in the chemical composition of liver and condition from a neotropical characoid fish *Colossoma macropomum* (Serrasalminidae). **Amazoniana**, v.9(1), p.147-158, 1984.

- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of south american freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, v.54, p.205-240,1986.
- SAINT-PAUL, U. **Aquaculture in Latin American**. Bibliography. Oostende: European Aquaculture Society, 1990. 434p. (Special Publication, 13).
- SAINT-PAUL, U. The potential for *Colossoma* culture in Latin American. **Infofish International**, v.2, p.49-53, 1991.
- SAINT-PAUL, U.; ZUANON, J.; CORREA, M. A.V.; GARCIA, M.; FABRÉ, N. N.; BERGER, U.; JUNK, W. J. Fish communities in Central Amazonian white and blackwater floodplains. **Environmental Biology of Fishes**, v.57, p.235-250, 2000.
- SALDAÑA, A. L. & LOPEZ, M. E. M. Formulación y evaluación de dietas para *Colossoma macropomum* em México. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO, 6.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5., Florianópolis, 1988. Florianópolis, 1988. p.323-336.
- SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G. Peixes da Bacia Amazônica. In: Lowe-McConnell, R. H. **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais**. São Paulo: Edusp, 1999. p.345-354.
- SCHROEDER, G. L. Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by δC analysis. **Aquaculture**, v.35, p.29-42, 1983.
- SCHMIDT, O.; SCRIMGEOUR, C. M.; CURRY, J. P. Carbon and nitrogen stable isotope ratios in body tissue and mucus of feeding earthworms (*Lumbricus festivus*). **Oecologia**, v.118, p.9-15, 1999.
- SILVA, J. A. M. DA. Nutrientes, energia e digestibilidade aparente de frutos e sementes consumidos pelo tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) nas florestas inundáveis da Amazônia Central. Manaus, 1997. 142p. Tese (Ph.D.) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- SILVA, J. A. M. DA; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. DE. Seasonal variation of nutrients and energy in tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) natural food. **Revista Brasileira de Biologia**, v.60, n.4, p.599-605, 2000.
- SMIT, A., J. Source identification in marine ecosystems, Food web studies using $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$. In: Unkovich, M.; Pate, J.; Gibbs, D. J. **Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. p. 219-245.

- SMITH, R. J.; HOBSON, K. A.; KOOPMAN, H. N.; LAVIGNE, D. M. Distinguishing between populations of fresh and salt-water harbour seals (*Phoca vitulina*) using stable-isotope ratios and fatty acid profiles. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.53, p.272-279, 1996.
- SMITH, N. J. H. **A pesca no rio Amazonas**. Manaus: Conselho Nacional de Pesquisa/Instituto de Pesquisas da Amazônia, 1979. 154p.
- SOARES, M. G. M.; ALMEIDA, R. G.; JUNK, W. J. The trophic status of the fish fauna in Lago Camaleão a macrophyte dominated floodplain lake in the middle Amazon. **Amazoniana**, v.9, n.4, p.511-526, 1986.
- TACON, A.G. J.; JACKSON, A. Utilisation of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In: Cowey, C. B.; Mackie, A. M.; Bell, J. G. **Nutrition and feeding in fish**. London: Academic Press, 1985. p.119-145.
- TELLO, J. S.; MONTEUIL, V. H.; MACO, J. T.; ISMINO, R. A.; SANCHEZ, H. Bioecologia de peces de importância econômica de la parte inferior de los rios Ucayali y Marañon – Peru. **Folia Amazônica**, v.4, n.2, p.75-93, 1992.
- THORP, J. H.; DELONG, M. D.; GREENWOOD, K. S.; CASPER, A. F. Isotopic analysis of three food web theories in constricted and floodplain regions of a large river. **Oecologia**, v.117, p.551-563, 1998.
- TIESZEN, L. L.; BOUTTON, T. W.; TESDAHL, K. G.; SLADE, N. A. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. **Oecologia**, v.57, p.32-37, 1983.
- VAN DER MEER, M. B.; HUISMAN, E.A.; VERDEGEM, M. C. J. Feed consumption, growth and protein utilization of *Colossoma macropomum* (Cuvier) at different dietary fish meal/soya meal rations. **Aquaculture Research**, v.27, p.531-538, 1996.
- VANDER ZANDEN, M. J.; CABANA, G.; RASMUSSEN, J. B. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.54, p.1142-1158, 1997.
- VAZ, M. M.; PETRERE JR. M.; MARTINELLI, L. A.; MOZETO, A. A. The dietary regime of detritivorous fish from the River Jacaré Pepira, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v.6, p.121-132, 1999.

- VANDER ZANDEN, M. J.; RASMUSSEN, J. B. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. **Limnology Oceanography**, v.46, n.8, p.2061-2066, 2001.
- VIDAL JÚNIOR, M. V. Níveis de proteína para tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) dos 30 aos 250 g de peso vivo. Viçosa, 1995. 49p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- YABE, R. S.; BENNEMANN, T. Regime alimentar de *Schizodon intermedius* Garavello & Britski do rio Tibagi, Paraná, e sua relação com algumas características morfológicas do trato digestivo (Osteichthyes, Anostomidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.11, n.4, p.777-788, 1994.
- WAINRINGHT, A. C.; FULLER, C. M.; MICHENER, R. H.; RICHARDS, R. A. Spacial variation of trophic position and growth rate of juvenile striped bass (*Morone saxatilis*) in the Delaware River. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.53, p.685-692, 1996.
- WANTZEN, K. M.; MACHADO, F. A.; VOSS, M.; BORISS, H.; JUNK, J. W. Seazonal isotopic shifts of the Pantanal wetland, Brazil. **Aquatic Science**, v. 64, p.239-251, 2002.
- WILSON, R. P. Amino Acid and Proteins. In: Halver, J. E. **Fish Nutrition**. San Diego, CA: Academic Press, 1989. p.111-151.
- ZIBURSKI, A. (). Ausbreitungs-und reproduktionsbiologie einiger baumarten der amazonischen überschwemmungs-walder. Hamburg, 1990, 112p. Thesis (Ph.D.) Universidade de Hamburg.
- ZUANON, J. A. S. Aspectos da biologia, ecologia e pesca de grandes bagres (Pisces; Siluriformes; Siluroidei) na ilha da Marchantaria, rio Solimões, Am. Manaus, 1990. 186p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.