



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

Dissertação

ANÁLISES MORFOMÉTRICAS EM OTÓLITOS DE ESPÉCIES DO
GÊNERO *Cichla* EM RIOS DA BACIA AMAZÔNICA

Marcos de Almeida Mereles

MANAUS- AM
2020



Marcos de Almeida Mereles

Dissertação

ANÁLISES MORFOMÉTRICAS EM OTÓLITOS DE ESPÉCIES DO
GÊNERO *Cichla* EM RIOS DA BACIA AMAZÔNICA

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

Área de Concentração: Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais

Linha de Pesquisa: Ecologia de Recursos Pesqueiros e Ambiente

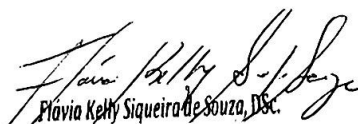
Orientador: Prof. Dr. Carlos Edwar de Carvalho Freitas - UFAM

Coorientador: Prof. Dr. Raniere Garcez Costa Sousa - UNIR

MANAUS – AM
2020

BANCA EXAMINADORA

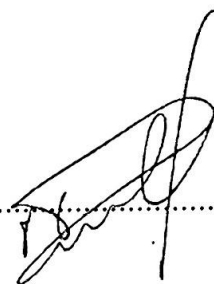
Aprovado em 28 de agosto de 2020




Flavia Kelly Siqueira de Souza, DSc.

Doutor (a) Flávia K. S. Souza
(Presidente)

Doutor (a) Marc POUILLY
(Membro Titular)



Doutor (a) Sidineia A. Amadio
(Membro Titular)

Ciência do Discente: 
(Assinatura)

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M559a

Mereles, Marcos de Almeida

Análises morfométricas em otólitos de espécies do gênero *Cichla* em rios da bacia Amazônica / Marcos de Almeida Mereles. 2020
47 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Carlos Edwar de Carvalho Freitas

Coorientador: Raniere Garcez Costa Sousa

Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Espécies. 2. Morfometria. 3. Otólito. 4. Populações. 5. Tucunaré.
I. Freitas, Carlos Edwar de Carvalho. II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

Dedicatória

*Aos meus pais Oliveira Mereles e Benedita Aparecida,
pela minha criação e nunca terem deixado me faltar nada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder saúde, sabedoria e por nunca ter me desamparado nos momentos de dificuldades e incertezas.

À minha família, em especial a meus pais Oliveira Mereles e Benedita Aparecida de Almeida e irmã Divana Mereles, pela educação e apoio incondicional.

Ao meu orientador Carlos Freitas, pelos ensinamentos e profissionalismo, que irei levar para a vida toda. E por ter me concedido a oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa.

Ao meu coorientador Raniere Garcez, por ter me acompanhado desde a graduação, me incentivando e me mostrando “*os caminhos das pedras*”.

Aos amigos da turma de mestrado do PPGCIPET de 2018 (Diego, Octávio, Raony, Davison, Mikaela, Sara, Liliane, Damy e Gean) e membros do Instituto Piatam, pelos momentos de descontrações e convívio, em especial a Gisellen Mc Comb pela troca de conhecimento durante o processamento dos dados.

Ao Lorenzo Barroco e Caroline Campos pela disponibilização dos seus bancos de dados de otólitos.

Ao Raony Belém pelo auxílio no processamento dos dados e uso do software de análises de formas dos otólitos.

À Chiara Lubich pelo auxílio no tratamento das imagens.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa de estudo durante o mestrado.

À Universidade Federal do Amazonas, pela oportunidade de estudo e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos (PPG-CIPET), pela capacitação profissional.

A todos que contribuirão diretamente e indiretamente para construção do trabalho, meu muito obrigado!

Salmo 23

O Senhor é o meu pastor, nada me faltará

*Salmos de Davi
Bíblia Sagrada*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	9
OBJETIVOS.....	11
Objetivo geral	11
Objetivos específicos.....	11
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO I.....	15
Relações biométricas entre dimensões do corpo e otólito do <i>Cichla temensis</i> Humboldt, 1821 da bacia do médio rio Negro	16
CAPÍTULO II	25
Discriminação de espécies e populações do gênero <i>Cichla</i> através da morfometria otolítica em rios da bacia Amazônica.....	26
CONCLUSÃO	42
SÍNTESE.....	42
REFERÊNCIAS	43

RESUMO

Com a finalidade de aumentar o arcabouço de técnicas que possibilitam o avanço sobre o conhecimento dos parâmetros populacionais das espécies de peixes, o presente estudo utilizou duas abordagens morfométricas empregando técnicas tradicionais (medidas lineares) e geométricas (forma), sobre as espécies do gênero *Cichla*, com o objetivo de estabelecer relações morfométricas entre o corpo e o otólito, e distinguir espécies e populações através da forma do otólito *sagitta*. Para isso, foram amostrados os otólitos *sagittae* das espécies *Cichla temensis*, *C. orinocensis* e *C. monoculus*, coletadas em três rios (rio Negro, rio Uatumã e rio Jatapú) pertencentes à bacia Amazônica. A partir do uso das medidas lineares foram estabelecidas relações entre o corpo e o otólito da espécie *Cichla temensis*. Os modelos de regressão linear para o peso e o comprimento dos otólitos em relação as mesmas dimensões corporais do peixe mostraram fortes correlações, principalmente para a variável peso com um $r^2 = 0,92$, enquanto o comprimento teve um $r^2 = 0,77$. Indicando assim que as dimensões dos otólitos podem ser usadas para estimar o tamanho dos indivíduos da espécie estudada, podendo ser adaptadas também para outras espécies de peixe. Quando avaliado a forma dos otólitos *sagittae* para discriminar espécies e populações de *Cichla*, foram verificadas diferenças entre ambos os grupos. Dentre o grupo das espécies, a forma do otólito *sagitta* do *C. temensis* mostrou ser completamente diferente das espécies *C. monoculus* e *C. orinocensis*. Enquanto no grupo das populações de *C. temensis*, os indivíduos dos rios Negro e Jatapú mostram-se diferentes independente dos métodos utilizados para descrever a forma dos otólitos. As diferenças encontradas na forma do otólito no grupo das espécies podem estar relacionadas diretamente com fatores genéticos, enquanto que a morfologia dos otólitos das populações podem estar sobre influencias das variações ambientais. Esses resultados confirmam a capacidade de diferenciações de espécies e populações através da morfologia dos otólitos, no entanto, são necessários mais estudos para verificar o papel do efeito genético em comparação aos efeitos ambientais e bióticos para esclarecer as diferenças observadas nos otólitos.

Palavras-chave: Espécies, morfometria, otólito, populações, tucunaré.

ABSTRACT

MORPHOMETRIC ANALYSIS IN OTOLITH OF SPECIES OF THE GENUS *Cichla* IN AMAZON BASIN RIVERS. In order to increase the framework of techniques that make it possible to advance the knowledge of the population parameters of fish species, the present study used two morphometric approaches employing traditional techniques (linear measurements) and geometric, on *Cichla* species, with the objective of establishing morphometric relationships between the body and the otolith, and distinguishing species and populations through the shape of the *sagitta* otolith. For this, the *sagittae* otoliths of the species *Cichla temensis*, *C. orinocensis* and *C. monoculus* were sampled, collected in three rivers (Negro river, Uatumã river and Jatapú river) belonging to the Amazon basin. Using linear measurements, relationships were established between the body and the otolith of the species *Cichla temensis*. The linear regression models for the weight and length of the otoliths in relation to the same body dimensions of the fish showed strong correlations, mainly for the variable weight with an $r^2 = 0.92$, while the length had an $r^2 = 0.77$. Thus indicating that the dimensions of the otoliths can be used to estimate the size of the individuals of the species studied, and can also be adapted for other fish species. When assessing the shape of the *sagittae* otoliths to discriminate *Cichla* species and populations, differences were found between both groups. Among the group of species, the shape of the *C. temensis sagitta* otolith proved to be completely different from the species *C. monoculus* and *C. orinocensis*. While in the group of *C. temensis* populations, individuals from the Negro and Jatapú rivers are different regardless of the methods used to describe the shape of the otoliths. The differences found in the shape of the otolith in the group of species can be directly related to genetic factors, while the morphology of the otoliths of the populations can be influenced by environmental variations. These results confirm the ability to differentiate species and populations through the morphology of the otoliths, however, further studies are needed to verify the role of the genetic effect in comparison to the environmental and biotic effects to clarify the differences observed in the otoliths.

Keywords: Species, morphometry, otolith, populations, peacock bass.

INTRODUÇÃO GERAL

Os otólitos são estruturas calcificadas, responsáveis pelo balanço hidrostático e audição em peixes teleósteos, divididos em três pares *sagittae*, *asteriscus* e *lapillus* (PANFILI et al., 2002; WORTHMANN, 1979). Essas estruturas se situam no ouvido interno dos peixes dentro de três câmaras, denominadas sáculo (*sagittae*), lagena (*asteriscus*) e utrículo (*lapillus*) (PANFILI et al., 2002). São formados pela adição de camadas sequenciais de carbonato de cálcio (CaCO₃) cristalizado na forma de aragonita e de uma proteína fibrosa semelhante ao colágeno (otolina), além de outros elementos químicos que são depositados durante a vida dos peixes (RÉ, 1994; WALTHER; THORROLD, 2006).

Essas estruturas fornecem diversas informações que permitem estudar a dinâmica e a história de vida dos peixes (MORALES-NIN, 1992; AVIGLIANO; VOLPEDO, 2016). Ao longo do desenvolvimento dos otólitos são formados anéis concêntricos, que associados às variações ambientais permitem se estimar a idade dos peixes, principalmente em regiões de climas temperados, onde há uma variação definida entre as épocas do ano (inverno e verão), que refletem nos anéis e ficam mais evidentes essas demarcações (VIEIRA; HAIMOVICI, 1993; ANDRADE et al., 2004). Já em ambientes tropicais, onde a variação entre as épocas do ano é pouco expressiva, as marcações nos otólitos estão associadas à sazonalidade do ciclo hidrológico dos rios, tais como: enchente, cheia, vazante e seca. As marcações mais evidentes (zonas opacas) ocorrem em consequência ao estresse ocasionado pela migração reprodutiva e consequente desova, e pela diminuição do ritmo do crescimento dos peixes, principalmente no período de cheia dos rios (CUTRIM; BATISTA, 2005).

Atualmente o uso da forma dos otólitos tem se mostrado uma ferramenta importante para identificação de espécies de peixes, devido a sua especificidade em cada grupo de animais (STRANSKY et al., 2008; VOLPEDO; VAZ-DOS-SANTOS, 2015). Alguns autores evidenciaram que a forma dos otólitos apresenta variações entre indivíduos da mesma espécie, permitindo assim a identificação de estoques e populações (AGUIRRE; LOMBARTE, 1999; LYCHAKOV; REBANE, 2000). Além disso, por meio das dimensões dos otólitos é possível estimar o comprimento e o peso dos peixes de forma retrospectiva (WAESSLE et al., 2003) e em algumas espécies é possível aferir a idade por meio do peso do otólito, devido à alta correlação entre esses parâmetros (CARDINALE; ARRHENIUS, 2004; LEPAK et al., 2012).

Os primeiros estudos com a morfologia dos otólitos foram realizados utilizando medidas lineares (morfometria tradicional), obtidas a partir de uma projeção ortogonal do otólito sem levar em conta sua forma, que pode ser muito pronunciada em alguns grupos de

peixes (STRAUSS; BOOKSTEIN, 1982). Com a revolução das técnicas de análise de imagem e métodos morfométricos na década de 1990, a partir da introdução de conceitos geométricos de forma e tamanho, permitiu o uso de dados provenientes de contornos e pontos com correspondência biológica (landmarks), para determinar a forma dos otólitos (BOOKSTEIN, 1990).

Entre os métodos utilizados para a determinação da forma de objetos estão os marcos anatômicos, que quantificam a variação de forma através de coordenadas cartesianas dos pontos de referência, unificando a uma teoria estatística com procedimentos analíticos para sobrepor configurações de pontos de referência dos indivíduos analisados em um sistema de coordenadas comum (CADRIN; FRIEDLAND, 1999). No entanto, em estruturas como os otólitos que possuem poucos pontos biológicos para classificação, é recomendado o uso de método de contorno, que buscam a decomposição da forma através de funções trigonométricas ou outras funções que representem as coordenadas lineares, como polinômios e séries de Fourier (CADRIN; FRIEDLAND, 1999). Novos descritores de forma com base em índices relativos propostos por Russ (1990), também permitiram delinear bem a forma dos otólitos das espécies de peixes (TUSET et al., 2003)

Esses métodos possibilitaram um aumento considerável na qualidade das informações biológicas extraídas dos otólitos e têm sido amplamente aplicadas em ambientes marinhos para identificação de espécies (FORTUNATO; DURÀ; VOLPEDO, 2014) e estoques pesqueiros (MACHUCA; CERNA; MUNOZ, 2019). Devido a dificuldade de recuperar informações e lidar com dados de um grande número de otólitos, Lombarte et al. (2006) desenvolveram um banco de dados on-line (<http://aforo.cmima.csic.es>), contendo informações morfométricas completas e identificação de espécies através de análise de formas dos otólitos, utilizando descritores matemáticos através de imagens digitalizadas, aplicado principalmente em espécies de ambientes marinhos. No entanto, a aplicação da forma dos otólitos em ambientes continentais ainda é incipiente, principalmente na bacia amazônica, onde os estudos que utilizam os otólitos estão voltados em sua maioria para análises de crescimento (HOLLEY et al., 2008; CAMPOS et al., 2015) e análises microquímica (POUILLY et al., 2014; HEGG et al., 2015; SOUSA et al., 2016; HERMANN et al., 2016; DUPONCHELLE et al., 2016).

Entre os recursos pesqueiros importantes para as pescarias em regiões amazônicas estão as espécies do gênero *Cichla*, que ocorrem naturalmente em rios de água preta, clara ou branca da bacia (WINEMILLER et al., 2008). Sendo comumente encontradas em ambientes amazônicos as espécies *Cichla orinocensis* Humbolt, 1821; *C. monoculus* Spix e Agassiz, 1831 e *C. temensis* Humbolt, 1821. Estas espécies são muito procuradas nas pescarias esportiva e

comercial (HOLEY et al., 2008), principalmente na região do médio rio Negro, o que tem causado sérios conflitos entre os usuários, devido ao uso comum desse recurso (THOMÉ-SOUZA et al., 2014). Além disso, essas espécies desempenham papéis ecológicos importantes nos ambientes aquáticos, associados ao seu hábito de piscivoria, o que regula as cadeias tróficas pelo efeito *top-down* (JEPSEN et al., 1999).

Nesse contexto, o presente estudo propôs avaliar duas abordagens morfométricas, com o uso de técnicas tradicionais e geométricas para: i) verificar as relações morfométricas entre as dimensões do corpo e otólito, ii) e a capacidade da forma do otólito *sagitta* para distinguir espécies e populações de *Cichla*. Espera-se que os resultados dessas abordagens, possam contribuir para o estabelecimento de estratégias de gestão dos estoques de tucunarés explorados pelas pescarias na região Amazônica.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar as relações morfométricas dos otólitos *sagittae* com o corpo dos peixes e a capacidade de distinção de espécies e populações do gênero *Cichla* por meio da forma dos otólitos em rios da bacia Amazônica.

Objetivos específicos

1. Estabelecer relações morfométricas entre os otólitos e corpo dos indivíduos da espécie *Cichla temensis*; (Cap. 1)
2. Verificar se existe diferença na forma do otólito entre três populações de *Cichla temensis* de diferentes rios da bacia Amazônica; (Cap. 2)
3. Verificar se a forma do otólito *sagitta* pode ser utilizada para discriminar três espécies de *Cichla* spp.; (Cap. 2)

ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação está dividida em dois capítulos que se encontram em formato de artigos científicos. O primeiro se encontra publicado na revista *Scientia Amazonia* e o outro formatado conforme as normas do programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos. O primeiro capítulo se refere às relações morfométricas entre as dimensões do otólito com o corpo dos indivíduos da espécie *C. temensis*. O segundo capítulo emprega a morfologia dos otólitos para distinguir espécies do gênero *Cichla*: *C. temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*, do médio rio Negro (Amazonas – Brasil) e populações de *C. temensis* de diferentes rios da bacia Amazônica.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, H.; LOMBARTE, A. Ecomorphological comparisons of sagittae in *Mullus barbatus* and *M. surmuletus*. **Journal of Fish Biology**, v. 55, n. 1, p. 105–114, 1999. DOI: 10.1006/jfbi.1999.0974.
- ANDRADE, H. A.; DUARTE-PEREIRA, M.; ABREU-SILVA, J. L. Idade e crescimento da abrótea (*Urophycis brasiliensis*) capturada no sul do Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 107-117, 2004.
- BOOKSTEIN, F. L. Introduction to methods for landmark data. In: **Proceedings of the Michigan morphometrics workshop**. Ann Arbor: The University of Michigan Museum of Zoology, 1990. p. 215-226.
- CADRIN, S. X.; FRIEDLAND, K. D. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. **Fisheries Research**, v. 43, n. 1–3, p. 129–139, 1999.
- CAMPOS, C. P.; FREITAS, C. E. C.; AMADIO, S. Growth of the *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae) from the middle rio Negro, Amazonas, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 2, p. 413-420, 2015.
- CARDINALE, M.; DOERING-ARJES, P.; KASTOWSKY, M.; MOSEGAARD, H. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 61, n. 2, p. 158–167, 2004. DOI: 10.1139/f03-151.
- CUTRIM, L.; BATISTA, V. S. Determinação de idade e crescimento do mapará (*Hypophthalmus marginatus*) na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 1, p. 85-92, 2005.
- DUPONCHELLE, F.; POUILLY, M.; PECHEYRAN, C.; HAUSER, M.; RENNO, J. F.; PANFILI, J.; DARNAUDE, A. M.; GARCÍA-VASQUEZ, A.; CARVAJAL-VALLEJOS, F.; GARCIA-DAVILA, C.; DORIA, C.; BÉRAIL, S.; DONARD, A.; SONDAG, F.; SANTOS, R.V.; NUÑEZ, J.; POINT, D.; LABONNE, M.; BARAS, E. Trans-Amazonian natal homing in giant catfish. **Journal of Applied Ecology**. v. 53, p. 1511-1520, 2016.
- FORTUNATO, R. C.; DURÀ, V. B.; VOLPEDO, A. The morphology of saccular otoliths as a tool to identify different mugilid species from the Northeastern Atlantic and Mediterranean Sea. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 146, p. 95-101, 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. e0129697, 2015. DOI: dx.doi.org/10.1101/018671

- 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.
- HOLLEY, M. H.; MACEINA, M. J.; THOME-SOUZA, M.; FORSBERG, B. R. Analysis of the trophy sport fishery for the speckled peacock bass in the Rio Negro River, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v. 15, n. 2, p. 93-98, 2008.
- JEPSEN, D. B.; WINEMILLER, K. O. E TAPHORN, D. C. Age structure and growth of peacock cichlids from rivers and reservoirs of Venezuela. **Journal of Fish Biology**, v. 55, n. 2, p. 433-450, 1999.
- LEPAK, J. M.; CATHCART, C. N.; HOOTEN, M.B. Otolith mass as a predictor of age in kokanee salmon (*Oncorhynchus nerka*) from four Colorado reservoirs. **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, v. 69, n. 10, p. 1569-1575, 2012.
- LOMBARTE, A.; Ò. CHIC.; PARISI-BARADAD, V.; OLIVELLA, R.; PIERA, J.; GARCÍA-LADONA, E. A web-based environment for shape analysis of fish otoliths. The AFORO database. **Scientia Marina**, v. 70, n. 1, p. 147-152, 2006.
- LYCHAKOV, D. V; REBANE, Y. T. Otolith regularities. **Hearing research**, v. 143, n. 1–2, p. 83–102, 2000.
- MACHUCA, C.; CERNA, F.; MUNOZ, L. Stocks identification of *Engraulis ringens* in Chile by otolith morphometric. **REVISTA DE BIOLOGIA MARINA Y OCEANOGRAFIA**, v. 54, n. 1, p. 144-149, 2019.
- PANFILI, P. H.; TROADEC, H.; WRIGHT P. J. **Manual of fish sclerochronology**. Brest, France: Ifremer-IRD coedition, (eds), 2002. 464 p.
- POUILLY, M.; POINT, D.; SONDAG, F.; HENRY, M.; SANTOS, R. V. 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, n. 16, p. 8980-8987, 2014. DOI: dx.doi.org/10.1021/es500071w
- RÉ, P. Anéis diários de crescimento nos otólitos dos estados larvares dos peixes: perspectivas em biologia pesqueira. **Professor Germano da Fonseca Sacarrão**, p. 97-124, 1994.
- RUSS, J. C. **Computer microscopy: the measurement and analysis of images**. New York: Plenum Press, 1990.
- 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.
- STRANSKY, C.; MACLELLAN, S. E. Separação de espécies e zoogeografia de cantarilho e peixe-rock (gênero *Sebastes*) por análise de forma de otólito. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 62, n. 10, p. 2265-2276, 2005.
- STRAUSS, R. E.; BOOKSTEIN, F. L. The truss: body form reconstructions in morphometrics. **Systematic Biology**, v. 31, n. 2, p. 113-135, 1982.
- THOMÉ-SOUZA, M. J.; MACEINA, M. J.; FORSBERG, B. R.; MARSHALL, B. G.; CARVALHO, Á. L. Peacock bass mortality associated with catch-and-release sport fishing in the Negro River, Amazonas State, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 4, p. 527-532, 2014.
- TUSET, V. M.; LOZANO, I. J.; GONZÁLEZ, J. A.; PERTUSA, J. F.; GARCÍA-DÍAZ, M. M. Sh13rincipices to identify regio13rincipiosnces in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 19, n. 2, p. 88–93, 2003. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2003.00344.x.
- VIEIRA, P. C.; HAIMOVICI, M. Idade e crescimento da pescada-olhuda *Cynoscion striatus* (Pisces, Sciaenidae) no sul do Brasil. **Atlântica, Rio Grande**, v. 15, p. 73-91, 1993.
- VOLPEDO, A. V.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M. Métodos dios con otolitos: principios y aplicaciones. **Ciudad Autónoma de Buenos Aires: INPA CONICET UBA**, 2015.

WALTHER B. D.; THORROLD S. R. Water, not food, contributes the majority of strontium and barium deposited in the otoliths of a marine fish. **Marine Ecology Progress Series**, v. 311, p. 125-130, 2006.

WINEMILLER, K. O.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H.; TAPHORN, D. C.; NICO, L. G.; DUQUE, A. B. Fish assemblages of the Casiquiare River, a corridor and zoogeographical filter for dispersal between the Orinoco and Amazon basins. **Journal of Biogeography**, v. 35, n. 9, p. 1551-1563, 2008.

WORTHMANN, H. A relação entre o desenvolvimento do otólito e o crescimento do peixe como auxílio na distinção de populações de Pescada (*Plagioscion squamosissimus*). **Acta Amazonica**, v. 9, n. 3, p. 573-586, 1979.

CAPÍTULO I

MERELES, M. A.; SOUZA, R. G. C.; LUBICH, C. C. F.; FREITAS, C. E. C. Relações biométricas entre as dimensões do corpo e otólitos de *Cichla temensis* Humboldt de 1821 da bacia do médio rio Negro. **Scientia Amazonia**, v. 9, p. 1-10, 2020.

Relações biométricas entre dimensões do corpo e otólito do *Cichla temensis* Humboldt, 1821 da bacia do médio rio Negro

Marcos de Almeida Mereles¹, Raniere Garcez Costa Sousa², Chiara Lubich Cardoso Furtado³, Carlos Edwar de Carvalho Freitas⁴

Resumo

No intuito de aumentar o arcabouço de técnicas que possibilitam o avanço do conhecimento sobre os parâmetros populacionais das espécies de peixes, o presente estudo teve como objetivo testar medidas biométricas do otólito como preditor do tamanho corporal do *Cichla temensis*. As coletas dos peixes ocorreram no mês de abril de 2019, através de pescarias experimentais na bacia do médio rio Negro. Um total de 30 tucunarés foram capturados, desses foram retirados os pares de otólitos *sagitta* e mensurados os parâmetros biométricos (peixes e otólitos), utilizados para estimar os valores dos modelos de regressão. Os peixes exibiram comprimentos que variaram de 24 cm a 66 cm (40,43 cm \pm 12,95) e pesos de 226 g a 6470 g (1819 g \pm 1734,48), enquanto os otólitos apresentaram para as mesmas dimensões os valores de 0,51 cm a 1,41 cm (0,81 cm \pm 0,21) e 0,01 g a 0,24 g (0,08g \pm 0,06), respectivamente. A relação peso-comprimento exibiu forte correlação com $r^2 = 0,99$ e um crescimento alométrico positivo ($b = 3,28$). Os modelos de regressão linear para o peso e comprimento dos otólitos em relação as mesmas dimensões corporais dos tucunarés mostraram fortes correlações, principalmente para a variável peso com um $r^2 = 0,92$, enquanto o comprimento teve um $r^2 = 0,77$. Indicando assim que as dimensões dos otólitos podem ser usadas para estimar o tamanho dos indivíduos da espécie estudada, podendo ser adaptadas para outras espécies, constituindo um instrumento importante para o manejo pesqueiro.

Palavras-Chave: morfometria, peixe, *sagitta*, tucunaré.

Biometric relations between body dimensions and otolith of *Cichla temensis* Humboldt, 1821 of the middle Negro river basin. In order to increase the framework of techniques that allow the advance of knowledge on population parameters of fish species, the present study aimed to test otolith biometric measurements as a predictor of body size of *Cichla temensis*. Fish were collected in April 2019 through experimental fisheries in the middle rio Negro basin. A total of 30 peacock bass were captured, from these the *sagitta* otolith pairs were removed and biometric parameters (fish and otoliths) were used to estimate the values of the regression models. The fish exhibited lengths ranging from 24 cm to 66 cm (40.43 cm \pm 12.95) and weights of 226 g to 6470 g (1819 g \pm 1734.48), while otoliths showed values of 0.51 cm to 1.41 cm (0.81 cm \pm 0.21) and 0.01 g to 0.24 g (0.08g \pm 0.06), respectively. The weight-length ratio showed a strong correlation with $r^2 = 0.99$ and positive allometric growth ($b = 3.28$). Linear regression models for the weight and length of otoliths in relation to the same body dimensions of peacock bass showed strong correlations, especially for the weight variable with an $r^2 = 0.92$, while the length had an $r^2 = 0.77$. Thus indicating that the dimensions of the otoliths can be used to estimate the size of the individuals of the studied species, and can be adapted to other species, constituting an important instrument for fisheries management.

Key-words: morphometry, fish, *sagitta*, peacock bass.

¹Mestrando em Ciências Pesqueiras no Trópicos, UFAM, Manaus, AM, Brasil. marcos.mdam@hotmail.com

²Professor titular, Depto de Engenharia de Pesca, UNIR, Presidente Médici, RO, Brasil, ranieregarcez@unir.br

³Mestranda em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Manaus, AM, Brasil, lubichchiara@gmail.com

⁴Professor titular, Depto de Ciências Pesqueiras, UFAM, Manaus, AM, Brasil, freitasc50@gmail.com

1. Introdução

Dentre as espécies de tucunaré comumente encontradas na bacia do médio rio Negro está o *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (KULLANDER; FERREIRA, 2006). Essa espécie tem sido considerada de grande importância para as pescarias, principalmente para a pesca esportiva (FREITAS; RIVAS, 2006; WILLIS *et al.*, 2015), que durante as temporadas de pesca atraem entre 1400 a 1800 pescadores, movimentando aproximadamente US\$ 5 milhões nas cidades e comunidades locais (HOLLEY *et al.*, 2008). No entanto, esse recurso pesqueiro divide o interesse com outras modalidades de pesca, a exemplo da pesca comercial, que registram nos desembarques o tucunaré como uma das cinco espécies mais desembarcadas na região (INOMATA; FREITAS, 2015), de forma que a procura por indivíduos do gênero *Cichla* tem gerado sérios conflitos entre os usuários (FREITAS; RIVAS, 2006; THOMÉ-SOUZA *et al.*, 2014).

Além da importância econômica, o *C. temensis* exerce também papel ecológico de grande relevância, como predador de topo de cadeia, regulando a biota de diversos ambientes aquáticos (JEPSEN, 1999). Contudo, essa espécie pode ser vulneráveis à sobrepesca, podendo resultar em efeitos de cascata nas teias tróficas dos ambientes aquáticos da região (WINEMILLER, 2001; WILLIS *et al.*, 2015). Dessa forma, para desenvolver diretrizes de manejo mais eficazes para o processo de gestão da pesca sobre as populações de *C. temensis*, é necessário aumentar o conhecimento de parâmetros populacionais dessa espécie, principalmente no médio rio Negro, devido as diversas atividades de pesca que utilizam esse recurso de uso comum (THOMÉ-SOUZA *et al.*, 2014).

Estudos sobre a biologia pesqueira, incluindo identificação e delimitação de estoques (CASATTI *et al.*, 2001; CORRÊA *et al.*, 2012), crescimento e avaliação de estoque (SANT'ANNA *et al.*, 2014) e relação peso-comprimento (SILVA *et al.*, 2015), fornecem informações importantes que auxiliam no manejo sustentável das pescarias. No entanto, estas estratégias não tem sido suficientes para compreender a história de vida desses animais.

Atualmente, pesquisas tem mostrado que o uso de estruturas calcificadas em peixes, como

otólitos, tem se apresentado como um instrumento eficaz para o entendimento da dinâmica das populações de peixes (GARCEZ *et al.*, 2014; POUILLY *et al.*, 2014; HEGG *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2016; HERMANN *et al.*, 2016; DUPONCHELLE *et al.*, 2016; HAUSER *et al.*, 2018). Os otólitos (*sagitta*, *astericus* e *lapillus*) são conhecidos como uma das estruturas anatômicas importantes dos peixes, devido ao crescimento acrescionário e à forma específica dessas estruturas em cada espécie (WORTHMANN, 1979; PANFILI *et al.*, 2002). Essas estruturas são responsáveis pelo balanço hidrostático e audição em peixes teleosteos, formados por carbonato de cálcio (CaCO₃) cristalizado na forma de aragonita e de uma proteína fibrosa (otolina), além de outros compostos químicos que são depositados ao longo da vida dos peixes (RÉ, 1994; WALTHER; THORROLD, 2006). Os otólitos são estruturas conservativas, uma vez que o material que os compõem não são reabsorvidos ou alterados com o tempo, sendo quimicamente (metabolicamente) inertes (VOLPEDO; VAZ-DOS-SANTOS, 2015).

Geralmente, os otólitos são utilizados para determinar a idade dos peixes, através da contagem de anéis concêntricos formados ao longo da vida (VIEIRA; HAIMOVICI, 1993; ANDRADE *et al.*, 2004; CUTRIM; BATISTA, 2005). Atualmente técnicas avançadas como microcirurgia otolítica tem sido aplicada para desvelar aspectos do ciclo de vida das espécies de peixes (GARCEZ *et al.*, 2014). No entanto, essas análises são de alto custo e dependem de equipamentos sensíveis (MARTINELLI *et al.*, 1998). Assim, uma maneira mais simples e acessível de obter informações sobre uma população e/ou estoque de peixes é proceder com medições de comprimento e peso do otólito, para estudos comparativos de suas formas.

Estudos acerca da morfometria de otólitos tem se mostrado uma ferramenta importante para identificação de populações (STRANSKY *et al.*, 2008; VOLPEDO; VAZ-DOS-SANTOS, 2015) e determinação da identidade de presas de peixe em estudos de alimentação de espécies piscívoras (TARKAN *et al.*, 2007). Além disso, as dimensões do otólito permitem estimar comprimento e peso dos peixes de forma

retrospectiva (WAESSLE *et al.*, 2003) e em algumas espécies é possível aferir a idade através do peso do otólito, devido à alta correlação entre esses parâmetros (CARDINALE; ARRHENIUS, 2004; LEPAK *et al.*, 2012).

Dessa forma, os otólitos podem fornecer diversas informações que possibilitam estudar a dinâmica e a história de vida dos peixes (MORALES-NIN, 1992; AVIGLIANO;

VOLPEDO, 2016). No entanto, são poucos os estudos realizados com a morfometria de otólitos, e os trabalhos existentes em sua maioria são voltados para as espécies de ambientes marinhos. Diante disso, o presente estudo tem por objetivo fornecer informações basais sobre as relações entre as dimensões dos otólitos e dimensões do corpo do *C. temensis*, avaliando uma forma alternativa de estimar comprimento e o peso dos peixes.

2. Material e Método

Área de estudo

Os espécimes de *C. temensis* foram coletados em quatro tributários pertencentes a bacia do médio Rio Negro, no trecho localizado

entre os municípios de Santa Isabel do rio Negro e Barcelos, no estado do Amazonas (Figura 1).

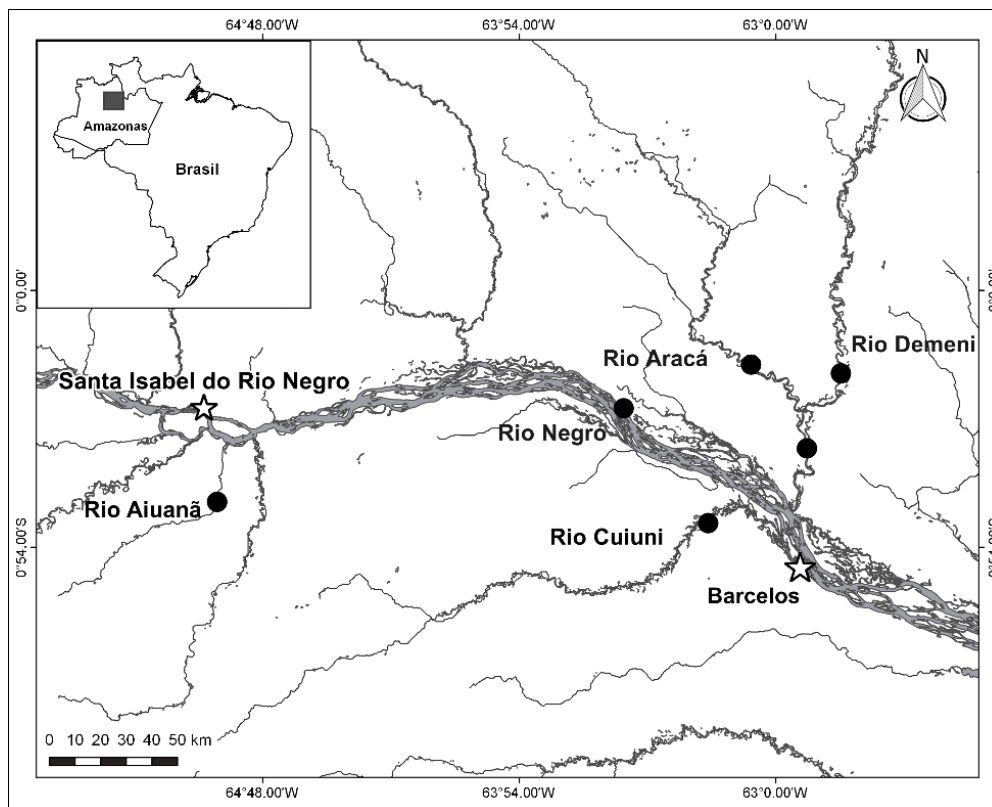


Figura 1. Localização dos pontos de amostragem de *C. temensis* na bacia do médio rio Negro

Coleta de dados

As coletas dos indivíduos de *C. temensis* foram realizadas por meio de pescarias experimentais, utilizando molinete, carretilha e rede de emalhe em cinco localidades, distribuídas no canal principal do rio Negro e em seus tributários (rios Aracá, Demeni, Cuiuni

e Aiuanã) (Figura 1). As amostragens ocorreram no período de águas baixas, abril de 2019, sob o protocolo de licença 25606-2 do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBio.

Os indivíduos capturados foram submetidos a eutanásia, através do método de secção de medula espinhal, conforme o Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados, (2012). Posteriormente os peixes foram acondicionados em caixas de isopor com gelo para serem processados ainda em campo. Esses procedimentos foram realizados mediante a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amazonas (CEUA/UFAM) sob o N. 046/2018.

De cada peixe capturado, foram tomadas medidas de comprimento padrão e o peso total, por meio de um ictiômetro e balança de precisão

(0,001g), respectivamente. Os otólitos *sagitta*, maiores dentre as espécies de Ciclídeos (CUTRIM; BATISTA, 2005), foram removidos em pares e armazenados em tubos de eppendorf, rotulados para serem processados em laboratório. No Laboratório de Ecologia Pesqueira da UFAM (LABEP), foram mensurados o comprimento dos otólitos, através do software ImageJ, versão 1.52j e o peso do otólito, com uma balança eletrônica de precisão (Bioprecisa JA3003; 0,0001 g). O comprimento do otólito foi considerado como a maior distância entre as bordas anterior e posterior (Figura 2).

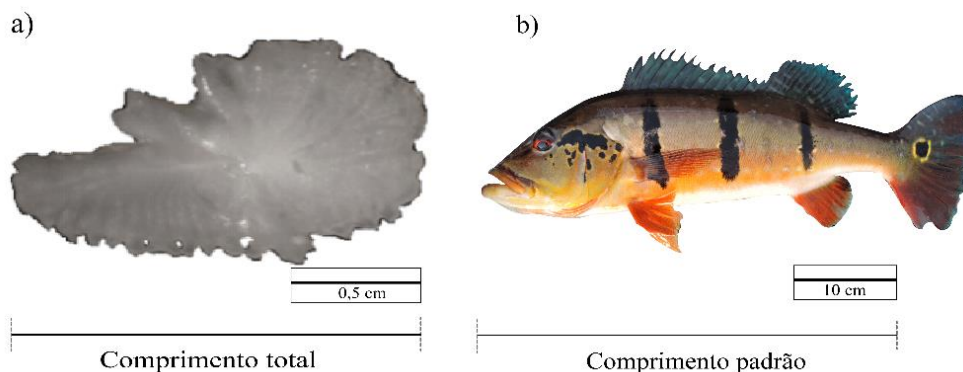


Figura 2. Estrutura de um otólito *sagitta* (a), retirado de um tucunaré-açu *Cichla temensis* (b).

Analises dos dados

Foram utilizados análises descritivas para cálculos de frequência, média e desvio padrão. A relação peso-comprimento dos peixes, foi determinada por estimativa não linear usando o algoritmo Levenberg-Marquardt, através da equação: $P = a.C^b$ onde, P = peso total; C = comprimento padrão; a = coeficiente angular e b = coeficiente alométrico (LE CREN, 1951). A hipótese de crescimento isométrico (b = 3) foi testada com o teste *t* de Student (ZAR, 2010). Também foi empregado o teste *t* de Student para amostras independentes, para verificar a existência de diferenças entre as dimensões do lado esquerdo e direito do otólito. Posteriormente foi realizado a relação entre o tamanho do otólito (comprimento e peso) com o tamanho do peixe (comprimento padrão e peso total), determinada através do modelo de regressão linear ($y = a + bx$) (ZAR, 1984). A

concordância entre as dimensões dos otólitos e dos corpos dos peixes, foram verificadas com o coeficiente de determinação (r^2). Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade foram testados pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R 3.6.1 (R Core Team, 2019), considerando $p < 0,05$ como nível de significância.

3. Resultados

Foram coletados 30 indivíduos de *Cichla temensis*, com amplitude de variação do comprimento padrão de 24 cm a 66 cm ($40,43 \text{ cm} \pm 12,95$) e peso de 226 g a 6470 g ($1819 \text{ g} \pm 1734,48$). A relação de peso e comprimento apresentou um valor de coeficiente alométrico (b) de 3,283 indicando alometria positiva (teste *t*, $p = 0,00007$) (Figura 3).

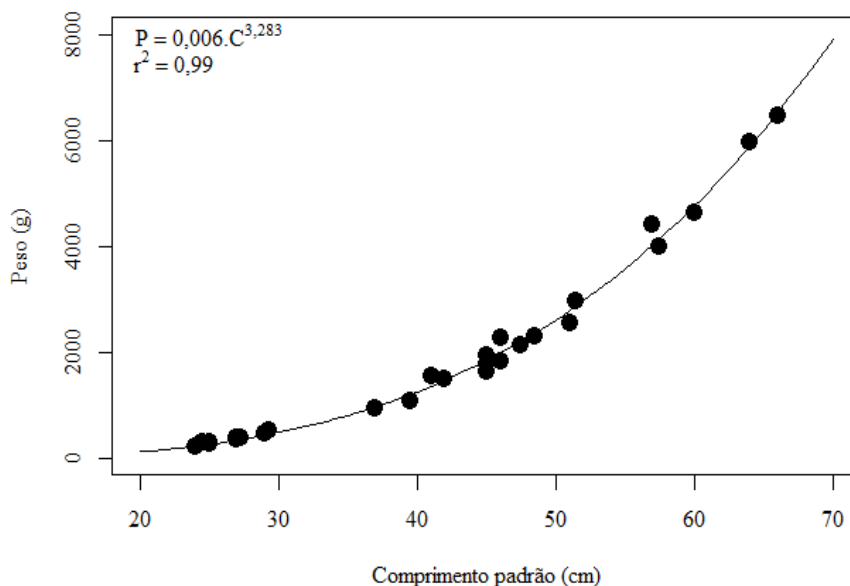


Figura 3. Relação peso-comprimento do *C. temensis* com o valor do coeficiente de determinação (r^2) e a equação correspondente

Os otólitos apresentaram comprimento e peso variando de 0,51 cm a 1,41 cm e 0,01 g a 0,24 g, respectivamente, onde o teste *t* mostrou que não houveram diferenças entre as dimensões dos lados esquerdo e direito dos

otólitos ($p > 0,05$), em consequência, foi utilizado apenas o otólito do lado direito de cada peixe para estimação dos parâmetros das equações de regressão (Tabela 1).

Tabela 1. Teste *t* de Student das medidas biométricas dos otólitos direito (D) e esquerdo (E) dos espécimes de *C. temensis*.

Parâmetros	Mínimo	Máximo	Média ± DP	gl	t-value	p
Peso (g) D	0,02	0,21	0,08 ± 0,05	58	-0,04	0,96
Peso (g) E	0,01	0,24	0,08 ± 0,06			
Comprimento (cm) D	0,57	1,41	0,81 ± 0,21	58	-0,47	0,63
Comprimento (cm) E	0,51	1,41	0,79 ± 0,20			

Onde: gl = grau de liberdade, p = valor estatístico

As regressões lineares dos comprimentos e pesos dos otólitos *sagitta* em relação aos comprimentos padrão e pesos dos *C. temensis*, mostrou-se uma relação linear positiva,

apresentando altos valores do coeficiente de determinação, indicando que o modelo de regressão se ajustou bem aos dados (Figura 4).

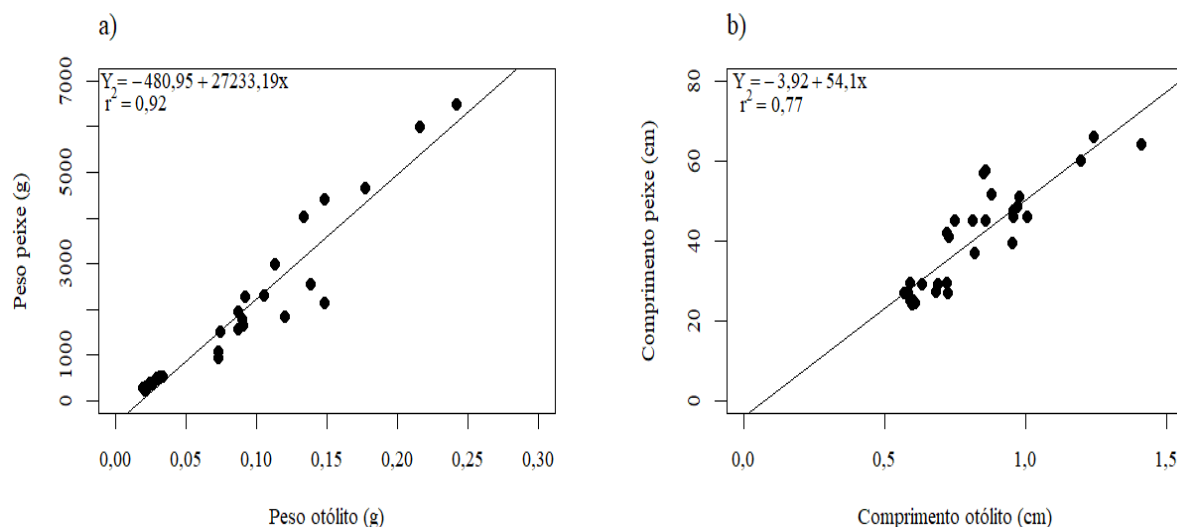


Figura 4. Relação do peso do otólito com o peso dos tucunarés (a); e (b) relação do comprimento do otólito em relação ao comprimento padrão dos *C. temensis*.

4. Discussão

O *C. temensis* alcança maiores tamanhos entre seus congêneres, podendo chegar a mais de 80 cm de comprimento e 11,0 kg (WINEMILLER *et al.*, 1997). Sendo este um dos motivos pelo qual é muito procurado entre os pescadores esportivos, além de sua voracidade no ataque às iscas artificiais (HOLLEY *et al.*, 2008). No presente estudo o maior exemplar registrado foi de 66 cm de comprimento com peso de 6.470 g, ficando próximo ao crescimento máximo teórico de $L_{\infty} = 68,05$ cm e superior ao peso máximo teórico $W_{\infty} = 5.037,63$ g estimado para essa espécie na mesma região de estudo (CAMPOS; FREITAS, 2015; CAMPOS *et al.*, 2019).

A variação do peso corporal foi explicada por 99% em relação ao comprimento. Padrão semelhante foi encontrado para populações de *C. temensis* do rio Uatumã, onde os indivíduos apresentaram uma alta correlação ($r^2 = 0,93$) do comprimento e peso (FREIRE; FREITAS, 2013).

Quando analisado o coeficiente alométrico da relação peso-comprimento, verificou-se um crescimento alométrico positivo ($b > 3$). Esse mesmo padrão foi evidenciado para populações de *C. temensis* da bacia do rio Orinoco (MONTAÑA *et al.*, 2007) e da Amazônia Central (TAVARES-DIAS, 2011). No entanto, Freire e Freitas (2013) encontraram o coeficiente de alometria $b = 3,037$, tendendo a um crescimento isométrico para o *C. temensis*

no reservatório de Balbina, bacia do rio Uatumã, sugerindo assim, que esses indivíduos podem ter padrões de crescimento distintos para regiões diferentes.

Os valores do coeficiente alométrico para peixes podem variar entre 2,5 a 4,0, mas geralmente encontram-se em torno de 3,0 (LE CREN, 1951). No presente estudo, os indivíduos coletados apresentaram crescimento do tipo alométrico positivo ($b > 3$) indicando que houve um incremento em peso maior do que em comprimento. Em outras situações, quando o valor de (b) é menor que 3,0 o crescimento é alométrico negativo, com o incremento em peso mais acentuado que em comprimento e ser for igual a 3,0 a espécie tem um crescimento isométrico, onde o peso aumenta proporcionalmente ao comprimento (FROESE, 2006).

As relações biométricas entre as medidas dos otólitos e peixes, exibiu um melhor ajuste para a variável peso, com um coeficiente de determinação de $r^2 = 0,92$. Isso implica que através do peso dos otólitos é possível prever com 92% de precisão o peso da espécie em estudo. Da mesma forma o comprimento dos peixes foi explicado por 77% da variação do comprimento do otólito. Esses resultados corroboram com Piah *et al.*, (2017) os quais constataram que o peso do otólito é o indicador mais preciso das medidas biométricas dos peixes, em comparação com o comprimento e largura. Por outro lado, Gomiero e Braga (2007) avaliando comprimento dos otólitos em função

do comprimento dos peixes, em estudo com espécies do mesmo gênero encontraram uma alta relação para o *Cichla monoculus* ($r^2 = 0,86$) e *Cichla* sp. ($r^2 = 0,92$) no reservatório da hidrelétrica de volta grande-Minas Gerais. Segundo Aydin *et al.*, (2004), ocorre uma relação linear mais forte entre o comprimento do peixe e a dimensão do otólito em peixes mais jovens do que nos peixes mais velhos, devido ao fato de que o comprimento do otólito está linearmente relacionado ao comprimento do peixe até que atinja o tamanho máximo, a partir de então o otólito aumenta apenas em espessura, contribuindo assim para o maior aumento em peso.

De forma geral, as dimensões dos otólitos constituem um importante conjunto de descritores do desenvolvimento dos peixes (GOMIERO; BRAGA, 2007; VAZ-DOS-SANTOS *et al.*, 2007). Pelo exposto no presente estudo, essa técnica pode ser utilizada como uma alternativa para estimar a biomassa e o tamanho dos peixes de uma determinada

população, mesmo quando em complexas mudanças em suas feições morfológicas. Assim auxiliando em estudos de análises de conteúdo estomacal de peixes, pássaros e mamíferos que são piscívoros, de forma que o tamanho dos peixes ingeridos pode ser deduzido com base nos otólitos.

5. Conclusão

Os resultados obtidos das relações morfométricas entre os otólitos e o corpo de *C. temensis*, podem ser aplicadas como metodologia funcional para se estimar o tamanho e a biomassa de cada indivíduo a partir das dimensões dos otólitos *sagitta*. Diante disso, essa técnica mostra-se eficaz para a avaliação e manejo dos estoques de tucunarés do médio rio Negro, podendo ser ajustada também para outras espécies de peixes amazônicos.

Agradecimentos

Ao programa de pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos - PPG-CIPET pela oportunidade de realização do presente estudo, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa de estudo e à Universidade Federal do Amazonas-UFAM por ceder as instalações laboratoriais para realização das análises biológicas.

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

- AYDIN, R.; CALTA, M.; SEN, D.; COBAN, M. Z. Relationships between fish lengths and otolith length in the population of *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843) inhabiting Keban Dam Lake. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 9, p. 1550-1553, 2004.
- AVIGLIANO, E.; VOLPEDO, A. V. A Review of the Application of Otolith Microchemistry Toward the Study of Latin American Fishes. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**. v. 24, n. 4, p. 369-384, 2016. <http://dx.doi.org/10.1080/23308249.2016.1202189>
- CAMPOS, C. P.; CATARINO, M. F.; FREITAS, C. E. C. Stock assessment of the peacock bass *Cichla temensis* (Humboldt, 1821), an important fishing resource from the middle Negro river, Amazonas, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, n. AHEAD, 2019.
- CARDINALE, M.; ARRHENIUS, F. Using otolith weight to estimate the age of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*): a tree model application. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 20, n. 6, p. 470-475, 2004.
- CUTRIM, L.; BATISTA, V. S. Determinação de idade e crescimento do mapará (*Hypophthalmus marginatus*) na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 1, p. 85-92, 2005.



DUPONCHELLE, F.; POUILLY, M.; PECHEYRAN, C.; HAUSER, M.; RENNO, J. F.; PANFILI, J.; DARNAUDE, A. M.; GARCÍA-VASQUEZ, A.; CARVAJAL-VALLEJOS, F.; GARCIA-DAVILA, C.; DORIA, C.; BÉRAIL, S.; DONARD, A.; SONDAG, F.; SANTOS, R.V.; NUÑEZ, J.; POINT, D.; LABONNE, M.; BARAS, E. Trans-Amazonian natal homing in giant catfish. **Journal of Applied Ecology**. v. 53, p. 1511-1520, 2016

FREIRE, G. M.; FREITAS, C. E. Crescimento e mortalidade de *Cichla temensis* do reservatório de Balbina, Amazônia Central. **Scientia Amazonia**, v.2, p.13-19, 2013.

FREITAS, C. E. D. C.; RIVAS, A. A. F. A. Pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Ocidental. **Ciência e cultura**, v. 58, n. 3, p. 30-32, 2006.

FROESE, R. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of applied ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241-253, 2006.

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. 242-251, 2014. DOI: 10.1111/eff.12142

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. e0129697, 2015.
HEGG, J. C.; GIARRIZZO, T.; KENNEDY, B. P. Diverse Early Life-History Strategies in Migratory Amazonian Catfish: Implications for Conservation and Management. 2015. DOI: dx.doi.org/10.1101/018671

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.

HOLLEY, M. H.; MACEINA, M. J.; THOME-SOUZA, M.; FORSBERG, B. R. Analysis of the trophy sport fishery for the speckled peacock bass in the Rio Negro River, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v. 15, n. 2, p. 93-98, 2008.

INOMATA, S.; FREITAS, C. Fish landings in Barcelos, in the middle Negro River region, Amazonas. **WIT Trans Ecol Environ**, v. 192, p. 67-76, 2015.

JEPSEN, D. B.; WINEMILLER, K. O. E TAPHORN, D. C. Age structure and growth of peacock cichlids from rivers and reservoirs of Venezuela. **Journal of Fish Biology**, v. 55, n. 2, p. 433-450, 1999.

KULLANDER, Sven O.; FERREIRA, Efrem JG. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 17, n. 4, p. 289-398, 2006.

LE CREN, E. D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **The Journal of Animal Ecology**, p. 201-219, 1951.

LEPAK, J.M.; CATHCART, C. N.; HOOTEN, M.B. Otolith mass as a predictor of age in kokanee salmon (*Oncorhynchus nerka*) from four Colorado reservoirs. **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, v. 69, n. 10, p. 1569-1575, 2012.

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.

MONTAÑA, C.; TAPHORN, D.; LAYMAN, C.; LASSO, C. Distribución, alimentación y reproducción de tres especies de pavones *Cichla* spp. (Perciformes, Cichlidae) en la cuenca baja del río Ventuari, Estado Amazonas, Venezuela. **Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales**, 165, 83-102, 2007.

MORALES-NIN, B. Determination of growth in bony fishes from otolith microstructure. FAO Fisheries Technical Paper. No. 322. Rome, FAO. 1992. 51p.

PANFILI, P. H.; TROADEC, H.; WRIGHT P. J. **Manual of fish sclerochronology**. Brest, France: Ifremer-IRD coedition, (eds), 2002. 464 p.



- PIAH, R. M.; KAMARUDDIN, S. A.; KADIR, N. A.; AMBAK, M. A. Relationship Between Otolith Measurements with the Size of Areolate Grouper, *Epinephelus areolatus* in Terengganu Waters, Malaysia. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 12, p. 90-94, 2017.
- POUILLY, M.; POINT, D.; SONDAG, F.; HENRY, M.; SANTOS, R. V. Geographical origin of Amazonian freshwater fishes fingerprinted by 87Sr/86Sr ratios on fish otoliths and scales. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 16, p. 8980-8987, 2014. DOI: [dx.doi.org/10.1021/es500071w](https://doi.org/10.1021/es500071w)
- RÉ, P. Anéis diários de crescimento nos otólitos dos estados larvares dos peixes: perspectivas em biologia pesqueira. **Professor Germano da Fonseca Sacarrão**, p. 97-124, 1994.
- STRANSKY, C.; MURTA, A.G.; SCHLICKEISEN, J.; ZIMMERMANN, C. Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. **Fisheries Research**, v. 89, n. 2, p. 159-166, 2008.
- SANT'ANNA, I. R. A.; DORIA, C. R. C.; FREITAS, C. E. C. Pre-impoundment stock assessment of two Pimelodidae species caught by small-scale fisheries in the Madeira River (Amazon Basin-Brazil). **Fisheries management and ecology**, v. 21, n. 4, p. 322-329, 2014.
- TARKAN, A.S.; GURSOY GAYGUSUZ, C.; GAYGUSUZ, O.; ACIPINAR, H. Use of bone and otolith measures for size-estimation of fish in predator-prey studies. **Folia Zoologica-Praha**, v. 56, n. 3, p. 328, 2007.
- TAVARES-DIAS, M.; MONTEIRO, A. M. D. C.; AFFONSO, E. G.; AMARAL, K. D. S. Weight-length relationship, condition factor and blood parameters of farmed *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Cichlidae) in central Amazon. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, n. 1, p. 113-119, 2011.
- THOMÉ-SOUZA, M. J.; MACEINA, M. J.; FORSBERG, B. R.; MARSHALL, B. G.; CARVALHO, Á. L. Peacock bass mortality associated with catch-and-release sport fishing in the Negro River, Amazonas State, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 4, p. 527-532, 2014.
- VIEIRA, P. C.; HAIMOVICI, M. Idade e crescimento da pescada-olhuda *Cynoscion striatus* (Pisces, Sciaenidae) no sul do Brasil. **Atlântica, Rio Grande**, v. 15, p. 73-91, 1993.
- VOLPEDO, A. V.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M. Métodos de estudios con otolitos: principios y aplicaciones. **Ciudad Autónoma de Buenos Aires: INPA CONICET UBA**, 2015.
- WAESSELE, J.A.; LASTA, C.A.; FAVERO, M. Otolith morphology and body size relationships for juvenile Sciaenidae in the Río de la Plata estuary (35-36 S). **Scientia Marina**, v. 67, n. 2, p. 233-240, 2003.
- WALTHER B. D.; THORROLD S. R. Water, not food, contributes the majority of strontium and barium deposited in the otoliths of a marine fish. **Marine Ecology Progress Series**, v. 311, p. 125-130, 2006.
- WILLIS, S. C.; WINEMILLER, K. O.; MONTAÑA, 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**, v. 16, n. 6, p. 1345-1357, 2015. DOI: [10.1007/s10592-015-0744-y](https://doi.org/10.1007/s10592-015-0744-y).
- WINEMILLER, K. O. Ecology of peacock cichlids (*Cichla* spp.) in Venezuela. **Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences**, v. 9, p. 93-112, 2001.
- WINEMILLER, K. O.; TAPHORN, D. C.; BARBARINO- DUQUE, A. Ecology of *Cichla* (Cichlidae) in two blackwater rivers of Southern Venezuela. **Copeia**, p.690-696,1997.
- WORTHMANN, H. A relação entre o desenvolvimento do otólito e o crescimento do peixe como auxílio na distinção de populações de Pescada (*Plagioscion squamosissimus*). **Acta Amazonica**, v. 9, n. 3, p. 573-586, 1979.
- Zar JH. **Biostatistical analysis**. 5th ed. Upper Saddle River (NJ): Prentice Hall; 2010.
- Zar JH. **Biostatistical Analysis**. Eaglewood Cliffs, NJ: Prentice Hall; 1984.

CAPÍTULO II

Discriminação de espécies e populações do gênero *Cichla* através da morfometria otolítica em rios da bacia Amazônica.

Discriminação de espécies e populações do gênero *Cichla* através da morfometria otolítica em rios da bacia Amazônica

Resumo

As análises morfométricas em otólitos têm sido utilizadas com sucesso para distinção de espécies e estoques pesqueiros, principalmente em ambientes marinhos. Dessa forma, o presente estudo teve como foco avaliar o potencial da forma do otólito *sagitta* para discriminar espécies e populações do gênero *Cichla* em diferentes rios amazônicos. Para isso, foram amostradas as espécies *Cichla temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis* em três regiões distintas da bacia Amazônica, compreendendo o médio rio Negro, o rio Uatumã (lago da UHE de Balbina) e o rio Jatapú. Índices de forma e coeficientes de Fourier foram utilizados para descrever a forma dos otólitos. Quando submetidos às análises multivariadas, mostram diferenças significativas ($p < 0,001$) na forma dos otólitos entre os grupos das espécies e populações. Dentre o grupo das espécies, a morfologia do *sagitta* da espécie *C. temensis* mostrou ser totalmente diferente dos otólitos das espécies *C. monoculus* e *C. orinocensis*. Enquanto no grupo das populações de *C. temensis*, os indivíduos dos rios Negro e Jatapú mostram-se diferentes independente dos métodos utilizados para descrever a forma dos otólitos. As diferenças encontradas na forma do otólito no grupo das espécies podem estar relacionadas diretamente com fatores genéticos, enquanto que a morfologia dos otólitos das populações podem estar atreladas as influencias das variações ambientais. Esses resultados confirmam a capacidade de diferenciações de espécies e populações através da morfologia dos otólitos. No entanto, são necessárias mais pesquisas para verificar o papel dos efeitos genéticos em comparação aos efeitos ambientais e bióticos para explicar a discriminação observada nos otólitos.

Palavras-chaves: Morfologia, otólito, rios Amazônicos, tucunaré.

Discrimination of *Cichla* species and populations through otolithic morphometry in rivers in the Amazon basin. Morphometric analyzes in otoliths have been used successfully to distinguish species and fish stocks, especially in marine environments. Thus, the present study focused on evaluating the potential of the sagitta otolith shape to discriminate species and populations of the *Cichla* genus in different Amazonian rivers. For this, the species *Cichla temensis*, *C. monoculus* and *C. orinocensis* were sampled in three distinct regions of the Amazon basin, comprising the middle Negro river, the Uatumã river (lake of the Balbina HPP) and the Jatapú river. Shape indices and Fourier coefficients were used to describe the shape of the otoliths. When submitted to multivariate analyzes, they show significant differences ($p < 0.001$) in the shape of the otoliths between groups of species and populations. Among the group of species, the morphology of the *sagitta* of the species *C. temensis* proved to be totally different from the otoliths of the species *C. monoculus* and *C. orinocensis*. While in the group of *C. temensis* populations, individuals from the Negro and Jatapú rivers are different regardless of the methods used to describe the shape of the otoliths. The differences found in the shape of the otolith in the species group may be directly related to genetic factors, while the morphology of the otoliths in the populations may be linked to the influences of environmental variations. These results confirm the ability to differentiate species and populations through the morphology of the otoliths. However, more research is needed to verify the role of genetic effects compared to environmental and biotic effects to explain the discrimination observed in otoliths.

Keywords: Morphology, otolith, Amazonian rivers, peacock bass.

INTRODUÇÃO

Estudos baseados nas características morfológicas de otólitos tem sido utilizados com sucesso para identificação de espécies, distinção de populações e estoques pesqueiros, principalmente em ambientes marinhos (RASHIDABADI et al., 2020; TUSET et al., 2016). Isso ocorre porque o otólito possui uma forma específica para cada espécie e por ser menos variável que outras características morfológicas dos peixes (CAMPANA; CASSELMAN, 1993). Apesar da forma do otólito ser marcadamente peculiar em cada espécie, pode ocorrer variação geográfica intraespecífica em decorrência de fatores ambientais e do crescimento dos peixes (JEMAA et al., 2015).

Diferentes técnicas têm sido aplicadas para análise da forma dos otólitos (PONTON, 2006). Alguns métodos são baseados em medidas lineares, como variabilidade de tamanho e forma do núcleo dos otólitos (POSTUMA, 1974), medidas de incremento do otólito (TORRES; NORBIS; LORENZO, 1996) e relações entre tamanho do peixe e raio do otólito (ZABEL; HAUGHT; CHITTARO, 2010). Porém, grande parte da informação biológica de interesse está contida no formato do otólito e não necessariamente em medições univariadas, que possibilitou o desenvolvimento de técnicas para examinar a forma do otólito em sua totalidade (CADRIN; FRIEDLAND, 1999).

Atualmente, uma das técnicas utilizadas nos estudos de discriminação de espécies usando a forma do otólito é a Análise Elíptica de Fourier (AFE), desenvolvida por Kuhl e Giardina (1982). A série de Fourier descreve as formas (silhuetas) por meio de descritores chamados harmônicos, representando a contribuição relativa da forma empírica de um objeto, seguida do seu alongamento e triangularidade (BIRD; EPPLER; CHECKLEY JR, 1986). Além disso, os harmônicos definem parâmetros de forma, fornecendo, quando combinadas, uma imagem semelhante a real.

Alguns estudos que utilizaram de forma combinada AFE e índices de forma, obtiveram resultados mais precisos e completos para descrever a forma dos otólitos (CAMPANA; CASSELMAN, 1993; DUARTE-NETO et al., 2008; STRANSKY; MACLELLAN, 2005). A AFE fornece uma resposta rápida e objetiva, enquanto a utilização dos índices de forma tem a vantagem de apresentar cálculos mais simples, representando o padrão de crescimento dos otólitos (TUSET et al., 2003).

Em ambientes de água doce, estudos com morfometria de otólito tem se mostrado eficiente para distinção de espécies (AVIGLIANO et al., 2017) e estoques pesqueiros (AVIGLIANO et al., 2018). No entanto, os estudos ainda são incipientes, principalmente na

região Amazônica (COSTA et al., 2018). Em sua maioria, o uso dos otólitos estão voltados para análises de crescimento (CAMPOS; FREITAS; AMADIO, 2015; HOLLEY et al., 2008), padrões de movimento com microquímica otolítica (GARCEZ et al., 2015; SOUSA; HUMSTON; FREITAS, 2016) e relações de medidas lineares do corpo do peixe com o otólito (MERELES et al., 2020), sendo escasso a utilização da forma do otólito para discriminação de espécies e populações de peixes.

Espécies do gênero *Cichla* conhecida popularmente como tucunaré, são amplamente distribuídas em rios da bacia Amazônica (KULLANDER; FERREIRA, 2006; WILLIS et al., 2012), comportando indivíduos de médio a grande porte, sedentários e piscívoros, com grande importância ecológica, estando envolvidos nos principais processos de estruturação trófica e ciclagem de nutrientes nos ecossistemas aquáticos (JEPSEN; WINEMILLER; TAPHORN, 1997; WINEMILLER, 2001). Além disso, contribuem de forma significativa nas pescarias comerciais, de subsistência e esportivas (FREITAS; RIVAS, 2006; INOMATA; FREITAS, 2015). Atualmente são conhecidas 16 espécies do gênero *Cichla*, que foram descritas de forma tradicional, a partir de suas características merísticas e morfológicas, e com o uso de técnicas avançadas como os marcadores de DNA (KULLANDER; FERREIRA, 2006; SABAJ et al., 2020).

Historicamente, o gênero *Cichla* tem sido sujeito a opiniões contraditórias sobre sua taxonomia (STIASSNY, 1987). Estudos recentes mostram que há divergências sobre a identificação precisa de algumas das espécies de tucunaré (*Cichla* spp.), em função de processos de hibridização, a exemplo espécies *C. monoculus* e *C. temensis* que reproduzem entre si (ANDRADE et al., 2001; WILLIS et al., 2007, 2012). Além disso, variações morfológicas e diferenças nos padrões de coloração intraespecífico, leva a identificação errônea de algumas espécies, com prejuízo para as atividades de pesquisa e manejo (REISS et al., 2012; WINEMILLER, 2001).

Nesse sentido, o presente estudo avaliou a combinação de técnicas de análises quanto à forma dos otólitos, visando contribuir com a identificação das espécies e populações do gênero *Cichla* em diferentes rios da bacia Amazônica. Para tal, foram testadas duas hipóteses: 1) a forma do otólito não difere entre as espécies *Cichla temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis* e 2) não há variação intraespecífica na forma dos otólitos de *Cichla temensis* em rios de água preta da bacia Amazônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As espécies de *Cichla* foram amostradas em três rios pertencentes a bacia Amazônica, compreendendo a região do médio rio Negro, rio Uatumã (lago da UHE de Balbina) e Jatapú (Figura 1). Esses rios são classificados como de água preta, têm suas nascentes situadas nos escudos das Guianas, possuem pH ácido e alta transparência (SIOLI, 1984). Apresentam uma grande diversidade de espécies de peixes, resultando em diferentes formas de uso dos seus recursos pesqueiros. Em especial, as espécies de tucunaré (*Cichla* spp.) que são encontradas em grande abundância nessas regiões e apresentam grande interesse para as pescarias comercial e esportiva (FREITAS; RIVAS, 2006; SANTOS; OLIVEIRA Jr, 1999).

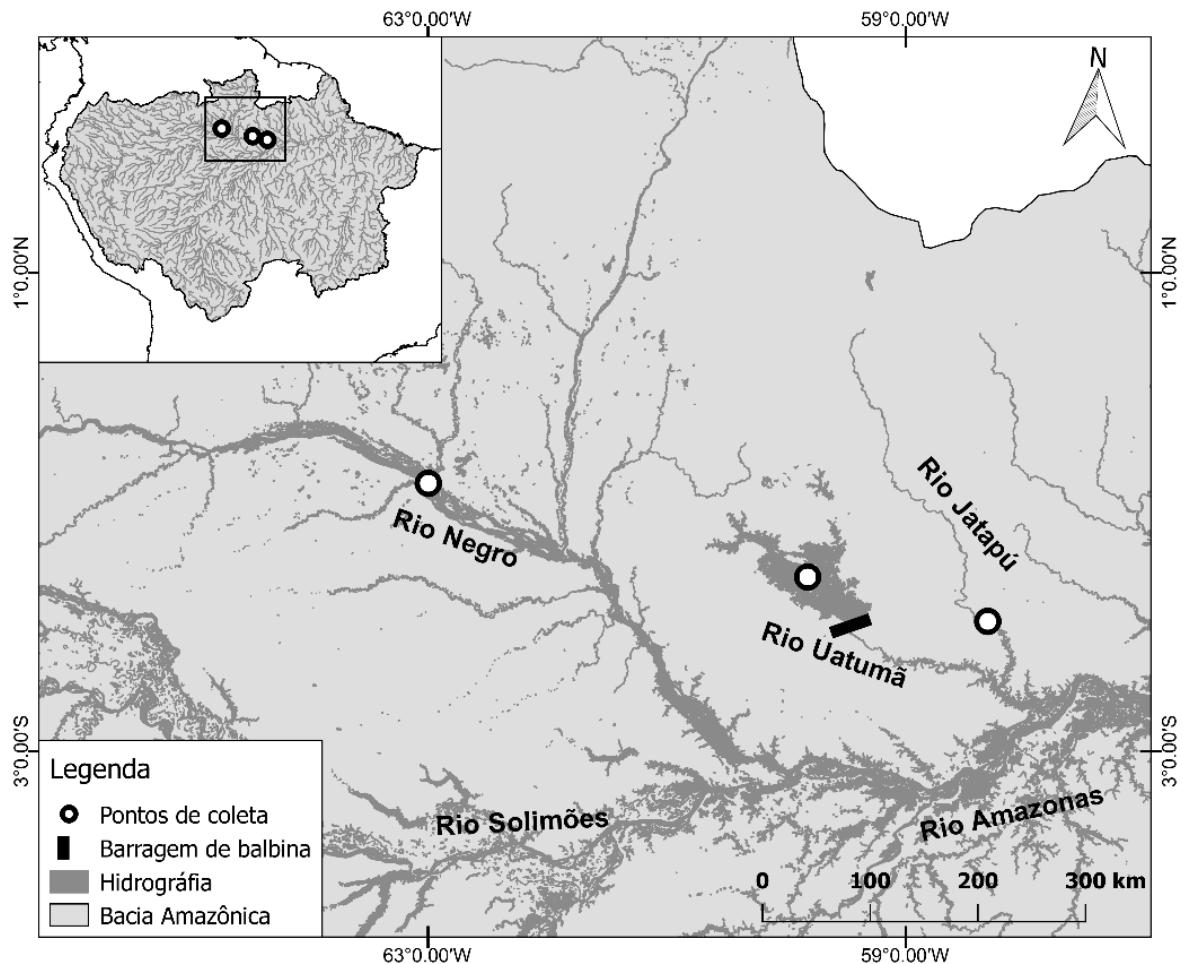


Figura 1. Localização dos pontos de amostragem nos rios Negro, Uatumã e Jatapú, pertencentes a bacia Amazônica.

Coleta dos dados

As amostragens ocorreram no período de águas baixas, correspondendo ao mês de novembro do ano de 2011 e 2018, sob o protocolo de licença 25606-2 do SISBIO. Os exemplares das espécies *Cichla temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*, foram coletados por meio de pescarias experimentais, utilizando apetrechos como molinete, carretilha e rede de emalhe. Logo após coletados os espécimes foram submetidos a eutanásia, pelo método de secção na medula espinhal e posteriormente, foram feitas as extrações dos otólitos (*sagittae*) da cavidade auricular com o auxílio de equipamentos cirúrgicos (bisturi e pinça). Após a extração, os otólitos foram lavados com água destilada para eliminar o tecido remanescente da mácula e do vestíbulo. Os otólitos *sagittae* foram selecionados por serem os mais utilizados em trabalhos comparativos de taxonomia, devido ao seu tamanho grande e relativa facilidade de acesso às estruturas, e evidência de variação intraespecífica e interespecífica no grupo (NOLF, 1985).

Posteriormente, os otólitos foram secados e armazenados em tubos de *ependorf*, etiquetados e encaminhados ao laboratório de Ecologia Pesqueira da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), onde foram realizados os preparos para as análises fotográficas. Todos os procedimentos de coleta e material biológico, foram realizados mediante a aprovação do Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Amazonas sob o número 046/2018, seguindo recomendações do Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados (2012).

Aquisição de imagem

Para os ensaios fotográficos, foram selecionados os otólitos direito de cada espécie, que foram alocados com a face externa voltada para baixo, mostrando o sulco acústico para cima e o rostrum apontando para a esquerda (Figura 2). Imagens digitais ortogonais bidimensionais dos otólitos foram capturadas usando uma câmera digital USB (Olympus, SC30) com ampliação de 10x acoplada a uma lupa (Meiji Techno EMZ-13TR). Imagens digitais de alto contraste foram obtidas usando luz refletida com fundo escuro, produzindo objetos bidimensionais brilhantes.

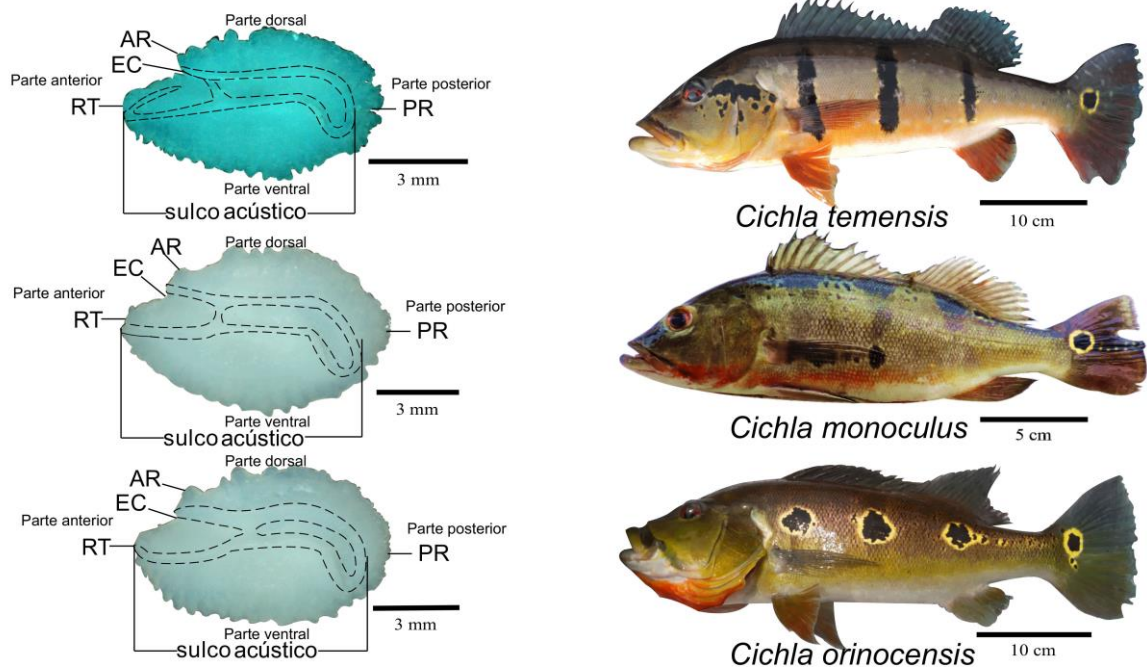


Figura 2. Estrutura dos otólitos *Sagitta* das espécies *Cichla temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*. RT= rostrum; PR= postrostrum; EC= excisura; AR= antirostrum.

Análises das formas dos otólitos

Índices de forma

Utilizando o processador de imagem ImageJ (RASBAND et al., 1997), foram registradas as seguintes variáveis morfométricas dos otólitos: comprimento do otólito (OC), largura do otólito (OL) e perímetro do otólito (OP) em milímetros; e a área otolítica (OA) em milímetros quadrados (Figura 3). Estas medidas foram utilizadas para o cálculo dos índices de forma, conforme recomendado por Tuset et al. (2003) (Tabela 1).

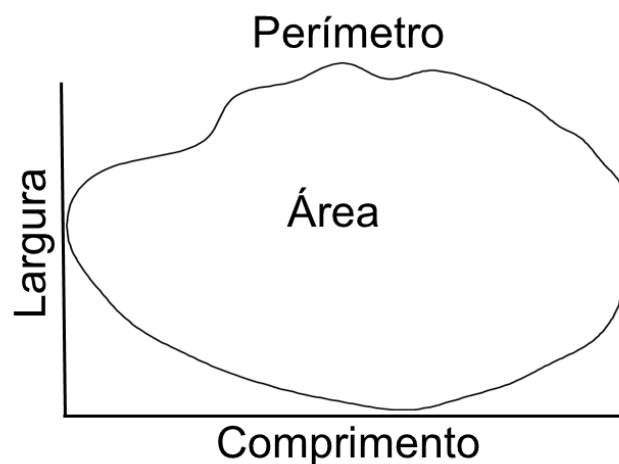


Figura 3. Medidas extraídas dos otólitos *sagittae* das três espécies de *Cichla*.

Tabela 1. Índices de forma dos otólitos calculados a partir das medidas morfométricas. OA: área (mm²), OP: perímetro (mm), OC: comprimento (mm) e OL: largura (mm).

Índices de forma	Fórmulas
Fator de forma	$([4\pi \times OA / OP^2])$
Redondeza	$(4OA) \times (\pi \times OC^2)$
Circularidade	(OP^2 / OA)
Retangularidade	$(OA / [OC \times OW])$
Elípticidade	$(OC - OL / OC + OL)$

O fator de forma estima a irregularidade da área da superfície, assumindo valores de 1,0 quando é um círculo perfeito e <1,0 quando é irregular. A redondeza e a circularidade fornecem informações sobre a semelhança de vários recursos com um círculo perfeito, quando os valores estiverem mais próximos de 1 e 12,57, respectivamente. A retangularidade descreve as variações de comprimento e largura em relação à área, sendo 1,0 o quadrado perfeito. A elípticidade indica se as alterações nos eixos são proporcionais (RUSS, 1990).

Análise elíptica de Fourier

Os coeficientes de Fourier foram calculados usando o programa SHAPE 1.3 Copyright (IWATA; UKAI, 2002). Este programa avalia quantitativamente as formas biológicas, baseadas nos descritores elípticos de Fourier, constituído por três módulos (ChainCode.exe; Chc2nef.exe e PrintComp.exe), permitindo assim a utilização dos dados para outras análises estatísticas.

A análise elíptica de Fourier (EFA) foi aplicada para demarcar a forma através do algoritmo de “codificação em cadeia”, que representa um objeto como uma curva bidimensional fechada, aplicando uma combinação de funções seno e cosseno harmonicamente relacionadas, composta por quatro (a, b, c e d) coeficientes de Fourier (FCs) (KUHL; GIARDINA, 1982). No presente estudo, calculamos 20 harmônicos para cada otólito, gerando assim 80 coeficientes por indivíduo. O programa padronizou o tamanho e a orientação, fornecendo valores constante aos três primeiros coeficientes, sendo: $a_1 = 1$, $b_1 = 0$ e $c_1 = 0$. Cada indivíduo foi, portanto, representado por 77 coeficientes únicos (IWATA; UKAI, 2002).

Análises estatísticas

Para avaliar as diferenças nas formas dos otólitos entre as espécies e evitar possíveis influências ambientais, as amostras de otólitos de *Cichla temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*, foram consideradas apenas dos indivíduos coletados na porção do médio rio Negro. Por outro lado, a existência de diferenças entre populações, foram utilizados apenas os

otólitos dos indivíduos de *C. temensis* coletados nos três corpos d'água avaliados (rios Negro, Uatumã e Jatapú).

As medidas retiradas dos otólitos foram submetidas a análise descritiva para cálculos de frequência, média e desvio padrão. Os índices morfométricos calculados foram corrigidos para evitar o efeito alométrico que ocorre durante o crescimento do otólito. Para isso, foram aplicadas regressões entre os índices e o comprimento dentro de cada grupo. Quando o coeficiente de regressão apresentou valor significativo, a correção do tamanho foi aplicada, usando a equação proposta por Cardinale et al. (2004):

$$V_{aj} = V_i - b \cdot OC$$

Onde, V_{aj} é a variável ajustada, V_i variável analisada, OC comprimento do otólito e a respectiva inclinação dentro do grupo (b). O comprimento do otólito foi escolhido para remoção do efeito sobre os índices calculados, em vez do comprimento do peixe, devido esta variável não ser afetada por diferenças entre amostras na preservação, encolhimento ou distorção (CAMPANA; CASSELMAN, 1993). Além disso, o comprimento do otólito e do peixe geralmente apresentam boa correlação (MERELES et al., 2020).

Devido a elevada dimensionalidade dos descritores (77 por indivíduo), foram aplicadas análises de componentes principais (PCA) nas matrizes dos coeficientes elípticos de Fourier (FCs) geradas para as espécies *C. temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*, e populações de *C. temensis*, para reduzir a um número menor de dimensões com importância decrescente para explicação da variação existente, sem perder as informações das formas. Para detectar os autovalores significativos, plotamos a porcentagem da variação total explicada de autovalores versus a proporção de variância esperada estimada pelo método de "Broken-Stick" (MACARTHUR, 1952). Os scores significativos (PCs) foram utilizados como variáveis respostas das características da forma de Fourier nas análises posteriores.

Análises multivariadas de variância com um fator (MANOVA One-Way) foram utilizadas para testar as hipóteses de ausência de diferença na forma do otólito (PCs e índices de forma) entre: (1) as três espécies (*C. temensis*, *C. monoculus*, *C. orinocensis*) e (2) as três populações de *C. temensis* (médio rio Negro, rios Uatumã e Jatapú). Em seguida, análises canônicas discriminantes (DCA) foram empregadas para encontrar a combinação das variáveis que detectaram as diferenças intergrupos na MANOVA, com o objetivo de verificar graficamente a separação dos grupos e explicações das variações dos eixos canônicos.

A suposição de multi-homogeneidade das variâncias dentro dos grupos (ANDERSON, 2006) foram testadas para cada modelo, utilizando a função Betadisper, com distância

Euclidiana (OKSANEN et al., 2016). Quando necessário foram removidos os *outliers* para ajustamento dos modelos. Todos os testes estatísticos e representações gráficas foram realizados utilizando o software R (R Development Core Team, 2020 <http://www.r-project.org/>), usando os pacotes Candisc (FRIENDLY; FOX, 2017), Vegan (OKSANEN et al., 2016) e mvOutlier (REIMANN et al., 2012). Foi considerado o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo para as análises.

RESULTADOS

Um total de 168 amostras de otólitos foram analisadas, sendo 50 de *C. monoculus*, 36 *C. orinocensis* e 82 *C. temensis*. Deste total, 127 amostras foram utilizadas na identificação das três espécies e 82 foram utilizadas para a análise populacional de *C. temensis* (Tabela 2).

Tabela 2. Análises descritivas (Média \pm Desvio padrão) dos índices de forma estimados a partir das medidas retiradas dos otólitos das espécies de *Cichla*; N = número de indivíduos amostrados.

Espécies	N	Fator de forma	Redondeza	Circularidade	Retangularidade	Elípticidade
<i>C. monoculus</i> (rio Negro)	50	0,53 \pm 0,04	0,61 \pm 0,07	23,67 \pm 2,01	0,73 \pm 0,08	0,21 \pm 0,03
<i>C. orinocensis</i> (rio Negro)	36	0,53 \pm 0,06	0,53 \pm 0,03	23,95 \pm 3,71	0,70 \pm 0,02	0,25 \pm 0,02
<i>C. temensis</i> (rio Negro)	41	0,38 \pm 0,06	0,53 \pm 0,03	33,58 \pm 5,42	0,69 \pm 0,02	0,24 \pm 0,02
<i>C. temensis</i> (rio Uatumã)	15	0,46 \pm 0,07	1,52 \pm 0,09	27,98 \pm 4,28	1,39 \pm 1,75	-0,21 \pm 0,52
<i>C. temensis</i> (rio Jatapú)	26	0,35 \pm 0,06	1,49 \pm ,010	36,91 \pm 6,42	0,34 \pm 0,13	-0,56 \pm 6,42

Identificação de espécies

Foram determinados cinco componentes principais (PCs) significativos, derivados da matriz dos descritores de Fourier para o grupo das espécies (*C. temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*), perfazendo 79,48% da variação total. Ao visualizar a variação da forma (média \pm DP) explicada pelos PCs significativos, foi possível observar variações pelo PC1 nas margens dorsal posterior e ventral; o segundo PC na região anterior e posterior; o terceiro PC foi na margem dorsal e ventral; o quarto PC na excisura; e o quinto PC no rostrum (Figura 4).

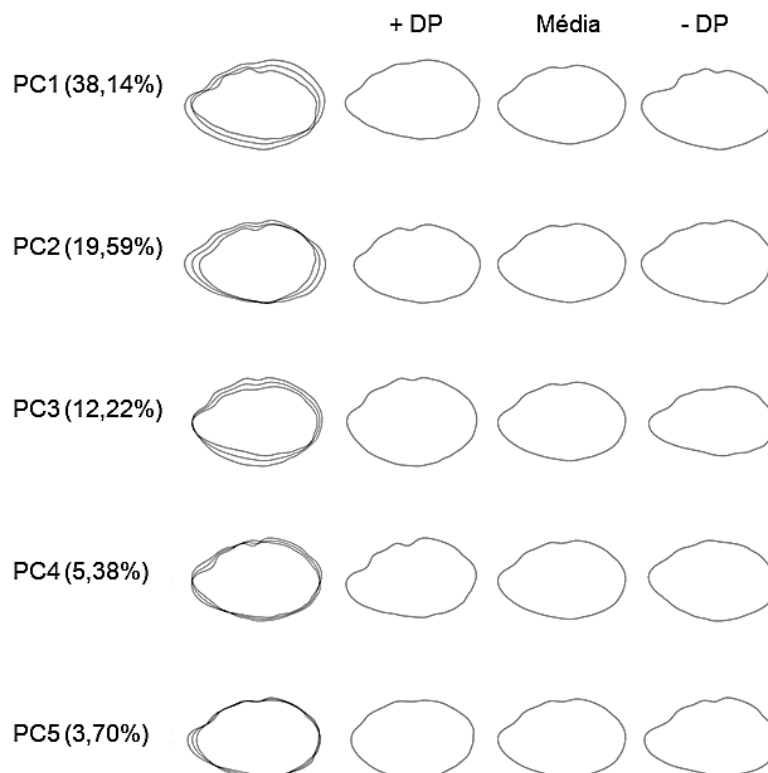


Figura 4. Variação da forma (Média \pm Desvio padrão - DP) nos *sagitta* das espécies de *Cichla* explicada pelos cinco primeiros componentes principais (PCs).

Diferenças significativas na forma dos otólitos entre as espécies *C. temensis*, *C. monoculus* e *C. Orinocensis* foram apontados pela MANOVA, quando analisado os índices de forma (Pillai = 1,307, $F_{(2, 170)} = 32,059$, $p < 0,001$) e os componentes principais (PCs) (Pillai = 0,876, $F_{(2, 192)} = 14,971$, $p < 0,001$).

Quando os índices de forma e descritores elípticos de Fourier foram submetidos à análise discriminante canônica (DCA), permitiram visualizar a separação das três espécies estudadas (Figuras 5A e B). Em ambos os métodos, foram evidenciados que a espécie *C. temensis* se distinguiu das demais, principalmente no eixo 1 da DCA, com os valores dos índices de forma e PCs explicando 93,20% e 91,90% das variações totais, respectivamente. O eixo 2 da DCA, para os mesmos atributos, contribuiu para a distinção entre *C. monoculus* e *C. orinocensis*, em menor proporção (Figuras 5A e B). As variáveis dos índices de forma que mais contribuíram para as diferenças encontradas na primeira função discriminante foram elípticidade e circularidade, associadas a espécie *C. temensis*; e fator de forma, retangularidade e redondeza relacionados com as espécies *C. orinocensis* e *C. monoculus*. Nas análises usando os descritores de Fourier, somente a variável PC6 esteve associada aos indivíduos de *C. temensis* e as demais variáveis (PC2, PC3, PC4 e PC5) estavam relacionadas com mais intensidade aos indivíduos das espécies *C. orinocensis* e *C. monoculus*.

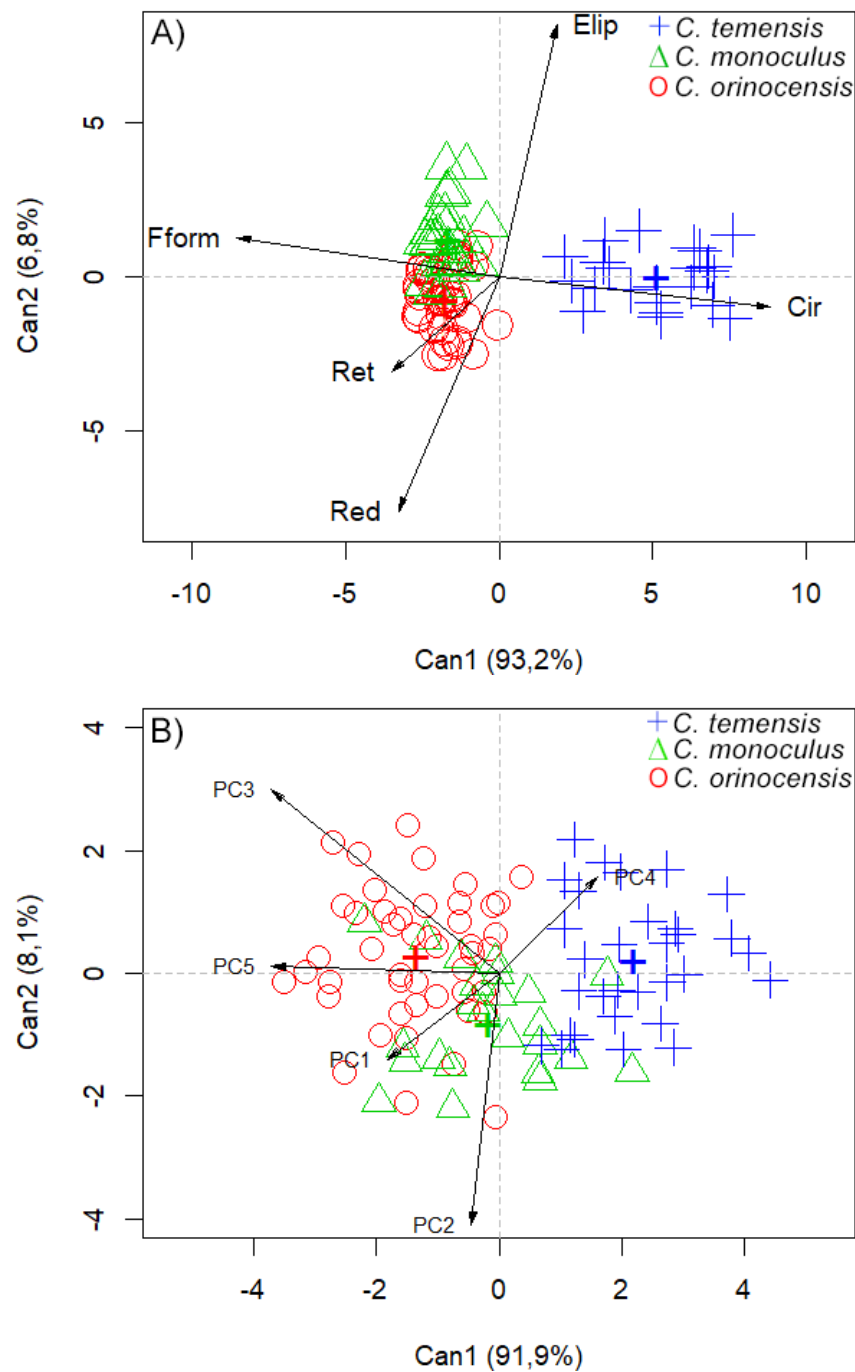


Figura 5. Análise discriminante canônica usando índices morfométricos (A) e coeficientes elípticos de Fourier (B) medidos para as espécies *C. temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*. Os vetores indicam a direção e a intensidade da influência das características estimadas: Redondeza (Red), Retangularidade (Ret), Elípticidade (Elip), Circularidade (Cir), Fator de forma (Fform); PC1 ao PC5 correspondem aos escores significativos da PCA realizada sobre a matriz de Fourier.

Identificação de populações entre regiões distintas

Para a matriz de Fourier das populações de *C. temensis* foram determinados seis PCs significativos, explicando 79,83% da variação total. A variação média da forma explicada pelos componentes principais, mostraram variações nas regiões ventral anterior e dorsal posterior, na

região anterior e posterior e excisura dos otólitos, evidenciada principalmente pelos PCs 1, 2, 3 e 4. Os PCs 5 e 6 não apresentaram uma variação clara (Figura 6).

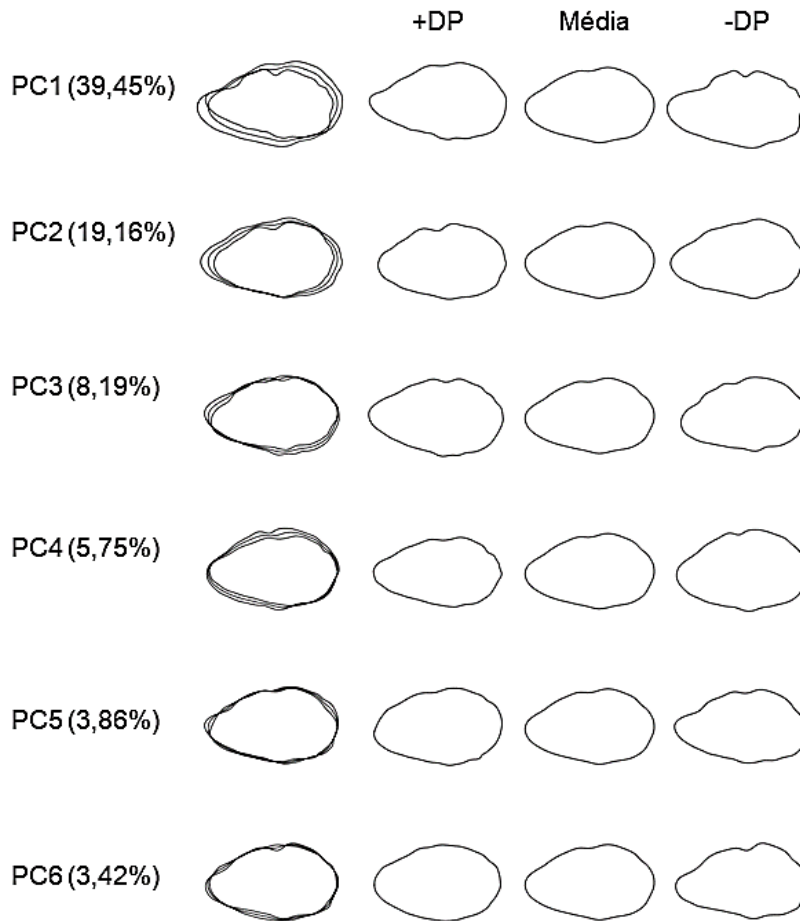


Figura 6. Variação da forma (Média \pm Desvio padrão - DP) nos *sagitta* das populações de *C. temensis* explicada pelos cinco primeiros componentes principais (PCs).

As formas dos otólitos também permitiram discriminar as populações de *C. temensis* dos rios Negro, Jatapú e Uatumã, para os índices de forma (Pillai = 1,418, $F_{(2, 152)} = 37,08$, $p < 0,001$) e os descritores de Fourier (Pillai = 0,903, $F_{(2, 134)} = 9,193$, $p < 0,001$). No entanto, a análise discriminante canônica mostrou padrões diferentes para cada conjunto de indicadores: índices de forma e descritores de Fourier.

A primeira função discriminante usando índices de forma explicou 98,40% da variação, distinguindo os indivíduos do rio Negro das demais localidades, enquanto a função 2 explicou apenas 1,60% desse total, mostrando uma sobreposição dos indivíduos dos rios Jatapú e Uatumã (Figura 7A). A elípticidade e o fator de forma explicaram a maior parte da variação na primeira função discriminante, associadas a população de *C. temensis* do rio Negro, enquanto a circularidade e redondeza foram os índices associados às populações dos rios Uatumã e Jatapú.

Por outro lado, os descritores de Fourier distinguiram os indivíduos do rio Jatapú na primeira função canônica (95,70%), e na segunda função discriminante (4,30%) distinguiu as

populações dos rios Negro e Uatumã (Figura 7B). A variável PC6 foi a única que esteve associada à população do rio Jatapú na primeira função discriminante, enquanto as variáveis PC1, PC3, PC4 e PC5 contribuíram para maior explicação das populações dos rios Negro e Uatumã.

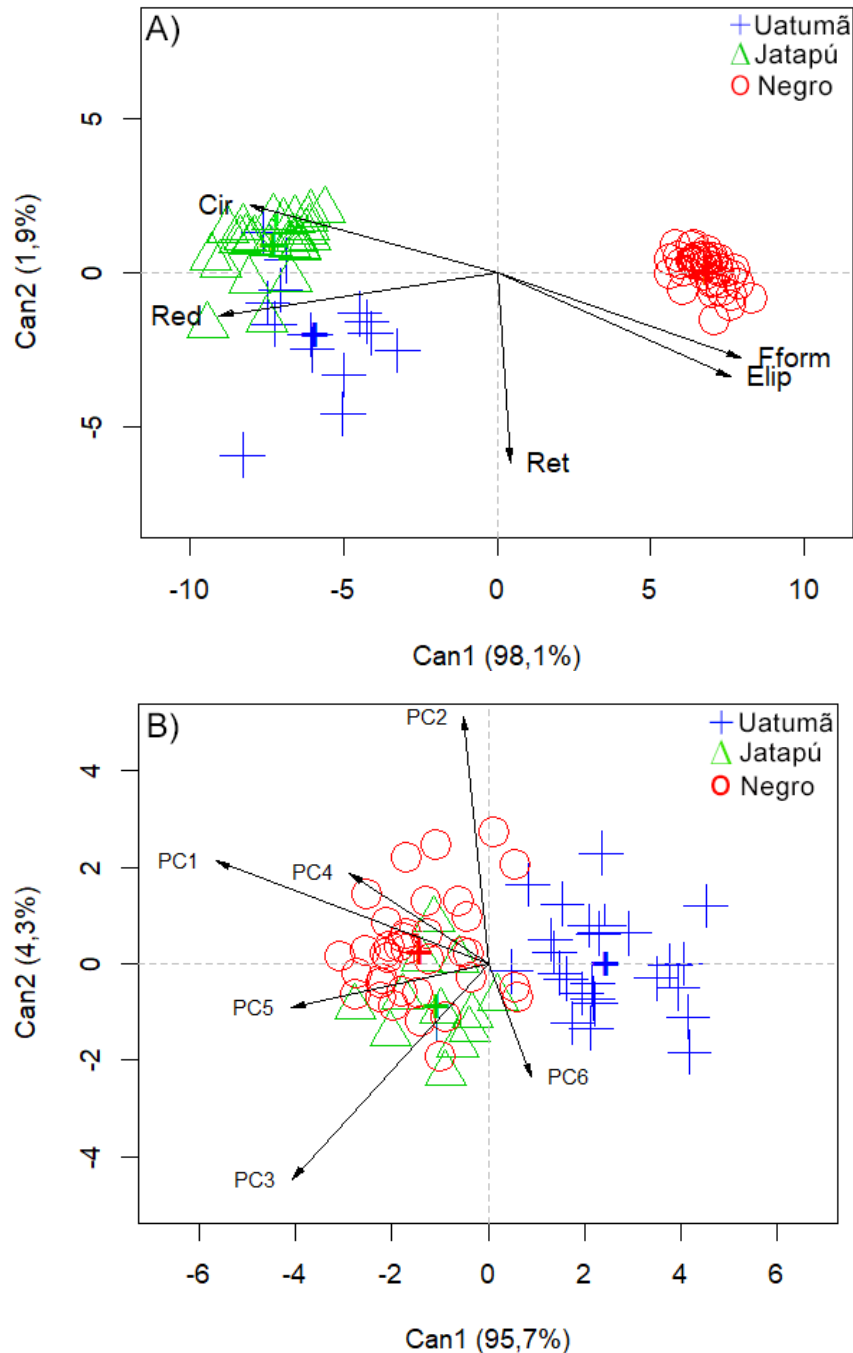


Figura 7. Análises discriminantes canônicas realizadas em índices morfométricos (A) e em coeficientes elípticos de Fourier (B) medidas em populações de *C. temensis* dos rios Negro, Jatapú e Uatumã. Os vetores indicam a direção do aumento nas várias características medidas: Redondeza (Red), Retangularidade (Ret), Elípticidade (Elip), Circularidade (Cir), Fator de forma (Fform); PC1 ao PC6 correspondem aos escores significativos da PCA realizada sobre a matriz de Fourier.

DISCUSSÃO

As abordagens aqui empregadas, utilizando a Análise Elíptica de Fourier (AFE) e índices de forma, mostraram capacidade para diferenciar os otólitos entre espécies e populações de *Cichla*. Em geral, a análise elíptica de Fourier é considerada mais objetiva e poderosa para capturar toda a variação de forma e as diferenças individuais de pequena escala na silhueta do otólito (MÉRIGOT; LETOURNEUR; LECOMTE-FINIGER, 2007). Porém, sua interpretação biológica é mais complexa do que as técnicas tradicionais (STRANSKY; MACLELLAN, 2005).

No entanto, o presente estudo mostrou que a capacidade de detecção de diferenças entre espécies e populações foi menor usando os descritores de Fourier, do que empregando os índices de forma. A possível razão para esse resultado pode estar associada à forma regular do otólito *sagitta* das espécies estudadas, uma vez que o índice de forma tem maior eficiência na análise de formas regulares do que as irregulares (AGÜERA; BROPHY, 2011), enquanto a AFE pode capturar eficientemente informações de estruturas mais complexas (LESTREL, 1997).

Quando sobrepostos os escores (PCs) médios significativos derivados da matriz de Fourier, foi possível observar que alterações na silhueta dos otólitos das espécies de *Cichla* estavam voltadas principalmente para região dorsal e ventral, com tendência para regiões anterior e posterior dos otólitos. Para populações de *C. temensis* avaliadas as alterações estavam relacionadas principalmente na região anterior e posterior dos otólitos.

Entre os índices de forma estimados, a circularidade e o fator de forma foram os mais comuns para diferenciação entre as espécies e populações. No grupo das espécies, os otólitos dos indivíduos de *C. temensis*, mostraram-se mais circulares e elípticos. Enquanto os otólitos das espécies *C. monoculus* e *C. orinocensis* estiveram mais associados às formas irregulares, redonda e retangulares. No grupo das populações, o fator de forma e a elípticidade estiveram associados aos indivíduos do rio Negro, e os índices de circularidade e redondeza ficaram ligados às populações dos rios Uatumã e Jatapú.

As diferenças observadas na forma dos otólitos das espécies (*C. temensis*, *C. monoculus* e *C. orinocensis*) eram esperadas, tendo em vista que a forma dos otólitos é, em geral, espécie-específica (CAMPANA; CASSELMAN, 1993). O formato do otólito do *C. temensis* exibiu estruturas mais expressivas, se distinguindo das demais espécies em ambos os métodos utilizados (AFE e índices de forma), indicando uma morfologia otolítica única para essa

espécie. Por outro lado, a morfologia geral dos otólitos para as espécies *C. monoculus* e *C. orinocensis* foram notavelmente mais semelhantes.

Esses resultados sugerem fortemente que os efeitos genéticos controlam a forma do otólito em nível de espécie, corroborando com Willis et al. (2007), que estudaram as relações filogenéticas entre espécies do gênero *Cichla*, mostrando que o *C. temensis* possui um clado de haplótipos específicos, se distinguindo das espécies *C. orinocensis* e *C. monoculus*. Por outro lado, as espécies *C. orinocensis* e *C. monoculus* ficaram alocadas em um mesmo cladograma, mostrando semelhanças nos seus haplótipos, padrão que pode estar relacionado a semelhanças na linhagem evolutiva atribuídas a essas espécies.

A morfologia dos otólitos é influenciada por diversos fatores, em geral de difícil interpretação, pois podem ser gerados por uma variedade de processos e interações ocorridas ao longo da história de vida dos peixes, como os processos ontogenéticos, adaptativos, biogeográficos e filogenéticos (MCLACHLAN; LADLE, 2011; TUSET et al., 2016). Vignon e Morat (2010) confirmaram a hipótese de que as influências genéticas e ambientais desempenham um papel substancial na determinação da forma do otólito. Mais especificamente, o ambiente induz uma mudança geral na forma e a genética afeta localmente a forma do otólito. Alguns autores incluíram atributos biológicos e comportamentais dos peixes, como as atividades relacionadas a natação, alimentação e reprodução como determinantes para as variações observadas na estrutura dos otólitos (AGUIRRE; LOMBARTE, 1999; LYCHAKOV; REBANE, 2000; MÉRIGOT; LETOURNEUR; LECOMTE-FINIGER, 2007).

Outros estudos que analisaram a morfologia dos otólitos também foram capazes de discriminar espécies congêneres em ambientes marinhos e de água doce. Avigliano et al. (2018) verificaram diferenças na forma dos otólitos entre três espécies simpátricas do gênero *Astyanax* em riachos da Mata Atlântica (Argentina), e concluíram que estes resultados podem auxiliar para futuros estudos taxonômicos e filogenéticos. Da mesma forma, HE et al. (2018) classificaram com sucesso três espécies do gênero *Scomber* da China Meridional, na Noruega e na baía de Sagami no Japão, constataram que a análise da forma do otólito pode ser uma abordagem complementar à análise morfológica e genotípica do corpo para distinguir espécies de peixes. De forma geral, esses estudos confirmam que o uso da forma do otólito pode ser utilizado como um marcador natural para identificação de espécies de peixes nos mais diversos ambientes.

Dentre os indivíduos de uma mesma espécie, as variações na forma do otólito podem estar atribuídas diretamente às características locais (MÉRIGOT; LETOURNEUR; LECOMTE-FINIGER, 2007). As populações de *C. temensis* analisadas no presente estudo,

mostraram diferenças na forma dos otólitos entre os rios amostrados, embora, tenham sido apresentadas divergências entre os métodos utilizados. Os índices de forma discriminaram mais claramente as populações de acordo com seu local de origem, mostrando que os indivíduos do rio Negro possuem uma forma otolítica diferente das populações dos rios Uatumã e Jatapú. Contudo, os descritores de Fourier indicaram que a população do rio Jatapú foi a que mais se distinguiu na matriz de dados, e mostrou uma sobreposição entre as populações dos rios Negro e Uatumã. Essas ambiguidades encontradas, sugerem que a população de *C. temensis* do rio Uatumã não possui uma forma específica de otólito. Por sua vez, foi visto que o formato do otólito das populações dos rios Negro e Jatapú são distintos, independentemente do método utilizado.

Pérez e Fabré (2013) associaram as variações encontradas nos otólitos das populações de *Pseudoplatystoma metaense* na bacia do rio Orinoco, a diferentes taxas de crescimento decorrentes do ciclo de vida das espécies e da ocupação de diferentes habitats. Embora os rios amostrados no presente estudo possuam o mesmo tipo de água e características limnológicas semelhantes (SIOLI, 1984), os peixes se encontravam submetidos a condições ambientais distintas. Os rios Negro e Jatapú são ambientes íntegros, com poucas alterações decorrentes de ação antropogênica, além da pesca. Por outro lado, a área de amostragem do rio Uatumã está situada sob influência direta da Hidrelétrica de Balbina. Nos ambientes aquáticos modificados os peixes podem exibir comportamento distintos, de forma que as interações bióticas, como competição por espaço, alimentação e reprodução ocorrem de maneiras diferentes (SILVA; FERREIRA; DEUS, 2008), influenciando diretamente no metabolismo dos peixes, que por sua vez, afetam o crescimento dos otólitos e sua forma (ALLEMAND et al., 2007).

Em estudo com base em divergências genéticas, Willis et al. (2015) mostraram que as populações de *C. temensis* se encontram espacialmente estruturadas em rios amazônicos, com pouca troca de genes entre localidades, o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo. Os autores sugeriram a distância geográfica ao longo do processo evolutivo, atrelado ao comportamento sedentário da espécie, como fatores que contribuiriam para a diversidade genética entre as populações. Esse padrão espacial indica que o manejo dessa espécie precisa ser baseado em estoques locais. No entanto, a falta de dados básicos sobre as unidades populacionais da maioria dos peixes neotropicais exploradas, ainda é um grande obstáculo para o desenvolvimento de um manejo eficaz e sustentável desses recursos (WILLIS et al., 2015).

Portanto, os descritores de forma (AFE e índice de forma) utilizado no presente estudo, podem ser considerados técnicas adequadas para diferenciação da forma dos otólitos *sagitta* em

ciclídeos, devido a seu alto percentual de classificação (TUSET et al., 2003). Ainda, estudos mostram que o uso combinado dessas análises morfométricas com a microquímica de otólitos, podem ser uma ferramenta potencialmente útil para estudar deslocamentos de peixes em ambientes de água doce (AVIGLIANO; MARTINEZ; VOLPEDO, 2014). No entanto, estudos adicionais são necessários para investigar a influência de fatores genéticos e sua combinação com fatores ambientais e bióticos sobre a forma dos otólitos entre diferentes espécies e populações.

CONCLUSÃO

As análises morfológicas mostraram que os otólitos podem ser utilizados para diferenciação de espécies e populações do gênero *Cichla*. Dentre as técnicas utilizadas, os índices de forma foram mais eficientes do que Análise Elíptica de Fourier para discriminar a forma dos otólitos *sagittae*, tanto a nível interespecífico, quanto a intraespecífico. Sendo assim, a análise da forma do otólito pode ser vista como uma ferramenta eficaz para discriminação de espécies com características fenotípicas estritamente semelhantes e também para identificação de unidades populacionais, o que contribui para melhor gestão dos recursos pesqueiros de águas interiores.

SÍNTESE

O presente estudo exibiu resultados de duas abordagens morfométricas realizado sobre otólitos de espécies pertencentes ao gênero *Cichla* em rios da bacia Amazônica. A primeira abordagem utilizou-se técnicas morfométricas tradicionais (morfometria linear) para estabelecer relações entre as medidas do otólito e do corpo da espécie *C. temensis*. Os resultados dos modelos de regressão linear para as variáveis analisadas (peso e o comprimento) mostraram bons ajustes, principalmente para a variável peso, indicando que as dimensões dos otólitos podem ser bons preditores das medidas corporais dos peixes.

Na segunda abordagem, foi utilizado a morfometria geométrica para diferenciação da forma dos otólitos *sagittae* entre três espécies de tucunaré *Cichla* spp. e três populações de *C. temensis* de diferentes rios da bacia Amazônica. Os resultados mostraram que a forma dos otólitos *sagittae* foram estaticamente diferentes para os ambos grupos analisados. Sedo assim, o presente estudo sugere que forma dos otólitos pode ser utilizados para identificação de espécies e populações do gênero *Cichla*. No entanto, se faz necessário mais estudos para avaliar os efeitos ambientais e genéticos que atuam sobre a forma dos otólitos.

REFERÊNCIAS

- AGÜERA, A.; BROPHY, D. Use of sagittal otolith shape analysis to discriminate Northeast Atlantic and Western Mediterranean stocks of Atlantic saury, *Scomberesox saurus saurus* (Walbaum). **Fisheries Research**, v. 110, n. 3, p. 465–471, 2011. DOI: 10.1016/j.fishres.2011.06.003.
- AGUIRRE, H.; LOMBARTE, A. Ecomorphological comparisons of sagittae in *Mullus barbatus* and *M. surmuletus*. **Journal of Fish Biology**, v. 55, n. 1, p. 105–114, 1999. DOI: 10.1006/jfbi.1999.0974.
- ALLEMAND, D.; MAYER-GOSTAN, N.; PONTUAL, H.; BOEUF, G.; PAYAN, Patrick. Fish otolith calcification in relation to endolymph chemistry. **Handbook of Biomineralization: Biological aspects and structure formation**, p. 291–308, 2007.
- ANDERSON, M. J. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. **Biometrics**, v. 62, n. 1, p. 245–253, 2006.
- ANDRADE, F.; SCHNEIDER, H.; FARIAS, I.; FELDBERG, E.; SAMPAIO, I. Análise filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*Cichla*, Perciformes), com registro de hibridização em diferentes pontos da bacia Amazônica. **Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA**, v. 1, n. 1, p. 1–11, 2001.
- AVIGLIANO, E.; DOMANICO, A.; SÁNCHEZ, S.; VOLPEDO, A. V. Otolith elemental fingerprint and scale and otolith morphometry in *Prochilodus lineatus* provide identification of natal nurseries. **Fisheries Research**, v. 186, p. 1–10, 2017.
- AVIGLIANO, E.; MARTINEZ, C. F. R.; VOLPEDO, A. V. Combined use of otolith microchemistry and morphometry as indicators of the habitat of the silverside (*Odontesthes bonariensis*) in a freshwater–estuarine environment. **Fisheries Research**, v. 149, p. 55–60, 2014.
- AVIGLIANO, E.; ROLÓN, M. E.; ROSSO, J. J.; MABRAGAÑA, E.; VOLPEDO, Alejandra Vanina. Using otolith morphometry for the identification of three sympatric and morphologically similar species of *Astyanax* from the Atlantic Rain Forest (Argentina). **Environmental Biology of Fishes**, v. 101, n. 9, p. 1319–1328, 2018.
- BIRD, J. L.; EPPLER, D. T.; CHECKLEY JR, D. M. Comparisons of herring otoliths using Fourier series shape analysis. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 43, n. 6, p. 1228–1234, 1986.
- CADRIN, S. X.; FRIEDLAND, K. D. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. **Fisheries Research**, v. 43, n. 1–3, p. 129–139, 1999.
- CAMPANA, S. E.; CASSELMAN, J. M. Stock discrimination using otolith shape analysis. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 50, n. 5, p. 1062–1083, 1993. DOI: 10.1139/f93-123.
- CAMPOS, C. P.; FREITAS, C. E. C.; AMADIO, S. Growth of the *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae) from the middle rio Negro, Amazonas, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 2, p. 413–420, 2015.
- CARDINALE, M.; DOERING-ARJES, P.; KASTOWSKY, M.; MOSEGAARD, H. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 61, n. 2, p. 158–167, 2004. DOI: 10.1139/f03-151.

- COSTA, R. M. R.; FABRÉ, N. N.; AMADIO, S. A.; TUSET, V. M. Plasticity in the shape and growth pattern of asteriscus otolith of black prochilodus *Prochilodus nigricans* (Teleostei: Characiformes: Prochilodontidae) freshwater Neotropical migratory fish. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 4, 2018.
- DUARTE-NETO, P.; LESSA, R.; STOSIC, B.; MORIZE, E. The use of sagittal otoliths in discriminating stocks of common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) off northeastern Brazil using multishape descriptors. **ICES Journal of Marine Science**, v. 65, n. 7, p. 1144–1152, 2008. DOI: 10.1093/icesjms/fsn090.
- FREITAS, C. E. C.; RIVAS, A. A. F. A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Ocidental. **Ciência e cultura**, v. 58, n. 3, p. 30–32, 2006.
- FRIENDLY, M.; FOX, J. **Candisc: visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis (Version R package version 0.6-5)**, 2017.
- 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. 242–251, 2015. DOI: 10.1111/eff.12142.
- HE, T.; CHENG, J.; QIN, J. G.; LI, Y.; GAO, T. X. Comparative analysis of otolith morphology in three species of *Scomber*. **Ichthyological Research**, v. 65, n. 2, p. 192–201, 2018. DOI: 10.1007/s10228-017-0605-4.
- HOLLEY, M. H.; M., M. J.; THOMÉ-SOUZA, M.; FORSBERG, B. R. Analysis of the trophy sport fishery for the speckled peacock bass in the Rio Negro River, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v. 15, n. 2, p. 93–98, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2400.2007.00587.x.
- INOMATA, S. O.; FREITAS, C. E. C. Fish landings in Barcelos, in the middle Negro River region, Amazonas. **WIT Trans Ecol Environ**, v. 192, p. 67–76, 2015.
- IWATA, H.; UKAI, Y. SHAPE: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. **The Journal of heredity**, v. 93, n. 5, p. 384–385, 2002. DOI: 10.1093/jhered/93.5.384.
- JEMAA, S.; BACHA, M.; KHALAF, G.; DESSAILLY, D.; RABHI, K.; AMARA, R. What can otolith shape analysis tell us about population structure of the European sardine, *Sardina pilchardus*, from Atlantic and Mediterranean waters? **Journal of Sea Research**, v. 96, p. 11–17, 2015. DOI: 10.1016/j.seares.2014.11.002.
- JEPSEN, D. B.; WINEMILLER, K. O.; TAPHORN, D. C. Temporal patterns of resource partitioning among *Cichla* species in a Venezuelan blackwater river. **Journal of Fish Biology**, v. 51, n. 6, p. 1085–1108, 1997.
- KUHL, F. P.; GIARDINA, C. R. Elliptic Fourier Features of a Closed Contour. **Computer Graphics and Image Processing**, v. 18, p. 236–258, 1982.
- KULLANDER, S. O.; FERREIRA, E. J. G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 17, n. 4, p. 289–398, 2006.
- LESTREL, P. E. **Fourier descriptors and their applications in biology**. Cambridge University Press, 1997.
- LYCHAKOV, D. V.; REBANE, Y. T. Otolith regularities. **Hearing research**, v. 143, n. 1–2, p. 83–102, 2000.

- MACARTHUR, R. H. On the relative abundance of bird. p. 293–295, 1952.
- MCLACHLAN, A. J.; LADLE, R. J. Barriers to adaptive reasoning in community ecology. **Biological Reviews**, v. 86, n. 3, p. 543–548, 2011.
- MERELES, M. A.; SOUSA, R. G. C.; FURTADO, C. L. C.; FREITAS, C. E. C. F. Relações biométricas entre dimensões do corpo e otólito do *Cichla temensis* Humboldt, 1821 da bacia do médio rio Negro. **Scientia Amazonia**, v. 9, n. 2, p. 1–10, 2020.
- MÉRIGOT, B.; LETOURNEUR, Y.; LECOMTE-FINIGER, Raymonde. Characterization of local populations of the common sole *Solea solea* (Pisces, Soleidae) in the NW Mediterranean through otolith morphometrics and shape analysis. **Marine Biology**, [S. l.], v. 151, n. 3, p. 997–1008, 2007.
- NOLF, D. **Otolithi piscium**. Lubrecht & Cramer, Limited, 1985.
- OKSANEN, J. et al. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-3. **Vienna: R Foundation for Statistical Computing**. [Google Scholar], [S. l.], 2016.
- PANFILI, J.; PONTUAL, H.; TROADEC, H.; WRIGH, P. J. Manual of fish sclerochronology, 2002.
- PÉREZ, A.; FABRÉ, N. N. Spatial population structure of the Neotropical tiger catfish *Pseudoplatystoma metaense*: Skull and otolith shape variation. **Journal of Fish Biology**, v. 82, n. 5, p. 1453–1468, 2013. DOI: 10.1111/jfb.12046.
- PONTON, D. Is geometric morphometrics efficient for comparing otolith shape of different fish species? **Journal of Morphology**, v. 267, n. 6, p. 750–757, 2006.
- POSTUMA, K. H. The nucleus of the herring otolith as a racial character. **ICES Journal of Marine Science**, v. 35, n. 2, p. 121–129, 1974.
- RASHIDABADI, F.; ABDOLI, A.; TAJBAKHS, F.; NEJAT, F.; AVIGLIANO, E. Unravelling the stock structure of the Persian brown trout by otolith and scale shape. **Journal of Fish Biology**, v. 96, n. 2, p. 307–315, 2020.
- RÉ, P. Anéis diários de crescimento nos otólitos dos estados larvares dos peixes: prospectivas em biologia pesqueira. **Professor Germano da Fonseca Sacarrão**, p. 97–124, 1994.
- REIMANN, C.; FILZMOSER, P.; FABIAN, K.; HRON, K.; BIRKE, M.; DEMETRIADES, A.; DINELLI, E.; LADENBERGER, A.; TEAM, The GEMAS Project. The concept of compositional data analysis in practice—total major element concentrations in agricultural and grazing land soils of Europe. **Science of the total environment**, v. 426, p. 196–210, 2012.
- REISS, P.; ABLE, K. W.; NUNES, M. S.; HRBEK, T. Color pattern variation in *Cichla temensis* (Perciformes: Cichlidae): Resolution based on morphological, molecular, and reproductive data. **Neotropical Ichthyology**, v. 10, n. 1, p. 59–70, 2012.
- RUSS, J. C. **Computer microscopy: the measurement and analysis of images**. New York: Plenum Press, , 1990.
- SABAJ, M. H.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H.; WILLIS, S. C.; HEMRAJ, D. D.; TAPHORN, D. C.; WINEMILLER, K. O. *Cichla cataractae* (Cichliformes: Cichlidae), new species of peacock bass from the Essequibo Basin, Guyana and Venezuela. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 167, n. 1, p. 69–86, 2020.
- SILVA, C. C.; FERREIRA, E. J. G.; DEUS, C. P. Diet of five species of Hemiodontidae (Teleostei, Characiformes) in the area of influence of the Balbina reservoir, Uatuma River, State of Amazonas, Brazil. v. 98, n. 4, P. 464-468, 2008.

- SIOLI, H. The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. *In: The Amazon*. Springer, 1984. p. 127–165.
- 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, n. 1, p. 76–87, 2016. DOI: 10.1111/fme.12166.
- STIASSNY, M. L. J. Cichlid familial intrarelationships and the placement of the neotropical genus *Cichla* (Perciformes, Labroidae). **Journal of Natural History**, v. 21, n. 5, p. 1311–1331, 1987.
- STRANSKY, C.; MACLELLAN, S. E. Species separation and zoogeography of redbass and rockfish (genus *Sebastes*) by otolith shape analysis. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 62, n. 10, p. 2265–2276, 2005.
- TORRES, G. J.; NORBIS, W.; LORENZO, M. I. Variations in the measures of argentine hake (*Merluccius hubbsi*) rings otoliths during their first-year: evidence for stocks separation? **Sci. Mar**, v. 60, n. 2–3, p. 331–338, 1996.
- TUSET, V. M.; LOZANO, I. J.; GONZÁLEZ, J. A.; PERTUSA, J. F.; GARCÍA-DÍAZ, M. M. Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 19, n. 2, p. 88–93, 2003. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2003.00344.x.
- TUSET, V. M. et al. Otolith shape lends support to the sensory drive hypothesis in rockfishes. **Journal of evolutionary biology**, v. 29, n. 10, p. 2083–2097, 2016.
- VIGNON, M.; MORAT, F. Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. **Marine Ecology Progress Series**, v. 411, p. 231–241, 2010. DOI: 10.3354/meps08651.
- WALTHER, B. D.; THORROLD, S. R. Water, not food, contributes the majority of strontium and barium deposited in the otoliths of a marine fish. **Marine Ecology Progress Series**, v. 311, p. 125–130, 2006.
- WILLIS, S. C.; MACRANDER, J.; FARIAS, I. P.; ORTÍ, Guillermo. Simultaneous delimitation of species and quantification of interspecific hybridization in Amazonian peacock cichlids (genus *cichla*) using multi-locus data. **BMC evolutionary biology**, v. 12, p. 96, 2012. DOI: 10.1186/1471-2148-12-96.
- WILLIS, S. C.; NUNES, M. S.; MONTAÑA, C. G.; FARIAS, I. P.; LOVEJOY, NATHAN R. Systematics, biogeography, and evolution of the Neotropical peacock basses *Cichla* (Perciformes: Cichlidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 1, p. 291–307, 2007. DOI: 10.1016/j.ympev.2006.12.014.
- 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**, v. 16, n. 6, p. 1345–1357, 2015.
- WINEMILLER, K. O. Ecology of peacock cichlids (*Cichla* spp.) in Venezuela. **Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences**, v. 9, p. 93–112, 2001.
- WORTHMANN, H. A relação entre o desenvolvimento do otólito e o crescimento do peixe como auxílio na distinção de populações de Pescada (*Plagioscion squamosissimus*). **Acta Amazonica**, v. 9, n. 3, p. 573–586, 1979.

ZABEL, R. W.; HAUGHT, K.; CHITTARO, P. M. Variability in fish size/otolith radius relationships among populations of *Chinook salmon*. **Environmental Biology of Fishes**, v. 89, n. 3, p. 267–278, 2010. DOI: 10.1007/s10641-010-9678-x.