

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE  
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

GISLAINE IACHSTEL MANETTA

**A utilização dos isótopos estáveis ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) na contribuição das fontes de carbono e posição trófica de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*, na planície de inundação do alto rio Paraná**

Maringá  
2006

GISLAINE IACHSTEL MANETTA

**A utilização dos isótopos estáveis ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) na contribuição das fontes de carbono e posição trófica de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*, na planície de inundação do alto rio Paraná**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais.

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Evanilde Benedito

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Andréa Bialetzki

Maringá  
2006

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"  
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

M275u Manetta, Gislaine Iachstel, 1974-  
A utilização dos isótopos estáveis ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) na contribuição das fontes de carbono e posição trófica de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*, na planície de inundação do alto rio Paraná / Gislaine Iachstel Manetta. -- Maringá, 2006.

47 f. : il. (algumas color.).

Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2006.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Evanilde Benedito.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andréa Bialetzki.

1. *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes) "curvina" - Bioenergética ecológica - Isótopos estáveis - Planície de inundação - Alto rio Paraná. 2. *Hypophthalmus edentatus* (Siluriformes) "mapara" - Bioenergética ecológica - Isótopos estáveis - Planície de inundação - Alto rio Paraná. 3. Isótopos estáveis - Planície de inundação - Alto rio Paraná. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 22. ed. -597.1761309816  
NBR/CIP - 12899 AACR/2

## FOLHA DE APROVAÇÃO

GISLAINE IACHSTEL MANETTA

**A utilização dos isótopos estáveis ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) na contribuição das fontes de carbono e posição trófica de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*, na planície de inundação do alto rio Paraná**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais pela comissão julgadora composta pelos membros:

### COMISSÃO JULGADORA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Evanilde Benedito (Presidente)  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andréa Bialetzki  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rosseval Galdino Leite  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosilene Luciana Delariva  
Centro Universitário de Maringá (CESUMAR)

Prof. Dr. Fábio Amadêo Lansac-Tôha  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Dr. Claudemir Martins Soares  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 11 de agosto de 2006.

Local de defesa: Anfiteatro Prof. “Keshiyu Nakatani”, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

*A **Deus***

*... que me deu coragem, força, paz e sabedoria para vencer todas as dificuldades e alcançar mais esta vitória;*

*Ao **Antonio Carlos***

*... meu amado, que caminhou comigo, lado a lado na busca deste ideal.*

*As minhas filhas **Mariana e Maiara***

*... que é alegria da minha vida, tesouro precioso que Deus me concedeu;*

*Aos meus pais **Gino e Albertina***

*... que tanto me amam e sempre me deram todas as condições para eu chegar até aqui;*

*Aos meus irmãos **Francislei e Giscarle***

*... que compartilharam e torceram pelos meus sonhos;*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Evanilde Benedito e a coorientadora Andréa Bialetzki pela oportunidade, confiança e orientação na realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Keshiyu Nakatani que primeiramente me acolheu e aceitou o desafio de trabalharmos juntos, mas agora se encontra no paraíso;

A equipe do laboratório de Ictioplâncton que me auxiliaram nas coletas, na triagem e nos momentos difíceis;

Especialmente ao Gazo e Tião, que sempre foram muito prestativos quando realizaram as minhas coletas extras;

Os meninos e meninas do laboratório de Ecologia Energética que para sempre estarão registrados no meu coração;

A minha querida mãe que muitas vezes largou seus afazeres para cuidar da Maiara nas disciplinas de campo;

As secretárias do curso de Pós-graduação Aldenir e Mércia, pelo auxílio prestado;

Ao NUPELIA (Núcleo de Pesquisa em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura) que me acolheu com tanto carinho, fornecendo sempre o apoio necessário;

Ao CNPq pelo suporte financeiro para aquisição do material, realização de coletas e concessão de bolsa de pesquisa;

A minha amiga irmã que não tive Lole, fontes de oração pela minha vida e imprescindíveis na caminhada;

A todos os demais amigos, professores e funcionários que de alguma forma contribuíram para tornar possível a realização deste trabalho.

**A utilização dos isótopos estáveis ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) na contribuição das fontes de carbono e na posição trófica de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*, na planície de inundação do alto rio Paraná**

**RESUMO**

O estudo (1) investiga a composição isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  entre as amostras congeladas (controle), em álcool e em formol; (2) identifica as variações intraespecíficas quanto aos valores isotópicos  $\delta^{15}\text{N}$ , durante as fases de desenvolvimento larval; (3) estima as posições tróficas com base no alimento consumido (dieta) e assimilado ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e (4) analisa, através  $\delta^{13}\text{C}$ , se o produtor primário assimilado nos estágios iniciais continua sendo a mesmo requerido nos estágios juvenil e adulto, de *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) e *Hypophthalmus edentatus* (Hypophthalmidae). As amostragens mensais concentraram-se no período de desova das espécies, no rio Ivinheima, na planície de inundação do alto rio Paraná e dos adultos no rio Paraná. De cada indivíduo juvenil e adulto foi extraída uma faixa de músculo localizada na região acima da linha lateral, a qual foi subdividida em três partes iguais: congelada ( $-15^{\circ}\text{C}$ ), em álcool 70% e em formol 4%. Os espécimes de larvas conservadas em álcool foram agrupados, de acordo com o grau de desenvolvimento da notocorda em: pré-flexão, flexão e pós-flexão. As amostras foram secas em estufa de ventilação a  $60^{\circ}\text{C}$  por 48 horas e maceradas até a obtenção de pó e enviadas para a determinação isotópica. As posições tróficas foram estimadas com base no valor isotópico de nitrogênio ( $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ) e através da dieta ( $\text{PTM}_d$ ). Constatou-se que os valores isotópicos de carbono das amostras conservadas em álcool foram enriquecidos, quando comparados com as controle, ao passo que, as amostras em formol tiveram valores deplecionados. Os valores isotópicos de nitrogênio, tanto para as amostras conservadas em álcool, quanto em formol, foram enriquecidos quando comparados aos valores daquelas congeladas, sendo estes independentes dos conservantes utilizados. Durante o desenvolvimento ontogenético, apenas *P. squamosissimus* exibiu variações isotópicas  $\delta^{15}\text{N}$ . As  $\text{PTM}_d$  ocuparam o mesmo nível trófico (terceiro) das  $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ , nas fases de desenvolvimento. A ordem decrescente das contribuições das fontes primárias identificadas para as espécies foi fitoplâncton, vegetação ripária, macrófita  $\text{C}_3$ , perifíton e macrófita  $\text{C}_4$ . Assim, no intuito de conservar os principais produtores primários, as intervenções antrópicas que afetam a comunidade fitoplanctônica e a estrutura da vegetação ripária devem ser minimizadas.

**Palavras-chave:**  $\delta^{13}\text{C}$ .  $\delta^{15}\text{N}$ . Conservantes. Posição trófica. Ontogenia. Peixes. Fonte de carbono.

**The use of stable isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) in the contribution of carbon sources and in the trophic position of *Plagioscion squamosissimus* and *Hypophthalmus edentatus* in the floodplain of the Paraná River**

**ABSTRACT**

The present study (1) investigates the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  isotopic composition in frozen samples (control), samples in alcohol and in formaldehyde (2) identify intraspecific variations in isotope values during the stages of larval development, and (3) estimate the trophic positions based on food intake (diet) and assimilation ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and (4) analyzes, using  $\delta^{13}\text{C}$ , if the primary producer assimilated continues being the same one required by the juvenile and adults *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) and *Hypophthalmus edentatus* (Hypophthalmidae). The monthly samplings were concentrated during the spawning season of the species, in the Ivinheima River, located in the Upper Paraná River floodplain and adults on the Parana River. From each individual we extracted a strip of muscle from the region above the lateral line, in the dorsal fin base, that was divided into three equal parts, each one was submitted to one type of treatment: freeze ( $-15^{\circ}\text{C}$ ), conservation in alcohol 70% and fixation in formaldehyde 4%. The specimens were grouped, according to level of notochord development, into: preflexion, flexion and postflexion stages. Afterwards, they were dried up in air oven at  $60^{\circ}\text{C}$  for 48 hours and macerated until the obtaining of a fine powder and sent to the determination isotopic. Trophic positions were estimated based on the isotope value of nitrogen ( $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ) and from the diet ( $\text{PTM}_d$ ). The carbon isotopic values of samples in alcohol were mostly enriched compared to control, whereas the samples in formaldehyde presented depleted values. The nitrogen isotopic values for both samples preserved in alcohol and formaldehyde were enriched when compared to the values of frozen samples, independently of used preservatives. During the different stages of development, only for *P. squamosissimus*, there were significant differences in the isotope values of  $\delta^{15}\text{N}$ . The trophic positions calculated based on diet composition ( $\text{PTM}_d$ ) occupied the same trophic level (third) of  $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ , during the developmental stages. The order of the contributions of the primary sources for the species was identified phytoplankton, riparian vegetation,  $\text{C}_3$  macrophytes, periphyton and  $\text{C}_4$  macrophyte. Thus, in order to keep the main primary producers, the human interventions that affect phytoplankton community and structure of riparian vegetation should be minimized.

**Keywords:**  $\delta^{13}\text{C}$ .  $\delta^{15}\text{N}$ . Preservative. Trophic position. Ontogeny. Fish. Carbon source.

Os tópicos 2, 3, 4 desta tese foram elaborados conforme as normas da publicação científica *Acta Scientiarum*. Disponível

em:<<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/about/submissions#onlineSubmissions>>;

*Anais da Academia Brasileira de Ciências*.

Disponível em:

<[http://www.scielo.br/revistas/aabc/iinstruc.htm#Preparation of originals](http://www.scielo.br/revistas/aabc/iinstruc.htm#Preparation%20of%20originals)>;

*Revista de Biologia Tropical*. Disponível

em:<<http://www.scielo.sa.cr/revistas/rbt/pinstruc.htm>>

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	10
2	<b>EFEITO DO ÁLCOOL E FORMOL SOBRE A COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE <math>^{13}\text{C}</math> E DE <math>^{15}\text{N}</math> EM <i>PLAGIOSCION SQUAMOSISSIMUS</i> E <i>HYPOPHTHALMUS EDENTATUS</i></b>	
2.1	INTRODUÇÃO.....	12
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
2.3	RESULTADOS.....	14
2.3.1	Efeitos dos conservantes sobre o $\delta^{13}\text{C}$ .....	14
2.3.2	Efeito dos conservantes sobre o $\delta^{15}\text{N}$ .....	15
2.4	DISCUSSÃO.....	16
	REFERÊNCIAS.....	18
3	<b>VARIABILIDADE NA POSIÇÃO TRÓFICA DE LARVAS DE PEIXES, NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ, BASEADO NO <math>\delta^{15}\text{N}</math></b>	
3.1	INTRODUÇÃO.....	22
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.2.1	Isótopos Estáveis de Nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ).....	24
3.2.2	Análise do conteúdo estomacal.....	24
3.2.3	Posição Trófica das larvas de peixes.....	24
3.4	RESULTADOS.....	25
3.4.1	Variação ontogênica do $\delta^{15}\text{N}$ .....	25
3.4.2	Posição Trófica.....	27
3.5	DISCUSSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	31
4	<b>FONTE DE ENERGIA PARA <i>PLAGIOSCION SQUAMOSISSIMUS</i> (HECKEL, 1840) E <i>HYPOPHTHALMUS EDENTATUS</i> (SPIX, 1829) NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ</b>	
4.1	INTRODUÇÃO.....	36
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.3	RESULTADOS.....	38
4.3.1	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ de <i>Plagioscion squamosissimus</i> e de <i>Hypophthalmus edentatus</i> .....	38
4.3.2	Fontes de energia para <i>P. squamosissimus</i> e <i>H. edentatus</i> .....	40
4.4	DISCUSSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS.....	44
5	<b>CONCLUSÃO GERAL</b>	47
1	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	

O sucesso biológico de cada indivíduo pode ser aferido de sua capacidade em se fazer representar geneticamente nas próximas gerações. No alto rio Paraná, os fatores ambientais de maior relevância como força seletiva parecem ter sido aqueles relacionados ao regime de cheias, assim como a desova e densidade de ovos, larvas e juvenis atestam esta importância. O estudo do ictioplâncton tem-se mostrado importante para o entendimento dos eventos que ocorrem neste período de ciclo de vida, tais como aspectos relacionados à variação ontogenética na alimentação e ao monitoramento dos estoques. Na fase larval, os peixes são muito susceptíveis às oscilações que ocorrem no meio ambiente e à predação.

Desta forma, com base na composição isotópica de tecidos dos consumidores, tem-se a indicação precisa do item assimilado dentre aqueles ingeridos. Os animais não alteram substancialmente a composição isotópica do carbono de seu alimento, e assim, é possível avaliar sua dependência relativa sobre as distintas categorias dos produtores primários.

Em contraste às técnicas usuais de estudo de dieta (observação da seleção do alimento e/ou análise do conteúdo estomacal), a análise isotópica de nitrogênio fracionado consistentemente ao longo da teia trófica, permite inferências acerca da posição trófica dos consumidores.

Na planície de inundação do alto rio Paraná, no rio Ivinheima serão analisadas as variações ontogenéticas de *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) e *Hypophthalmus edentatus* (Hypophthalmidae) através do valor isotópico de carbono e do nitrogênio.

## **2 EFEITO DO ÁLCOOL E FORMOL SOBRE A COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE <sup>13</sup>C E DE <sup>15</sup>N EM *PLAGIOSCION SQUAMOSISSIMUS* E *HYPOPHTHALMUS EDENTATUS***

## Resumo

O presente estudo investiga a composição isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  entre as amostras congeladas (controle), em álcool e em formol de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*. De cada indivíduo foi extraída uma faixa de músculo localizada na região acima da linha lateral, na base da nadadeira dorsal, a qual foi subdividida em três partes iguais, sendo cada uma delas submetida a um tipo de tratamento: congelamento – grupo controle ( $-15^{\circ}\text{C}$ ), conservação em álcool 70% e fixação em formol 4%. As amostras foram mantidas nos referidos tratamentos por 30 dias, enxaguadas e submersas em água destilada por 4h. Em seguida, foram secas em estufa de ventilação a  $60^{\circ}\text{C}$  por 48 horas e maceradas até a obtenção de pó. Identificou-se diferença significativa nos valores isotópicos de carbono e de nitrogênio, entre o controle e as amostras de álcool e as de formol, com exceção do  $\delta^{13}\text{C}$  das amostras mantidas em formol de *H. edentatus*. Constatou-se que os valores isotópicos de carbono das amostras conservadas em álcool foram, na sua maioria, enriquecidos quando comparados com as controle, ao passo que, as amostras em formol tiveram valores deplecionados em relação ao controle. Os valores isotópicos de nitrogênio, tanto para as amostras conservadas em álcool, quanto em formol, foram enriquecidos quando comparados aos valores daquelas congeladas, sendo estes independentes dos conservantes utilizados. Assim, a correção isotópica deve ser realizada de acordo com o isótopo e o conservante empregado para espécies de peixe de água doce.

**Palavras-chaves:** Isótopos estáveis. Conservantes. Peixes. *Plagioscion squamosissimus*. *Hypophthalmus edentatus*.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  são os mais comumente utilizados em ecologia para identificação das fontes de energia e posição trófica, respectivamente (FRY; SHERR, 1984, ARAUJO-LIMA et al., 1986; VANDER ZANDEN et al., 1999). É essencial reconhecer os padrões espaciais e temporais do fluxo de energia em ecossistemas, para que se possa melhor compreender o seu funcionamento, bem como planejar e manejar impactos.

Neste sentido, séries temporais e espaciais de amostragens, muitas vezes são necessárias, entretanto nem sempre disponíveis. A utilização de amostras conservadas em formol ou álcool possibilita tal investigação. Para tanto, o conhecimento das alterações causadas por conservantes e possíveis correções dos valores isotópicos de carbono e de nitrogênio, torna-se imprescindível na reconstituição de cadeias alimentares, especialmente em ecossistemas submetidos à perturbações antrópicas (VANDER ZANDEN et al., 2003; PEASE et al., 2006).

Vander Zanden et al. (2003), utilizando amostras mantidas em museus, reconstruiu a cadeia alimentar da comunidade de peixes nativos no lago Tahoe (Califórnia, USA), com o objetivo de compará-la com a atual e identificar mudanças no fluxo de energia provocadas pelo efeito de espécies invasoras. Da mesma forma, Rau et al. (2003), entre 1951 e 2001, utilizando amostras conservadas, identificou a variabilidade de  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  de zooplâncton, na costa da Califórnia Central. Pease et al. (2006) analisaram larvas e juvenis de peixes do Novo México conservados, e identificaram as fontes de nutrientes e as posições tróficas desses organismos.

Desta forma, com o intuito de aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos em trabalhos envolvendo amostras conservadas, alguns estudos têm analisado a ação dos conservantes sobre os valores isotópicos do zooplâncton (RAU et al., 2003), de invertebrados e peixes marinhos (BOSLEY; WAINRIGHT, 1999; KAEHLER; PAKHOMOV, 2001; SARAQUINOS et al., 2002; ARRINGTON; WINEMILLER, 2002). Considerando os atributos fisiológicos específicos das espécies de água doce, relacionados ao pH corpóreo, ao transporte de gases e ao equilíbrio osmótico e iônico (RANDALL et al., 2000), cabe ainda uma investigação detalhada do efeito de conservantes sobre essas espécies.

A análise dos isótopos estáveis requer amostras livres de impurezas, e sem qualquer contaminação que venham a interferir no seu real valor isotópico. Em geral, estudos ecológicos, exigem a realização de amostragens de campo em ambientes distantes do local onde a infra-estrutura é adequada para a manutenção do material biológico. Muitas vezes, o uso de substâncias conservantes é imprescindível para a obtenção de amostras livres de microorganismos.

Nesse sentido, o presente estudo investiga a composição isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  entre as amostras congeladas (controle), em álcool e em formol de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados oito indivíduos adultos de *P. squamosissimus* (Scianidae) e quatro de *H. edentatus*, (Hypophthalmidae), em novembro de 2004, na planície de inundação do alto rio Paraná. De cada indivíduo foi extraída uma faixa de músculo localizada na região acima da linha lateral, na base da nadadeira dorsal, a qual foi subdividida em três partes iguais, sendo cada uma delas submetida a um tipo de tratamento: congelamento – grupo controle ( $-15^{\circ}\text{C}$ ), conservação em álcool 70% e fixação em formol 4%. As amostras foram mantidas nos referidos tratamentos por 30 dias, enxaguadas e submersas em água destilada por 4h. Em seguida, foram secas em estufa de ventilação a  $60^{\circ}\text{C}$  por 48 horas e maceradas até a obtenção de pó fino.

As razões isotópicas de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  foram determinadas no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências da UNESP, (Botucatu – SP). Os valores das razões isotópicas foram expressos em partes por mil (‰) relativos ao padrão internacional *PeeDee Belemnite* (PDB) para o  $^{13}\text{C}$  e o padrão internacional nitrogênio do ar atmosférico para  $^{15}\text{N}$ , de acordo com a seguinte equação geral:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ e } \delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}})-1]*10^3$$

na qual: R representa a razão entre o isótopo menos abundante e o mais abundante, em particular  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ .

As diferenças dos valores isotópicos de carbono e de nitrogênio entre as amostras controle e as conservadas foram avaliadas pelo teste *t* de Student, utilizando o pacote computacional Statistica 7.1 (StatSoft, 2005).

## 2.3 RESULTADOS

### 2.3.1 Efeitos dos conservantes sobre o $\delta^{13}\text{C}$

Constatou-se que, os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  das amostras em formol para ambas as espécies analisadas, foram inferiores àqueles obtidos para o controle. O inverso foi observado para as amostras conservadas em álcool (Tab. I, Fig. 1 e 2). Verificou-se diferenças significativas para os valores isotópicos de carbono entre as amostras controle e submetidas ao álcool, tanto para *P. squamosissimus* ( $T_{\text{Ps}} = 0,39$ ;  $p < 0,05$ ), quanto para *H. edentatus* ( $T_{\text{He}} = -5,66$ ;  $p < 0,05$ ). Entretanto, para aquelas conservadas em formol, observou-se diferenças significativas para *P.*

*squamosissimus* ( $T_{Ps} = 0,39$ ;  $p < 0,05$ ), não sendo verificado o mesmo para *H. edentatus* ( $T_{He} = 2,73$ ;  $p > 0,05$ ).

Tabela I- Valores isotópicos de carbono e médias e desvios-padrão das amostras controle, conservadas em álcool e em formol de *P. squamosissimus* e *H. edentatus* (\* = valores deplecionados em relação ao controle).

<i>Plagioscion squamosissimus</i>		
Controle	Álcool	Formol
-29,55‰	-28,99‰	-29,92‰*
-27,52‰	-27,20‰	-28,45‰*
-31,57‰	-30,92‰	-31,80‰*
-26,58‰	-26,81‰*	-26,51‰
-28,33‰	-27,64‰	-28,69‰*
-25,57‰	-25,85‰*	-26,21‰
-30,37‰	-29,91‰	-31,00‰*
-29,35‰	-28,84‰	-30,27‰*
$\bar{X} = -28,60 \pm 1,99$	$-28,27 \pm 1,69$	$-29,10 \pm 2,02$
<i>Hypophthalmus edentatus</i>		
-29,61‰	-29,31‰	-30,35‰*
-30,85‰	-30,42‰	-31,57‰*
-29,19‰	-28,80‰	-30,01‰*
-36,36‰	-35,69‰	-36,31‰
$\bar{X} = -31,50 \pm 3,31$	$-31,05 \pm 3,16$	$-32,06 \pm 2,91$

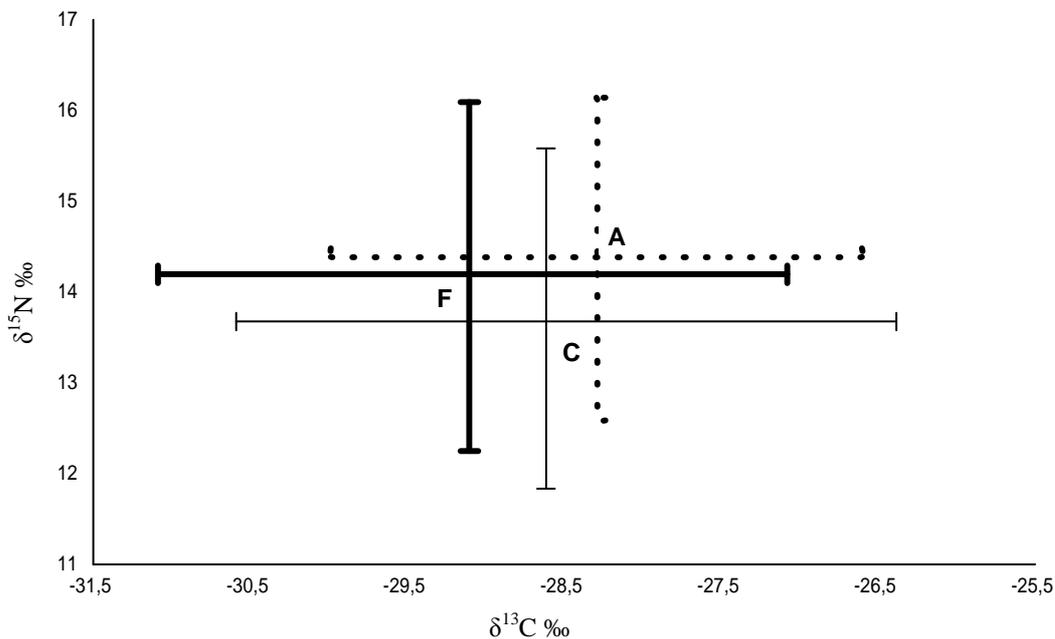


Figura 1- Valores isotópicos médios de carbono e nitrogênio e desvios- padrão das amostras controle (C), em álcool (A) e em formol (F) de *Plagioscion squamosissimus*.

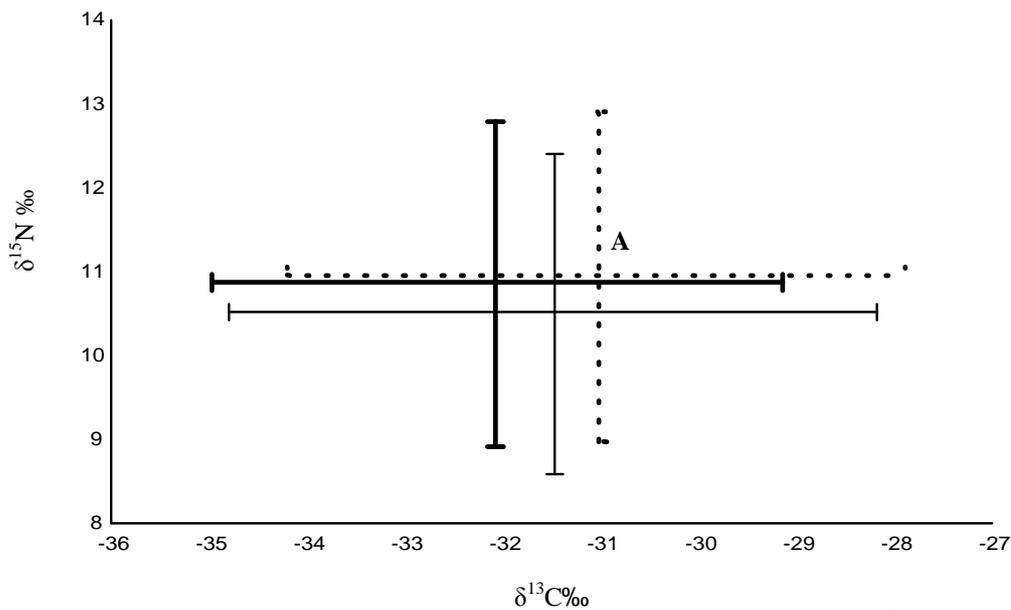


Figura 2- Valores isotópicos médios de carbono e nitrogênio e desvios-padrão das amostras controle (C) em álcool (A) e em formol (F) de *Hypophthalmus edentatus*.

Para *P. squamosissimus*, a diferença isotópica média de carbono, e o desvio padrão, entre as amostras controle e aquelas conservadas em álcool foi de  $0,33 \pm 0,36\text{‰}$  e em formol foi de  $0,50 \pm 0,34\text{‰}$ . Da mesma forma, constatou-se para *H. edentatus*, diferença média de  $0,45 \pm 0,16\text{‰}$  para amostras em álcool e, de  $0,56 \pm 0,41\text{‰}$  para aquelas em formol.

### 2.3.2 Efeito dos conservantes sobre o $\delta^{15}\text{N}$

Os valores isotópicos de nitrogênio das amostras de músculo de *P. squamosissimus* e *H. edentatus* conservadas, tanto em formol quanto em álcool, estiveram enriquecidas em  $\delta^{15}\text{N}$  em relação ao controle (Tab. II; Figs 1 e 2).

Constatou-se diferença significativa para *P. squamosissimus* e *H. edentatus* nos valores isotópicos de nitrogênio das amostras controle e conservadas em álcool ( $T_{\text{Ps}} = -12,62$ ;  $p < 0,05$ ); ( $T_{\text{He}} = -4,62$ ;  $p < 0,05$ ), e em formol ( $T_{\text{Ps}} = -17,03$ ;  $p < 0,05$ ), ( $T_{\text{He}} = -9,35$ ;  $p < 0,05$ ), respectivamente.

Tabela II - Valores isotópicos de nitrogênio e as médias e desvios-padrão das amostras congeladas, conservadas em álcool e em formol de *P. squamosissimus* e *H. edentatus*.

<i>Plagioscion squamosissimus</i>		
Congelada	Álcool	Formol
12,50‰	13,27‰	12,98‰
13,26‰	13,88‰	13,71‰
11,87‰	12,86‰	12,47‰
16,63‰	17,47‰	17,31‰
12,94‰	13,61‰	13,64‰
16,65‰	17,14‰	17,28‰
12,21‰	12,79‰	12,85‰
13,33‰	14,01‰	13,82‰
$\bar{X} = 13,67 \pm 1,89$	$14,38 \pm 1,86$	$14,25 \pm 1,93$
<i>Hypophthalmus edentatus</i>		
10,25‰	10,41‰	10,53‰
13,30‰	13,86‰	13,73‰
9,07‰	9,55‰	9,42‰
9,42‰	9,98‰	9,88‰
$\bar{X} = 10,51 \pm 1,92$	$10,95 \pm 1,97$	$10,89 \pm 1,94$

As diferenças isotópicas médias de nitrogênio, para *P. squamosissimus*, entre o grupo controle e amostras em álcool foi de  $0,64 \pm 0,26‰$ , enquanto para o formol foi de  $0,58 \pm 0,19‰$ . Para *H. edentatus*, essa diferença isotópica foi de  $0,44 \pm 0,19‰$  para o álcool e de  $0,40 \pm 0,08‰$  para o formol.

## 2.4 DISCUSSÃO

A maioria dos valores isotópicos de carbono obtidos em amostras conservadas em álcool, para ambas as espécies analisadas no presente estudo, esteve enriquecida se comparada com os valores verificados para as amostras controle. Por outro lado, as amostras mantidas em formol tiveram seus valores isotópicos de carbono deplecionados. Assim,  $\delta^{13}\text{C}$  alteraram-se, diferentemente do conservante utilizado. Enquanto que, os valores isotópicos de nitrogênio das amostras conservadas, tanto em álcool quanto em formol, foram enriquecidos em relação ao controle, sendo independente do conservante.

Estudos têm verificado que os valores isotópicos de carbono são deplecionados, enquanto que os de nitrogênio são enriquecidos quando as amostras de músculos de peixes são mantidas em formol seguidas de álcool (ARRINGTON; WINEMILLER, 2002; BOSLEY; WAINRIGHT, 1999); em formol (EDWARDS et al., 2002, BOSLEY; WAINRIGHT, 1999); e em sal (ARRINGTON; WINEMILLER, 2002;). Desta forma, constata-se que independentemente da substância utilizada para preservar os tecidos, os valores isotópicos de carbono tornaram-se enriquecidos e os de nitrogênio deplecionados. Por outro lado, quando

foram analisadas apenas amostras conservadas em álcool, como é o caso deste trabalho e o de Sarakinos et al. (2002), os valores isotópicos de carbono tornaram-se enriquecidos. Uma das justificativas para explicar o efeito dos conservantes formalina-etanol sobre o sinal isotópico de carbono no tecido, é a menor quantidade de lipídios nos tecidos conservados em álcool e de proteínas para aqueles conservados em formol. Esta informação é reforçada por Benedito-Cecilio e Morimoto (2002).

Após a constatação que os isótopos estáveis têm seus valores modificados pelos conservantes, alguns autores como Vander Zanden et al. (2003) e Pease et al. (2006) corrigiram os valores isotópicos de carbono e nitrogênio, para músculos de peixes, mantidos em formalina ou em formol seguido de álcool, considerando deplecionamento de  $\delta^{13}\text{C}$  (média  $\pm$  SE;  $-1,12\text{‰} \pm 0,23$ ) e enriquecimento de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $0,53\text{‰} \pm 0,15$ ). No entanto, quando as amostras foram mantidas em álcool, a média de enriquecimento para  $\delta^{13}\text{C}$  de  $0,45 \pm 0,20$  e para  $\delta^{15}\text{N}$  de  $0,07 \pm 0,10$  (Vander Zanden et al., 2003).

Para ambas as espécies analisadas no presente estudo, destacam-se que as diferenças observadas nos valores isotópicos de carbono, entre as amostras controle e aquelas em álcool ( $0,4\text{‰}$ ), foram semelhantes a de Vander-Zander et al. (2003), indicando ser este valor apropriado para corrigir amostras neste conservante. No entanto, para o formol, os valores médios registrados ( $0,5 \text{‰}$ ) foram inferiores aos sugeridos pelos mesmos autores. Pode-se supor que esta diferença constatada esteja relacionada à metodologia de preservação utilizada pelos autores, com a imersão das amostras em dois meios líquidos diferentes: fixação em formol seguida da conservação em álcool.

Em suma, os músculos das espécies de peixes adultos de água doce analisados tiveram os valores isotópicos de carbono e de nitrogênio alterados. Desta forma, pode-se considerar que a manutenção de material biológico, em meios com álcool 70% ou formol 4% interfere significativamente sobre os valores isotópicos de carbono e de nitrogênio, com exceção das amostras de  $\delta^{13}\text{C}$  para *H. edentatus*, mantidas em formol. Deve-se considerar para a correção, que os valores de carbono são dependentes dos conservantes utilizados, enquanto que, para os valores isotópicos de nitrogênio estes são independentes. Sendo assim, recomenda-se, na necessidade de utilização de um dos conservantes, que a correção seja realizada de acordo com o isótopo utilizado e o conservante empregado.

#### Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo projeto Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Agradecemos a Michele Faveri Gimenes pela ajuda na

coleta dos exemplares; a Sandra Moura e Maria Dolores Lassala e Célia de Almeida Lopes pela leitura crítica do manuscrito; e a Dr. Luiz Carlos Gomes pela revisão do Abstract. Ao Nupélia pelo apoio logístico.

## REFERÊNCIAS

ARRINGTON, A.D; WINEMILLER, K.O. Preservation Effects on Stable Isotope Analysis of Fish Muscle. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 131, p. 337-342, 2002.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M; FORSBERG, B.R; VICTORIA, R; MARTINELLI, L.A. Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. **Science**, v. 234, no. 4781, p. 1256-1258, 1986.

BENEDITO-CECÍLIO, E; MORIMOTO, M. Effect of preservatives on caloric density in the muscles of *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae). **Acta Scientiarum**, v. 24, no. 2, p. 489-492, 2002.

BOSLEY, L.K; WAINRIGHT, S.C. Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios ( $^{15}\text{N}:$  $^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}:$  $^{14}\text{C}$ ) of two species of marine animals. **Canadian Journal Fisheries Aquatic Science**, v. 56, p. 2181-2185, 1999.

EDWARDS, S.M; TURNER, T.F; SHARP, Z.D. Short- and long-term effects of fixation and preservation on stable isotope values ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{34}\text{S}$ ) of fluid-preserved museum specimens. **Copeia**, no. 4, p. 1106-1112, 2002.

FRY, B; SHERR, E. B.  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. **Contributions in Marine Science**, v. 27, p. 15-47, 1984.

KAEHLER, S; PAKHOMOV, E.A. Effects of storage and preservation on the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signatures of selected marine organisms. **Marine Ecology- Progress Series**, v. 219, p. 299-304, 2001.

PEASE, A.A; DAVIS, J.J; EDWARDS, M.S; TURNER, T.F. Habitat and resource use by larval and juvenile fishes in an arid-land river (Rio Grande, New Mexico). **Freshwater Biology**, v. 51, no. 3, p. 475-486, 2006.

RANDALL, D; BURGGREN, W; FRENCH, K. **Fisiologia Animal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2000.

RAU, H.G.; OHMAN, M.D; PIERROT-BULTS, A. Linking nitrogen dynamics to climate variability off central California: a 51 year record based on  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in CalCOFI zooplankton. **Deep-Sea Research II**, v. 50, p. 2431-2447, 2003.

SARAKINOS, C.H; JOHNSON, M.L; VANDER ZANDEN, M.J. A synthesis of tissue-preservation effects on carbon and nitrogen stable isotope signatures. **Canadian Journal Zoology**, v. 80, p. 381-387, 2002.

STATSOFT INC. Statistica (data analysis software system) version 7.1, [www.statsoft.inc.](http://www.statsoft.inc.), 2005

VANDER ZANDEN, J. M; CHANDRA, S; ALLEN, B.C; REUTER, J.E; GOLDMAN, C.R. Historical food web structure and restoration of native aquatic communities in the lake Tahoe (California-Nevada) basin. **Ecosystems**, v. 6, p. 274-288, 2003.

VANDER ZANDEN, J.M; RASMUSSEN, B.J. Primary consumer  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  and trophic position of aquatic consumers. **Ecology**, v. 80, p. 1395-1404, 1999.

### 3 VARIABILIDADE NA POSIÇÃO TRÓFICA DE LARVAS DE PEIXES, NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ, BASEADO NO $\delta^{15}\text{N}$

#### Resumo

O presente trabalho, analisando as fases larvais de peixes de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*, teve por objetivo: (1) identificar as variações intraespecíficas quanto aos valores isotópicos, durante as fases de desenvolvimento larval e (2) estimar as posições tróficas com base no alimento consumido (dieta) e assimilado ( $\delta^{15}\text{N}$ ). As amostragens mensais concentraram-se no período de desova das espécies, no rio Ivinheima, na planície de inundação do alto rio Paraná. Os espécimes foram agrupados, de acordo com o grau de desenvolvimento da notocorda em: pré-flexão, flexão e pós-flexão. As posições tróficas foram estimadas com base no valor isotópico de nitrogênio ( $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ) e através da dieta ( $\text{PTM}_d$ ). Nas diferentes fases de desenvolvimento de *P. squamosissimus* houve diferença significativa nos valores isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F= 6,10$ ;  $p=0,001$ ), porém para *H. edentatus* não se constatou diferenças significativas ( $F = 0,98$ ;  $p = 0,23$ ). As posições tróficas calculadas com base na composição da dieta ( $\text{PTM}_d$ ) ocuparam o mesmo nível trófico das obtidas através do valor isotópico de nitrogênio ( $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ), nas fases de desenvolvimento. Houve diferença significativa ( $t = 3,67$ ;  $p = 0,02$ ) entre as posições tróficas calculadas com base na dieta e no  $\delta^{15}\text{N}$  para *P. squamosissimus*, enquanto para *H. edentatus*, não existiu diferença significativa ( $t = 1,83$ ;  $p = 0,13$ ), entre os valores de  $\text{PTM}_d$  e  $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ . Conclui-se que apenas *P. squamosissimus* exibiu variações isotópicas durante seu desenvolvimento ontogenético e que ambas as espécies ocuparam posição trófica superior ao 3º. nível, sendo esta maior para as análises realizadas com o uso de  $\delta^{15}\text{N}$ .

**Palavras-chave:** Peixe. Desenvolvimento larval. Posição trófica.  $\delta^{15}\text{N}$ .

Variability in the trophic position of larval fish in the Upper Paraná floodplain based on  $\delta^{15}\text{N}$

### *Abstract*

The objectives of the present study, through the analysis of the larval stages of *Plagioscion squamosissimus* and *Hypophthalmus edentatus*, were to: (1) identify intraspecific variations in isotope values during the stages of larval development, and (2) estimate the trophic positions based on food intake (diet) and assimilation ( $\delta^{15}\text{N}$ ). The monthly samplings were concentrated during the spawning season of the species, in the Ivinheima River, located in the Upper Paraná River floodplain. The specimens were grouped, according to level of notochord development, into: preflexion, flexion and postflexion stages. Trophic positions were estimated based on the isotope value of nitrogen ( $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ) and from the diet ( $\text{PTM}_d$ ). During the different stages of development for *P. squamosissimus*, there were significant differences in the isotope values of  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F = 6.10$ ;  $p = 0.001$ ); for *H. edentatus*, however, no significant differences were found ( $F = 0.98$ ;  $p = 0.23$ ). The trophic positions calculated based on diet composition ( $\text{PTM}_d$ ) occupied the same trophic level as those obtained through the isotope value of nitrogen ( $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ), during the developmental stages. There were significant differences ( $t = 3.67$ ;  $p = 0.02$ ) between the trophic positions calculated based on diet and on  $\delta^{15}\text{N}$  for *P. squamosissimus*, whereas for *H. edentatus*, no significant differences were detected ( $t = 1.83$ ;  $p = 0.13$ ) between the values for  $\text{PTM}_d$  and  $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ . It can be concluded that only *P. squamosissimus* presented isotope variations during ontogenetic development, and that both species occupied a trophic position above the third level – the highest being for analyses conducted using  $\delta^{15}\text{N}$ .

**Keywords:** Fish. Larval development. Trophic position.  $\delta^{15}\text{N}$ .

### 3.1 INTRODUÇÃO

Mudanças ontogênicas na seleção das presas são comuns em muitas espécies de peixes relacionadas às mudanças morfológicas no trato digestório das larvas. A seleção das presas, pelas larvas de peixes, parece ser determinada pelo tamanho, o qual pode estar associado à abertura bucal, bem como, a escolha daqueles itens mais abundantes no ambiente (Makrakis et al., 2005). Ao se desenvolverem, as larvas aumentam de tamanho, ocorrendo à substituição dos tecidos e indicando, diretamente, o valor isotópico de nitrogênio da nova dieta (Vander Zander et al., 1998; Grey, 2001; Gorokhova et al., 2005).

Em contraste às técnicas usuais de estudo de dieta (observação da seleção do alimento e/ou análise do conteúdo estomacal), a análise isotópica de nitrogênio fracionado ao longo da cadeia alimentar, permite inferências acerca da posição trófica dos consumidores. Desta forma, com base na composição isotópica de tecidos dos consumidores, tem-se a indicação precisa do item assimilado dentre aqueles ingeridos (Fry & Arnold, 1982). Os isótopos estáveis de nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) exibem um enriquecimento de 2 a 4‰ da presa ao predador (DeNiro e Epstein, 1981, Minagawa e Wada, 1984; Pinnegar e Polunin, 1999; McCuthan Jr. et al., 2003), sendo que, os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  dos consumidores, quando comparados àqueles dos produtores da base da cadeia alimentar, fornecem uma medida quantitativa e confiável da posição trófica dos organismos (Vander Zanden e Rasmussen, 1999).

A planície de inundação do alto rio Paraná tem uma fauna altamente adaptada as pronunciadas mudanças sazonais dos fatores bióticos e abióticos, impostas pelo regime de inundação. Esse ambiente, com alimento abundante, é reconhecido como berçário natural para várias espécies de peixes. A sub-bacia do rio Ivinheima, localizada no Estado do Mato Grosso do Sul é formada pelos rios Dourado e Brilhante, tendo como rio principal, Vacaria. Esta sub-bacia é formada por várias lagoas marginais, as quais permitem caracterizá-la como criadouro natural de várias espécies de peixes, ou seja, são habitats ideais para desova e o desenvolvimento de larvas (Agostinho et al., 2004). Na planície de inundação do alto rio Paraná analisou-se a variabilidade isotópica de nitrogênio e a posição trófica de algumas espécies de peixes adultos (Lopes et al., 2002; Manetta et al., 2003). O conhecimento do número de níveis tróficos ocupado pelas larvas de peixes de água doce, durante a ontogenia, para este ambiente ainda não foi estudado.

As larvas de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus* foram as mais freqüentes durante o período analisado. *Plagioscion squamosissimus*, quando adulto é considerado piscívoro nos estudos realizados na planície e reservatório de Itaipu por Hahn et

al (1997a), enquanto *H. edentatus* é considerada espécie planctívora por Lansac-Tôha et al (1991) e Hahn et al (1997b).

Deste modo, com o intuito de compreender a cadeia trófica das espécies de peixes *P. squamosissimus* e *H. edentatus*, o presente trabalho teve por objetivo: (1) identificar as variações intraespecíficas quanto aos valores isotópicos, durante as fases de desenvolvimentos; (2) estimar as posições tróficas com base no alimento consumido (dieta) e assimilado ( $\delta^{15}\text{N}$ ).

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostragens mensais concentraram-se no período de desova das espécies, sendo realizadas em outubro de 2003 a março 2004 e outubro de 2004 a março de 2005. As amostras foram obtidas na sub-bacia do rio Ivinheima (Fig. 1), utilizando-se rede de plâncton cônico-cilíndrica ao longo de ciclos nictemerais, com intervalos de quatro horas entre as amostragens.

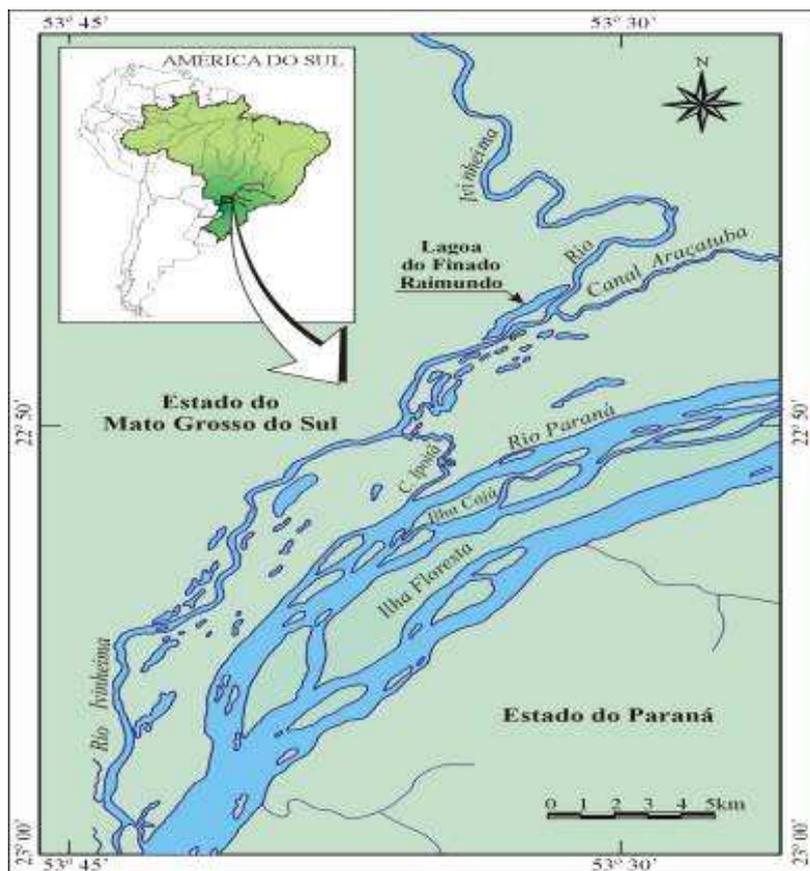


Figura 1: Área de estudo na sub-bacia do rio Ivinheima (planície de inundação do alto rio Paraná).

As larvas de peixes foram quantificadas e identificadas em nível específico. As espécies mais abundantes foram: *Plagioscion squamosissimus* (Heckel 1840) e *Hypophthalmus edentatus* (Spix 1829).

Os espécimes foram agrupados, de acordo com o grau de desenvolvimento da notocorda em: pré-flexão (PF), flexão (F) e pós-flexão (PoF). Para *P. squamosissimus* foram coletadas 9 amostras nas fases de pré-flexão e pós-flexão e 10 amostras na de flexão. Para *H. edentatus*, foram analisadas 3 amostras na fase de pré-flexão, 6 na de flexão e 4 na de pós-flexão.

### 3.2.1 Isótopos Estáveis de Nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ )

Para que o valor isotópico de nitrogênio fosse determinado foi necessário agrupar de 8 a 10 indivíduos para formar uma amostra. De cada exemplar foi retirado o conteúdo estomacal, para que não houvesse interferência na composição isotópica dos itens ingeridos sobre àqueles assimilados nos tecidos dos peixes analisados.

Os espécimes fixados em álcool 70% foram enxaguados em água destilada para retirada do excesso de álcool e após, foram submetidos à secagem em estufa a 60°C, macerados em moinho de esfera até a obtenção de pó fino. Todas as amostras foram enviadas ao CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) para determinação da razão isotópica de carbono e nitrogênio em espectrômetro de massa.

### 3.2.2 Análise do conteúdo estomacal

Foi realizada uma amostragem estocástica dos estômagos, através do programa Biostatic, com sorteio aleatório das larvas e sem reposição.

Na análise da dieta utilizou-se 113 indivíduos de *P. squamosissimus* e 81 de *H. edentatus*, distribuídos nas fases de desenvolvimento de pré-flexão, flexão e pós-flexão.

As larvas, nos estágios de desenvolvimento de pré-flexão e flexão, tiveram seus conteúdos estomacais totais analisados, enquanto que, no estágio de pós-flexão analisou-se 2/3 do tubo digestório, devido ao acentuado grau de digestão dos itens alimentares na porção final deste. Os estômagos das larvas na fase juvenil não foram analisados, devido à insuficiência de amostras.

As frequências de ocorrência dos itens alimentares, por fase de desenvolvimento, foram calculadas através do método de frequência de ocorrência (Hynes, 1950).

### 3.2.3 Posição Trófica das larvas de peixes

A posição trófica obtida com base no valor isotópico de nitrogênio ( $PT_{\delta^{15}N}$ ) foi determinada para cada espécie, conforme Vander-Zanden et al. (1997):

$$PT_{\delta^{15}N} = ((\delta^{15}N_{\text{peixe}} - \delta^{15}N_{\text{fonte}})/2,1) + 1$$

onde:  $\delta^{15}N_{\text{peixe}}$  = o valor médio de  $\delta^{15}N$  da espécie;  $\delta^{15}N_{\text{fonte}}$  = o valor médio de  $\delta^{15}N$  das fontes alóctones e autóctones; 2,1 = fracionamento por nível trófico e 1 = um nível acima dos produtores. O fracionamento de 2,1‰ foi encontrado para amostras inteiras por McCuthan Jr. et al. (2003).

O valor médio isotópico do  $^{15}N$  das fontes alóctones e autóctones (fitoplâncton, vegetação ripária, macrófitas  $C_3$  e  $C_4$  e perifíton) foi de 3,5‰.

A posição trófica média de cada espécie, determinada através da dieta ( $PTM_d$ ), foi estimada pela fórmula de Vander-Zanden et al. (1997):

$$PTM_d = \sum(C_i * T_i) + 1$$

onde:  $C_i$  = contribuição do item alimentar  $i$ ;  $T_i$  = a posição trófica do item alimentar  $i$ , e 1 = um nível trófico acima dos produtores.

Para o cálculo da posição trófica através da dieta, os itens alimentares foram agrupados conforme a classificação proposta também por Vander-Zanden et al. (1997), assumindo-se a posição trófica de 1 para as algas, 2,5 para cladóceros, copépodos, pupas e larvas de inseto e 3,0 *Chaoborus*.

Considerando que os pressupostos de normalidade e de homocedasticidade não foram atendidos por ambas as espécies analisadas, utilizou-se o programa de análise de modelo nulo EcoSim, versão 7.0. O teste t foi utilizado para comparar os valores da posição trófica obtidas por ambas as metodologias. Em todas as análises foi adotado o nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .

## 3.4 RESULTADOS

### 3.4.1 Variação ontogênica do $\delta^{15}N$

Para *Plagioscion squamosissimus* os valores isotópicos médios de nitrogênio aumentaram na proporção que as larvas se desenvolveram: pré-flexão (8,7‰), flexão (9,1‰) e pós-flexão (9,2‰), destacando-se maior amplitude de variação isotópica para a primeira fase de desenvolvimento larval (Fig. 2).

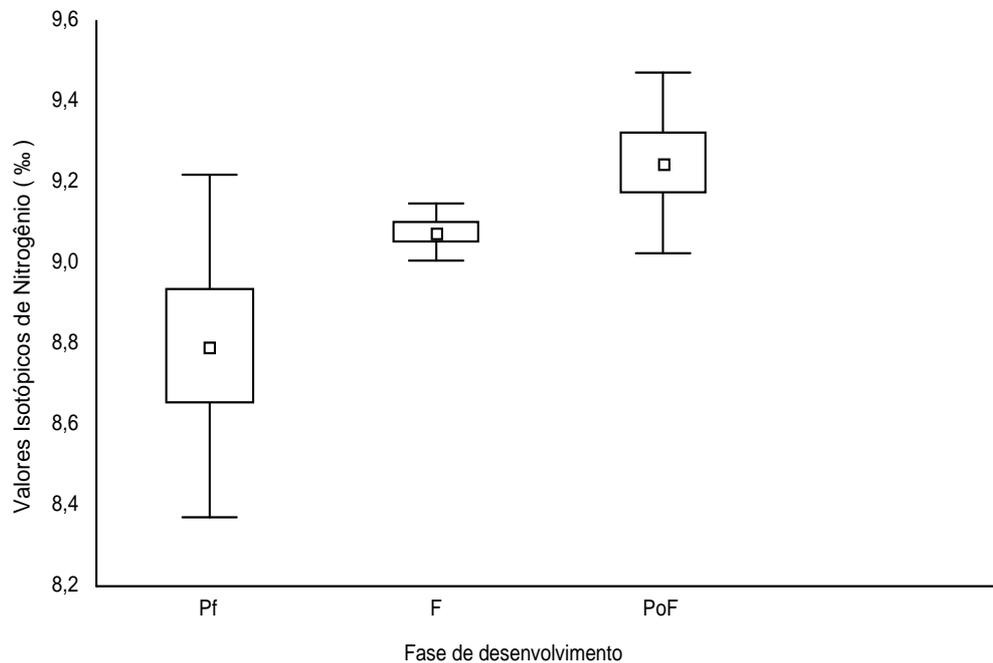


Figura 2 – Valores médios, erro padrão e desvio padrão das amostras isotópicas de nitrogênio, nas fases de pré-flexão (Pf), Flexão (F) e Pós-flexão (PoF) de *Plagioscion squamosissimus*.

Identificou-se diferença significativa entre os valores isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F= 6,10$ ;  $p= 0,001$ ), nas diferentes fases de desenvolvimento.

Os valores médios de nitrogênio para *H. edentatus* não tiveram acréscimo com o desenvolvimento ontogênico, sendo registrados valores na fase de pré-flexão (8,6‰) e próximos aos identificados para a fase flexão (8,7‰), enquanto que, o valor médio na pós-flexão foi o menor observado (8,4‰) (Fig. 3).

Não identificou-se diferenças significativas ( $F = 0,98$ ;  $p = 0,23$ ), nos valores isotópicos de  $^{15}\text{N}$  entre as fases de desenvolvimento.

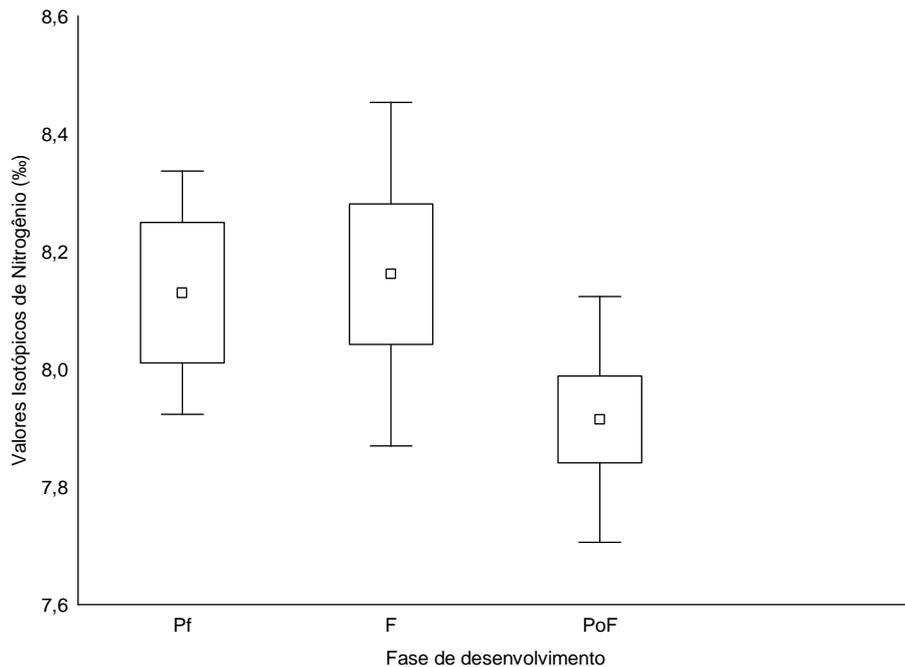


Figura 3 – Valores médios, erro padrão e desvio padrão das amostras isotópicas de Nitrogênio, nas fases de pré-flexão (Pf), Flexão (F) e Pós-flexão (PoF) de *Hypophthalmus edentatus*.

### 3.4.2 Posição Trófica

Os itens alimentares ingeridos nas diferentes fases de desenvolvimento, por ambas as espécies analisadas constituíram-se de algas, copépodos, cladóceros, detrito, larvas e pupas de insetos, além do carnívoro *Chaoborus* sp (Tab. I). Detrito, larvas, pupas e *Chaoborus* foram observados apenas nos conteúdos estomacais de *P. squamosissimus* nas fases de flexão e pré-flexão em pequenas percentagens.

Tabela 1. Número de estômagos analisados (N) e a frequência ocorrência dos itens alimentares na dieta, por estágios de desenvolvimento de *P. squamosissimus* e *H. edentatus*. (al – alga; c – copépodos; cl – cladóceros; d – detrito; li - larva/pupa de inseto; ch - *Chaoborus* sp.).

	N	Frequência de Ocorrência
<b><i>P. squamosissimus</i></b>		
Pré-flexão	25	30% al; 53% cl; 17% c
Flexão	30	22% al; 40% cl; 33% c; 2% d; 3% ch
Pós-Flexão	30	9% al; 60% cl; 24% c; 3% li; 4% ch
<b><i>H. edentatus</i></b>		
Pré-flexão	24	21% al; 79% cp
Flexão	32	17% al; 83% cp
Pós-Flexão	25	14% al; 86% cp

As posições tróficas calculadas para *P. squamosissimus* e *H. edentatus* situaram-se no terceiro nível trófico. Para *P. squamosissimus*, os valores das posições tróficas, calculadas com

base na composição da dieta ( $PTM_d$ ) e de  $\delta^{15}N$  ( $PT_{\delta^{15}N}$ ), foram aumentando à medida que as larvas mudaram de fase. Ao contrário de *H. edentatus*, onde os valores decresceram (Fig.4 A e B).

Foram identificadas diferenças significativas, entre as posições tróficas calculadas com base na dieta e na composição de  $\delta^{15}N$  ( $t= 3,67$ ;  $p= 0,02$ ), para *P. squamosissimus*. Por outro lado, para *H. edentatus* não houve diferenças significativas ( $t= 1,83$ ;  $p= 0,13$ ), entre os valores de  $PTM_d$  e  $PT_{\delta^{15}N}$ .

As  $PTM_d$  apresentaram valores inferiores a  $PT_{\delta^{15}N}$ , em todas as fases de desenvolvimento de *P. squamosissimus*. Para *H. edentatus* os resultados da posição trófica obtidos com ambas as metodologias foram semelhante na fase de pós-flexão (Fig.4 A e B).

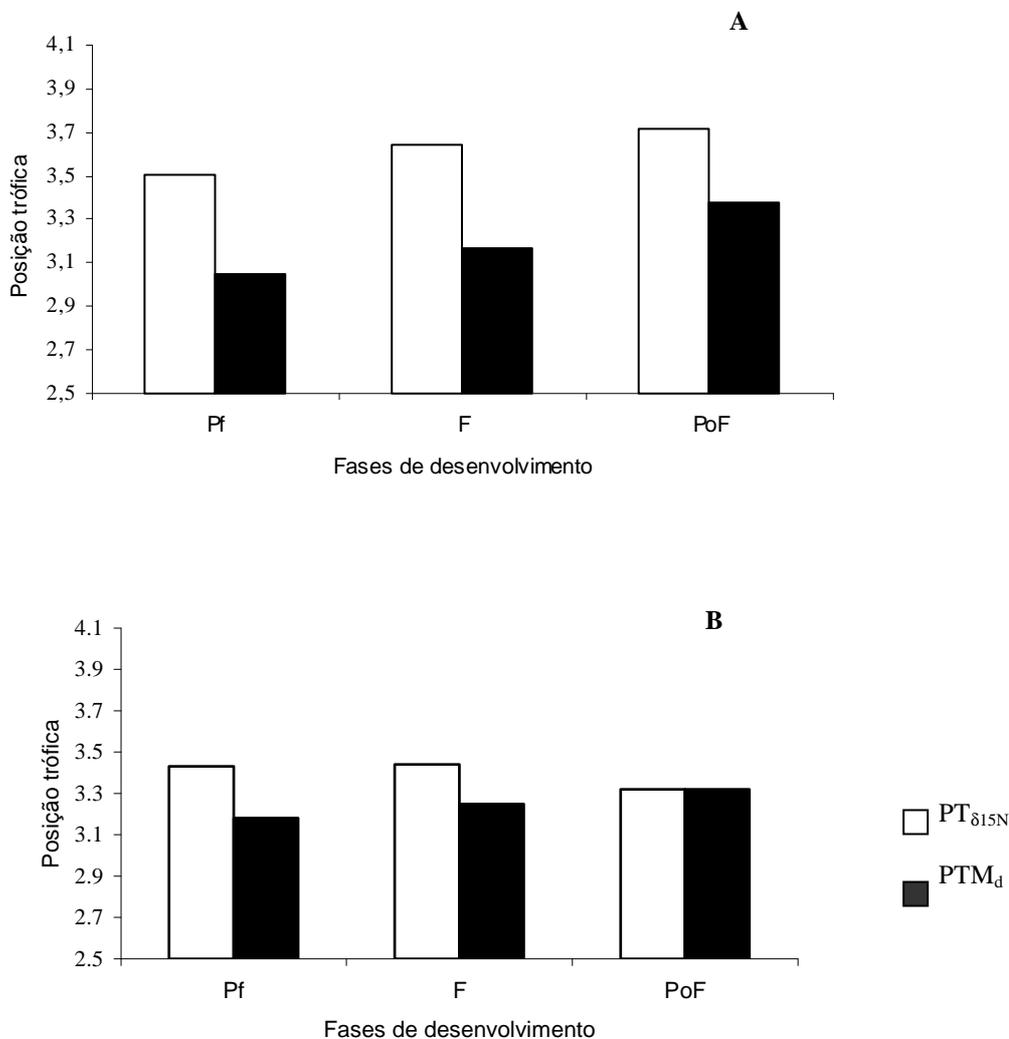


Figura 4 – Posição trófica calculada com o uso valor isotópico de nitrogênio ( $PT_{\delta^{15}N}$ ) e da dieta ( $PTM_d$ ) nas fases de pré-flexão (Pf), flexão (F), pós-flexão (Pof) de *Plagioscion squamosissimus* (A) e *Hypophthalmus edentatus* (B).

### 3.5 DISCUSSÃO

Neste estudo, constatou-se variação ontogênica nos valores isotópicos médios de nitrogênio de *P. squamosissimus*, em consequência da composição da dieta. Na fase de pré-flexão desta espécie identificou-se uma maior ingestão de algas, a qual reduziu-se nas fases seguintes. Apesar da baixa diversidade de itens ingeridos na fase de pré-flexão, observou-se uma maior variabilidade isotópica de nitrogênio. Este resultado pode ser resultado devido à mistura do valor isotópico originário do início da alimentação exógena e do valor isotópico parental (Vander Zander et al., 1998) e/ou da reserva de lipídio do ovo (Lesage et al., 2001). Este fato pode gerar aumento da variabilidade isotópica, causando equívocos na identificação do real item alimentar assimilado e, conseqüentemente, da posição trófica.

Os valores isotópicos médios das fases de flexão a pós-flexão de *P. squamosissimus* sofreram acréscimo. Nestes mesmos estágios de desenvolvimento larval observou-se um aumento nas porcentagens de frequência de ocorrência do zooplâncton (cladóceros e copépodos) e de zoobentos na dieta. Isto, provavelmente, esteja relacionado com o crescimento do indivíduo conduzindo ao aperfeiçoamento na habilidade natatória e da captura de alimento, além do aumento do tamanho da boca entre outras alterações morfológicas (Makrakis et al., 2005). Este resultado também foi registrado por (Vander Zander et al., 1998) e por (Grey, 2001) que identificaram associação entre o crescimento larval e incremento do  $\delta^{15}\text{N}$ , para as larvas de espécies de peixes por eles estudados.

Apesar da alteração isotópica ser uma indicação da variação ontogênica da posição trófica, parte desta mudança pode, alternativamente, ser proveniente da variação sazonal do  $^{15}\text{N}$  do zooplâncton (Hansson et al. 1997) ou mesmo estar associada a variação interespecífica, como verificado por Santana et al. (submetido) para três espécies zooplânctônicas, também provenientes da planície de inundação do alto rio Paraná. No presente estudo, além do incremento da posição trófica de *P. squamosissimus*, estimadas por ambas as metodologias ( $\text{PTM}_d$  e  $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ), observou-se diferenças significativas entre as mesmas.

Por outro lado, para *H. edentatus* não se observou mudanças ontogênicas nos valores isotópicos de nitrogênio e na composição da dieta. A dieta foi constituída basicamente por algas e cladóceros, em todas as fases de desenvolvimento. A ausência de diferença significativa nos valores isotópicos de nitrogênio e nas posições tróficas estimadas através do  $\delta^{15}\text{N}$  e da dieta, ao longo do desenvolvimento larval foi consequência da baixa diversidade de itens ingeridos pela espécie. Estes resultados corroboraram com a observação de Gu et al.

(1997) que afirma que a variabilidade do  $^{15}\text{N}$  é pequena dentro da população de peixes, quando estes utilizam da mesma fonte de alimento. Herzka et al. (2001) não observaram relação entre o desenvolvimento das larvas e a alteração na concentração de  $^{15}\text{N}$  para *Sciaenops ocellatus*. Vander-Zander et al. (2000) por sua vez, registraram que a posição trófica do predador piscívoro por eles estudado não sofreu acréscimo com o aumento do tamanho.

Para *H. edentatus*, observou-se decréscimo nos valores das posições tróficas ( $\text{PTM}_d$  e  $\text{PT}_{\delta^{15}\text{N}}$ ), ao longo do desenvolvimento. O menor valor da posição trófica ocupada na fase de pós-flexão, pode estar relacionada com o hábito planctívoro e com o modo de alimentação por filtração, que se definirão para a espécie no período juvenil (Makrakis et al, 2005), em decorrência das alterações nos rastros branquiais, que se desenvolvem mais rapidamente nesta fase, são mais longos e numerosos no primeiro arco, decrescendo em direção ao quarto. Segundo Gerking (1994) todas as espécies filtradoras sofrem mudanças no método de aquisição de alimentos da fase larval para a adulta. Inicialmente, as larvas são predadoras e o mecanismo de filtração desenvolve-se com o aumento do comprimento do corpo. A transição de um comportamento alimentar para outro é gradual, existindo um estágio intermediário onde o peixe jovem, se alimenta tanto pelo método particulado como por filtração.

As posições tróficas calculadas através da composição da dieta e do  $\delta^{15}\text{N}$ , para as larvas *P. squamosissimus* e *H. edentatus*, nas fases de desenvolvimento manteve-se sempre próximo ao terceiro nível trófico. Leite et al. (2002) em estudos realizados em lagoas da planície alagável do Amazonas, constataram o segundo e terceiro níveis tróficos para oito espécies de larvas de peixes detritívoros e carnívoros, indicando que as larvas de peixes, nas fases iniciais de desenvolvimento, são carnívoras primárias, independente da categoria trófica quando adultas.

A associação entre as duas metodologias utilizadas, no presente estudo, na investigação de teias alimentares em ecologia de ecossistemas neotropicais permitem uma maior acuidade na definição do papel ecológico das diferentes espécies, nas complexas redes de interação tróficas. Entretanto, muitas das causas de variações identificadas no neste trabalho devem ser ainda meticulosamente analisadas. Estudos que abordem as variabilidades isotópicas associadas aos invertebrados são ainda incipientes e devem esclarecer o papel do detrito e do *microbial loop* nas cadeias alimentares de ecossistemas de água doce. Estas lacunas uma vez preenchidas poderão fornecer uma visão mais precisa não apenas do funcionamento e fluxo de energia no ecossistema, mas também possibilitar que medidas de

manejo possam promover sustentabilidade de ambientes severamente ameaçados por impactos antrópicos, como é o caso das áreas alagáveis.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINHO AA, RODRIGUES L, GOMES CL, THOMAZ SM, MIRANDA LE. 2004. Structure and functioning of the Paraná River and its floodplain. Maringá: Eduem, 275 p.

DENIRO M AND EPSTEIN S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 42: 495-506.

FRY B AND ARNOLD C. 1982. Rapid  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *Oecologia* 54: 200-204.

GERKING SD. 1994. Larval feeding. In: GERKING SD. *Feeding of fish*. San Diego: Academic Press, 336 p.

GOROKHOVA E, HANSSON S, HOGLANDER H AND ANDERSEN MC. 2005. Stable isotopes show food web changes after invasion by the cladoceran *Cercopagis pengoi* in a Baltic Sea bay. *Oecologia* 143: 251-259.

GREY J. 2001. Ontogeny and dietary specialization in brown trout (*Salmo trutta* L.) from Loch Ness, Scotland, examined using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Ecol Freshw Fish* 10: 168-176.

GU B, SCHELSKE LC AND HOYER VM. 1997. Intrapopulation feeding diversity in blue tilapia: evidence from stable-isotope analyses. *Ecology* 78: 2263-2266.

HAHN NS, AGOSTINHO A A AND GOITEIN R. 1997a. Feeding ecology of curvina *Plagioscion squamosissimus* (Hechel, 1840) (Osteichthyes, Perciformes) in the Itaipu reservoir and Porto Rico floodplain. *Acta Limnol Bras* 9: 11-22.

HAHN NS, ANDRIAN IF, FUGI R AND ALMEIDA VLL 1997 b. Ecologia Trófica. In: VAZZOLER AEAM, AGOSTINHO AA Hahn NS. A planície de inundação do rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioecon micos. Maringá: Eduem/Nupelia, p. 209-228.

HERZKA SZ, HOLT SA AND JOANHOLT G. 2001. Documenting the settlement history of individual fish larvae using stable isotope ratios: model development and validation. *J Exper Mar Biol Ecol* 265: 49-74.

HYNES HBN. 1950. The food of food freshwater stickbacks (*Gasterosteus aculeatus* and *Pigosteus pungitius*), with a review of methods and their application. *J Fish Biol* 19:36-56.

LANSAC-T HA FA, LIMA AF, HAHN NS AND ANDRIAN IF. 1991. Composi o da dieta alimentar de *Hypophthalmus edentatus* Spix, 1829 (Pisces, Hypophthalmidae) no reservatório de Itaipu e no rio Oco . *Unimar* 13:147-162.

- LEITE RG, ARAÚJO-LIMA MRAC, VICTORIA LR AND MARTINELLI AL. 2002. Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. *Ecol Freshw Fish* 11:56-63.
- LESAGE V, HAMMIL MO AND KOVACS KM. 2001. Marine mammals and the community structure of the Estuary and Gulf of St Lawrence, Canada: evidence from stable isotope analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 210: 203-221.
- MAKRAKIS MC, NAKATANI K., BIALETZKI A, SANCHES PV, BAUMGARTNER G AND GOMES LC. 2005. Ontogenetic shifts in digestive tract morphology and fish larvae of the Itaipu Reservoir, Brazil. *Environ Biol Fishes* 72: 99-107.
- MANETTA GI, BENEDITO-CECILIO E AND MARTINELLI AL. 2003. Carbon sources and trophic position of the main species of fishes of Baía river, Paraná river floodplain, Brazil. *Braz J Biol* 63: 283-290.
- MANETTA, GI, BENEDITO, E. Composição isotópica de  $^{13}\text{C}$  e de  $^{15}\text{N}$  em músculos de peixes de água doce: efeito de conservantes. *Acta Scientiarum* (in press).
- MCCUTHAN JRHJ, LEWIS JR MW, KENDALL C AND MCGRATH, CC. 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos* 102: 378-390.
- MINAGAWA M AND 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. *Geochim Cosmochim Acta* 48: 1135-1140.
- NAKATANI K, AGOSTINHO AA, BAUMGARTNER G, BIALETZKI A, SANCHES PV, MAKRAKIS CM, PAVANELLI, SC. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: Eduem, 378 p.
- PINNEGAR JK AND POLUNIN NVC. 1999. Differential fractionation of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Ecology* 13: 225-231.
- StatSoft, Inc. 2005. STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- VANDER ZANDEN JM AND RASMUSSEN BJ. 1999. Primary consumer  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  and trophic position of aquatic consumers. *Ecology* 80: 1395-1404.
- VANDER ZANDEN JM, SHUTER JB AND LESTER PN. 2000. Within- and among-population variation in the trophic position of a pelagic predator, lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Can J Fish Aquat Sci* 57: 725-731.
- VANDER ZANDEN MJ, CABANA G AND RASMUSSEN JB. 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.

VANDER ZANDEN MJ, HULSHOF M, RIDGWAY MS AND RASMUSSEN JB. 1998. Application of Stable isotope Techniques to Trophic Studies of Age-0 Smallmouth Bass. *Trans Am Fish Soci* 127: 729-739.

#### 4 FONTE DE ENERGIA PARA *PLAGIOSCION SQUAMOSISSIMUS* (HECKEL, 1840) E *HYPOPHTHALMUS EDENTATUS* (SPIX, 1829) NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ

##### Resumo

No presente estudo, os valores isotópicos de carbono foram utilizados para determinar quais foram as fontes autotróficas que sustentaram, durante o desenvolvimento ontogênico de *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes, Sciaenidae) e de *Hypophthalmus edentatus* (Siluriformes, Pimelodidae) e pretende-se verificar se o produtor primário assimilado nos estágios iniciais de desenvolvimento continua sendo a mesma requerida nos estágios juvenil e adulto. As larvas e os juvenis foram capturados no período de desova das espécies, entre os meses de outubro/2002 e março/2003 na sub-bacia Ivinheima e os adultos em novembro/2004, na planície de inundação do alto rio Paraná. Os espécimes foram separados de acordo com o grau de desenvolvimento da notocorda nos seguintes estágios: pré-flexão, flexão, pós-flexão, juvenil e adulto. Os valores isotópicos médio de carbono, foram utilizados para calcular as fontes de carbono para as espécies no programa IsoSource 1.3.1. A ordem decrescente das contribuições das fontes primárias identificadas para as espécies foi fitoplâncton, vegetação ripária, macrófita C<sub>3</sub>, perifíton e macrófita C<sub>4</sub>. Para *P. squamosissimus* na fase adulta, observou-se aumento do valor isotópico médio de carbono e, teve contribuições consideráveis de todos os produtores, evidenciado a mudança de hábito alimentar. Assim, a fonte de energia assimilada para a fase larval e juvenil difere da adulta. Enquanto que, para *H. edentatus*, a contribuição do fitoplâncton aumentou na fase juvenil e adulta, mas foi a fonte assimilada em toda a ontogenia. Dessa forma, as intervenções antrópicas que afetam a comunidade fitoplanctônica e a composição e a estrutura da vegetação ripária devem ser minimizadas, no intuito de conservar os principais produtores primários dos quais dependem as cadeias alimentares de *P. squamosissimus* e de *H. edentatus*.

**Palavras-chave:**  $\delta^{13}\text{C}$ . Ontogenia. Fonte autotrófica. Peixe.

Energy sources for *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) and *Hypophthalmus edentatus* (Spix, 1829) in the Upper Paraná River floodplain

### *Abstract*

The present study aimed to determine which autotrophic sources sustained, during ontogenetic development of *Plagioscion squamosissimus* and *Hypophthalmus edentatus*, and whether this carbon source continues being the same one required by the juvenile and adults of these species. The larvae and juvenile had been captured in the spawning period of fish, from October/2002 to March/2003 in the Ivinheima River sub basin, and the adults in November/2004 in the Upper Paraná River floodplain. The specimens were separated according to the notochord development degree: preflexion, flexion, postflexion, juvenile and adult. The carbon sources for the species were calculated using the IsoSource 1.3.1 Software. The descending order of the contributions from the primary sources to the species was: phytoplankton, riparian vegetation, C<sub>3</sub> macrophytes, periphyton and C<sub>4</sub> macrophytes. For both species, the phytoplankton and riparian vegetation was the source presenting the highest contribution during preflexion, flexion, postflexion and juvenile stages; the adults of *P. squamosissimus* presented increased in the isotopic value and, had considerable contributions all producers, showing ontogeny of sources of carbon. For *H. edentatus*, the sources of carbon were the same in all development stages. In this way, the anthropogenic activities affecting the phytoplankton and the composition and structure of riparian vegetation should be reduced in order to preserve the primary producers that sustain the food chains of *P. squamosissimus* and *H. edentatus*.

**Keywords:**  $\delta^{13}\text{C}$ . Ontogeny. Autotrophic source. Fish.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Nos ambientes aquáticos, a integração de técnicas isotópicas permite melhor dimensionar as fontes autotróficas de energia que sustentam a base de teias alimentares e estabelecer as conexões entre os organismos produtores e consumidores (Lopes & Benedito-Cecilio, 2001). Essas informações são relevantes para o conhecimento e conservação da fonte autotrófica, que sustenta a biomassa das espécies de peixe e para as medidas de manejo tanto para fonte autotrófica quanto dos consumidores.

O uso de isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) identifica os produtores primários baseando no fato que plantas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  possuem distintas razões  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  devido ao fracionamento durante a fixação do carbono fotossintético (Farquhar *et al.*, 1989). Entretanto, a composição isotópica de carbono do animal não altera substancialmente de seu alimento (Szepanski *et al.*, 1999; Cerling & Harris, 1999; Post, 2002), e assim, é possível avaliar a contribuição da diversidade de produtores primários na manutenção dos consumidores.

A sub-bacia do rio Ivinheima, localizada na planície de inundação do alto rio Paraná possui lagoas marginais que são consideradas criadouros naturais e habitats ideais para a desova e para o desenvolvimento de larvas de peixes. Entre as espécies de elevada abundância, destacam-se *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus* (Agostinho *et al.*, 2004; Ziober, 2005; Kipper, 2005). Esta área encontra-se protegida por estar inserida no Parque Estadual de Ilhas e Várzeas do Rio Ivinheima, berçário para as espécies de peixes do ecossistema do rio Paraná, entretanto não foram realizados estudos que visem identificar as fontes autotróficas de energia que garante o sustento ontogênico dos peixes.

A identificação desta fonte mantenedora poderá subsidiar medidas de manejo que visem à manutenção do estoque pesqueiro nos trechos inferiores da bacia, onde a atividade pesqueira é mais intensa (Agostinho *et al.*, 2004). Nesse contexto, no presente estudo, os valores isotópicos de carbono foram utilizados para determinar quais foram as fontes autotróficas que sustentaram, durante o desenvolvimento ontogênico de *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes, Sciaenidae) e de *Hypophthalmus edentatus* (Siluriformes, Pimelodidae). Pretende-se ainda verificar se o produtor primário assimilado nos estágios iniciais de desenvolvimento continua sendo a mesmo requerido nos estágios juvenil e adulto.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

As coletas das larvas de *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) e de *Hypophthalmus edentatus* (Spix, 1829) foram realizadas na sub-bacia do rio Ivinheima, localizada na planície de inundação do alto rio Paraná durante a época de desova das espécies, compreendida entre outubro de 2002 e março de 2003. Por outro lado, os peixes adultos foram coletados em novembro de 2004. Os produtores primários foram coletados na mesma área e período.

De cada indivíduo adulto foi retirada uma amostra de músculo localizada na região dorsal acima da linha lateral, na base da nadadeira dorsal, ao passo que, as larvas e os juvenis foram analisados inteiros. De cada exemplar, nos estágios larval e juvenil, foi retirado o conteúdo estomacal, para que não houvesse interferência na análise isotópica.

As amostras das larvas e dos músculos dos peixes adultos foram preservadas em álcool 70%. As larvas foram triadas, quantificadas e identificadas ao menor nível taxonômico possível. Os espécimes foram separados de acordo com o grau de flexão da notocorda, segundo a terminologia descrita por Ahlstron & Ball (1954) e modificada por Nakatani *et al.* (2001). Foram categorizadas nos seguintes estágios de desenvolvimento: pré-flexão; flexão; pós-flexão e juvenil.

Para *P. squamosissimus*, nove amostras no estágio de pré-flexão, dez em flexão, nove em pós-flexão, nove em juvenil, enquanto que, para *H. edentatus* foram consideradas três amostras em pré-flexão, seis em flexão, quatro em pós-flexão e uma em juvenil. Entre peixes adultos, foram analisadas oito amostras de *P. squamosissimus* e quatro amostras de *H. edentatus*. Cada amostra foi enxaguada em água destilada para a retirada do excesso de conservante.

Todas as amostras foram submetidas à secagem em estufa a 60°C. As amostras de peixes jovens e adultos foram maceradas em moinho de esferas até a obtenção de pó fino e homogêneo. Para as amostras de pequeno tamanho, nos estágios de pré-flexão, flexão e pós-flexão utilizou-se o nitrogênio líquido na maceração das amostras. As amostras foram enviadas ao CENA/USP (Centro de Energia Nuclear na Agricultura- Universidade Estadual de São Paulo), Piracicaba-SP, para determinação da razão isotópica de carbono e de nitrogênio em espectrômetro de massa. Os valores das razões isotópicas foram expressos com a notação delta em partes por mil ( $\delta$  ‰) relativos ao padrão internacional *PeeDee Belemnite* (PDB) para o  $^{13}\text{C}$ , de acordo com a seguinte equação geral:

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1] * 10^3$$

em que: R = a razão  $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ .

Os valores isotópicos de carbono de *P. squamosissimus* e *H. edentatus* foram corrigidos, devido ao uso de conservante nas amostras segundo Vander Zanden et al., (2003), Pease et al., (2006).

As contribuições das fontes de energia foram calculadas por meio do programa computacional IsoSource 1.3.1, proposto por Phillips e Gregg (2003). Os produtores primários utilizados para o cálculo foram as plantas  $\text{C}_3$  (vegetação ripária, perifiton, fitoplâncton, macrófitas  $\text{C}_3$ ) e as plantas  $\text{C}_4$  (macrófitas  $\text{C}_4$ ).

Os valores de tolerância utilizados para os cálculos das contribuições no programa IsoSource foi de 0,05 e o incremento foi de 1‰ para *P. squamosissimus* e *H. edentatus*.

Diferenças significativas entre os valores isotópicos de carbono para os estágios de desenvolvimento das espécies foram investigadas por meio da análise de variância (ANOVA – unifatorial) com o auxílio do programa computacional STATISTICA 7.0.

#### 4.3 RESULTADOS

##### 4.3.1 Valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *Plagioscion squamosissimus* e de *Hypophthalmus edentatus*

A variabilidade isotópica de carbono para *P. squamosissimus* foi de -30,2‰ a -28,6‰ em pré-flexão, de -31,1‰ a -29,5‰ em flexão, de -30,9‰ a -29,4‰ em pós-flexão e de -30,7‰ a -28,7‰ no juvenil. Os exemplares adultos tiveram a maior variabilidade na composição isotópica, de -30,5‰ a -26,3‰. Os valores médios no estágio de pré-flexão e de adultos foram os mais enriquecidos em relação aos demais estágios de desenvolvimento (Fig. 1A). Identificou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ;  $F = 13,50$ ) entre os estágios de desenvolvimento de *P. squamosissimus* para  $\delta^{13}\text{C}$ .

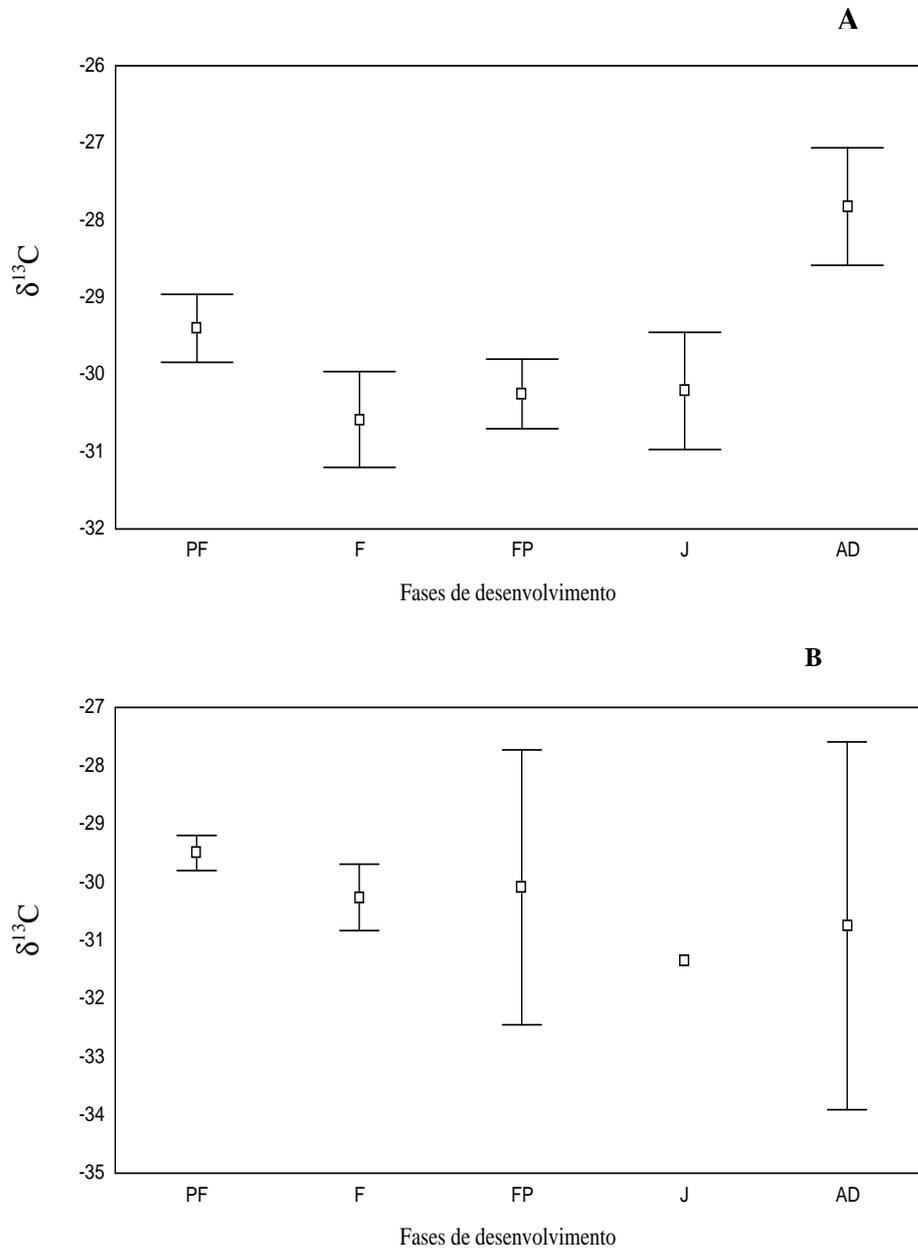


Figura 1 – Valores médios (marcadores) e desvios-padrão (barras) de  $\delta^{13}\text{C}$  para os estágios de pré-flexão (PF), flexão (F), pós-flexão (FP), juvenil (J) e adulto (AD) de *Plagioscion squamosissimus* (A) e de *Hypophthalmus edentatus* (B).

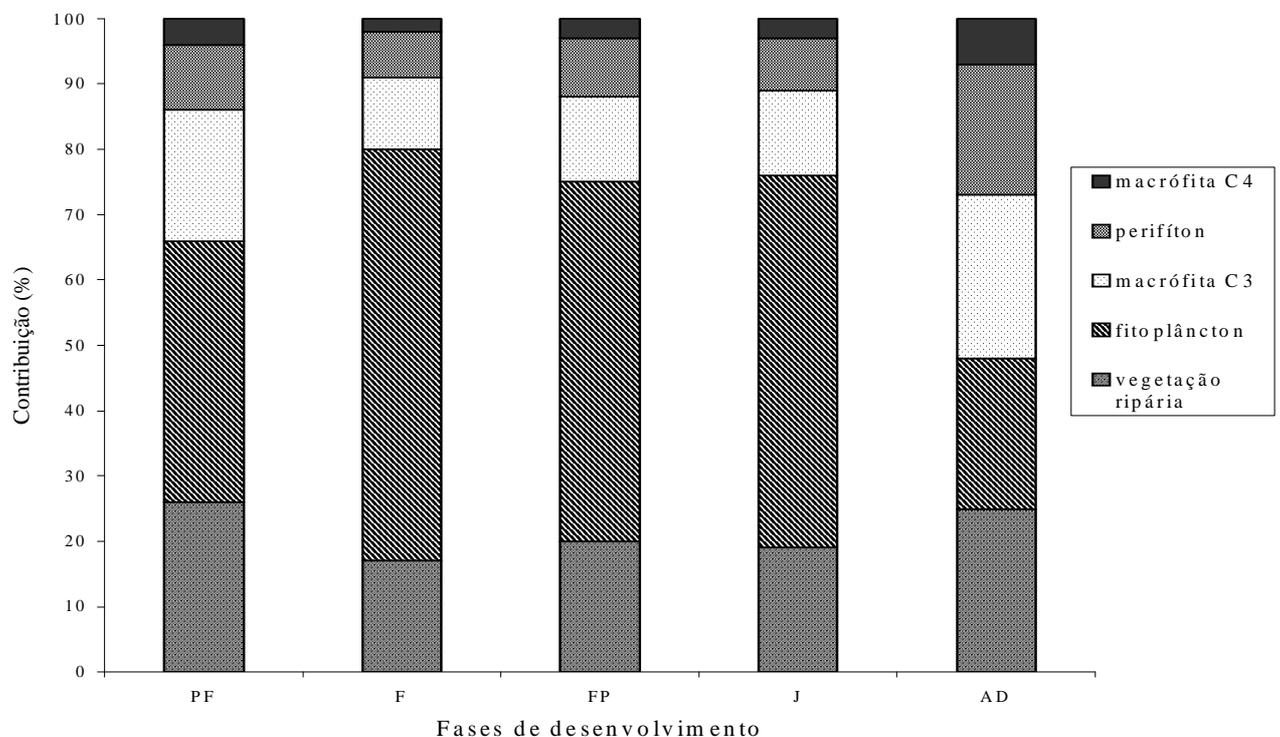
A composição isotópica de carbono para *H. edentatus* no estágio de pré-flexão variou de  $-29,8\text{‰}$  a  $-29,2\text{‰}$ , em flexão de  $-31,3\text{‰}$  a  $-29,8\text{‰}$ , em pós-flexão de  $-31,7\text{‰}$  a  $-24,4\text{‰}$  e em adultos de  $-35,2\text{‰}$  a  $-28,3\text{‰}$ . Nos estágios de pós-flexão e adulto, observou-se maior

variabilidade em  $\delta^{13}\text{C}$  e, no estágio de pré-flexão, o valor isotópico médio de carbono foi o mais enriquecido (Fig. 1B). Por outro lado, para *H. edentatus*, os valores isotópicos de carbono não variaram significativamente ( $P>0,05$ ;  $F=0,21$ ), entre os estágios de desenvolvimento.

#### 4.3.2 Fontes de energia para *P. squamosissimus* e *H. edentatus*

Para *P. squamosissimus* e *H. edentatus* as maiores contribuições médias foram provenientes do fitoplâncton, para todos os estágios de desenvolvimento, com exceção dos indivíduos adultos de *P. squamosissimus*. A ordem decrescente das contribuições das fontes primárias identificadas para as espécies foi fitoplâncton, vegetação ripária, macrófita C<sub>3</sub>, perifíton e macrófita C<sub>4</sub>. (Fig. 2).

Para ambas as espécies analisadas, a fonte de menor contribuição, em todos os estágios de desenvolvimento, foi a macrófita C<sub>4</sub>. No cálculo das possíveis fontes de carbono, observou-se que *P. squamosissimus* teve mudança ontogenica do item assimilado entre o estágio juvenil e adulto. Enquanto que, *H. edentatus* não apresentou variação.



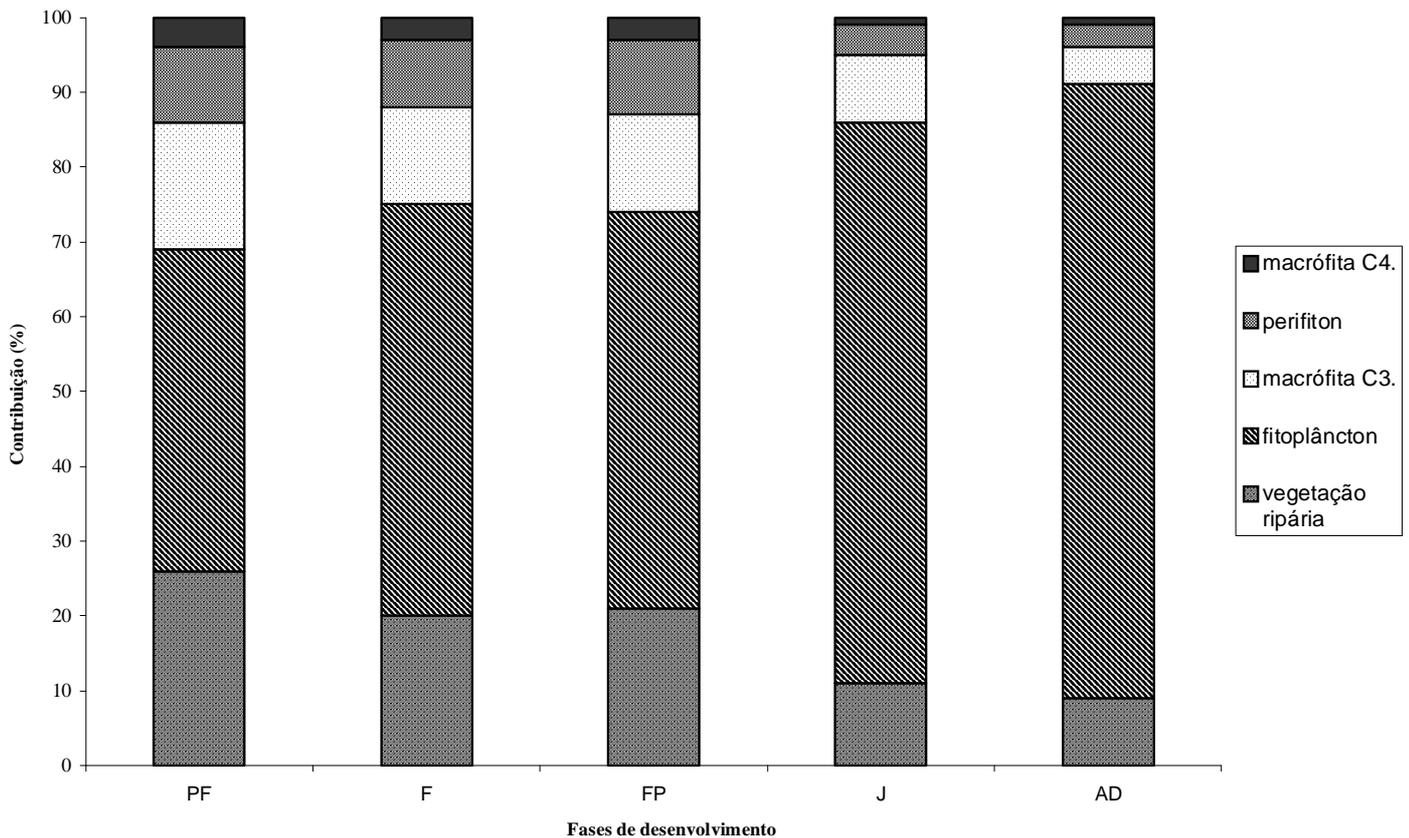


Figura 2 - As contribuições em porcentagem das fontes primárias para os estágios de pré-flexão (PF), flexão (F), pós-flexão (FP), juvenil (J) e adulto (AD) de *Plagioscion squamosissimus* (A) e de *Hypophthalmus edentatus* (B).

#### 4.4 DISCUSSÃO

As fontes de carbono que mais contribuirão para a biomassa de *P. squamosissimus* e de *H. edentatus* nos estágios larvais, juvenis e adultos foram o fitoplâncton e a vegetação ripária.

Para a planície de inundação do alto rio Paraná, alguns estudos identificaram as principais fontes de carbono para algumas espécies de peixes adultos. Lopes (2001) verificou a contribuição expressiva de fitoplâncton para *Prochilodus lineatus*, sendo que Manetta et al. (2003) encontraram a máxima contribuição das plantas C<sub>3</sub>, com exceção do fitoplâncton para *Loricariichthys platymetopon*, *Schizodon borellii*, *Leporinus lacustris*, *Aucheneripterus osteomystax*, *Iheringichthys labrosus*, *Leporinus friderici* e *Serrasalmus marginatus*. Na região Amazônica, as duas fontes de carbono identificadas por Leite et al. (2002) consistia basicamente de fitoplâncton e macrófitas C<sub>4</sub>.

Alguns estudos têm mostrado que os valores isotópicos de carbono das larvas de peixes tornam-se enriquecidos com a mudança trófica (Murchie & Power, 2004) e com o desenvolvimento ontogênico (Carseldini & Tibbetts, 2005). No presente trabalho, observou-se

para *P. squamosissimus* o incremento de  $\delta^{13}\text{C}$ , em 1,6‰, da fase inicial para o adulto. Essa alteração indica mudança de uma dieta composta por algas, zooplâncton, zoobentos, detritos e larvas de inseto (Manetta, 2005) para uma dieta de peixes (Hahn et al., 1997a). O aumento do valor isotópico médio de carbono, para o adulto, evidencia-se nas contribuições das fontes de carbono, ocorrendo participação expressiva de todos os produtores, evidenciando a mudança de hábito alimentar da espécie. Desta forma, o fitoplâncton é a principal fonte de energia que suporta os estágios iniciais e juvenil, enquanto que, os adultos utiliza além deste, também as plantas  $\text{C}_3$ , corroborando com o trabalho realizado com os predadores de topo no rio Ivinheima (Hoeinghaus et al., 2007).

Para *H. edentatus*, os valores isotópicos médios de carbono do estágio de pré-flexão foram enriquecidos se comparado com os outros estágios de desenvolvimento da espécie, porém não apresentaram diferença significativa entre as fases de desenvolvimento. Vander Zanden et al. (1998) observaram que o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  na pré-metamorfose de *Micropterus dolomieu* foi, geralmente, maior do que o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  do adulto. Segundo Focken & Becker (1998) a quantidade de lipídios nos ovos e embriões de peixes geralmente é alto em relação aos demais estágios de desenvolvimento. Este primeiro estágio de alimentação exógena pode estar refletindo a mistura entre os valores isotópicos dos lipídios e os valores isotópicos da dieta.

Considerando as contribuições médias das fontes durante a ontogenia de *H. edentatus*, destaca-se a maior contribuição do fitoplâncton para a fase juvenil e adulta entre (75 e 82%). Estas maiores médias podem estar relacionadas com as mudanças morfológicas dos rastros branquiais, que caracteriza o hábito e modo de alimentação por filtração, que se defini para esta espécie no período juvenil (Makrakis et al., 2005). No entanto, alterou-se o valor, mas a fonte de carbono assimilado foi a mesma em todos os estágios.

As macrófitas  $\text{C}_3$  constituíram a terceira fonte com as maiores contribuições para a biomassa das espécies estudadas. Na análise do trato digestório de *P. squamosissimus* e de *H. edentatus*, nos estágios iniciais de desenvolvimento, Manetta (2005) observou a ingestão de algas, principalmente *Aulacoseira* sp. e *A. granulata*. Esse gênero perifítico encontra-se nas macrófitas. Sendo assim, a contribuição das macrófitas  $\text{C}_3$  para as duas espécies pode ter ocorrido indiretamente quando as espécies se alimentavam dessas algas apresentando-se contaminadas do carbono de seu substrato.

De maneira geral, as plantas  $\text{C}_3$  (fitoplâncton e vegetação ripária) foram as mais importantes fontes de contribuição para as espécies de *P. squamosissimus* e de *H. edentatus*

em todos os estágios de desenvolvimento. Por outro lado, as plantas C<sub>4</sub> foram as que menos contribuíram para ambas as espécies. Apesar da alta produtividade das plantas C<sub>4</sub> registrada na Amazônia Central (Junk, 1985), alguns trabalhos também revelaram a baixa contribuição dessas plantas, para espécies de larvas de peixe (Leite et al., 2002), para peixes adultos de *Colossoma macropomum* (Oliveira, 2004; Benedito-Cecilio et al., 2000) *Prochilodus nigricans*, *Mylossoma duriventre*, *Semaprochilodus insignis* e *S. taeniurus* na várzea Amazônica (Benedito-Cecilio et al., 2000). Supõe-se que o baixo valor nutritivo (Forsberg et al., 1993), a habilidade limitada de alguns invertebrados aquáticos em assimilar as plantas C<sub>4</sub> e a preferência pelas plantas C<sub>3</sub> pelos demais consumidores (Clapcott & Bunn, 2003) fazem com que essas plantas sejam pouco ingeridas e assimiladas e, conseqüentemente, apresentem baixa contribuição para a biomassa de peixes, independente do estágio de desenvolvimento. Para a planície de inundação do alto rio Paraná, a baixa ocorrência das macrófitas C<sub>4</sub> nas amostragens conduzidas desde 1999 (Lopes, 2005) pode ter contribuído ainda mais para as baixas porcentagens registradas nos músculos de ambas as espécies analisadas.

Em síntese, o presente estudo demonstra que as plantas C<sub>3</sub>, principalmente o fitoplâncton e a vegetação ripária, são as fontes autotróficas que sustentam a biomassa de *P. squamosissimus* e de *H. edentatus*, em todas as fases de desenvolvimento. As diversas ações antrópicas tais como controle da vazão de água pelas represas à montante, empreendimentos turísticos, queimadas e o regime hidrossedimentológico são fatores que influenciam a comunidade fitoplanctônica, a composição e estrutura da vegetação ripária. Assim, medidas que visem atenuar estes impactos, tornam-se emergenciais em toda área da planície de inundação do alto rio Paraná, a fim de minimizar os efeitos sobre este ecossistema.

### **Agradecimentos**

Os autores são gratos à equipe do laboratório de Ictioplâncton, que auxiliaram na coleta e na identificação dos peixes, a Donald Phillips, que atenciosamente respondeu a todas as dúvidas sobre o programa IsoSource. À Célia de Almeida Lopes, pelo apoio e valiosas considerações ao manuscrito, ao NUPELIA-UEM, pelo suporte logístico, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Agostinho, A. A., Rodrigues, L., Gomes, C. L., Thomaz, S.M., Miranda, L.E. (Eds.) (2004) Structure and functioning of the Paraná River and its floodplain. Eduem. Maringá.
- Benedito-Cecílio, E., Araújo-Lima, C.A.R.M., Forsberg, B.R., Bittencourt, M.M., Martinelli, L.A.C. 2000. Carbon sources of Amazonian fisheries. *Fisheries Management and Ecology* 7:1-10.
- Forsberg, B. R., Araujo-Lima, C. A. R. M., Martinelli, L. A., Victoria, R. L., & Bonassi, J. A., 1993. Autotrophic Carbon Sources for Fish of the Central Amazon. *Ecology*, 74: 643-652.
- Leite, R.G., Araújo-Lima, M.R.A.C., Victoria, L.R., Martinelli, A.L. 2002. Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. *Ecology of Freshwater Fish* 11: 56-63.
- Lopes, A.C. 2001. Variabilidade de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  em fontes alóctones e autóctones para cadeias alimentares na bacia do rio Paraná, entre a foz dos rios Parapanema e Iguaçu. Thesis M. Sc. (Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – Departamento de Biologia). Universidade Estadual de Maringá, 15pp.
- Lopes, C.A, Benedito-Cecílio, 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: 303-312.
- Lopes, C.A. Variabilidade isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) de macrófitas aquáticas na bacia do alto rio Paraná: efeito espaço-temporal e influências taxonômicas e biológica. Exame Geral de Qualificação (Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – Departamento de Biologia). Universidade Estadual de Maringá, 23pp.
- Nakatani, K., Agostinho, A. A., Baumgartner, G., Bialetzki, A., Sanches, P. V., Makrakis, C. M., Pavanelli, S. C. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: Eduem.
- Vander-Zander, M.J., Hulshof, M., Ridgway, M.S., Rasmussen, J.B. 1998. Application of Stable isotope Techniques to Trophic Studies of Age-0 Smallmouth Bass. *Transactions of the American Fisheries Society* 127: 729-739.
- Ziober, R.S. Utilização da Lagoa do Finado Raimundo (Rio Ivinheima, Mato Grosso do Sul) como criadoro natural de peixes. Monografia (conclusão do curso de Ciências Biológicas- Departamento de Biologia). Universidade Estadual de Maringá. 2005.
- Murchie, K.J., Power, M. Growth- and feeding-related isotopic dilution and enrichment patterns in young-of-the-year yellow perch (*Perca flavescens*). *Freshwater Biology* 49: 41-54.
- Phillips, D.L., Gregg, J.W. Sources partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Ecosystems Ecology* 136: 261-269.
- Clapcott, J.E., Bunn, S.E. Can  $\text{C}_4$  plants contribute to aquatic food webs of subtropical streams? *Freshwater Biology* 48: 1105-1116.
- Vanderklift, M.A., Ponsard, S. Sources of variation in consumer-diet  $\delta^{15}\text{N}$  enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136: 169-182.

- Thomaz, S.M., Bini, L.M. (2003). *Ecologia e Manejo de macrófitas aquáticas*. Eduem. Maringá.
- McCuthan Jr, H.J., Lewis Jr, M.W., Kendall, C., McGrath, C. C. 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos* 102: 378-390.
- Tieszen, L. L., Boutton, T. W., Tesdahl, K. G., Slade, N. A., 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia*, 57, 32-37.
- Ahlstrom, E.H., Ball, O.P. 1954. Description of eggs and larvae of jack mackerel (*Trachurus symmetricus*) and distribution and abundance of larvae in 1950 and 1951. *Fisheries Bulletin* 56: 209-245.
- Bowen, S. H., 1981. Digestion and assimilation of periphytic detrital aggregate by *Tilapia monogras*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119, 139-245.
- Junk, W.J. 1985. Temporary fast storage, an adaptation of some fish species to the water level fluctuations and related environmental changes of the Amazon river. *Amazoniana* 9: 315-352.
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., Hubick, K. T., 1989. Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 503-37.
- Lansac-Tôha, F.A., Lima, A.F., Hahn, N.S., Andrian, I.F. 1991. Composição da dieta alimentar de *Hypophthalmus edentatus* Spix, 1829 (Pisces, Hypophthalmidae) no reservatório de Itaipu e no rio Ocoí. *Unimar*, 13: 147-162.
- Hahn, N.S., Agostinho, A. A., Goitein, R. 1997a. Feeding ecology of curvina *Plagioscion squamosissimus* (Hechel, 1840) (Osteichthyes, Perciformes) in the Itaipu reservoir and Porto Rico floodplain. *Acta Limnologica Brasiliensia* 9: 11-22.
- Hahn, N.S., Andrian, I.F., Fugi, R., Almeida, V.L.L. 1997 b. *Ecologia Trófica*. In: Vazzoler, A. E. A. M., Agostinho, A. A.: Hahn, N.S. (Ed.). *A planície de inundação do rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos*. Maringá: EDUEM/NUPELIA, pp. 209-228.
- Vander-Zanden, M.J.; 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. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 54: 1142-1158.
- Pinnegar, J.K., Polunin, N.V.C. 1999. Differential fractionation of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology* 13:225-231.
- Cerling, T. E.; Harris, J. M. 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia*, v. 120, p. 347-363.
- Szepanski, M. M.; Ben-David, M.; Van Ballenberghe, V. 1999. Assessment of anadromous salmon resources in the diet of the Alexander Archipelago wolf using stable isotope analysis. *Oecologia*. V. 120, p. 327-335.
- Post, D.M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703-718.

Manetta, G.I., Benedito-Cecilio, E., & Martinelli, A.L. 2003. Carbon sources and trophic position of the main species of fishes of Baía river, Paraná river floodplain, Brazil. *Brazilian Journal Biology* 63: 283-290.

Oliveira, A.C.B. 2003. Isótopos estáveis de C e de N como indicadores qualitativo e quantitativo da dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*) da Amazônia Central. Tese (Centro de Energia Nuclear na Agricultura- Universidade de São Paulo) Piracicaba – São Paulo, 86pp

Carseldine, L., Tibbetts, R.I., 2005. Dietary analysis of the herbivorous hemiramphid *Hyporhamphus regularis ardelio*: an isotopic approach. *Journal of Fish Biology* 66: 1589-1600.

Kipper, D. 2005. Estudos do ictioplâncton da Lagoa dos Patos, rio Ivinheima, Mato Grosso do Sul, Brasil. (conclusão do curso de Ciências Biológicas-Departamento de Biologia). Universidade Estadual de Maringá.

Manetta, G.I. 2005. Larvas de *Plagioscion squamosissimus* e *Hypophthalmus edentatus*: existem mudanças nas dietas ao longo do desenvolvimento ontogênico? Exame Geral de Qualificação (Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – Departamento de Biologia). Universidade Estadual de Maringá, 23pp.

Benstead, J., March, J.G., Fry, B., Ewel, K.C., Pringle, C.M. 2006. Testing Isosource: Stable Isotope Analysis of a Tropical Fishery with diverse Organic Matter Sources. *Ecology* 87: 326-333.

## 5 CONCLUSÃO GERAL

Após a realização do trabalho constatou-se que os valores isotópicos de carbono das amostras conservadas em álcool foram, na sua maioria, enriquecidos quando comparados com as do controle, ao passo que, as amostras em formol tiveram valores deplecionados em relação ao controle. Os valores isotópicos de nitrogênio, tanto para as amostras conservadas em álcool, quanto em formol, foram enriquecidos quando comparados aos valores daquelas congeladas, sendo estes independentes dos conservantes utilizados. Assim, a correção isotópica deve ser realizada de acordo com o isótopo e o conservante empregado para as espécies de peixe de água doce.

A análise da variabilidade isotópica durante o desenvolvimento larval mostrou que, as duas espécies possuem diferentes padrões em relação à obtenção de carbono, ou seja, *P. squamosissimus* possui diferentes fontes de carbono mantenedoras da espécie, enquanto, que *H. edentatus* possivelmente tenha somente uma fonte de carbono durante todo seu desenvolvimento.

As posições tróficas foram estimadas com base no valor isotópico de nitrogênio e na dieta. Ambas as espécies, durante os estágios de desenvolvimento, ocuparam o terceiro nível trófico.

Estas informações permitem uma visão mais precisa da distribuição e fluxo de energia no ecossistema, além de tornar possível medidas de manejo, que visem promover a sustentabilidade deste ambiente.