

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE E PESCA**  
**INTERIOR**

**ECOLOGIA TRÓFICA DE *Cichla temensis* HUMBOLDT, 1821 DO MÉDIO RIO  
NEGRO, AMAZONAS, BRASIL**

**JAMERSON AGUIAR SANTOS**

Manaus, Amazonas  
Fevereiro, 2018

**JAMERSON AGUIAR SANTOS**

**ECOLOGIA TRÓFICA DE *Cichla temensis* HUMBOLDT 1821 DO MÉDIO RIO  
NEGRO, AMAZONAS, BRASIL**

Orientador: Carlos Edwar de Carvalho Freitas – UFAM

Coorientadores: Flávia K. Siqueira de Souza – UFAM e Pieter deHart – Unity College

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

Manaus, Amazonas

Fevereiro, 2018

## **BANCA EXAMINADORA**

**Cleber Duarte – Titular**

Centro Universitário do Norte

**Maeda Batista dos Anjos – Titular**

Instituto Federal do Amazonas

**Rosseval Galdino Leite – Titular**

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

**Cláudia Pereira de Deus – Suplente**

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

**Sidineia Aparecida Amádio - Suplente**

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

S237 Santos, Jamerson Aguiar  
Ecologia trófica de *Cichla temensis* Humboldt 1821 do médio rio Negro, Amazonas, Brasil / Jamerson Aguiar Santos. - Manaus: [s.n.], 2016.  
-- f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - INPA, Manaus, 2016.  
Orientador: Carlos Edwar de Carvalho Freitas.  
Coorientadores: Flávia Kelly Siqueira Souza, Pieter A. P.  
Área de concentração: Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

1. Peixe. 2. Tucunaré. 3. *Cichla temensis*. I. Título.

CDD 597.74

**Sinopse:**

Estudou-se a ecologia trófica do tucunaré pacá *Cichla temensis* em dois tributários do médio rio Negro, Amazonas, Brasil. Mudanças na dieta e posições tróficas foram avaliadas entre classes de comprimento através de análise de conteúdo estomacal e análise de isótopos estáveis.

**Palavras-chave:** Isótopos estáveis, ontogenia, posição trófica, alimentação

*Dedico esta dissertação aos meus pais Jeane e Josimar.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por ter me dado saúde, força, paciência e discernimento para superar as adversidades encontradas durante esses dois anos.

Aos meus pais, meu irmão e minha avó que apesar de estarem longe fisicamente sempre estiveram presentes.

A minha companheira Bruna Tainá que aceitou desafio de passar muitas horas em videochamadas, pontes aéreas e centenas de quilômetros de distância de mim. Pelo apoio, incentivo e por ter sido muito paciente. Se não fosse por você não teria conseguido.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e à Universidade Federal do Amazonas – UFAM por toda infraestrutura disponível.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao apoio financeiro fornecido pelo projeto “Efeitos de diferentes atividades de pesca sobre as teias tróficas de peixes do médio rio Negro (Amazonas - Brasil), com destaque para as populações de tucunaré *Cichla temensis*” financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Edwar de Carvalho Freitas, por ter me dado uma oportunidade e ter acreditado no meu potencial. A primeira vez que nos encontramos ele me fez a seguinte pergunta: Você presta? E eu respondi: O tempo irá dizer. Talvez agora ele tenha a resposta do questionamento. Mas sem dúvida sua orientação, paciência e incentivos contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

Aos meus coorientadores, Prof. Dra. Flávia K. S. Souza e Prof. Dr. Pieter DeHart, pelos conselhos, apoio e por estarem sempre disponíveis nos momentos que eu precisei.

Ao Prof. Dr. Marc Pouilly por ter me ensinado um pouco sobre ecologia isotópica.

Ao Prof. Dr. Antônio José Inhamuns da Silva por disponibilizar a estufa de seu laboratório e aos alunos do Laboratório de Tecnologia do Pescado – UFAM por terem me ajudado no manuseio da estufa.

Ao Prof. Dr. Jansen Zuanon pela a ajuda com a identificação do conteúdo estomacal. Às Prof. Dra. Cláudia de Deus, Prof. Dra. Sidnéia Amadio e Prof. Dra. Lúcia Rapp-PyDaniel por sempre terem me recebido muito bem e com muita boa vontade nos momentos de dúvidas.

Aos alunos de iniciação científica e técnicos do Laboratório de Ecologia Pesqueira – UFAM que me ajudaram durante a expedição de campo e durante a análise de conteúdo

estomacal. Em especial ao Seu Ivanildo, Chiara, Gisellen e André pelos momentos de descontração e pelas divertidíssimas conversas no Laboratório e no campo.

Aos amigos do meu pseudolaboratório, Josilene, Ana Paula, Eloyssa, Renan, Raize, agregada Silvia, Prof. Dr. Nelson e demais membros do Laboratório de Plâncton – INPA, por terem sempre me recebido muito bem, pelo apoio, conversas e descontração.

A minha família do Badpi, Josilene, Silvia, Claudiane, Fernando, Alany, Priscylla e Cintia por terem me acolhido em Manaus e por terem feito esses dois anos felizes com muita comida, bebida e conversa. Apesar de Cintia ter nos deixado tão repentinamente.

Aos meus colegas da Turma do Badpi 2016 e todos amigos do INPA, em especial aos amigos da Entomologia. Aos amigos gringos, Gian and Zena, pelos *hangout*.

Aos colegas da expedição de campo Rio Negro, em especial a equipe Panema, que foram essenciais para a captura dos tucunarés porque se dependesse de mim eu não teria conseguido coletar nada.

A minha família manauara, Luana, Ana Cristina, Aline e Carla por terem dividido apartamento comigo durante esses dois anos. Eu sei que não é muito fácil morar comigo, mas certamente é muito divertido.

Aos meus amigos do Piatam, Marcela, Vinicíus, Wendell, Diogo, Sandrelly, Lorenzo, Carolina, Caroline, Giulia, Bruna, Franciane, Sara e María por estarem sempre presentes no dia a dia compartilhando conquistas, momentos felizes e momentos tristes. A dona Ângela pelo café delicioso, dona Tereza e claro a ilustríssima dona Hostília que nos alegrava todos os dias com sua presença. Depois de seu aposento nossos almoços não foram mais os mesmos.

Por fim, à Amazônia por ela ainda existir.

“Geralmente aqueles que sabem pouco falam muito, e aqueles que sabem muito falam pouco”.

*Jean-Jacques Rousseau*

## RESUMO

Entender as relações tróficas entre os organismos e destes com o meio ambiente é essencial para compreender a ecologia trófica das espécies e auxiliar na criação de políticas que visam o manejo sustentável. Uma das espécies com importância comercial na bacia Amazônica é o tucunaré paca *Cichla temensis*. Esta espécie é alvo da pesca esportiva e uma das principais espécies da pesca comercial e de subsistência na bacia do rio Negro. Apesar disso, nenhum estudo sobre a ecologia trófica desta espécie foi realizado em ambiente natural na bacia do rio Negro. Assim, este estudo propôs avaliar a ecologia trófica do tucunaré paca em dois tributários no médio rio Negro utilizando análise de conteúdo estomacal e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio. A partir de um levantamento bibliográfico foi perceber que a utilização de ferramentas em conjunto para o estudo da ecologia de peixes pode auxiliar na compreensão de questões relacionadas, ao comportamento reprodutivo, migratório e alimentar dos peixes. A analise de conteúdo estomacal mostrou que a dieta de *C. temensis* foi baseada na piscivoria e que esta espécie predava uma variedade de peixes presas. O tamanho da presa ingerida aumentou com o tamanho do tucunaré paca. A composição da dieta e a posição trófica não foram diferentes entre as classes de tamanho. Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  foram diferentes entre as classes de tamanho. A posição trófica variou entre os locais, com valores mais baixos observados nos peixes do rio Aracá. Este estudo demonstrou que a dieta de *C. temensis* pode variar de acordo com o tamanho do peixe e de acordo com rio/localidade, mesmo dentro de uma mesma bacia hidrográfica. Sugerimos então que estudos adicionais levem em consideração a disponibilidade local de recursos alimentares, a fim de explorar melhor a dieta de *C. temensis*.

## ABSTRACT

Understanding the trophic relationships between organisms and their environment is essential to interpreting the ecology of the species, and allows for the creation of policies aimed at sustainable management. One particular species of commercial importance in the Amazon basin is the speckled peacock bass (*Cichla temensis*). This species is the target of sport fishing and one of the main species of commercial and subsistence fishing in the Rio Negro basin. Nevertheless, no study on the trophic ecology of this species has been conducted in a natural environment in the Rio Negro basin. Thus, this study proposed to evaluate the trophic ecology of speckled peacock bass in two tributaries in the middle Rio Negro using analysis of stomach contents and stable isotopes of carbon and nitrogen. A review of the bibliographical resources underscored that using these tools together to study fish ecology can help elucidate issues related to the reproductive, migratory and feeding behavior of the fish. The stomach contents analysis confirmed the piscivorous feeding habit of the species and showed that the speckled peacock bass preyed on a variety species belonging to different trophic guilds. The length of the ingested prey increased with the size of the speckled peacock bass. Diet composition and trophic position were not different among size classes.  $\delta^{13}\text{C}$  values yielded significant shifts among the size classes: larger individuals displayed higher  $\delta^{13}\text{C}$  values than smaller individuals. Trophic position varied between locations, with lowest values observed in fish from the Aracá River. This study demonstrated that diet of *C. temensis* may vary according to the size of the fish, and according to the river/locality, even within a same basin. We then suggest that further studies take into account local availability of food resources in order to better explore *C. temensis* diet and tropic ecology.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	1
OBJETIVOS .....	5
Objetivo geral .....	5
Objetivos específicos .....	5
ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO .....	5
Capítulo 1 .....	1
Isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira .....	7
Capítulo 2 .....	16
Trophic ecology of speckled peacock bass <i>Cichla temensis</i> Humboldt 1821 in the middle Negro River, Amazon, Brazil .....	17
SINTESE .....	49
REFERÊNCIAS .....	50

## INTRODUÇÃO GERAL

A família Cichlidae é uma das principais no grupo dos vertebrados, sendo representada por uma elevada riqueza de peixes, com cerca de 1700 espécies, em ambiente de água doce (Kullander, 2003; Eschmeyer e Fong, 2016). Os ciclídeos, como são conhecidos, são muito apreciados como peixes ornamentais devido à ampla variedade de formas, padrão de coloração e de comportamento (Graça *et al.*, 2013). Contudo, em se tratando do viés econômico, poucos gêneros são considerados importantes na pesca extrativa continental brasileira, com destaque para as espécies do gênero *Cichla*, sua produção chega a atingir mais de oito toneladas, sendo que a região amazônica é responsável por mais da metade dessa produção (IBAMA, 2007; MPA, 2013).

No médio rio Negro, o tucunaré paca, *Cichla temensis*, está entre as espécies que sustentam a pescaria comercial da região (Inomata e Freitas, 2015), bem como é muito apreciado na pesca esportiva, devido ao seu comportamento agressivo ao atacar as iscas artificiais (Willis *et al.*, 2015). Por ser considerado um predador que captura suas presas por emboscada ou perseguição (Goulding, 1997; Brejão *et al.*, 2013), desempenham um importante papel ecológico no ecossistema, a exemplo do mecanismo *top-down*, atuando na estruturação das comunidades naturais de ambientes aquáticos, em um processo de cima para baixo ao longo da cadeia trófica. Interações desse tipo podem modificar diretamente os fluxos de energia ou influenciar a abundância das espécies que controlam esses fluxos. Quando os predadores são removidos, populações de presas por sua vez aumentam suas abundâncias e esgotam os seus recursos alimentares, causando impacto nas espécies de todos os níveis tróficos (Chapin *et al.*, 2000; Terborgh, 2015).

Estudos sobre ecologia trófica de peixes em ambiente natural podem auxiliar a compreensão da organização trófica do ecossistema aquático, fornecendo informações sobre a dieta e hábito alimentar das espécies, interpretados pela disponibilidade de alimentos e mudanças ontogenéticas na alimentação (Esteves e Aranha, 1999). Sendo possível também, a identificação de itens alimentares que são assimilados e utilizados na formação dos tecidos, de fontes de energia que sustentam os consumidores e a determinação da posição trófica das espécies na cadeia alimentar (Rabelo e Araújo-Lima, 2002; Hahn e Delariva, 2003; Manetta *et al.*, 2003; Bennemann *et al.*, 2006; Montecinos *et al.*, 2016).

Uma abordagem tradicional para estudos de ecologia trófica é a análise de conteúdo estomacal que pode fornecer informações detalhadas sobre o comportamento alimentar de um indivíduo, incluindo número e tamanho de espécies de presas, além da quantidade de presas

consumidas (Miller *et al.*, 2010). No entanto, essa abordagem não separa com precisão itens alimentares com elevados níveis de digestão e fornece informações apenas das presas que foram recentemente ingeridas, sendo necessário protocolos contínuos e padronizados de amostragem ao longo do tempo para capturar variações sazonais ou ontogenéticas na dieta (Gillespie, 2013; Baker *et al.*, 2013; Nielsen, 2015).

A fim de refinar os estudos envolvendo a ecologia trófica de peixes, pode-se empregar a análise de isótopos estáveis, que fornece informações sobre os itens que são assimilados e incorporados ao tecido dos consumidores. Dessa forma é possível saber quais componentes nutricionais são importantes para um consumidor e estimar sua posição trófica no ambiente aquático (Post, 2002; Nielsen, 2015). O uso de isótopos estáveis em estudos ecológicos é possível devido a diferença na composição isotópica dos compostos ao passar por diferentes processos físico-químico e/ou biológico, possibilitando assim a discriminação de um dos isótopos (Pereira e Benedito, 2007; Martinelli, *et al.*, 2009).

Isótopos são espécies atômicas de um mesmo elemento químico que possuem massas atômicas diferentes, mas com mesmo número atômico, ou seja, os isótopos possuem mesmo número de prótons, mas diferente número de nêutrons. Os isótopos são chamados de estáveis por não realizar decaimento radioativo (Pereira e Benedito, 2007; Martinelli, *et al.*, 2009). Os isótopos estáveis comumente utilizados em estudos ecológicos são o  $^{13}\text{C}$  e o  $^{15}\text{N}$  (Araujo-Lima *et al.*, 1986; Forsberg *et al.*, 1993; Zuluaga-Gomes *et al.*, 2016).

Os isótopos de carbono são utilizados para identificar fontes autotróficas de energia para os consumidores, baseado no pressuposto de que o consumidor refletirá isotopicamente sua dieta (Martinelli *et al.*, 1988). Se as fontes alimentares possuírem composições isotópicas distintas é possível comparar as assinaturas isotópicas entre um consumidor e suas potenciais fontes de alimento para encontrar quais alimentos foram assimilados e em qual proporção (Dionne *et al.*, 2016). Isto é possível, através da utilização de um modelo de mistura isotópica para converter os dados isotópicos em estimativas de contribuições das fontes de energia a partir de vários componentes da dieta de um organismo (Phillips *et al.*, 2014). Os isótopos de carbono uma vez fixados pelos produtores primários pouco se alteram ao passar pela cadeia alimentar, com enriquecimento médio de 0,8‰ em cada transferência trófica (DeNiro e Epstein, 1978; Watson *et al.*, 2013). No entanto, a razão isotópica do nitrogênio a cada nível trófico aumenta a razão do isótopo mais pesado ( $^{15}\text{N}$ ) em média 3,4‰, assim, é útil para fornecer informações sobre o nível trófico de um consumidor, pois os consumidores tornam-se enriquecidos em  $^{15}\text{N}$  ao longo da cadeia alimentar (Minagawa e Wada, 1984; Post, 2002).

As plantas com vias fotossintéticas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> discriminam os isótopos de carbono de forma diferente devido as diferenças enzimáticas no processo de fixação do carbono (Forsberg *et al.*, 1993; Oliveira *et al.*, 2006; Marshall *et al.*, 2007). Durante a fixação do carbono nas plantas C<sub>3</sub> ocorre uma seletividade mais elevada para o isótopo mais leve (<sup>12</sup>C) (Forsberg *et al.*, 1993). A variabilidade isotópica de <sup>13</sup>C entre as plantas C<sub>3</sub> depende do balanço entre a difusão e a demanda enzimática efetuada pelo CO<sub>2</sub>. Enquanto, que a variabilidade isotópica das plantas C<sub>4</sub> é mais dependente da difusão do CO<sub>2</sub> (Lopes e Benedito-Cecilio, 2002). As plantas C<sub>4</sub> possuem uma maior seletividade para o isótopo mais pesado (<sup>13</sup>C), devido à alta eficiência no uso do CO<sub>2</sub>. Dessa forma, os isótopos de carbono proporcionam um excelente meio para identificar o carbono a partir desses dois grupos através da teia alimentar (Forsberg *et al.*, 1993).

A compreensão das relações tróficas é reforçada através da utilização complementar de  $\delta^{15}\text{N}$  e análise do conteúdo do estomacal a qual revela especificamente quais grupos estão envolvidos nas interações alimentares (Vander Zanden *et al.*, 1997). Unir os dois métodos, análise de conteúdo estomacal e análise de isótopos estáveis, fornece uma visão mais específica dos itens consumidos da dieta, sua importância para a dieta e mudanças na composição das presas durante a ontogenia (Smylie *et al.*, 2015).

Os peixes podem modificar a sua dieta devido a variações individuais, espaço-temporais, comportamentais e ontogenéticas (Abelha, 2001). Muitas vezes, os peixes apresentam mudanças ontogenéticas na dieta por sofrerem modificações nas estruturas relacionadas à sua morfologia trófica devido ao crescimento dos indivíduos (Bozza e Hahn, 2010). Burress *et al.* (2013) afirmam que esse tipo de mudança em espécies predadoras, do ponto de vista ecológico, implica no aumento da conectividade da cadeia alimentar e aumento na pressão de predação sobre os recursos. Dessa forma, a dieta da espécie muda de forma eficiente para explorar a diversidade de recursos que se encontram disponíveis.

Estudos indicam que o fitoplâncton é a principal fonte de carbono para muitas espécies de peixes detritívoros nas planícies de inundação da bacia amazônica (Araujo-Lima *et al.*, 1986; Forsberg *et al.*, 1993; Benedito-Cecilio *et al.*, 2000; Mortillaro *et al.*, 2015). Apesar das macrófitas aquáticas C<sub>4</sub> serem o grupo de plantas mais produtivo da região, aparentemente pouco contribuem como fonte de carbono para os peixes (Oliveira *et al.*, 2006). Mortillaro *et al.* (2016) sugerem que essa baixa contribuição das macrófitas C<sub>4</sub> para as teias alimentares é devido a sua rápida mineralização no ambiente aquático.

Em lagos de várzea amazônicos, os peixes carnívoros/piscívoros representam cerca de 50% do total das espécies de peixes, enquanto que nos ambientes de águas pretas, as espécies piscívoras são dominantes (Freitas *et al.*, 2010). Durante o período de águas altas a floresta

alagada cria um ambiente que favorece os predadores emboscadores, como o tucunaré, pois proporciona novos habitats e oportunidades para alimentação (Rabelo e Araujo-Lima, 2002). Roach *et al.* (2009) indicaram que o séston, em referência ao fitoplâncton e ao material orgânico suspenso, seria a principal fonte basal para as populações de *C. temensis* do rio Cinaruco nos Llanos venezuelanos.

O tucunaré paca na bacia do rio Negro é uma das espécies com grande importância comercial, a qual gera renda e empregos para o estado do Amazonas, e uma das principais fontes de alimento para as comunidades que vivem nesta bacia (Silva e Begossi, 2009; Thomé-Souza *et al.*, 2014). Assim, sendo necessário o conhecimento das fontes de energia que o sustentam no ambiente aquático. Além disso, a origem e o percentual de contribuição das fontes autotróficas para *C. temensis* na bacia do rio Negro ainda são desconhecidas.

As principais contribuições deste trabalho serão: a identificação e a contribuição das principais fontes autotróficas que sustentam os indivíduos de *C. temensis* em dois tributários no médio rio Negro, bem como verificar se ocorre mudança na posição trófica entre essas populações. Este estudo tem como hipótese que os indivíduos de *C. temensis* apresentam mudanças ontogenéticas na dieta.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Descrever a ecologia trófica de *Cichla temensis*, levando em consideração o seu desenvolvimento ontogênico, em dois tributários no médio rio Negro.

### Objetivos específicos

- ❖ Realizar uma revisão da literatura sobre o uso de isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira;
- ❖ Identificar os itens do conteúdo estomacal de *Cichla temensis*;
- ❖ Verificar se existe relação entre o tamanho dos indivíduos de *C. temensis* com o tamanho das presas;
- ❖ Calcular a amplitude de nicho trófico dos indivíduos de *C. temensis*;
- ❖ Comparar a dieta dos indivíduos de *C. temensis* no médio rio Negro;
- ❖ Determinar as composições isotópicas de  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  de *C. temensis*;
- ❖ Verificar se existe relação entre as assinaturas isotópicas de  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  com o comprimento padrão de *C. temensis*;
- ❖ Comparar as composições isotópicas de  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  de *C. temensis* espacialmente;
- ❖ Verificar se há mudança na posição trófica entre os indivíduos de *C. temensis*;
- ❖ Determinar as principais fontes de carbono para os indivíduos de *C. temensis*;
- ❖ Comparar a amplitude de nicho isotópico entre os indivíduos de *C. temensis*.

## ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação está dividida em dois capítulos que se encontram em formato de artigo científico, um formato conforme as normas da revista *Scientia Amazonia* e o outro conforme as normas da revista *Ecology of Freshwater Fish*. O primeiro capítulo é uma revisão bibliográfica sobre o uso de isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira e o segundo capítulo é sobre ecologia trófica de *Cichla temensis* em dois tributários no médio rio Negro.

## **Capítulo 1**

---

Santos, J. A., Barroco, L. S. A., Siqueira-Souza, F. K., Freitas, C. E. C. 2017. Isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira. *Scientia Amazonia* 6(3): 119-127.

## Isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira

Jamerson Aguiar Santos<sup>1</sup>, Lorenzo Soriano Antonaccio Barroco<sup>2</sup>, Flávia Kelly Siqueira de Souza<sup>3</sup>, Carlos Edwar de Carvalho Freitas<sup>4</sup>

### Resumo

Isótopos estáveis são formas de um mesmo elemento químico que diferem em número de nêutrons no núcleo e que não realizam decaimento radiativo. Os isótopos funcionam como rastreadores da circulação dos elementos químicos na natureza. Assim, são capazes de traçar conexões entre os vários níveis ecológicos do ecossistema. Na Amazônia Brasileira, alguns estudos foram realizados utilizando isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e estrôncio em estudos sobre ecologia trófica, rotas de migração e padrão de movimento de peixes. Tendo em vista o grande potencial de utilização dessa ferramenta em estudos ecológicos este estudo realizou uma revisão bibliográfica sobre o uso de isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e estrôncio em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira.

**Palavras-Chave:** carbono, nitrogênio, estrôncio, ecologia alimentar, padrão de migração

### Abstract

Stable isotopes are forms of the same chemical element that differ in number of neutrons in the nucleus and do not perform radiative decay. They are like as trackers of the circulation of chemical elements in nature. Thus, they are able to chart connections between the various ecological levels of the ecosystem. In the Brazilian Amazon, some studies were carried out using stable isotopes of carbon, nitrogen and strontium in studies on trophic ecology, migration routes and fish movement patterns. Considering the great potential of using this tool in ecological studies this study carried out a bibliographical review on the use of stable isotopes of carbon, nitrogen and strontium in ecological studies with fishes in the Brazilian Amazon.

**Key-words:** carbon, nitrogen, strontium, trophic ecology, migration pattern

### 1. Introdução

Isótopos são espécies atômicas de um mesmo elemento químico que possuem massas atômicas diferentes, mas com mesmo número atômico, ou seja, os isótopos possuem mesmo número de prótons, mas diferente número de nêutrons. Os isótopos são chamados de estáveis por não realizarem decaimento

radioativo (PEREIRA e BENEDITO, 2007; MARTINELLI, et al., 2009).

Comumente são utilizados em estudos ecológicos o <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N e <sup>87</sup>Sr (Tabela 1) (ARAUJO-LIMA et al., 1986; FORSBERG et al., 1993; ZULUAGA-GÓMES et al., 2016; SOUSA et al., 2016) e sua utilização baseia-se na previsibilidade da variação da composição isotópica dos compostos ao passar por

<sup>1</sup>Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Campus II, CEP: 69080-971, Manaus, AM. [jamersonaguiar1@gmail.com](mailto:jamersonaguiar1@gmail.com)

<sup>2</sup>Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, Professor do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Manacapuru, Rua Rio de Janeiro, 57, Cohabam, Centro, CEP: 69400-266, Manacapuru-AM. [lorenzo.barroco@ifam.edu.br](mailto:lorenzo.barroco@ifam.edu.br)

<sup>3</sup>Professora Adjunta na Universidade Federal do Amazonas - Departamento de Ciências Pesqueiras. Av. Gen. Rodrigo Otávio, 3000, CEP: 69077-000, Coroado II, Manaus, Amazonas – Brasil. [flakel.souza@gmail.com](mailto:flakel.souza@gmail.com)

<sup>4</sup>Professor Titular na Universidade Federal do Amazonas - Departamento de Ciências Pesqueiras. Av. Gen. Rodrigo Otávio, 3000, CEP: 69077-000, Coroado II, Manaus, Amazonas – Brasil. [freitasc50@gmail.com](mailto:freitasc50@gmail.com)

processos físico-químicos e/ou biológicos, conforme um elemento se move através dos compartimentos de um ecossistema (PEREIRA e BENEDITO, 2007; MARTINELLI et al., 2009).

Os primeiros trabalhos utilizando isótopos estáveis em estudos ecológicos na Amazônia aconteceram na metade da década de 80 em estudos de cadeias alimentares aquáticas (ARAUJO-LIMA et al., 1986). Desde então, vêm aumentando a utilização destas ferramentas em estudos ecológicos com diversos grupos taxonômicos na Amazônia, (WAICHMAN, 1996; MAGNUSSON et al., 1999; ADIS e VICTORIA 2001; NARDOTO et al., 2011; LARA et al., 2012; CARABALLO et al., 2014; SCHWAMBORN e GIARRIZZO, 2014; CARABALLO e FORSBERG, 2016), principalmente em estudos sobre ecologia trófica, história de vida, migração e origem de peixes (FORSBERG et al., 1993; BENEDITO-CECILIO et al., 2000; MARSHALL et al. 2008; GARCEZ et al., 2014; POUILLY et al., 2014; HEGG et al., 2015; SOUSA et al., 2016; HERMANN et al., 2016; CARVALHO et al., 2017). No entanto, ainda é reduzido o número de estudos com essas ferramentas devido a carência de instituições que realizem este tipo de análise no Brasil, além do elevado custo das análises (MARTINELLI et al., 1988).

Tabela 1. Utilização dos principais isótopos estáveis em estudos ecológicos.

Isótopos	Uso
Carbono	Identificar fontes de energia para consumidores
Nitrogênio	Determinar a posição trófica de consumidores
Estrôncio	Entender migrações e padrões de movimentos de peixes

Baseado na análise de estudos realizados, esta revisão bibliográfica apresenta informações sobre aspectos de alimentação, padrão de movimento e migração de peixes que utilizaram isótopos estáveis como ferramenta de análise na Amazônia Brasileira.

## 2. Metodologia

Para a elaboração do presente artigo, foi realizado um levantamento bibliográfico nos portais de busca: Science Direct ([www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)), Sciverse Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)), Web of Science ([webofknowledge.com](http://webofknowledge.com)) e Wiley Online Library ([onlinelibrary.wiley.com](http://onlinelibrary.wiley.com)). Os dados foram coletados em janeiro e fevereiro de 2017, a partir da consulta das seguintes palavras-chave “trophic level”, “food chain”, “stable isotopes”, “food web”, “stable carbon isotopes”, “flooded forest”, “natal homing”, “Amazon Basin”, “fish movement”, “geochemistry”, “strontium isotope”, “trace elements”, “otolith microchemistry”, “history fish migration”, “otolith fingerprints” e “geographical origin”. Foram considerados os artigos publicados no período compreendido entre 1980 e 2017. Adicionalmente, as referências bibliográficas dos artigos encontrados foram examinadas para verificar se havia mais alguma publicação que não tivesse sido listada pelas bases de dados. Foram encontrados trabalhos com diferentes grupos de organismos mas focamos apenas em trabalhos que utilizaram os peixes como principal grupo taxonômico. Dessa forma, 19 trabalhos foram utilizados nesta revisão bibliográfica.

### 3.1 Isótopos estáveis em estudos sobre alimentação de peixes na Amazônia Brasileira

Os consumidores refletem sua dieta (Martinelli et al., 1988). A utilização de isótopos estáveis de carbono em estudos tróficos permite a identificação das fontes autotróficas de energia para os consumidores. Usando modelos de mistura isotópica é possível determinar a proporção e quais alimentos foram assimilados pelos consumidores (Philips et al., 2014), tendo um enriquecimento médio de 0,8‰ dos isótopos de carbono em cada transferência trófica (DeNiro e Epstein, 1978). Ao longo da cadeia alimentar os consumidores tornam-se enriquecidos em média 3,4‰ em  $^{15}\text{N}$ , desta forma, através da utilização de isótopos

estáveis de nitrogênio é possível determinar a posição trófica de um consumidor na cadeia trófica (Minagawa e Wada, 1984; Post, 2002).

Em um trabalho clássico, ARAUJO-LIMA et al. (1986) abriram mão da abordagem tradicional de análise visual do conteúdo estomacal utilizando como ferramenta os isótopos estáveis de carbono em uma abordagem mais direta. Dessa forma, puderam negar a hipótese de que macrófitas aquáticas são as principais fontes de energia para os peixes detritívoros na Amazônia. Os autores puderam ainda sugerir que a maioria dos peixes consumidos na Amazônia são sustentados pelo fitoplâncton.

Ainda nessa temática, FORSBERG et al. (1993) levaram em conta que as macrófitas aquáticas são responsáveis por 52% da produção primária nas planícies de inundação da Amazônia (JUNK, 1985) e realizaram um estudo mais amplo com a finalidade de testar a hipótese de que a quantidade de carbono absorvida pela comunidade de peixes adultos das planícies de inundação da Amazônia Central derivava dos diferentes grupos de plantas, assim as proporções de carbono assimiladas pelas comunidades de peixes teriam relação com a disponibilidade dos diferentes grupos de plantas no ambiente.

As plantas com vias fotossintéticas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> diferem consideravelmente na razão isotópica de carbono, assim FORSBERG et al. (1993) traçaram a origem do carbono a partir desses dois grupos. Os autores puderam perceber ainda que, apesar de muitos grupos de plantas contribuírem显著emente para produção primária nas planícies de inundação, nem todos grupos eram importantes no balanço de carbono dos peixes adultos. As plantas com vias fotossintéticas C<sub>4</sub> eram responsáveis por mais da metade da produção primária, representando entre 2,5-17% do fluxo de carbono nessas teias alimentares. Enquanto o fitoplâncton, que compõe a menor biomassa entre os produtores primários, representou mais de 36%. Em conjunto, as plantas com via fotossintética C<sub>3</sub> (árvores da floresta inundada, macrófitas C<sub>3</sub>, perifítion e fitoplâncton) representaram 82,4-97,5% do carbono assimilado pelos peixes adultos.

Contudo, os estudos anteriores não levaram em consideração a variação espacial e a sazonal na composição isotópica das plantas e dos peixes. Tais variações poderiam causar erros nas estimativas das fontes de energia para os consumidores. Diante disso, BENEDITO-CECILIO et al. (2000) buscaram recalcular a contribuição relativa das plantas para os peixes considerando as variações espaciais e sazonais e a participação de plantas C<sub>4</sub> como fonte de carbono para a ictiofauna.

Os autores testaram a hipótese de que a produção pesqueira transfere o carbono das plantas para as pessoas na mesma proporção que é disponível nas planícies de inundação do rio Amazonas. Como resultado, apenas duas espécies de peixes mudaram sua razão isotópica sazonalmente e outras duas tiveram mudanças na razão isotópica de carbono espacialmente. A contribuição máxima de carbono oriundo das plantas C<sub>4</sub> foi de 15%, enquanto que o grupo das plantas C<sub>3</sub> contribuíram com mais de 85% para a produção pesqueira. Os autores puderam concluir que não há correlação entre a disponibilidade de carbono no ecossistema e sua transferência para a dieta humana via recursos oriundos da pesca.

OLIVEIRA et al. (2006a) encontraram resultados semelhantes ao estudarem as fontes de energia para o tambaqui em um lago de inundação na Amazônia. Eles viram que os frutos, sementes, material vegetal e zooplâncton foram as principais fontes de energia ingeridas pelo tambaqui, ressaltando a absorção de fontes de energia com via fotossintética C<sub>3</sub>.

Estes estudos corroboram que as principais fontes de carbono para os peixes são os organismos autotróficos com via fotossintética C<sub>3</sub>, apesar de não serem o grupo mais produtivo em áreas de planícies de inundação da amazônia. Diante disso surge uma pergunta: por que as plantas C<sub>4</sub> são pouco aproveitadas como fonte de energia para os peixes?

FORSBERG et al. (1993) sustentaram a hipótese proposta por CASWELL et al. (1973) em que as plantas C<sub>4</sub> são seletivamente evitadas pelos herbívoros devido sua baixa digestibilidade e valor nutricional ao

analisarem dados existentes na literatura. Entretanto, para algumas espécies herbívoras, como *Schizodon fasciatus*, as plantas C<sub>4</sub> foram responsáveis por 65,9% do carbono utilizado como fonte de energia (FORSBERG et al., 1993). MORTILLARO et al. (2015) analisaram as composições isotópicas de carbono e nitrogênio aliado com ácidos graxos para investigar a estrutura trófica e fornecer um melhor entendimento da utilização das fontes de alimento para os peixes nas planícies de inundação da Amazônia. Os autores encontram grandes quantidades de ácidos graxos nas macrófitas C<sub>4</sub>, o que indica o alto valor nutritivo dessas plantas. Dessa forma, sugeriram que as macrófitas C<sub>4</sub> são negligenciadas pelos peixes como fonte de alimento devido sua baixa digestibilidade.

LEITE et al. (2002) acreditavam que o carbono fixado pelas herbáceas aquáticas, especialmente gramíneas C<sub>4</sub> poderiam sustentar a cadeia alimentar das larvas de peixes que utilizavam os bancos de herbáceas aquáticas dos lagos nas planícies de inundação da Amazônia para se refugiar e se alimentar. Assim, estimaram a contribuição das gramíneas C<sub>4</sub> para a produção de larvas de peixes e determinaram a estrutura vertical da teia alimentar usando isótopos estáveis de carbono e nitrogênio. A hipótese foi refutada pelos autores uma vez que as larvas de peixes estudadas eram consumidores primários ou secundários que tinham como principal fonte de energia as plantas C<sub>3</sub>. Embora a contribuição das gramíneas C<sub>4</sub> fosse importante para algumas espécies.

MORTILLARO et al. (2016) intrigados com o fato das teias alimentares das planícies de inundação da Amazônia serem sustentadas por fontes de carbono C<sub>3</sub>, apesar das macrófitas C<sub>4</sub> geralmente produzirem maiores biomassas do que as macrófitas C<sub>3</sub>, realizaram um experimento em microcosmos utilizando ácidos graxos e isótopos estáveis de carbono para investigar o padrão de degradação e o destino do carbono das macrófitas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>. O experimento demonstrou que as macrófitas C<sub>4</sub> são rapidamente mineralizadas, bem como a mistura natural de matéria orgânica particulada com produtores primários empobrecidos em <sup>13</sup>C devem ser

responsáveis pela baixa contribuição das fontes de carbono C<sub>4</sub> para as teias alimentares aquáticas na Amazônia.

Para OLIVEIRA et al. (2006b), a conclusão que o fitoplâncton poderia sustentar toda a pesca na Amazônia ainda não estava clara, pois o fitoplâncton contribui com apenas 2% da produtividade primária nas planícies inundadas da Amazônia (MELACK et al., 1999). Assim, com o objetivo de investigar as fontes primárias de carbono para os peixes com importância comercial em um lago de inundação do rio Amazonas, os autores utilizaram modelos isotópicos de mistura combinado com análises de conteúdo estomacal.

Os resultados indicaram que as plantas C<sub>3</sub> e outra fonte alimentar com composição isotópica similar poderia ser localmente mais importante do que o fitoplâncton para os peixes das planícies de inundação. Assim, os resultados confirmaram a importância da floresta inundada e das macrófitas aquáticas para a manutenção dos estoques pesqueiros nas planícies de inundação. Ainda segundo os autores, as diferenças nos resultados encontrados por eles dos trabalhos que indicavam o fitoplâncton como principal fonte de carbono para os peixes nas planícies de inundação poderiam ser devido ao maior número de amostras utilizadas, a amostragem ter sido realizada em apenas um lago de várzea e a maior precisão do modelo utilizado para estabilizar as estimativas das contribuições relativas das fontes de carbono. Além da utilização em conjunto da análise de conteúdo estomacal que ajudou na interpretação da análise isotópica. Portanto, justificando o uso de uma abordagem conjunta envolvendo isótopos estáveis e análise de conteúdo estomacal.

De outra forma, alguns estudos na Amazônia (SILVA et al., 2005; AZEVEDO-SILVA et al., 2016; MARSHALL et al., 2016) têm utilizado isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio juntamente com a concentração de mercúrio dos peixes para elucidar questões sobre biomagnificação e bioacumulação de mercúrio nas cadeias alimentares aquáticas.

SILVA et al. (2005) buscaram entender melhor os fatores que conduzem as altas

concentrações de mercúrio em peixes piscívoros do que em espécies herbívoras dos lagos nas planícies de inundação do rio Tapajós levando em consideração o período de enchente e cheia. Os resultados demonstraram claramente o fenômeno de biomagnificação, uma vez que as concentrações de mercúrio aumentaram com o enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  nos peixes. Os peixes não piscívoros continham nove vezes menos mercúrio do que os peixes piscívoros. Além disso, há um aumento da biomagnificação do mercúrio no período de enchente. Os resultados de MARSHALL et al. (2016) também mostraram significante biomagnificação de mercúrio entre os níveis tróficos no médio rio Negro.

AZEVEDO-SILVA et al. (2016) utilizaram os isótopos de carbono e nitrogênio e análise de mercúrio para avaliar a estrutura trófica da ictiofauna e a biomagnificação do mercúrio no lago Puruzinho, Amazônia Ocidental, a partir da hipótese de que o mercúrio biomagnifica através da teia alimentar, assim como há importância das espécies de peixes migratórias para a biomagnificação do mercúrio. Os autores concluíram que a ictiofauna do lago Puruzinho é parte de uma curta teia alimentar com três níveis tróficos bem caracterizados e com bioacumulação de mercúrio ao longo da cadeia alimentar. Além disso, os peixes migradores não mudaram significativamente a taxa de bioacumulação do mercúrio nas espécies do lago estudado.

Esses estudos demonstram a ampla utilização dos isótopos estáveis juntamente com outras ferramentas para elucidar questões em estudos de ecologia trófica. Novas abordagens têm sido realizadas utilizando análises de isótopos estáveis com ecomorfologia para explorar as relações entre as diversidades trófica e morfológica de assembleias de peixes. ZULUAGA-GÓMEZ et al. (2016) buscaram compreender as relações funcionais e tróficas entre quatro famílias de peixes (Loricariidae, Serrasalmidae, Anostomidae e Cichlidae) em corredeiras do rio Xingu. As famílias foram separadas baseadas nas características morfológicas associadas com uso do micro-habitat e alimentação. As famílias foram menos

diferenciadas no espaço isotópico do que no espaço morfológico. A diversidade funcional foi maior nos ciclídeos e loricáridos, enquanto que a diversidade trófica foi maior nos serrasalmídeos e loricáridos. De acordo com as estimativas do modelo de mistura usado pelos autores, o fitomicróbios foi a principal fonte de energia para todas as famílias.

### **3.2 Isótopos estáveis em estudos sobre padrão de movimento e migração de peixes na Amazônia Brasileira**

A Bacia Amazônica é geoquimicamente diversa e complexa, características ideais para realização de estudos através de análises da microquímica de estruturas calcificadas em peixes, tais como otólitos, vértebras e escamas, estas estruturas crescem continuamente ao longo da vida dos peixes, representando acumulações sequenciais diárias, sazonais ou anuais de camadas ou anéis de crescimento, as variações geoquímicas presentes nessas estruturas biogênicas são particularmente relevantes para o estudo da história de vida, migração e origem dos peixes (PANFILI et al., 2002).

Em estudo realizado na Bacia do Rio Negro - AM, GARCEZ et al. (2014) efetuaram um estudo correlacional entre a microquímica de otólitos em exemplares jovens de *Cichla temensis* e a composição geológica do leito rochoso regional para explorar mecanismos subjacentes de diferenças na geoquímica de otólitos e identificar as áreas de nascimento dos peixes. Os resultados sugeriram que as diferenças espaciais na geoquímica de otólitos, podem ser usadas para distinguir origens natais com base nas razões Sr/Sr, Sr/Ca e Ba/Ca. Esta abordagem permitiu classificar corretamente 99% dos peixes juvenis em seus tributários natais usando validação cruzada em uma análise de função discriminante linear. Neste estudo foi demonstrado que os padrões da composição isotópica de otólitos, em especial assinaturas de  $\text{Sr}^{87}/\text{Sr}^{86}$ , correspondem com padrões da geologia regional por meio de inferências a mapas geológicos. O resultado contribui para a classificação de microquímica de otólitos como uma valiosa ferramenta

para interpretar movimentos de peixes em sistemas de água preta.

POUILLY et al. (2014) com a finalidade de destacar o uso potencial das assinaturas isotópicas de estrôncio como marcadores geoquímicos precisos de habitats e rotas de migração de peixes, compararam as razões de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em água, otólitos e escamas de duas espécies comerciais oriundas de diferentes locais da bacia Amazônica. Os autores, observaram que as proporções de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  entre os otólitos e escamas dos mesmos indivíduos tinham valores semelhantes e muito próximos da composição isotópica de Sr do rio onde foram capturados. Desta forma os pesquisadores puderam inferir que, durante a absorção biológica e incorporação do Sr em estruturas calcificadas de peixes não há fracionamento isotópico, o que equivale dizer que as escamas se revelam como uma alternativa não letal e eficaz para medições de proporção de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em comparação com otólitos.

O estudo de HEGG et al. (2015), pioneiro na descrição do comportamento migratório de três espécies de bagres populoso e comercialmente importantes: Dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), Piramutaba (*B. vaillantii*) e Piraíba (*B. filamentosum*), amostradas na foz do rio Amazonas e na Amazônia Central. Neste estudo, o local de nascimento (berçário) e as rotas migratórias destes bagres, foram determinados através das assinaturas de isótopos de estrôncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) registradas em seus otólitos, e correlacionadas com dados da química da água disponíveis na literatura, e classificados através de função discriminante.

Os resultados forneceram a primeira reconstrução microquímica de otólitos relatada para movimentos migratórios de espécies do gênero *Brachyplatystoma* na Bacia Amazônica, através dos resultados e com o apoio de alguns dados de pesca, pôde-se constatar que exemplares juvenis podem apresentar diversas estratégias de criação, contrastando com o entendimento predominante de que o estuário é o único berçário e local de crescimento destes bagres (BARTHEM e GOULDING, 1997).

Ainda nesta temática, DUPONCHELLE et al. (2016), considerando o fato de que algumas espécies de peixes precisam utilizar toda a bacia hidrográfica para completar o seu ciclo de vida, decidiram avaliar os impactos das interrupções da conectividade longitudinal do ambiente lótico resultante da construção de represas em bacias hidrográficas na Amazônia. Para isso utilizaram exemplares adultos da Dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), um bagre de grande porte, como espécie modelo, amostrados perto de grandes áreas de reprodução na bacia Amazônica (Alto rios Madeira e Amazonas).

Utilizando microquímica de otólitos para avaliar os movimentos deste bagre ao longo de seu ciclo de vida, através da medição de variações em  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ao longo das seções transversais de seus otólitos por espectrometria de massa com ablação a laser, DUPONCHELLE et al. (2016) conseguiram demonstrar um ciclo de vida migratório aparentemente obrigatório ao longo da bacia para este grande bagre da Amazônia.

Os autores, demonstraram também que as larvas migram do alto para o baixo Amazonas, onde crescem durante um período prolongado antes de migrarem rio acima quando adultos, passando obrigatoriamente pela Amazônia central ou baixa. Porém, nem todos os peixes passaram seus estágios de berçário no estuário amazônico, assim como observado por HEGG et al. (2015). Além disso, foi evidenciado que a maioria dos adultos habitam a sua área geográfica natal na sub-bacia do rio Madeira. Esse mecanismo de "homing" de longa distância ( $> 8000$  km) é excepcional em peixes com ciclo de vida exclusivo a água doce.

HERMANN et al. (2016), empregaram a microquímica de otólitos de forma inovadora para elucidar as migrações de peixes amazônicos. Neste estudo foi aplicada uma abordagem multi-elementar onde foram realizadas análises nos padrões químicos de diversos elementos traço nos otólitos de cinco espécies de peixes amazônicos: duas espécies "sedentárias" (*Arapaima spp.* e *Plagioscion squamosissimus*), um "migrador da planície de inundação" (*Prochilodus nigricans*) e dois

“migradores de longa distância” (*Brachyplatystoma rousseauxii* e *B. filamentosum*).

Neste estudo foram utilizadas duas técnicas em conjunto a ablação a laser de baixa resolução (LA-ICPMS) e a microscopia de fluorescência de raios-X de varredura (SXF). Esta combinação proporcionou a flexibilidade para amostrar muitos elementos simultaneamente. Desta forma, HERMANN *et al.* (2016) identificaram novos marcadores ambientais para estudos sobre a química de otólitos de peixes na Amazônia.

Em estudo mais recente, SOUSA *et al.* (2016) utilizaram a análise da composição microquímica de elementos traço (Sr/Sr, Sr/Ca e Ba/Ca) em otólitos de exemplares adultos de *Cichla temensis* do médio rio Negro, para descrever aspectos do comportamento migratório desta espécie.

Através de funções discriminantes, derivadas de dados de referência de otólitos de exemplares jovens com menos de um ano, conseguiram determinar a origem natal de exemplares adultos, onde, os resultados indicaram que 42% dos adultos amostrados foram coletados na mesma área em que nasceram. Contudo, a variação nos valores dos isótopos  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ao longo do eixo dos otólitos indicou que os movimentos de *C. temensis* tendem a ser mais dinâmicos do que os descritos anteriormente (TAPHORN e BARBARINO-DUQUE, 1993; HOEINGHAUS *et al.*, 2003; MAC-RANDER, 2010).

#### 4. Considerações finais

Apesar do potencial para estudos com isótopos estáveis, ainda são poucos os estudos realizados com essas ferramentas na Amazônia. E sua disseminação pode contribuir para o entendimento de como as comunidades aquáticas estão estruturadas tróficamente, assim como a cerca de suas rotas migradoras e padrões de movimentos dos peixes.

#### Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ao Programa de Pós-Graduação em

Biologia de Água Doce e Pesca Interior e a Universidade Federal do Amazonas pelo apoio institucional. Ao CNPq pela bolsa de pós-graduação concedida ao primeiro autor.

#### Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista Scientia Amazonia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

#### Referências

- ADIS, J., VICTORIA, R. L. C<sub>3</sub> or C<sub>4</sub> macrophytes: a specific carbon source for the development pf semi aquatic and terrestrial arthropods in Central Amazonian River-Floodplains according to  $\delta^{13}\text{C}$  values. **Isotopes in Environmental and Health Studies**, v. 37, n. 3, p. 193-198, 2001.
- 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.
- AZEVÉDO-SILVA, C. E., ALMEIDA, R., CARVALHO, D. P., OMETTO, J. P. H. B., CAMARGO, P. B., DORNELES, P. R., AZEREDO, A., BASTOS, W. R., MALM, O., TORRES, J. P. M. Mercury biomagnification and the trophic structure of the ichthyofauna from a remote lake in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 151, p. 286-296, 2016.
- BARTHEM, R. E; GOULDING, M. **Os bagres balizadores:** ecologia, migração e conservação de peixes amazônicos. Brasília: CNPq, 1997. 140 p.
- BENETIDO-CECILIO, E. ARAUJO-LIMA, C. A. R. M., FORSBERG, B. R., BITTENCOURT, M. M., MARTINELLI, L. C. Carbon sources of Amazonian fisheries. **Fisheries Management and Ecology**, v. 7, p. 305-315, 2000.
- CARABALLO, P., FORSBERG, B. Abundance and isotopic composition of planktonic micro crustaceans in a Central Amazon floodplain lake: implications for the trophic dynamics of the plankton community. **Limnología**, v. 38, n. 1, p. 149-164, 2016.
- CARABALLO, P., FORSBERG, B. R., LEITE, R. G. Seasonal variation in the distribution and isotopic

- composition of phytoplankton in an Amazon floodplain lake, Brazil. **Acta Biológica Colombiana**, v. 19, n. 2, p. 291-303, 2014.
- CARVALHO, F., POWER, M., FORSBERG, B. R., CASTELLO, L., MARTINS, E., FREITAS, C. E. C. Trophic ecology of *Arapaima* sp. in a ria lake-river-floodplain transition zone of the Amazon. **Ecology of Freshwater Fish**, v.00, p. 1-10, 2017.
- CASWELL, H., REED F., STEPHENSON S. N., WERNER, P. A. Photosynthetic pathways and selective herbivory: a hypothesis. **American Naturalist**, v. 107, p. 465-480, 1973.
- 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.
- DUPONCHELLE, F., POUILLY, M., PÉCHEYRAN, C., HAUSER, M., RENNO, J., PANFILI, J., DARNAUDE, A. M., VASQUEZ, A. G., VALLEJOS, F. C., DÁVILA, C. G., DORIA, C., BÉRAIL, S., DONARD, A., SONDAG, F., SANTOS, R. V., NUÑEZ, J., POINT, D., LABONNE, M., BARAS, E. In press. Trans-Amazonian natal homing in giant catfish. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, n. 5, p. 1511-1520, 2016. (doi:10.1111/1365-2664.12665)
- 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.
- GARCEZ, R. C. S., HUMSTON, R., HARBOR, D., FREITAS, C. E. C. Otolith geochemistry in young-of-the-year peacock bass *Cichla temensis* for investigating natal dispersal in the Rio Negro (Amazon – Brazil) river system. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 24, n. 2, p. 242-252, 2014.
- HEGG, J. C., GIARRIZZO, T., KENNEDY, B. P. Diverse early life-history strategies in migratory Amazonian catfish: implications for conservation and management. **Plos One**, v. 10, n. 7, p. 1-19, 2015.
- HERMANN T. W., STEWART D. J., LIMBURG K. E., CASTELLO L. Unravelling the life history of Amazonian fishes through otolith microchemistry. **Royal Society Open Science**, v. 3 n. 6, p. 1-16, 2016. (doi: 10.1098/rsos.160206)
- HOEINGHAUS, D. J., LAYMAN, C. A., ARRINGTON, D. A., WINEMILLER, K. O. Movement of *Cicha* species (Cichlidae) in a Venezuelan floodplain river. **Neotropical Ichthyology** v. 1, p. 121–126, 2003.
- JUNK, W. J. The Amazon floodplain – a sink or source for organic carbon? **Transport of Carbon and Minerals in Major World Rivers**, 58 (PART 3), p. 267-283, 1985.
- LARA, N. R. F., MARQUES, T. S., MONTELO, K. M., ATAÍDES, A. G., VERDADE, L. M., MALVÁSIO, A., CAMARGO, P. B. A trophic study of the sympatric Amazonian freshwater turtles *Podocnemis unifilis* and *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemidae) using carbon and nitrogen stable isotope analyses. **Can. J. Zool.** v. 90, p. 1394-1401, 2012.
- LEITE, R. G., ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M., VICTORIA, R. L., MARTINELLI, L. A. Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 11, p. 56-63, 2002.
- MAC-RANDER, J. C. Microsatellite development, population structure and demographic histories for two species of Amazonian peacock bass *Cichla temensis* and *Cichla monoculus* (perciformes: cichlidae). MSc Thesis, Lincoln: University of Nebraska, 2010. 80 p.
- MAGNUSSON, W. E., ARAÚJO, M. C., CINTRA, R., LIMA, A. P., MARTINELLI, L. A., SANIOTTI, T. M., VASCONCELOS, H. L., VICTORIA, R. L. Contributions of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants to higher trophic levels in an Amazonian savanna. **Oecologia**, v. 119, p. 91-96, 1999.
- MARSHALL, B. G., FORSBERG, B. R., THOMÉ-SOUZA, M. J. F. Autotrophic energy sources for *Paracheirodon axelrodi* (Osteichthyes, Characidae) in the middle Negro River, Central Amazon, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 596, p. 95-103, 2008.
- MARSHALL, B. G., FORSBERG, B. R., THOMÉ-SOUZA, M., PELEJA, R., MOREIRA, M. Z., FREITAS, C. E. C. Evidence of Mercury biomagnification in the food chain of the cardinal tetra *Paracheirodon axelrodi* (Osteichthyes: Characidae) in the Rio Negro, central Amazon, Brazil. **Journal of Fish Biology**, v. 89, p. 220-240, 2016.
- MARTINELLI, L. A., VICTORIA, R. L., MATSUI, E. FORSBERG, B. R., MOZETO, A. A. Utilização das variações naturais de δ<sup>13</sup>C no estudo de cadeias alimentares rem ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. **Acta Limnol. Brasil.** v. 11, p. 859-882, 1988.
- MARTINELLI, L. A., OMETTO, J. P. H. B., FERRAZ, E. S., VICTORIA, R. L., CAMARGO, P. B., MOREIRA, M. Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo: Oficina de Textos, 2009. 144 p.
- MELACK J. M., FORSBERG B. R., VICTORIA R. L. & RICHEY J. E. Biogeochemistry of Amazon floodplain lakes and associated wetlands. In: M. McClain, R. Victoria & J. Richey (Eds). **The Biogeochemistry of the Amazon Basin and its Role in a Changing World**. Oxford: Oxford University Press, 1999. 50 p.

- MINAGAWA, M., WADA, E. Stepwise enrichment of  $\delta^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 48, n. 5, p. 1135-1140, 1884.
- MORTILLARO, J. M., PASSARELLI, C., ABRIL, G., HUBAS, C., ALBERIC, P., ARTIGAS, L. F., BENEDETTI, M. F., THINEY, N., MOREIRA-TURCQ, P., PEREZ, M. A. P., VIDAL, L. O., MEZIANE, T. The fate of C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub> macrophyte carbon in central Amazon floodplain waters: insights from a batch experiment. **Limnologica**, v. 59, p. 90-98, 2016.
- MORTILLARO, J. M., POUILLY, M., WACH, M., FREITAS, C. E. C., ABRIL, G., MEZIANE, T. Trophic opportunism of central Amazon floodplain fish. **Freshwater Biology**, v. 60, n. 6, 2015.
- NARDOTO, G. B., MURRIETA, R. S. S., PRATES, L. E. G., ADAMS, C., GARAVELLO, M. E. P. E., SCHOR, T., MORAES, A., RINALDI, F. D., GRAGNANI, J. G., MOURA, E. A. F., DUARTE-NETO, P. J., MARTINELLI, L. A. Frozen Chicken for Wild Fish: Nutritional Transition in the Brazilian Amazon Region Determined by Carbon and Nitrogen Stable Isotope Ratios in Fingernails. **American Journal of Human Biology**, v. 23, p. 642-650, 2011.
- OLIVEIRA, A. C. B., MARTINELLI, L. A., MOREIRIA, M. Z., SOARES, M. G. M., CYRINO, J. E. P. Seasonality of energy sources of *Colossoma macropomum* in a floodplain lake in the Amazon – lake Camaleão, Amazonas, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v. 13, p. 135-142, 2006a.
- OLIVEIRA, A. C. B., SOARES, M. G., MARTINALLI, L. A. & MORREIRA, M. Z. Carbon Sources of fish in an Amazonian floodplain lake. **Aquatic Sci.** v. 68, p. 229-238, 2006b.
- PANFILI, J., DE PONTUAL, H., TROADEC, H., WRIGHT, P. J. **Manual of Fish Sclerochronology**; Coédition Ifremer-IRD: Marseille, France. 2002. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00017/12801/>.
- PEREIRA, A. L., BENEDITO, E. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. **Rev. Biocien.** v. 13, n. 1-2, p. 16-27, 2007.
- POST, D. M. Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. **Ecology**, v. 83, n. 3, p. 703-718, 2002.
- POUILLY, M., POINT, D., SONDAG, F., HENRY, M., SANTOS, R. Geographical origin of Amazonian freshwater fishes fingerprinted by  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ratios on fish otoliths and scales. **Environmental Science & Technology**, v. 48, p. 8980-8987, 2014.
- SCHWAMBORN, R., and GIARRIZZO, T. Stable isotope discrimination by consumers in a tropical mangrove food web: how important are variations in C/N ratio? **Estuaries and Coasts**, v. 38, n. 3, p. 813-825, 2014.
- SILVA, D. S., LUCOTTE, M., ROULET, M., POIRIER, H., MERGLER, D., SANTOS, E. O., CROSSA, M. Trophic structure and bioaccumulation of mercury in fish of three natural lakes of the Brazilian Amazon. **Water, air, and Pollution**, v. 165, p. 77-94, 2005.
- SOUZA, R. G. C., HUMSTON, R., FREITAS, C. E. C. Movement patterns of adult peacock bass *Cichla temensis* between tributaries of the middle Negro River basin (Amazonas – Brazil): an otolith geochemical analysis. **Fisheries Management and Ecology**, v. 23, p. 76-87, 2016.
- TAPHORN, D.C.; BARBARINO-DUQUE, A. Evaluacion de la situación actual de los pavones, *Cichla* spp., en el Parque Nacional Capanaparo-Cinaruco, Estado Apure, Venezuela. **Natura**, v. 96, p. 10-25, 1993.
- WAICHMAN, A. V. Autotrophic carbon sources for heterotrophic bacterioplankton in a floodplain lake of Central Amazon. **Hydrobiologia**, v. 341, p. 27-36, 1996.
- ZULUAGA-GÓMEZ, M. A., FITZGERALD, D. B., GIARRIZZO, T., WINEMILLER, K. O. Morphologic and trophic diversity of fish assemblages in rapids of the Xingu River, a major Amazon tributary and region of endemism. **Environ. Biol. Fish.**, v. 99, n. 8, p. 647-658, 2016.

## **Capítulo 2**

---

Santos, J. A., deHart, P. A. P., Pouilly, M., Freitas, C. E. C., Siqueira-Souza, F. K. Trophic ecology of speckled peacock bass *Cichla temensis* Humboldt 1821 in the middle Negro River, Amazon, Brazil. Manuscrito submetido para *Ecology of Freshwater Fish*.

## Trophic ecology of speckled peacock bass *Cichla temensis* Humboldt 1821 in the middle Negro River, Amazon, Brazil

Jamerson Aguiar Santos<sup>1, &</sup>, Pieter A. P. deHart<sup>2</sup>, Marc Pouilly<sup>3</sup>, Carlos E. C. Freitas<sup>4</sup>, Flávia K. Siqueira-Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Freshwater Biology and Inland Fisheries, National Institute of Amazonian Research, Manaus, Brazil

<sup>2</sup> School of Environmental Citizenship, Unity College. 90 Quaker Hill Road, Unity, Maine, USA 04988

<sup>3</sup> Institut de Recherche pour le Développement - UMR Boreal- Biologie des Organismes et des Ecosystèmes Aquatiques (MNHN, CNRS, IRD, UPMC), Paris, France

<sup>4</sup> Department of Fishery Sciences, Federal University of Amazonas, Manaus, Brazil

& Corresponding Author

J. A. Santos, Freshwater Biology and Inland Fisheries, National Institute of Amazonian Research, Brazil. email: [jamersonaguiar1@gmail.com](mailto:jamersonaguiar1@gmail.com)

Running title: Feeding ecology of speckled peacock bass

### ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the trophic ecology of speckled peacock bass *Cichla temensis* inhabiting two tributaries of the middle Negro River, the Aracá River and the Demeni River. Using an analysis of stomach contents and stable isotope composition ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) of scales, we describe the diet and evaluate the trophic position of subadult and adult individuals. We then test whether diet shifts and trophic positions occurred among successive size classes and among sample locations. The stomach contents analysis confirmed the piscivorous feeding habit of the species and showed that the speckled peacock bass preyed on a variety species belonging to different trophic guilds. The length of the ingested prey increased with the size of the speckled peacock bass. Diet composition and trophic position were not different among size classes.  $\delta^{13}\text{C}$  values yielded significant shifts among the size classes: larger individuals displayed higher  $\delta^{13}\text{C}$  values than smaller individuals. Trophic position varied between locations, with lowest values observed in fish from the Aracá River. This study demonstrated

that diet of *C. temensis* may vary according to the size of the fish, even at the subadult or adult stages, and according to the river/locality, even within a same basin. We then suggest that further studies take into account local availability of food resources in order to better explore *C. temensis* diet and tropic ecology.

**Keywords:** diet shift; piscivory; stable isotopes; niche width; trophic position; carbon sources

## INTRODUCTION

The speckled peacock bass *Cichla temensis* Humboldt, 1821 is distributed in the Negro and Orinoco River drainages in Brazil, Colombia and Venezuela. In addition, it also colonizes the black water tributaries of the Solimões-Amazonas River (Kullander & Ferreira, 2006). It is one of the most important fishery resources of Negro River basin (Inomata & Freitas, 2015). The speckled peacock bass *C. temensis* is a large (reaching 99 cm; IGFA, 2001) diurnal piscivore (Jepsen et al., 1997), occupying the deeper littoral areas in lakes and along sandy and rocky banks in the main channel of rivers (Winemiller et al., 1997). Adult *C. temensis* feed preferentially on small fish that colonize these shallow areas, looking for feeding and refuge. Due to its protruding jaws, it can swallow large whole prey (Winemiller et al., 1997). The peacock bass possesses an advanced swimming capacity that allows them to conduct sudden swimming starts from a resting state, making it efficient hunter. It is usually captured by ambush or stalking (Brejão et al., 2013).

In the Negro River basin, *C. temensis* is exploited by subsistence, commercial and recreational fisheries (Freitas & Rivas, 2006). Given the low populational density, subsistence and commercial fisheries are of low intensity. Then the dominant type of capture is the recreational fishery following a catch-and-release attitude producing a low mortality rates (Barroco et al., 2017). However, even modest exploitation rates can reduce the abundance of large speckled peacock bass in this region (Holley et al., 2008). Due to the important role of these predatory fishes in the maintenance and regulation of fish diversity (Freitas et al., 2010; Petry et al., 2010) speckled peacock bass reduction may produce deleterious effects on the fish assemblage.

The feeding habits of *C. temensis* in the Negro River basin in Brazil are still weakly described. In the llanos Venezuelans, this species consumes mainly Characiformes fishes and adapt their diet to prey abundance (Jepsen et al., 1997; Winemiller et al., 1997). Some studies carried out on other species of the Genus *Cichla* in natural environments of the Amazon basin

(Mérona & Rankin-de-Mérona, 2004; Oliveira et al., 2006; Rabelo & Araújo-Lima, 2002), provided evidence for ontogenetic and seasonal shifts in diet. In Brazil, most of the studies on the trophic ecology of the peacock bass species have been conducted in dammed environments, where speckled peacock bass are known to be important and prolific predators (Gomiero & Braga, 2004; Novaes et al., 2004).

Studies on the trophic ecology of fish can help to understand the trophic organization of the aquatic ecosystem, providing information about the energy flow, availability of food items, diet and feeding behavior of the species (Costa & Freitas, 2013; Prudente et al., 2016). Stomach content analysis (SCA) is a common method for dietary analysis. It provides information on food item that has recently been ingested, requiring continuous and standardized sampling protocols over time to capture seasonal, spatial or ontogenetic shifts in the diet (Baker et al., 2014). SCA, could be usefully completed by Stable isotope analysis (SIA) in order to describe and interpret fish feeding ecology (Carreon-Martinez et al., 2011). SIA has proven to be an efficient tool for the identification of energy sources and the estimation of trophic position. It also presents the advantage to characterize food items that are assimilated (and not only ingested) by the consumers during a longer period of time (Post, 2002).

The use of stable isotopes is based on the assumption that the consumer isotopically reflects its diet (Fry, 2006). Carbon isotope values ( $\delta^{13}\text{C}$ ) are generally used to identify energy sources due to the small fractionation rate ( $\sim +0.5\text{-}1.0\text{\textperthousand}$ ) of carbon isotopes between consumers and their diets, conducting to a relative stability of  $\delta^{13}\text{C}$  along the food chain (McCutchan et al., 2003). Nitrogen isotope values ( $\delta^{15}\text{N}$ ) are used as a proxy of trophic position because, due to a higher fractionation process, they varied from one trophic level to another ( $\sim +2.5\text{-}3.5\text{\textperthousand}$  between a consumer and its prey) all along the trophic chain (Vanderklift & Ponsard, 2003). Thus, the understanding of the trophic relationships is reinforced through the complementary use of SCA and SIA. By combining the use of both these methods, it is possible to obtain a comprehensive view of the trophic ecology and to perceive shifts in the diet of the species according to different spatial, temporal or physiological parameters.

Fishes often present ontogenetic shifts in the diet because they undergo modifications in the morphological structures in relation to the growth of individuals (Bozza & Hahn, 2010). Also, these changes in diet could be a result of changes in the body size during sub-adult or adult phases. Prey switching behavior is known to occur in many species and could be related to ontogenetic or individual size changes, but also could be related to the abundance of prey species, which may be opportunistically used by predators exploiting the diversity of resources as they are available in the environment (Winemiller, 1989). Therefore, the aim of this study

was to analyze to the trophic ecology of speckled peacock bass *C. temensis* inhabiting two tributaries of the middle Negro River. Specifically, we test two hypothesis of 1) diet shifts through an assessment of diet composition and stable isotopic ratios of carbon and nitrogen according to fish size class; and 2) variation of diet composition and trophic positions among sample locations, which could be related to environmental characteristics and type of available prey.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area

This study was conducted in two tributaries on the left bank of the middle Negro River: Demini River and the Aracá River. Both these rivers are located near the city of Barcelos (Amazonas, Brazilian Amazon) (Figure 1). The Demini River is a clear water river with low sediment load, which can turn muddy during the rainy season due to the increase of suspended material (Sioli, 1984). It has low conductivity ( $\sim 10.0 \mu\text{S}/\text{cm}^2$ ), and pH values ranging among slightly acid to alkaline ( $\sim 6.0$ ). The Aracá River is a black water river with a low concentration of dissolved salts and suspended material (conductivity  $\sim 15.0 \mu\text{S}/\text{cm}^2$ ), low pH ( $< 5.0$ ), and high concentrations of humic and organic acids suspended into the water (Küchler et al., 2000).

### Sampling

Sampling was performed over a five-day period in April 2016, during the rising water season (License number 22121-1 SISBIO/IBAMA/MMA). The samplings were done in the main river channel and adjacent bays (Figure 1) and *C. temensis* specimens were caught with fishing rod and artificial bait. After capture, the fish were euthanized through hypothermic treatment in an isothermal box with water and ice. Once the fish died, it was measured (standard length, cm), employing an ictiometer, and stomach and scales from the area below and above the lateral line were extracted. Stomach samples were numbered, fixed in 10% formalin and stored in plastic bags. Scale samples were stored in glass scintillation vials and placed in a freezer where they were kept until processing. Scales, rather than muscle, were utilized for our sampling due to the established close relationship between the isotopic composition of scale and muscle tissue (Satterfield & Finney, 2002), their ease of collection and storage, and long-term isotopic stability in preservation.

Potential prey of *C. temensis* were captured with gillnets (2 m height × 15 m long, mesh sizes of 30 to 120 mm). Gillnets were left fishing for 4 h in the morning (05:00-09:00 hours) and 4 h in the evening (17:00-21:00 hours). We collected fishes of four trophic groups to represent the fish assemblage. Detritivore: *Curimata vittata*, *Curimata roseni*, *Psectrogaster amazonica*, *Cyphocharax leucostictus*; Herbivore: *Hemiodus unimaculatus*; Omnivore: *Hemiodus immaculatus*, *Argoneutes longiceps*, *Serrasalmus serrulatus*, *Triportheus albus*; Carnivore: *Tetragonopterus argenteus*, *Serrasalmus robertsoni*, *Serrasalmus eigenmanni* (Goulding et al., 1988; Mérona & Rankin-de-Mérona, 2004). The fish were rapidly stunned and sacrificed immediately after capture to minimize suffering. Scales of the prey fish were sampled as described above.

The isotopic values of the main autotrophic sources from region (Marshall et al., 2008): emergent and submerged aquatic herbaceous, tree/shrub leaves, epiphytic and metaphytic algae were obtained from available data in Marshall (2010) for the middle Negro River region. These are the dominant autotrophic sources present in this region and these data were employed to provide values for the baseline of the trophic chain of *C. temensis*.

Individuals of *C. temensis* were separated into three size classes for analysis: <31, 31-39.9, >40 cm SL. The class of fish at <31 cm are assumed to be fast growing young individuals, the class of fish 31-39.9 cm are intermediate size individuals with a decelerating growth rate, and the class of fish at >40 cm are the largest individuals with smallest growth rate. These class divisions were determined according to the length-growth curve for *C. temensis* estimated for the middle Negro River region (Campos et al., 2015). The first division that roughly corresponds to the literature, established length at first maturation, is 34.0 cm with captivity data (Fontenele, 1950) and 31.1 cm with wild fish data (Campos et al., 2015).

## Data analysis

### Stomach Content Analysis (SCA)

The diet of individuals was determined through stomach content analysis. The content present in each stomach was placed in a Petri dish and analyzed under stereomicroscope to identify the food items to the lowest possible taxonomic level. Any fully or partially digested prey was excluded from analyses. Whenever possible, we obtained the standard length of prey. The Alimentary Index (IAi), derived from volumetric and frequency of occurrence indices (Hynes, 1950; Hyslop, 1980), was employed to identify the importance of each prey item on the *C. temensis* diet (Kawakami & Vazzoler, 1980) through the formula:  $IAi = Fi * Vi / \Sigma (Fi * Vi)$

$Vi$ ); where IA $i$  = Alimentary Index,  $i$  = food item,  $Fi$  = frequency of occurrence (%) of  $i$  food item,  $Vi$  = volume relative (%) of  $i$  food item.

Trophic niche breadth of each size class was estimated using volume data through Levin's standardized index (Hurlbert, 1978; Krebs, 1999):  $B_A = (B - 1)/(n - 1)$ , where  $B_A$  is the Levin's standardized index by the number items ( $n$ ) and  $B = 1/(\sum_{i=1}^n pi^2)$ , where  $B$  = trophic niche breadth,  $pi$  is the proportion of the item  $i$  in the diet and  $n$  is the number of food items. Food items, which were not identifiable, were not included in analysis (Pouilly et al., 2004). This index ranges from 0 to 1, that is, the closer the value is to 1 the individuals consume equally on all the resources available and the closer to 0 the individuals consume only on one type of resource (Krebs, 1999). Trophic niche breadth was considered accord to the following value ranges: low (0 – 0.39), intermediate (0.4 – 0.6) or high (0.61 -1) (Corrêa et al., 2011).

The relationship between *C. temensis* size and the size of its prey was evaluated using the Pearson correlation, utilizing standard length (cm) of prey and standard length (cm) of *C. temensis*.

To test the null hypothesis of similarity of diet composition (absence-presence data) between size classes was tested through of a Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) on an array of dissimilarity of Jaccard (Anderson, 2001).

All values were evaluated using a significance level of  $\alpha < 0.05$  and all statistical analyses were performed using the software R (R Core Team, 2017) with SPecies Association Analysis (spaa) package (Zhang, 2016) for Levin's standardized index, and vegan package (Oksanen et al., 2017) for PERMANOVA.

### Stable Isotopes Analysis (SIA)

The scales of all the individuals captured were dried in an oven at 50° C for 24 hours. Following desiccation all scales were stored in 3.55 mL glass vials for transport to the Unity College Stable Isotope Ecology Laboratory (Unity, USA) for isotopic analysis. In the laboratory, all samples were cleaned using double-distilled water and freeze-dried prior to subsampling procedure. Each sample was then ground and homogenized using a glass mortar and pestle. In order to obtain values for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $1.0 \pm 0.2$  mg of this material was then subsampled into tin capsules (Costech 5 × 9 mm) using a Sartorius CPA2P microbalance.

All capsules were filled using clean micro-spatulas or forceps, folded and sealed using clean forceps, and stored in a desiccator cabinet to ensure sample stability for transport and later isotope analysis. C and N isotopic composition was analyzed at the Central Appalachians Stable

Isotope Facility in Frostburg, Maryland (USA) using a Carlo Erba NC2500 elemental analyzer interfaced with a Thermo Delta V+ isotope ratio mass spectrometer.

Stable isotope ratios were expressed as  $\delta^{13}\text{C}$  or  $\delta^{15}\text{N} = ((R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1) \times 1000$  where  $R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}$  are the ratios of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ . Data were expressed using delta notation ( $\delta$ ) in parts per thousand (‰) with the reference material for  $\delta^{13}\text{C}$  being Vienna PeeDee Belemnite and as atmospheric air as reference for  $\delta^{15}\text{N}$ . Measurement precision was estimated at  $\pm 0.11\text{‰}$  and  $\pm 0.12\text{‰}$  for  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ , respectively. Lipid corrections of  $\delta^{13}\text{C}$  values were not considered appropriate because all fish samples displayed C/N ratios  $<3.5$  (Post et al., 2007).

Aiming to test the hypothesis that differences in the isotopic signatures by sampling sites, two Analyses of Covariance (ANCOVA) (Zar, 2010) were performed using  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  as response variables. Sampling sites was the factor with three levels: Aracá River, Demeni River, and below the confluence of the Aracá and Demeni River stretches and the standard length was employed as a covariate, since body size could be related to trophic position (represented by  $\delta^{15}\text{N}$ ), and dominant autotrophic source represented by  $\delta^{13}\text{C}$ .

Nitrogen isotopic signatures were used to estimate trophic positions (TP) of all individuals of *C. temensis* according to the following equation:  $TP = [2 + (\delta^{15}\text{N}_{\text{consumer}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{reference}}) / 2.3\text{‰}]$ , where 2 is the trophic level of the organism used to estimate  $\delta^{15}\text{N}_{\text{reference}}$ . The  $\delta^{15}\text{N}_{\text{reference}}$  was estimated using the mean  $\delta^{15}\text{N}$  of the detritivore species *C. vittata* and applying a trophic fractionation value of 2.3 ‰ (Molina et al., 2011; Post, 2002). A two-way Analysis of Variance was performed to compare the TP of *C. temensis* among size classes and sampling sites. Assumptions of normality and homoscedasticity were tested using the Shapiro-Wilk and Levene test, respectively.

The isotopic niche of each size class was quantified based on standard ellipse areas estimation (SEA) expressed in ‰<sup>2</sup>. This approach has been proven to be a useful measure of niche width (Bearhop et al. 2004). The standard ellipse areas were corrected for small sample size (SEAc) for estimating the isotopic niche of the young and adult individuals (Jackson et al., 2012). The Bayesian standard ellipse areas (SEA<sub>b</sub>) were generated with bootstrapping data (n = 10000) to test for significant differences among size classes isotopic niche breadth by comparing their confidence intervals, using the R-package Stable Isotope Bayesian Ellipses (Jackson et al., 2011)

## RESULTS

### Diet composition

In total, 52 specimens of *C. temensis* were sampled (Table 1). Standard length and weight of speckled peacock bass varied from 10 to 50.5 cm and from 18 to 2,890 g, respectively. Eight of the analyzed stomachs were empty, given a total of 15, 19 and 10 studied stomachs for the size classes <31, 31-39.9 and >40, respectively.

Due to the advanced stage of digestion, some items could not be identified to a specific taxon. Overall, it was possible to identify 12 different food items in the diet of *C. temensis*, represented mainly for fishes, and a little amount of vegetal fragments. The prey fishes were organized in six orders, eight families, and eight species of fishes. Only one item was able to be identified to the family level, with three items identified to the subfamily level.

Alimentary Index (IAi) indicated that *C. temensis* present a highly specialized diet based on prey fish consumption (>98%, Table 2). Other food items (IAi < 2-3%) only correspond to vegetal fragments. No detritus or invertebrates rests were found. Among the fish prey identified in the stomach, *Lycengraulis* spp., Cichlasomatinae and Geophaginae were exclusive in the diet of smaller individuals and *Osteoglossum* spp. and *Pimelodus albofasciatus* were exclusive to the diet of larger individuals (Table 2). Prey size analysis showed a positive correlation with speckled peacock bass length ( $n=9$ ,  $p < 0.05$ ; Figure 2), indicating that prey size increased with predator size.

The diet composition of *C. temensis* did not show statistical difference by size class (PERMANOVA: Pseudo-F = 0.727; df = 2, 10; p = 0.76). Thus, it was not possible to reject the null hypothesis that the diet compositions of individuals of the size classes of *C. temensis* are the same although there were exclusive prey species in each size class.

In general, niche breadth values were considered low and dependent of the size class of *C. temensis* (Table 2). In this way, the largest individuals presented the lowest values ( $B_A = 0.2$ ), while individuals in the <31 cm and 31-39 cm size ranges showed closest values of  $B_A$  at 0.34 and 0.36, respectively.

## Stable Isotopes Analysis

*Cichla temensis*  $\delta^{13}\text{C}$  values ranged from -31.31 to -26.9‰ and the  $\delta^{15}\text{N}$  values ranged from 10.44 to 12.64‰ (Table 3). One individual was removed from data analysis because it was considered an outlier and displayed values outside the expected range for this species ( $\delta^{13}\text{C} = -26.20\text{\textperthousand}$  and  $\delta^{15}\text{N} = 14.03\text{\textperthousand}$ ). Individuals of the size class >40 cm appeared more related to prey more enriched in  $^{13}\text{C}$  than individuals of small and intermediate size.

The isotope signatures of trophic groups ranged from  $\delta^{13}\text{C}$ : -33.44 to -23.02‰,  $\delta^{15}\text{N}$ : 7.36 to 8.68‰ for herbivore fish, from -36.21 to -29.29‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ : 7.17 to 10.44‰ for detritivore fish, from -35.59 to -25.08‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ : 8.39 to 10.92‰ for omnivore fish and from -30.65 to -25.82‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ : 9.25 to 14.18‰ for carnivore fish (Table 4).

Individuals of the size class <31 and 31-39.9 cm seem to consume detritivore fish while larger individuals are preying on carnivore fish and herbivore fish. Omnivorous fish are being prey on by all speckled peacock bass. It is possible that *C. temensis* consumes a variety of prey fish from different trophic groups. *C. temensis* seems to be dependent on a food chain a mixture of basal energy sources, with the exception of submerged herbaceous plants (Figure 3).

There was a significant relationship between  $\delta^{13}\text{C}$  and standard length for all environments (ANCOVA:  $F=17.388$ ;  $df = 1, 47$ ;  $p < 0.05$ , Figure 4a), but there are no differences in the slope and intercept of the regressions by sampling site (ANCOVA:  $F=1.58$ ;  $df = 2, 47$ ;  $p > 0.05$ ; Figure 4a). Standard length and  $\delta^{15}\text{N}$  were not related (ANCOVA:  $F=1.444$ ;  $df = 1, 47$ ;  $p > 0.05$ ) but there were differences in the intercept by locality (ANCOVA:  $F=10.857$ ;  $df = 1, 47$ ;  $p < 0.05$ , Figure 4b).

The data follow a normal distribution (SHAPIRO-WILK:  $W=0.959$ ;  $p=0.076$ ) and the variances are homogeneous for the factors of size class (LEVENE:  $F = 0.6977$ ;  $df = 2, 48$ ;  $p = 0.5027$ ) and sampling sites (LEVENE:  $F = 3.0811$ ;  $df = 2, 48$ ;  $p = 0.055$ ). A two-way Analysis of Variance yielded no significant differences in the trophic position between size class (ANOVA:  $F = 3.066$ ;  $df = 2, 42$ ;  $p = 0.057$ ) or for the interaction between ontogeny and locality (ANOVA:  $F= 1.249$ ;  $df = 4, 42$ ;  $p = 0.305$ ). Differences were observed in the trophic position by locality (ANOVA:  $F = 9.374$ ;  $df = 2, 42$ ;  $p = 0.0004$ ) with *C. temensis* from Aracá River displaying a lower trophic position than *C. temensis* from the Demeni River and Confluence region (Figure 5).

The analysis of the isotopic niche breadth based on  $\text{SEA}_b$  showed that there is no significant difference in the area of the standard ellipse size classes of speckled peacock bass

( $p>0.05$ ; Figure 6). The isotopic niche breadth, according to the SEAc estimations were  $1.83\text{‰}^2$ ,  $2.11\text{‰}^2$  and  $0.72\text{‰}^2$  for <31, 31-39.9 and >40 cm individuals, respectively. The Bayesian approach used in SIAR indicated an overlap of 100% between the ellipse areas of <31 and 31-39.9 cm individuals, an overlap of just 6.5% between <31 and >40 cm individuals, and an overlap of 34% between 30-39.9 and >40 cm individuals.

## DISCUSSION

Although the stocks of peacock bass are exploited by commercial, subsistence and recreational fisheries in the Amazon basin, few studies have been carried out on the trophic ecology of these species in natural environments of this region. Our study, using stomach content and stable isotope, analyzed the trophic ecology of speckled peacock bass *C. temensis* of two tributaries in the middle Negro River. The results confirmed the highly specialized piscivorous diet of this species, independent of its size (for the studied range 25-50cm). The piscivorous habits of species in the genus *Cichla* have been recorded in other studies in the Amazon Basin (Rabelo & Araújo-Lima, 2002; Oliveira et al., 2006).

Stomach content analysis did not detect any clear pattern of diet composition shifts related to size class. The diet of *C. temensis* has been shown to be composed of a variety of prey fish belonging to different fish families, indicating little selectivity in prey type (Bozza & Hahn, 2010). Low selectivity is common among predatory fish. The group of *Cichla* showed low selectivity in the rivers of Venezuela (Jepsen et al., 1997). However, in the black water rivers of Venezuela, characiformes were the main components of the peacock bass diet (Jepsen et al., 1997; Winemiller et al., 1997) with *Semaprochilodus kneri* accounting for about 45% of the diet of *C. temensis* during the receding water period (Winemiller & Jepsen, 2002). This discordance could be explained due to the fact that piscivorous fish usually consumed different prey species according to their availability in the system (Popova, 1978). Predatory fish that consume preys indiscriminately are usually opportunistic predators that adjust their feeding habit to coincide with the relative abundance of prey (Juanes et al., 2002). Most species of Amazonian fish are opportunistic feeders, but exhibit some degree of prey preference (Lowe-McConnell, 1999). In our study *C. temensis* appears as highly specialized on fish prey but without a clear preference for a species or a group of species, then they could be presented as opportunist strict piscivore.

The size of the prey consumed increased with the size of the speckled peacock bass. For most piscivorous fish, the size of the prey consumed usually increases with the size of the

predator (French, Platell, Clarke, & Potter, 2017; Juanes et al., 2002). This affirmation is verified in our study and could be attributed to the ability of *Cichla* of detecting and capturing prey to according to its development, which can be stimulated by an increase in visual acuity with increasing body size (Caves et al., 2017). In addition, when the predator is young, its morphological limitations, such as small mouth (restriction of large prey) and swimming capacity (impossibility of catching agile prey) (Jo et al. 2014), limit the possibility to feed on larger prey and so instead focus on smaller size prey which are more vulnerable to predation (Scharf et al., 2000). Despite this, *C. temensis* showed preference in consuming the smallest individuals of *S. kneri* in the Cinaruco river (in the Venezuelan Llanos) even when their gape size allowed for the consumption of larger individuals, but this was due to the great abundance of the prey, especially during its migratory period, (Hoeinghaus et al., 2006), which may confirm the opportunistic nature of this species.

### **Cichla food chain energy sources**

In the Venezuelan Llanos, the main source of energy assimilated by fish assemblages, including *C. temensis*, was a mixture of basal sources, with the highest contribution coming from bioseston (Roach et al., 2009). In the Amazon basin, several studies have reported that the main sources of basal energy for fish are derived from C<sub>3</sub> plants (Carvalho et al., 2017; Leite et al., 2002; Oliveira et al., 2006), where phytoplankton and C<sub>3</sub> aquatic herbaceous plants were the main sources of energy (Araújo-Lima et al., 1986; Forsberg et al., 1993). However, most of these studies were carried out in floodplain environments in the whitewater Solimões River basin. And therefore ill-suited for comparison to our study.

Algae are the dominant basal production sources in the world's major rivers, but organic matter from C<sub>3</sub> plants can also subsidize aquatic food webs in rivers with low levels of inorganic nutrients, such as black water rivers (Roach, 2013). In the Negro river, the main autotrophic sources are the trees of the flooded forest, aquatic herbaceous vegetation, and algae (periphytic and phytoplanktonic algae), all of which utilize a C<sub>3</sub> photosynthetic pathway (Marshall et al., 2008) are the primary components of the detritus. However, in the Negro River basin, some authors cited the difficulty of obtaining phytoplankton samples (Benedito-Cecilio & Araújo-Lima, 2002; Marshall et al., 2008). Nevertheless, Castro-Mendes (2017) suggests that this problem may be due to the chosen sampling method, since it was detected that 2/3 of the phytoplankton biomass in a black water lake encompasses organisms between 0.2-20 µm, although, the traditional method of collecting with surface trawls does not capture organisms of this size class (Bicudo & Menezes, 2005). The waters of the Negro River support limited

primary productivity, but sustain a diverse algal community (Goulding et al., 1988). Thus, the importance of phytoplankton in these environments for trophic food webs could be underestimated. Other authors (Goulding et al., 1988) considered that detritus and other allochthonous sources are the main pathways for energy and nutrients from the forest to transfer to most of the fish in the Negro River basin

Differences in *C. temensis* d<sup>15</sup>N values may be related to a site effect. Individuals from the Demeni had higher values of δ<sup>15</sup>N compared to those from the Aracá River, whereas individuals from the confluence region had a very large range of values. The spatial differences in <sup>15</sup>N isotopic values are also reflected in the trophic position. Individuals from the Demeni River had high values and individuals from the Aracá River had low trophic position values. These values reflect the available prey in each environment. We suggest that these results indicate an environmental distinctiveness that demands further investigation to determine the key limnological variables driving the trophic differences among top predator fish from different but connected areas. In tropical rivers, variation in body size of primary consumers influences the trophic position of predatory fish (Layman et al., 2005). This indicates that *C. temensis* eats a variety of prey fish of different size and trophic levels in each river, regardless of its size.

According to SIA, the detritivorous fish seems to be a predominant feeding item in the diet of the smaller speckled peacock bass and considering that the detritivorous fish assimilate the organic carbon from the detritus it is possible that the isotopic signal of the detritus will be dominant in the isotopic signal of the smaller speckled peacock bass.

We hypothesize that the smaller individuals consume of a wider range of feeding items than did larger fish. These results contrast with patterns observed in other predatory fish in the Amazon region where adult fish focus on a higher variety of food resources (Carvalho et al., 2017). This difference may be due to the fact that adult/larger of *C. temensis* exhibit a variety of movement patterns, including localized/restricted movements, river interchanges, and possible natal philopatry (Sousa et al., 2016). Thus, it could be expected that larger individuals had greater trophic niche breadth, but we observed that this does not occur with *C. temensis*.

Both estimations of trophic niche based on volume of food items and <sup>13</sup>C showed that as peacock bass grow they increase their level of piscivory, as was already observed for other piscivorous fish species (Burress et al., 2013; Mittelbach & Persson, 1998) and become more specialized and enriched in <sup>13</sup>C (Davis et al., 2015). This increasing specialization yields a smaller isotopic niche width when compared to smaller individuals consuming a wide range of prey including crustaceans and small fish (Oliveira et al., 2006).

The niche of a species can be differentiated in many ways, one of which is through the differential use of resources (Begon et al., 2007). Thus, despite the great overlap of isotopic niche among *C. temensis* individuals as observed through Bayesian ellipses, we suggest that *C. temensis* showed a partition food resources available in their immediate area according to their size and then capacity to feed on larger fish prey.

Dietary shifts related to size could be a competitive life strategy, since it permits a species to exploit a broad range of available prey items. This study demonstrated that, in addition to size linked variability in the diet of *C. temensis*, there are also spatial variations, even within a same basin. Thus, we suggest that future studies consider the spatial variation in the availability of food resources for *C. temensis*, and make effort to identify the mechanisms involved in the trophic relationships within different sub-basins. Conducting such examinations of fish diet in the natural environment is essential for successful management of this region, and to reach the objectives of conservation, preservation and sustainability of these invaluable fishery resources.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Jansen Zuanon for guidance in identification of stomach content and all people who contributed to this work. Discussions with Claudia de Deus and Sidnéia Amadio greatly improved this manuscript. We also thank FAPEAM by for the economic support provided and the Ministério de Ciência e Tecnologia for their support on a master's degree grant.

## REFERENCES

- Anderson, M. J. (2001). Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance and regression. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(3), 626–639. <http://doi.org/10.1139/cjfas-58-3-626>
- Araújo-Lima, C. A., Forsberg, B. R., Victoria, R., & Martinelli, L. (1986). Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. *Science (New York, N.Y.)*, 234(4781), 1256–1258. <http://doi.org/10.1126/science.234.4781.1256>
- Baker, R., Buckland, A., & Sheaves, M. (2014). Fish gut content analysis: robust measures of diet composition. *Fish and Fisheries*, 15(1), 170–177. <http://doi.org/10.1111/faf.12026>
- Barroco, L. S. A., Freitas, C. E. C., & Lima, Á. C. (2017). Estimation of peacock bass (*Cichla* spp.) mortality rate during catch-release fishing employing different post-capture procedures. *Brazilian Journal of Biology*, 1–7. <http://doi.org/10.1590/1519-6984.18915>
- Bearhop, S., Adams, C. E., Waldron, S., Fuller, R. A., & Macleod, H. (2004). Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology*, 73(5), 1007–1012. <http://doi.org/10.1111/j.0021-8790.2004.00861.x>
- Begon, M., Townsend, C. R., & Harper, J. L. (2007). *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas* (4<sup>a</sup>). Porto Alegre: Artmed.
- Benedito-Cecilio, E., & Araújo-Lima, C. A. R. M. (2002). Variation in the carbon isotope composition of *Semaprochilodus insignis*, a detritivorous fish associated with oligotrophic and eutrophic Amazonian rivers. *Journal of Fish Biology*, 60(6), 1603–1607. <http://doi.org/10.1006/jfbi.2002.2012>
- Bicudo, C. E. de M., & Menezes, M. (2005). *Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chaves para identificação e descrições*. São Carlos: RiMa.
- Bozza, A. N., & Hahn, N. S. (2010). Uso de recursos alimentares por peixes imaturos e adultos de espécies piscívoras em uma planície de inundação neotropical. *Biota Neotropica*, 10(3), 217–226. <http://doi.org/10.1590/S1676-06032010000300025>

- Brejão, G. L., Gerhard, P., & Zuanon, J. (2013). Functional trophic composition of the ichthyofauna of forest streams in eastern Brazilian Amazon. *Neotropical Ichthyology*, 11(2), 361–373. <http://doi.org/10.1590/S1679-62252013005000006>
- Burress, E. D., Duarte, A., Serra, W. S., Gangloff, M. M., & Siefferman, L. (2013). Species-specific ontogenetic diet shifts among Neotropical Crenicichla : using stable isotopes and tissue stoichiometry. *Journal of Fish Biology*, 82(6), 1904–1915. <http://doi.org/10.1111/jfb.12117>
- Campos, C. P., Freitas, C. E. C., & Amadio, S. (2015). Growth of the *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes : Cichlidae) from the middle rio Negro, Amazonas, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 13(2), 413–420. <http://doi.org/10.1590/1982-0224-20140090>
- Carreon-Martinez, L., Johnson, T. B., Ludsin, S. A., & Heath, D. D. (2011). Utilization of stomach content DNA to determine diet diversity in piscivorous fishes. *Journal of Fish Biology*, 78(4), 1170–1182. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02925.x>
- Carvalho, F., Power, M., Forsberg, B. R., Castello, L., Martins, E. G., & Freitas, C. E. C. (2017). Trophic Ecology of Arapaima sp. in a ria lake-river-floodplain transition zone of the Amazon. *Ecology of Freshwater Fish*, 1–10. <http://doi.org/10.1111/eff.12341>
- Castro-Mendes, R. (2017). *Fitoplâncton como alimento para microcrustáceos e rotíferos nos períodos de seca e enchente no Lago Tupé, Manaus-AM*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- Caves, E. M., Sutton, T. T., & Johnsen, S. (2017). Visual acuity in ray-finned fishes correlates with eye size and habitat. *The Journal of Experimental Biology*, 220(9), 1586–1596. <http://doi.org/10.1242/jeb.151183>
- Corrêa, C. E., Albrecht, M. P., & Hahn, N. S. (2011). Patterns of niche breadth and feeding overlap of the fish fauna in the seasonal Brazilian Pantanal, Cuiabá River basin. *Neotropical Ichthyology*, 9(3), 637–646. <http://doi.org/10.1590/S1679-62252011000300017>
- Costa, I. D. da, & Freitas, C. E. de C. (2013). Trophic ecology of the ichthyofauna of a stretch of the Urucu River (Coari, Amazonas, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensis*, 25(1), 54–67. <http://doi.org/10.1590/S2179-975X2013000100007>
- Davis, A. M., Blanchette, M. L., Pusey, B. J., Jardine, T. D., & Pearson, R. G. (2012). Gut content and stable isotope analyses provide complementary understanding of ontogenetic dietary shifts and trophic relationships among fishes in a tropical river. *Freshwater Biology*, 57(10), 2156–2172. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2012.02858.x>

- Fontenele, O. (1950). Contribuição para o conhecimento da biologia dos tucunarés, Actinopterygii Cichlidae, em cativeiro. Aparelho de reprodução. Hábitos de desova e incubação. *Revista Brasileira de Biologia*, 10, 503-519
- Forsberg, B. R., Araújo-Lima, C. A. R. M., Martinelli, L. A., Victoria, R. L., & Bonassi, eJ. A. (1993). Autotrophic carbon sources for fish of the central amazon. *Ecology*, 74(3), 643–652.
- Freitas, C. E. C., & Rivas, A. A. F. (2006). A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Ocidental. *Ciência E Cultura*, 58(3), 30–32.
- Freitas, C. E. C., Siqueira-Souza, F. K., Prado, K. L., Yamamoto, K. C., & Hurd, L. E. (2010). Factors determining fish species diversity amazonian floodplain lakes. In N. Roja & R. Prieto (Eds.), *The Amazon Basin: plant life, wildlife and environment* (pp. 43–78). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- French, B., Platell, M. E., Clarke, K. R., & Potter, I. C. (2017). Optimization of foraging and diet by the piscivorous *Othos dentex* (Serranidae). *Journal of Fish Biology*, 1–19. <http://doi.org/10.1111/jfb.13269>
- Fry, B. (2006). *Stable Isotope Ecology*. New York, NY: Springer New York. <http://doi.org/10.1007/0-387-33745-8>
- Gomiero, L. M., & Braga, F. M. S. (2004). Feeding of introduced species of Cichla (Perciformes, Cichlidae) in Volta Grande reservoir, River Grande (MG/SP). *Brazilian Journal of Biology*, 64(4), 787–795. <http://doi.org/10.1590/S1519-69842004000500008>
- Goulding, M., Carvalho, M. L., & Ferreira, E. J. G. (1988). *Rio Negro, rich life in poor water: amazonian diversity and foodchain ecology as seen through fish communities*. The Hague: SPB Academic Publishing.
- Hoeinghaus, D. J., Winemiller, K. O., Layman, C. A., Arrington, D. A., & Jepsen, D. B. (2006). Effects of seasonality and migratory prey on body condition of Cichla species in a tropical floodplain river. *Ecology of Freshwater Fish*, 15(4), 398–407. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2006.00152.x>
- Holley, M. H., Maceina, M. J., Thomé-Souza, M., & Forsberg, B. . (2008). Analysis of the trophy sport fishery for the speckled peacock bass in the Rio Negro River, Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, 15(2), 93–98. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2007.00587.x>
- Hurlbert, S. H. (1978). The Measurement of Niche Overlap and Some Relatives. *Ecology*, 59(1), 67–77. <http://doi.org/10.2307/1936632>
- Hynes, H. (1950). The food of freshwater sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* and

- Pygosteuspungitius), with a review of methods used in studies of the food of fishes. *Journal of Animal Ecology*, 19, 36–58. <http://doi.org/10.2307/1570>
- Hyslop, E. J. (1980). Stomach contents analysis-a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17, 411–429. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02775.x>
- IGFA (2001). Database of IGFA angling records until 2001. IGFA, Fort Lauderdale, USA.
- Inomata, S. O., & Freitas, C. E. C. (2015). Fish landings in Barcelos, in the Middle Negro River Region, Amazonas. In J. M. Garcia & C. A. Brebbia (Eds.), *WIT Transactions on Ecology and the Environment* (pp. 67–76). Southampton: WIT press. <http://doi.org/10.2495/ECO150071>
- Jackson, A. L., Inger, R., Parnell, A. C., & Bearhop, S. (2011). Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80(3), 595–602. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x>
- Jackson, M. C., Donohue, I., Jackson, A. L., Britton, J. R., Harper, D. M., & Grey, J. (2012). Population-Level Metrics of Trophic Structure Based on Stable Isotopes and Their Application to Invasion Ecology. *PLoS ONE*, 7(2), e31757. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0031757>
- Jepsen, D. B., Winemiller, K. O., & Taphorn, D. C. (1997). Temporal patterns of resource partitioning among Cichla species in a Venezuelan blackwater river. *Journal of Fish Biology*, 51, 1085–1108. [http://doi.org/0022-1112/97/061085+24\\\$25.00/0/jb970525](http://doi.org/0022-1112/97/061085+24\$25.00/0/jb970525)
- Jo, H., Gim, J.-A., Jeong, K.-S., Kim, H.-S., & Joo, G.-J. (2014). Application of DNA barcoding for identification of freshwater carnivorous fish diets: Is number of prey items dependent on size class for *Micropterus salmoides*? *Ecology and Evolution*, 4(2), 219–229. <http://doi.org/10.1002/ece3.921>
- Juanes, F., Buckel, J. A., & Scharf, F. (2002). Feeding Ecology of Piscivorous Fishes. In P. J. B. Hart & J. Reynolds (Eds.), *Handbook of Fish Biology and Fisheries: Fish Biology* (p. 428). Wiley-Blackwell.
- Kawakami, E., & Vazzoler, G. (1980). Método gráfico e estimativa de índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. *Brazilian Journal of Oceanography*, 29(2), 205–207. <http://doi.org/10.1590/S1679-87591980000200043>
- Krebs, C. J. (1999). *Ecological Methodology* (2nd ed.). California: Addison-Wesley Education Publishers, Inc.
- Küchler, I. L., Miekeley, N., & Forsberg, B. R. (2000). A contribution to the chemical

- characterization of rivers in the Rio Negro Basin, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 11(3), 286–292. <http://doi.org/10.1590/S0103-50532000000300015>
- Kullander, S. O., & Ferreira, E. J. G. (2006). A review of the South American cichlid genus Cichla, with descriptions of nine new species (Teleostei : Cichlidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 17(4), 289–398.
- Layman, C. A., Winemiller, K. O., Arrington, D. A., & Jepsen, D. B. (2005). Body size and trophic position in a diverse tropical food web. *Ecology*, 86(9), 2530–2535. <http://doi.org/10.1890/04-1098>
- Leite, R. G., Araújo-Lima, C. A. R. M., Victoria, R. L., & Martinelli, L. A. (2002). Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. *Ecology of Freshwater Fish*, 11, 56–63. <http://doi.org/10.1034/j.1600-0633.2002.110106.x>
- Lowe-McConnell, R. H. (1999). *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. Edusp.
- Marshall, B. G. (2010). *Fatores que influenciam a variação espacial e temporal nas fontes autotróficas de energia e nível trófico do Paracheirodon axelrodi (Osteichthyes, Characidae) num sistema interfluvial do médio rio Negro*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- Marshall, B. G., Forsberg, B. R., & Thomé-Souza, M. J. F. (2008). Autotrophic energy sources for Paracheirodon axelrodi (Osteichthyes, Characidae) in the middle Negro River, Central Amazon, Brazil. *Hydrobiologia*, 596(1), 95–103. <http://doi.org/10.1007/s10750-007-9060-y>
- McCutchan, J. H., Lewis, W. M., Kendall, C., & McGrath, C. C. (2003). Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, 102(2), 378–390. <http://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12098.x>
- Mérona, B. de, & Rankin-de-Mérona, J. (2004). Food resource partitioning in a fish community of the central Amazon floodplain. *Neotropical Ichthyology*, 2(2), 75–84. <http://doi.org/10.1590/S1679-62252004000200004>
- Mittelbach, G. G., & Persson, L. (1998). The ontogeny of piscivory and its ecological consequences. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(6), 1454–1465. <http://doi.org/10.1139/f98-041>
- Molina, C. I., Gibon, F.-M., Oberdorff, T., Dominguez, E., Pinto, J., Marín, R., & Roulet, M. (2011). Macroinvertebrate food web structure in a floodplain lake of the Bolivian Amazon. *Hydrobiologia*, 663(1), 135–153. <http://doi.org/10.1007/s10750-010-0565-4>

- Novaes, J. L. C., Caramaschi, É., & Winemiller, K. O. (2004). Feeding of *Cichla monoculus* Spix, 1829 (Teleostei: Cichlidae) during and after reservoir formation in the Tocantins River, Central Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensis*, 16(1), 41–49.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., ... Wagner, H. (2017). vegan: Community Ecology Package. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Oliveira, A. C. B., Martinelli, L. A., Moreira, M. Z., Soares, M. G. M., & Cyprino, J. E. P. (2006). Seasonality of energy sources of *Colossoma macropomum* in a floodplain lake in the Amazon - lake Camaleao, Amazonas, Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, 13(3), 135–142. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2006.00481.x>
- Oliveira, A. C. B., Soares, M. G. M., Martinelli, L. A., & Moreira, M. Z. (2006). Carbon sources of fish in an Amazonian floodplain lake. *Aquatic Sciences*, 68, 229–238. <http://doi.org/10.1007/s00027-006-0808-7>
- Petry, A. C., Gomes, L. C., Piana, P. A., & Agostinho, A. A. (2010). The role of the predatory trahira (Pisces: Erythrinidae) in structuring fish assemblages in lakes of a Neotropical floodplain. *Hydrobiologia*, 651(1), 115–126. <http://doi.org/10.1007/s10750-010-0281-0>
- Popova, O. A. (1978). The role of predaceous fish in ecosystems. In S. D. Gerking (Ed.), *Ecology of Freshwater fish production*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Post, D. M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83(3), 703–718. <http://doi.org/10.2307/3071875>
- Post, D. M., Layman, C. A., Arrington, D. A., Takimoto, G., Quattrochi, J., & Montaña, C. G. (2007). Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia*, 152(1), 179–189. <http://doi.org/10.1007/s00442-006-0630-x>
- Pouilly, M., Yunoki, T., Rosales, C., & Torres, L. (2004). Trophic structure of fish assemblages from Mamoré River floodplain lakes (Bolivia). *Ecology of Freshwater Fish*, 13(4), 245–257. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2004.00055.x>
- Prudente, B. da S., Carneiro-Marinho, P., Valente, R. de M., & Montag, L. F. de A. (2016). Feeding ecology of *Serrasalmus gouldingi* (Characiformes: Serrasalmidae) in the lower Anapu River region, Eastern Amazon, Brazil. *Acta Amazonica*, 46(3), 259–270. <http://doi.org/10.1590/1809-4392201600123>
- R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rabelo, H., & Araújo-Lima, C. A. R. M. (2002). A dieta e o consumo diário de alimento de

- Cichla monoculus* na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 32(4), 707–724.  
<http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7>
- Roach, K. A. (2013). Environmental factors affecting incorporation of terrestrial material into large river food webs. *Freshwater Science*, 32(1), 283–298. <http://doi.org/10.1899/12-063.1>
- Roach, K. A., Winemiller, K. O., Layman, C. A., & Zeug, S. C. (2009). Consistent trophic patterns among fishes in lagoon and channel habitats of a tropical floodplain river: evidence from stable isotopes. *Acta Oecologica*, 35(4), 513–522.  
<http://doi.org/10.1016/j.actao.2009.03.007>
- Satterfield, F. R., & Finney, B. P. (2002). Stable isotope analysis of Pacific salmon: insight into trophic status and oceanographic conditions over the last 30 years. *Progress in Oceanography*, 53(2–4), 231–246. [http://doi.org/10.1016/S0079-6611\(02\)00032-0](http://doi.org/10.1016/S0079-6611(02)00032-0)
- Scharf, F., Juanes, F., & Rountree, R. A. (2000). Predator size - prey size relationships of marine fish predators: interspecific variation and effects of ontogeny and body size on trophic-niche breadth. *Marine Ecology Progress Series*, 208, 229–248.
- Sioli, H. (1984). The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In H. Sioli (Ed.), *The Amazon: limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin* (p. 763). Netherlands: Springer.
- Sousa, R. G. C., Humston, R., & Freitas, C. E. C. (2016). Movement patterns of adult peacock bass *Cichla temensis* between tributaries of the middle Negro River basin (Amazonas - Brazil): an otolith geochemical analysis. *Fisheries Management and Ecology*, 23(1), 76–87. <http://doi.org/10.1111/fme.12166>
- Vanderklift, M. A., & Ponsard, S. (2003). Sources of variation in consumer-diet d15N enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, 136(2), 169–182.  
<http://doi.org/10.1007/s00442-003-1270-z>
- Winemiller, K. O. (1989). Ontogenetic diet shifts and resource partitioning among piscivorous fishes in the Venezuelan llanos. *Environmental Biology of Fishes*, 26(3), 177–199. <http://doi.org/10.1007/BF00004815>
- Winemiller, K. O., & Jepsen, D. B. (2002). Migratory Neotropical Fish Subsidize Food Webs of Oligotrophic Blackwater Rivers. In G. A. Polis, M. E. Power, & G. Huxley. (Eds.), *Food Webs at the Landscape Level*. Chicago: University of Chicago Press.
- Winemiller, K. O., Taphorn, D. C., & Barbarino-Duque, A. (1997). Ecology of *Cichla* (Cichlidae) in Two Blackwater Rivers of Southern Venezuela. *Copeia*, (4), 690–696.
- Zar, J. H. (2010). *Biostatistical analysis* (5th ed.). Harlow: Pearson Education.

Zhang, J. (2016). spaa: Species Association Analysis. R package 0.2.2. <https://CRAN.R-project.org/package=spaa>.

#### **Author's contribution statement**

J. A. S and C. E. C. F. conceived and designed the study. J. A. S. and F. K. S. S. collected the data. J. A. S., P. A. P. D., C. E. C. F. and F. K. S. S. analyzed and interpreted the data. J. A. S. drafted the manuscript. P. A. P. D., M. P. and C. E. C. F. reviewed the manuscript. All authors discussed the results and contributed to the final manuscript.

#### **Conflict of interest statement**

The authors do not report any conflict of interest.

## Tables

**Table 1.** Sampling data of size class of *C. temensis* examined for stomach content (SCA) and stable isotope analysis (SIA), from Middle Negro River. Sections of SCA and SIA indicate the number of stomach and scale samples, respectively, used in the analyses.

<i>Cichla temensis</i>	<31 cm		31-39.9 cm		>40 cm	
Type of Analysis	SCA	SIA	SCA	SIA	SCA	SIA
Nº stomachs empty	4	-	2	-	2	-
Nº stomachs examined	15	-	19	-	10	-
Nº stable isotope samples	-	19	-	20	-	12
Region						
Aracá River	6	9	7	7	1	1
Demeni River	3	3	3	3	5	5
Confluence Region	6	7	9	10	4	6

**Table 2.** Alimentary Index (%) of individuals of *C. temensis* from region of middle Negro River.

TAXON	Guild	Size class		
		<31 cm	31-39.9 cm	>40 cm
<b>Characiformes</b>				
<b>Curimatidae</b>	Detritivorous	0.8	-	-
<i>Cyphocharax</i> spp.	Detritivorous	-	-	1
<i>Curimata vittata</i> (Kner, 1858)	Detritivorous	-	0.5	1.9
<b>Hemiodontidae</b>				
<i>Argoneutes</i> spp.	Omnivorous	-	0.7	-
<b>Clupeiformes</b>				
<b>Engraulidae</b>				
<i>Lycengraulis</i> spp.	Carnivorous	0.8	-	-
<b>Osteoglossiformes</b>				
<b>Osteoglossidae</b>				
<i>Osteoglossum</i> spp.	Carnivorous	-	-	1
<b>Siluriformes</b>				
<b>Pimelodidae</b>				
<i>Pimelodus albofasciatus</i> Mees, 1974	Carnivorous	-	-	1.9
<b>Loricariidae</b>				
<i>Ancistrus</i> spp.	Detritivorous	-	0.7	-
Loricariinae	Detritivorous	0.4	-	-
<b>Gymnotiformes</b>				
<b>Sternopygidae</b>				
<i>Rhabdolichops nigrimans</i> Correa, Crampton & Albert, 2006	Carnivorous	-	0.7	-
<b>Cichliformes</b>				
<b>Cichlidae</b>				
Cichlasomatinae	-	0.8	-	-
Geophaginae	-	0.4	0.7	-
Unidentified fish		96.6	93.2	94.2
Digested items		-	0.7	-
Vegetable fragments		0.4	2.8	-

**Table 3.** Isotopic composition of *Cichla temensis* for each river and size class.  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  average and standard deviation values for *Cichla temensis* are given when N (number) > 1

Local	<i>Cichla temensis</i>			<i>Cichla temensis</i>			<i>Cichla temensis</i>		
	<31 cm)			(31.1-39.9 cm)			(>40 cm)		
	n	$\delta^{13}\text{C}\text{\%}$	$\delta^{15}\text{N}\text{\%}$	n	$\delta^{13}\text{C}\text{\%}$	$\delta^{15}\text{N}\text{\%}$	n	$\delta^{13}\text{C}\text{\%}$	$\delta^{15}\text{N}\text{\%}$
<b>Aracá River</b>	9	-29.33±0.5	11±0.3	7	-29.3±1.2	11.49±0.7	1	-28.17	11.62
<b>Demeni River</b>	3	-29.99±1.3	12.2±0.2	3	30.28±1	11.99±0.1	5	-28.53±0.3	12.21±0.2
<b>Confluence Region</b>	7	-29.88±1	12±0.3	10	-29.52±1.1	11.72±0.6	6	-28.47±0.6	11.94±0.5

**Table 4.** Isotopic composition of prey fish species for the Demeni River and the Confluence Region.  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  average and standard deviation values for prey are given when N (number) > 1

<b>Group</b>	<b>Demeni River</b>	<b>Confluence Region</b>	
		<b>n</b>	$\delta^{13}\text{C}\text{\%oo}$
<b>Detritivore</b>			
<i>Curimata vittata</i>	6	-31.80±2.3	9.24±1
<i>Curimata roseni</i>	2	-33.64±1.1	8.96±0.4
<i>Psectrogaster amazonica</i>	5	-32.14±1.4	9.31±0.3
<i>Cyphocharax leucostictus</i>	5	-32.7±1.6	8.3±1
<b>Herbivore</b>			
<i>Hemiodus unimaculatus</i>	10	-26.46±3.4	8±0.5
<b>Omnivore</b>			
<i>Hemiodus immaculatus</i>	-	-	-32.25±4.1
<i>Argoneutes longiceps</i>	-	-	-31.51±2.8
<i>Serrasalmus serrulatus</i>	3	-27.59±0.4	10±0.8
<i>Triportheus albus</i>	5	-26.63±1	9±0.7
<b>Carnivore</b>			
<i>Tetragonopterus argenteus</i>	1	-28.87	9.98
<i>Serrasalmus robertsoni</i>	1	28.59	11.36
<i>Serrasalmus eigenmanni</i>	7	-28.13±10	11.28±4.2

## Figure Captions

**Figure 1:** Location of the sampled sites (dots) in the region of Middle Negro River, Amazonas, Brazil.

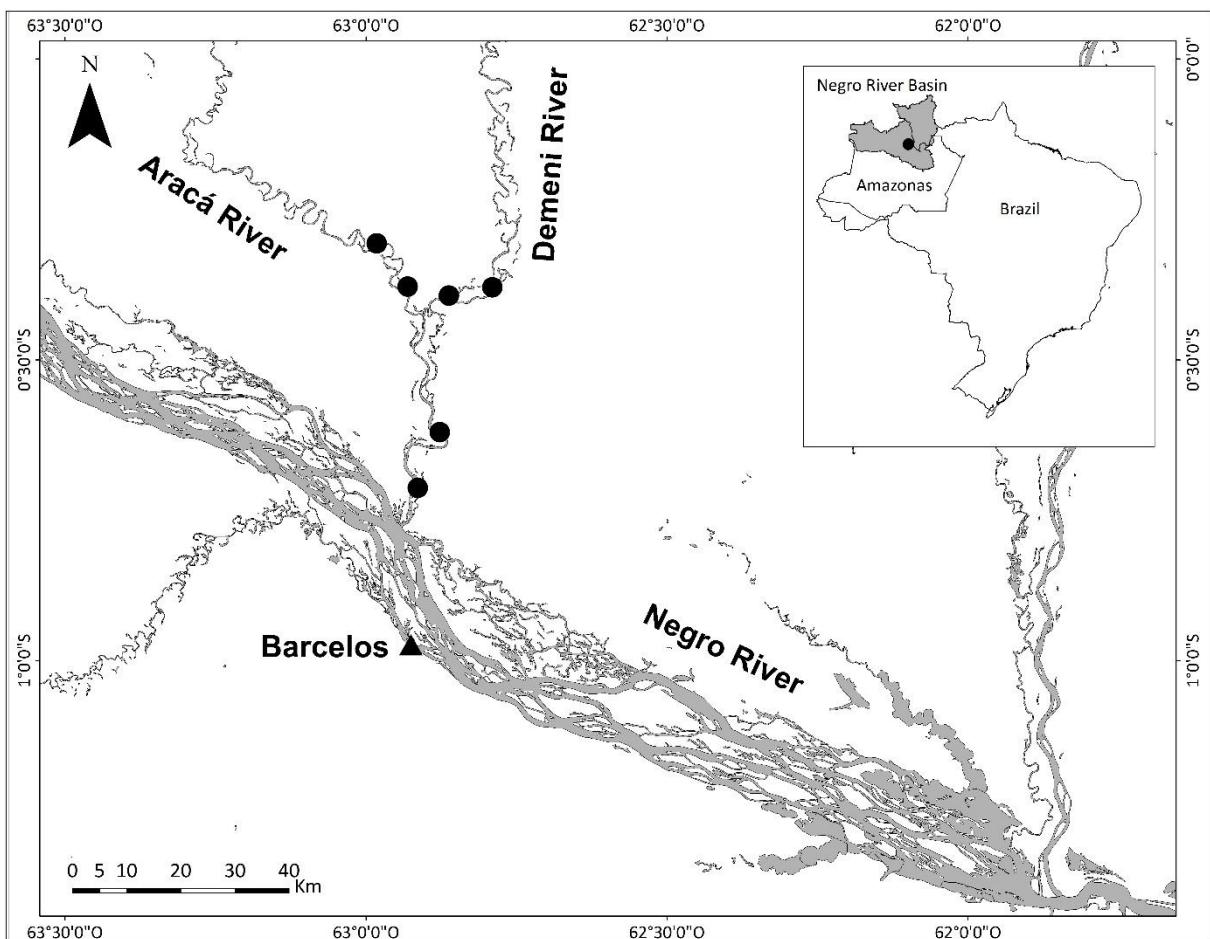
**Figure 2.** Relationship between standard length (cm) of prey and standard length (cm) of *C. temensis* from the middle Negro River. Nine peacock bass and the means of prey SLs by stomach contents were used in the analysis.

**Figure 3.**  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  biplot of peacock bass (*C. temensis*) by size classes: <31 cm (yellow inverted triangle), the size class 31-39.9 cm (yellow triangle) and size class >40 cm (yellow square) of *C. temensis*; prey fish: detritivorous (blue square), herbivorous (blue triangle), omnivorous (small circle) and carnivorous (large circle); and potential basal energy source (Marshall et al. 2010): submerged herbaceous plant (cyan square), epiphytic algae (orange square), metaphytic algae (green square), tree and shrub leaves (red square) and emerging herbaceous plant (black square). For all, each point represents the mean value and standard deviation.

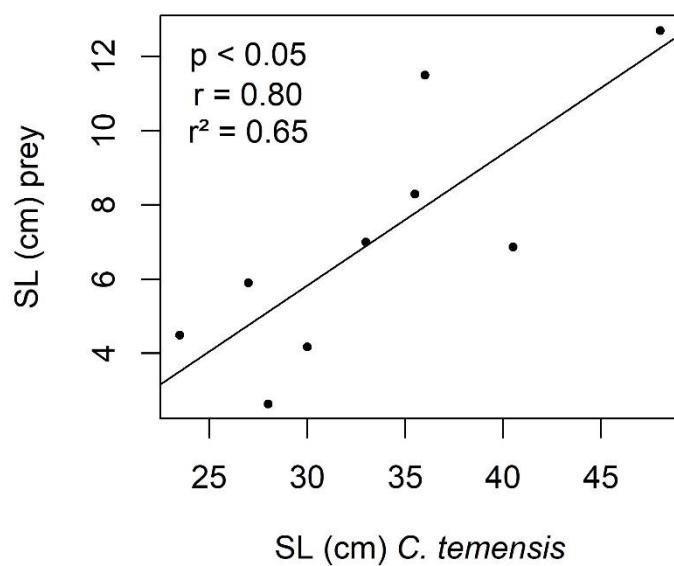
**Figure 4.** Relationship between  $\delta^{13}\text{C}$  values and standard length (cm) (A) and relationship between  $\delta^{15}\text{N}\text{\%}$  values and standard length (cm) (B). Each point represents an individual *C. temensis* from Demeni River (red circle), Confluence Region (green circle) and Aracá River (black circle). In figure A, the dashed line represents the significant relationship between standard length and  $\delta^{13}\text{C}\text{\%}$  for all individuals ( $r^2 = 0.46$ ,  $p < 0.05$ ). In figure B, the dotted line represents the relationship between standard length and  $\delta^{15}\text{N}$  for individuals from Demeni River and Confluence Region and solid line represents the relationship between standard length and  $\delta^{15}\text{N}\text{\%}$  for individuals from Aracá River. Both relationships were not statistically significant, but the difference between the intercepts shows higher  $\delta^{15}\text{N}\text{\%}$  for individuals from Demeni River and Confluence Region than for individuals from the Aracá River.

**Figure 5.** Trophic position (TP) of *C. temensis* from Aracá River, Confluence Region and Demeni River.

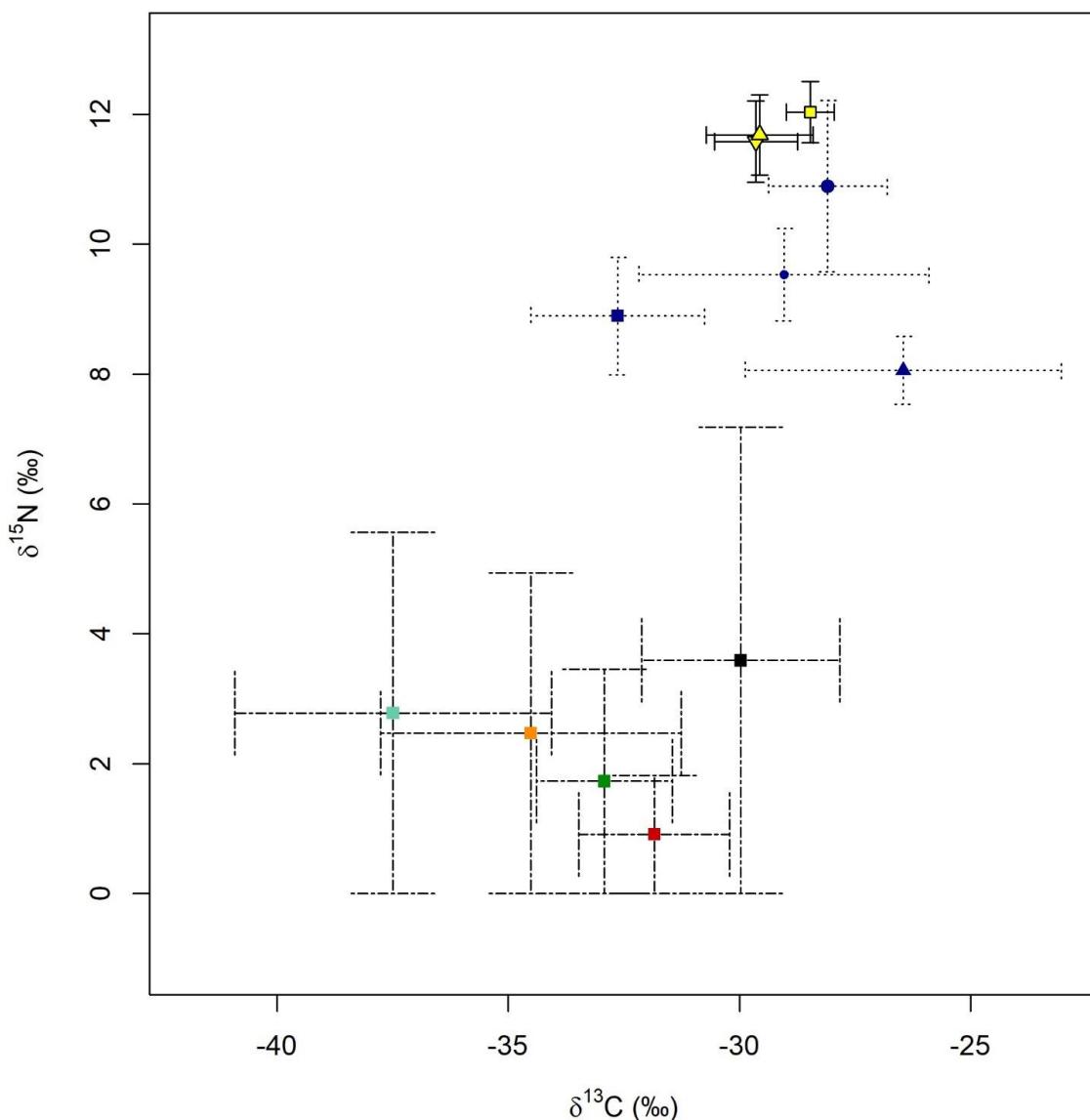
**Figure 6.** Standard ellipse areas estimated from the carbon and nitrogen stable isotopes (%) for <31 cm (Group 1), 31-39.9 cm (Group 2) and >40 cm (Group 3) individuals of *C. temensis*.



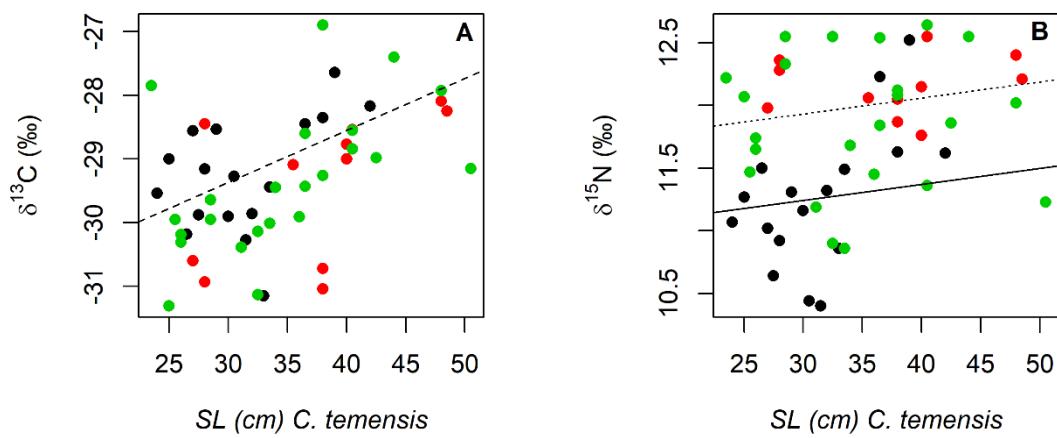
**Figure 4:** Location of the sampled sites (dots) in the region of Middle Negro River, Amazonas, Brazil.



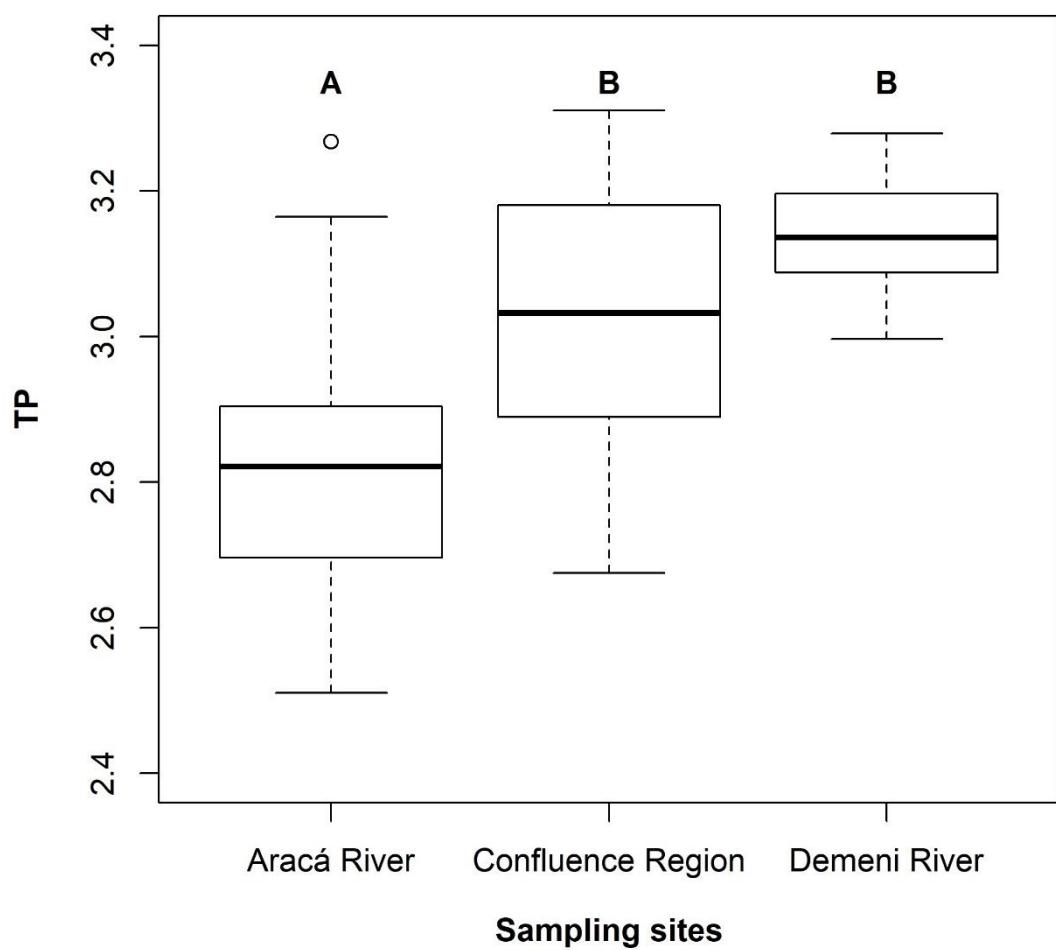
**Figure 5.** Relationship between standard length (cm) of prey and standard length (cm) of *C. temensis* from the middle Negro River. Nine peacock bass and the means of prey SLs by stomach contents were used in the analysis.



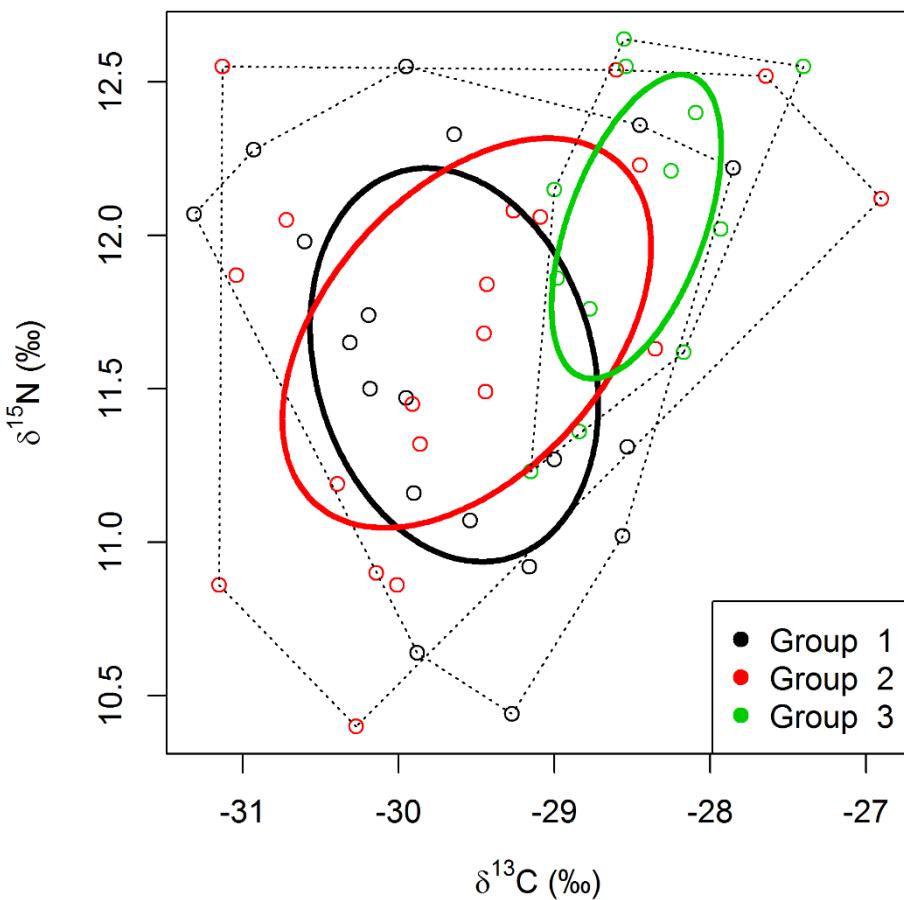
**Figure 3.**  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  biplot of peacock bass (*C. temensis*) by size classes: <31 cm (yellow inverted triangle), the size class 31-39.9 cm (yellow triangle) and size class >40 cm (yellow square) of *C. temensis*; prey fish: detritivorous (blue square), herbivorous (blue triangle), omnivorous (small circle) and carnivorous (large circle); and potential basal energy source (Marshall et al. 2010): submerged herbaceous plant (cyan square), epiphytic algae (orange square), metaphytic algae (green square), tree and shrub leaves (red square) and emerging herbaceous plant (black square). For all, each point represents the mean value and standard deviation.



**Figure 4.** Relationship between  $\delta^{13}\text{C}$  values and standard length (cm) (A) and relationship between  $\delta^{15}\text{N}\text{\textperthousand}$  values and standard length (cm) (B). Each point represents an individual, *C. temensis* from Demeni River (red circle), Confluence Region (green circle) and Aracá River (black circle). In figure A, the dashed line represents a significant relationship between standard length and  $\delta^{13}\text{C}\text{\textperthousand}$  for all individuals ( $r^2 = 0.2, p < 0.05$ ). In figure B, the dotted line represents a significant relationship between standard length and  $\delta^{15}\text{N}$  for individuals from Demeni River and Confluence Region and solid line represents a significant relationship between standard length and  $\delta^{15}\text{N}\text{\textperthousand}$  for individuals from Aracá River ( $r^2 = 0.36, p < 0.05$ ).



**Figure 5.** Trophic position (TP) of *C. temensis* from Aracá River, Confluence Region and Demeni River.



## SINTESE

Nesta dissertação foi realizado o estudo sobre ecologia de *Cichla temensis*, dividido em dois capítulos que acrescentam informações sobre a ecologia trófica da espécie na bacia do rio Negro e traz também uma compilação de resultados sobre o uso de isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira.

A compilação dos resultados mostrou que ainda são poucos os estudos realizados com essas ferramentas na Amazonia Brasileira. A utilização de novas abordagens para o estudo da ecologia das espécies poderia contribuir para o entendimento das relações que as espécies mantêm dentro de uma comunidade e com o ambiente em que vivem. Elucidando questões acerca do seu hábito de vida, tais como o comportamento reprodutivo, migratório e alimentar.

A ecologia trófica da espécie foi estudada através da análise do conteúdo estomacal e da utilização de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio das escamas. Com essa abordagem foi possível detectar mudanças na dieta relacionadas ao longo do desenvolvimento de *C. temensis*, mesmo entre indivíduos subadultos e adultos. Os resultados indicam que há variação espacial na dieta de *C. temensis*, mesmo em uma mesma bacia hidrográfica. Estas informações podem ser úteis para o manejo sustentável da espécie na bacia do rio Negro. Contudo, estudos adicionais que levem em consideração a disponibilidade local de recursos alimentares são necessários para melhor compreender a ecologia trófica de *C. temensis*.

## REFERÊNCIAS

- Abelha, M. C. F.; Agostinho, A. A.; Goulart, E. 2001. Plasticidade trófica em peixes de água doce. *Acta Scientiarum*, 23: 424-434.
- Araujo-Lima, C. A.; Forsberg, B. R.; Victoria, R.; Martinelli, L. 1986. Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. *Science*, 234.
- Baker, R.; Buckland, A.; Sheaves, M. 2013. Fish gut content analysis: robust measures of diet composition. *Fish and fisheries*, 1-8.
- Benedito-Cecilio, E.; Araujo-Lima, C.; Forsberg, B. R.; Bittencourt, M. M.; Martinelli, L. C. 2000. Carnon sources of Amazonian fisheries. *Fisheries Management and Ecology*, 7: 305-315.
- Bennemann, S.; Casatti, L.; Oliveira, D. C. 2006. Alimentação de peixes: proposta para análise de itens registrados em conteúdos gástricos. *Biota Neotropica*, 6.
- Bozza, A. N.; Hahn, N. S. 2010. Uso de recursos alimentares por peixes imaturos e adultos de espécies piscívoras em uma planície de inundação neotropical. *Biota Neotropica*, 10.
- Brejão, G.; Gerhard, P.; Zuanon, J. 2013. Functional trophic composition of the ichthyofauna of forests streams in eastern Brazilian Amazon. *Neotropical Ichthyology*.
- Burress, E. D.; Duarte, A.; Serra, W. S.; Gangloff, M. M.; Siefferman, L. 2013. Species-specific ontogenetic diet shifts among Neotropical Crenicichla: using stable isotopes and tissue stoichiometry. *Journal of Fish Biology*.
- Chapin III, F. S.; Zavaleta, E. S.; Eviner, V. T.; Naylor , R. L.; Vitousek, P. M.; Reynolds, H. L.; Diaz, S. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405.
- DeNiro, M. J.; Epstein, S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42: 495-506.
- Dionne, K.; Dufresne, F. ; Nozais, C. 2016. Variation in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  trophic enrichment factors among *Hyalella Azteca* amphipods from different lakes. *Hydrobiologia*.
- Eschmeyer, W. N.; Fong, J. D. Species by family/subfamily. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed 08/2016.
- Esteves, K. E.; Aranha, J. M. 1999. Ecologia trófica de peixe de riachos. In: Caramaschi, E. P.; Mazzoni, R.; Peres-Neto, P. R. *Ecologia de peixes de riachos*. Vol. VI. Rio de Janeiro, Oecologia Brasiliensis.
- Forsberg, B. R.; Araujo-Lima, C.; Martinelli, L.; Victoria, R.; Bonassi, J. 1993. Autotrophic carbon sources for fishes of the central Amazon. *Ecology*, 74: 643-652.

- Freitas, C. E. C.; Siqueira-Souza, F. K.; Prado, K. L. L.; Yamamoto, K. C.; Hurd, L. E. 2010. Factors determining fish species diversity amazonian floodplain lakes. In: *The Amazon Basin: plant life, wildlife and environment*. Nova Science Publishers Inc, New York.
- Gillespie, J. H. 2013. Application of Stable Isotope Analysis to Study Temporal Changes in Foraging Ecology in a Highly Endangered Amphibian. *Plos One*, 8.
- Goulding, M. 1997. *História natural dos rios amazônicos*. Sociedade civil Mamirauá/CNPq/Rainforest Alliance, Brasília.
- Graça, W. J da.; Varella, H. R.; Viera, F. G. 2013. Cichlidae. In: Queiroz, L. J., Torrente-Vilara, G., Ohara, W. M., Pires, T. H. da S., Zuanon, J., Doria, C. R. da C. (Orgs). *Peixes do rio Madeira*. V. 3, Santo Antônio Energia, São Paulo.
- Hahn, N. S.; Delariva, R. 2003. Métodos para avaliação da alimentação natural de peixes: o que estamos usando? *Interciencia*, 28: 100-104.
- IBAMA. 2007. Estatística da pesca 2007: Brasil, grandes regiões e unidades da federação. MMA, Brasilia.
- Inomata, S. O.; Freitas, C. C. 2015. Fish landings in Barcelos, in the Middle Negro River Region, Amazonas. In: Garcia, J. M.; Brebbia, C. A. *Ecosystems and Sustainable Development*. WIT press, Southampton.
- Kullander, S. O. 2003. Family Cichlidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, C. J. Jr. (Eds.). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre, Edipucrs, p. 729.
- Lopes, C. de A.; Benedito-Cecilio, E. 2002. Variabilidade isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) em produtores primários de ambientes terrestres e de água doce. *Acta Scientiarum*, 24: 312-2002.
- Manetta, G. I.; Benedito-Cecilio, E.; Martinelli, M. 2003. Carbon sources and trophic position of the main species of Baía River, Paraná River floodplain, Brazil. *Braz. J. Biol*, 63: 283-290.
- Marshall, B.; Forsberg, B. R.; Thomé-Souza, M. 2007. Autotrophic energy sources for *Paracheirodon axelrodi* (Osteichthyes, Characidae) in the middle Negro River, Central Amazon, Brazil. *Hydrobiologia*, 596: 95-103.
- Martinelli, L. A.; Ometto, J. H.; Ferraz, E. S.; Victoria, R. L.; Camargo, P. B.; Moreira, M. Z. 2009. *Desvendando questões ambientais com isotópos estáveis*. Oficina de textos, São Paulo.
- Martinelli, L. A.; Victória, R. L.; Matsui, E.; Forsberg, B. R.; Mozeto, A. A. 1988. Utilização das variações naturais de  $\delta^{13}\text{C}$  no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. *Acta Limnológica Brasileira*, 11: 859-882.
- Miller, T. W. ; Brodeur, R. D. ; Rau, G. ; Omori, K. 2010. Prey dominance shapes trophic structure of the northern California Current pelagic food web: evidence from stable isotopes and diet analysis. *Marine ecology progress series*, 420: 15-26.

- Minagawa, M.; Wada, E. 1984. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica et Cosmochimica*, 48: 1135-1140.
- Montecinos, S.; Castro, L. R.; Neira, S. 2016. Stable isotope ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) and trophic position of Patagonian sprat (*Sprattus fuegensis*) from the Northern Chilean Patagonia. *Fisheries Research*, 179: 136-147.
- Mortillaro, J. M.; Passarelli, C.; Abril, G.; Hubas, C.; Alberic, P.; Artigas, L. F.; Meziane, T. 2016. The fate of C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub> macrophyte carbon in central Amazon floodplainwaters: Insights from a batch experiment. *Limnologica*, 59: 90-98.
- Mortillaro, J. M.; Pouilly, M.; Wach, M.; Freitas, C. C.; Abril, G.; Meziane, T. 2015. Trophic opportunism of central Amazon floodplain fish. *Freshwater Biology*.
- MPA. 2013. Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. Brasilia.
- Nielsen, J. M. 2015. *Species interactions and energy transfer in aquatic food webs*. Holmbergs, Malmö, Sweden.
- Oliveira, A. C. B.; Soares, M. G. M.; Martinelli, L. A.; Moreira, M. Z. 2006. Carbon sources of fish in an Amazonian floodplain lake. *Aquat. Sci*, 229-238.
- Pereira, A. L.; Benedito, E. 2007. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. *Revista de biociências*, 16-27.
- Phillips, D. L.; Inger, R.; Bearhop, S.; Jackson, A. L.; Moore, J. W.; Parnell, A. C.; Semmens, B. X.; Ward, E. J. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in foodweb studies. *Canadian Journal of Zoology* 92: 823–835.
- Post, D. M. 2002. Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. *Ecology*, 83: 703-718.
- Rabelo, H.; Araújo-Lima, C. A. R. M. 2002. A dieta e o consumo diário e alimento de *Cichla monoculus* na amazônia central. *Acta amazonica*, 32: 707-724.
- Roach, K. A.; Winemiller, K. O.; Layman, C. A.; Zeug, S. C. 2009. Consistent trophic patterns among fishes in lagoon and channel habitats of a tropical floodplain river: evidence from stable isotopes. *Acta Oecologica*, 513-522.
- Silva, A. L.; Begossi, A. 2009. Biodiversity, food consumption and ecological niche dimension: A study case of the riverine populations from the Rio Negro, Amazonia, Brazil. *Environment, Development and Sustainability*, 11:489-507.
- Smylie, M.; Shervette, V.; McDonough, C. 2015. Prey composition and ontogenetic shift in coastal populations of longnose gar *Lepisosteus osseus*. *Journal of Fish Biology*, 87: 895-911.
- Terborgh, J. W. 2015. Toward a trophic theory of species diversity. *PNAS*, 112: 11415-11422.

- Vander Zanden, J. M.; Cabana, G.; Rasmussen, J. B. 1997. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and literature dietary data. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 1142-1158.
- Thomé-Souza, M., Forsberg, B. R., & carvalho, A. L. (2014). 2014. *Peacock bass mortality associated with catch-and- release sport fishing in the Negro River, Amazonas State, Brazil*, 44, pp. 527-532.
- Watson, C. L.; Stewart, D. J.; Teece, M. A. 2013. Trophic ecology of Arapaima in Guyana: giant omnivores in Neotropical floodplains. *Neotropical Ichthyology*, 11.
- Willis, S. C.; Winemiller, K. O.; Montaña, C.; Macrander, J.; Reiss, D.; Farias, I . P.; Ortí, G. 2015. Population genetics of the speckled peacock bass (*Cichla temensis*), South America's most important inland sport fishery. *Conservation Genetics*, 16: 1345-1357.
- Zuluaga-Gómez, M. A.; Fitzgerald, D. B.; Giarrizzo, T.; Winemiller, K. O. 2016. Morphologic and trophic diversity of fish assemblages in rapids of the Xingu River, a major Amazon tributary and region of endemism. *Environ. Biol. Fish.*, 99: 647-658.