



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS - PPG-CIPET**



**O efeito de barragens hidrelétricas sobre populações de peixes de rios de águas pretas na amazônia: uma abordagem com o uso de marcadores biogeoquímicos e moleculares**

**LORENZO SORIANO ANTONACCIO BARROCO**

**MANAUS - AM**

**2019**

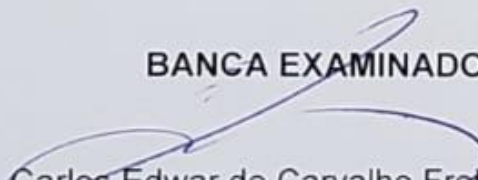
LORENZO SORIANO ANTONACCIO BARROCO

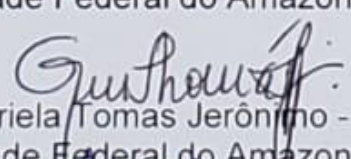
O EFEITO DE BARRAGENS HIDRELÉTRICAS SOBRE  
POPULAÇÕES DE PEIXES DE RIOS DE ÁGUAS PRETAS NA  
AMAZÔNIA: UMA ABORDAGEM COM O USO DE  
MARCADORES BIOGEOQUÍMICOS E MOLECULARES

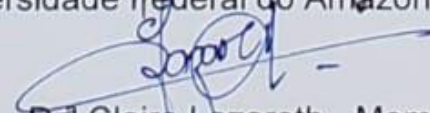
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, área de concentração em Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais.

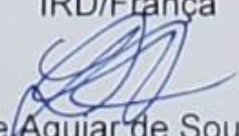
Aprovado em 16 de outubro de 2019.


BANCA EXAMINADORA

  
Dr. Carlos Edwar de Carvalho Freitas - Presidente  
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

  
Drª Gabriela Tomas Jerônimo - Membro  
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

  
Drª Claire Lazareth - Membro  
IRD/França

  
Drª Lucirene Aguiar de Souza - Membro  
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

  
Drª Jacqueline da Silva Batista - Membro  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA

## FICHA CATALOGRÁFICA

(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

B277e

Barroco, Lorenzo Soriano Antonaccio  
O efeito de barragens hidrelétricas sobre populações de peixes de rios de águas pretas na amazônia: uma abordagem com o uso de marcadores biogeoquímicos e moleculares. / Lorenzo Soriano Antonaccio Barroco. 2019  
104 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Carlos Edwar de Carvalho Freitas  
Coorientador: Marc Pouilly  
Tese (Doutorado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos)  
- Universidade Federal do Amazonas.

1. Cichla temensis. 2. rio Uatumã. 3. Balbina. 4. microquímica de otólitos. 5. SNP's. I. Freitas, Carlos Edwar de Carvalho II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

*À minha filha Valentina,  
maior alegria da minha vida.*

*Te amo tudo!*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a proteção e benção divina recebidas nos momentos difíceis.

Ao meu pai Ronaldo Barroco, homem que sempre tive como ídolo e exemplo, minha fonte de inspiração na escolha de minha carreira profissional. Ao qual eu dedico todo sucesso alcançado até o dia de hoje e com quem me comprometo em sempre buscar o crescimento profissional e principalmente pessoal, seguindo seus exemplos, plantando boas amizades por onde passar.

Agradeço minha mãe Rejane Barroco, que me mostrou os caminhos certos a serem seguidos, por ter me mostrado desde o princípio que a dedicação nos estudos nos molda para a vida profissional, por despertar em mim o dom e o prazer em ensinar. Hoje somos professores colegas de profissão, porém, para mim você sempre será minha melhor professora.

Aos meus irmãos, Carlos e Lorrene Barroco, meus dois melhores amigos, aconteça o que acontecer sabemos que sempre contaremos uns com os outros.

Aos meus sobrinhos Luigi, Lívia e Enrico, pelos momentos de descontração e carinho.

Agradeço minha esposa Caroline Barroco e minha filha Valentina Barroco, pelo prazer da convivência diária, pela entrega que temos uns com os outros, pelos momentos difíceis que superamos juntos e por compreenderem os momentos em que tive que estar ausente durante o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos meus familiares, avó, tios e primos por serem parentes tão próximos e presentes em minha vida.

Ao meu orientador Carlos Edwar a pessoa que mais contribuiu com minha formação profissional, minha principal referência na Engenharia de Pesca, sou grato pela confiança depositada em mim para desenvolver este trabalho.

Ao meu coorientador Marc Pouilly por me receber no período em que estive na França, me proporcionando uma excelente infraestrutura para realização de minhas análises laboratoriais de biogeoquímica. E a todos os pesquisadores do IRD e do grupo BOREA pela receptividade, acolhimento e conhecimentos transmitidos, em especial a Claire Lazareth.

Aos companheiros que tornaram a minha jornada na França tão agradável. Em especial, Marco, Yzet, Carolina e a tão alegre Cláudia que infelizmente se foi prematuramente desta vida.

Aos companheiros de Piatam, em especial meus grandes amigos Carol Campos e Diogo Cardoso pela troca de conhecimentos e pela boa convivência do dia a dia.

Ao Laboratório de Genética e Evolução Animal LEGAL da Universidade Federal do Amazonas –UFAM pela disponibilização da infraestrutura no preparo e análises genéticas: Tomas Hrbek, Izeni Farias.

A Maria Dores, dedico um agradecimento especial, pois sua parceria foi primordial para a realização das análises genéticas desta pesquisa.

Ao laboratório Geochronos da UnB pelo financiamento das análises microquímicas das águas pelo intermédio de Roberto Santos.

Ao Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Enviromente, IPREM, Pau-France, onde tive a oportunidade de realizar minhas análises microquímicas dos otólitos e escamas, pela oportunidade de conhecer e trocar experiências com pesquisadores como Christophe Pecheyran, Sylvain e Gaelle.

Aos professores e colegas do PPG-CIPET, pelos conhecimentos teóricos e práticos transmitidos.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a construção desta pesquisa.

Aos membros da Banca Examinadora, pela disponibilidade em contribuir para a melhoria deste trabalho e pela troca de conhecimentos.

Agradeço aos servidores do ICMBIO escritório de Balbina, pela receptividade e pelo o suporte disponibilizado para facilitar à execução das coletas de campo desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do estado do Amazonas (FAPEAM) pelo apoio financeiro.

Por fim, ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), por conceder liberação das minhas obrigações como professor, e possibilitar que eu pudesse concluir mais esta etapa da minha formação acadêmica.

Mantenha seu anzol sempre lançado,  
no lago onde menos esperar  
haverá um peixe.

## RESUMO

Um efeito bastante estudado da construção de barragens hidrelétricas é a formação de barreira física aos movimentos migratórios de espécies que precisam realizá-los para completar seu ciclo de vida. Contudo, a conservação da variabilidade genética e da diversidade biológica das populações é fundamental para o funcionamento dos ecossistemas e manutenção das espécies de peixes, no que concerne à sua habilidade de adaptação e resposta às frequentes mudanças ambientais. Este estudo objetivou estudar o efeito de barragens hidrelétricas sobre a dinâmica de movimentos e a estrutura genética de populações de peixes da Amazônia, por meio de um estudo de caso com a população de *Cichla temensis* do rio Uatumã, barrado pela Usina Hidrelétrica de Balbina, e do rio Jatapú, um afluente não impactado, para testar a hipótese central de que: O barramento do rio Uatumã formou barreira física e ecológica à movimentação dos peixes e ao fluxo gênico entre a população de *C. temensis* originária do rio Uatumã. Para tanto, foram realizadas análises biogeoquímicas para entender a dinâmica de movimentos dos peixes, a partir das assinaturas isotópicas de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em otólitos, escamas e águas, por meio da espectrometria de massa com fonte de plasma e multicoletor, com ablação a laser para os otólitos e escamas (MC-LA-ICPMS), e análises moleculares para determinar os parâmetros populacionais, a partir de amostras biológicas (fragmento da nadadeira pélvica), utilizando uma ferramenta genômica por meio dos SNP's, aplicando a metodologia de RADseq. Foram analisados efetivamente 88 otólitos, 20 escamas, 78 amostras de nadadeira de *C. temensis* e quatro amostras de água do rio Uatumã. A biogeoquímica nos permitiu observar os impactos diretos da fragmentação do rio Uatumã, devido a implantação da Usina Hidroelétrica de Balbina, sobre os padrões comportamentais relacionados aos movimentos de dispersão da população originária de *C. temensis* do rio Uatumã, principalmente aqueles que habitam a área de influência direta da barragem. Já através da genômica, observamos que a barragem forçou uma estruturação da população originária de *C. temensis*, dividindo-a em dois subgrupos populacionais, um a montante e outro a jusante. Espera-se que esta pesquisa subsidie novos estudos, visando que os recursos pesqueiros possam ser manejados adequadamente e avaliados de forma eficiente nos diagnósticos ambientais de empreendimentos hidrelétricos.

**Palavras-chave:** *Cichla temensis*, rio Uatumã, Balbina, microquímica de otólitos, SNP's.



## ABSTRACT

A widely studied effect of the hydroelectric dams is the habitat fragmentation due the physical barrier originated by their construction. These barriers could be an obstacle to the migratory movements of fish species, which need to realize them to complete their life cycle. The most the studies were developed to understand the dam's effects on these migratory species and few studies were done taking non-migratory species as target species. The conservation of populational genetic variability is fundamental to the conservation of fish species, including non-migratory ones, and, as consequence, to the maintenance of healthy ecosystems. This study evaluated the effect of the Balbina hydroelectric dam on the movement dynamics and genetic structure of the population of *Cichla temensis*, to answer a central question "Is the Balbina hydroelectric dam on the Uatumã river a physical and ecological barrier to fish movement and gene flow among *C. temensis* population?". To reach this question were performed biogeochemical analyzes based on isotopic signatures of  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  of otoliths, scales and waters, by mass spectrometry with plasma source and multicoletor, with laser ablation (MC-LA-ICPMS), and molecular analyzes to determine population parameters from biological samples (pelvic fin fragment) using a genomic tool using SNP's, applying the RADseq methodology. Were effectively analyzed 88 otoliths, 20 scales, 78 fin samples from *C. temensis* and 4 water samples from the Uatumã River. Biogeochemistry allowed us to observe the direct impacts of the fragmentation of the Uatumã river, due to the implementation of the Balbina Hydroelectric Dam, on the behavioral patterns related to the dispersal movements of the population originating from *C. temensis* of the Uatumã river, especially those inhabiting the area directly under dam influence. The genomics analysis showed that the dam forced a structuring of the *C. temensis* populations, dividing it into two populational units, one upstream and another downstream. It is hoped that this research will serve as subsidies for further studies, aiming that the fishery resources can be properly managed the environmental effects of hydroelectric projects deeply understood.

**Keywords:** *Cichla temensis*, dam's effect, biogeomarkers, otoliths, scales, genomics, SNP's.

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1 - Áreas de Unidades de Conservação e Terras Indígenas. A= Reserva Biológica do Uatumã e B = Área de amortecimento da REBIO Uatumã, sujeita a restrições de uso estabelecidas nos planos de gestão da Unidade de Conservação. Fonte: SciELO - Scientific Electronic Library..... 20

Figura 2 - Projetos de hidrelétricas propostos para a Amazônia, separados por cores: verde -projetos já implementados e em operação; laranja – projetos em fase de implementação; preto – projetos em fase de planejamento. .... 21

### CAPÍTULO II

Figura 1 - Ilustração esquemática da correlação entre a assinatura da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em estrutura calcificadas de peixes com a assinatura da água do rio onde vivem..... 47

Figura 2 - SNP (Single Nucleotide Polymorphism), variação em um sítio da sequência de DNA. Fonte: (<http://www.ibbl.lu/>)..... 48

Figura 3 - Mapa da área de estudo com destaque para os sete pontos amostrais localizados nos rios Uatumã e Jatapú. .... 50

Figura 4 - Mapa da área de estudo, destacando a composição geológica do solo ao longo dos sete pontos amostrais, localizados nos rios Uatumã e Jatapú ..... 53

Figura 5 - Amostragem dos parâmetros físico-químicos da água: (A) potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido ( $\text{DO mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), condutividade ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ); (B) transparência da água; (C) profundidade da coluna d'água. .... 57

Figura 6 - Ilustração esquemática da amostragem de tecido de exemplares de *C. temensis*, desde a coleta da amostra ao armazenamento. .... 58

Figura 7 - Tomada dos dados biométricos dos exemplares de *C. temensis*: (A) peso; (B) comprimento padrão. .... 59

Figura 8 - Ilustração esquemática da amostragem de escamas de *C. temensis*, desde a coleta da amostra ao armazenamento. .... 59

Figura 9 - Ilustração esquemática da amostragem de otólitos de *C. temensis*, desde a coleta da amostra ao armazenamento. .... 60

Figura 10 - Sistema analítico MC-ICPMS. Fonte: Home page - Instituto de Geociências/UnB..... 61

Figura 11 - Resina epoxídica araldite e forma de silicone, utilizadas no emblocamento dos otólitos (A e B).....	62
Figura 12 - Localização do núcleo e demarcação dos eixos de corte nos otólitos com o auxílio de lupa de bancada (A e B).....	62
Figura 13 - Serra artesanal utilizada para o corte dos otólitos (A e B). .....	63
Figura 14 - Colagem dos cortes de otólitos em lâminas de vidro com o auxílio da placa aquecedora e cola Cristal Bond (A e B); Desgaste e polimento das amostras em papéis de polimento umedecidos com água (C e D). .....	63
Figura 15 - Espectrômetro de massa de ablação a laser com multicoletor do IPREM-Pau (A, B e C).....	64
Figura 16 - Ilustração do sentido em que é realizada a ablação a laser (seta vermelha) partindo logo acima do núcleo (círculo vermelho) em direção ao bordo, em amostras de otólito (A) e escama (B) de <i>C. temensis</i> . .....	65
Figura 17 - Box plot para visualização das médias, desvio padrão e mínimo-máximo para as leituras das assinaturas isotópicas da $87/86\text{Sr}$ em escamas (Esc) e otólitos (Oto) de indivíduos de <i>C. temensis</i> por ponto de coleta (P). ...	72
Figura 18 - Comparação do perfil isotópico da $87/86\text{Sr}$ nas escamas (Esc) e otólitos (Oto) de <i>C. temensis</i> por ponto de coleta. Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da $87/86\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal de escama ou otólito do núcleo a borda (Tempo), de indivíduos amostrados nos rios Uatumã – montante da barragem (P1 e P2), Uatumã – jusante da barragem (P4 e P6) e baixo Jatapú (P5).....	73
Figura 19 - Box plot das médias, desvio padrão e mínimo-máximo para as leituras das assinaturas isotópicas da $87/86\text{Sr}$ em otólitos por ponto de coleta (P). .....	75
Figura 20 - Perfil isotópico dos exemplares de <i>C. temensis</i> coletados no rio Uatumã a montante da barragem. Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da $87/86\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda) de cada exemplar separados entre os pontos de coleta: Ponto 1 (margem direita do reservatório o mais distante possível da barragem) e Ponto 2 (margens esquerda do reservatório próximo a barragem). .....	76
Figura 21 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da $87/86\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de <i>C. temensis</i> amostrado no rio Uatumã região próxima da barragem à jusante.....	77
Figura 22 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da $87/86\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um	

indivíduo de <i>C. temensis</i> amostrado no rio Uatumã próximo a confluência com o rio Jatapú.....	78
Figura 23 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de <i>C. temensis</i> amostrado no baixo rio Uatumã. ....	79
Figura 24 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de <i>C. temensis</i> amostrado no baixo rio Jatapú. ....	80
Figura 25 - Valores médios da $^{87}/^{86}\text{Sr}$ na água para cada ponto amostral, distribuídos entre os rios Uatumã, Jatapú e Amazonas. ....	81
Figura 26 - Barplot indicando a formação de dois clusters com grupos biológicos bem definidos, um conformado pelas localidades a montante da barragem de Balbina nos Pontos 1 e 2 (vermelha), e outro conformado a jusante da barragem, pelas localidades dos Pontos 3, 4, 5 e 6 (azul). ....	83

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1 - Utilização dos principais isótopos estáveis em estudos ecológicos. 29

### CAPÍTULO II

Tabela 1 - Dados de “comprimento do transecto de análise – CTA” em milímetro para amostras de escamas e otólitos de indivíduos de *C. temensis*. 72

Tabela 2 - Dados biométricos e comportamento dos indivíduos de *C. temensis* analisados, separados por localidade amostrada (P), com diferentes números amostrais (n). Destacado em cinza a diferença no padrão de comportamento entre os indivíduos amostrados na área. .... 74

Tabela 3 - Diversidade genômica em termos de riqueza alélica (RA), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), por localidade amostrada (montante e jusante), com diferentes números amostrais (n). .... 82

Tabela 4 - Comparação par a par entre as localidades amostradas. .... 82

Tabela 5 - Matrix do fluxo gênico entre as localidades e o tamanho populacional em cada localidade (diagonal), destacados em vermelho os valores extremos (máximo-mínimo). .... 84

# SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>16</b>
JUSTIFICATIVA / OBJETIVOS.....	20
REFERÊNCIAS.....	22
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>27</b>
RESUMO.....	28
ABSTRACT .....	28
INTRODUÇÃO .....	29
METODOLOGIA.....	30
ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM ESTUDOS SOBRE ALIMENTAÇÃO DE PEIXES NA AMAZÔNIA BRASILEIRA .....	31
ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM ESTUDOS SOBRE PADRÃO DE MOVIMENTO E MIGRAÇÃO DE PEIXES NA AMAZÔNIA BRASILEIRA.....	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
AGRADECIMENTOS .....	39
DIVULGAÇÃO .....	39
REFERÊNCIAS.....	39
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>46</b>
INTRODUÇÃO .....	47
MATERIAL E MÉTODOS .....	49
ÁREA DE ESTUDO.....	49
Caracterização da área de estudo .....	50
Caracterização geológica .....	51
Isótopos de Estrôncio (Sr) em águas continentais amazônicas .....	53
CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO TUCUNARÉ .....	54
COLETA DE DADOS.....	55
Coleta e preparação de amostras de água .....	56
Metodologia de amostragem.....	56
Coleta e preparação de amostras biológicas .....	57
Análises Laboratoriais: Isótopos de estrôncio (Sr) .....	60
Preparação e análise das amostras de água: .....	60
Preparação e análise das amostras de estruturas calcificadas.....	61
Amostras de Otólitos: .....	61
Construção da biblioteca genômica .....	66
Extração do DNA.....	66
Digestão do DNA e ligação de adaptadores.....	66
PCR de teste da digestão/ligação .....	66
PCR de enriquecimento .....	67
Quantificação e purificação das amostras.....	67
Seleção de tamanho e diluição da biblioteca .....	67

PCR clonal do template.....	68
Enriquecimento do template.....	68
Sequenciamento .....	68
Edição dos dados genômicos.....	69
Análises estatísticas - Biogeoquímica .....	69
Análises estatísticas – Genética.....	69
Diversidade genética.....	70
Estrutura populacional.....	70
Fluxo gênico e demografia populacional .....	70
RESULTADOS .....	71
<sup>87/86</sup> Sr: Escamas x Otólitos de <i>C. temensis</i> .....	71
<sup>87/86</sup> Sr em otólitos de <i>C. temensis</i> .....	74
Peixes coletados no rio Uatumã a montante da barragem.....	75
Peixes coletados no rio Uatumã a jusante da barragem .....	77
Peixes coletados no baixo rio Jatapú .....	79
<sup>87/86</sup> Sr na água .....	80
Informação genômica do <i>C. temensis</i> .....	81
Diversidade genética.....	82
Estrutura populacional.....	82
Fluxo gênico e Demografia.....	84
DISCUSSÃO .....	85
Marcadores biogeoquímicos .....	85
Marcadores moleculares .....	88
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	92
REFERÊNCIAS.....	93

## INTRODUÇÃO GERAL

Alterações ambientais resultantes de eventos de origens antrópicas ou naturais constituem uma ameaça à diversidade de peixes de água doce em todo o planeta (PITTOCK et al., 2008). Na Amazônia, as perdas de biodiversidade podem aumentar a vulnerabilidade das populações humanas, principalmente das pessoas de baixa renda que apresentam forte dependência do peixe, como principal fonte de proteína. O cenário de curto e médio prazo para a potencialização destes problemas é ainda mais crítico ao considerarmos o estado de sobre-exploração de algumas espécies amazônicas (CAMPOS & FREITAS, 2014).

A construção de hidrelétricas, com a conseqüente fragmentação do ecossistema aquático, causa uma série de modificações no meio ambiente (FREEMAN et al., 2001; BALCIUNAS & ZDANKUS, 2007; DUGAN et al., 2010; GARCÍA et al., 2011), gerando impactos severos sobre a biota aquática (AGOSTINHO et al., 2008), em especial aos peixes (BARLETTA et al., 2010).

Um efeito bastante estudado da construção de barragens hidrelétricas é a formação de uma barreira física aos movimentos migratórios de espécies que precisam realizá-los para completar seu ciclo de vida (ANTONIO et al., 2007; DUGAN et al., 2010). Recentemente, Pelicice et al. (2014) mostraram que o ambiente formado pelo reservatório atua como uma barreira ecológica a migração e a distribuição das espécies que estavam adaptadas ao ambiente lótico pré-existente.

De modo geral, é reconhecido que a construção de barragens pode reduzir drasticamente a abundância ou mesmo promover a extinção local de espécies que dependem da migração, ao passo que aumentam a abundância de espécies sedentárias (AGOSTINHO et al., 2008). Em um primeiro momento, pode ocorrer perda de espécies mais sensíveis ou aquelas com requerimento ecológico mais particularizado, acompanhado da explosão populacional de outras, principalmente os carnívoros, sendo comum em grande parte dos reservatórios de hidrelétricas a formação de cardumes de predadores (SCHILT, 2007; AGOSTINHO et al., 2007).



O reservatório da Usina Hidrelétrica Balbina, barrando o rio Uatumã, ocupa uma enorme área de aproximadamente 4.400km<sup>2</sup>, sendo 1.300km<sup>2</sup> de ilhas e 3.100km<sup>2</sup> de lâmina d'água (FUNCATE/INPE/ANEEL, 2000).

O barramento alterou substancialmente a estrutura das assembleias de peixes a montante da barragem, com relatos de decréscimo considerável na população de espécies migradoras, como *Myleus rubripinnis* e *Hemiodus unimaculatus* (EFREM FERREIRA, comunicação pessoal). Ao mesmo tempo, outros estudos destacaram aumentos na abundância de espécies que não necessitam realizar migrações para completar seu ciclo de vida e que foram beneficiadas pela mudança no ambiente, como tucunarés (*Cichla* spp.) e a piranha preta (*Serrasalmus rhombeus*) (SANTOS & SANTOS, 2005), contribuindo para existência de pescarias direcionadas a exploração destas espécies, inclusive de pesca esportiva (SOBREIRO et al., 2010).

A conservação da variabilidade genética e da diversidade biológica das populações é fundamental para o funcionamento dos ecossistemas e manutenção das espécies de peixes ou outros organismos aquáticos, no que concerne à sua habilidade de adaptação e resposta às frequentes mudanças ambientais (BARKER & TINGEY, 1992).

É fato que a barragem da UHE Balbina não apresenta estrutura destinada a permitir a continuidade das migrações e movimentações de peixes, o que leva a crer na inexistência de fluxo gênico, pelo menos rio acima. Por outro lado, é possível que venha ocorrendo fluxo gênico do reservatório para o trecho a jusante, principalmente se as larvas sobrevivem à passagem pelas turbinas.

Ainda que isso ocorra, é de extrema importância que se faça uma avaliação da situação atual da estrutura, e da dinâmica dos padrões de movimentos das principais populações de peixes impactadas pelo barramento do rio.

### **Influência do barramento sobre a produção pesqueira do rio Uatumã**

Em Balbina, no estado do Amazonas, a atividade pesqueira teve início apenas cerca de um ano após o barramento do rio que ocorreu em 1987, e

somente em 1991 foram coletados os primeiros dados de desembarque pesqueiro composto basicamente por tucunarés (*Cichla* sp.) e ocasionalmente outros peixes de médio e grande porte, como a aruanã (*Osteoglossum bicirrosus*), piranha preta (*Serrasalmus rhombeus*) e traíra (*Hoplias malabaricus*), registrando aproximadamente 500 toneladas/peixe/ano (SANTOS & OLIVEIRA Jr., 1999).

No ano de 1993, foram desembarcadas 706 t de pescado, a partir deste ano observou-se uma tendência ao declínio da produção pesqueira local, chegando ao mínimo de 287 t em 1996 (SANTOS & FERREIRA, 1999; SANTOS & OLIVEIRA Jr, 1999).

Analisando pescarias realizadas em reservatórios, Agostinho et al. (2007) relataram aumento da abundância de algumas espécies pré-adaptadas ao ambiente lênticos, que passaram a suportar elevadas intensidades de pesca. Em Tucuruí, estado do Pará, espécies predadoras como as piranhas (*Serrasalmus* spp.) e os tucunarés (*Cichla* spp.), tiveram considerável aumento populacional nos primeiros anos do reservatório (FEARNSIDE, 2001).

No reservatório de Guri, na Venezuela, os tucunarés foram introduzidos por volta de 1975 e se adaptaram bem às condições, permitindo o desenvolvimento da pesca esportiva e comercial (NOVOA, 1993). Processo semelhante ocorreu em Balbina, onde as pescarias, comercial e esportiva, atuam basicamente em função do tucunaré.

Contudo, se o esforço de pesca sobre estes estoques for mantido em níveis elevados ao longo dos anos, em pouco tempo é possível haver um deplecionamento deste recurso pesqueiro. A sobrepesca e o colapso dos estoques pesqueiros, principalmente de tucunaré (*Cichla* spp.), são um perigo real com implicações sociais e ambientais à continuidade do potencial pesqueiro do reservatório da UHE de Balbina (NOVOA, 1993; SANTOS & OLIVEIRA Jr, 1999).

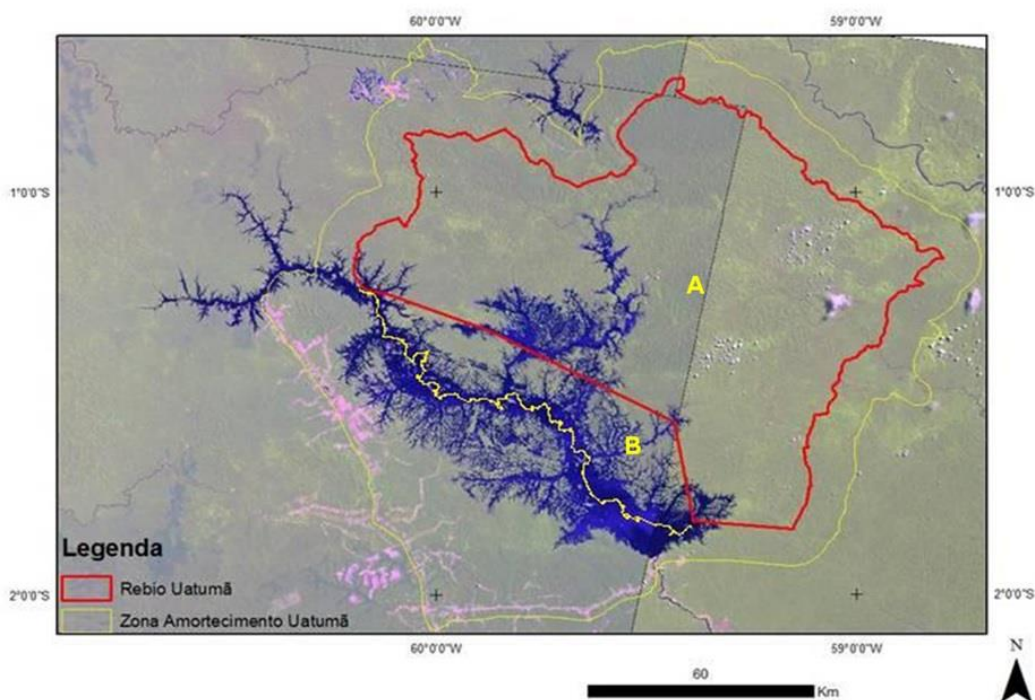
### **Histórico da conservação dos recursos pesqueiros após o barramento do rio Uatumã**

Após o barramento do rio Uatumã e a formação do reservatório de Balbina na década de 1990, foi criado por meio do Decreto Federal n. 99.277/90, a Reserva Biológica do Uatumã (REBIO) como um mecanismo de

conservação dos recursos pesqueiros no reservatório (BRASIL, 1990). A REBIO Uatumã possui 940.358 hectares e preserva uma área de apreciável biodiversidade regional e alto grau de endemismo (ELETRONORTE/IBAMA, 1997). Além disso, tem papel importante na proteção do reservatório de Balbina e suas ilhas.

Em 2005, por meio da Instrução Normativa n.12, a área que vai da margem esquerda do antigo leito do rio Uatumã até os limites da Unidade de Conservação - UC, foi delimitada como “área interdita”, proibindo o exercício da pesca em mais da metade do lago de Balbina. Esta normativa teve como objetivo garantir a manutenção dos estoques pesqueiros, considerando que a pesca ilegal é um dos maiores conflitos existentes nesta Unidade de Conservação (MMA, 2005).

Entre 2007 e 2009 vigorou a Portaria IBAMA n. 45/07, que regulamentava o Acordo de Pesca de Balbina, ordenando a pesca do tucunaré no reservatório, com período de defeso entre agosto e novembro e tamanho mínimo de captura de 30 cm (IBAMA, 2007). Após seu primeiro período de vigência, por problemas burocráticos, o mesmo não foi renovado, restando como medida conservacionista apenas a margem esquerda do antigo leito do rio Uatumã, onde a pesca é proibida (Figura 1).

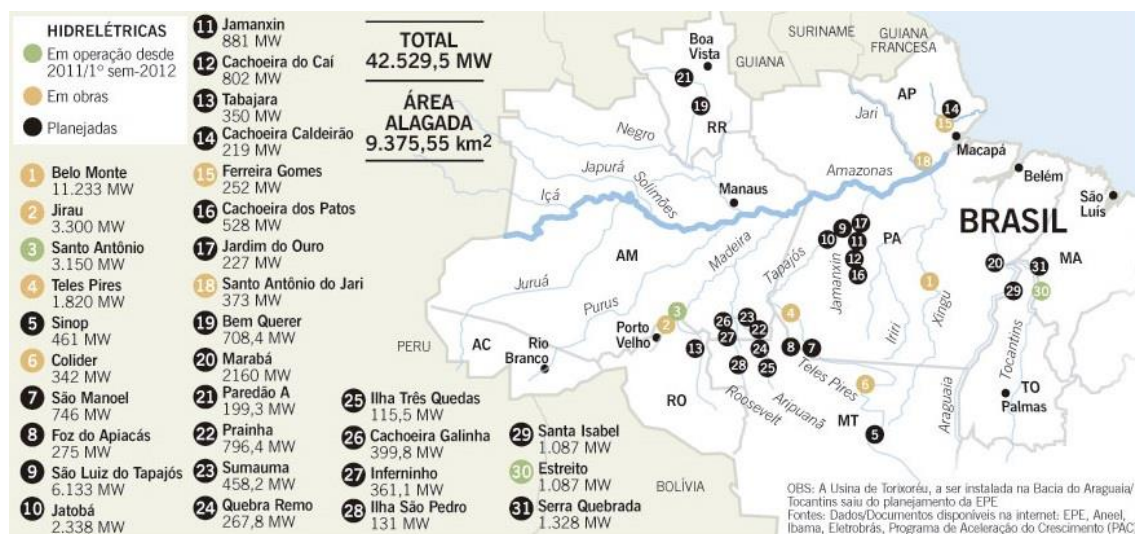


**Figura 1** - Áreas de Unidades de Conservação e Terras Indígenas. A= Reserva Biológica do Uatumã e B = Área de amortecimento da REBIO Uatumã, sujeita a restrições de uso estabelecidas nos planos de gestão da Unidade de Conservação. **Fonte:** SciELO - Scientific Electronic Library.

## JUSTIFICATIVA / OBJETIVOS

Em resposta aos efeitos oriundos da construção da barragem da UHE de Balbina, como, a formação de barreira física e barreiras ecológicas à migração e a distribuição das espécies que estavam adaptadas ao ambiente lótico pré-existente, é possível que as populações de peixes originais do rio Uatumã tenham se estruturado em pelo menos três subunidades populacionais, a saber: população A: a jusante do reservatório, sem barreira física ou ecológica até a confluência dos rios Uatumã e Amazonas; população B: no reservatório, bem adaptada às características do ambiente formado após o represamento; e, população C: estabelecida nos trechos lóticos a montante do reservatório, sem barreiras físicas, mas com potenciais barreiras ecológicas no reservatório.

No momento, existem diversos projetos de hidrelétricas para a Amazônia (Figura 2) e os efeitos destas construções sobre as populações de peixes ainda são desconhecidos. Sendo que alguns pesquisadores consideram que o efeito sobre espécies de peixes que realizam migrações, para completar o ciclo de vida, pode ser catastrófico.



**Figura 2** - Projetos de hidrelétricas propostos para a Amazônia, separados por cores: verde -projetos já implementados e em operação; laranja – projetos em fase de implementação; preto – projetos em fase de planejamento.

O uso de marcadores geoquímicos vem se mostrando uma eficiente abordagem para estudos de populações de peixes (CAMPANA, 1999), em especial para elucidar aspectos relacionados com local de nascimento, padrão de migração e uso do ambiente ao longo do ciclo de vida da espécie, incluindo importantes estudos já desenvolvidos na Amazônia (GARCEZ et al., 2014; POUILLY et al., 2014; HEGG et al., 2015; DUPONCHELLE et al., 2016; HERMANN et al., 2016; SOUSA et al., 2016). Ao mesmo tempo, marcadores moleculares constituem uma técnica já consagrada para o estudo de populações de peixes e pode ser usada para uma validação cruzada das inferências efetuadas a partir dos marcadores biogeoquímicos. Em especial, os marcadores moleculares permitirão avaliar a ocorrência de estruturação na população originária da espécie-alvo como resultado da fragmentação do rio pela represa da UHE Balbina.

Diante disso, ressalta-se a importância do refinamento do uso destes métodos na avaliação de impactos sobre os estoques pesqueiros a partir da implementação de barragens hidrelétricas. Portanto, o objetivo geral do presente estudo foi **“Estudar o efeito de barragens hidrelétricas sobre a dinâmica de movimentos e a estrutura genética de populações de peixes da Amazônia, por meio de um estudo de caso com a população de *Cichla temensis* do rio Uatumã, barrado pela UHE Balbina, e do rio Jatapú, um afluente não impactado”**, para testar a hipótese central de que: **“O barramento do rio Uatumã formou barreira física e ecológica à movimentação dos peixes e ao fluxo gênico entre a população de *C. temensis* originária do rio Uatumã”**. Para isso, buscou-se alcançar os seguintes objetivos específicos:

- ✓ Realizar uma revisão bibliográfica com trabalhos que utilizaram isótopos estáveis como ferramenta de análise em estudos ecológicos na Amazônia Brasileira (capítulo 1);

- ✓ Identificar a estrutura óssea, escamas ou otólitos, mais apropriada para caracterização das assinaturas isotópicas da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em *C. temensis* (capítulo 2);

- ✓ Aplicar marcadores biogeoquímicos ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) para estudar os padrões de movimentação de *Cichla temensis* do rio Uatumã e do rio Jatapú, rios com nascentes no Escudo das Guianas (capítulo 2);
- ✓ Determinar a estrutura genética da população de tucunaré *C. temensis* no rio Uatumã (capítulo 2);
- ✓ Estimar os parâmetros de diversidade genética da população de tucunaré *C. temensis* no rio Uatumã (capítulo 2);
- ✓ Verificar a existência de uma estruturação e os padrões de movimentação na população de *C. temensis* como resultado do barramento do rio Uatumã e/ou da influência do rio Amazonas (capítulo 2);

A tese foi composta por dois capítulos. O primeiro capítulo intitulado **“Isótopos estáveis em estudos ecológicos com peixes na Amazônia Brasileira”** apresentou uma revisão bibliográfica de artigos científicos sobre aspectos de alimentação, padrão de movimento e migração de peixes que utilizaram isótopos estáveis como ferramenta de análise na Amazônia Brasileira, publicados no período de 1980 a 2017. Está na forma de artigo científico, já publicado no periódico Scientia Amazonia, v. 6, n.3, 119-127, 2017.

O segundo capítulo intitulado **“Uso de marcadores biogeoquímicos e moleculares, para o estudo dos padrões de movimentação, diversidade genética e estrutura das populações de *Cichla temensis* do rio Uatumã e baixo rio Jatapú, à luz dos barramentos de rios para implantação de empreendimentos hidroelétricos”** investigou os padrões de comportamentos de dispersão de *Cichla temensis* ao longo da bacia do rio Uatumã e do baixo rio Jatapú a partir das assinaturas isotópicas da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em otólitos. E determinou a estrutura genética, os parâmetros de diversidade genética e verificou a existência de uma estruturação e os padrões de movimentação na população de *C. temensis* como resultado do barramento do rio Uatumã, por meio da genômica, uma ferramenta para estudos de genética molecular.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C.; PELICICE, F.M. Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil. **Eduem. Maringá**. 501pp, 2007.

AGOSTINHO, A.A.; PELICICE, F.M. & GOMES, L.C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology** 68, 1119-1132, 2008.

ANTONIO, R.R.; AGOSTINHO, A.A.; PELICICE, F.M.; BAILLY, D. & DIAS, J.H.P. Blockage of migratory routes by dam construction: can migratory fish find alternative routes? **Neotropical Ichthyology** 5, 177-184, 2007.

BALCIUNAS, P.; ZDANKUS, N. Harmonization of hydropower plant with the environment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 11, 1260-1274, 2007.

BARKER, J.R. & TINGEY, D.T. Air pollution effects on biodiversity. **Van Nostrand Reinhold**, New York. 307p, 1992.

BARLETTA, M.; JAUREGUIZAR, A.J.; BAIGUN, C.; FONTOURA, N.F.; AGOSTINHO, A.A.; ALMEIDA- VAL, V.M.F.; VAL, A.L.; TORRES, R.A.; JIMENES-SEGURA, L.F.; GIARRIZZO, T.; FABRE, N.N.; BATISTA, V.S.; LASSO, C.; TAPHORN, D.C.; COSTA, M.F.; CHAVES, P.T.; VIEIRA, J.P.; CORREA, M.F.M. Fish and aquatic habitat conservation in South America: a continental overview with emphasis on neotropical systems. **Journal of Fish Biology** 76, 2118–2176, 2010.

BRASIL. Dispõe sobre a criação da Reserva Biológica do Uatumã no Estado do Amazonas. **Decreto Federal** n. 99.277, de 06 de junho de 1990.

CAMPANA, S.E. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. **Marine Ecology Progress Series**, 188, 263-297, 1999.

CAMPOS, C.P. & FREITAS, C.E.C. Yield per recruit of the peacock bass *Cichla monoculus* (Spix and Agassiz, 1831) caught in Lago Grande at Manacapuru (Amazonas – Brazil). **Brazilian Journal of Biology** 74, 226-230, 2014.

DALL'AGNOL, R.; COSTI H. T.; BORGES, R. M. K. Estudos e projetos direcionados a depósitos minerais e distritos mineiros: "Caracterização de depósitos minerais em distritos mineiros da Amazônia", subprojeto: Pitinga-Estanho. **Relatório de compilação e integração de dados/Nota Explicativa ao Mapa Geológico 1:25.000**. Belém: UFPA 11-23p, 2003.

DUGAN, P.J.; BARLOW, C.; AGOSTINHO, A.A.; BARAN, E.; CADA, G.F.; CHEN, D.; COWX, I.G.; FERGUSON, J.W.; JUTAGATE, T.; MALLEN-COOPER, M.; MARMULLA, G.; NESTLER, J.; PETRERE, M.; WELCOMME, R.L.; WINEMILLER, K.O. Fish Migration, Dams, and Loss of Ecosystem Services in the Mekong Basin. **AMBIO: A Journal of the Human Environment** 39:344–348, 2010.

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)

ELETRONORTE. 1. Usina Hidroelétrica de Balbina. 2. Energia elétrica-Brasil. 3. Usinas hidroelétricas-Brasil. Consórcio Monasa/Enge-Rio. Série: Projeto Memória Eletronorte. **Memória Técnica**. 1997.

ELETRONORTE/IBAMA. Plano de Manejo Fase 1. Reserva Biológica do Uatumã. **Eletronorte/Ibama**. Brasília. 173 pp, 1997.

FEARNSIDE, P.M. Environmental Impacts of Brazil's Tucuruí Dam: Unlearned Lessons for Hydroelectric Development in Amazonia. **Environmental Management**, 27(3): 377-396, 2001.

FREEMAN, M.C.; BOWEN, Z.H.; BOVEE, K.D.; IRWIN, E.R. Flow and habitat effects on juvenile fish abundance in natural and altered flow regimes. **Ecological Applications** 11:179–190, 2001.



FUNCATE/INPE/ANEEL. Mapeamento por satélite das áreas inundadas por reservatórios de hidrelétricas brasileiras. **Relatório Técnico**. Convênio FUNCATE/INPE/ANEEL, São Paulo, Brasil. 2000. <http://www.inpe.br>

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**, 24, 2, 242-252, 2014.

GARCÍA, A.; JORDE, K.; HABIT, E.; CAAMAÑO, D.; PARRA, O. Downstream environmental effects of dam operations: changes in habitat quality for native fish species. **River Research and Applications** 27, 312–327, 2011.

HEGG, J. C., GIARRIZZO, T., KENNEDY, B. P. Diverse early life-history strategies in migratory Amazonian catfish: implications for conservation and management. **Plos One**, 10, 7, 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**, 3, 6, 1-16, 2016. (doi: 10.1098/ rsos.160206)

IBAMA. Dispõe sobre o Acordo de Pesca no lago de Balbina, localizado no município de Presidente Figueiredo, estado do Amazonas. **Portaria** n. 45, 25-09-2007.

MMA. Dispõe sobre estabelecimento de normas específicas para o uso de recursos da zona de amortecimento da Reserva Biológica do Uatumã. **Instrução Normativa** n. 12, DOU.10-06-2005.

NOVOA, D.F. Aspectos generales sobre la biología, pesquería, manejo y cultivo del pavón (*Cichla orinocensis* y *Cichla temensis*) en el lago del Guri y otras áreas de la región Guayana. **Memoria Sociedad Ciencias Naturales La Salle**, 96, 34-39, 1993.

PELICICE, F.M.; POMPEU, P.S. & AGOSTINHO, A.A. Large reservoirs as ecological barriers to downstream movements of Neotropical migratory fish. **Fish and Fisheries**. 2014. <https://doi: 10.1111/faf.12089>.

PITTOCK, J.; HANSEN, L.J. & ABEL, R. Running dry: freshwater biodiversity, protected areas and climate change. **Biodiversity**, 9, 30-39, 2008.

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.

SANTOS, G.M.; FERREIRA, E.G. Peixe da Bacia Amazônica. In: Lowe-McConnel, R.H. **Estudos ecológicos de comunidades de Peixes Tropicais**. São Paulo. EDUSP. p. 345-373, 1999.

SANTOS, G.M.; OLIVEIRA JR., A. B. A pesca no reservatório da hidrelétrica de Balbina (Amazonas, Brasil). **Acta Amazônica** 29(1), 145-163 pp, 1999.

SANTOS, G.M. & SANTOS, A.C.M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Acta Amazônica** 19, 165-182, 2005.

SCHILT, C.R. Developing fish passage and protection at hydropower dams. **Applied Animal Behaviour Science**, 104, 295-325., 2007.

SOBREIRO, T.; FREITAS, C.E.C.; PRADO, K.L.; NASCIMENTO, F.A.; VICENTINI, R. & MOARES, A.M. An evaluation of fishery co-management experience in an Amazonian black-water river (Unini River, Amazon, Brazil). **Environment, Development and Sustainability**, 2010. <https://doi:10.1007/s10668-010-9238-8>.

SOUSA, 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**, 23, 76-87, 2016.

## **CAPÍTULO I**

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

Publicado em *Scientia Amazonia*, v. 6, n.3, 119-127, 2017.

Revista on-line <http://www.scientia-amazonia.org>

ISSN:2238.1910

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

## **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 in ecological studies with fish in the Brazilian Amazon. 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

## 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 & BENEDITO, 2007; MARTINELLI, et al., 2009).

Comumente são utilizados em estudos ecológicos o  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  e  $^{87}\text{Sr}$  (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 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).

**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

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).

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.

## **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.

## **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 & 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 & 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 C3 e C4 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 significativamente

para produção primária nas planícies de inundação, nem todos grupos eram importantes no balanço de carbono dos peixes adultos. As plantas com vias fotossintéticas C4 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 C3 (árvores da floresta inundada, macrófitas C3, perifíton 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 C4 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 C4 foi de 15%, enquanto o grupo das plantas C3 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 C3.

Estes estudos corroboram que as principais fontes de carbono para os peixes são os organismos autotróficos com via fotossintética C3, 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 C4 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 C4 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 C4 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 C4, o que indica o alto valor nutritivo dessas plantas. Dessa forma, sugeriram que as macrófitas C4 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 C4 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 C4 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 C3. Embora a contribuição das gramíneas C4 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 C3, apesar das macrófitas C4 geralmente produzirem maiores biomassas do que as macrófitas C3, 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 C3 e C4. O experimento demonstrou que as macrófitas C4 são rapidamente mineralizadas, bem como a mistura natural de matéria orgânica particulada

com produtores primários empobrecidos em  $^{13}\text{C}$  devem ser responsáveis pela baixa contribuição das fontes de carbono  $\text{C}_4$  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  $\text{C}_3$  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 significativa 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) buscou compreender as relações funcionais e tróficas entre quatro famílias de peixes (Loricariidae, Serrasalminidae, 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 loricarídeos, enquanto que a diversidade trófica foi maior nos serrasalmídeos e loricarídeos. De acordo com as estimativas do modelo de mistura usado pelos autores, o fitomicrobentos foi a principal fonte de energia para todas as famílias.

## **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  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , 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 populosos 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 (LAICPMS) e a microscopia de fluorescência de raiosX de varredura (SXFEM). 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 BARBARINODUQUE, 1993; HOEINGHAUS et al., 2003; MACRAN- DER, 2010).

## **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.

## **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. C3 or C4 macrophytes: a specific carbon source for the development of semi aquatic and terrestrial arthropods in Central Amazonian River-Floodplains according to  $\delta^{13}\text{C}$  values. **Isotopes 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.

AZEVEDO-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 C3 and C4 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  $\delta^{13}\text{C}$  no estudo de cadeias alimentares em 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  $^{15}\text{N}$  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, 1984.

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 C4 and C3 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., MOREIRA, 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.

SOUSA, 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. Evaluación 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 II**

**Uso de marcadores biogeoquímicos e moleculares, para o estudo dos padrões de movimentação, diversidade genética e estrutura da população de *Cichla temensis* do rio Uatumã e baixo rio Jatapú, à luz dos barramentos de rios para implantação de empreendimentos hidroelétricos**

## INTRODUÇÃO

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).

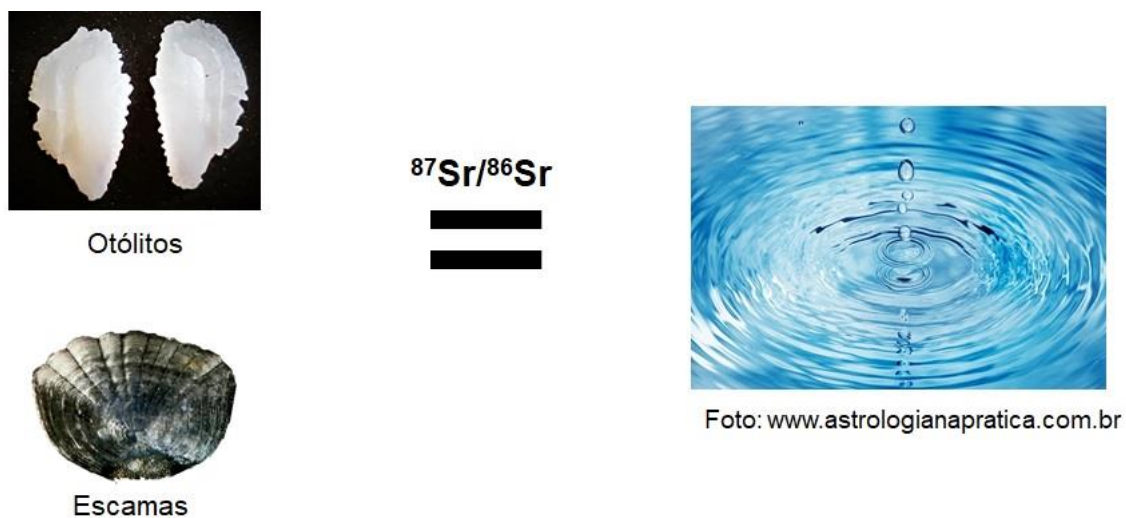


Figura 1 - Ilustração esquemática da correlação entre a assinatura da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em estruturas calcificadas de peixes com a assinatura da água do rio onde vivem.

Apesar do potencial dos marcadores microquímicos para entender migrações e padrões de movimentos de peixes na Amazônia, apenas seis estudos utilizaram esta ferramenta (GARCEZ et al., 2014; POUILLY et al., 2014; HEGG et al., 2015; DUPONCHELLE et al., 2016; HERMANN et al., 2016; SOUSA et al., 2016).

Freeland et al. (2005) mostram que a aplicação de ferramentas genéticas são eficientes para detectar mudanças nas populações silvestres a um nível detalhado. Estas fornecem informação de uma população tal como diversidade genética, nível de endogamia, estrutura da população, tamanho efetivo populacional e fluxo gênico, entre outros parâmetros importantes, que

são relevantes para o estudo de populações de espécies exploradas comercialmente, assim como espécies ameaçadas de extinção e que permitem entender os processos que geram mudanças evolutivas nas populações (FRANKHAM et al., 2004; DESALLE & AMATO, 2004).

Atualmente, uma das ferramentas mais usadas na genética é a genômica, através dos SNP (Single Nucleotide Polymorphisms). Estes marcadores, tem sido frequentemente utilizados em estudos populacionais, devido a sua ampla distribuição pelo genoma e simples de variação genética, que permite determinar parâmetros populacionais assim como processos de seleção e adaptação de um grupo populacional particular, além de ser um método rápido e econômico (DESALLE E AMATO, 2004; ALLENDORF et al., 2010; CATCHEN et al., 2013).

Um SNP é um tipo de marcador anônimo nuclear de uma única mudança de base em uma sequência de DNA, sendo que qualquer das quatro bases pode mudar. O SNP é bialélico, ou seja, que existem duas alternativas ou possíveis nucleotídeos (Figura 2). Para tal posição ser considerada como SNP, o alelo menos freqüente deve estar presente pelo menos em 1% da população. A sua evolução é por modelos de mutação simples baseado em transições e transversões, como o modelo de sítios infinitos (VIGNAL et al., 2002).

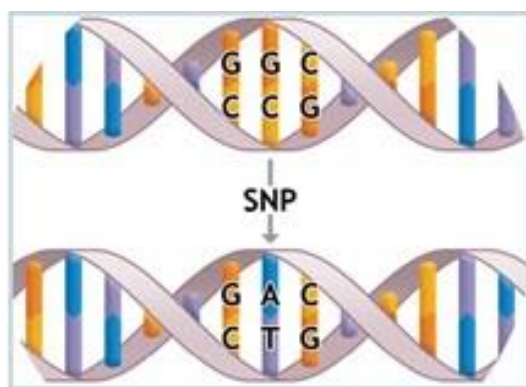


Figura 2 - SNP (Single Nucleotide Polymorphism), variação em um sítio da sequência de DNA. Fonte: (<http://www.ibbl.lu/>).

A maneira mais eficaz, rápida e econômica de se obter as sequências que contêm SNP de um organismo é pela metodologia de RADseq (double



digest RAD sequencing), que consiste em gerar bibliotecas genômicas que possuem fragmentos obtidos mediante digestão com duas enzimas de restrição e que estão dentro de uma faixa de tamanho selecionada, e que serão posteriormente sequenciadas mediante sequenciamento de próxima geração (NGS - Next Generation Sequencing) (PETERSON et al., 2012).

Desta forma, a combinação da ferramenta genômica com outros métodos analíticos dão maior suporte para o estudo das populações silvestres e na avaliação das mudanças causadas por alterações no ambiente, pela exploração, ou outros fatores extrínsecos.

Nessa perspectiva, esse trabalho objetivou investigar o fluxo gênico de *C. temensis* dos rios Uatumã e Jatapú, típicos rios de água preta da Amazônia com nascentes no Escudo das Guianas. Além disso, determinar os padrões de movimentação, estrutura genética, estimar os parâmetros de diversidade genética, e verificar a existência de fragmentação da população *C. temensis*, devido aos impactos da Barragem da UHE Balbina no rio Uatumã, a partir da combinação de uma ferramenta genômica e leituras isotópicas da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em estruturas calcificadas dos peixes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

O presente estudo teve como área de estudo o Rio Uatumã, um dos principais afluentes da margem esquerda do rio Amazonas, dividido em quatro áreas de amostragem e o trecho inferior do rio Jatapú, um afluente da margem esquerda do rio Uatumã que apresenta características limnológicas similares às existentes originalmente no rio Uatumã, o qual foi assumido como área controle em face da inexistência de barragens a pelo menos 500 Km de distância rio acima.

Os pontos amostrais nos rios Uatumã e Jatapú foram: Ponto 1: situado no trecho lótico a montante do reservatório, com características limnológicas ainda preservadas; Ponto 2: situado no interior do reservatório; Ponto 3: situado a jusante do reservatório, a aproximadamente 50 km de distância do reservatório; Ponto 4: situado na foz do rio Jatapú, sob a influência do rio Uatumã; Ponto 5: situado no trecho inferior do rio Jatapú a uma distância

aproximada de 100 km da foz; Ponto 6: situado próximo ao município de São Sebastião do Uatumã na porção mais baixa do rio Uatumã, no trecho em que a água preta do Uatumã não recebe a influência da água branca do rio Amazonas; Ponto 7: situado próximo ao município de Urucará, na foz do rio Uatumã, onde ocorre a mistura da água preta do Uatumã com a água branca do rio Amazonas (Figura 3).

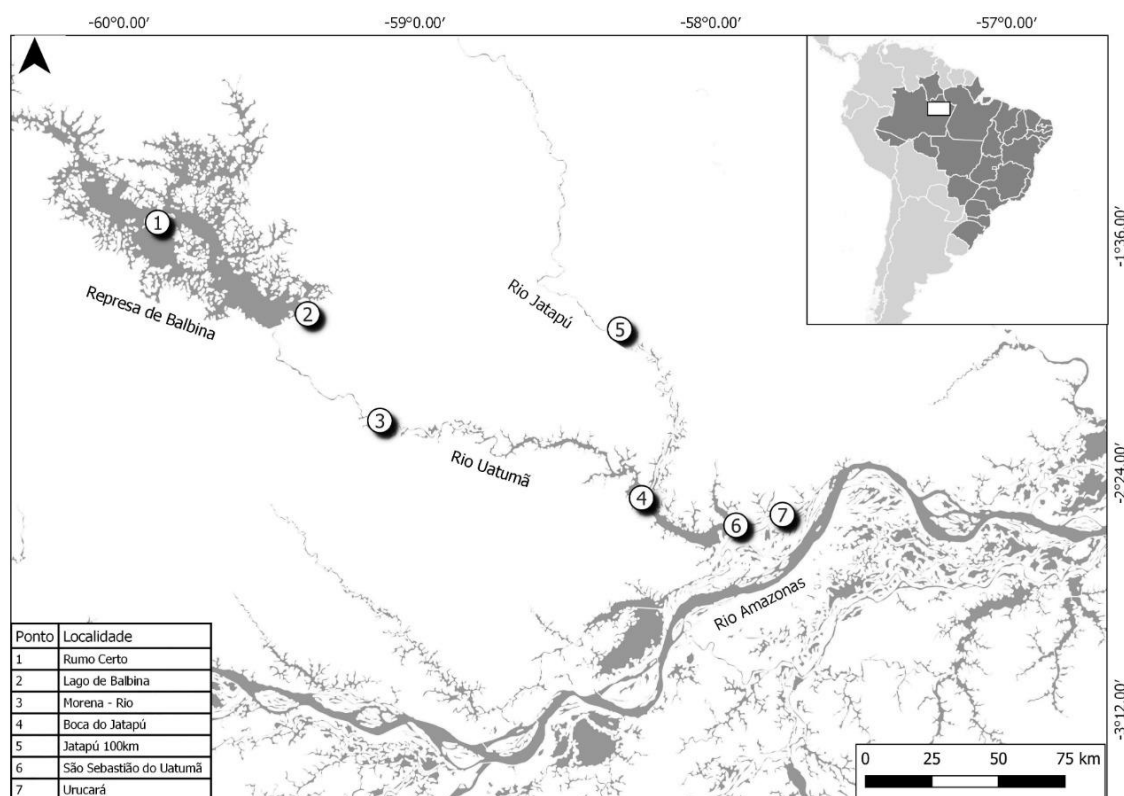


Figura 3 - Mapa da área de estudo com destaque para os sete pontos amostrais localizados nos rios Uatumã e Jatapú.

### Caracterização da área de estudo

O rio Uatumã é um dos principais afluentes da margem esquerda do rio Amazonas, situado entre a foz dos rios Negro e Trombetas. Ele drena uma área de aproximadamente 70.600 km<sup>2</sup>, sua água escura possui características físico-químicas semelhantes às dos grandes rios de águas pretas da bacia Amazônica (SANTOS & JEGU, 1996).

De acordo com a tradicional classificação dos rios amazônicos (SIOLI, 1984), o rio Uatumã apresenta águas ácidas, com pH entre 3,7 e 5,8, são pobres em íons e ricos em matéria orgânica dissolvida, tem baixa declividade

na maior parte de sua extensão, exceto nas zonas de corredeiras, das quais as mais importantes são Morena e Balbina, sendo esta última o local de instalação da UHE Balbina. À jusante da corredeira da Morena, que é a última, a partir da nascente, o rio é largo, com margens baixas e é bastante influenciado pelo regime do rio Amazonas, que o represa na época da cheia, formando vários lagos marginais e extensas áreas de igapós (SANTOS & JEGU, 1996).

Na Amazônia, os rios de água preta, como o rio Negro, Uatumã e Jatapú apresentam águas ácidas, diferentes dos rios de água branca, como o Solimões/Amazonas que apresenta pH próximo ao neutro. Como resultado das diferenças físico-químicas, provavelmente, os rios funcionam como barreiras geográficas determinantes na distribuição espacial das espécies de peixes de água doce (FURCH et al., 1982).

As águas do rio Uatumã abrigam uma grande diversidade de espécies de peixes, que desenvolveram estratégias para ocupar os diferentes ambientes disponíveis. A elevada diversidade de formas e tamanhos dos peixes que habitam o rio Uatumã, resulta em diferentes formas de uso deste recurso natural. Muitas espécies são usadas para a alimentação pelos ribeirinhos e moradores de comunidades e cidades ao longo e ao entorno do rio Uatumã. Algumas espécies são utilizadas pela pesca comercial e pela pesca esportiva, especialmente o tucunaré (*Cichla* spp.) que se destaca nessa atividade por sua abundância e pela característica agressiva. (SANTOS & OLIVEIRA Jr, 1999).

### **Caracterização geológica**

Em termos geológicos, a bacia de drenagem do rio Uatumã na área de estudo, encontra-se sobre duas unidades morfo-estruturais distintas: o Complexo Guianense, onde se situam o alto e médio cursos (montante da barragem da UHE Balbina) e as rochas sedimentares da planície Amazônica, nos cursos inferiores (ELETRONORTE, 1997) (Figura 4).

O Complexo Guianense, na região onde localiza-se o lago da UHE de Balbina, é sobreposto pelo Supergrupo Uatumã (DALL'AGNOL et al., 2003), esta unidade estratigráfica é constituída por uma fase vulcânica, sucedida por uma fase plutônica (MELO et al., 1978). Em nossa área de estudo, a fase

vulcânica está representada pela Formação Iricoumé e a fase plutônica pela Suíte Mapuera.

A **Formação Iricoumé**, elevada à categoria de Grupo por VEIGA JR. et al. (1979), é composto por rochas vulcânicas intermediárias a ácidas, não metamorfizadas, associadas aos granitóides mais jovens, com características petrográficas semelhantes às vulcânicas efusivas. Quimicamente, essas rochas variam de metaluminosas a peraluminosas, e destacam-se por apresentar elevados teores de flúor.

A **Suíte Mapuera**, é constituída por corpos graníticos de contornos irregulares, arredondados a alongados, intrusivos em rochas vulcânicas relacionadas ao Grupo Iricoumé (ARAÚJO NETO & MOREIRA, 1976; VEIGA JR. et al., 1979; COSTI et al., 1984; JORGE JOÃO et al., 1984). Mais tarde, Faria et al. (2000) adicionaram à conformação da Suíte Mapuera, os granitóides leucocráticos a hololeucocráticos, róseos, equigranulares a inequigranulares médios a grossos, geralmente isotropos e homogêneos, com composição monzogranítica a sienogranítica.

A **Formação Alter do Chão** capeia continuamente as camadas da planície Amazônica. Em nossa área de estudo, a região baixa dos rios Uatumã e Jatapú são compostas basicamente por esta unidade estratigráfica cenozoica, composta por intercalações de arenitos, argilitos, siltitos e conglomerados predominantemente vermelhos (CAPUTO, 2011).

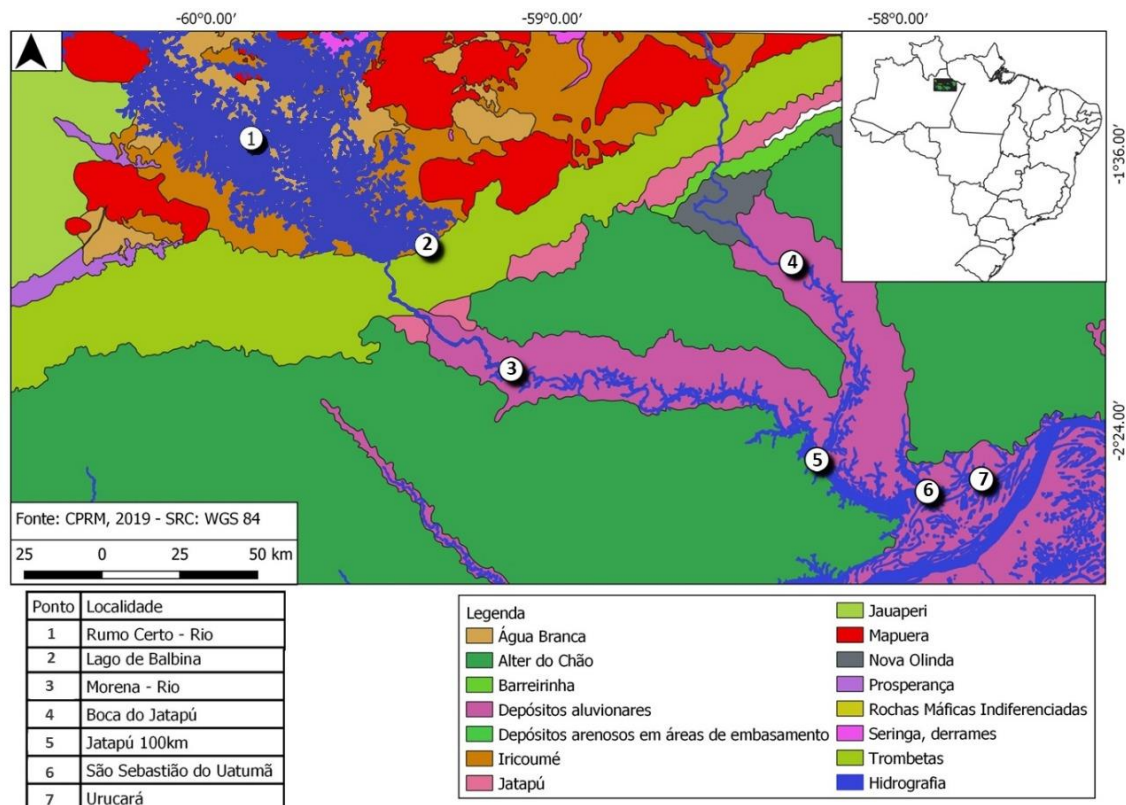


Figura 4 - Mapa da área de estudo, destacando a composição geológica do solo ao longo dos sete pontos amostrais, localizados nos rios Uatumã e Jatapú

### Isótopos de Estrôncio (Sr) em águas continentais amazônicas

O Sr é um metal alcalino terroso abundante na natureza, representando cerca de 0,034% de todas as rochas ígneas. Ocorre naturalmente na forma de quatro isótopos estáveis:  $^{84}\text{Sr}$  (0,56%),  $^{86}\text{Sr}$  (9,86%),  $^{87}\text{Sr}$  (7,0%) e  $^{88}\text{Sr}$  (82,58%). Dos quais, somente o  $^{87}\text{Sr}$  é radiogênico, produto do decaimento do  $^{87}\text{Rb}$ . Portanto, o  $^{87}\text{Sr}$  pode ter duas origens: formado durante a síntese nuclear primordial (junto com os outros três isótopos estáveis) ou ser produto de decaimento radioativo (FAURE & MENSING, 2005).

Nos rios da Amazônia a composição isotópica do Sr é variável, estando diretamente relacionado com a razão Rb/Sr (baseado na desintegração radioativa de um isótopo de  $^{87}\text{Rb}$ , dando origem a um isótopo de  $^{87}\text{Sr}$ ) e a idade das rochas por onde as águas percolam ou escoam. Uma vez que, rochas muito antigas apresentam altos valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , tais como granitos, que geralmente apresentam altos valores para razão Rb/Sr, com valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  superiores a 0,710 (FAURE, 2001). Ao contrário, rochas jovens

apresentam baixos valores para razão Rb/Sr, com valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  menores que 0,704 (CAPO et al., 1998; SLOVAK & PAYTAN, 2011).

Sua concentração dissolvida na água pode variar entre 4,3 e 39 ppm, já em materiais em suspensão, varia entre 40 e 176 ppm. A razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  no material em suspensão varia entre  $0,71319 \pm 0,00002$  e  $0,75640 \pm 0,00002$  e apresenta mais Sr radiogênico em relação ao material dissolvido, no qual a razão varia entre  $0,708776 \pm 25$  e  $0,733172 \pm 29$  (ALLÉGRE et al., 1996).

A variação na composição isotópica do Sr tem sido usada em diversos estudos para determinar a fonte de Sr em corpos de água, a história geoquímica e o potencial de mistura em sistemas de águas superficiais e subterrâneas (PALMER & EDMOND, 1992; LYONS et al., 1995).

Estudos mais recentes, sugerem que a grande diversidade de formações geológicas presentes na bacia Amazônica, resulta em diferenças detectáveis na assinatura isotópica da razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  nos otólitos de peixes, quando estes transitam por áreas mais ou menos radiogênicas (GARCEZ et al., 2014; POUILLY et al., 2014; HEGG et al., 2015; DUPONCHELLE et al., 2016; SOUSA et al., 2016).

### **Caracterização biológica do Tucunaré**

O gênero *Cichla* pertence à família Cichlidae, uma das famílias de peixes teleósteos mais diversa e amplamente distribuída, com aproximadamente 1.300 espécies de água doce já registradas e um total estimado em cerca de 1.900 espécies mundialmente (KULLANDER, 1998).

Dentre os ciclídeos neotropicais, o gênero *Cichla* possui as espécies de maior tamanho, podendo alcançar cerca de um metro em *Cichla temensis* (KULLANDER, 2003).

Estudo taxonômico do gênero *Cichla* baseado em características morfológicas sugere que existam 14 espécies de tucunarés, dentre as quais as mais estudadas são: *Cichla intermedia* (MACHADO-ALLISON, 1971), *Cichla ocellaris* (BLOCH & SCHNEIDER, 1801), *Cichla orinocensis* (HUMBOLDT, 1821), *Cichla temensis* (HUMBOLDT, 1821), *Cichla monoculus* (AGASSIZ, 1831). Dentre estas, as três últimas podem ser encontradas nos rios Uatumã e Jatapú, contudo, na área inundada pelo reservatório da UHE de Balbina,

também pode ser encontrado o *Cichla vazzoleri* descrito por Kullander & Ferreira (2006).

As espécies do gênero *Cichla* são bastante prolíficas, porém apresentam baixa fecundidade, quando comparadas a caracídeos migradores (SAWAYA & MARANHÃO, 1946; FONTENELE, 1950; ISAAC et al., 2000), possuem adaptações para ambientes lênticos (PETRERE JÚNIOR, 1996) e alimentam-se, preferencialmente, de peixes pequenos e invertebrados grandes (KULLANDER, 2003). Estes peixes não apresentam época reprodutiva definida, porém se reproduzem com maior frequência durante os meses mais quentes. São peixes de desova parcelada (desova apenas parte de seus ovos) e possuem cuidados parentais, construindo ninhos e protegendo sua prole (STAECK & LINKE, 1985; NELSON, 1994).

Os padrões comportamentais das espécies do gênero *Cichla* se adaptam muito bem à ambientes criados em decorrência da construção de usinas hidrelétricas.

### **Coleta de dados**

A área de estudo foi dividida em duas seções visando a melhor viabilidade logística para a realização das coletas de campo. Sendo a primeira seção composta pelos pontos amostrais 1, 2 e 3, com acesso pela estrada da Br-174. E a segunda seção composta pelos pontos 4, 5, 6 e 7, com acesso pela estrada da Am-010. Desta forma, realizamos duas expedições de campo em cada seção, sendo uma no período com grande ocorrência de precipitação (12/2017) e outra em um período de pouca precipitação (08/2018). Para que fosse avaliada qualquer interferência referente à intensidade de precipitação sobre a razão isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  encontrada na água.

O acesso aos pontos de coleta foi realizado com o auxílio de embarcações motorizadas, alugadas de ribeirinhos residentes em regiões próximas aos pontos de coleta e, quando possível, utilizamos embarcações disponibilizadas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio.

Todas as coletas foram realizadas mediante autorização de captura fornecida pelo ICMBio: SISBIO-51293-2, 2017/2018.

## **Coleta e preparação de amostras de água**

Em cada excursão foi coletada uma amostra de água em cada ponto amostral utilizando os materiais e a metodologia descritos a seguir:

Material de campo:

- 1 garrafa PET de 2 litros/amostra previamente limpa com ácido  $\text{HNO}_3$  (10%) e água destilada;
- 1 par de luvas descartáveis de látex/amostra;
- 1 sonda multiparâmetros com sensor de temperatura, condutividade,  $\text{O}_2$ , pH;
- 1 disco de Secchi para determinar a profundidade da coluna d'água e transparência;
- 1 "isopor" com gelo para preservar as amostras.

## **Metodologia de amostragem**

No momento das amostragens a embarcação era ancorada com a proa voltada contra o fluxo de água do rio, prevenindo possível contaminação da amostra por resíduos liberados pelo motor da embarcação. O coletor realizava uma breve assepsia dos braços retirando qualquer resíduo de produtos de higiene pessoal e até mesmo cremes de proteção solar, em seguida, equipado com luvas descartáveis de látex iniciava o processo de amostragem.

Primeiramente a garrafa de coleta passou por um processo de enxágue por três vezes com a mesma água a ser coletada, ao realizar esse procedimento, a água era descartada em local diferente daquele amostrado, só então a amostra da água era realizada emergindo a garrafa entre 5 e 10 cm abaixo do nível d'água. Após a realização das coletas, as garrafas eram mantidas em uma caixa térmica com gelo e transportadas até o laboratório de Geoquímica da Universidade Federal do Amazonas.

No momento das amostragens, com o auxílio de sonda multiparâmetros, modelo Hana HI-9828, foram registrados os parâmetros físico-químicos da água: potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido ( $\text{DO mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), condutividade ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ). Com disco de Scchi foram medidas



a transparência da água e com profundímetro a profundidade da coluna d'água nos pontos de coleta (Figura 5).



Figura 5 - Amostragem dos parâmetros físico-químicos da água: (A) potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (DO mg·l<sup>-1</sup>), condutividade (μS·cm<sup>-1</sup>) e temperatura (oC); (B) transparência da água; (C) profundidade da coluna d'água.

### Coleta e preparação de amostras biológicas

Em paralelo às coletas de água, foram realizadas as capturas de exemplares de *C. temensis* por meio de pescarias experimentais utilizando varas de pesca equipadas com carretilha, linha multifilamento e isca artificial, aplicando um método de pesca ativa, ou seja, por meio de arremesso e imediato recolhimento da isca.

Foram coletados pelo menos 10 exemplares de *C. temensis* em cada um dos pontos de amostragem, com exceção do ponto 7, localizado em uma região de água branca logo após a confluência das águas dos rios Uatumã e Amazonas, segundo pescadores locais a espécie *Cichla temensis* não é encontrada em ambientes de água branca.

Todos os peixes de outras espécies capturados foram devolvidos com vida ao ambiente, os exemplares *C. temensis* foram imediatamente sacrificados por choque térmico em gelo, etiquetados e acondicionados em caixas térmicas.

Ainda em campo, foi montada uma bancada para coleta de amostras de tecido (pequeno fragmento da nadadeira pélvica) de cada um dos exemplares, estas foram preservadas em micro-tubos de polietileno com capacidade 0,2ml (tubos PCR) com álcool 95%, enumeradas e posteriormente armazenadas em

local fresco e ao abrigo da luz para serem transportadas ao Laboratório de Evolução e Genética Animal – LEGAL, da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, onde foram integradas ao banco de tecidos (Figura 6).



Figura 6 - Ilustração esquemática da amostragem de tecido de exemplares de *C. temensis*, desde a coleta da amostra ao armazenamento.

Por fim, os peixes foram embalados em sacolas plásticas previamente identificadas, acondicionados em caixas térmicas para serem transportados ao Laboratório de Ecologia Pesqueira, da Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

Em laboratório foi realizada a biometria dos exemplares coletados, foram aferidos o peso (gramas) em balança digital, e o comprimento padrão (cm) utilizando ictiômetro (Figura 7).

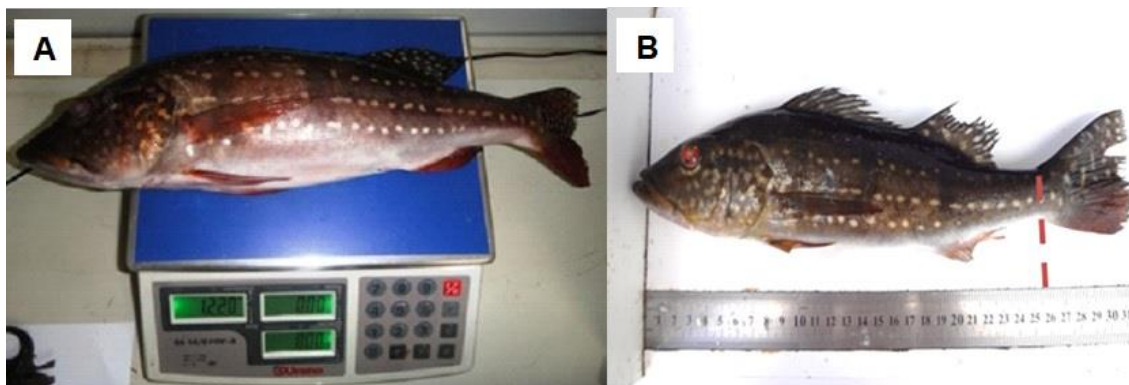


Figura 7 - Tomada dos dados biométricos dos exemplares de *C. temensis*: (A) peso; (B) comprimento padrão.

Em seguida foram coletadas amostras de escamas, retiradas da região abaixo da nadadeira peitoral, com o auxílio de pinça (Figura 8). As escamas foram lavadas em solução aquosa de peróxido de hidrogênio  $H_2O_2$  a 30%, por um período de 30 segundos. Em seguida, enxaguadas três vezes em água deionizada ultra-pura. Por fim, foram armazenadas a seco, em envelopes de papel.

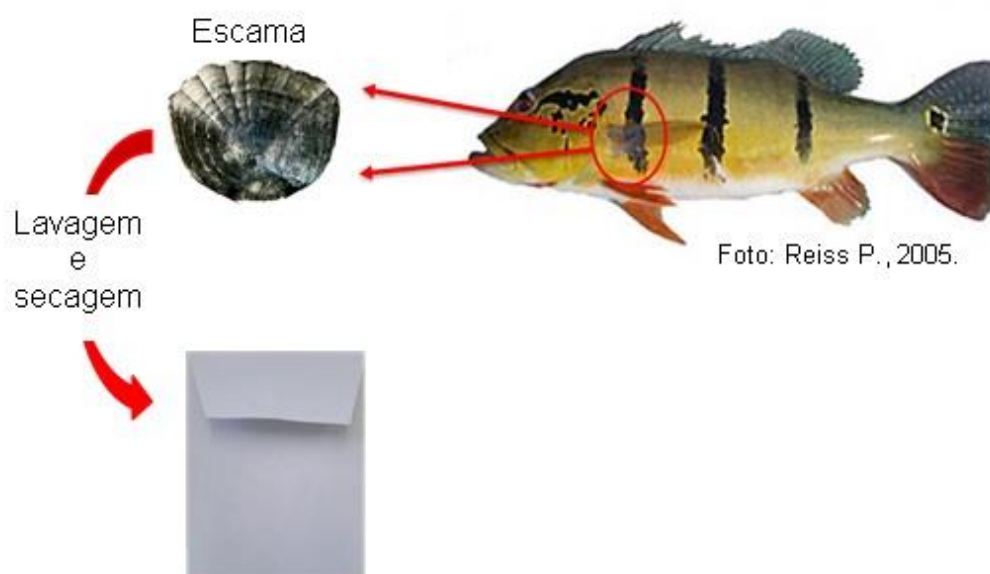


Figura 8 - Ilustração esquemática da amostragem de escamas de *C. temensis*, desde a coleta da amostra ao armazenamento.

Para possibilitar a coleta do par de otólitos sagita, os peixes foram submetidos a um processo de dissecação (Figura 8). Os otólitos foram lavados em solução aquosa de peróxido de hidrogênio  $H_2O_2$  a 30%, por um período de

30 segundos. Em seguida, enxaguados três vezes em água deionizada ultrapura. Por fim, os otólitos foram armazenados a seco, em micro-tubos de polietileno com capacidade 0,2ml (tubos PCR).

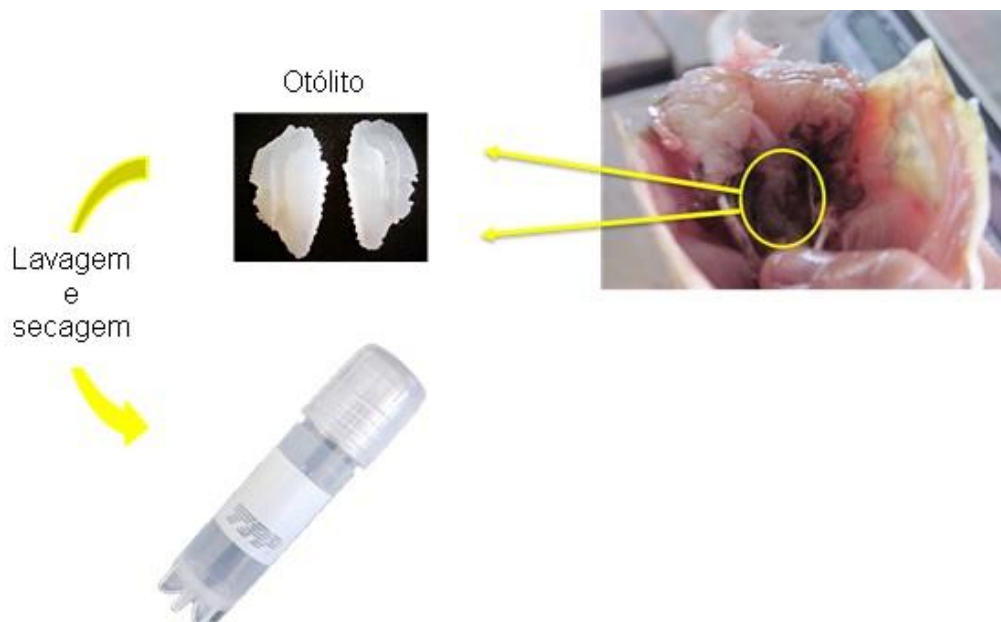


Figura 9 - Ilustração esquemática da amostragem de otólitos de *C. temensis*, desde a coleta da amostra ao armazenamento.

Cinco exemplares testemunho de *C. temensis* foram tombados na Coleção de Peixes do Laboratório de Ecologia Pesqueira, da Universidade Federal do Amazonas –UFAM.

### **Análises Laboratoriais: Isótopos de estrôncio (Sr)**

#### **Preparação e análise das amostras de água:**

No laboratório de Geoquímica da Universidade Federal do Amazonas foi realizada a filtragem das amostras de água para retirada do material orgânico dissolvido, em seguida as amostras foram armazenadas em frascos de 500 ml previamente limpos com HNO<sub>3</sub> (10%) por 24 horas, seguido de lavagem com água milliQ e em seguida enviadas para análise isotópica da <sup>87/86</sup>Sr.

As análises da razão isotópica <sup>87/86</sup>Sr nas amostras de água foram realizadas no Laboratório de Estudos Geocronológicos, Geodinâmicos e

Ambientais da Universidade de Brasília da Universidade Nacional de Brasília – UNB, mediante o uso do sistema analítico MC-ICPMS (Figura 10).

Os processos de separação e digestão foram realizados em sala limpa de ISO classe 2. Para cada amostra analisada foram evaporados 500 ml de água (filtrados e acidificados), obtendo-se cerca de 50ng de Sr (equivalente a 15 ou 20 ml da amostra de água). Em seguida, este resíduo foi dissolvido em 1 ml de ácido nítrico 2N e os isótopos de Sr foram separados através de resinas de troca iônica (Eichrom Sr-Spec®). As razões isotópicas foram medidas no espectrômetro de massa por termo-ionização (N-TIMS) THERMO SCIENTIFIC TRITON. A acurácia das análises foi controlada pela análise de padrão internacional NBS987 (com valor médio de  $0,71027 \pm 1$ ).



Figura 10 - Sistema analítico MC-ICPMS. Fonte: Home page - Instituto de Geociências/UnB.

### **Preparação e análise das amostras de estruturas calcificadas**

#### **Amostras de Otólitos:**

Inicialmente os otólitos foram processados no Laboratório de Ecologia Pesqueira, da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, onde foram emblocados em fôrmas de silicone retangulares imersos em resina epoxídica Araldite (Figura 11).



Figura 11 - Resina epoxídica araldite e forma de silicone, utilizadas no embocamento dos otólitos (A e B).

Com auxílio de uma lupa foi identificada e região nuclear de cada otólito e delimitada uma seção transversal de corte para obter uma fatia dorsoventral incluindo o núcleo (Figura 12). Os cortes foram realizados com serra artesanal de baixa velocidade equipada com disco diamantado de corte (Buehler, Düsseldorf, Alemanha) (Figura 13).

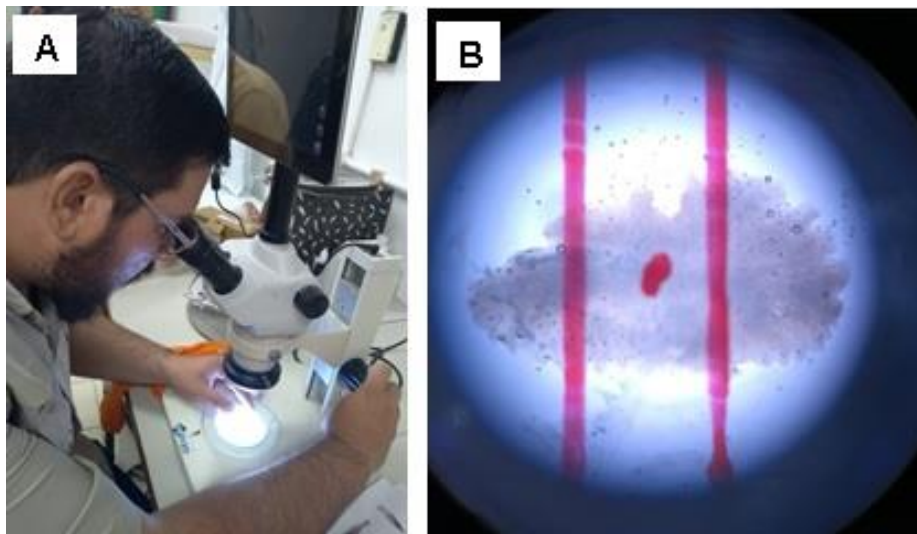


Figura 12 - Localização do núcleo e demarcação dos eixos de corte nos otólitos com o auxílio de lupa de bancada (A e B).

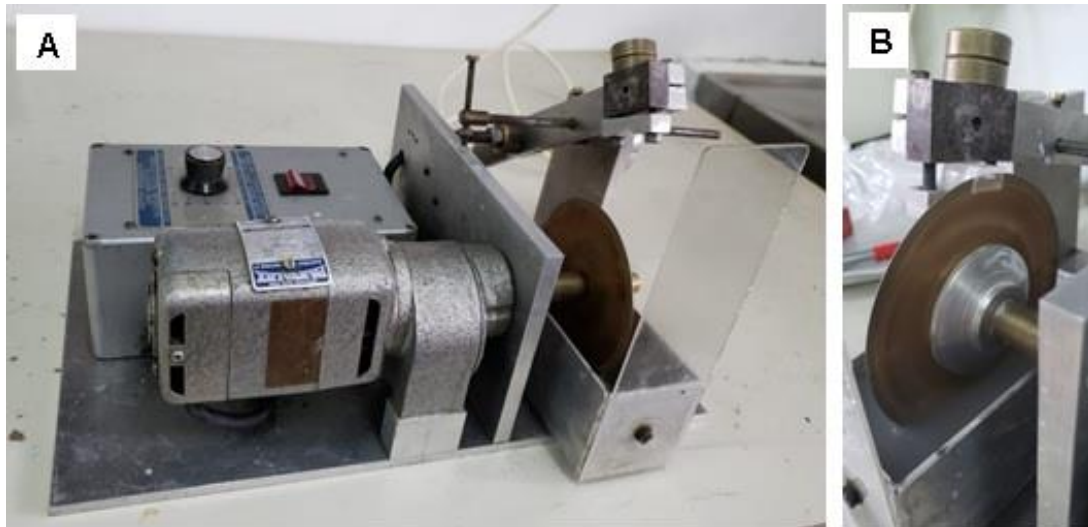


Figura 13 - Serra artesanal utilizada para o corte dos otólitos (A e B).

Em seguida as amostras foram fixadas com cola (*crystal bond*) em laminas de vidro para facilitar o manuseio e possibilitar que as amostras fossem desgastadas, usando papéis de polimento umedecidos com água ultrapura progressivamente mais finos (800; 1.200; 2.400 grãos/cm<sup>2</sup>) e polidos no final com óxido de Alumínio 3µm até que o núcleo do otólito estivesse exposto (determinado por microscopia de luz de campo claro). Este processo envolveu várias repetições antes que o núcleo fosse totalmente exposto (Figura 14).

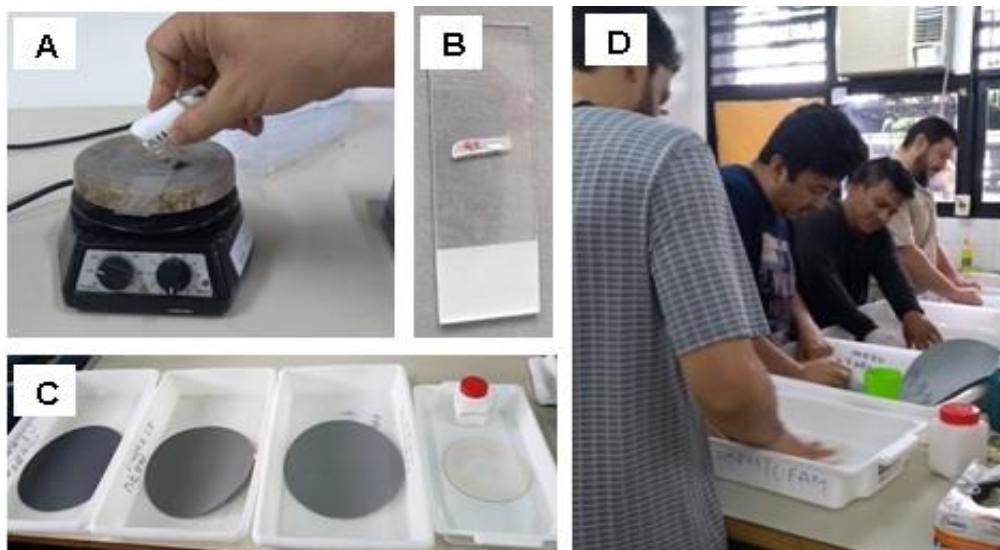


Figura 14 - Colagem dos cortes de otólitos em lâminas de vidro com o auxílio da placa aquecedora e cola Cristal Bond (A e B); Desgaste e polimento das amostras em papéis de polimento umedecidos com água (C e D).

As análises de isótopos de estrôncio (Sr) nos otólitos e escamas dos peixes foram realizadas no Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement (LCABIE) do Institut Pluridisciplinaire de Recherche sur l'Environnement et les Matériaux (IPREM) at the Université de Pau et des Pays de l'Adour, na França.

O sistema analítico é composto de Nu Plasma HR-MC-ICPMS (Nu Instruments, Wrexham – Reino Unido) acoplado a um sistema de ablação a laser Alfamet femtosencond – fs (Nexeya SA, Canejan – França) (Figura 15). Este sistema de ablação a laser é ajustado com diodo de cristal Yb:KGW (HP1, Amplitude Systèmes, Pessac – França) gerando pulsos de 360-fs a 1030nm. Esta fonte de laser opera dentro de uma ampla faixa de taxas de repetição (1-100.000 Hz) e baixa energia.

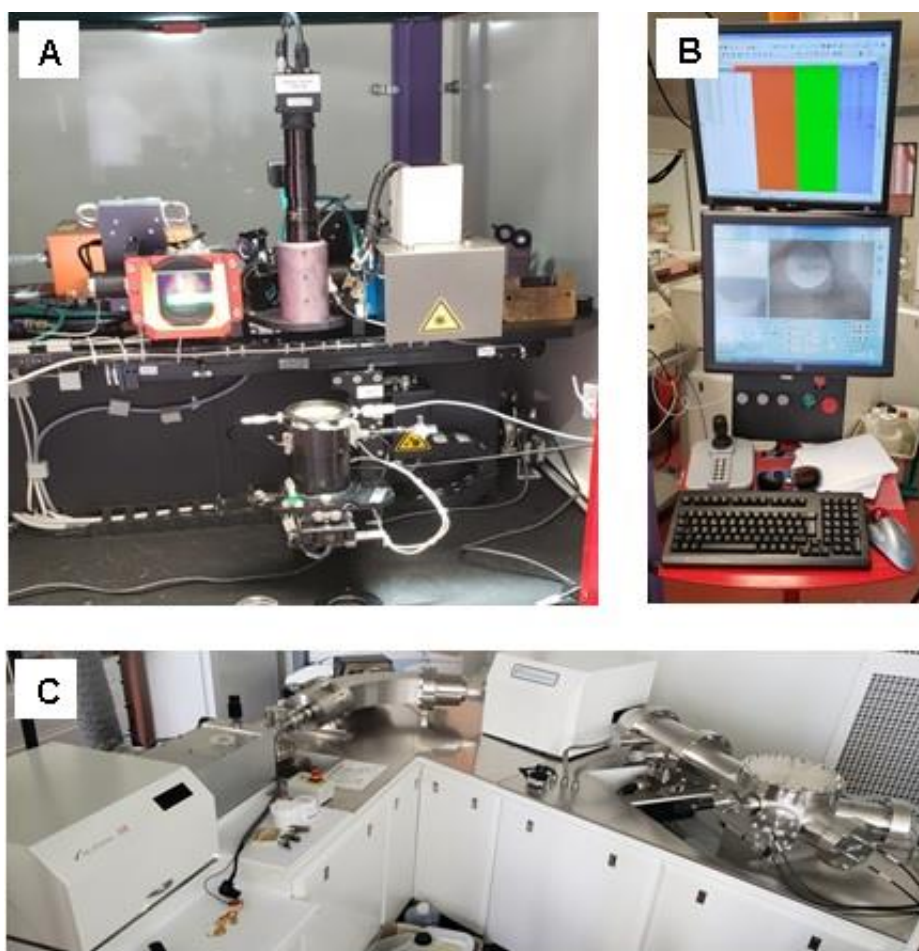


Figura 15 - Espectrômetro de massa de ablação a laser com multicoletor do IPREM-Pau (A, B e C).



Para análise de estruturas ósseas de peixes, o sistema de laser operou a 500 Hz, com pulsos de energia de 8μJ. O escâner efetua movimentos de 200μm de largura com velocidade de 5μm/s ao longo de um eixo perpendicular às marcas de crescimento, partindo do núcleo (eclosão do peixe) até à borda (final da vida do peixe) do otólito e escama. A fim de evitar o efeito de explosão sobre o núcleo, a ablação foi iniciada a 200 μm antes do núcleo (Figura 16).

Ao menos duas vezes por dia realizávamos uma checagem da calibração do equipamento quanto à eficácia das leituras da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , utilizando um pellet de material de referência certificado produzido pelo Instituto Nacional para Estudos Ambientais do Japão.

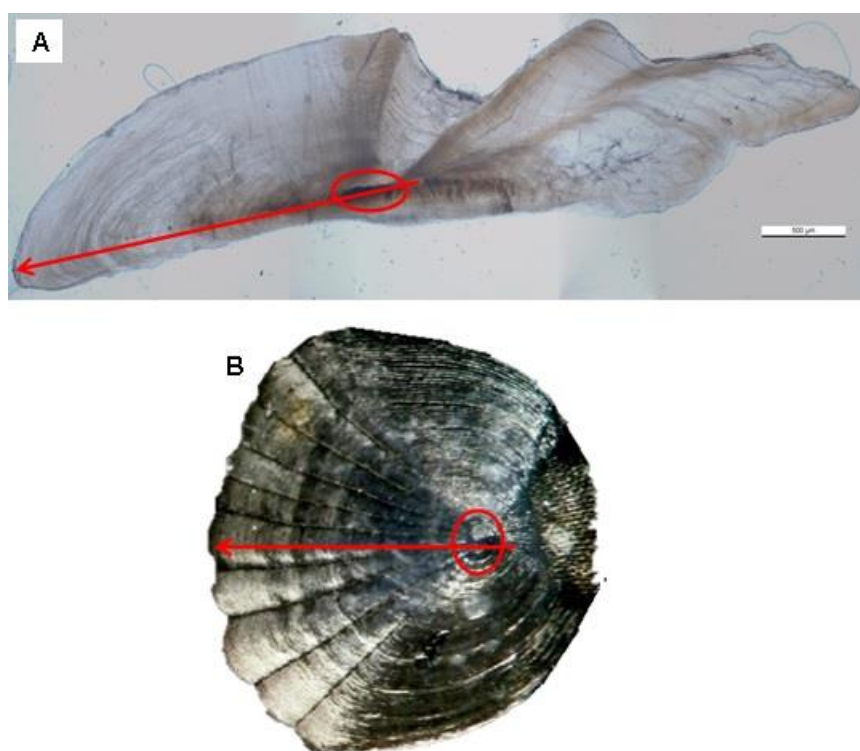


Figura 16 - Ilustração do sentido em que é realizada a ablação a laser (seta vermelha) partindo logo acima do núcleo (círculo vermelho) em direção ao bordo, em amostras de otólito (A) e escama (B) de *C. temensis*.

As condições de análise foram ajustadas para máxima sensibilidade e robustez na estabilidade do plasma. As contribuições de  $^{87}\text{Rb}$  para a intensidade de  $^{87}\text{Sr}$  foram deduzidas do sinal de  $^{85}\text{Rb}$ . A intensidade de  $^{83}\text{Kr}$  também foi monitorada para controlar qualquer interferência potencial de outros isótopos sobre as medidas de Sr. Ao final, a razão constante  $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$  foi usada para corrigir a razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  usando uma equação exponencial. As medidas

de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  foram checadas com material de referência produzido pelo Instituto Nacional de Estudos Ambientais do Japão.

### **Construção da biblioteca genômica**

Os procedimentos e análises genéticas foram realizados no Laboratório de Evolução e Genética Animal - LEGAL, da Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

### **Extração do DNA**

O DNA foi extraído seguindo o protocolo de Fenol Clorofórmio (SAMBROOK et al., 1989). A qualidade foi verificada pela comparação com DNA padrão de concentração definida em gel de agarose 1% e corado com GelRed (Biotum). A concentração aproximada de DNA foi quantificada por espectrofotometria, através do Nanodrop 2000 (ThermoScientific, USA), levando a uma concentração aproximada de 200 ng de DNA para cada amostra.

### **Digestão do DNA e ligação de adaptadores**

Foi utilizado o protocolo *ddRAD-seq* proposto por Peterson et al. (2012) com algumas modificações propostas por Martinez et al. (2016). Este método baseia-se na digestão do DNA por duas enzimas de restrição, *SdaI* e *NdeI* e posterior ligação aos adaptadores AY e P1. Para cada reação de digestão/ligação foi usado um volume final de 50  $\mu\text{L}$  contendo: 5,0  $\mu\text{L}$  do tampão TANGO, 2,0  $\mu\text{L}$  do adaptador P1, 2,0  $\mu\text{L}$  do adaptador AY (ou A1), 0,1  $\mu\text{L}$  da enzima de restrição *SdaI*, 0,1  $\mu\text{L}$  da enzima de restrição *NdeI*, 1  $\mu\text{L}$  de 200 ng de DNA, 0,5  $\mu\text{L}$  T4 ligase, 0,5  $\mu\text{L}$  de ATP e 38,8  $\mu\text{L}$  de ddH<sub>2</sub>O. As condições da digestão e ligação foram de 37 °C por 3 horas e 68 °C por 15 minutos para inativação das enzimas.

### **PCR de teste da digestão/ligação**

A digestão/ligação das enzimas de reação e primers foram testados a partir de uma reação de PCR. A reação teve volume final de 15  $\mu\text{L}$  contendo: 5,25  $\mu\text{L}$  de ddH<sub>2</sub>O, 1,2  $\mu\text{L}$  de MgCl<sub>2</sub> 25mM, 1,2  $\mu\text{L}$  de dNTPs 2,5 mM, 1,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10X (750mM Tris-HCl, 200mM (Na<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1,5  $\mu\text{L}$  do primer P1, 1,5  $\mu\text{L}$  do primer A-amp, 0,35  $\mu\text{L}$  de Taq. 1,5  $\mu\text{L}$  BSA e 1,0  $\mu\text{L}$  do produto da digestão/ligação. Os ciclos de amplificação foram realizados da seguinte maneira: preaquecimento a 94°C por 2 min., seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 15 seg., anelamento a 55°C por 35 seg. e extensão a 68°C por 90 seg.; e extensão final a 4°C.

### **PCR de enriquecimento**

A partir do produto de digestão/ligação foi feita uma reação de PCR com quatro réplicas por cada amostra. A reação teve volume final de 25  $\mu\text{L}$  contendo: 11,47  $\mu\text{L}$  de ddH<sub>2</sub>O, 2,0  $\mu\text{L}$  de MgCl<sub>2</sub> 25mM, 2,0  $\mu\text{L}$  de dNTPs 2,5 mM, 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10X (750mM Tris-HCl, 200mM (Na<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 2,5  $\mu\text{L}$  do primer P1, 2,5  $\mu\text{L}$  do primer A-amp, 0,03 5  $\mu\text{L}$  KlenTaq, 2,0  $\mu\text{L}$  do produto da digestão/ligação. Os ciclos de amplificação foram: preaquecimento a 68°C por 60 seg., seguido de 18 ciclos de desnaturação a 93°C por 10 seg., anelamento a 52°C por 35 seg., extensão a 68°C por 90 seg., e extensão final a 68°C por sete minutos. As quatro réplicas por amostra foram unidas e visualizadas em gel de agarose 1% para verificar a reação.

### **Quantificação e purificação das amostras**

As amostras foram quantificadas no fluorômetro Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific) a partir de um pool delas, colocando 5  $\mu\text{L}$  de cada amostra e 195  $\mu\text{L}$  de solução de trabalho. O pool de amostras foi purificado com o kit de purificação AMPure (Agencourt) em uma proporção de 0,8  $\mu\text{L}$  AMPurebeads:1  $\mu\text{L}$  DNA.

### **Seleção de tamanho e diluição da biblioteca**

A seleção de tamanho dos fragmentos da biblioteca (pool de amostras) foi realizada com ajuda do Pippin Prep com cassetes de agarose 2% dye-free, internal standard mix, seguindo as instruções do fabricante. A faixa de corte escolhida foi determinada mediante simulação de corte enzimático do genoma mais próximo à espécie de estudo. Depois da corrida, a biblioteca foi coletada, purificada com o kit AMPure na proporção de 0,7V AMPurebeads: 1V DNA e quantificada novamente no Qubit 2.0. Com base nesse valor, se realizou o cálculo da diluição necessária para a preparação do template.

### **PCR clonal do template**

A biblioteca diluída foi utilizada seguindo o protocolo do fabricante “Prepare Template-Positive Ion PGM Template OT2 400 Ion Sphere Particles (ISPs)”. Para esse procedimento foram usados os reagentes e materiais dos kits “Ion PGM Template OT2 Reagents 400”, “Ion PGM Template OT2 Solutions 400”, “Ion PGM Template OT2 Reactions 400” e “Ion PGM Template OT2 Supplies 400”. A reação de PCR clonal foi realizada no equipamento IonOneTouch 2.

### **Enriquecimento do template**

O produto da PCR clonal foi recuperado e lavado para ser usado no enriquecimento do template seguindo o protocolo do fabricante “Enrich the Template-Positive Ion PGM Template OT2 400 Ion Sphere Particles (ISPs)”. Para esse procedimento foram usados os reagentes e materiais dos kits “Ion PGM Template OT2 Solutions 400”, “Ion PGM Template OT2 Supplies 400” e “Ion PGM EnrichmentBeads”. O enriquecimento foi feito no equipamento Ion One Touch ES.

### **Sequenciamento**

A partir do passo anterior, se obteve uma amostra com as ISPs enriquecidas, a qual foi usada para o carregamento do chip Ion 318 V2 e posterior sequenciamento no sistema Ion Personal Genome Machine (PGM).

## **Edição dos dados genômicos**

Os dados brutos provenientes do Ion Torrent foram convertidos de formato BAM a FASTQ através do SAMtools v1.3.1 (LI et al., 2009). As leituras processadas foram demultiplexadas (separadas por indivíduo mediante a identificação do barcode) e ensambladas em novo loci usando PyRAD v3.0.66 Pipeline (EATON, 2014). Durante a ensamblagem foram eliminados erros de sequenciamento ou com baixa qualidade (<95% de confiança). Uma leitura mínima de cobertura de 5X foi desejável para o genotipado por sequenciação, incluindo assembleias ddRADseq (KENNY et al., 2011; PETERSON et al., 2012). As sequencias foram agrupadas por uma similitude de 88% (PyRAD) usando VSEARCH (ROGNES et al., 2016) e aninhadas usando MUSCLE (EDGAR, 2004). Posteriormente foram exportados bancos de dados nos formatos dos programas STRUCTURE e MIGRATE-N, e no formato genérico de alelos. Para o locus ser incluído no banco de dados para as análises no STRUCTURE, o locus teria que ser presente em no mínimo 50% dos indivíduos. Para os locus ser incluído no banco de dados para as análises no MIGRATE-N, o locus teria que ser presente em no mínimo 50% dos indivíduos em cada população. O formato genérico de alelos foi transformado para o formato ALEQUIN usando o programa PGDSpider2 (LISCHER & EXCOFFIER, 2012).

## **Análises estatísticas - Biogeoquímica**

Inicialmente para visualizar a semelhança e possíveis diferenças nas leituras das assinaturas isotópicas da  $^{87/86}\text{Sr}$  em escamas (Esc) e otólitos (Oto), foi elaborado um Box Plot das médias, desvio padrão e mínimo-máximo. Na sequência, para comparar o perfil isotópico da  $^{87/86}\text{Sr}$  nas escamas (Esc) e otólitos (Oto) de *C. temensis* por ponto de coleta, foram gerados gráficos de dispersão com linhas, a partir dos dados obtidos com a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87/86}\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal das escamas e otólitos no sentido núcleo-borda. O tratamento dos dados e as análises dos resultados foram realizados por meio do software R.

## **Análises estatísticas – Genética**

## **Diversidade genética**

Informações de diversidade genética tal, como número de loci polimórficos (P), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e riqueza alélica (RA) foram obtidas através do ARLEQUIN V3.5.2 (EXCOFFIER & LISHER, 2010) usando 100.000 permutações.

## **Estrutura populacional**

A panmixia da população foi avaliada utilizando uma análise Bayesiana através do programa STRUCTURE v2.3.4. (PRITCHARD et al., 2000). O programa permite definir o número de agrupações ou grupos biológicos existentes na população de acordo com a probabilidade de assinatura dos indivíduos em cada grupo (K subpopulações) e o modelo de admixture. Para a análise foram realizadas dez corridas independentes de um a sete agrupações ( $k=1-7$ ) com 100.000 permutações de cadeias de Markov e Monte Carlo (MCMC) e 10.000 permutações de burn-in. O número de agrupações mais provável foi selecionado usando o método de Evano et al (2005). Um gráfico (barplot) e probabilidade dos agrupamentos foram gerados a partir das corridas independentes e visualizados no programa POPHELPER (FRANCIS, 2017). Adicionalmente, foi avaliada a diferenciação genética dos possíveis grupos populacionais a partir da aplicação do AMOVA no programa ARLEQUIN V3.5.2 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010) usando 100.000 permutações.

## **Fluxo gênico e demografia populacional**

Parâmetros populacionais, como fluxo gênico entre localidades amostradas a montante e jusante do rio Uatumã, assim como o tamanho populacional, foram inferidos por meio do programa MIGRATE v3.2 (BEERLI & PALCZEWSKI, 2010), que estima os parâmetros theta ( $\theta$ : métrica da diversidade - tamanho efetivo populacional x taxa mutacional) e  $mi$  (M: taxa de imigração / taxa mutacional) por meio de inferências de máxima verossimilhança e análise Bayesiana. Os dados que estavam em escala mutacional foram convertidos em dados demográficos de fluxo gênico ( $Nm$ ) e

tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ). A taxa mutacional utilizada para a conversão dos dados foi de  $3,5 \times 10^{-9}$ .

## RESULTADOS

### $^{87/86}\text{Sr}$ : Escamas x Otólitos de *C. temensis*

Preliminarmente, foram analisados escamas e otólitos de um total de 24 indivíduos, divididos igualmente entre os seis pontos amostrais ao longo do rio Uatumã e Jatapú, os quais apresentaram medidas entre 25,5 e 54 cm de comprimento padrão. Desta forma, foi possível avaliar a eficiência das leituras de assinatura isotópica  $^{87/86}\text{Sr}$  em diferentes estruturas calcificadas (escamas e otólitos) do *C. temensis*.

As leituras de escamas do ponto 3 foram descartadas devido a ocorrência de problemas técnicos no equipamento analítico, desta forma as leituras de otólitos deste ponto não foram consideradas nesta avaliação.

As médias e desvio padrão das leituras da  $^{87/86}\text{Sr}$  apresentaram valores similares entre escamas e otólitos, com exceção do ponto 5 que apresentou valor médio maior para as leituras em otólitos. Os otólitos também apresentaram maior amplitude entre mínimo-máximo nos resultados dos perfis isotópicos da  $^{87/86}\text{Sr}$  (Figura 17).

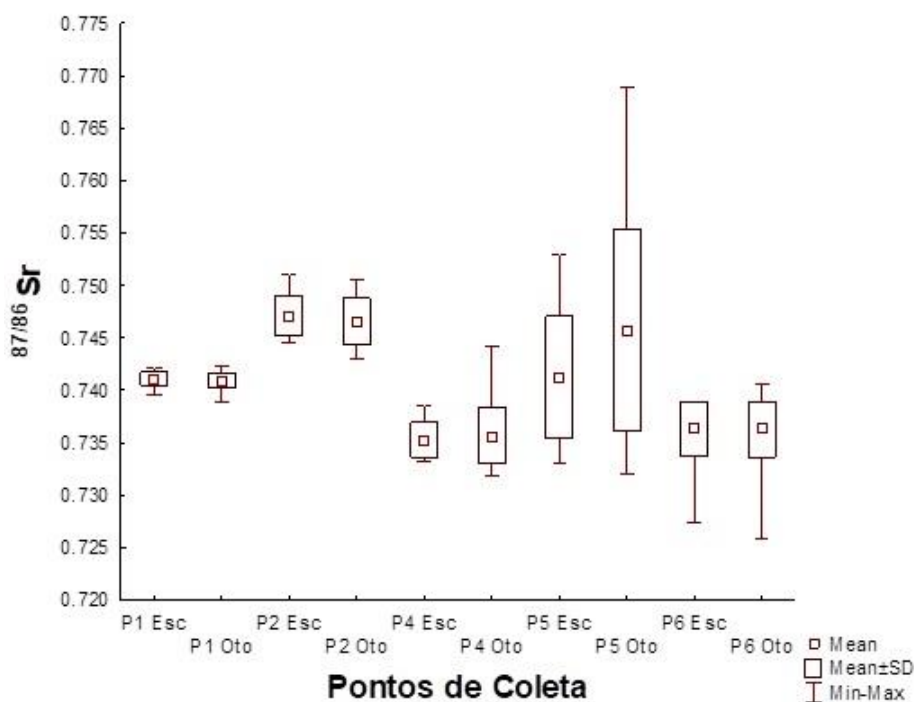


Figura 17 - Box plot para visualização das médias, desvio padrão e mínimo-máximo para as leituras das assinaturas isotópicas da  $^{87/86}\text{Sr}$  em escamas (Esc) e otólitos (Oto) de indivíduos de *C. temensis* por ponto de coleta (P).

O comprimento do transecto de análise foi maior para amostras de otólitos com valores médios variando entre 2,07 e 2,93 mm, enquanto o comprimento médio em amostras de escamas variou entre 1,07 e 1,84 mm (Tabela 1).

**Tabela 1** - Dados de “comprimento do transecto de análise – CTA” em milímetro para amostras de escamas e otólitos de indivíduos de *C. temensis*.

	Rio/Ponto de coleta	CTA Escamas Máx./Médio/Mín. mm	CTA Otólitos Máx./Médio/Mín. mm
Montante da UHE	Uatumã/P1	1,25/1,07/0,92	2,35/2,20/2,06
	Uatumã/P2	1,48/1,38/1,24	3,03/2,52/1,92
Jusante da UHE	Uatumã/P4	2,03/1,84/1,67	3,40/2,93/2,69
	Jatapú/P5	1,74/1,64/1,54	3,00/2,89/2,67
	Uatumã/P6	1,83/1,53/1,23	2,69/2,07/0,91

Os perfis isotópicos da  $^{87/86}\text{Sr}$  nas escamas e otólitos apresentaram padrões similares para os pontos do rio Uatumã na região a montante da barragem (P1 e P2). Contudo, os otólitos apresentaram maior amplitude de leitura, proporcionando melhor visualização das flutuações da  $^{87/86}\text{Sr}$  ao longo da vida dos peixes. Este é um resultado esperado para esta espécie devido ao tamanho das estruturas, sendo as escamas menores que os otólitos.

No ponto 4, localizado na confluência dos rios Uatumã e Jatapú, apenas o peixe 4 apresentou perfil da  $^{87/86}\text{Sr}$  diferente entre as duas estruturas, com valores mais elevados na fase inicial de vida para análise no otólito.



Nos pontos 5 e 6, respectivamente na região do baixo rio Jatapú e baixo rio Uatumã, as estruturas apresentaram similaridade nos padrões do perfil da  $^{87/86}\text{Sr}$ , embora as assinaturas da  $^{87/86}\text{Sr}$  nos otólitos tenham apresentado valores mais elevados para todos os peixes do ponto 5 e o peixe 4 do ponto 6 (Figura18).

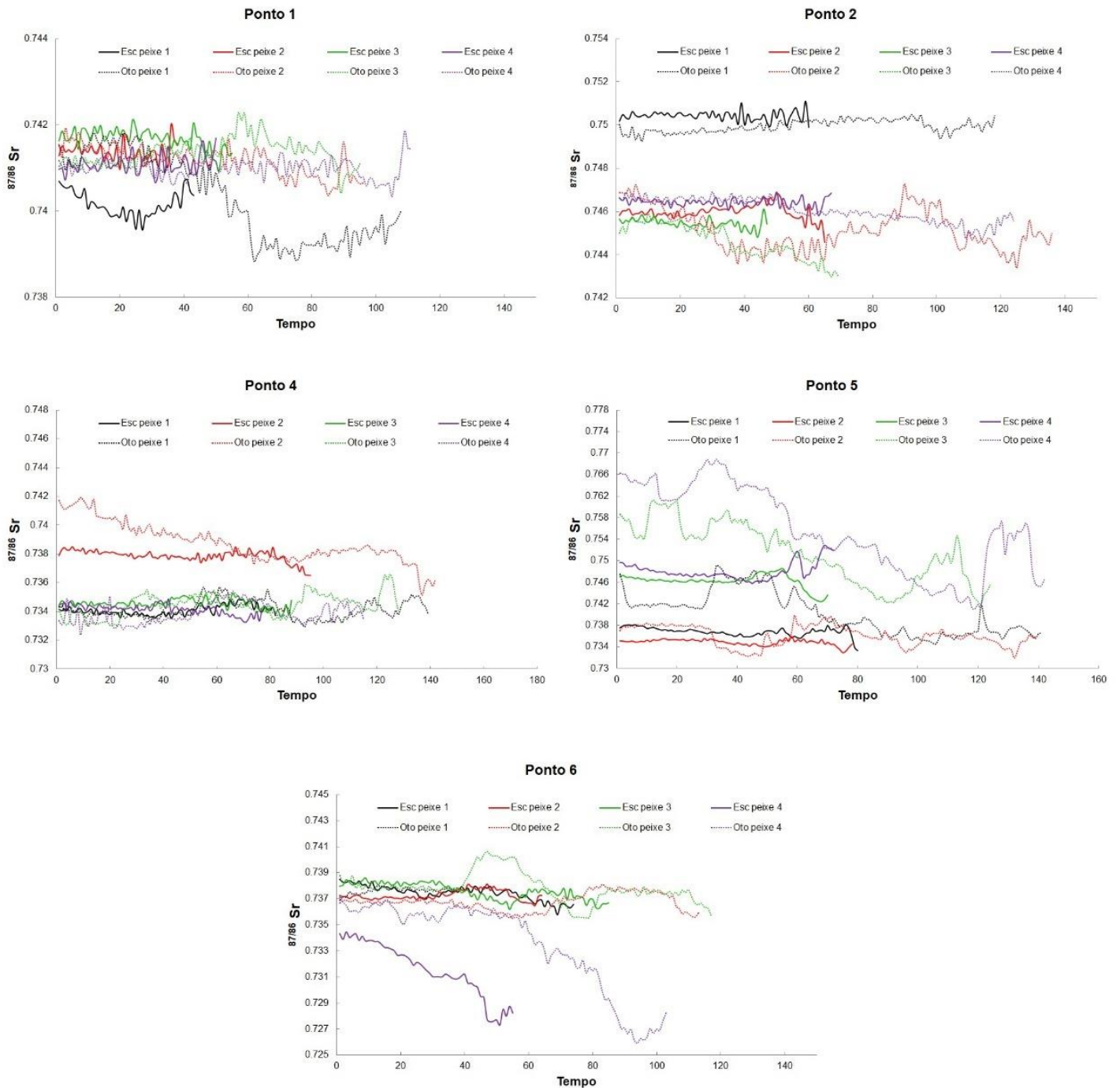


Figura 18 - Comparação do perfil isotópico da  $^{87/86}\text{Sr}$  nas escamas (Esc) e otólitos (Oto) de *C. temensis* por ponto de coleta. Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87/86}\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal de

escama ou otólito do núcleo a borda (Tempo), de indivíduos amostrados nos rios Uatumã – montante da barragem (P1 e P2), Uatumã – jusante da barragem (P4 e P6) e baixo Jatapú (P5).

### <sup>87/86</sup>Sr em otólitos de *C. temensis*

Foram analisados efetivamente um total de 88 otólitos de indivíduos de *C. temensis* ao longo do rio Uatumã (n= 75) e parte baixa do rio Jatapú (n= 13), os quais apresentaram comprimento padrão, entre 18 e 56 cm, e diferentes comportamentos de movimentação (Tabela 2), sendo considerados:

- Residentes: peixes que não apresentaram variações na <sup>87/86</sup>Sr superiores a 0,005;

- Ativos: peixes que apresentaram variações na <sup>87/86</sup>Sr ao longo da vida > 0,005.

**Tabela 2** - Dados biométricos e comportamento dos indivíduos de *C. temensis* analisados, separados por localidade amostrada (P), com diferentes números amostrais (n). Destacado em cinza a diferença no padrão de comportamento entre os indivíduos amostrados na área.

UHE	Rio/Ponto de coleta	n	Comprimento Máx./Médio/Mín. cm	Residentes %	Ativos%
Montante	Uatumã/P1	19	45,5/27,3/18,6	89,5%	10,5%
	Uatumã/P2	19	43/32,9/24	100%	0%
Jusante	Uatumã/P3	11	37,5/31,5/20,1	82%	18%
	Uatumã/P4	16	51/36,5/27	44%	56%
	Jatapú/P5	13	56/41,5/34,5	7,5%	92,5%
	Uatumã/P6	10	54/29,4/18	20%	80%

Conforme o observado na Tabela 2, o comportamento de movimentação dos peixes coletados na área de influência direta da barragem da UHE Balbina (Pontos 1, 2 e 3), foi prioritariamente de peixes residentes. Já os peixes

coletados em localidades distantes, a jusante da barragem (Pontos 4, 5 e 6), apresentaram em sua maioria comportamento ativo.

Os três pontos localizados na área de influência direta da barragem (P1, P2 e P3) apresentaram médias mais elevadas nas leituras da  $^{87/86}\text{Sr}$ , e um padrão de aumento nos valores da assinatura isotópica de Sr entre estes três pontos. Para os pontos abaixo, dos rios Uatumã e Jatapú (P4, P5 e P6) os valores médios da  $^{87/86}\text{Sr}$  foram próximos, no entanto, o P5 localizado no rio Jatapú apresentou maior amplitude de variação para os valores máximo-mínimo e desvio padrão (Figura 19).

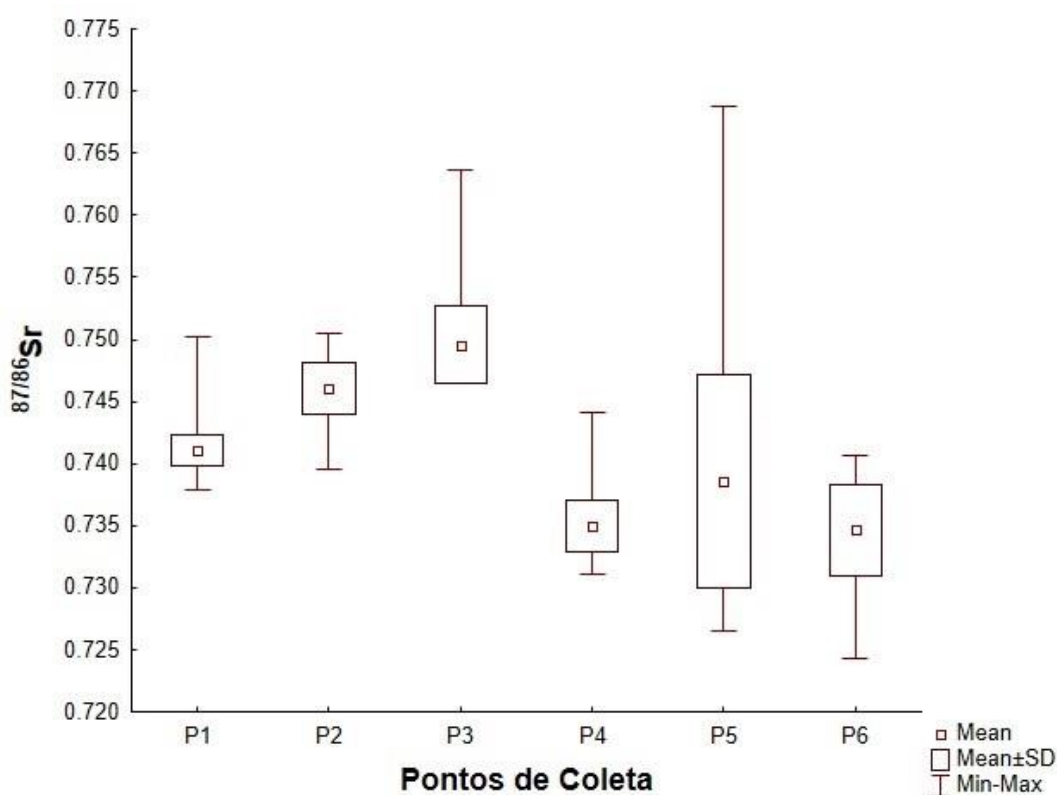


Figura 19 - Box plot das médias, desvio padrão e mínimo-máximo para as leituras das assinaturas isotópicas da  $^{87/86}\text{Sr}$  em otólitos por ponto de coleta (P).

### Peixes coletados no rio Uatumã a montante da barragem

Dos 38 indivíduos coletados no rio Uatumã, a montante da barragem, aproximadamente 95% (36/38) apresentaram perfis da  $^{87/86}\text{Sr}$  relativamente lineares indicando comportamento residente, de peixes que residiram por todo

o ciclo de vida em um mesmo ambiente sem apresentar grandes movimentos de dispersão. Entretanto, habitando ambientes com diferentes assinaturas isotópicas. Apenas dois indivíduos do ponto 1, os peixes 7 e 8, apresentaram movimentos de dispersão, deslocando-se para água mais radiogênica (peixe 7) e menos radiogênica (peixe 8) em determinado momento do ciclo de vida, porém ambos retornaram para o ambiente onde nasceram (Figura 20).

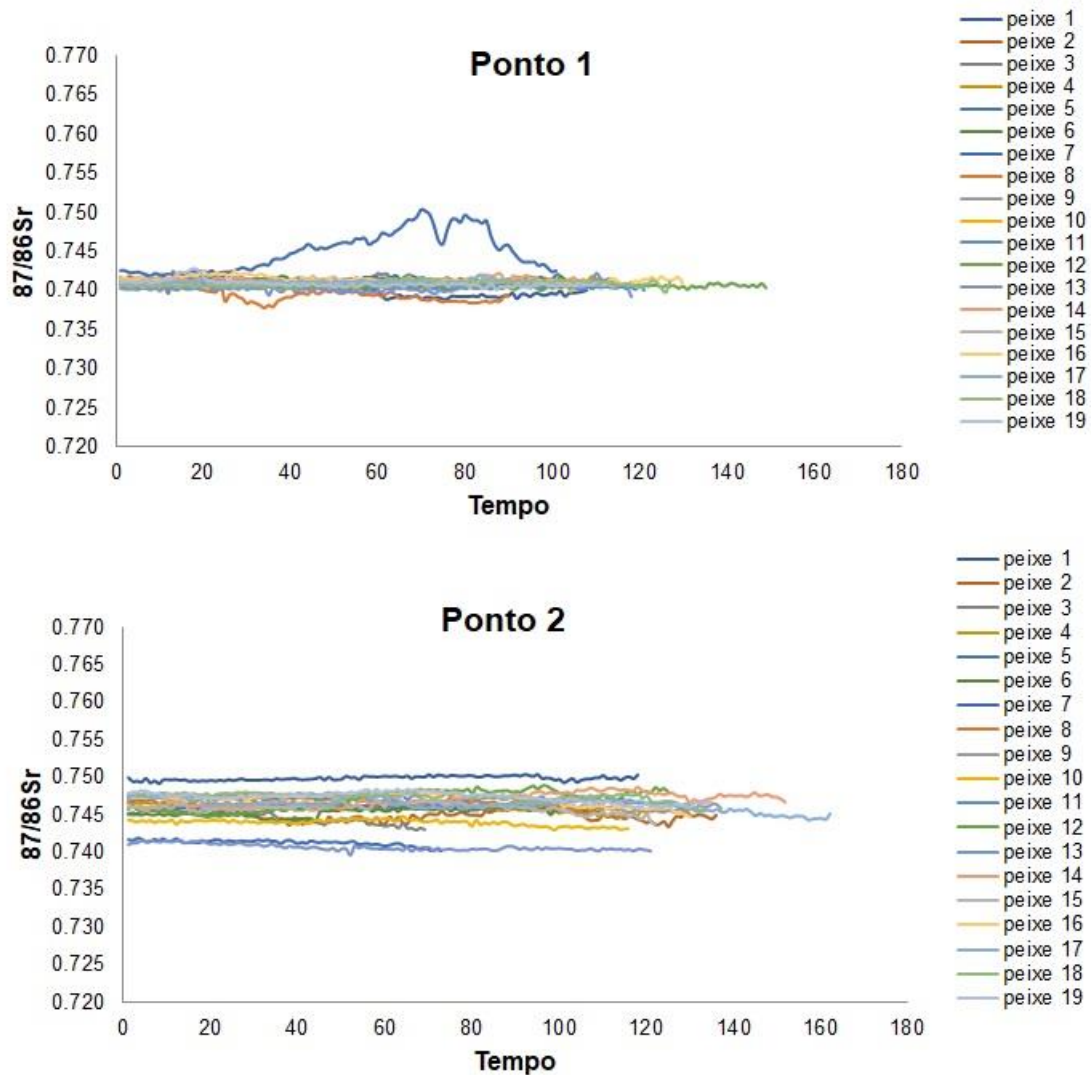


Figura 20 - Perfil isotópico dos exemplares de *C. temensis* coletados no rio Uatumã a montante da barragem. Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda) de cada exemplar separados entre os pontos de coleta: Ponto 1 (margem direita do reservatório o mais distante possível da barragem) e Ponto 2 (margens esquerda do reservatório próximo a barragem).

### Peixes coletados no rio Uatumã a jusante da barragem

Os indivíduos coletados no rio Uatumã, a jusante da barragem da UHE Balbina, apresentaram comportamentos de movimentação divergentes entre os três pontos de coleta, no ponto 3 (próximo saída de água do reservatório) 82% (9/11) dos indivíduos apresentaram comportamento residente, similar ao encontrado para os indivíduos amostrados a montante da barragem, com perfis da  $^{87/86}\text{Sr}$  relativamente linear, indicando que estes indivíduos permaneceram durante todo o período de vida em um mesmo ambiente ou em ambientes com a mesma assinatura isotópica, uma vez que este ponto de coleta está localizado em uma região do rio Uatumã em que a fonte de água é basicamente a água escoada do reservatório. Contudo, dois indivíduos apresentaram movimentos entre ambientes com águas de diferentes assinaturas isotópicas (Figura 21).

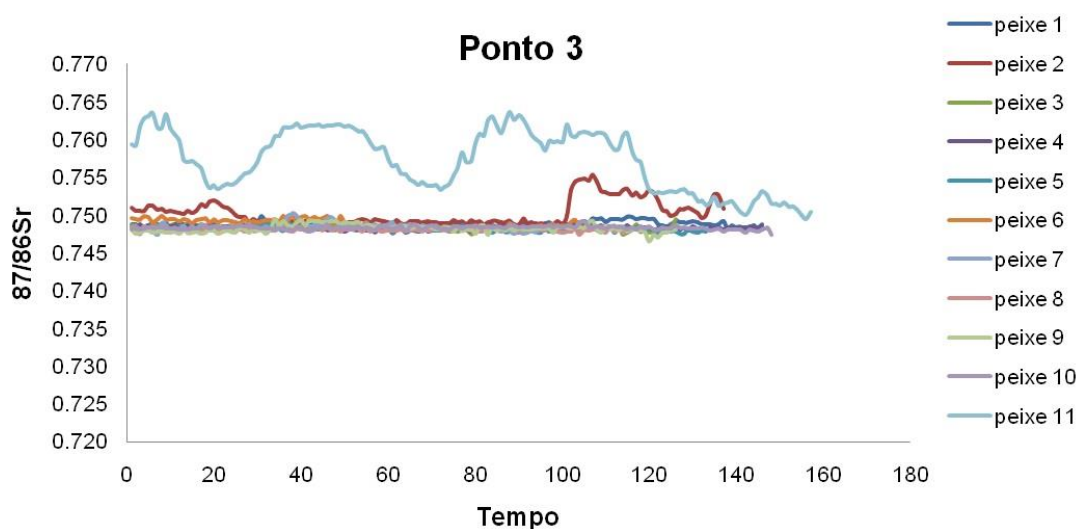


Figura 21 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87/86}\text{Sr}$ , ao longo de seção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de *C. temensis* amostrado no rio Uatumã região próxima da barragem à jusante.

Os 16 indivíduos amostrados no ponto 4 (região de confluência dos rios Uatumã e Jatapú) apresentaram padrões de perfis da  $^{87/86}\text{Sr}$  relativamente similares com suaves variações nas assinaturas isotópicas, com aumentos ou reduções das assinaturas da  $^{87/86}\text{Sr}$  ao longo da vida, mantendo-se entre 0,731

a 0,741, sendo que, 56% (9/16) dos indivíduos apresentaram comportamento ativo, já a outra parcela apresentou comportamento residente (Figura 22).

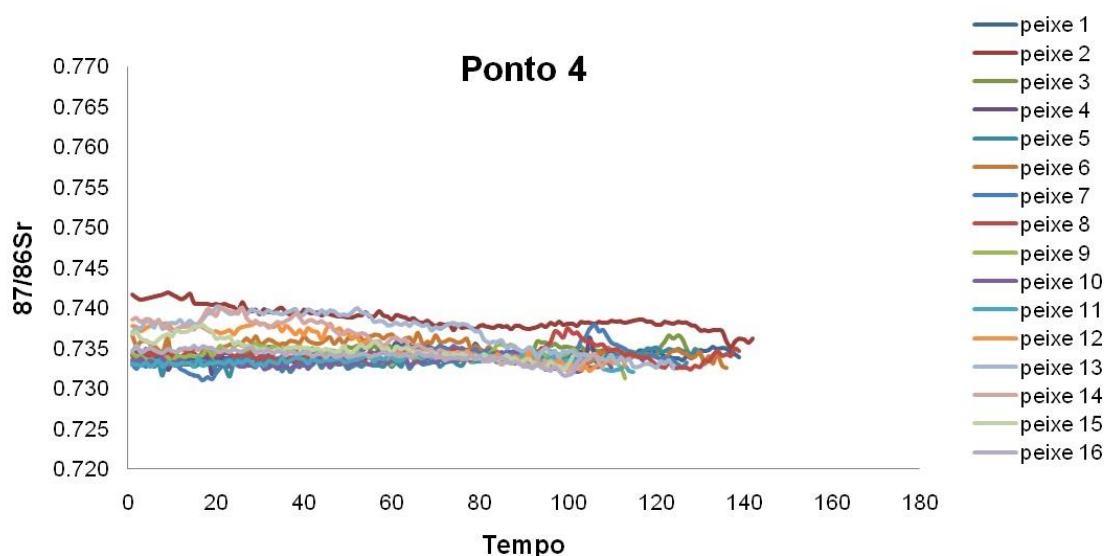


Figura 22 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , ao longo de secção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de *C. temensis* amostrado no rio Uatumã próximo a confluência com o rio Jatapú.

Dos indivíduos amostrados no ponto 6 (baixo Uatumã próximo a confluência com o rio Amazonas), 80% (8/10) apresentaram movimentos entre ambientes com assinatura isotópica distintas, para  $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , com variações no perfil isotópico entre 0,724 e 0,739. As variações no perfil isotópico destes indivíduos, demonstra que a princípio estes realizaram movimentos para áreas mais baixas do rio Uatumã, pois se deslocaram para ambientes com assinaturas isotópicas menores, o que sugere que tenham se deslocado por ambientes sob influência direta da água branca do rio Amazonas, que apresenta assinatura isotópica de 0,710 na região logo abaixo da confluência com o rio Uatumã. Contudo, estes indivíduos parecem esbarrar em uma barreira ecológica, devido as grandes diferenças físico-químicas entre as águas destes rios, realizando um movimento de retorno para o trecho do rio Uatumã sem influência do rio Amazonas.

Uma outra parcela de indivíduos apresentou perfil isotópico com variações pequenas da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  entre 0,735-0,740, característica de peixes que não realizam grandes deslocamentos ao longo do ciclo de vida (Figura 23).

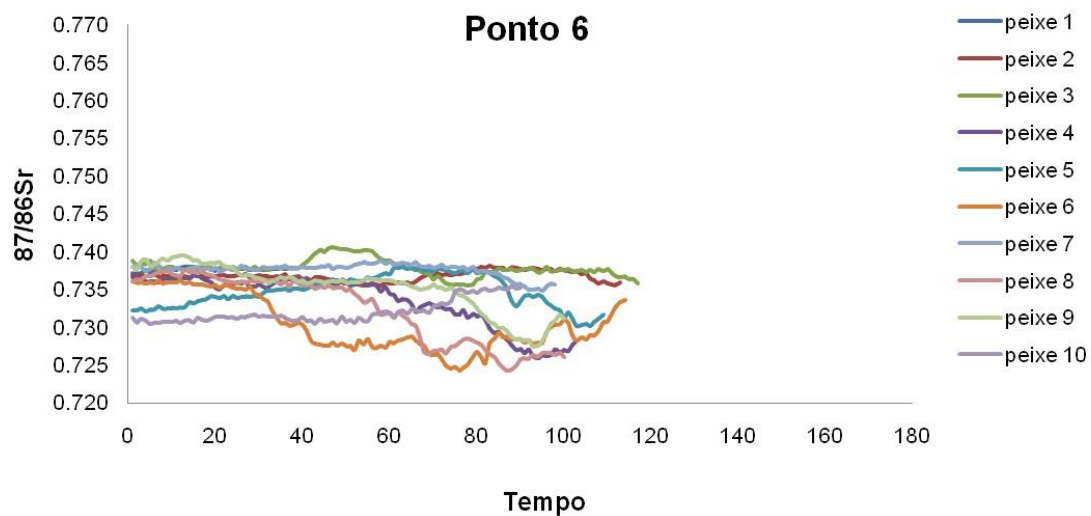


Figura 23 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , ao longo de seção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de *C. temensis* amostrado no baixo rio Uatumã.

#### Peixes coletados no baixo rio Jatapú

Dos 13 indivíduos amostrados no Ponto 5 (baixo rio Jatapú), cerca de 7,5% (1/13) exibiram comportamento de peixe residente apresentando perfil isotópico da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  relativamente contínuo. Outros 92,5% (12/13) apresentaram grandes variações no perfil isotópico da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$ , contudo demonstram movimentos de dispersão aleatórios, haja vista que as variações não seguem um padrão comum entre os indivíduos. Vale observar que este ponto de coleta se encontra em uma região de baixa intensidade de pesca, a qual é praticada basicamente por ribeirinhos para subsistência, diferente de todos os outros pontos de coleta amostrados que se encontram em ambientes impactados por grandes alterações antrópicas, oriundas da construção de uma grande barragem ou pela alta intensidade pesqueira devido ao acesso facilitado e a proximidade à centros urbanos (Figura 24).

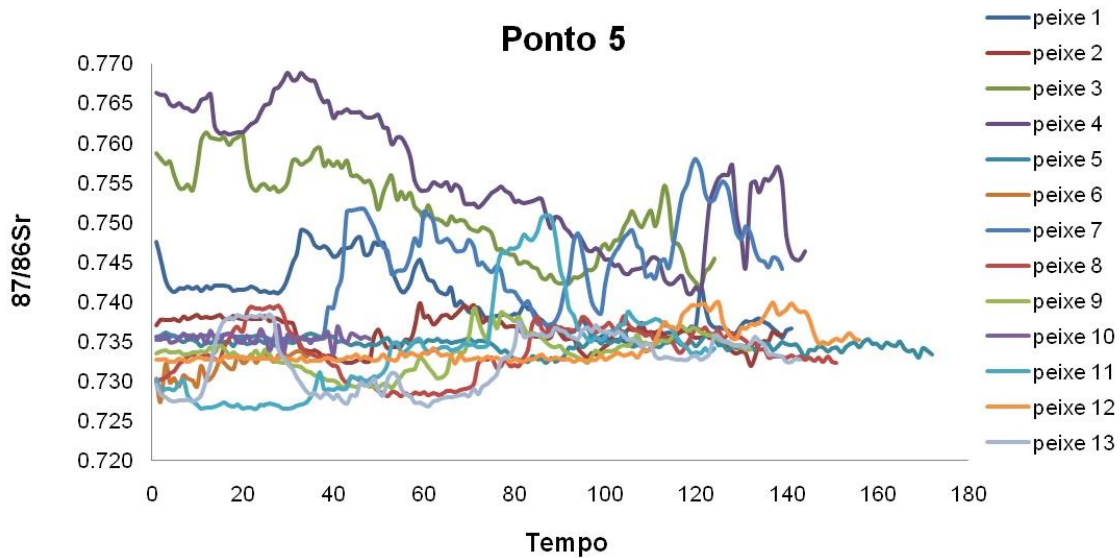


Figura 24 - Cada curva corresponde a ablação a laser (MC-ICP-MS) da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , ao longo de seção transversal do otólito (do núcleo a borda), de um indivíduo de *C. temensis* amostrado no baixo rio Jatapú.

### $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ na água

Nos dois períodos hidrológicos, foram coletadas um total de 14 amostras de água, distribuídas entre os rios Uatumã (n=10), Jatapú (n=2), Amazonas (n=2). Contudo obtivemos êxito apenas nas análises das amostras de quatro pontos amostrais, sendo o Ponto 1 - localizado a montante da barragem de Balbina na porção mais alta do lago, com valor de 0,715 da assinatura isotópica para a  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ; Ponto 4 - localizado no rio Uatumã próximo a confluência com o Jatapú, apresentando valor de 0,733; Ponto 6 - localizado na região mais baixa do rio Uatumã, com valor de 0,735; e o Ponto 7 - localizado no rio Amazonas próximo da confluência com o Uatumã apresentando valor de 0,710 (Figura 25).



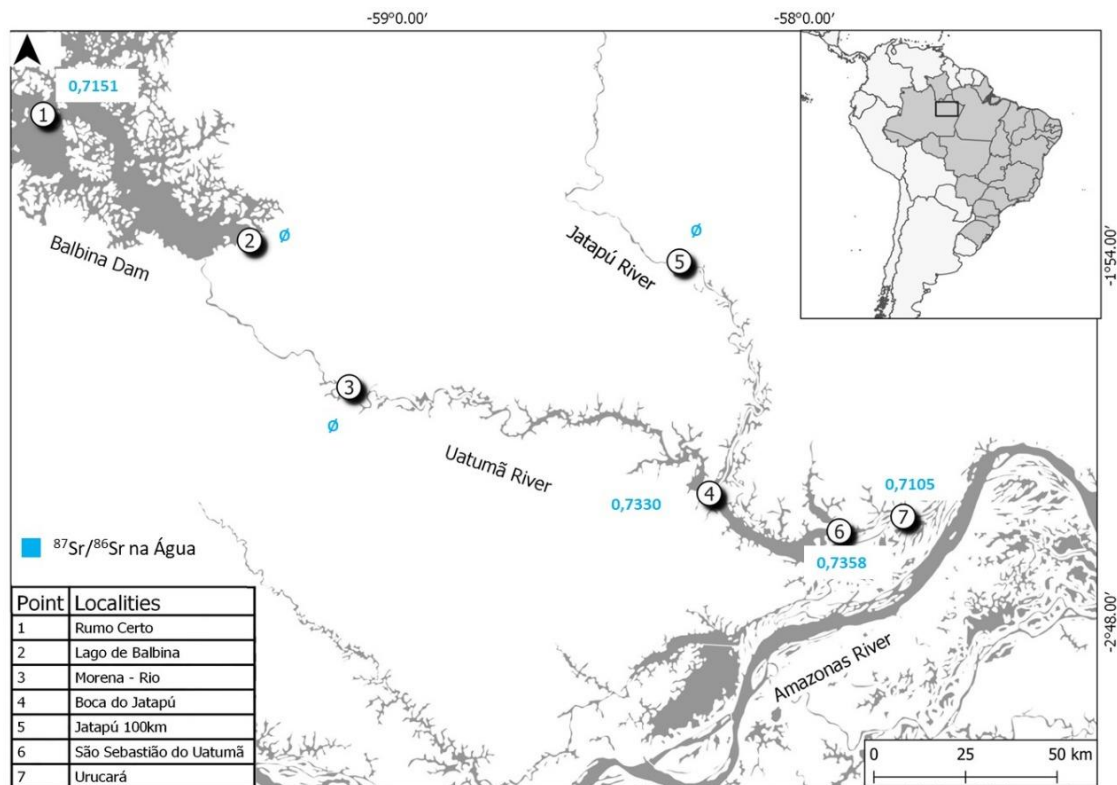


Figura 25 - Valores médios da  $87/86\text{Sr}$  na água para cada ponto amostral, distribuídos entre os rios Uatumã, Jatapú e Amazonas.

### Informação genômica do *C. temensis*

Foram analisadas efetivamente um total de 78 amostras de nadadeira de *C. temensis* coletados respectivamente: rio Uatumã (n= 61) e parte baixa do rio Jatapú (n= 17). Após filtragem das leituras, retirando leituras de baixa qualidade, retendo somente leituras com tamanhos acima de 270pb, foram retidas 7,5 milhões de leituras com tamanho mediano de 381pb. Em média, cada indivíduo teve 96 mil leituras, representando 3210 loci. Após a remoção de todos os loci com menos de 5 leituras, foram retidas apenas 684 loci os quais apresentaram em média 27 leituras. No banco de dados final, 524 loci foram compartilhados em no mínimo 50% dos indivíduos, os quais foram caracterizados por 1641 sítios variáveis, dos quais 1146 foram informativos para parcimônia e representaram 429 SNP's bi-alélicos não ligados.

## Diversidade genética

A diversidade genômica, medida em termos de riqueza alélica mostrou uma variação entre os pontos amostrais, sendo Ponto 1 (RA=1,719) o que tem o maior valor, seguidos por Ponto 3 (RA=1,375), Ponto 5 (RA=1,295) e Ponto 2 (RA=1,230), com valores intermediários, e Ponto 6 (RA=1,213) e Ponto 4 (RA=1,211), com os menores valores. Da mesma forma, a diversidade genômica em termos de heterozigosidade observada, variou entre as localidades de  $H_o=0,01272$  no Ponto 2 até  $H_o=0,28083$  no Ponto 6, enquanto a heterozigosidade esperada variou de  $H_e=0,17411$  no Ponto 1 até  $H_e=0,33411$  no Ponto 5 (Tabela 3). Diferenças significativas foram evidenciadas nas duas heterozigosidades sendo que a  $H_o$  mostrou valores menores.

**Tabela 3** - Diversidade genômica em termos de riqueza alélica (RA), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), por localidade amostrada (montante e jusante), com diferentes números amostrais (n).

UHE	Rio/Ponto de coleta	n	RA	$H_o$	$H_e$
Montante	Uatumã/P1	17	1,719	0,16685	0,17411
	Uatumã/P2	15	1,230	0,01272	0,25146
Jusante	Uatumã/P3	10	1,375	0,11236	0,27713
	Uatumã/P4	17	1,211	0,04102	0,26268
	Jatapú/P5	9	1,295	0,01590	0,33411
	Uatumã/P6	10	1,213	0,28083	0,31018

## Estrutura populacional

A análise de AMOVA mostrou alta estruturação na população com um valor de  $F_{ST} = 66,3\%$  ( $p < 0.05$ ), sendo que as diferenças significativas foram encontradas ao comparar as localidades par a par de montante (Ponto 1 e 2) com as localidades de jusante (Ponto 3, 4, 5 e 6) (Tabela 4).

**Tabela 4** - Comparação par a par entre as localidades amostradas.

Localidade	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6
<b>Ponto 1</b>	0,00000					
<b>Ponto 2</b>	0,02817	0,00000				
<b>Ponto 3</b>	0,70450*	0,76673*	0,00000			
<b>Ponto 4</b>	0,73002*	0,79414*	0,06640	0,00000		
<b>Ponto 5</b>	0,73814*	0,78807*	0,06074	0,73814*	0,00000	
<b>Ponto 6</b>	0,75526*	0,81852*	0,10900	0,04671	0,00468*	0,00000

\* Diferença significativas da estruturação (P<0,05).

Por outro lado, a análise Bayesiana confirmou a estruturação com o valor de Evano mais provável de K=2 (LnPro média=-9681,5), indicando a formação de dois clusters ou grupos biológicos bem definidos, um conformado pelas localidades a montante da barragem de Balbina nos Pontos 1 e 2 (Azul), e outro conformado a jusante da barragem, pelas localidades dos Pontos 3, 4, 5 e 6 (vermelho) (Figura 26). No barplot observamos seis indivíduos (3 a montante e 3 a jusante), com mistura genômica dos dois clusters (proporção genômica menor de 0,999), que indica a existência de indivíduos com genoma ancestral proveniente do cruzamento de exemplares dos dois grupos biológicos.

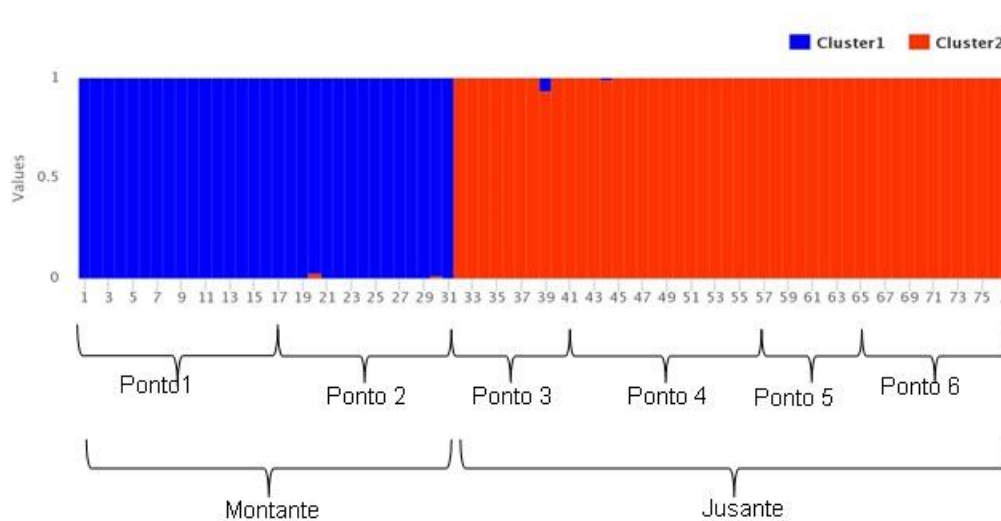


Figura 26 - Barplot indicando a formação de dois clusters com grupos biológicos bem definidos, um conformado pelas localidades a montante da

barragem de Balbina nos Pontos 1 e 2 (vermelha), e outro conformado a jusante da barragem, pelas localidades dos Pontos 3, 4, 5 e 6 (azul).

### Fluxo gênico e Demografia

O fluxo gênico entre as localidades se mostrou de forma bidirecional assimétrica, com valores entre 4,64 migrantes efetivos entre os Pontos 5 e 2 até 12,43 entre os Pontos 6 e 5. Ao testar o fluxo gênico entre os pontos a montante com os pontos a jusante, encontramos os seguintes resultados: montante para jusante variou entre 5,32 e 5,87 imigrantes efetivos; jusante para montante variou entre 4,64 e 5,39 imigrantes efetivos. Estes valores são baixos quando comparados com o fluxo gênico entre os pontos a montante ou entre os pontos a jusante, sendo: o fluxo gênico a montante (entre os Pontos 1 e 2) de 7,55 e 8,47, respectivamente; e a jusante o fluxo gênico variou de 8,11 (entre os Pontos 5 e 6) até 12,43 (entre os Pontos 6 e 5).

O tamanho populacional foi similar entre as localidades amostradas, com valor mínimo de 2.134.542 indivíduos efetivos no Ponto 2 e máximo de 2.304.591 indivíduos efetivos no ponto 4 (Tabela 5).

**Tabela 5** - Matrix do fluxo gênico entre as localidades e o tamanho populacional em cada localidade (diagonal), destacados em vermelho os valores extremos (máximo-mínimo).

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6
Ponto 1	<b>2.227.106</b>	7,55	5,80	5,87	5,33	5,62
Ponto 2	8,47	<b>2.134.542</b>	5,73	5,85	5,32	5,44
Ponto 3	5,03	4,75	<b>2.165.165</b>	8,57	8,57	8,68
Ponto 4	5,39	5,04	9,43	<b>2.304.591</b>	9,14	11,42
Ponto 5	5,00	4,64	8,49	8,45	<b>2.196.020</b>	8,11

---

<b>Ponto 6</b>	4,94	4,77	9,07	9,61	<b>12,43</b>	<b>2.242.418</b>
----------------	------	------	------	------	--------------	------------------

---

## DISCUSSÃO

### Marcadores biogeoquímicos

A utilização de otólitos para descrever movimentos de peixes entre ambientes quimicamente distintos na Amazônia tem sido bem definido em pesquisas anteriores (por exemplo, GARCEZ et al., 2014; POUILLY et al., 2014; HEGG et al., 2015; DUPONCHELLE et al., 2016; HERMANN et al., 2016; SOUSA et al., 2016), já o uso de escamas é bem menos difundido. Wells et al. (2003) comparando a relação entre a geoquímica da água com a geoquímica de otólitos e escamas de truta (*Oncorhynchus clarkii lewisii*) em um rio nos Estados Unidos, concluíram que os otólitos fornecem informações mais robustas. Contudo, apesar das escamas apresentarem maiores limitações para análises, ainda assim fornecem resultados eficientes. POUILLY et al. (2014) compararam as razões de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em água, otólitos e escamas de traíra (*Hoplias malabaricus*) e aracu (*Schizodon fasciatus*) oriundos de diferentes locais da bacia Amazônica e observaram que as proporções da assinatura de 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, demonstrando que durante a absorção biológica e incorporação do Sr em estruturas calcificadas em peixes não há fracionamento isotópico.

No presente estudo, as leituras de assinatura isotópica da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  em amostras de otólitos de tucunaré (*C. temensis*) apresentaram maior amplitude no transecto de análise mediante comparação com leituras realizadas em amostras de escamas. Vale salientar que, apesar das leituras em escamas possibilitarem uma visualização menos ampla das flutuações da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  ao longo da vida dos indivíduos de *C. temensis*, ainda assim os resultados apresentam alta similaridade nos padrões de flutuação do perfil isotópico da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  entre amostras de otólitos e escamas. Portanto podemos afirmar que escamas podem ser utilizadas como uma alternativa sustentável para estudos de biogeoquímica, uma vez que a amostragem de escamas em peixes não é

letal, possibilitando que os indivíduos uma vez amostrados sejam devolvidos com vida ao ambiente, principalmente em se tratando de espécies de peixes de grande porte.

A partir do perfil isotópico da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  observado nos 88 otólitos de *C. temensis* analisados, podemos observar as alterações dos padrões no comportamento de movimentação destes peixes para os ambientes sob efeito direto dos impactos de uma grande usina hidroelétrica (área do lago e entorno), sobre alta pressão de pesca (baixo rio Uatumã), e ambientes preservados (baixo rio Jatapú).

A presença de indivíduos “residentes” se mostrou predominante para os ambientes diretamente impactados pelo barramento do rio Uatumã com frequência de ocorrência entre 82% e 100%, reflexo da barreira física criada a partir da construção da barragem (ANTONIO et al., 2007; DUGAN et al., 2010) e/ou das barreiras ecológicas criadas devido as transformações no ecossistema aquático. Uma vez que o ambiente de água corrente (lótico) que existia previamente foi transformado a partir do barramento, em um enorme lago de água parada (lêntico) (DUGAN et al., 2010; GARCÍA et al., 2011; PELICICE et al., 2014). Agostinho et al. (2008), a partir da avaliação dos impactos de represamentos sobre a riqueza e abundância da ictiofauna, mostraram que com o envelhecimento do reservatório, espécies de pequeno e médio porte dominam as assembleias de peixes e os aumentos populacionais ocorrem com frequência, provendo uma grande disponibilidade de alimento para espécies predadoras (SANTOS & SANTOS, 2005), o que também contribui com a ausência de grandes deslocamentos observado para os indivíduos amostrados no Ponto 2 dentro do reservatório de Balbina, uma vez que grandes deslocamentos observados para espécies de tucunaré em geral são associados a predação de espécies de pequeno e médio porte que formam cardumes e migram para se reproduzir.

Apesar de não ter ocorrido grandes movimentos de dispersão a montante da barragem, em especial no Ponto 2, observamos que os indivíduos coletados nesta localidade apresentaram assinaturas isotópicas da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  distintas entre si. Contudo, é importante atentar para o fato que, a variação na composição isotópica da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  na água, está diretamente relacionada com a razão Rb/Sr (baseado na desintegração radioativa de um isótopo de  $^{87}\text{Rb}$ ,

dando origem a um isótopo de  $^{87}\text{Sr}$ ) (FAURE, 2001), uma vez que a composição geológica, onde está localizado o reservatório da UHE Balbina, é basicamente composta por duas unidades estratigráficas originárias de erupções vulcânicas, de diferentes eras geológicas: Formação Iricoumé - constituída por rochas vulcânicas (VEIGA JR. et al., 1979) e a Suíte Mapuera - basicamente constituída por rochas intrusivas graníticas (ARAÚJO NETO & MOREIRA, 1976; VEIGA JR. et al., 1979; COSTI et al., 1984; JORGE JOÃO et al., 1984). Estas unidades estratigráficas apresentam valores variáveis para razão Rb/Sr (FAURE, 2001), possibilitando, que dentro do reservatório existam diferentes assinaturas da  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  na água, em áreas relativamente próximas.

As espécies do gênero *Cichla* são sedentárias e territorialistas, principalmente do ponto de vista reprodutivo (BARROS, 1980; SANTOS et al., 1984; JEPSEN et al., 1999; HOEINGHAUS et al., 2003), todavia nos poucos estudos que avaliaram a dinâmica de movimentação em espécies do gênero *Cichla*, é comum alguns indivíduos realizarem longos deslocamentos. Hoeinghaus et al. (2003) observaram deslocamentos de até 21km em estudo realizado no rio Cinaruco na Venezuela aplicando marcação-recaptura para três espécies do gênero *Cichla*. Holley et al. (2008) fizeram uso da mesma metodologia em *C. temensis* em estudo realizado no médio rio Negro, bacia-Amazônica, no qual relataram ocorrência de deslocamentos de aproximadamente 40km. Na mesma região do rio Negro, a partir de análises geoquímicas da razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  em otólitos de *C. temensis*, Sousa et al. (2016) sugeriram a ocorrência de movimentações superiores à 50km. A ausência de resultados para assinatura isotópica da água do rio Jatapú e grande parte do rio Uatumã nos impossibilita de fazer inferências conclusivas referentes a definição das distâncias percorridas pelos indivíduos amostrados, contudo as grades variação na  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  apresentadas no perfil isotópico de alguns exemplares de *C. temensis* amostrados neste estudo com destaque para os indivíduos coletados nos pontos 5 e 6, indicam que estes indivíduos realizaram deslocamentos consideráveis e por vezes repetidos entre ambientes com diferentes assinaturas isotópicas.

Os resultados das assinaturas isotópicas da  $^{87}/^{86}\text{Sr}$  para a água do baixo rio Uatumã (Ponto 4 e 6) apresentaram altos valores (0,7330 e 0,7358), quando comparado com a assinatura do rio Amazonas (0,7105). Contudo, a assinatura

isotópica da  $^{87/86}\text{Sr}$  encontrada para a água do rio Uatumã a montante da barragem, apresentou um valor abaixo (0,7151) dos valores encontrados na seção mais baixa do rio Uatumã, este resultados não nos parece plausível uma vez que a formação geológica nesta região é compatível com assinaturas da  $^{87/86}\text{Sr}$  mais altas, conforme as assinaturas encontradas nos otólitos e escamas dos peixes coletados na localidade (Ponto 2), fato que nos leva a crer em uma possível contaminação desta amostra, em algum momento entre a coleta e as análises laboratoriais.

Macrander (2010), por meio de estudo genético com duas espécies do gênero *Cichla*, concluiu que as diferenças químicas entre águas negra e branca atuam como barreira ao fluxo genético de tucunarés. Em nosso estudo, também observamos a atuação do rio de água branca como barreira ecológica sobre a movimentação do tucunaré (Figura 23), pois nenhum dos indivíduos coletados apresentou assinatura isotópica da  $^{87/86}\text{Sr}$  inferior a 0,725, comprovando que os peixes amostrados neste estudo não adentraram na água branca do rio Amazonas em nenhum dos estágios de vida.

### **Marcadores moleculares**

Estudos populacionais genômicos realizados com peixes da região Neotropical são escassos, em especial para peixes de água doce, dificultando a realização da comparação da diversidade genômica. A diversidade genética medida em riqueza alélica mostrou-se variável em todas as localidades, diferenciação que é afetada pelo tamanho amostral, o que impossibilita a comparação entre elas (ALLENDORF & LUIKART, 2007). Já a diversidade genômica medida em Heterozigosidade esperada é menos sensível ao número de indivíduos amostrados, possibilitando sua comparação e análise (FREELAND, 2014).

Considerando que uma das medidas da diversidade genética é a Heterozigosidade (proporção de indivíduos heterozigotos) a qual varia entre zero e um, indicando, zero - nenhuma variação nos indivíduos e um - máxima variação (ALLENDORF & LUIKART, 2007). O uso de dados bi-alélicos de SNP's, em estudos feitos com diversas taxas, reportam valores máximos alcançados de 0,5, diferente dos valores alcançados com marcadores de



microssatélites que podem alcançar estimativas de 0,95 (HELYAR et al., 2011). Neste sentido, a diversidade genômica média estimada para a população de *C. temensis* no sistema do Uatumã-Balbina foi de  $He=0,268$ , valor maior quando comparado com a diversidade genômica de *Arapaima gigas* (única espécie amazônica estudada com o mesmo método) de  $He=0,133$  (TORATI et al., 2019). No entanto, a diversidade genômica se mostrou diferente entre as localidades estudadas para o tucunaré, os valores maiores foram detectados nos Pontos 5 e 6 (0,33411; 0,31018 respectivamente) seguidos por valores intermediários nos Pontos 3, 4 e 2 (0,27713; 0,26268; 0,25146 respectivamente) e o menor no Ponto 1 (0,17411). Apesar dessas diferenças, a diversidade genômica do tucunaré foi relativamente maior do que as reportadas nas diferentes localidades estudadas para o pirarucu (*Arapaima gigas*), tais como rio Solimões, Amazonas e Tocantins ( $He=0,204$ ;  $He=0,203$ ;  $He=0,125$  respectivamente), e muito altos quando comparados ao pirarucu no rio Araguaia ( $He=0,039$ ) (TORATI et al., 2019), apesar de ambas as espécies apresentarem comportamentos similares de deslocamentos e cuidado parental. Comparado com espécies de peixes marinhos, ex.: peacock wrasse (*Symphodus tinca*) (entre  $He=0,190$  –  $He=0,202$ ) (CARRERAS et al., 2017) e Arctic char (*Salvelinus alpinus*) ( $He=0,103$ - $0,107$ ) (MOORE et al., 2017) os valores de diversidade em tucunaré continuam sendo maiores.

Uma pesquisa populacional com o tucunaré (*C. temensis*), usando microssatélites, realizada por Willis et al. (2015), estudou a espécie em 24 localidades nas bacias do Orinoco e Amazonas, determinando que a diversidade genética da espécie, em localidades próximas ao sistema Uatumã-Balbina foi de: ( $He=0,590$ ) em Barcelos no médio rio Negro; ( $He=0,595$ ) em Novo Airão no baixo rio Negro; ( $He=0,431$ ) em Rio Preto da Eva; e ( $He=0,586$ ) no rio Urubu. A maioria destes valores mostram diversidade moderada ao considerar o valor máximo reportado de diversidade em microssatélites de  $He=0,95$ . Desta forma, analisando de maneira proporcional com os dados de SNP's estimados neste estudo, podemos afirmar que a diversidade genômica para o tucunaré no sistema Uatumã-Balbina é moderada, considerando o valor máximo reportado com estes marcadores moleculares de 0,5.

Diferenças na diversidade genômica entre as localidades estudadas com tucunaré foram também encontradas em nosso estudo, as quais podem ser

causadas por vários fatores que alteram as frequências alélicas tais como: deriva gênica, diminuição do tamanho populacional, diminuição do fluxo gênico e/ou seleção natural (ALLENDORF & LUIKART, 2007). Da mesma forma, diferenças entre os valores de Heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ) nas seis localidades estudadas foram detectadas, sendo os valores de  $H_o$  menores que  $H_e$  em todos os casos. Estas variações podem ser causadas pelo efeito Wahlund, que faz referência a redução da heterozigosidade devido à estruturação da população (FREELAND, 2014).

Ao analisar a homogeneidade das frequências alélicas através da AMOVA, ficou evidente a alta fragmentação na distribuição das frequências alélicas, causada pela diferenciação entre subgrupos populacionais, explicadas em 66%. Por sua vez, a análise Bayesiana mostrou dois grupos biológicos ou subpopulações, que agruparam estas frequências, um formado pelas localidades a montante da UHE Balbina: Ponto 1 e Ponto 2, e outro grupo formado pelas localidades a jusante da UHE Balbina: Ponto 3, Ponto 4, Ponto 5, Ponto 6 (Figura 26).

Apesar da fragmentação da população de *C. temensis* apresentar-se de forma marcante a partir da UHE Balbina, é importante lembrar que originalmente a bacia do rio Uatumã apresenta declividades baixas, exceto no trecho médio da bacia onde estão localizadas as corredeiras de Balbina e Morena, com declives entre 18,1 a 27,2 m e 21 a 31,5m respectivamente (ELETRONORTE, 1997). Estas fortes declividades também podem ser uma causa natural da fragmentação populacional, ao diminuir o fluxo gênico neste trecho. Evidentemente, ao analisar o nível do fluxo gênico, detectamos uma redução considerável entre as localidades a montante e jusante da UHE, com valores máximos de 5,39 imigrantes efetivos por geração (IEG) do Ponto 4 (jusante-montante) ao Ponto 1 e 5,87 IEG do Ponto 1 ao Ponto 4 (montante-jusante), quando comparado com as localidades em que não existem barreiras natural nem antrópica entre elas, onde o fluxo gênico tem valores máximos de 8,47 (IEG) do Ponto 2 para Ponto 1 (montante-montante) e 12,43 IEG do Ponto 6 para Ponto 5 (jusante-jusante).

Estudos de migrações realizados com outros peixes amazônicos como *Piaractus brachypomus* (0,80 a 4,7 IEG) (ESCOBAR et al., em edição), *Colossoma macropomum* (0,23 a 20,8 IEG) (SANTOS-FREITAS, 2010) e *B.*

*vailantii* (5,9 a 24,7 IEG) (RODRIGUEZ, 2009) e *Arapaima gigas* (0,16 a 6,81 IEG) (HRBEK et al., 2007), permitem determinar que o fluxo gênico natural do tucunaré é “moderado” ao comparar com os valores das espécies migradoras, e “maior” ao comparar com a espécie sedentária, mesmo considerando a área de restrição. Isto indica que apesar da redução do número de migrantes encontrados para *C. temensis*, este valor é aceitável para manter conectada a população, partindo do fato que um migrante é suficiente para manter a coesão em uma população (FRANKHAM et al., 2008).

É importante entender, que a análise realizada pelo Migrate-n para detectar o número de migrantes, está relacionada com dados demográficos em equilíbrio, ou seja, taxas de tamanho populacional e migração estáveis durante um período de tempo genealógico (ex: o ancestral comum mais recente) (MACHADO et al., 2017), mas não indica que se trata do fluxo gênico contemporâneo, uma vez que a análise Bayesiana mostrou uma forte fragmentação, onde não se evidencia atual fluxo gênico.

Estudos realizados com outras espécies aquáticas no rio Madeira, o qual apresenta uma sequência de 16 grandes barreiras naturais, mostram que espécies como os bagres (*Brachyplatystoma spp.* e *Pseudoplatystoma spp.*) (GOULDING, 1979), characiformes (*Colossoma macropomum* e *Prochilodus nigricans*) (FARIAS et al., 2010; MACHADO et al., 2017) e botos (*Inia spp.*) (GRAVENA et al., 2014), podem superar essas barreiras geográficas, não impedindo o intercâmbio gênico nessas populações. Partindo do princípio de que a estruturação da população de *C. temensis* a montante e jusante da UHE é extrema, é possível considerar que a verdadeira causa desta fragmentação foi a construção da barragem, já que a análise Bayesiana mostra poucos indivíduos migrantes, com registro de genoma ancestral compartilhado muito baixo. Uma vez que, à montante detectamos apenas dois indivíduos no Ponto 2 com proporções gênicas de 0,973:0,023 e 0,985:0,0015, enquanto, os demais indivíduos à montante apresentaram genoma superior à 0,999, caracterizando essa sub-população do *C. temensis*.

Estudos realizados com peixes não Neotropicais, também tem demonstrado que as barreiras antrópicas causam um forte impacto na estruturação das populações, como: perca amarela *Perca flavescens* (LECLERC et al., 2007), truta marrom *Salmo trutta* (HORREO & GARCIA-

VAZQUEZ, 2011) e o bagre europeu *Squalius cephalus* (GOUSKOV et al., 2016). Contudo, McDougall et al. (2017) em estudo realizado com uma população de esturjão do lago *Acipenser fulvescens* na área de influência de barragens com mais de 80 anos de operação, não puderam evidenciar estruturação na população devido ao longo tempo geracional (entre 26 e 50 anos) apresentado pela espécie estudada. Demonstrando que, o tempo necessário para que se possa detectar a fragmentação em uma população de peixe após a implantação de uma barreira é variável. Depende não somente do tempo da implantação da barreira e dos tipos de marcadores moleculares usados, mas também, das características biológicas e a história de vida da espécie (McDOUGALL et al., 2017).

No presente estudo, a barragem entrou em operação em 1987 (FEARNSIDE, 2015) isto é, há 10,6 gerações do *C. temensis*, segundo os dados registrados por Campos et al. (2013), que reportam uma média geracional de três anos para a espécie. O curto tempo geracional apresentado pelo *C. temensis*, somado ao poder de resolução dos SNP's, nos permitiu detectar a divergência populacional entre montante-jusante, mesmo com o decorrer de um curto período, pouco mais de 30 anos, após a construção da UHE de Balbina.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir da combinação das metodologias de biogeoquímica com a genômica, conseguimos obter resultados aprofundados e conclusivos relacionados aos efeitos do barramento do rio Uatumã sobre a população originária de *Cichla temensis*.

Por meio dos resultados obtidos, com a aplicação da biogeoquímica, ficou notável que a fragmentação do rio Uatumã a partir da implantação da usina hidroelétrica de Balbina resultou em impactos diretos, em especial, sobre os padrões comportamentais relacionados aos movimentos de dispersão da população originária de *C. temensis* do rio Uatumã, principalmente a parcela que habita a área de influência direta da barragem.

A análise genômica evidenciou que a barragem forçou uma estruturação da população originária de *C. temensis*, dividindo-a em dois subgrupos populacionais, um habitando a região a montante e outro a jusante.

Ainda assim, os tamanhos populacionais tanto a montante quanto a jusante apresentam alto número de indivíduos efetivos, bem como, a diversidade gênica até o momento se mantém em um nível moderado, o que nos permite afirmar, indiretamente, que estas populações de *C. temensis* não sofreram reduções críticas que resultassem em um efeito de bottle-neck. Demonstrando que as características biológicas desta espécie, em especial reprodutivas, proporcionam um alto poder de adaptação dentre os ambientes aquáticos na Amazônia, com restrições aos ambientes de água branca, proporcionando-a certa resistência quanto aos impactos do barramento.

De modo geral, as duas populações de *C. temensis* estudadas, tanto a montante quanto a jusante da barragem, ainda se encontram estáveis e em bom estado de conservação, indicando que estas podem ser consideradas como recursos pesqueiros passíveis de exploração pesqueira, contudo, a atividade pesqueira deve ser continuamente monitorada em relação aos parâmetros populacionais da espécie, em especial, as pescarias realizadas a montante da barragem, pois o isolamento desta população somado a ausência de grandes movimentos de dispersão dos indivíduos, são fortes indícios de que, com o tempo, possa vir a ocorrer a redução da carga genética desta população.

Este estudo apresentou as etapas realizadas do projeto de pesquisa e os resultados obtidos, respondendo os objetivos propostos, os quais permitiram testar a hipótese levantada. Espera-se que esta pesquisa sirva de subsídios para estudos futuros, visando que os recursos pesqueiros possam ser manejados adequadamente e avaliados de forma eficiente em diagnósticos ambientais de reservatórios hidrelétricos.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A.A.; PELICICE, F.M.; GOMES, L.C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology** 68, 1119-1132, 2008.

ALLÉGRE, C.J.; DUPRÉ, B.; NÉGREL, P.; GAILLARDET, J. Sr-Nd-Pb isotopes systematics in Amazon and Congo river systems: Constrain about erosion processes, **Chemical Geology**, 131, 93-112, 1996.

ALLENDORF, F.W.; HOHENLOHE, P.A.; LUIKART, G. Genomics and the future of conservation genetics. **Nature reviews genetics**, 11, 10, 697, 2010.

ALLENDORF, F.W.; LUIKART, G. Conservation and the Genetics of Populations. Malden, **MA: Blackwell Publishing**, 2007.

ANTONIO, R.R.; AGOSTINHO, A.A.; PELICICE, F.M.; BAILLY, D.; DIAS, J.H.P. Blockage of migratory routes by dam construction: can migratory fish find alternative routes? **Neotropical Ichthyology** 5, 177-184, 2007.

ARAÚJO NETO, H., MOREIRA, H. L. **Projeto Estanho de Abonari**, Brasília: MME/DNPM/CPRM, Brasília, 1, 232, 1976.

BARROS, G.M.L. Os tucunarés (Actinopterygii, cichlidae) nos açudes públicos do Nordeste. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Ceará - UFCE, Fortaleza, 64, 1980.

BEERLI, P., & PALCZEWSKI, M. Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. **Genetics**, 185, 313–326, 2010. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.112532>

CAMPOS, C.P. Dinâmica populacional do tucunaré *Cichla temensis* (Humboldt, 1933) do médio rio Negro, Amazonas, Brasil. **Dissertação**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia -INPA, 2013.

CAPO, R.C., STEWART B.W. E CHADWICK O.A. Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: **Theory and Methods**, 82, 197-225, 1998.

CAPUTO, M. V. Discussão sobre a Formação Alter do Chão e o Alto de Monte Alegre. In: NASCIMENTO, R. S. C.; HORBE, A. M. C.; ALMEIDA, C. M. (Org.). Contribuição à Geologia da Amazônia. **Manaus: SBG - Núcleo Norte**, vol. 7. p.7-23, 2011.

CARRERAS, C.; ORDÓÑEZ, V.; ZANE, L.; KRUSCHEL, C.; NASTO, I.; MACPHERSON, E.; PASCUAL, M. Population genomics of an endemic Mediterranean fish: Differentiation by fine scale dispersal and adaptation. **Scientific Reports**, 7, 1–12, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep43417>

CATCHEN, J.; BASSHAM, S.; WILSON, T.; CURREY, M.; O'BRIEN, C.; YEATES, Q.; CRESKO, W.A. The population structure and recent colonization history of O regon threespine stickleback determined using restriction-site associated DNA-sequencing. **Molecular ecology**, 22(11), 2864-2883, 2013.

COSTI, H.T.; SANTIAGO, A.F.; PINHEIRO, S.S. Projeto Uatumã – Jatapu, Análises Petrográficas e Mapas. **Relatório Final**. Manaus: CPRM – SUREG-MA, 133, 1984.

DALL'AGNOL, R.; COSTI H. T.; BORGES, R. M. K. Estudos e projetos direcionados a depósitos minerais e distritos mineiros: “Caracterização de depósitos minerais em distritos mineiros da Amazônia”, subprojeto: Pitinga-Estanho. **Relatório de compilação e integração de dados/Nota Explicativa ao Mapa Geológico 1:25.000**. Belém: UFPA 11-23p, 2003.

DESALLE, R.; AMATO, G. The expansion of conservation genetics. **Nature reviews genetics**, 5(9), 702, 2004.

DUGAN, P.J.; BARLOW, C.; AGOSTINHO, A.A.; BARAN, E.; CADA, G.F.; CHEN, D.; COWX, I.G.; FERGUSON, J.W.; JUTAGATE, T.; MALLENCOOOPER, M.; MARMULLA, G.; NESTLER, J.; PETRERE, M.; WELCOMME, R.L.; WINEMILLER, K.O. Fish Migration, Dams, and Loss of Ecosystem Services in the Mekong Basin. **AMBIO: A Journal of the Human Environment** 39:344–348, 2010.

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**, 53, 5, 1511-1520, 2016. <https://doi:10.1111/1365-2664.12665>.

EATON, D.A.R. PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses. **Bioinformatics**, 30, 13, 1844-1849, 2014.

EDGAR, R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic acids research**, 32, 5, 1792-1797, 2004.

ELETRONORTE. 1. Usina Hidroelétrica de Balbina. 2. Energia elétrica-Brasil. 3. Usinas hidroelétricas-Brasil. Consórcio Monasa/Enge-Rio. Série: Projeto Memória Eletronorte. **Memória Técnica**. 1997.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, 14, 2611–2620, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, 10, 564–567, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>

FARIA M.S.G. de; LUZARDO R. Complexo Metamórfico Anauá. In: Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais. Folhas NA.20-Z-B e NA.20-Z-D (integrais), NA.20-ZA, NA.21-Y-A, NA.20-Z-C e NA.21-Y-C (parciais). **Programa Levantamentos Geológicos Básicos do Brasil**. Capítulo 3, Manaus: CPRM-SUREG/AM, 2000.

FARIAS, I.P.; TORRICO, J.P.; GARCÍA-DÁVILA, C.; SANTOS, M.C.F.; HRBEK, T.; RENNO, J.F. Are rapids a barrier for floodplain fishes of the Amazon basin? A demographic study of the keystone floodplain species *Colossoma macropomum* (Teleostei: Characiformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 56, 1129–1135, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.028>

FAURE, G. Origin of igneous rocks – the isotopic evidence. **Springer, Berlin Heidelberg New York**. 496, 2001.

FAURE, G & MENSING, T.M. Isotopes: principles and applications. **John Wiley & Sons**, 897, 2005.



FEARNSIDE, P.M. Hidrelétricas na Amazônia: impactos ambientais e sociais na tomada de decisões sobre grandes obras. **Relatório Final**. Manaus, 2015.

FONTENELE, O. Contribuição para o conhecimento da biologia dos tucunarés (Actinopterygii, Cichlidae) em cativeiro. Aparelho de reprodução, hábitos de desova e incubação. **Rev. Brasil. Biol**, 10(4), 503-519. Rio de Janeiro. 1950.

FRANCIS, R.M. Pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. **Molecular Ecology Resources**, 17, 27–32, 2017. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12509>

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Fundamentos de Genética da Conservação. Ribeirão Preto, SP, **Brazil: Editora SBG**, 2008.

FREELAND, J.R. *Molecular Ecology*, 2014.

FREELAND, J.R. *Molecular Ecology*, Chichester, **England: John Wiley and Sons**, 2005.

FURCH, K.; JUNK, W.J.; KLINGE, H. Unusual chemistry of natural waters from the Amazon region. **Acta Científica Venezolana**, 33, 269-273, 1982.

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**. 2014. <https://doi: 10.1111/eff.12142>

GARCÍA, A.; JORDE, K.; HABIT, E.; CAAMAÑO, D.; PARRA, O. Downstream environmental effects of dam operations: changes in habitat quality for native fish species. **River Research and Applications** 27, 312–327, 2011.

GOULDING, M. *Ecologia de Pesca do Rio Madeira*. Manaus, Brazil: INPA, 1979.

GOUSKOV, A.; REYES, M.; WIRTHNER-BITTERLIN, L.; VORBURGER, C. Fish population genetic structure shaped by hydroelectric power plants in the upper Rhine catchment. **Evolutionary Applications**, 9, 394–408, 2016. <https://doi.org/10.1111/eva.12339>

GRAVENA, W.; FARIAS, I.P.; SILVA, M.N.F.; SILVA, V.M.F.; HRBEK, T. Looking to the past and the future: Were the Madeira River rapids a geographical barrier to the boto (Cetacea: Iniidae)? **Conservation Genetics**, 15, 619–629, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10592-014-0565-4>

HEGG, J.C.; GIARRIZZO, T.; KENNEDY, B.P. Diverse early life-history strategies in migratory Amazonian catfish: implications for conservation and management. **PLoS ONE** 10, e0129697, 2015. <https://doi:10.1371/journal.pone.0129697>

HELYAR, S.J.; HEMMER-HANSEN, J.; BEKKEVOLD, D.; TAYLOR, M.I.; OGDEN, R.; LIMBORG, M.T.; CARIANI, A.; MAES, G.E.; DIOPERE, E.; CARVALHO, G.R.; NIELSEN, E.E. Application of SNPs for population genetics of nonmodel organisms: New opportunities and challenges. **Molecular Ecology Resources**, 11, 123–136, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02943.x>

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**, 3, 6, 1-16, 2016. (doi: 10.1098/ rsos.160206)

HOEINGHAUS, D.J.; LAYMAN, C.A.; ARRINGTON D.A.; WINEMILLER, K.O. Movement of Cichla species (Cichlidae) in a Venezuelan floodplain river. **Neotropical Ichthyology**, 1(2), 121-126, 2003.

HOLLEY, M.H.; MACEINA, M.J.; THOMÉ-SOUZA, M.; FORSBERG, B.R. Analysis of the trophy sport fishery for the speckled peacock bass in the Negro river, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, 15, 93-98, 2008.

HORREO, J.L.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Foreign brown trout in protected landscapes as a consequence of connectivity. **Fisheries Management and Ecology**, 15, 93-98, 2008.

**Ecology**, 18, 431–436, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2011.00803.x>

HRBEK, T.; CROSSA, M.; FARIAS, I.P. Conservation strategies for *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) and the Amazonian várzea ecosystem. *Brazilian journal of biology*. **Revista brasileira de biologia**, 67, 909–917, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842007000500015>

ISAAC, V.J.; ROCHA, V.L.C.; MOTA, S.Q.C. Ciclo reprodutivo de algumas espécies de peixes comerciais do Baixo Amazonas. In: Recursos Pesqueiros do Médio Amazonas: biologia e estatística pesqueira – **Brasília: Edições IBAMA**. 31-64, 2000.

JEPSEN, D.B.; WINEMILLER, K.O.; TAPHORN, D.C. Age structure and growth of peacock cichlids from rivers and reservoirs of Venezuela. **Journal of fish Biology**, 55, 433-450, 1999.

JOÃO, J.X.S.; SANTOS C.A.; FARACO, M.T.L. Projeto Trombetas – Mapuera: **Relatório Final**, Belém, DNPM/CPRM, 2, 1984.

JORGE JOÃO, X. S.; SANTOS C. A.; FARACO, M. T. L. Projeto Trombetas – Mapuera: **Relatório Final**, Belém, DNPM/CPRM, 2, 1984.

KENNY, E.M.; CORMICAN, P.; GILKS, W.P.; GATES, A.S.; O'DUSHLAINE, C.T.; PINTO, C.; CORVIN, A.P.; GILL, M.; MORRIS, D.W. Multiplex target enrichment using DNA indexing for ultra-high throughput SNP detection. **DNA research**, 18(1), 31-38, 2010. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsq029>

KULLANDER, S.O. A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). Pp. 461-498, In: L.R. Malabarba, R.E. Reis, R.P. Vari, Z.M.S. Lucena and C.A.S. Lucena (Eds.). *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. **Edipucrs**, Porto Alegre. 1998.

KULLANDER, S.O. Family cichlidae. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. **Edipucrs**, Porto Alegre, 605-654, 2003.

KULLANDER, S.O.; FERREIRA, E.J.G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: cichlidae). **Ichthyol. Explor. Freshwaters**, 17(4), 289-398, 2006.

LECLERC, E.; MAILHOT, Y.; MINGELBIER, M.; BERNATCHEZ, L. The landscape genetics of yellow perch (*Perca flavescens*) in a large fluvial ecosystem. **Molecular Ecology**, 17, 1702–1717, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03710.x>

LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH. G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R. The sequence alignment/map format and SAMtools. **Bioinformatics**, 25(16), 2078-2079, 2009.

LISCHER, H. E. L., & EXCOFFIER, L. PGDSpider: An automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. **Bioinformatics**, 28, 298–299, 2012. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr642>

LYONS, W.B.; TYLER, S.W.; GAUDETTE, H.E.; LONDG, T. The use of strontium isotopes in determining groundwater mixing and brine fingering in playa spring zone, Lake Tyrrell, Austrália, **Journal of Hidrology**, 187, 225-239, 1995.

MACHADO, V.N.; WILLIS, S.C.; TEIXEIRA, A.S. HRBEK, T.; FARIAS, I.P. Population genetic structure of the Amazonian black flannelmouth characin (Characiformes, Prochilodontidae: *Prochilodus nigricans* Spix & Agassiz, 1829): contemporary and historical gene flow of a migratory and abundant fishery species. **Environmental Biology of Fishes**, 100, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10641-016-0547-0>

MACRANDER, J.C. Microsatellite development, population structure and demographic histories for two species of Amazonian Peacock Bass *Cichla temensis* and *Cichla monoculus* (Perciformes: Cichlidae). 80 p. **Dissertations and Theses** in Biological Sciences, School of Biological Sciences. Lincoln: Univ. of Nebraska. 2010.

MARTÍNEZ, J.G.; CABALLERO-GAITÁN, S.J.; SÁNCHEZ-BERNAL, D.; ASSUNÇÃO, E.N.; ASTOLFI-FILHO, S.; HRBEK, T.; FARIAS, I.P. De novo SNP markers development for the Neotropical gilded catfish *Brachyplatystoma rousseauxii* using next-generation sequencing-based genotyping. **Conservation genetics resources**, 8(4), 415-418. 2016. doi:10.1007/s12686-016-0584-1

MCDUGALL, C.A.; WELSH, A.B.; ANDERSON, W.G.; NELSON, P.A.; GOSSELIN, T. Rethinking the influence of hydroelectric development on Lake Sturgeon gene flow. **PLoS ONE**, 1–27, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174269>

MELO, A. F.F.; SANTOS, A.J.; CUNHA, M.T.P.; CAMPOS, M.J.F.; D'ANTONA, R.J.G. Projeto Molibdênio em Roraima: **Relatório final**, Manaus, MME/DNPM, 6, 1978.

MOORE, J.S.; LUYER, J.; SUTHERLAND, B.J.G.; ROUGEMONT, Q.; BERNATCHEZ, L.; HARRIS, L.N.; TALLMAN, R.F.; FISK, A.T. Genomics and telemetry suggest a role for migration harshness in determining overwintering habitat choice, but not gene flow, in anadromous Arctic Char. **Molecular Ecology**, 26, 6784–6800, 2017. <https://doi.org/10.1111/mec.14393>

NELSON, J.S. Fishes of the world. 3rd edition. **John Wiley & Sons**. New York, 600pp, 1994.

PANFILI, J.; PONTUAL, H.; TROADEC, H.; WRIGHT, P. J. Manual of Fish Sclerochronology; Coédition **Ifremer-IRD**: Marseille, France, 2002. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00017/12801/>.

PALMER, M.R.; EDMOND, J.M. Controls over the strontium isotope composition of river water. **Geochemistry Et Cosm. Acta**N., 56, 2099-2111, 1992.

PELICICE, F.M.; POMPEU, P.S. & AGOSTINHO, A.A. Large reservoirs as ecological barriers to downstream movements of Neotropical migratory fish. **Fish and Fisheries**. 2014. <https://doi:10.1111/faf.12089>.

PETERSON, B.K.; WEBER, J.N.; KAY, E.H.; FISHER, H.S.; HOEKSTRA, H.E. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. **PLOS ONE**, 7(5), 37135, 2012.

PETRERE JÚNIOR, M. Fisheries in large tropical reservoirs in South America. **Lakes & Reservoirs: Research and Management**, 2: 111-133, 1996.

POUILLY, M.; POINT, D.; SONDAG, F.; HENRY, M.; SANTOS, R.V. Geographical origin of Amazonian freshwater fishes fingerprinted by <sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr ratios on fish otoliths and scales. **Environmental Science and Technology**, 48, 8980-8987, 2014. <https://doi:10.1021/es500071w>

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, 155, 945–959, 2000.

RODRIGUEZ, F. Estimativa da variabilidade genética da piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) por meio de marcadores moleculares microssatélites e D-loop de quatro localidades da Amazônia: diferenças entre calha e tributários. **INPA & UFAM**, 2009.

ROGNES, T.; FLOURI, T.; NICHOLS, B.; QUINCE, C.; MAHÉ, F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. **PeerJ**. 2016.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd ed., **Cold Springs Harbor**, NY: Laboratory Press. 1989.

SANTOS, M.C.F. Caracterização da diversidade genética de populações naturais de tambaqui (*Colossoma macropomum*) através de marcadores moleculares: uma contribuição para conservação da espécie. **Tese**. Universidade Federal do Amazonas, UFAM, 2010.

SANTOS, G.M. & JEGU, M. Inventário taxonômico dos anostomídeos (Pisces, anostomidae) da bacia do rio Uatumã-AM, Brasil, com descrição de duas espécies novas. **Acta Amazônica**, 1996.

SANTOS, G.M.; JEGU, M.E.; MERONA, B. Catálogo de peixes comerciais do baixo rio Tocantins. **Eletronorte/CNPq/INPA**, Manaus. 83. 1984.

SANTOS, G.M.; SANTOS, A.C.M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Acta Amazonica** 19, 165-182, 2005.

SANTOS, G.M.; OLIVEIRA JR., A. B. A pesca no reservatório da hidrelétrica de Balbina (Amazonas, Brasil). **Acta Amazônica** 29(1), 145-163 pp, 1999.

SAWAYA, P.; MARANHÃO, A. A. In: **Bol. Fac. Filosofia, Ciências, Letras da USP, Zoologia**, 11, 358-381, 1946.

SLOVAK, N.M; PAYTAN, A. Application of Sr isotopes in archaeology. In **Handbook of Isotopes Geochemistry (ed. Baskaran, M.)** Springer-Verlag Heidenberg, Advances in Isotope Geochemistry, 2011.

SIOLI, H. The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin* (ed. Sioli H), pp. 127-163, **Dr. W. Junk Publishers**, The Hague, 1984.

SOUSA, R.; HUMSTON, R.; FREITAS, C. Movement patterns of adult peacock bass *Cichla temensis* between tributaries of the middle Negro River basin (Amazonas–Brazil): an otolith geochemical analysis. **Fish. Manage. Ecol.** 23, 76–87, 2016. <https://doi:10.1111/fme.12166>

STAECK, W.; LINKE, H. Large Cichlids: American Cichlids II, A Handbook for their identification, care and breeding. **Tetra-Verlag**. Melle, Germany, 216, 1985.

TORATI, L.S.; TAGGART, J.B.; VARELA, E.S.; ARARIPE, J.; WEHNER, S.; MIGAUD, H. Genetic diversity and structure in *Arapaima gigas* populations from Amazon and Araguaia-Tocantins river basins. **BMC Genetics**, 20, 1–13. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12863-018-0711-y>

VEIGA, J.R.; NUNES, A.C.B.; SOUZA, E.C.; SANTOS, J.O.S.; AMARAL, J.E.; PESSOA, M.R.; SOUZA, S.A. Projeto Sulfetos de Uatumã. **Relatório Final**. Manaus, DNPM/CPRM, 7, 1979.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, 34(3), 275, 2002.

WELLS, B. K.; RIEMAN, B. E.; CLAYTON, J. L.; HORAN, D. L.; JONES, C. M. Relationships between water, otolith, and scale chemistries of westslope cutthroat trout from the Coeur d'Alene River, Idaho: the potential application of hard-part chemistry to describe movements in freshwater. **Transactions of the American Fisheries Society**, 132(3), 409-424, 2003.

WILLIS, S.C.; WINEMILLER, K.O.; MONTANA, C.G.; MACRANDER, J.; REISS, P.; FARIAS, I.P.; ORTÍ, G. Population genetics of the speckled peacock bass (*Cichla temensis*), South America's most important inland sport fishery. **Conservation genetics**, 16(6), 1345-1357, 2015.