



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Composição isotópica e contribuição relativa de fontes alimentares em monocultivo de lambari-dorabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) e em cultivo integrado com camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e curimatá (*Prochilodus lineatus*)

MSc. Andre Zuffo Boaratti

Jaboticabal, SP

2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Composição isotópica e contribuição relativa de fontes alimentares em monocultivo de lambari-dorabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) e em cultivo integrado com camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e curimatá (*Prochilodus lineatus*)

MSc. Andre Zuffo Boaratti

Orientadora: Prof.^a Dra. Patricia Maria Contente Moraes Valenti

Coorientador: Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal, SP

2022

B662c Boaratti, Andre Zuffo
Composição isotópica e contribuição relativa de fontes alimentares em monocultivo de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) e em cultivo integrado com camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e curimatã (*Prochilodus lineatus*) / Andre Zuffo Boaratti. -- Jaboticabal, 2022

98 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2022

Orientadora: Patricia Maria Contente Moraes Valenti

Coorientador: Vladimir Eliodoro Costa

Banca examinadora: Eduardo Luis Cupertino Ballester, Gustavo Henrique Gonzaga da Silva, Joel Mesa Hormaza, Marcello Villar Boock

Bibliografia

1. Isótopos estáveis. 2. Fontes de alimento. 3. Sistema integrado de cultivo. 4. Fator de discriminação. 5. Lambari. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 636.3.043



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Centro de Aqüicultura da Unesp - CAUNESP



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Composição isotópica e contribuição relativa de fontes alimentares em monocultivo de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) e em cultivo integrado com camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e curimatá (*Prochilodus lineatus*)

AUTOR: ANDRE ZUFFO BOARATTI

ORIENTADORA: PATRICIA MARIA CONTENTE MORAES VALENTI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. PATRICIA MARIA CONTENTE MORAES VALENTI (Participação Virtual)
/ Centro de Aqüicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP

Prof. Dr. JOEL MESA HORMAZA (Participação Virtual)
Depto. de Biofísica e Farmacologia / IBB - UNESP

Pesquisador Científico MARCELLO VILLAR BOOCK (Participação Virtual)
Unidade de P&D de Pirassununga / Agência Paulista de tecnologia dos
agronegócios – APTA, Pirassununga-SP

Prof. Dr. EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia, Laboratório de Carcinicultura / Universidade Federal do Paraná, UFPR,
Palotina-PR

Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE GONZAGA DA SILVA (Participação Virtual)
Laboratório de Limnologia e Qualidade de Água - LIMNOAQUA, Departamento de Biociências /
Universidade Federal Rural do Semi-árido, UFRSA, Mossoró-RN

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2022

LISTA DE ABREVIações

^{12}C	Isótopo Estável de Carbono com 12 nêutrons
^{13}C	Isótopo Estável de Carbono com 13 nêutrons
^{14}N	Isótopo Estável de Nitrogênio com 14 nêutrons
^{15}N	Isótopo Estável de Nitrogênio com 15 nêutrons
$\delta^{13}\text{C}$	Razão isotópica de carbono-13
$\delta^{15}\text{N}$	Razão isotópica de nitrogênio-15
Δ	Fator de discriminação isotópica
ACE	Análise de conteúdo estomacal
AIE	Análise dos isótopos estáveis
C	Carbono
CAA	Conversão alimentar aparente
IE	Isótopos estáveis
IMTA	Aquicultura multitrófica integrada (<i>Integrated Multi-Trophic Aquaculture</i>)
LM	Tratamento Monocultivo de <i>Astyanax lacustris</i>
LP	Tratamento Cultivo integrado de <i>Astyanax lacustris</i> e <i>Macrobrachium amazonicum</i>
LPC	Tratamento Cultivo integrado de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Macrobrachium amazonicum</i> e <i>Prochilodus lineatus</i>
MIB	Macroinvertebrados bentônicos
N	Nitrogênio
OD	Oxigênio Dissolvido
SIMM	Modelos de Mistura de Isótopos Estáveis (<i>Stable Isotope Mixing Model</i>)
simmr	“ <i>Stable Isotope Mixing Models in R</i> ” (Pacote Computacional)
SST	Sólidos suspensos totais

DEDICATÓRIA

“Senhor, ensina-nos a receber as bênçãos do serviço! Ainda não sabemos, Amado Jesus, compreender a extensão do trabalho que nos confiaste! Permite, Senhor, possamos formar em nossa alma a convicção de que a Obra do Mundo te pertence, a fim de que a vaidade não se insinue em nossos corações com as aparências do bem!

Dá-nos, Mestre, o espírito de consagração aos nossos deveres e desapego aos resultados que pertencem ao teu amor.

Ensina-nos a agir sem as algemas das paixões, para que reconheçamos os teus santos objetivos!

Senhor Amorável, ajuda-nos a ser teus leais servidores,

Mestre Amoroso, concede-nos, ainda, as tuas lições,

Juíz Reto, conduze-nos aos caminhos diretos,

Médico Sublime, restaura-nos a saúde,

Pastor Compassivo, guia-nos à frente das águas vivas,

Engenheiro Sábio, dá-nos teu roteiro,

Administrador Generoso, inspira-nos a tarefa,

Semeador do Bem, ensina-nos a cultivar o campo de nossas almas,

Carpinteiro Divino, auxilia-nos a construir nossa casa eterna,

Oleiro Cuidadoso, corrige-nos o vaso do coração,

Amigo Desvelado, sê indulgente, ainda, para com as nossas fraquezas,

Príncipe da Paz, compadece-te de nosso espírito frágil, abre nossos olhos e mostra-nos a estrada de teu Reino!”

Prece de Aniceto em “Os Mensageiros” de André Luiz

AGRADECIMENTOS

A Deus, Jesus Cristo e aos amigos espirituais.

À minha orientadora Prof.^a Dra. Patricia Maria Contente Moraes Valenti, pelo apoio e orientação ao longo deste período de doutorado.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa, pelas orientações e parceria nas análises de Isótopos Estáveis.

Ao Prof. Dr. Wagner Cotroni Valenti, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, e por todos os ensinamentos passados.

À banca examinadora de qualificação e defesa, Prof. Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester, Prof.^a Dra. Gelcirene de Albuquerque Costa, Prof. Dr. Gustavo Henrique Gonzaga Da Silva, Prof. Dr. Joel Mesa Hormaza, Prof. Dr. Marcelo Villar Boock, pela contribuição para a melhoria desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Joel Mesa Hormaza, por ter disponibilizado tempo e dedicação para ensinar a utilizar os modelos de mistura.

Ao Centro de Aquicultura da Unesp, alunos, professores e funcionários.

A todos do Setor de Carcinicultura do CAUNESP pelo apoio, ajuda no experimento e amizade, em especial ao Roberto Polachini e aos colegas que trabalharam junto do projeto ao qual este trabalho fez parte, Aline, Dalton, Julia e Paulo.

À toda equipe do Centro de Isótopos Estáveis – CIE, Botucatu, onde foram realizadas as análises de isótopos estáveis.

À minha esposa Leticia Ap. Revolti Praxedes Zuffo, pela lealdade, paciência e muito amor.

À minha família de sangue e espiritual.

À FAPESP e CNPq pela concessão da Bolsa de Estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigado!

APOIO FINANCEIRO E PARCERIAS

CNPQ, bolsa de doutorado de 01/03/2018 a 31/01/2019 (140910/2018).



FAPESP, bolsa de doutorado de 01/02/2019 a 28/02/2022 (2018/15702-4).



Ao Sr. Jomar Delafrate, proprietário da Piscicultura comercial Sítio Sobradinho, Município de Buritizal - SP, Brasil (doação dos alevinos de lambaris).

À Sra. Suely Rodrigues, proprietária da Piscicultura comercial Projeto Peixes, Município de Sales Oliveira – SP, Brasil (doação dos alevinos de curimatás).

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	iv
DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS.....	vi
APOIO FINANCEIRO E PARCERIAS	vii
RESUMO GERAL.....	10
GENERAL ABSTRACT	12
Capítulo 1 – Introdução Geral	14
1. INTRODUÇÃO	15
1. OBJETIVOS	20
2. REFERÊNCIAS	22
Capítulo 2 – Determinação dos Fatores de Discriminação Isotópica de C e N entre Ração Comercial e Tecido Muscular de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Macrobrachium amazonicum</i> e <i>Prochilodus lineatus</i>	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1. INTRODUÇÃO	31
2. MATERIAIS E MÉTODOS	32
2.1. Unidades experimentais e delineamento experimental	32
2.2. Obtenção, povoamento e alimentação dos animais.....	33
2.3. Características Físicas e Químicas da Água	34
2.4. Dados biométricos.....	34
2.5. Coleta e preparo das amostras para AIE	35
2.6. Análise dos isótopos estáveis.....	36
2.7. Discriminação isotópica entre consumidores e ração comercial.....	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.1. Dados biométricos.....	38
3.2. Discriminação isotópica entre consumidores e ração comercial.....	39
4. REFERÊNCIAS.....	47
Capítulo 3 - Contribuição relativa de fontes alimentares em monocultivo de lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax lacustris</i>) e em cultivo integrado com camarão-da-amazônia (<i>Macrobrachium amazonicum</i>) e curimatá (<i>Prochilodus lineatus</i>).....	50
RESUMO	51
ABSTRACT	52
1. INTRODUÇÃO	53
2. MATERIAIS E MÉTODOS	55
2.1. Manejo dos viveiros e delineamento experimental.....	55

2.2. Obtenção, povoamento e alimentação dos animais.....	56
2.3. Características Físicas e Químicas da Água	58
2.4. Variáveis zootécnicas	59
2.5. Coletas para análises de Isótopos Estáveis	60
2.5.1 Amostras de músculo e fezes	60
2.5.2. Amostras de Séston.....	61
2.5.3. Sedimento e Macroinvertebrados bentônicos (MIB).....	61
2.5.4. Ração comercial	62
2.6. Preparo das amostras para análise de isótopos estáveis.....	63
2.7. Análise dos isótopos estáveis.....	64
2.8. Análise dos dados e Determinação das principais fontes de alimento.....	64
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
3.1. Variáveis zootécnicas	65
3.2. Determinação das principais fontes de alimento	67
4. REFERÊNCIAS	81
Capítulo 4 – Considerações Finais e Conclusões.....	86
ANEXOS	89

RESUMO GERAL

Este trabalho teve como principal objetivo determinar a composição isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e a contribuição qualitativa e quantitativa das principais fontes de alimento do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*), camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e curimatá (*Prochilodus lineatus*), cultivados em viveiros de fundo natural, em sistemas de monocultivo de *A. lacustris* (LM), cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum* (LP) e cultivo integrado com as três espécies, sendo *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* (LPC). Primeiramente, foi realizado um ensaio para obtenção dos fatores de discriminação isotópica (Δ) entre os consumidores e a fonte padrão de alimento (ração comercial). Esses valores são importantes para corrigir o sinal isotópico das fontes de alimento, visando aplicação dos modelos de misturas. Foram realizados ensaios individuais para as três espécies. Nestes foram utilizadas uma ração comercial de teor proteico 36%, sendo esta a mesma ração usada no experimento de engorda. A seguir, foram coletados tecidos da musculatura dos animais para análise de isótopos estáveis. Após a estabilização do sinal isotópico da musculatura em relação a ração comercial, o Δ foi calculado. Os resultados para *A. lacustris* foram $\Delta^{13}\text{C}$ de 2,0 ‰ e $\Delta^{15}\text{N}$ de 2,9 ‰; para *M. amazonicum* $\Delta^{13}\text{C}$ de 2,3 ‰ e $\Delta^{15}\text{N}$ de 3,0 ‰; e para *P. lineatus* $\Delta^{13}\text{C}$ de 1,8 ‰ e $\Delta^{15}\text{N}$ de 3,1 ‰. Após a obtenção dos fatores de discriminação isotópica, foi realizado um experimento de engorda, para determinar quais são as fontes de alimento realmente incorporadas na biomassa das três espécies. Esse experimento teve três tratamentos com quatro réplicas. Os tratamentos foram Lambari Monocultivo (LM), Lambari e Camarão (LP) e Lambari, Camarão e Curimatá (LPC), todos em viveiros de fundo natural. O manejo dos viveiros ocorreu de acordo com o mesmo usado pelos produtores, utilizando uma ração comercial. Foram obtidos os sinais isotópicos da musculatura dos três consumidores e de todas as possíveis fontes de alimentos disponíveis nos sistemas de cultivos. A seguir, foi aplicada a análise de isótopos estáveis por meio de modelos de misturas Bayesianos, com validação por teste de diagnóstico, para a determinação das fontes de alimentos que foram incorporadas na musculatura dos consumidores. Observou-se que a ração foi a principal fonte de alimento para o *A. lacustris* (51 a

75%), enquanto que as demais fontes de alimento apresentaram participação individual reduzida. No entanto, as fontes autóctones somadas alcançaram de 25 a 49% do alimento incorporado. *M. amazonicum* apresentou baixa incorporação de ração comercial, e os demais alimentos apresentaram contribuições heterogêneas sem que alguma fonte de alimento se destacasse. Os resultados sugerem que *P. lineatus* pode apresentar seletividade de absorção e incorporação de recursos do sedimento. A ração foi a principal fonte de alimento incorporada quando disponível para consumo, mas na ausência desta, o *P. lineatus* pode se desenvolver com os recursos autóctones.

Palavras-chave: Isótopos estáveis, fontes de alimento, sistema integrado de cultivo, fator de discriminação, lambari-do-rabo-amarelo, camarão-da-amazônia, curimatá.

GENERAL ABSTRACT

The main objective of this work was to determine the isotopic composition of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the qualitative and quantitative contribution of the main food sources of the yellow-tail lambari (*Astyanax lacustris*), Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*) and curimbata (*Prochilodus lineatus*), reared in monoculture system of *A. lacustris* (LM), integrated system of *A. lacustris* with *M. amazonicum* (LP) and integrated system with the three species *A. lacustris*, *M. amazonicum* and *P. lineatus* (LPC), reared in earthen ponds. First of all, an trial was carried out to obtain the isotopic discrimination factors (Δ) between consumers and the standard food source (commercial feed). These values are important to correct the isotopic signal of food sources for applying mixing models. Individual trials were carried out for the three species, in which a commercial feed of 36% protein content was used. It was the same commercial feed used in the grow-out phase of the experiment. Next, tissues from the animal's musculature were collected for stable isotope analysis. After stabilizing the isotopic signal of the musculature in relation to the commercial feed, the Δ was calculated. The results for *A. lacustris* were $\Delta^{13}\text{C}$ of 2.0 ‰ and $\Delta^{15}\text{N}$ of 2.9 ‰; for *M. amazonicum* $\Delta^{13}\text{C}$ of 2.3 ‰ and $\Delta^{15}\text{N}$ of 3.0 ‰; and for *P. lineatus* $\Delta^{13}\text{C}$ of 1.8 ‰ and $\Delta^{15}\text{N}$ of 3.1 ‰. After obtaining the isotopic discrimination factors, a grow-out experiment was carried out to determine which food sources were actually incorporated into the biomass of the three species. This experiment had three treatments with four replicates. The treatments were Lambari Monoculture (LM), Lambari and Prawn (LP) and Lambari, Prawn and Curimbatá (LPC), all in earth ponds. The management of the culture was done according to commercial production and using a commercial feed. Isotopic signals were obtained from the muscle tissue of the three consumers and all possible food sources available in the culture systems. Then, the analysis of stable isotopes was applied through Bayesian mixture models, with validation by diagnostic test to determine the food sources that were incorporated into the muscles of consumers. The commercial feed was the primary food source for *A. lacustris* (51 to 75%), while the other food sources had reduced individual participation, but the autochthonous sources added together reached from 25 to 49% of the incorporated food. *M. amazonicum*

presented low incorporation of commercial feed, and the other foods presented heterogeneous contributions without any food source standing out. The results suggested that *P. lineatus* may present selectivity of absorption and incorporation of sediment resources. Commercial feed was the main source of food incorporated when available for consumption, but in its absence, *P. lineatus* can develop with autochthonous resources.

Keywords: Stable isotopes, food sources, integrated cultivation system, discrimination factor, yellow tail lambari, Amazon river prawn, curimbata.

Capítulo 1

Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO

A Aquicultura no Brasil e no mundo está baseada principalmente em sistemas de monocultivo intensivamente arraçados (Valenti et al., 2021). Essa é uma prática pouco eficiente, pois menos de 20% da dieta fornecida aos animais é realmente transformada em biomassa e mais de 80% da dieta é perdida no efluente não promovendo retorno à produção (Valenti et al., 2011; Boyd et al., 2020). Assim, boa parte da alimentação fornecida é transformada em resíduos poluidores nos efluentes e em forma de gases. Outra parte é incorporada em organismos como fitoplâncton e zooplâncton, que embora possam vir a ser uma fonte de alimento, não têm valor comercial direto (Henry-Silva & Camargo 2018; Flickinger et al., 2019a; Flickinger et al., 2019b), reduzindo a sustentabilidade do ponto de vista ambiental e econômico. Dessa forma, a implementação de sistemas integrados que aperfeiçoem o uso das instalações e da mão-de-obra, mas principalmente a utilização dos insumos e recursos naturais pode ser uma alternativa para melhorar a sustentabilidade da aquicultura (Valenti, 2008; Boyd et al., 2020; Valenti et al., 2021).

Aquicultura multitrófica integrada (*Integrated Multi-Trophic Aquaculture* - IMTA) é o cultivo de espécies de diferentes níveis tróficos com funções complementares no ecossistema, de forma que permita alimentação das espécies com resíduos, nutrientes e/ou subprodutos da espécie principal, aproveitando a complementariedade das funções ecossistêmicas das espécies cultivadas (Chopin, 2013; Chopin et al., 2013; Boyd et al., 2020). Os cultivos em IMTA podem ser desenvolvidos tanto em sistemas marinhos como de água doce, incluindo várias combinações de espécies. Essas combinações podem envolver a criação de organismos aquáticos na mesma unidade de área, ocupando níveis tróficos diferentes como espécies de mariscos, camarões e peixes; camarões e algas; peixes e moluscos entre outros (Boyd et al., 2020). Sistemas integrados também podem ser realizados em cultivo consorciado de arroz com peixe (rizipiscicultura) ou arroz com camarão (rizicarcinicultura) (Marques et al., 2016).

Algumas espécies de camarões de água doce são procuradas para compor os sistemas integrados de aquicultura. Estas apresentam boa adaptação a uma variedade de peixes e crustáceos, grande valor comercial e potencial de mercado, tornando a

produção muito mais rentável (New et al., 2010; Marques et al., 2016). Além disso, podem colaborar na melhoria da qualidade de água dos viveiros (Flickinger et al., 2019a; Flickinger et al., 2019b). No Brasil, cultivos integrados em água doce vêm sendo realizados com espécies como camarão-da-malásia (*Macrobrachium rosenbergii*), e tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) (Santos & Valenti, 2002; Uddin et al., 2007; Rodrigues et al., 2019a; Rodrigues et al., 2019b). Contudo, por se tratarem de espécies exóticas, o perigo da liberação acidental na natureza poderá ocasionar impactos, uma vez que estas espécies podem causar alterações na estrutura dos ecossistemas aquáticos.

Os rios brasileiros possuem uma grande biodiversidade aquática. Nesses ambientes, são encontradas várias espécies de camarões de água doce, bem como, diferentes espécies de peixes. Entre essas espécies, destacam-se o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*, Lütken, 1875), o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*, Heller, 1862) e o curimatá (*Prochilodus lineatus*, Valenciennes 1837), sendo todas espécies nativas com grande potencial para o cultivo.

O camarão da espécie *M. amazonicum* pertence à Ordem Decapoda, da família Palaemonidae. Em seu ambiente natural, é considerada espécie onívora e oportunista durante as fases juvenil e adulta (Odinetz-Collart, 1988; Valenti, 1996; Maciel & Valenti, 2009; Moraes-Valenti & Valenti, 2010; Marques et al., 2016). Por serem onívoros, os camarões de água doce de cultivo, podem aceitar alimentos tanto de origens autóctone quanto alóctone, podendo se alimentar de invertebrados bentônicos, oligoquetos, larvas de insetos e ração com alto teor de proteína animal (Valenti, 1996). O *M. amazonicum* é comercialmente explorado pela pesca artesanal nas Regiões Norte e Nordeste do Brasil (Odinetz-Collart, 1993; Moraes-Riodades & Valenti, 2001). Apresenta tecnologia de cultivo desenvolvida para todo seu processo de produção (Moraes-Valenti & Valenti, 2010). Podendo ser realizada tanto para consumo humano quanto para produção de iscas que podem ser comercializadas no uso na pesca esportiva (Rodrigues et al., 2019a; Valenti et al., 2021).

Outra espécie nativa que vem sendo estudada e já bastante cultivada é o *A. lacustris* (antigo *Astyanax bimaculatus*; Lucena & Soares, 2016). Essa espécie é encontrada na região sudeste do Brasil. Possui hábito alimentar onívoro-oportunista,

consumindo algas, insetos, microcrustáceos, partículas de macrófitas e folhas, frutas, sementes e escamas (Esteves, 1996; Cassemiro et al., 2002; Gomiero & Braga, 2008; Garutti, 2003; Silva et al., 2012; Andrian et al., 2013; Fonseca et al., 2017; Valladão et al., 2018). O cultivo do *A. lacustris* vem crescendo no estado de São Paulo em grandes fazendas, pois apresenta elevado valor comercial na forma de isca viva para pesca esportiva e para consumo humano, apresentando altos valores comerciais em várias regiões. Por ser um peixe de pequeno porte, pode ser consumido com os ossos e até mesmo a cabeça e vísceras. Sua biomassa é constituída de partes muito ricas em vitaminas, minerais e outros nutrientes, favorecendo a segurança alimentar principalmente de populações vulneráveis (Fonseca et al., 2017). Estudos apontam o uso de espécies de lambaris como *Deuterodon iguape* (lambari-da-mata-atlântica) e do *A. lacustris* como substituto da sardinha na pesca de atum (Gonçalves et al., 2015). Além disso, o *A. lacustris* tem um bom potencial de mercado na forma de peixe enlatado (Porto-Foresti et al., 2005). Sendo essas práticas estabelecidas, logo haverá um aumento na demanda de mercado, e conseqüentemente na produção dessa espécie, podendo alcançar um crescimento exponencial em um espaço curto de tempo.

O *P. lineatus* é um peixe muito consumido, principalmente por populações de pescadores próximas de grandes rios da América do Sul. Apresenta hábito alimentar detritívoro, seguido pelo consumo de algas, sendo considerado como pertencente aos grupos tróficos inferiores (Resende et al., 1995; Sampaio et al., 2010; Freire et al., 2012; Valenti et al., 2021). A espécie apresentou potencial no cultivo integrado com tambaqui (*Colossoma macropomum*) e *M. amazonicum*, aumentando a produtividade do sistema e sendo uma alternativa para uma aquicultura mais sustentável (Franchini et al., 2020). Seu potencial é tão significativo que a espécie já foi introduzida na aquicultura da China e Vietnam (Kalous et al., 2012). O *P. lineatus* é produzido em todos os estados do Brasil, sendo considerada a quinta espécie nativa, mais produzida para o consumo humano. Em paralelo, existe também a criação, em grande escala, de juvenis para a liberação em bacias impactadas por hidrelétricas nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil (Valenti et al., 2021).

Porém, não basta apenas a escolha das espécies de acordo com seu potencial de cultivo ou de mercado. Para se obter um bom aproveitamento da exploração de um sistema aquático, é necessário compreender os processos ecológicos inerentes a esse sistema. Dentro desses processos, são incluídas as relações alimentares entre organismos e ambiente, e estas podem ser limitadas e regidas pelas mesmas leis básicas dos sistemas vivos e controladas pelo fluxo de energia (Odum, 1988). No entanto, a relação dos alimentos e seus processos dentro dos ecossistemas ainda não é muito conhecida. O processo básico na dinâmica trófica é a transferência de energia de uma parte do ecossistema para outro. A vida dentro do ecossistema depende na utilização de uma fonte de energia externa, radiação solar e uma porção desta energia incidente. Estas serão transformadas pelo processo de fotossíntese dentro da estrutura dos organismos vivos (Chapin et al., 2011). Em ambientes aquáticos, os sistemas produtivos são complexos, pois, suportam alta diversidade e um mosaico de habitats terrestres e aquáticos. Esta alta complexidade física e biológica tem motivado pesquisas a fim de compreender de forma abrangente processos ecológicos desses sistemas (Johnson et al., 1995; Thorp et al., 2006). Por isso, estudos de ecologia trófica têm revelado considerável versatilidade alimentar para a maioria dos teleósteos (Agostinho & Júlio Jr., 1999; Wootton, 1999; Abelha et al., 2001).

Para tentar compreender os sistemas de produção, a composição alimentar dos animais tem sido estudada por meio de dois procedimentos: análise de conteúdo estomacal (ACE) e análise dos isótopos estáveis (AIE) (Beaudoin et al., 1999; Oliveira et al., 2006; Silva et al., 2012; Bastos et al., 2017). A ACE é um dos métodos mais utilizados para validar a posição trófica, estratégia de alimentação e composição alimentar de um consumidor (Hyslop, 1980; Oliveira et al., 2006; Silva et al., 2012; Bastos et al., 2017). Entretanto, ACE reflete apenas o alimento ingerido pelo animal e não o que foi efetivamente aproveitado e incorporada aos tecidos, sendo assim, difícil inferir com exatidão quais e quanto das fontes alimentares estão influenciando o desenvolvimento da espécie. Além disso, a ACE representa um resultado momentâneo do consumo do indivíduo (Coman et al., 2006; Oliveira et al., 2006; Suita et al., 2016; Bastos et al., 2017). Já a AIE permite estudar relações tróficas e quanto e quais alimentos foram incorporados e aproveitados pelo consumidor ao longo de um

período de tempo de alimentação. Esta análise é considerada importante ferramenta para fisiologistas, ecólogos, zoólogos e outros pesquisadores que estudam os ciclos dos elementos e matéria no ambiente (Pereira & Benedito, 2007; Bastos et al., 2017).

A palavra isótopo é originária do grego ISO (mesmo ou igual) e TOPOS (lugar) e podem ser definidos como átomos com o mesmo número de prótons e elétrons, mas com diferente número de nêutrons no núcleo. O termo estável significa que não emite radiação, permanecendo indefinidamente sem variações no número de prótons e nêutrons ao longo do tempo (Boutton, 1991; Ducatti, 2007; Sulzman, 2007; Martínez del Rio et al., 2009). A diferença no número de nêutrons de um elemento químico estável não afeta os processos biológicos e ecológicos. No entanto, o sinal isotópico resultante desta diferença de nêutrons, torna possível distinguir e mapear um tecido ou composto em processos ecológicos e biológicos. O princípio básico da AIE, é que o sinal isotópico de um tecido animal está relacionado com sua dieta, sendo ajustado por fatores de discriminação específicos (Martínez del Rio et al., 2009).

Os isótopos estáveis (IE) dos elementos carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre (CHONS) ocorrem naturalmente e apresentam interesse biológico. Eles são os principais elementos dos ciclos hidrológico, geológico e biológico (Sulzman, 2007). O carbono-13 (^{13}C) e o nitrogênio-15 (^{15}N) são os IE mais utilizados e que apresentam grande importância nos estudos de ecologia trófica, nutrição animal (Martinelli et al., 1988; Forsberg et al., 1993; Wolf et al., 2009; Carter et al., 2019) e na aquicultura (Mahmood et al., 2016; Heldt et al., 2019; Moraes et al., 2020; Gamboa-Delgado, 2021). O carbono (C) tem como isótopo estável leve dominante o ^{12}C com seis nêutrons e o ^{13}C com sete nêutrons no núcleo, este sendo o isótopo pesado de carbono mais comum. O $\delta^{13}\text{C}$ pode ser utilizado como indicadores para o metabolismo de carboidratos, transferência de lipídios e na contribuição estrutural (Gamboa-Delgado, 2021). O nitrogênio (N), isótopo leve ^{14}N e pesado ^{15}N , tem o $\delta^{15}\text{N}$ predominantemente utilizado em estudos ecológicos devido ao seu comportamento bioacumulativo no tecido. Portanto, o $\delta^{15}\text{N}$ é mais positivo nos tecidos do que na dieta e material excretado (Martínez del Rio & Wolf, 2005; Martínez del Rio et al., 2009).

A utilização dos dois isótopos em conjunto vem sendo muito utilizada pelos pesquisadores. Esse recurso somado a utilização de modelos de misturas isotópicas,

tornam-se ferramentas muito eficientes para definição do consumo e alimentação das fontes de alimentos para espécies em sistemas naturais e controlados (Gamboa-Delgado, 2021). Uma das condições básicas do uso da AIE, como metodologia de estudos alimentares é que as fontes que compõem a dieta do animal tenham valores isotópicos distintos (Boutton, 1991). O valor isotópico de um tecido animal reflete a dieta assimilada ao longo do tempo (Tykot, 2004; Xu et al., 2008). Também é importante considerar o fator de discriminação isotópica (Δ) que ocorre devido ao acúmulo de átomos dos isótopos mais pesados nos tecidos do organismo consumidor (Fry, 2006).

1. OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo, aplicar a análise de isótopos estáveis para determinar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das fontes de alimento e consumidores nos sistemas de cultivo visando:

- Determinar os fatores de discriminação isotópica entre os consumidores, *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus*, e uma fonte padrão de alimento (ração comercial);

- Determinar a contribuição qualitativa e quantitativa das principais fontes de alimento do lambari-do-rabo-amarelo (*A. lacustris*), do camarão-da-amazônia (*M. amazonicum*) e do curimatá (*P. lineatus*), cultivados em viveiros de fundo natural, e as variações produzidas pelo cultivo integrado dessas espécies;

- Estimar se a dieta fornecida é aproveitada em maior quantidade no sistema de monocultivo ou no sistema integrado entre as três espécies.

Foram testadas as seguintes hipóteses:

1. Em sistema de monocultivo intensivamente arraçoado as principais fontes alimentares utilizadas pelo *A. lacustris* tem origem autóctone.

2. Em monocultivo de *A. lacustris* e no cultivo integrado entre as três espécies, parte significativa do carbono e nitrogênio usado para o crescimento de *A. lacustris*, do *M. amazonicum* e do *P. lineatus* tem origem na biota aquática.

3. Em cultivo integrado arraçoado, a presença do *M. amazonicum* e do *P. lineatus* não interfere nas fontes de alimentos usadas para o crescimento do *A. lacustris*.

4. Em sistema integrado arraçoado, as principais fontes de alimentos usadas no crescimento do *M. amazonicum* e do *P. lineatus* são as fezes e os resíduos de dieta alóctone fornecida ao *A. lacustris*.

5. As fontes de alimentos usadas no crescimento variam ao longo do desenvolvimento do *A. lacustris*, do *M. amazonicum* e do *P. lineatus*.

Este trabalho fez parte de um projeto amplo, envolvendo vários pesquisadores, no qual foram estudados também a produtividade, indicadores de sustentabilidade, fluxo de carbono, nitrogênio e energia em sistemas de monocultivo de *A. lacustris*, e cultivos integrados com o *M. amazonicum* e *P. lineatus*. A tese foi dividida em quatro capítulos:

- O primeiro capítulo é esta introdução geral que mostra a importância e pertinência do trabalho, justificando sua realização;
- No segundo capítulo são apresentados os estudos de fator de discriminação isotópica para as três espécies, *Astyanax lacustris*, *Macrobrachium amazonicum* e *Prochilodus lineatus* em relação à ração comercial;
- O terceiro capítulo tem como objetivo determinar quais são as fontes de alimento realmente incorporadas na biomassa das três espécies e em que proporções ocorrem essas incorporações. Para o *A. lacustris*, o estudo foi feito em monocultivo, cultivo integrado com *M. amazonicum*, e com este e o *P. lineatus*. Para *M. amazonicum*, o estudo foi realizado em sistemas integrados com *A. lacustris* e com este e *P. lineatus*. Para *P. lineatus*, o estudo foi feito dentro de um sistema de cultivo integrado com as três espécies.
- O quarto capítulo apresenta as conclusões da tese.

2. REFERÊNCIAS

- Abelha, M. C. F., Agostinho, A. A., & Goulart, E. (2001). Plasticidade trófica em peixes de água doce. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 23(2), 425-434. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v23i0.2696.
- Andrian, I. de F., Peretti, D., & Lambrecht, D. (2013). Recursos alimentares explorados por *Astyanax* (Characiformes, Characidae) em diferentes bacias hidrográficas. *arqmudi*, 10(1).
- Agostinho, A.A. & Júlio Jr., H.F. (1999). Peixes da bacia do alto rio Paraná. In: Lowe-McConnell, R.H. (ed.) Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo. EDUSP, cap. 16. p. 374-399.
- Bastos, R. F., Corrêa, F., Winemiller, K. O., & Garcia, A. M. (2017). Are you what you eat? Effects of trophic discrimination factors on estimates of food assimilation and trophic position with a new estimation method. *Ecological indicators*, 75, 234-241. DOI: 10.1016/j.ecolind.2016.12.007.
- Beaudoin, C. P., Tonn, W. M., Prepas, E. E., & Wassenaar, L. I. (1999). Individual specialization and trophic adaptability of northern pike (*Esox lucius*): an isotope and dietary analysis. *Oecologia*, 120(3), 386-396. DOI: 10.1007/s004420050871.
- Boutton, T. W. (1991). Stable carbon isotope ratios of natural materials: 2. Atmospheric, terrestrial, marine, and freshwater environments. In: Coleman, D. C. & Fry, B. Carbon isotope techniques. Academic Press inc, California, USA.
- Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., ... & Valenti, W. C. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633. Doi: 10.1111/jwas.12714.
- Carter, W. A., Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2019). The importance of isotopic turnover for understanding key aspects of animal ecology and nutrition. *Diversity*, 11(5), 84. DOI: 10.3390/d11050084.
- Casemiro, F. A. S., Hahn, N. S., & Fugi, R. (2002). Avaliação da dieta de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Osteichthyes, Tetragonopterinae) antes e após a formação do reservatório de Salto Caxias, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 24, 419-425. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v24i0.2314.
- Chapin, F. S; Matson, P. A; Vitousek, P. (2011). Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology. New York: Springer-Verlag, 529p.
- Chopin, T. (2013). Integrated multi-trophic aquaculture—ancient, adaptable concept focuses on ecological integration. *Global Aquaculture Advocate*, 16(2), 16-19.

- Chopin, T., MacDonald, B., Robinson, S., Cross, S., Pearce, C., Knowler, D., Noce, A., Reid, G., Cooper, A., Speare, D., BurrIDGE, L., Crawford, C., Sawhney, M., Ang, K. P., Backman, C., & Hutchimson, M. (2013). The Canadian Integrated Multi-Trophic Aquaculture Network (CIMTAN) - A Network for a New Era of Ecosystem Responsible Aquaculture. *Fisheries*, 38(7), 297-308. DOI: 10.1080/03632415.2013.791285.
- Coman, F. E., Connolly, R. M., Bunn, S. E., & Preston, N. P. (2006). Food sources of the sergestid crustacean, *Acetes sibogae*, in shrimp ponds. *Aquaculture*, 259(1-4), 222-233. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.05.038.
- Ducatti, C. (2007). Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36, 1-10. DOI: 10.1590/S1516-35982007001000001.
- Esteves, K. E. (1996). Feeding ecology of three *Astyanax* species (Characidae, Tetragonopterinae) from a floodplain lake of Mogi-Guaçú River, Paraná River basin, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 46(1), 83-101. DOI: 10.1007/BF00001701.
- Flickinger, D. L., Costa, G. A., P. Dantas, D., Moraes - Valenti, P., & Valenti, W. C. (2019a). The budget of nitrogen in the grow-out of the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum* Heller) and tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier) farmed in monoculture and in integrated multitrophic aquaculture systems. *Aquaculture Research*, 50(11), 3444-3461. DOI: 10.1111/are.14304
- Flickinger, D. L., Dantas, D. P., Proença, D. C., David, F. S., & Valenti, W. C. (2019b). Phosphorus in the culture of the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in monoculture and in integrated multitrophic systems. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(4), 1002-1023. DOI: 10.1111/jwas.12655
- Fonseca, T., Costa-Pierce, B. A., & Valenti, W. C. (2017). Lambari aquaculture as a means for the sustainable development of rural communities in Brazil. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(4), 316-330. DOI: 10.1080/23308249.2017.1320647.
- Forsberg, B. R., Araújo-Lima, C. A. R. M., Martinelli, L. A., Victória, R. L., & Bonassi, J. A. (1993). Autotrophic carbon sources for fish of the central Amazon. *Ecology*, 74(3), 643-652. DOI: 10.2307/1940793.
- Franchini, A. C., Costa, G. A., Pereira, S. A., Valenti, W. C., & Moraes-Valenti, P. (2020). Improving production and diet assimilation in fish-prawn integrated aquaculture, using iliophagus species. *Aquaculture*, 521, 735048. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735048.
- Freire, K. M., Machado, M. L., & Crepaldi, D. (2012). Overview of inland recreational fisheries in Brazil. *Fisheries*, 37(11), 484-494. DOI: 10.1080/03632415.2012.731867.

- Fry, B. (2006). *Stable isotope ecology* (Vol. 521). New York: Springer.
- Gamboa-Delgado, J. (2021). Isotopic techniques in aquaculture nutrition: State of the art and future perspectives. *Reviews in Aquaculture* DOI: 10.1111/raq.12609.
- Garutti, V. (2003). *Piscicultura ecológica*. São Paulo: Ed. UNESP.
- Gomiero, L. M., & Braga, F. M. de S. (2008). O lambari *Astyanax altiparanae* (Characidae) pode ser um dispersor de sementes?. *Acta Scientiarum - Biological Sciences*, 25(2), 353-360. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v25i2.2045.
- Gonçalves, F. H., Silva, N. J. R., & Henriques, M. B. (2015). Tolerance of lambari *Deterodon iguape* to different salinities: new perspectives of market. *Conference paper in: Aquaculture 2015*, Montpellier, France.
- Heldt, A., Suita, S., Dutra, F. M., Pereira, A. L., & Ballester, E. (2019). Stable isotopes as a method for analysis of the contribution of different dietary sources in the production of *Macrobrachium amazonicum*. *Latin american journal of aquatic research*, 47(2), 282-291. DOI: 10.3856/vol47-issue2-fulltext-8.
- Henry-Silva, G. G., & Camargo, A. F. M. (2018). Impacto das atividades de aqüicultura e sistemas de tratamento de efluentes com macrófitas aquáticas—relato de caso. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(1), 163-173. Disponível em: <https://www.institutodepesca.org/boletim/index.php/bip/article/view/782>.
- Hyslop, E. J. (1980). Stomach contents analysis—a review of methods and their application. *Journal of fish biology*, 17(4), 411-429. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1980.tb02775.x.
- Johnson, B. L., Richardson, W. B., & Naimo, T. J. (1995). Past, Present, and Future Concepts in Large River Ecology: How rivers function and how human activities influence river processes. *BioScience*, 45(3), 134-141. DOI: 10.2307/1312552.
- Kalous, L., Bui, A. T., Petrtýl, M., Bohlen, J., & Chaloupková, P. (2012). The South American freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Actinopterygii: characiformes: Prochilodontidae): new species in Vietnamese aquaculture. *Aquaculture Research*, 43(6), 955-958. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02895.x.
- Lucena, C. A., & Soares, H. G. (2016). Review of species of the *Astyanax bimaculatus* "caudal peduncle spot" subgroup *sensu* Garutti & Langeani (Characiformes, Characidae) from the rio La Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. *Zootaxa*, 4072(1), 101-125. DOI: 10.11646/zootaxa.4072.1.5.
- Maciel, C. R., & Valenti, W. C. (2009). Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*: a review. *Nauplius*, 17(2), 61-79.

- Mahmood, T., Fang, J., Jiang, Z., & Zhang, J. (2016). Carbon and nitrogen flow, and trophic relationships, among the cultured species in an integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) bay. *Aquaculture Environment Interactions*, 8, 207-219. DOI: 10.3354/aei00152.
- Marques, H. L., New, M. B., Boock, M. V., Barros, H. P., Mallasen, M., & Valenti, W. C. (2016). Integrated freshwater prawn farming: state-of-the-art and future potential. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(3), 264-293. DOI: 10.1080/23308249.2016.1169245.
- Martinelli, L. A., Victoria, R. L., Matsui, E., Forsberg, B. R., & Mozeto, A. A. (1988). Utilização das variações naturais de $\delta^{13}\text{C}$ no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. *Acta Limnol Bras*, 1, 859-882.
- Martínez del Rio, C., & Wolf, B. O. (2005). Mass balance models for animal isotopic ecology. *Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates* (eds. M. A. Starck & T. Wang), pp. 141–174.
- Martínez del Rio, C., Wolf, N., Carleton, S. A., & Gannes, L. Z. (2009). Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews*, 84(1), 91-111. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00064.x
- Moraes, C. R. F., de Attayde, J. L., & Henry-Silva, G. G. (2020). Stable isotopes of C and N as dietary indicators of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in net cages in a tropical reservoir. *Aquaculture Reports*, 18, 100458. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100458.
- Moraes-Riodades, P.M.C.; Valenti, W. C. (2001). Freshwater prawn farming in Brazilian Amazonia shows potential for economic and social development. *The Advocate*, Saint Louis, 4(5): 73-74.
- Moraes-Valenti, P. & Valenti, W. C. (2010). Culture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. p. 485-501. In: M. B. New; W. C. Valenti; J. H. Tidwell; L. R. D'Abramo, and M. N. Kutty, (eds). *Freshwater prawns: biology and farming*. Oxford, Wiley-Blackwell.
- New; W. C. Valenti; J. H. Tidwell; L. R. D'Abramo, and M. N. Kutty, (eds) (2010). *Freshwater prawns: biology and farming*. Oxford, Wiley-Blackwell.
- Odinetz Collart, O. (1988). Aspectos ecológicos do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) no baixo Tocantins (Pa-Brasil). *Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 48(Supl), 341-353.
- Odinetz Collart, O. (1993). Ecologia e potencial pesqueiro do camarão-canela, *Macrobrachium amazonicum*, na bacia amazônica. In : Ferreira E.J.G., Santos G.M., Leao EL.M., Oliveira L.A. (eds.). *Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia*. Manaus: INPA, 2, p. 148-166.

- Odum, E.P., 1988. *Ecologia*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 434p.
- Oliveira, A. C. B., Martinelli, L. A., Moreira, M. Z., Soares, M. G. M., & Cyrino, J. E. P. (2006). Seasonality of energy sources of *Colossoma macropomum* in a floodplain lake in the Amazon–lake Camaleão, Amazonas, Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, 13(3), 135-142. DOI: 10.1111/j.1365-2400.2006.00481.x.
- Pereira, A. L., & Benedito, E. (2007). Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. *Revista Biociências*, 13(3), 16-27.
- Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R. B., Senhorini, J. A., & Foresti, F. (2005). Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), pp. 101–116. In: *Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil* (Baldisseroto, B. & Gomes, L. C., Eds.), Santa Maria, RS, Brazil: Editora UFMS.
- Resende, E. K., Catella, A. D., Nascimento, F. L., Palmeira, S. D. S., Pereira, R. A. C., Lima, M. D. S., & de Almeida, V. L. L. (1995). Biologia do Curimatá (*Prochilodus lineatus*), Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e Cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do Rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Embrapa Pantanal-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* (INFOTECA-E). <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/789558>.
- Rodrigues, C. G., Engle, C., Garcia Neto, B. F., Amorim, R. V., & Valenti, W. C. (2019a). The effect of choice of targeted market, production scale, and land tenure on the economics of integrated tilapia-prawn production. *Aquaculture Economics & Management*, 23(2), 204-217. DOI: 10.1080/13657305.2018.1531951.
- Rodrigues, C. G., Garcia, B. F., Verdegem, M., Santos, M. R., Amorim, R. V., & Valenti, W. C. (2019b). Integrated culture of Nile tilapia and Amazon river prawn in stagnant ponds, using nutrient-rich water and substrates. *Aquaculture*, 503, 111-117. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.073.
- Sampaio, L.A.; Ono, E.; Routledge, E.A.B.; Correia, E.S.; Moraes-Valenti, P.; Martino, R.C. (2010). Brazilian aquaculture update. *World Aquaculture* 2010, 35, 41–68.
- Santos, M. J. D., & Valenti, W. C. (2002). Production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* stocked at different densities in polyculture systems in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(3), 369-376. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2002.tb00513.x.
- Silva, D. A., Pessoa, E. K. R., da Costa, S. A. G. L., Chellappa, N. T., & Chellappa, S. (2012). Ecologia alimentar de *Astyanax lacustris* (Osteichthyes: Characidae) na Lagoa do Piató, Assú, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, 2(1), 74-82. DOI: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v2n1p74-82.
- Suita, S. M., Braga, A., Ballester, E., Cardozo, A. P., Abreu, P. C., & Wasielesky, W. (2016). Contribution of bioflocs to the culture of *Litopenaeus vannamei* post-larvae

- determined using stable isotopes. *Aquaculture International*, 24(5), 1473-1487. DOI: 10.1007/s10499-016-0006-0.
- Sulzman, E. W. (2007). Stable isotope chemistry and measurement: a primer. In: Michener, R. & Lajtha, K. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, 2, 1-21. Blackwell Publishing.
- Thorp, J. H., Thoms, M. C., & DeLong, M. D. (2006). The riverine ecosystem synthesis: biocomplexity in river networks across space and time. *River Research and Applications*, 22(2), 123-147. DOI: <https://doi.org/10.1002/rra.901>.
- Tykot, R. H. (2004). Stable isotopes and diet: You are what you eat. p. 443-444. In: Martini, M.; Milazzo, M.; Piacentini, M. (eds.). *Physics methods in archaeometry*. IOS Press, Amsterdam.
- Uddin, M. S., Farzana, A., Fatema, M. K., Azim, M. E., Wahab, M. A., & Verdegem, M. C. J. (2007). Technical evaluation of tilapia (*Oreochromis niloticus*) monoculture and tilapia–prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) polyculture in earthen ponds with or without substrates for periphyton development. *Aquaculture*, 269(1-4), 232-240. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.038.
- Valenti, W. C. (1996). Criação de camarões em águas interiores. FUNEP, Jaboticabal.
- Valenti, W. C. (2008). A aqüicultura Brasileira é sustentável?. *Palestra apresentada durante o IV Seminário Internacional de Aqüicultura, Maricultura e Pesca, Aquafair*, 13-15.
- Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, 19, 100611. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100611
- Valenti, W. C., Kimpara, J. M., & de L Preto, B. (2011). Measuring aquaculture sustainability. *World Aquaculture*, 42(3), 26.
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369.
- Xu, J., Zhang, M., & Xie, P. (2008). Stable isotope changes in freshwater shrimps (*Exopalaemon modestus* and *Macrobrachium nipponensis*): trophic pattern implications. *Hydrobiologia*, 605(1), 45-54. DOI: 10.1007/s10750-008-9299-y.
- Wolf, N., Carleton, S. A., & Martínez del Rio, C. (2009). Ten years of experimental animal isotopic ecology. *Functional Ecology*, 23(1), 17-26. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2009.01529.x.
- Wootton, R.J. (1999). *Ecology of teleost fish*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 386 p.

Capítulo 2

Determinação dos Fatores de Discriminação Isotópica de C e N entre Ração Comercial e Tecido Muscular de *Astyanax lacustris*, *Macrobrachium amazonicum* e *Prochilodus lineatus*

RESUMO

A análise de isótopos estáveis é uma ferramenta importante e consistente em estudos de ecologia e reconstrução da dieta realmente incorporada na biomassa de organismos aquáticos. O sinal isotópico em um tecido animal pode estar relacionado com sua dieta, e é ajustado por fatores de discriminação específicos (Δ). O presente estudo tem como objetivo estimar o $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de uma ração comercial no tecido muscular das espécies *Astyanax lacustris* (lambari-do-rabo-amarelo), *Macrobrachium amazonicum* (camarão-da-amazônia) e *Prochilodus lineatus* (curimbatá). Para esse experimento, uma ração comercial a base de milho, soja e produtos de origem animal foi utilizada para alimentar *A. lacustris* por 84 dias, *M. amazonicum* por 42 dias e *P. lineatus* por 48 dias. Foram utilizadas três réplicas para cada espécie, compostas por unidades experimentais de 900 L em sistema de fluxo contínuo de água, providas de aeração. Com os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ foi possível estimar o Δ . Assim, o fator de discriminação entre o tecido muscular de *A. lacustris* e a ração comercial foi estimado em $2,0 \pm 0,2 \text{ ‰}$ para $\Delta^{13}\text{C}$ e $2,9 \pm 0,3 \text{ ‰}$ para $\Delta^{15}\text{N}$. Para *M. amazonicum* foi estimado $\Delta^{13}\text{C}$ de $2,3 \pm 0,3 \text{ ‰}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,0 \pm 0,3 \text{ ‰}$. Já para *P. lineatus* o $\Delta^{13}\text{C}$ foi de $1,8 \pm 0,4 \text{ ‰}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,1 \pm 0,2 \text{ ‰}$. Esses valores podem servir de base para as correções em estudos de nutrição e ecologia ao relacionar o sinal isotópico do tecido muscular com a fonte de alimento. Como por exemplo os modelos de mistura, onde o Δ é essencial para que as contribuições das fontes de alimentos no tecido do animal possam ser modeladas corretamente e resultarem em estimativas mais confiáveis das proporções de alimentos consumidos por uma espécie nas condições do estudo.

Palavras-chave: Fracionamento Isotópico, lambari-do-rabo-amarelo, camarão-da-amazônia, curimbatá.

ABSTRACT

Stable isotope analysis are very important and consistent in studies of ecology and diet reconstruction actually incorporated into the biomass of aquatic organisms. The isotopic signal in an animal tissue can be related to its diet, and is adjusted by specific discrimination factors (Δ). The study aims to estimate the $\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$ of a commercial feed in the muscle tissue of *Astyanax lacustris* (yellow tail lambari), *Macrobrachium amazonicum* (amazon river prawn) and *Prochilodus lineatus* (curimbatá). For this, the *A. lacustris* fed for 84 days, *M. amazonicum* for 42 days and *P. lineatus* for 48 days with a commercial feed based on corn, soybean and animal-based products. Three replicates for each species composed the feeding trial, consisting of experimental units of 900 liters in a continuous water flow system, with aeration provided. With the values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, it was possible to estimate the Δ . Thus, the discrimination factor between *A. lacustris* muscle tissue and commercial feed was 2.0 ± 0.2 ‰ for $\Delta^{13}\text{C}$ and 2.9 ± 0.3 ‰ for $\Delta^{15}\text{N}$. For *M. amazonicum*, it was $\Delta^{13}\text{C}$ of 2.3 ± 0.3 ‰ and $\Delta^{15}\text{N}$ of 3.0 ± 0.3 ‰. For *P. lineatus*, $\Delta^{13}\text{C}$ was 1.8 ± 0.4 ‰ and $\Delta^{15}\text{N}$ was 3.1 ± 0.2 ‰. These values can be used as basis for corrections in nutrition and ecology studies that relating the muscle tissue to the food source by isotopic signal. As an example, the mixing models, where the Δ is essential to model correctly the contributions of food sources in the animal tissue. Resulting in more reliable estimates of the diet reconstruction by a species under the study conditions.

Keywords: Isotopic Fractionation, yellow tail lambari, Amazon river prawn, curimbata.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos setores com maior crescimento nas últimas décadas (FAO, 2020). E devido à grande diversidade de espécies aquáticas produzidas em cativeiro, se comparadas com a proteína animal terrestre, ainda são necessários outros tipos de conhecimentos dessa atividade. Esses seriam dos aspectos biológicos e nutricionais para a grande maioria das espécies aquáticas já produzidas, bem como das com potencial de produção. Juntamente com outras frentes de estudos, os conhecimentos na área de nutrição são essenciais para alcançar o sucesso de produção e aumentar sua eficiência (Boyd et al., 2020; Gamboa-Delgado, 2021; Valenti et al., 2021). Uma das ferramentas importantes para a produção animal é o conhecimento dos hábitos alimentares nos habitats naturais e nos ambientes de sistema de produção (Gamboa-Delgado, 2021).

Baseado no princípio de que “você é o que você come” (Kohn, 1999), se um tecido se desenvolve incorporando carbono e nitrogênio de apenas uma fonte específica, após atingir o equilíbrio isotópico, terá basicamente o mesmo sinal isotópico que esta fonte. Porém, haverá uma diferença específica chamada de fator de discriminação isotópica entre tecido e dieta (geralmente denotado por Δ). Essa diferença entre o sinal isotópico do alimento e o do tecido animal é causada pelo comportamento diferenciado dos IE leve ou pesado durante interações físicas e químicas nos processos metabólicos, denominadas como fracionamento isotópico (Martínez del Rio & Wolf, 2005; Martínez del Rio et al., 2009; Gamboa-Delgado, 2021). O Δ é específico para cada espécie, dieta e tecido (McCutchan et al., 2003; Martínez del Rio et al., 2009; Sacramento et al., 2016) e pode ser influenciado pelo tamanho corporal, crescimento e *turnover* proteico (Martínez del Rio et al., 2009). No entanto, os valores de Δ raramente são estimados em estudos, sendo comum usar dados da literatura de espécies e alimentos que guardam alguma relação com o estudo ao qual propõem. Porém, também são utilizados valores de espécies e dietas não relacionadas (Caut et al., 2008; Caut et al., 2009; Martínez del Rio et al., 2009). Os erros causados pela aplicação incorreta de cada Δ podem ser agravados de acordo com o aumento

do número de IE e fontes de alimento utilizados, e pela diminuição das diferenças entre os sinais isotópicos das fontes de alimento (Martínez del Rio et al., 2009).

Portanto, é importante determinar os valores de Δ para o tecido de uma espécie em relação a uma dieta que é utilizada na produção comercial antes de aplicar a técnica de isótopos estáveis. Desse modo, erros durante a utilização dos sinais isotópicos da fonte alimentar e do tecido muscular da espécie são evitados. O presente estudo tem por objetivo estimar os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ para o tecido muscular de *Astyanax lacustris*, *Macrobrachium amazonicum* e *Prochilodus lineatus* em relação a uma ração comercial.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Unidades experimentais e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP) – Campus Jaboticabal - SP, no Setor de Carcinicultura (21°15'22"S e 48°18'48"O). Cada unidade experimental foi composta por tanques de 900 litros úteis com renovação contínua de água (~210 l/h), proveniente de poço artesiano sem a necessidade qualquer tipo de tratamento, e aeração por compressor radial e pedras porosas (Anexo 1). A renovação objetiva que a água não permaneça no sistema por tempo suficiente para o desenvolvimento de organismos que possam ser ingeridos pelos animais e influenciar nos resultados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por um tratamento e três repetições para cada um dos três experimentos, um para cada espécie (*A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus*). O período experimental foi definido de acordo com a literatura, levando em consideração o delineamento e as meias vidas descritas. Sendo, portanto, 42 dias para *M. amazonicum* (Heldt et al., 2019) e 48 dias para *P. lineatus* (Sacramento et al., 2016). O experimento teve duração de 84 dias para *A. lacustris*. Uma vez que não há literatura específica para a espécie, optou-se por estender o período experimental. Além disso, o alongamento do período experimental do *A. lacustris* foi definido para que outros tipos de coletas fossem realizadas. Corroborando assim, em outros estudos paralelos

sem afetar o objetivo principal, de determinar o fator de discriminação isotópica. Os procedimentos utilizados para o presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Campus de Agronomia e Veterinária. Ciências (FCAV), UNESP (protocolo nº 014780/19)

2.2. Obtenção, povoamento e alimentação dos animais

Os alevinos de *A. lacustris* ($40,12 \pm 3,64$ mm e $1,07 \pm 0,35$ g), provenientes de piscicultura comercial do Sítio Sobradinho, localizado no município de Buritizal, São Paulo, Brasil ($20^{\circ}11'28''S$, $47^{\circ}42'30''O$) foram estocados na densidade de 0,5 peixe l⁻¹. Os juvenis de *M. amazonicum* ($13,20 \pm 1,87$ mm e $17,8 \pm 00,0$ mg) foram originados do próprio Setor de Carcinicultura do Centro de Aquicultura da Unesp, campus de Jaboticabal. Os reprodutores são provenientes de populações naturais coletadas no Nordeste do Estado do Pará, Brasil ($1^{\circ}139250S$, $48^{\circ}179400W$), em 2001. Os juvenis foram estocados na densidade de 2,2 camarões l⁻¹. Os alevinos de *P. lineatus* ($24,47 \pm 2,7$ mm e $0,22 \pm 0,08$ g), provenientes de piscicultura comercial Projeto Peixes, no município de Sales Oliveira ($20^{\circ}46'19''S$, $47^{\circ}50'16''O$), foram estocados na densidade de 0,45 peixe l⁻¹. Esses animais são do mesmo lote que foi utilizado no experimento para o estudo das fontes de alimento nos cultivos em viveiros dessas espécies (capítulo 3).

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (8:00 e 17:00) até a saciedade aparente, com ração comercial (Guabi tech Onívoros QS) de 2 a 3mm de granulometria e composição proximal de 36% de proteína bruta, 7% lipídios, 3% fibra, e 12% matéria mineral. A ração era formulada a base de milho, soja e proteicos de origem animal (Anexo 02). Esta dieta foi a mesma utilizada no experimento para o estudo das fontes de alimento nos cultivos em viveiros (vide Capítulo 3). Desta forma os resultados dos estudos de Δ podem ter melhor aplicabilidade no estudo de estimativa das fontes alimentares em viveiros pois foram utilizados o mesmo recurso alimentar alóctone e os mesmos lotes de consumidores.

2.3. Características Físicas e Químicas da Água

As variáveis monitoradas foram temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH e condutividade elétrica. Estas foram medidas duas vezes ao dia (manhã e tarde) com sonda multiparâmetros YSI Professional Plus (Yellow Springs Instruments Company, Yellow Springs, OH, USA) e mantiveram-se dentro da recomendação para o cultivo de espécies aquáticas tropicais (Boyd, 2019) (Tabela 1). A cada 3 dias foram realizadas análises rápidas de monitoramento de amônia e nitrito por meio de Kits de testes, “Labcon Test Amônia Tóxica Água Doce” e “Labcon Test Nitrito” (Alcon®, Santa Catarina, Brasil)

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão das variáveis de qualidade de água ao longo dos experimentos com cada espécie.

	<i>A. lacustris</i>	<i>M. amazonicum</i>	<i>P. lineatus</i>
Temperatura mínima (°C)	29,9 \pm 0,5	28,4 \pm 1,0	26,4 \pm 1,2
Temperatura máxima (°C)	31,0 \pm 0,6	30,9 \pm 1,3	28,5 \pm 1,3
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	6,4 \pm 0,1	6,9 \pm 0,2	7,8 \pm 0,4
pH	8,4 \pm 0,1	9,0 \pm 0,4	8,5 \pm 0,6
Condutividade (μ S cm ⁻¹)	220 \pm 2	258 \pm 27	-
Amônia Total (ppm)	0,2 \pm 0,2	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,2
Nitrito (ppm)	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0

2.4. Dados biométricos

Foi realizada biometria antes do povoamento (n = 30 para *A. lacustris*, n = 55 para *M. amazonicum* e n = 100 para *P. lineatus*), e três biometrias por semana até o final dos experimentos (n = 10 / espécie de peixe e n = 40 para *M. amazonicum*). A massa dos animais foi obtida utilizando balança (modelo AB104-S da marca Mettler Toledo, Switzerland) com precisão de 0,1mg. O comprimento total dos animais foi coletado com paquímetro digital (Mitutoyo) de precisão de 0,01 mm. O comprimento total do *M. amazonicum* é determinado pela distância entre a margem distal do rostró até a extremidade distal do telson (Moraes-Riodades & Valenti, 2002). O comprimento

total dos peixes corresponde à distância entre a boca e a extremidade do lobo mais comprido da nadadeira caudal (Holden & Raitt, 1975). O ganho de massa ao longo do tempo de experimento foi calculado pela diferença entre a massa final e a massa inicial.

2.5. Coleta e preparo das amostras para AIE

As amostras da ração comercial foram coletadas no início do experimento. Embora se tenha adquirido um único lote de ração para toda a duração do experimento, foram coletadas amostras de todos os sacos de ração. Estas foram homogeneizadas em uma única amostra para análise isotópica, essa amostra foi analisada em seis réplicas. As amostras de músculo dorsal dos peixes e abdominal do *M. amazonicum* foram retiradas após cada biometria. Sendo assim, a amostra inicial foi coletada antes do início do experimento e as coletas intermediárias foram realizadas três vezes por semana até o final de cada experimento. Em cada amostragem, foram coletados três exemplares de *M. amazonicum*, *A. lacustris* e *P. lineatus* por unidade experimental por dia de coleta. Cada exemplar correspondeu a uma amostra que foi analisada separadamente. Para a coleta da amostra de *M. amazonicum* foi retirado o músculo abdominal sem intestino ou exoesqueleto (Anexo 2) e para compor as amostras dos peixes foi retirado a musculatura dorsal sem escamas ou pele (Anexo 3) para a análise de isótopos estáveis. Embora os exemplares de *A. lacustris* atingissem a fase adulta, as coletas de musculatura mantiveram-se aleatórias como no início do experimento. Isso porque a espécie não é cultivada com seleção ou reversão sexual. Sendo mais importante a representatividade da população sem a distinção de sexo.

Os exemplares de *M. amazonicum* foram obtidos no próprio local do experimento, e foram mantidos sob condições muito próximas das descritas para o experimento. Porém a ração utilizada para alimentar estes animais durante a fase de berçário, e conseqüentemente pré-experimental, foi diferente da ração utilizada durante o experimento. A ração apresentava 35% de proteína bruta, 11% de lipídios, 4% de fibra e 14% de matéria mineral, e sua composição de ingredientes não foi fornecida pelo

fabricante. Uma vez que foram alimentados unicamente com essa ração desde que atingiram a fase de pós larva (~20 dias), buscou-se obter o Δ para este momento pré-experimental, na tentativa de obter dados e informações que possam contribuir com os resultados do experimento realizado. Desta forma foi coletada a amostra da ração utilizada bem como os exemplares antes de iniciarem o experimento com a ração experimental.

As amostras foram secas em estufa de ventilação forçada (marca Nova Ética) a 50°C durante 48 horas. A seguir, foram moídas individualmente até atingirem granulometria fina e homogênea. Para amostras com maior quantidade de material, foram utilizados almofariz e pistilo de cerâmica. Para amostras com pouca quantidade de material, a moagem ocorreu dentro do próprio tubo *ependorf* de armazenamento com auxílio de um pistilo de vidro. Posteriormente, as amostras foram pesadas em balança analítica (modelo XP2U Ultra Micro Balance da marca Mettler Toledo, Switzerland) com precisão de $\pm 0,1 \mu\text{g}$ em cápsulas de estanho com tamanho de 3,3 x 5,0 mm (Anexo 4). Para a correta leitura do equipamento de análise isotópica, é necessário ter cerca de 50 μg de carbono ou nitrogênio na amostra. Foram realizados testes prévios com as próprias amostras deste estudo, para estabelecer os intervalos de peso para cada tipo de amostra, de acordo com o percentual de carbono e nitrogênio das mesmas. Desta forma o intervalo de peso para a ração comercial foi de 800 a 1000 μg , e para o músculo dos animais de 450 a 550 μg . As amostras experimentais foram analisadas no Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti” – CIE, Instituto de Biociências da UNESP, campus Botucatu.

2.6. Análise dos isótopos estáveis

As amostras pesadas e acondicionadas nas cápsulas de estanho foram submetidas a um sistema de espectrometria de massa de razão isotópica por fluxo contínuo – CF-IRMS composto por analisador elementar (Flash 2000 – Thermo Scientific, Germany) acoplado ao IRMS (Delta V Advantage – Thermo Scientific, Germany) por meio de uma interfase de gases (ConFlo IV – Thermo Scientific Germany) para determinar a razão isotópica $R(^iE/^jE)_{amostra}$ do Carbono $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})$ e

Nitrogênio $R(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$. Os resultados foram expressos em diferença relativa da razão isotópica $\delta^i E$, a partir do valor padrão $R(^i E/^j E)_{\text{padrão}}$ em (‰) conforme equação abaixo (Coplen, 2011; Brand & Coplen, 2012).

$$\delta^i E = \frac{R(^i E/^j E)_{\text{amostra}}}{R(^i E/^j E)_{\text{padrão}}} - 1$$

Sendo, $R(^i E/^j E)_{\text{padrão}}$ é o padrão VPDB (Vienna Peedee belemnite) de 0,011180 para carbono e padrão N² de 0,0036765 para nitrogênio. Foram utilizados os padrões NBS22 e IAEA-N-1 para calibrar os resultados das leituras do equipamento (Brand et al., 2014). A incerteza padrão do CF-IRMS é de $\pm 0,10$ ‰ e $\pm 0,15$ ‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ respectivamente.

2.7. Discriminação isotópica entre consumidores e ração comercial

Com os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do tecido muscular dos consumidores e da ração comercial, foi possível determinar os fatores de discriminação Isotópica para carbono e nitrogênio entre o tecido muscular dos consumidores e a ração fornecida ($\Delta^{13}\text{C}_{\text{músculo-ração}}$ e $\Delta^{15}\text{N}_{\text{músculo-ração}}$) de acordo com a equação (Caut et al., 2009; Britton & Busst, 2018):

$$\Delta_{\text{músculo-ração}} = \delta_{\text{músculo}} - \delta_{\text{ração}}$$

Os dados foram analisados pelo programa R Studio, versão 4.1.1 (2021). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos consumidores e das fontes de alimento de cada coleta foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade. Como os dados atenderam a essas premissas, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) medidas repetidas, e quando foi encontrada diferença estatística foi aplicado teste de comparações múltiplas para amostras pareadas (Teste de Fisher LSD “*Least significant difference*”) com $\alpha \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Dados biométricos

Os alevinos de *A. lacustris* iniciaram o estudo com $40,1 \pm 3,6$ mm de comprimento e $1,1 \pm 0,4$ g de massa corporal e após 84 dias, com um ganho de massa de $5,2 \pm 2,6$ g, atingiram $6,3 \pm 2,5$ g e $68,2 \pm 7,6$ mm de comprimento (Tabela 2). Desempenho este considerado dentro do esperado, uma vez que o tempo médio de cultivo é de 90 a 120 dias (Fonseca et al., 2017), ao qual atingem de 60 a 80 mm (Valenti et al., 2021). Os juvenis de *M. amazonicum* iniciaram o estudo com $13,2 \pm 1,9$ mm de comprimento e $0,02$ g de massa corporal e após 42 dias, com um ganho de massa de $0,08 \pm 0,01$ g, atingiram $0,10 \pm 0,01$ g e $22,5 \pm 3,0$ mm de comprimento (Tabela 2). Os alevinos de *P. lineatus* iniciaram o estudo com $24,5 \pm 2,7$ mm de comprimento e $0,2 \pm 0,1$ g de massa corporal e após 48 dias, com um ganho de massa de $0,9 \pm 0,7$ g, atingiram $1,1 \pm 0,7$ g e $41,3 \pm 8,1$ mm de comprimento (Tabela 2).

Tabela 2. Médias e desvio padrão das variáveis de desempenho zootécnico de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* após 84, 42 e 48 dias de cultivo respectivamente.

	<i>A. lacustris</i>	<i>M. amazonicum</i>	<i>P. lineatus</i>
Massa inicial (g)	$1,1 \pm 0,4$	$0,02 \pm 0,00$	$0,2 \pm 0,1$
Massa final (g)	$6,3 \pm 2,5$	$0,10 \pm 0,01$	$1,1 \pm 0,7$
Ganho de massa (g)	$5,2 \pm 2,6$	$0,08 \pm 0,01$	$0,9 \pm 0,7$
Comprimento total inicial (mm)	$40,1 \pm 3,6$	$13,2 \pm 1,9$	$24,5 \pm 2,7$
Comprimento total final (mm)	$68,2 \pm 7,6$	$22,5 \pm 3,0$	$41,3 \pm 8,1$

Os alevinos de *A. lacustris* e *P. lineatus* e juvenis de *M. amazonicum* apresentaram ganho de massa significativos, resultando em massas finais de 5,0 a 5,7 vezes sua massa inicial (Tabela 2). Desta forma, e por se tratarem de animais em estágio de rápido crescimento (alevinos e juvenis), a assinatura isotópica da ração comercial pode ser assimilada mais rapidamente (Sacramento et al., 2016). Sendo assim, do ponto de vista biométrico e tempo experimental, os resultados estão representando a assimilação e incorporação da ração comercial no tecido muscular.

3.2. Discriminação isotópica entre consumidores e ração comercial

A ração comercial apresentou composição isotópica de $-18,4 \pm 0,1$ ‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e $3,7 \pm 0,2$ ‰ para $\delta^{15}\text{N}$. O tecido muscular do *A. lacustris* apresentou composição isotópica média inicial de $\delta^{13}\text{C}$ de $-17,5 \pm 0,2$ ‰ e $8,4 \pm 0,4$ ‰ para $\delta^{15}\text{N}$. Enquanto que, após 84 dias se alimentando exclusivamente da ração comercial, a composição isotópica média de $\delta^{13}\text{C}$ elevou para $-16,3 \pm 0,1$ ‰, e o $\delta^{15}\text{N}$ reduziu para $6,6 \pm 0,2$ ‰ (Figura 1). Os valores se mantiveram estatisticamente iguais nas três últimas amostras analisadas ($\alpha \leq 0.05$) (Tabela 3), estas que representam os 23 últimos dias de experimento. Desta forma, podemos considerar que o sinal isotópico estabilizou em relação ao alimento consumido.

Com isso, pôde ser obtido o Δ do músculo de *A. lacustris* em relação a ração comercial utilizada na alimentação dos animais. Sendo assim, o Δ de ^{13}C foi estimado em $2,0 \pm 0,2$ ‰ e em $2,9 \pm 0,3$ ‰ para ^{15}N . Os valores das taxas de Δ para carbono e nitrogênio diferiram quando comparados com os valores obtidos em estudos com outras espécies como *P. lineatus* [$\Delta^{13}\text{C}$ de $-1,9$ ‰ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $4,2$ ‰] (Sacramento et al., 2016) e *Carassius auratus* [$\Delta^{13}\text{C}$ de $1,5$ a $2,8$ ‰ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,1$ a $5,4$ ‰] (Britton & Busst, 2018). Provavelmente, estas diferenças decorreram das composições de C e N das fontes proteicas das dietas assimiladas, da variação de espécie, do hábito alimentar e da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes desses organismos.

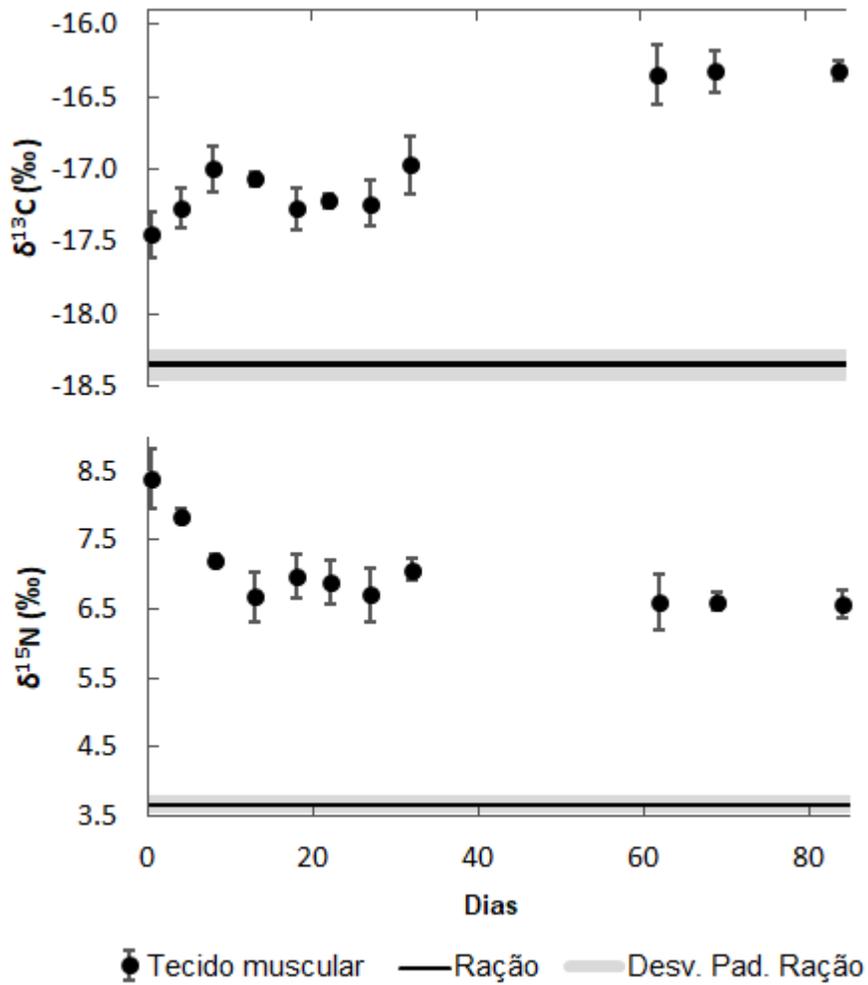


Figura 1. Composição isotópica média e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo de *A. lacustris* ao longo de 84 dias de alimentação exclusiva com a ração comercial.

Tabela 3. Média e desvio padrão dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da ração experimental e do músculo de *A. lacustris*, para o cálculo de discriminação isotópica ($\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$) entre consumidor e a ração.

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Dia 0	-17,5 ± 0,2 ^E	8,4 ± 0,4 ^A
4 ^o dia	-17,3 ± 0,1 ^{DE}	7,9 ± 0,1 ^B
8 ^o dia	-17,0 ± 0,3 ^{BC}	7,2 ± 0,1 ^C
13 ^o dia	-17,1 ± 0,1 ^{BCD}	6,7 ± 0,4 ^{DE}
18 ^o dia	-17,3 ± 0,1 ^{DE}	7,0 ± 0,3 ^{CDE}
22 ^o dia	-17,2 ± 0,1 ^{CDE}	6,9 ± 0,3 ^{CDE}
27 ^o dia	-17,2 ± 0,2 ^{CDE}	6,7 ± 0,4 ^{DE}
32 ^o dia	-17,0 ± 0,2 ^B	7,1 ± 0,2 ^{DC}
62 ^o dia	-16,4 ± 0,2 ^A	6,6 ± 0,4 ^{DE}
69 ^o dia	-16,3 ± 0,2 ^A	6,6 ± 0,1 ^{DE}
84 ^o dia	-16,3 ± 0,1 ^A	6,6 ± 0,2 ^E
Últimos 23 dias	-16,3 ± 0,1	6,6 ± 0,2
Ração Comercial	-18,4 ± 0,1	3,7 ± 0,2
$\Delta_{\text{músculo-ração}}^1$	2,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3

Valores sinalizados com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (ANOVA seguido de teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$).

$$^1\Delta_{\text{músculo-dieta}} = \delta_{\text{músculo}} - \delta_{\text{dieta}} \text{ (Britton and Busst, 2018; Caut et al., 2009)}$$

O tecido muscular do *M. amazonicum* apresentou composição isotópica média inicial de $\delta^{13}\text{C}$ de $-18,0 \pm 0,3$ ‰ e $7,0 \pm 0,2$ ‰ para $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 4). Enquanto que, após 42 dias de experimento, a composição isotópica média final de $\delta^{13}\text{C}$ elevou para $-16,2 \pm 0,1$ ‰, e o $\delta^{15}\text{N}$ reduziu para $6,8 \pm 0,2$ ‰ (Figura 2). Para o cálculo de Δ , foi utilizada a média das duas últimas coletas de músculo. Sendo assim, o fator de discriminação entre o músculo de *M. amazonicum* e a ração comercial foi estimado em $\Delta^{13}\text{C}$ de $2,3 \pm 0,3$ ‰ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,0 \pm 0,3$ ‰. Estes resultados diferem dos obtidos para a mesma espécie, com $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $0,6 \pm 0,1$ ‰ e $2,1 \pm 0,2$ ‰ (Heldt et al., 2019). Além dos animais serem bem maiores ($0,7 \pm 0,1$ g e $38,8 \pm 18,0$ mm) que o do presente estudo, a diferença na fonte de proteína da dieta utilizada, neste caso, filé de tilápia (Heldt et al., 2019), pode ter sido responsável pela diferença de resultados, sendo que

o presente estudo utilizou ração comercial com fonte mista de proteína de origem vegetal e animal e outros alimentos em sua composição (anexo 2).

O $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da ração pré-experimental dos juvenis de *M. amazonicum* foi de $-20,5 \pm 0,1$ ‰ e $3,9 \pm 0,1$ ‰, respectivamente (Figura 2). Se utilizado os valores do tecido muscular do dia zero ($\delta^{13}\text{C} = -18,0 \pm 0,3$ ‰ e $\delta^{15}\text{N} = 7,0 \pm 0,2$ ‰) como apresentando sinal isotópico estabilizado em relação a única fonte de alimento ofertada, a ração pré-experimental, encontra-se um $\Delta^{13}\text{C}$ e um $\Delta^{15}\text{N}$ de $2,5 \pm 0,3$ ‰ e $3,1 \pm 0,2$ ‰, respectivamente. Estes valores não diferem estatisticamente ($p \geq 0,05$) dos valores de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ obtidos no experimento realizado, corroborando com os valores de Δ estimados (Tabela 4).

Tabela 4. Média e desvio padrão dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da ração experimental e do músculo de *M. amazonicum*, para o cálculo de discriminação isotópica ($\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$) entre consumidor e a ração.

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Dia 0	$-18,0 \pm 0,3^F$	$7,0 \pm 0,2^{AB}$		
3º dia	$-18,3 \pm 0,2^F$	$7,0 \pm 0,2^A$		
8º dia	$-17,5 \pm 0,2^E$	$6,9 \pm 0,2^{AB}$		
13º dia	$-17,1 \pm 0,2^D$	$6,7 \pm 0,2^{BC}$		
17º dia	$-17,0 \pm 0,3^D$	$6,8 \pm 0,3^{ABC}$		
24º dia	$-16,6 \pm 0,4^C$	$6,6 \pm 0,2^{CD}$		
31º dia	$-16,6 \pm 0,3^C$	$6,7 \pm 0,2^{BCD}$		
38º dia	$-15,7 \pm 0,3^A$	$6,4 \pm 0,4^D$		
42º dia	$-16,2 \pm 0,1^B$	$6,8 \pm 0,2^{ABC}$		
Últimos 5 dias	$-16,1 \pm 0,3$	$6,7 \pm 0,3$		
Ração Comercial	$-18,4 \pm 0,1$	$3,7 \pm 0,2$		
Ração Pré-Experimental ¹			$-20,5 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$
$\Delta_{\text{músculo-ração}}^2$	$2,3 \pm 0,3^a$	$3,0 \pm 0,3^b$	$2,5 \pm 0,3^{a3}$	$3,1 \pm 0,2^{b3}$

Valores sinalizados com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (ANOVA seguido de teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0,05$).

Valores sinalizados com diferentes letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (ANOVA seguido de teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0,05$).

¹ Ração utilizada para alimentação dos juvenis de *M. amazonicum* durante a fase de berçário que antecedeu o experimento.

² $\Delta_{\text{músculo-dieta}} = \delta_{\text{músculo}} - \delta_{\text{dieta}}$ (Britton and Busst, 2018; Caut et al., 2009).

³ Fator de Discriminação do músculo do *M. amazonicum* no dia 0 e a ração Pré-Experimental.

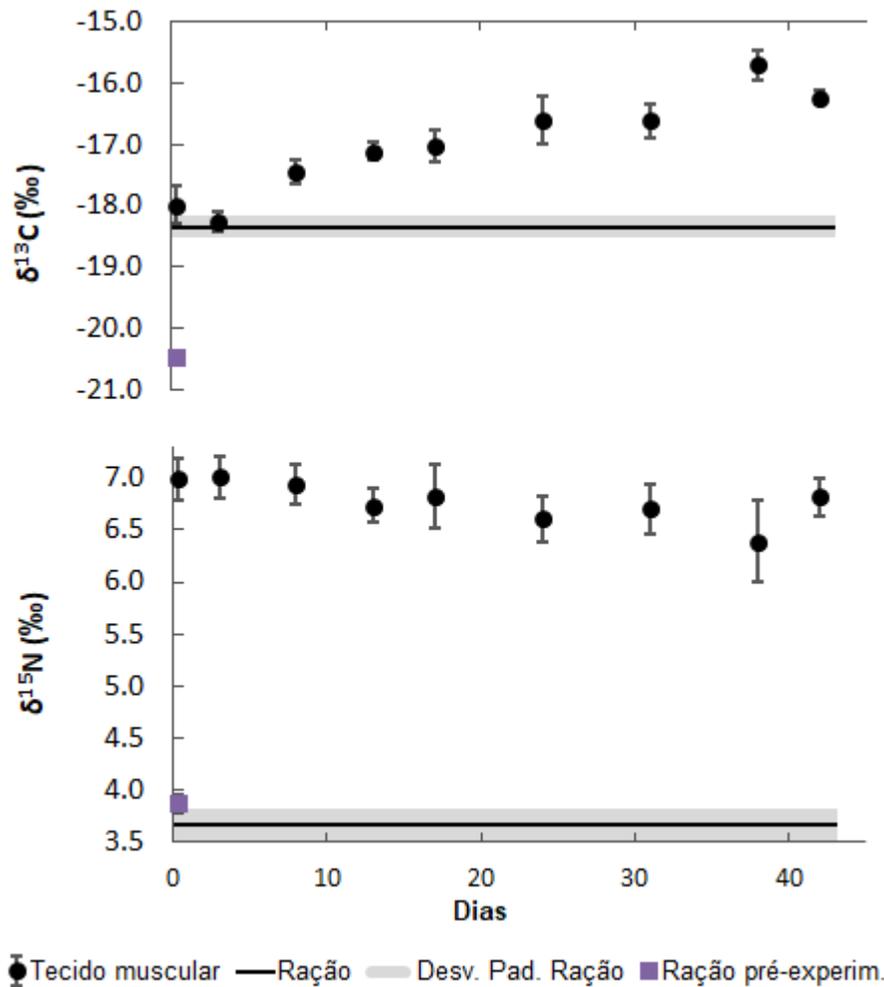


Figura 2. Composição isotópica média e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo de *M. amazonicum* ao longo de 42 dias de alimentação exclusiva com a ração comercial.

No estudo com os indivíduos de *P. lineatus* e alimentação exclusiva com a ração comercial, a composição isotópica média inicial do músculo foi de $-20,1 \pm 0,4$ ‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e $6,7 \pm 0,2$ ‰ para $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 5). No 48º dia o músculo apresentou elevação na composição isotópica média de $\delta^{13}\text{C}$ para $-16,4 \pm 0,2$ ‰, e valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ em $6,6 \pm 0,2$ ‰ (Figura 3). Os valores se mantiveram estatisticamente iguais nas três últimas amostras analisadas ($\alpha > 0,05$), estas que representam os 13 últimos dias de experimento. Desta forma, os fatores de discriminação puderam ser calculados, resultando em um $\Delta^{13}\text{C}$ de $1,8 \pm 0,4$ e um $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,1 \pm 0,2$ (Tabela 5). Em um estudo

com *P. lineatus* em sistema controlado, utilizando também uma dieta mista em C₃ e C₄, foram obtidos valores distintos de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ (-1,9 ‰ e 4,2 ‰ respectivamente) (Sacramento et al., 2016). O tamanho corporal, crescimento e *turnover* proteico são fatores que influenciam os resultados de $\Delta^{15}\text{N}$. Em animais adultos e consequentemente com pouco crescimento proteico, a relação entre a entrada e saída de nitrogênio no tecido tende a ser próxima de 1, enquanto que em animais em crescimento essa relação tende a ser menor que 1. Desta forma o $\Delta^{15}\text{N}$ tende a ser menor em animais em crescimento do que em adultos com crescimento reduzido (Trueman et al., 2005; Martínez del Rio et al., 2009). Os valores de $\Delta^{15}\text{N}$ do presente estudo e os apresentados por Sacramento et al. (2016) proporcionam um exemplo desta situação. Uma vez que nossos indivíduos com menor tamanho corporal e proporcionalmente maiores ganhos de massa (5,5 vezes maior que a inicial) em apenas 48 dias obtiveram $\Delta^{15}\text{N}$ inferior que Sacramento et al. (2016), com a massa final média apenas 2,5 vezes maior que a inicial em 60 dias de experimento.

Tabela 5. Média e desvio padrão dos valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da ração experimental e do músculo de *P. lineatus*, para o cálculo de discriminação isotópica ($\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$) entre consumidor e a ração.

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Dia 0	-20,1 ± 0,4 ^B	6,7 ± 0,2 ^A
36º dia	-16,9 ± 0,5 ^A	6,9 ± 0,2 ^A
41º dia	-16,6 ± 0,6 ^A	6,8 ± 0,1 ^A
48º dia	-16,4 ± 0,2 ^A	6,6 ± 0,2 ^A
Últimos 13 dias	-16,5 ± 0,4	6,8 ± 0,2
Ração Comercial	-18,4 ± 0,1	3,7 ± 0,2
$\Delta_{\text{músculo-ração}}^1$	1,8 ± 0,4	3,1 ± 0,2

Valores sinalizados com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (ANOVA seguido de teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$).

¹ $\Delta_{\text{músculo-dieta}} = \delta_{\text{músculo}} - \delta_{\text{dieta}}$ (Britton and Busst, 2018; Caut et al., 2009)

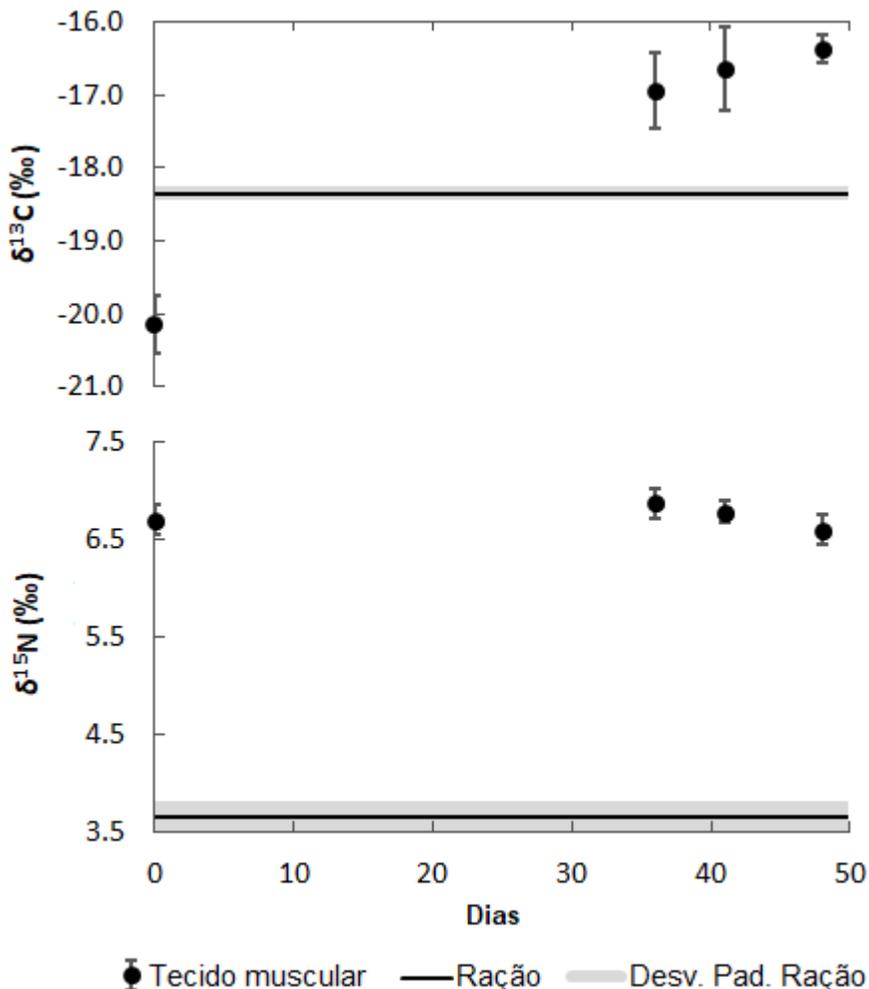


Figura 3. Composição isotópica média e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo de *P. lineatus* ao longo de 48 dias de alimentação exclusiva com a ração comercial.

Pôde ser observado que para *M. amazonicum* e *P. lineatus* os valores de $\delta^{15}\text{N}$ da musculatura inicial não diferiram estatisticamente dos valores registrados nos demais dias de coleta (Tabelas 4 e 5). Isso não significa que os animais não apresentaram resposta à ração utilizada. Mas que a composição isotópica média de $\delta^{15}\text{N}$ das fontes de alimento as quais os indivíduos tiveram acesso antes do experimento, apresentaram valores próximos da ração comercial utilizada durante o experimento, fazendo com que a resposta dos animais fosse manter esse sinal isotópico em sua musculatura. Isso vai ao encontro com o observado na Figura 2, onde o $\delta^{15}\text{N}$ da ração experimental está muito próximo da ração pré-experimental.

O fato de o sinal isotópico ter aumentado, diminuído ou permanecido igual ao longo do experimento tem importância quando observado o *turnover* (Ducatti, 2007). Porém não interfere no cálculo de discriminação isotópica, uma vez que se utiliza exclusivamente do sinal isotópico do tecido após estabilizado. Vale ressaltar que há tecidos com velocidades diferentes de renovação e respostas (Sacramento et al., 2016; Carter et al., 2019; Gamboa-Delgado, 2021). Sendo assim, em oposição ao ocorrido no presente estudo, curtos períodos de experimento podem acarretar na não alteração do sinal isotópico por conta de o tecido ser lento em responder (Carter et al., 2019; Gamboa-Delgado, 2021) e não pelo tecido e fonte de alimento terem sinais isotópicos próximos. Como exemplo o tecido ósseo, onde a sua incorporação é lenta (Carter et al., 2019). Porém o tecido muscular não apresenta renovação lenta.

Desta forma, os três experimentos com cada uma das espécies, ocorreram por períodos longos e obtiveram ganhos de peso suficientes para que a resposta isotópica muscular ocorresse e alcançasse estabilidade. Portanto, levando sempre em consideração que os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ são diretamente influenciados pelo tipo de tecido, espécie, fonte de alimento, estágio de desenvolvimento e crescimento do animal, os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ obtidos para *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* podem servir de base para as correções em estudos de nutrição e ecologia ao relacionar o sinal isotópico do tecido muscular com a fonte de alimento. Como por exemplo os modelos de mistura, onde o Δ é essencial para que as contribuições das fontes de alimentos no tecido do animal possam ser modeladas corretamente e resultarem em estimativas confiáveis das proporções de alimentos consumidos por uma espécie sob determinadas condições ambientais. (Parnell et al., 2010; Parnell et al., 2013).

4. REFERÊNCIAS

- Boyd, C.E. (2019). *Water Quality: An Introduction*; Springer Nature: Alburn, AL, USA.
- Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., ... & Valenti, W. C. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633. Doi: 10.1111/jwas.12714.
- Brand, W. A., & Coplen, T. B. (2012). Stable isotope deltas: tiny, yet robust signatures in nature. *Isotopes in environmental and health studies*, 48(3), 393-409. DOI: 10.1080/10256016.2012.666977.
- Brand, W. A., Coplen, T. B., Vogl, J., Rosner, M., & Prohaska, T. (2014). Assessment of international reference materials for isotope-ratio analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 86(3), 425-467. DOI: 10.1515/pac-2013-1023.
- Britton, J. R., & Busst, G. M. (2018). Stable isotope discrimination factors of omnivorous fishes: influence of tissue type, temperature, diet composition and formulated feeds. *Hydrobiologia*, 808(1), 219-234. DOI: 10.1007/s10750-017-3423-9.
- Carter, W. A., Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2019). The importance of isotopic turnover for understanding key aspects of animal ecology and nutrition. *Diversity*, 11(5), 84. DOI: 10.3390/d11050084.
- Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F. (2008). Discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$) in an omnivorous consumer: effect of diet isotopic ratio. *Functional Ecology*, 22(2), 255-263. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2007.01360.x.
- Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F. (2009). Variation in discrimination factors ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology*, 46, 443-453. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2009.01620.x.
- Coplen, T. B. (2011). Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results. *Rapid communications in mass spectrometry*, 25(17), 2538-2560. DOI: 10.1002/rcm.5129.
- Ducatti, C. (2007). Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36, 1-10. DOI: 10.1590/S1516-35982007001000001.
- FAO. (2020) *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome. DOI: 10.4060/ca9229en.
- Fonseca, T., Costa-Pierce, B. A., & Valenti, W. C. (2017). Lambari aquaculture as a means for the sustainable development of rural communities in Brazil. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(4), 316-330. DOI: 10.1080/23308249.2017.1320647.

- Gamboa-Delgado, J. (2021). Isotopic techniques in aquaculture nutrition: State of the art and future perspectives. *Reviews in Aquaculture*. DOI: 10.1111/raq.12609.
- Heldt, A., Suita, S., Dutra, F. M., Pereira, A. L., & Ballester, E. (2019). Stable isotopes as a method for analysis of the contribution of different dietary sources in the production of *Macrobrachium amazonicum*. *Latin american journal of aquatic research*, 47(2), 282-291. DOI: 10.3856/vol47-issue2-fulltext-8.
- Holden, M. J. & Raitt, D. F. S. (1975). Manual of Fisheries science. Part 2-Methods of Resource Investigation and their Application. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome, Italy.
- Kohn, M. J. (1999). You are what you eat. *Science*, 283(5400), 335-336. DOI: 10.1126/science.283.5400.335.
- Martínez del Rio, C., & Wolf, B. O. (2005). Mass balance models for animal isotopic ecology. *Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates* (eds. M. A. Starck & T. Wang), pp. 141–174.
- Martínez del Rio, C., Wolf, N., Carleton, S. A., & Gannes, L. Z. (2009). Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews*, 84(1), 91-111. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00064.x
- McCutchan, J. H. Jr., Lewis, W. M. Jr., Kendall, C., & McGrath, C. C. (2003). Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, 102, 378-390. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.12098.x.
- Moraes-Riodades, P.M.C. & Valenti, W.C. (2002). Crescimento relativo do camarão canela *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em viveiros. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(4), 1169-1176.
- Parnell, A. C., Inger, R., Bearhop, S., & Jackson, A. L. (2010). Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation. *PLoS ONE*, 5(3), e9672. DOI: 10.1371/journal.pone.0009672.
- Parnell, A. C., Phillips, D. L., Bearhop, S., Semmens, B. X., Ward, E. J., Moore, J. W., Jackson, A. L., Grey, J., Kelly, D. J., & Inger, R. (2013). Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*, 24(6), 387-399. DOI: 10.1002/env.2221.
- Sacramento, P. A., Manetta, G. I., & Benedito, E. (2016). Diet-tissue discrimination factors ($\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$) and turnover rate in somatic tissues of a neotropical detritivorous fish on C3 and C4 diets. *Journal of Fish Biology*, 89(1), 213-219. DOI: 10.1111/jfb.12859.
- Trueman, C. N., McGill, R. A., & Guyard, P. H. (2005). The effect of growth rate on tissue-diet isotopic spacing in rapidly growing animals. An experimental study with Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An*

International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry, 19(22), 3239-3247. DOI: 10.1002/rcm.2199.

Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, 19, 100611. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100611

Capítulo 3

Contribuição relativa de fontes alimentares em monocultivo de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) e em cultivo integrado com camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e curimbatá (*Prochilodus lineatus*).

RESUMO

O objetivo do trabalho foi determinar a contribuição das principais fontes de alimentos para o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) em sistema de monocultivo e em sistema integrado com o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e o curimatá (*Prochilodus lineatus*) em viveiros de fundo natural, utilizando a análise dos isótopos estáveis de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. O experimento, foi conduzido em doze viveiros de fundo natural (0,1 ha), em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos consistiram em: monocultivo de *A. lacustris* (LM); cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum* (LP); cultivo integrado de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* (LPC). Foram coletadas amostras das possíveis fontes de alimento presentes nos sistemas, sendo elas: ração comercial, séston 1 (de 20 a 60 μm), séston 2 (de 60 a 500 μm), sedimento, macroinvertebrados bentônicos, fezes de *A. lacustris* e fezes de *P. lineatus*. Também foram coletadas amostras de tecido muscular das espécies cultivadas. Os dados da contribuição das fontes de alimento foram obtidos com os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ por meio dos modelos de misturas Bayesianos com validação por teste de diagnóstico. A ração foi a principal fonte de alimento para o *A. lacustris* (51 a 75%), enquanto que as demais fontes de alimento apresentaram participação individual reduzida, mas as fontes autóctones somadas alcançaram de 25 a 49% do alimento incorporado. O *M. amazonicum* apresentou baixa incorporação de ração comercial, e os demais alimentos apresentaram contribuições heterogêneas sem que alguma fonte de alimento se destacasse. O *P. lineatus* pode apresentar seletividade de absorção e incorporação de recursos do sedimento. A ração foi a principal fonte de alimento incorporada quando disponível para consumo, mas na ausência desta, o *P. lineatus* pode se desenvolver com os recursos autóctones. De um modo geral, os dados mostraram que as mesmas fontes de alimentos se mantiveram ao longo do desenvolvimento dos animais no período de cultivo, podendo variar mais em função da disponibilidade do que de uma alimentação seletiva.

Palavras-chave: Isótopos estáveis, fontes de alimento, sistema integrado de cultivo, lambari-do-rabo-amarelo, camarão-da-amazônia, curimatá.

ABSTRACT

The study aims to determine a diet reconstruction of the yellow tail lambari (*Astyanax lacustris*) in a monoculture and integrated system with the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*) and the curimbatá (*Prochilodus lineatus*) in earthen ponds, using the stable isotopes analysis ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). The experiment was carried out in earthen ponds (0.1 ha), in a completely randomized design. The treatments were *A. lacustris* monoculture (LM); integrated culture of *A. lacustris* and *M. amazonicum* (LP); integrated culture of *A. lacustris*, *M. amazonicum* and *P. lineatus* (LPC). Samples of possible food sources in the systems were collected, as follows: commercial feed, séston 1 (from 20 to 60 μm), séston 2 (from 60 to 500 μm), sediment, benthic macroinvertebrates, *A. lacustris* feces and *P. lineatus* feces. Muscle tissue samples from the cultivated species were also collected. Data on the contribution of food sources were obtained with the isotopic values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ by a Bayesian mixing models validated by diagnostic test. The commercial feed was the main food source for *A. lacustris* (51 a 75%), while the other food sources had a reduced individual contribution, but the combined autochthonous sources reached 25 to 49% of the incorporated food. The *M. amazonicum* presented low commercial feed incorporation, and the other food presented heterogeneous contributions without any food source being highlighted. This great food diversification and plasticity of the species can be considered a positive adaptation for integrated culture systems. The *P. lineatus* can show absorption and incorporation selectivity in the sediment compounds, which is the main food ingested. The commercial feed is the main food source incorporated when available for consumption, but in its absence, *P. lineatus* develops with autochthonous resources. The results showed that the same food sources remained throughout the development of the animals during the culture, and may vary more depending on availability than on selective feeding.

Keywords: Stable isotopes, diet reconstruction, food sources, integrated cultivation system, yellow tail lambari, Amazon river prawn, curimbata.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas as questões de responsabilidade ambiental e as práticas de produção que visam aumentar a sustentabilidade da aquicultura vem tomando a atenção e sendo impulsionadas pela academia, governo, produtores e mercado (Boyd et al., 2020). O conhecimento dos aspectos biológicos e nutricionais são essenciais para alcançar o sucesso de produção e aumentar sua eficiência e sustentabilidade (Boyd et al., 2020; Gamboa-Delgado, 2021). Uma das ferramentas importantes para a produção animal é o conhecimento dos hábitos alimentares nos habitats naturais e nos ambientes de sistema de produção (Gamboa-Delgado, 2021). A Análise de Isótopos Estáveis (AIE) tem sido usada como importante ferramenta para pesquisas em Ecologia e Zoologia (Martínez del Rio et al., 2009; Gamboa-Delgado, 2021). Apresenta grande importância nos estudos de ecologia trófica, nutrição animal (Martinelli et al., 1988; Forsberg et al., 1993; Wolf et al., 2009; Carter et al., 2019) e na aquicultura (Mahmood et al., 2016; Heldt et al., 2019; Moraes et al., 2020; Gamboa-Delgado, 2021). A utilização dos isótopos de carbono-13 (^{13}C) e de nitrogênio-15 (^{15}N) em conjunto vêm sendo muito utilizada pelos pesquisadores. Pois esse recurso somado a utilização de modelos de misturas isotópicas, tornam-se ferramentas eficientes para a definição das principais fontes de alimentos para espécies em sistemas naturais e artificiais (Gamboa-Delgado, 2021).

Os estudos de composição alimentar e ecologia trófica em sistemas de produção vêm sendo cada vez mais importantes e recorrentes. Entre esses estudos, os sistemas integrados vêm ganhando destaque (Gamboa-Delgado, 2021), Isso deve-se à importância de saber quais e quanto dos alimentos disponíveis estão sendo assimilados pelas espécies cultivadas ao longo do tempo dentro de um sistema de produção. Essas informações podem embasar a formulação de dietas adequadas e balanceadas, bem como a adequação de manejos. O conhecimento da assimilação de nutrientes permite ainda a seleção de espécies com necessidades complementares, aumentando assim a eficiência no uso dos recursos autóctones e alóctones presentes nos viveiros. Isso pode aumentar a produtividade e reduzir os efluentes poluidores, resultando em aumento da sustentabilidade da aquicultura (Heldt

et al., 2019; Boyd et al., 2020; Franchini et al., 2020; Gamboa-Delgado, 2021; Valenti et al., 2021).

Os sistemas de cultivo integrados promovem a melhor utilização dos recursos naturais presentes no sistema e dos recursos fornecidos a ele, como por exemplo a ração. Isso porque as espécies cultivadas são selecionadas de forma a ocupar todo o espaço do sistema de cultivo e de transformar o maior número de tipos de recursos disponíveis em alimento e conseqüentemente em biomassa de valor comercial. Garantindo a diversificação de produtos, biosegurança, menor carga de efluentes e maior eficiência de produção. Outra forma de aumentar a sustentabilidade destes sistemas está na escolha de espécies nativas, evitando introdução acidental de espécies exóticas em ambientes naturais. Entre a enorme variedade de espécies nativas com potencial para aquicultura em sistemas integrados podemos destacar o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*), o camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) e o curimatá (*Prochilodus lineatus*). Estas são espécies que individualmente apresentam características favoráveis de produção, têm mercado consumidor, e a presença de uma espécie não afeta o desempenho das demais, tendo portanto, compatibilidade e complementariedade (Marques et al., 2021).

O *A. lacustris* apresenta ciclo curto de produção, fácil manejo, reprodução e alimentação. Seu mercado vem se expandindo como isca viva para pesca esportiva e para consumo humano (Fonseca et al., 2017, Marques et al., 2021). O *M. amazonicum* é uma espécie com mercado para iscas vivas e consumo humano. Apresenta tecnologia de cultivo desenvolvida para todo seu processo de produção (Moraes-Valenti & Valenti, 2010). Por ser detritívora e onívora de hábitos bentônicos, é uma opção para ocupar o fundo dos sistemas de produção sem competição com as espécies pelágicas (Flickinger et al., 2020). Já o *P. lineatus* é comercializado para consumo humano e para o repovoamento principalmente de hidrelétricas. Alimenta-se principalmente de matéria orgânica no sedimento, o que faz da espécie excelente opção para o cultivo integrado (Valenti et al., 2021). Tendo em vista a importância das espécies descritas e dos estudos de composição alimentar, o presente estudo objetivou estimar quais e em que proporções as fontes de alimento autóctones e alóctones presentes em viveiros escavados de fundo natural são incorporados por *A.*

lacustris em monocultivo e por esta espécie, *M. amazonicum* e *P. lineatus* em sistema integrado.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Manejo dos viveiros e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), em Jaboticabal - SP, no Setor de Carcinicultura (21°15'22"S e 48°18'48"O). Foram utilizados doze viveiros experimentais retangulares de fundo natural, com área aproximada de 0,01 ha e profundidade média de 1 m. Inicialmente, os viveiros foram drenados, secos ao ar livre e a matéria orgânica em excesso proveniente de cultivos anteriores foi removida. Quatro dias antes do povoamento, os viveiros foram abastecidos com água proveniente de duas represas de abastecimento submetida previamente à filtração mecânica. Os viveiros de abastecimento possuem estruturas em disposição sequencial tendo fluxo contínuo de água e recebendo efluentes de outros sistemas de aquicultura (Kimpara et al., 2011; Sipaúba-Tavares, 2013). Não foi realizada calagem ou adubação dos viveiros no processo de preparação dos mesmos. Durante todo o período experimental os viveiros foram mantidos sem renovação de água, sendo utilizada a água de abastecimento apenas para repor as perdas por infiltração e evaporação. Aeradores (Bernauer, modelo B-500 Aquahobby-monophasic) foram utilizados apenas em casos de emergência (oxigênio dissolvido < 3 mg l⁻¹).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por três tratamentos, e quatro repetições. Sendo eles:

LM = (*Lambari Monoculture*) Monocultivo do *A. lacustris*;

LP = (*Lambari and Prawn*) Cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum*;

LPC = (*Lambari, Prawn and Curimatá*) Cultivo integrado do *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus*.

2.2. Obtenção, povoamento e alimentação dos animais

Os *M. amazonicum* ($54,2 \pm 3,9$ mm e $1,1 \pm 0,2$ g), produzidos no próprio Setor de Carcinicultura do Centro de Aquicultura da Unesp, campus de Jaboticabal foram estocados nos viveiros em densidade de 25 camarões m⁻². Após 15 dias, os alevinos de *P. lineatus* ($24,5 \pm 2,7$ mm e $0,22 \pm 0,08$ g), provenientes de piscicultura comercial Projeto Peixes, no município de Sales Oliveira, São Paulo, Brasil (20°46'19"S, 47°50'16"O), foram estocados nos viveiros em densidade de 13 peixes m⁻². Logo em seguida, foram estocados, em densidade de 50 peixes m⁻², os alevinos de *A. lacustris* ($34,3 \pm 8,3$ mm e $0,80 \pm 0,84$ g), provenientes de piscicultura comercial do Sítio Sobradinho, localizado no município de Buritzal, São Paulo, Brasil (20°11'28"S, 47°42'30"O). Esse manejo garantiu que as primeiras espécies estocadas pudessem estabelecer seus territórios antes das espécies povoadas logo em seguida, evitando possíveis encontros e comportamentos agonísticos (Figura 1). A densidade do *A. lacustris* foi definida de acordo com a praticada pelos produtores do estado de São Paulo, enquanto que para *M. amazonicum* e *P. lineatus* as densidades foram inferiores às praticadas nos respectivos monocultivos. No período de 15 dias entre o povoamento dos *M. amazonicum* e as espécies de peixes, não foi realizada a alimentação alóctone dos *M. amazonicum*. O experimento teve início com o povoamento dos peixes e começo do arraçoamento com ração comercial (Figura 1). Os procedimentos de manejo e coletas utilizados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Campus de Ciências Agronomia e Veterinária (FCAV), UNESP (protocolo nº 014780/19).

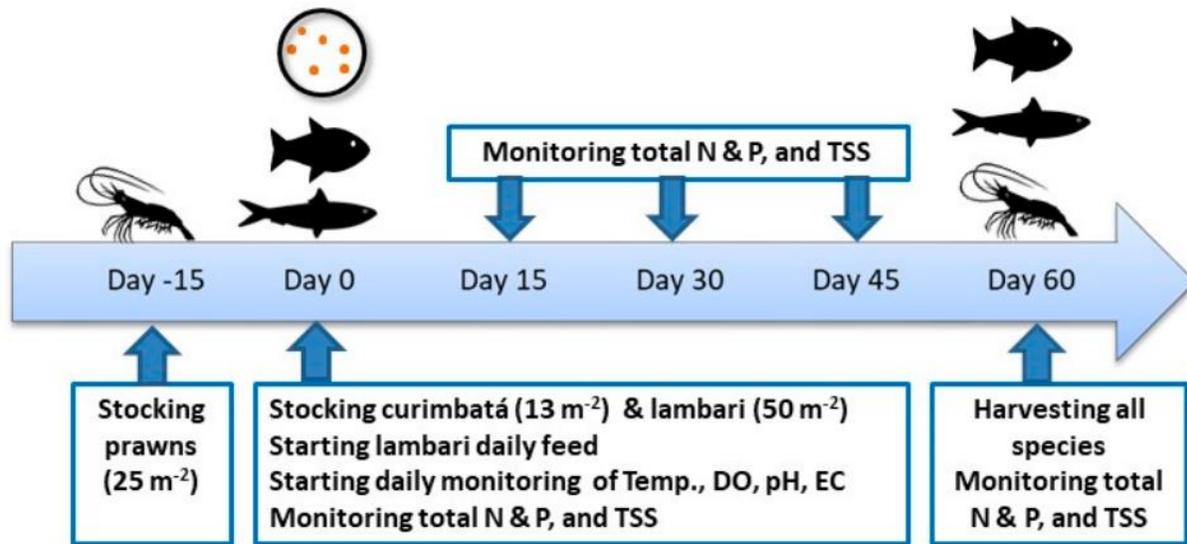


Figura 1. Linha do tempo sequenciando as atividades de manejo. Temp. = temperatura; DO = oxigênio dissolvido; EC = condutividade elétrica; N = nitrogênio total; P = fósforo total; TSS = sólidos suspensos totais. Fonte: Marques et al. (2021).

O experimento ocorreu entre o final do verão e início do outono, com início no dia 04/02/2019 e fim no dia 04/04/2019, totalizando 60 dias. A espécie principal produzida no sistema é o *A. lacustris*, que apresenta alta voracidade na captura da ração durante o arraçoamento. O manejo alimentar ocorreu considerando que apenas o *A. lacustris* fosse alimentado com ração e o *M. amazonicum* e *P. lineatus* se alimentassem apenas de outros recursos naturais, de restos de alimento ofertados aos *A. lacustris* e dos resíduos produzidos por eles. Desta forma, foi utilizada como alimentação alóctone, um lote de ração comercial (Guabi tech Onívoros QS) de 2 a 3 mm de granulometria e composição proximal, de acordo com o fornecedor, de 36% de proteína bruta, 7% lipídios, 3% fibra, e 12% matéria mineral. A ração tinha como principais ingredientes o milho e a soja. O arraçoamento ocorreu em duas porções diárias de acordo com a biomassa total do *A. lacustris*. Sendo a quantia diária de ração equivalente a 10% da biomassa até o 33º dia, e quando os animais atingiram 3.8 ± 0.3 g foi ofertado 5% da biomassa do 34º dia até o final do experimento.

2.3. Características Físicas e Químicas da Água

As variáveis temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH e condutividade elétrica, foram medidas diariamente (Figura 1) com sonda multiparâmetros YSI Professional Plus (Yellow Springs Instruments Company, Yellow Springs, OH, USA). Essas variáveis mantiveram-se dentro da recomendação para o cultivo em viveiros escavados (Boyd, 2019). Apenas a variável OD apresentou diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 1). A cada 15 dias, a água de cada unidade experimental foi coletada para quantificar os sólidos suspensos totais (SST), nitrogênio total e fósforo total (Figura 1). Os SST foram determinados por meio de filtração da água com filtro de fibra de vidro e o material filtrado seco a 105°C (*method* 2540-D; APHA, 2017). O nitrogênio total foi determinado por meio da “combustão catalítica de oxidação” (Elementar—Vario TOC Select, Langensfeld, Hesse, Germany). O fósforo total foi determinado pelo método de digestão por persulfato (4500-P B5; APHA, 2017) para liberar ortofosfatos associados com a matéria orgânica (Tabela 1). Tanto a água de abastecimento quanto a água dos viveiros ao longo do cultivo, foram classificadas como eutrófica, de acordo com Brown & Simpson (2001).

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão das variáveis de qualidade de água em cada tratamento ao longo do cultivo.

	LM	LP	LPC	<i>p</i> *
Temperatura (°C)	27,6 \pm 0,2	27,9 \pm 0,2	27,9 \pm 0,2	0,252
OD (mg L ⁻¹)	4,8 \pm 0,3 ^b	6,0 \pm 0,5 ^a	5,4 \pm 0,2 ^b	0,006
pH	8,0 \pm 0,1	8,1 \pm 0,4	8,1 \pm 0,2	0,546
Condutividade (μ S cm ⁻¹)	136 \pm 1	134 \pm 1	136 \pm 1	0,162
SST (mg L ⁻¹)	17,2 \pm 8,1	15,7 \pm 4,9	14,9 \pm 5,2	0,768
Nitrogênio total (μ g L ⁻¹)	425 \pm 186	477 \pm 135	462 \pm 136	0,554
Fósforo total (μ g L ⁻¹)	164 \pm 54	192 \pm 58	173 \pm 52	0,216

Monocultivo de *A. lacustris* (LM); cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum* (LP); cultivo integrado de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* (LPC); Oxigênio dissolvido (OD); Sólidos suspensos totais (SST)

*O valor de *p* foi obtido na comparação entre os tratamentos. Médias sinalizadas com diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente (ANOVA seguido de teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$).

2.4. Variáveis zootécnicas

A biometria foi realizada antes do povoamento ($n = 100$ / espécie), e ao final do experimento ($n = 100$ / espécie / unidade experimental). No meio do experimento (07 de março de 2019) foram coletados 50 indivíduos de *A. lacustris* por unidade experimental, para ajuste da alimentação. A massa dos animais (g) foi obtida utilizando balança (Marte, modelo AS2000C, São Paulo, SP, Brasil) com precisão de 0,01g. O comprimento total (cm) do *M. amazonicum* foi coletado com paquímetro digital (Mitutoyo) de precisão de 0,01 mm e o comprimento total (cm) e padrão (cm) dos peixes por meio de ictiômetro com precisão de 0,1 cm. O comprimento total do *M. amazonicum* é determinado pela distância entre a margem distal do rostró até a extremidade distal do telson (Moraes-Riodades & Valenti, 2002). O comprimento total dos peixes corresponde à distância entre a boca e a extremidade do lobo mais comprido da nadadeira caudal, enquanto que o comprimento padrão refere-se à distância entre a boca e a extremidade do pedúnculo caudal (Holden & Raitt, 1974). Ao final do experimento os indivíduos das três espécies foram coletados e contados para a determinação da sobrevivência dada pela equação:

$$\text{Sobrevivência(\%)} = \frac{\text{Número final de indivíduos}}{\text{Número inicial de indivíduos}} * 100$$

A produtividade total se deu pela soma da produtividade individual de todas as espécies cultivadas no viveiro. A produtividade de cada espécie, conversão alimentar aparente (CAA) do *A. lacustris* e a CAA total foram determinadas pelas respectivas equações a seguir. A CAA total apresenta a relação entre a quantidade de ração ofertada em relação ao ganho de biomassa de todas as espécies cultivadas neste sistema. Independente das espécies terem consumido ou não a ração, o objetivo deste parâmetro é demonstrar o quanto o sistema converte a ração em biomassa de valor comercial.

$$\text{Produtividade da espécie (t ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ final de indivíduos} \times \text{massa média final(t)}}{\text{área do viveiro(ha)}}$$

$$CAA = \frac{\text{Quantidade de ração ofertada}}{\text{Biomassa final} - \text{Biomassa inicial}}$$

$$CAA \text{ total} = \frac{\text{Quantidade de ração ofertada}}{\text{Biomassa final das três espécies} - \text{Biomassa inicial das três espécies}}$$

Os dados foram analisados quanto à normalidade e homocedasticidade das variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Em seguida, os dados foram submetidos a one-way ANOVA (teste F). Para diferenças significativas, as médias foram comparadas usando o teste Fisher-LSD. As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas no SigmaStat para Windows (Systat Software Inc., versão 3.5, San Jose, CA, EUA).

2.5. Coletas para análises de Isótopos Estáveis

Todas as amostras coletadas das possíveis fontes de alimento e consumidores ocorreram antes do povoamento e início do experimento (dia 0), biometria intermediária (32º dia) e da biometria final (60º dia). Sendo realizadas coletas individuais para cada unidade experimental. Foram coletadas e preparadas as amostras conforme descrito a seguir.

2.5.1 Amostras de músculo e fezes

Foram coletados dois exemplares de *M. amazonicum*, *A. lacustris* e *P. lineatus* por unidade experimental ($n = 8$ / tratamento / espécie). Cada exemplar coletado corresponde a uma amostra com a massa e comprimento total determinados. De cada exemplar de *M. amazonicum*, foi retirado o músculo abdominal sem intestino ou exoesqueleto (Anexo 02) e para os peixes foi retirada a musculatura dorsal sem escamas ou pele (Anexo 03) para a análise de isótopos estáveis. Dos mesmos exemplares das duas espécies de peixes utilizados para coletas da musculatura

dorsal, foram coletadas as amostras de fezes. A coleta ocorreu por meio de dissecação, na qual os peixes foram abertos lateralmente para a retirada do conteúdo fecal presente no intestino (Anexo 05).

2.5.2. Amostras de Séston

Para cada unidade experimental, separadamente, foram coletados em pontos distintos do viveiro 10 amostras de água com 10 L cada uma. Estas foram obtidas com baldes graduados. A água foi filtrada por rede de malha de 20 μm para compor a amostra concentrada (Anexo 06 A). Em laboratório, a amostra passou por peneira de malha 500 μm , para retenção de partículas indesejadas, e a seguir, por peneira de 60 μm . O material que passou pela peneira compôs o séston 1 (de 20 a 60 μm) e o material retido compôs a amostra denominada séston 2 (de 60 a 500 μm) (Anexo 06 B). As amostras foram submetidas a filtração com auxílio de kit de filtração, bomba a vácuo da marca Primatec modelo 131. Foram usados microfiltros de fibra de vidro tipo GF 3 da marca Machery-Nagel, com porosidade de 0,6 μm . Estes foram previamente lavados com água deionizada e aquecidos a 500°C por 4 horas. (Anexo 07 A). A amostra retida nos microfiltros foi cuidadosamente raspada e coletada em um vidro de relógio (Anexo 07 B).

2.5.3. Sedimento e Macroinvertebrados bentônicos (MIB)

O sedimento do fundo de cada viveiro foi coletado em dois pontos diferentes com uma draga do tipo Petersen (Anexo 08). As amostras passaram por decantação de duas horas para a retirada do excesso de água sobrenadante. Os macroinvertebrados bentônicos (MIB) foram coletados utilizando duas metodologias adaptadas de Kuhlmann et al. (2012). O sedimento coletado foi lavado com água deionizada por peneiras de aço inox de malhas de 1000 μm , 750 μm e 500 μm . O material retido nas peneiras foi despejado em um béquer e o material que passou pelas peneiras foi acondicionado em um balde graduado de 10 L. As peneiras passaram por detalhada

observação e todos os macroinvertebrados que ficaram presos entre as malhas foram retirados com pinças. Nos béqueres contendo material retido nas peneiras, foi despejada solução saturada de sal (NaCl), fazendo com que todos os macroinvertebrados flutuassem e então fossem coletados com auxílio de peneira e pinça (Anexo 09). Juntamente da coleta de MIB foi observada a presença e ausência dos mesmos para cada unidade experimental que compõem os três tratamentos.

Todo o restante do material contido no béquer, passou por peneira de 1000 µm para a retirada e descarte de pedras e folhas. O material restante recebeu água deionizada para que o sal fosse diluído. Após decantação de 15 horas, o excesso de água foi retirado para a obtenção do material orgânico sedimentado, compondo a amostra de sedimento.

2.5.4. Ração comercial

Foram coletadas amostras de todos os sacos de ração e homogeneizadas em uma única amostra para análise isotópica. Todos os sacos de ração utilizados no experimento corresponderam a um mesmo lote de produção. Desse modo, pôde-se garantir que toda a ração ofertada aos animais apresentasse o mesmo sinal isotópico. A utilização de um único lote de ração é fundamental para este tipo de estudo, pois as fábricas de ração costumam reformular cada lote de ração comercial mantendo os “níveis nutricionais de garantia”. Isso porque diferentes lotes de ração podem ter em sua composição quantidades diferentes de ingredientes, de safras ou regiões diferentes, e até mesmo a implementação de alguns ingredientes na forma de “eventuais substitutos” (Anexo 10). Do ponto de vista isotópico, esses dois lotes diferentes apresentariam valores de $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$ e $\delta\text{‰}^{15}\text{N}$ diferentes entre si, mesmo sendo nutricionalmente semelhantes. Portanto, a homogeneidade é fundamental para os experimentos realizados com isótopos estáveis, pois a alteração de sinal isotópico da ração poderia mascarar a sua participação na composição do músculo dos animais. Tornando assim, impossível determinar seu grau de incorporação pelos mesmos, bem como na contribuição do $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$ e $\delta\text{‰}^{15}\text{N}$ da ração dentro da composição isotópica das demais fontes de alimento dentro do sistema do viveiro.

2.6. Preparo das amostras para análise de isótopos estáveis

Todas as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada da marca Nova Ética a 50°C durante 48 horas. As amostras foram individualmente moídas até atingirem fina granulometria e homogeneização total. Para amostras com maior quantidade de material, foram utilizados almofariz e pistilo de cerâmica. Para amostras com pouca quantidade de material, a moagem ocorreu dentro do próprio tubo *ependorf* de armazenamento com auxílio de um pistilo de vidro.

As amostras foram pesadas em balança analítica (modelo XP2U Ultra Micro Balance da marca Mettler Toledo, Switzerland) com precisão de $\pm 0,1 \mu\text{g}$ em cápsulas de estanho com tamanho de 3,3 x 5,0 mm (Anexo 04). Para a correta leitura do equipamento de análise isotópica, é necessário ter em torno de 50 μg de carbono e nitrogênio na amostra. Sendo assim, foram realizados testes prévios com as próprias amostras deste estudo, para que fossem estabelecidos os intervalos de peso para cada tipo de amostra, de acordo com o percentual de carbono e nitrogênio das mesmas (Tabela 2).

Tabela 2. Intervalo de peso pré-estabelecido para pesagem das amostras para análise isotópica conjunta de ^{13}C e ^{15}N .

	Intervalo de peso (μg)
Músculo de <i>A. lacustris</i>	450 - 550
Músculo de <i>M. amazonicum</i>	450 - 550
Músculo de <i>P. lineatus</i>	450 - 550
Ração comercial	800 - 1000
Séston 1 (20 a 60 μm)	1000 - 1400
Séston 2 (60 a 500 μm)	500 - 600
Sedimento	4500 - 5000
Fezes de <i>A. lacustris</i>	350 - 450
Macroinvertebrados bentônicos (MIB)	500 - 600
Fezes de <i>P. lineatus</i>	500 - 600

2.7. Análise dos isótopos estáveis

As amostras pesadas e acondicionadas nas cápsulas de estanho foram encaminhadas ao Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti” – CIE, Instituto de Biociências da UNESP, campus Botucatu, para que fossem analisadas isotopicamente por um sistema de espectrometria de massa de razão isotópica por fluxo contínuo – CF-IRMS. Composto por analisador elementar (Flash 2000 – Thermo Scientific, Germany) acoplado ao IRMS (Delta V Advantage – Thermo Scientific, Germany) por meio de uma interface de gases (ConFlo IV – Thermo Scientific, Germany) para determinar a razão isotópica $R(^iE/^jE)_{amostra}$ do Carbono $R(^{13}C/^{12}C)$ e Nitrogênio $R(^{15}N/^{14}N)$. Os resultados são expressos em diferença relativa da razão isotópica δ^iE , a partir do valor padrão $R(^iE/^jE)_{padr\tilde{a}o}$ em (‰) conforme equação abaixo (Coplen, 2011; Brand & Coplen, 2012).

$$\delta^iE = \frac{R(^iE/^jE)_{amostra}}{R(^iE/^jE)_{padr\tilde{a}o}} - 1$$

Sendo, $R(^iE/^jE)_{padr\tilde{a}o}$ é o padrão VPDB (Vienna Peedee belemnite) de 0,011180 para carbono e padrão N² de 0,0036765 para nitrogênio. Foram utilizados os padrões “NBS22” e “IAEA-N-1” para calibrar os resultados das leituras do equipamento (Brand et al., 2014). A incerteza padrão do CF-IRMS é de $\pm 0,10$ ‰ e $\pm 0,15$ ‰ para $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ respectivamente.

2.8. Análise dos dados e Determinação das principais fontes de alimento

Os dados foram analisados pelo programa R Studio, versão 4.1.1 (2021). Os valores de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ dos consumidores e das fontes de alimento de cada coleta foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade. Após passarem por esses pressupostos, foi realizada análise estatística por meio de análise de variância (ANOVA medidas repetidas), e quando encontrada diferença estatística foi

aplicado teste de comparações múltiplas para amostras pareadas (Teste de Fisher LSD “*Least significant difference*” com $\alpha \leq 0,05$).

Para estimar a contribuição das fontes de alimento de cada consumidor cultivado, os valores isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das fontes de alimento foram ajustados pelos fatores de discriminação determinados nos estudos de discriminação isotópica, realizados também neste projeto. A partir disto, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ajustados das fontes de alimento e dos consumidores foram aplicados a modelos de mistura de isótopos estáveis (SIMM) dentro de uma estrutura Bayesiana (Phillips, 2001) utilizando o pacote computacional *simmr* – “Stable Isotope Mixing Models in R”, versão 0.4.5 (Parnell et al., 2010; Parnell et al., 2013), no software R Studio, versão 4.1.1 (2021). O *simmr* é uma versão atualizada e melhorada dos pacotes computacionais *MixSIR* e *SIAR*, apresentando um modelo de mixagem mais sofisticado e recursos de plotagem mais amplos (Parnell et al., 2013).

O modelo do *simmr* foi ajustado utilizando a cadeia de Markov Monte Carlo. Para verificar se o modelo foi executado corretamente foi utilizado o diagnóstico de convergência de “Brooks-Gelman-Rubin” (Brooks & Gelman, 1998). Resultados próximos de 1 indicam convergência correta do modelo, enquanto que para valores maiores que 1,1 é recomendado utilizar maiores números de interações na tentativa de ajustar o modelo. No presente estudo o valor mais alto obtido foi de apenas 1,04, desta forma o modelo se ajustou corretamente aos dados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Variáveis zootécnicas

O *A. lacustris* apresentou sobrevivência de 46 a 56% no presente estudo (Tabela 3). A sobrevivência de *A. lacustris*, em monocultivo, varia em torno de 50 a 60% em pisciculturas comerciais (Marques et al., 2021). O tempo de cultivo de 3 a 4 meses é o esperado para que os indivíduos de *A. lacustris* alcancem o comprimento total de mercado de 6 a 8 cm (Fonseca et al., 2017; Valenti et al., 2021). No presente estudo, o *A. lacustris* alcançou este comprimento total em apenas dois meses de cultivo. Uma

vez que objetivou-se realizar a engorda dos animais buscando seguir a realidade das pisciculturas comerciais de modo a obter dados isotópicos que possam descrevê-las. Os resultados biométricos obtidos de *A. lacustris* demonstram estarem dentro da realidade de uma piscicultura comercial.

Após 60 dias de cultivo, com densidade inicial de povoamento de 25 ind. m⁻², o *M. amazonicum* apresentou sobrevivência de 80% nos tratamentos LP e LPC. Enquanto que o *P. lineatus* obteve sobrevivência de 70% em densidade inicial de 13 ind. m⁻² (Tabela 3). De acordo com dados da literatura, nestas densidades, pode-se constatar que a sobrevivência das duas espécies no presente estudo é considerada alta (Moraes-Valenti & Valenti, 2007; Rodrigues et al., 2019; Dantas et al., 2020; Franchini et al., 2020). Portanto, de acordo com os dados obtidos, sugere-se que as espécies presentes no sistema integrado não provocaram mortalidade entre si.

Tabela 3. Médias e desvio padrão das variáveis de desempenho zootécnico após 60 dias de cultivo. Tamanhos iniciais: *A. lacustris* = 0,8 ± 0,8 g; 3,4 ± 0,8 cm; *M. amazonicum* = 1,1 ± 0,2 g; 5,4 ± 0,4 cm; *P. lineatus* = 0,2 ± 0,1 g; 2,5 ± 0,3 cm.

	LM	LP	LPC
Produtividade total (t ha ⁻¹)	1,8 ± 0,4 ^c	2,4 ± 0,2 ^b	3,2 ± 0,5 ^a
CAA total ¹	2,5 ± 0,8 ^a	1,8 ± 0,3 ^{ab}	1,4 ± 0,3 ^b
<i>Astyanax lacustris</i>			
Massa final (g)	7,7 ± 0,8	7,8 ± 0,9	7,7 ± 0,8
Comprimento total final (cm)	7,3 ± 0,2	7,4 ± 0,3	7,4 ± 0,1
Sobrevivência (%)	46 ± 8	48 ± 9	56 ± 14
Produtividade (t ha ⁻¹)	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,2	2,1 ± 0,5
CAA	2,5 ± 0,8	2,2 ± 0,3	2,0 ± 0,6
<i>Macrobrachium amazonicum</i>			
Massa final (g)		2,7 ± 0,2	2,4 ± 0,2
Comprimento total final (cm)		6,8 ± 0,2	6,6 ± 0,2
Sobrevivência (%)		80 ± 4	81 ± 3
Produtividade (t ha ⁻¹)		0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,0
<i>Prochilodus lineatus</i>			
Massa final (g)			6,1 ± 2,2
Comprimento total final (cm)			7,3 ± 0,7
Sobrevivência (%)			70 ± 10
Produtividade (t ha ⁻¹)			0,5 ± 0,1

Monocultivo de *A. lacustris* (LM); cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum* (LP); cultivo integrado de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* (LPC); Conversão alimentar aparente (CAA) Médias sinalizadas com diferentes letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (ANOVA seguido de teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$)

¹O cálculo da conversão alimentar aparente (CAA) total levou em consideração a biomassa despescada de todas as espécies juntas de cada sistema de produção.

As médias de massa, comprimento total, sobrevivência, produtividade e CAA do *A. lacustris* e *M. amazonicum* não mostraram diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 3). Uma vez que o desempenho do *A. lacustris* não apresentou alteração estatística independente do tratamento, ou seja, mesmo com a adição das duas espécies, observou-se que *M. amazonicum* e *P. lineatus* não afetaram negativamente o desempenho produtivo do *A. lacustris*. A adição de *P. lineatus* ao sistema de produção também não afetou o desempenho produtivo do *M. amazonicum*. O que permite inferir que o comportamento alimentar das três espécies, nos sistemas de cultivo analisados, pode ser distinto e/ou apresentar plasticidade, de modo a não haver competição interespecífica por alimento.

A produtividade total aumentou e a conversão alimentar aparente (CAA) total diminuiu com aumento do número de espécies no sistema de cultivo. Os resultados de produtividade total apresentaram valores estatisticamente distintos e crescentes com o aumento de espécies integradas no sistema (Tabela 3). Assim, o sistema integrado com as três espécies apresentou produtividade total significativamente superior ao monocultivo com *A. lacustris* e ao cultivo integrado com *A. lacustris* e *M. amazonicum*. Já a produtividade do cultivo integrado com *A. lacustris* e *M. amazonicum* foi significativamente superior ao monocultivo. A CAA total representa a razão entre a massa de dieta fornecida e a soma da produção de todas as espécies presentes em cada viveiro. Portanto, os resultados indicaram que com a mesma quantidade de ração, e conseqüentemente, com o mesmo custo com alimentação, obteve-se maior biomassa mostrando um aumento na eficiência de utilização da dieta.

3.2. Determinação das principais fontes de alimento

Por conta de cada tratamento apresentar a inclusão de uma espécie consumidora, cada tratamento apresentou diferentes quantidades de tipos de fontes alimentares. No tratamento LM foram determinadas as fontes, ração comercial, séston 1, séston 2, sedimento e fezes de *A. lacustris*. No tratamento LP, além das fontes mencionadas anteriormente, incluiu-se os macroinvertebrados bentônicos (MIB), que

foram adicionados à equação para o consumidor *M. amazonicum*. No tratamento LPC, além dos seis recursos alimentares mencionados, foi acrescentado as fezes de *P. lineatus*, totalizando sete possíveis fontes alimentares para as três espécies de consumidores.

Durante as coletas, os viveiros pertencentes aos tratamentos em que foram povoados *M. amazonicum* e *P. lineatus* não foram encontrados macroinvertebrados bentônicos (MIB) junto da amostra de sedimento. Enquanto que no monocultivo de *A. lacustris* a amostra de sedimento apresentou a ocorrência de MIB. Todos os viveiros passaram, ao mesmo tempo, pelos mesmos procedimentos de preparo e enchimento para receber os animais e iniciar o experimento. Desta forma, todos os viveiros apresentaram as mesmas condições para o desenvolvimento dos MIB, sendo o único diferencial, a presença das espécies cultivadas de acordo com seus respectivos tratamentos. A presença e ausência dos MIB é uma informação valiosa para o desenvolvimento das análises de Modelos de Mistura de Isótopos Estáveis (SIMM), impactando no resultado deste estudo. Isso porque a presença de MIB apenas em monocultivo de *A. lacustris* demonstrou que não ocorreu o consumo desta fonte de alimento pela espécie a ponto de afetar a existência das mesmas no sedimento dos viveiros. Desta forma, mesmo o *A. lacustris* sendo uma espécie onívora oportunista consumidora de insetos e invertebrados, ela apresenta hábitos pelágicos, permanecendo na superfície e meio da coluna d'água (Lobón-Cerviá & Bennemann, 2000; Cassemiro et al., 2002; Garutti, 2003; Abilhoa, 2007; Silva et al., 2012; Fonseca et al., 2017; Valladão et al., 2018), não tendo o hábito de procurar alimento revolvendo a camada bentônica do viveiro.

Em contrapartida, a ocorrência de MIB no tratamento LM e a não ocorrência de MIB em viveiros povoados com *M. amazonicum* e *P. lineatus* (tratamentos LP e LPC) sugere que os mesmos foram consumidos por *M. amazonicum* e possivelmente por *P. lineatus*. Por conta de não haver um tratamento com *P. lineatus* sem a presença de *M. amazonicum* não se pode afirmar que o *P. lineatus* teve participação no consumo desta fonte alimentar. Porém, de acordo com seu hábito de revolver o fundo e consumir detritos sedimentado (Kalous et al., 2012), não pode ser descartada a possibilidade de este consumir MIB junto com o sedimento. Contudo, podemos afirmar que o *M. amazonicum* consome MIB. Desta forma, ao utilizar os Modelos de Mistura de Isótopos

Estáveis (SIMM) para estimar as fontes de alimentos para o consumidor *A. lacustris*, a fonte de alimento MIB não foi adicionada às equações, pressupondo que o mesmo não consome essa fonte alimentar de modo significativo. Os valores isotópicos referentes aos MIB coletados no tratamento LM foram utilizados para representar a mesma fonte de alimento para os consumidores *M. amazonicum* e *P. lineatus* nos tratamentos LP e LPC.

As amostras coletadas foram analisadas isotopicamente, apresentando resultados que podem ser utilizados nas equações das análises de Modelos de Mistura de Isótopos Estáveis (SIMM) (Tabela 4). A ração utilizada nos experimentos apresentou valores isotópicos homogêneos entre suas seis réplicas. Isso garantiu dados seguros da principal fonte de alimento e da principal fonte de incremento de carbono e nitrogênio do sistema.

Tabela 4. Média e desvio padrão das amostras coletadas em cada tratamento no início (dia 0), meio (32º dia) e final (60º dia) do experimento. Monocultivo de *A. lacustris* (LM), Cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum* (LP), Cultivo integrado de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* (LPC).

Ração experimental	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)			$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		
	-18.35 ± 0.10			3.66 ± 0.16		
Amostra \ Tratamento	LM	LP	LPC	LM	LP	LPC
Músculo <i>A. lacustris</i> - dia 0	-17,6 ± 0,3 ^B	-17,6 ± 0,3	-17,6 ± 0,3	8,4 ± 0,4 ^A	8,4 ± 0,4 ^A	8,4 ± 0,4 ^A
Músculo <i>A. lacustris</i> - dia 32	-17,1 ± 0,3 ^A	-17,1 ± 0,2	-17,4 ± 0,6	6,9 ± 0,8 ^B	6,9 ± 0,4 ^B	7,4 ± 0,6 ^B
Músculo <i>A. lacustris</i> - dia 60	-17,1 ± 0,5 ^A	-17,3 ± 0,4	-17,1 ± 0,3	7,2 ± 0,5 ^B	7,3 ± 0,5 ^B	7,1 ± 0,4 ^B
Músculo <i>M. amazonicum</i> - dia 0		-17,7 ± 0,4	-17,5 ± 0,5		11,0 ± 0,4 ^A	11,2 ± 0,5 ^A
Músculo <i>M. amazonicum</i> - dia 32		-17,3 ± 0,7	-17,2 ± 0,6		10,7 ± 0,5 ^{AB}	10,5 ± 0,5 ^B
Músculo <i>M. amazonicum</i> - dia 60		-17,1 ± 0,4	-17,3 ± 0,9		10,4 ± 0,3 ^B	10,2 ± 0,5 ^B
Músculo <i>P. lineatus</i> - dia 0			-18,5 ± 1,0 ^A			8,4 ± 0,9
Músculo <i>P. lineatus</i> - dia 32.			-19,1 ± 0,7 ^{AB}			8,4 ± 0,6
Músculo <i>P. lineatus</i> - dia 60			-19,4 ± 0,7 ^B			8,8 ± 0,7
Séston 1 (20 a 60 µm) - dia 0	-20,7 ± 1,1 ^A	-20,3 ± 1,4 ^B	-20,5 ± 0,5 ^A	5,6 ± 0,3 ^B	5,3 ± 0,6 ^B	5,6 ± 0,7 ^C
Séston 1 (20 a 60 µm) - dia 32	-20,1 ± 1,2 ^{Ab}	-19,0 ± 0,4 ^{Aa}	-20,1 ± 0,4 ^{Ab}	7,6 ± 0,7 ^{Aa}	6,1 ± 0,4 ^{Ab}	7,8 ± 0,6 ^{Aa}
Séston 1 (20 a 60 µm) - dia 60	-23,3 ± 0,9 ^B	-22,7 ± 1,5 ^C	-22,7 ± 0,6 ^B	5,1 ± 1,2 ^{Bb}	5,5 ± 0,8 ^{ABb}	6,7 ± 1,1 ^{Ba}
Séston 2 (60 a 500 µm) - dia 0	-19,4 ± 0,9 ^A	-19,1 ± 0,9	-19,3 ± 0,7 ^A	5,2 ± 0,8 ^B	5,1 ± 0,7 ^B	5,4 ± 1,1 ^B
Séston 2 (60 a 500 µm) - dia 32	-21,5 ± 1,4 ^{Bb}	-19,1 ± 0,9 ^a	-21,2 ± 1,2 ^{Bb}	7,8 ± 0,9 ^{Aa}	6,4 ± 1,1 ^{Ab}	8,5 ± 0,2 ^{Aa}
Séston 2 (60 a 500 µm) - dia 60	-23,6 ± 1,5 ^{Cb}	-20,2 ± 2,0 ^a	-22,6 ± 1,5 ^{Cb}	7,5 ± 1,5 ^{Aab}	7,1 ± 0,7 ^{Ab}	8,3 ± 0,6 ^{Aa}
Sedimento - dia 0	-20,2 ± 0,3	-20,6 ± 0,5	-21,0 ± 0,8	8,5 ± 0,3 ^A	8,1 ± 0,3 ^A	8,2 ± 0,4 ^A
Sedimento - dia 32	-21,0 ± 0,5	-20,6 ± 0,8	-20,9 ± 0,5	7,5 ± 0,4 ^B	7,4 ± 0,6 ^B	7,8 ± 0,5 ^A
Sedimento - dia 60	-20,8 ± 1,0	-20,5 ± 0,8	-21,1 ± 0,5	6,7 ± 0,3 ^C	6,8 ± 0,3 ^C	7,1 ± 0,5 ^B
Fezes <i>A. lacustris</i> - dia 0	-18,4 ± 0,1	-18,4 ± 0,1	-18,4 ± 0,1	6,7 ± 0,6	6,7 ± 0,6 ^A	6,7 ± 0,6 ^A
Fezes <i>A. lacustris</i> - dia 32	-19,0 ± 1,1 ^b	-17,9 ± 0,4 ^a	-18,2 ± 0,7 ^a	5,7 ± 0,6	5,4 ± 0,5 ^B	5,4 ± 0,5 ^B
Fezes <i>A. lacustris</i> - dia 60	-19,0 ± 0,6 ^b	-18,3 ± 0,7 ^a	-17,7 ± 0,3 ^a	6,0 ± 0,9	6,2 ± 0,8 ^A	5,5 ± 0,6 ^B
MIB – dia 0	-21,6 ± 1,0	Ausente*	Ausente*	8,9 ± 0,7 ^A	Ausente*	Ausente*
MIB – dia 32	-20,7 ± 0,6	Ausente*	Ausente*	6,5 ± 0,6 ^B	Ausente*	Ausente*
MIB – dia 60	-21,3 ± 0,8	Ausente*	Ausente*	5,4 ± 1,3 ^C	Ausente*	Ausente*
Fezes <i>P. lineatus</i> - dia 0			-19,4 ± 0,8 ^A			6,6 ± 1,8 ^B
Fezes <i>P. lineatus</i> - dia 32.			-20,3 ± 0,7 ^B			9,4 ± 2,8 ^A
Fezes <i>P. lineatus</i> - dia 60			-21,1 ± 0,4 ^C			8,2 ± 1,8 ^{AB}

MIB = Macroinvertebrados Bentônicos

* Organismos não encontrados para serem amostrados nos tratamentos LP e LPC

Médias sinalizadas com diferentes letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (Teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$)

Médias sinalizadas com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$)

Médias não sinalizadas com letras não diferem estatisticamente (Teste de Fisher-LSD com $\alpha \leq 0.05$).

As amostras de músculo dorsal do *A. lacustris* e musculatura abdominal do *M. amazonicum* mostram que os sinais isotópicos de ^{13}C e ^{15}N não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Isso levanta a hipótese de que independente da presença das demais espécies cultivadas, o *A. lacustris* e o *M. amazonicum* não alteraram seus hábitos alimentares nos sistemas de cultivo analisados. Porém, essa hipótese deve ser levantada de forma cuidadosa, uma vez que algumas fontes alimentares apresentaram alteração entre tratamentos, podendo ser responsáveis por estes resultados (Tabela 4). Portanto, para esclarecer esta hipótese, um caminho possível é o da análise de Modelos de Mistura de Isótopos Estáveis.

Os resultados isotópicos dos músculos dos consumidores e das possíveis fontes de alimento resultaram em gráficos bidimensionais, nos quais o eixo x corresponde aos valores de $\delta^{13}\text{C}$ enquanto que o eixo y corresponde os valores de $\delta^{15}\text{N}$. Esse gráfico denominado de “*Iso-space plot*” permite identificar a eventual proximidade e relação de um ponto de vista espacial entre os consumidores e fontes de alimento (Parnell et al., 2010; Parnell et al., 2013). A Figura 2, apresenta os valores brutos dos sinais isotópicos das fontes de alimento e dos consumidores em relação aos eixos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. É esperado que os valores dos consumidores estivessem dentro de uma área limitada pelas extremidades dos desvios das médias das fontes alimentares, podendo assim explicar por meio das fontes presentes o sinal isotópico do consumidor. Caso o consumidor esteja fora desta área, pode ser esperada a existência de uma fonte não coletada que explique o sinal do consumidor. Porém, antes de ser levantada tal hipótese, faz-se necessário que as fontes de alimentos tenham seus valores corrigidos de acordo com o fator de discriminação (Δ) entre a fonte de alimento e o tecido do consumidor.

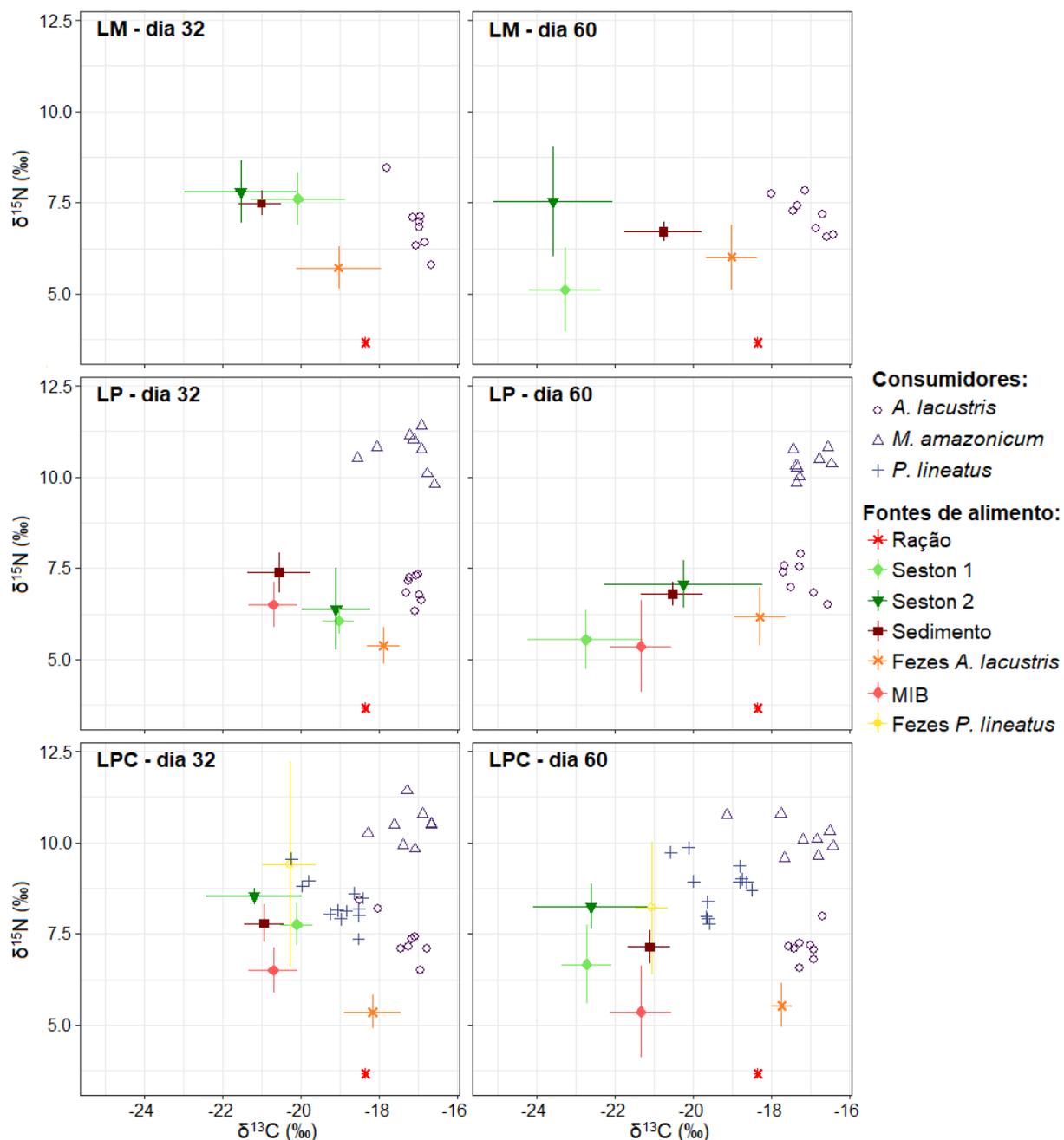


Figura 2. Iso-space plot das médias e desvios padrão dos sinais isotópicos brutos (sem correção pelo fator de discriminação) das fontes de alimento Ração, Seston 1, Seston 2, Sedimento, Fezes de *A. lacustris*, Macroinvertebrados Bentônicos (MIB), Fezes de *P. lineatus* e dos consumidores *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* em relação aos eixos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$.

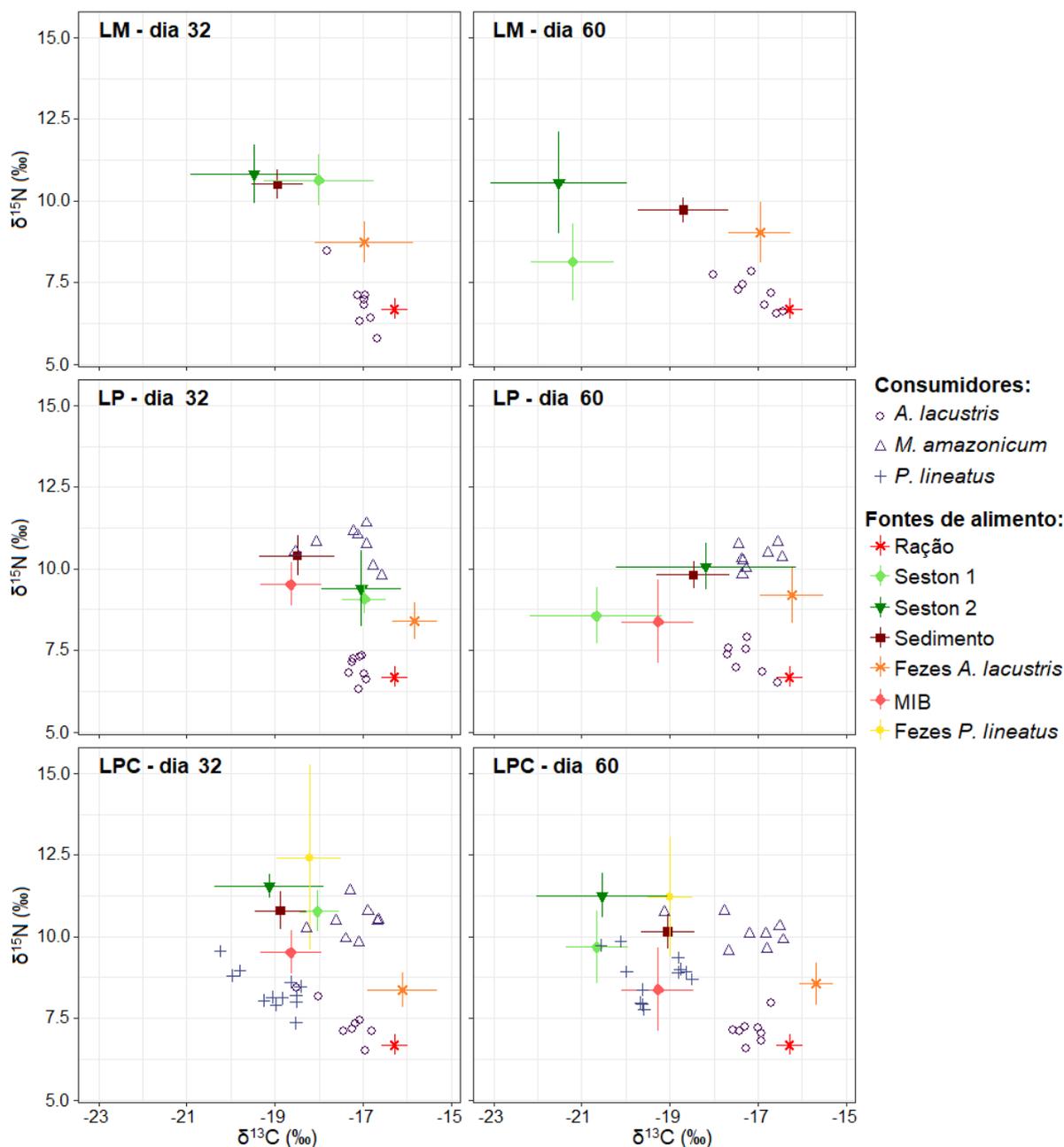


Figura 3. Iso-space plot das médias e desvios padrão dos sinais isotópicos, corrigidos pela média dos fatores de discriminação, das fontes de alimento Ração, Séston 1, Séston 2, Sedimento, Fezes de *A. lacustris*, Macroinvertebrados Bentônicos (MIB), Fezes de *P. lineatus* e dos consumidores *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* em relação aos eixos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$.

O Δ é um fator de correção entre os sinais isotópicos da fonte e o tecido do consumidor. Isso é necessário por conta do comportamento diferenciado do IE leve e pesado durante as interações físicas e químicas nos processos metabólicos (Martínez del Rio & Wolf, 2005; Martínez del Rio et al., 2009). Com isso, a Figura 3

apresenta o gráfico *Iso-space plot* com as fontes de alimento corrigidas pelos valores de Δ obtidos em experimento com a ração comercial para as três espécies de consumidores (para *A. lacustris* $\Delta^{13}\text{C}$ de $2,0 \pm 0,2 \text{ ‰}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $2,9 \pm 0,3 \text{ ‰}$; para *M. amazonicum* $\Delta^{13}\text{C}$ de $2,3 \pm 0,3 \text{ ‰}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,0 \pm 0,3 \text{ ‰}$; para *P. lineatus* $\Delta^{13}\text{C}$ de $1,8 \pm 0,4 \text{ ‰}$ e $\Delta^{15}\text{N}$ de $3,1 \pm 0,2 \text{ ‰}$). Pode ser observado na Figura 3, ao contrário da Figura 2, que os sinais isotópicos dos consumidores se encontram próximos das fontes de alimento e dentro da área limitada pelas extremidades dos desvios das médias destes alimentos. Desta forma, pode-se ter maior confiança de que as reais dietas dos consumidores podem ser explicadas pelas fontes de alimento presentes, e conseqüentemente podem ser estimadas.

O *A. lacustris* apresenta sinais isotópicos muito próximos do recurso alimentar ração, independente do tratamento ou do período de coleta (32^o dia e 60^o dia de experimento) (Figura 3). Partindo do pressuposto de que o consumidor apresenta o sinal isotópico próximo do alimento, os dados sugerem que a ração corresponde à principal fonte de alimento da espécie quando cultivada em viveiros escavados em sistema de monocultivo ou cultivo integrado em que o *A. lacustris* é a espécie alvo. As análises de SIMM, validadas por teste de diagnóstico, puderam confirmar este pressuposto, uma vez que os resultados estimaram que a ração é a principal fonte de alimento para o *A. lacustris* com valor médio entre tratamentos de $60 \pm 15\%$ no 32^o dia e $72 \pm 7\%$ no 60^o dia. As demais fontes de alimento apresentaram participação reduzida e sem que alguma entre elas se destacasse a ponto de poder ser eleita como segunda principal fonte de alimento. Porém, de forma conjunta, elas podem ser consideradas muito importantes, pois correspondem de 25 a 49% do alimento ingerido e incorporado na musculatura da espécie (Tabela 5; Figura 4). Este comportamento corrobora com o hábito alimentar onívoro oportunista do gênero *Astyanax* (Lobón-Cerviá & Bennemann, 2000; Cassemiro et al., 2002; Garutti, 2003; Silva et al., 2012; Fonseca et al., 2017; Valladão et al., 2018).

Tabela 5. Média e desvio padrão da contribuição das fontes alimentos para as três espécies de acordo com os tratamentos, monocultivo de *A. lacustris* (LM), cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum* (LP), cultivo integrado de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* (LPC). Resultados referentes ao meio (32º dia) e final (60º dia) do experimento.

	Contribuição das fontes de alimento (%)					
	32º dia			60º dia		
	LM	LP	LPC	LM	LP	LPC
<i>A. lacustris</i>						
Ração	67 ± 9	51 ± 21	62 ± 16	75 ± 6	65 ± 8	75 ± 6
Séston 1 (20 a 60 µm)	7 ± 5	14 ± 13	7 ± 6	6 ± 4	13 ± 5	7 ± 4
Séston 2 (60 a 500 µm)	8 ± 5	9 ± 8	8 ± 6	5 ± 3	7 ± 5	5 ± 3
Sedimento	8 ± 5	18 ± 9	8 ± 6	6 ± 4	8 ± 6	5 ± 4
Fezes <i>A. lacustris</i>	10 ± 8	7 ± 6	9 ± 10	8 ± 6	8 ± 6	4 ± 4
Fezes <i>P. lineatus</i>			6 ± 5			4 ± 3
<i>M. amazonicum</i>						
Ração		6 ± 5	9 ± 6		9 ± 9	7 ± 6
Séston 1 (20 a 60 µm)		13 ± 11	25 ± 18		7 ± 4	8 ± 6
Séston 2 (60 a 500 µm)		17 ± 15	13 ± 10		16 ± 14	17 ± 13
Sedimento		41 ± 21	12 ± 10		19 ± 13	18 ± 16
Fezes <i>A. lacustris</i>		10 ± 7	18 ± 10		42 ± 15	22 ± 13
MIB*		14 ± 13	9 ± 7		8 ± 6	7 ± 6
Fezes <i>P. lineatus</i>			15 ± 9			21 ± 12
<i>P. lineatus</i>						
Ração			39 ± 19			12 ± 8
Séston 1 (20 a 60 µm)			6 ± 5			18 ± 14
Séston 2 (60 a 500 µm)			7 ± 7			8 ± 6
Sedimento			9 ± 8			8 ± 7
Fezes <i>A. lacustris</i>			7 ± 7			6 ± 4
MIB*			27 ± 24			42 ± 19
Fezes <i>P. lineatus</i>			5 ± 4			6 ± 5

LM = Monocultivo de *A. lacustris*; LP = Cultivo integrado de *A. lacustris* e *M. amazonicum*; LPC = Cultivo integrado de *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus*

*MIB = Macroinvertebrados bentônicos.

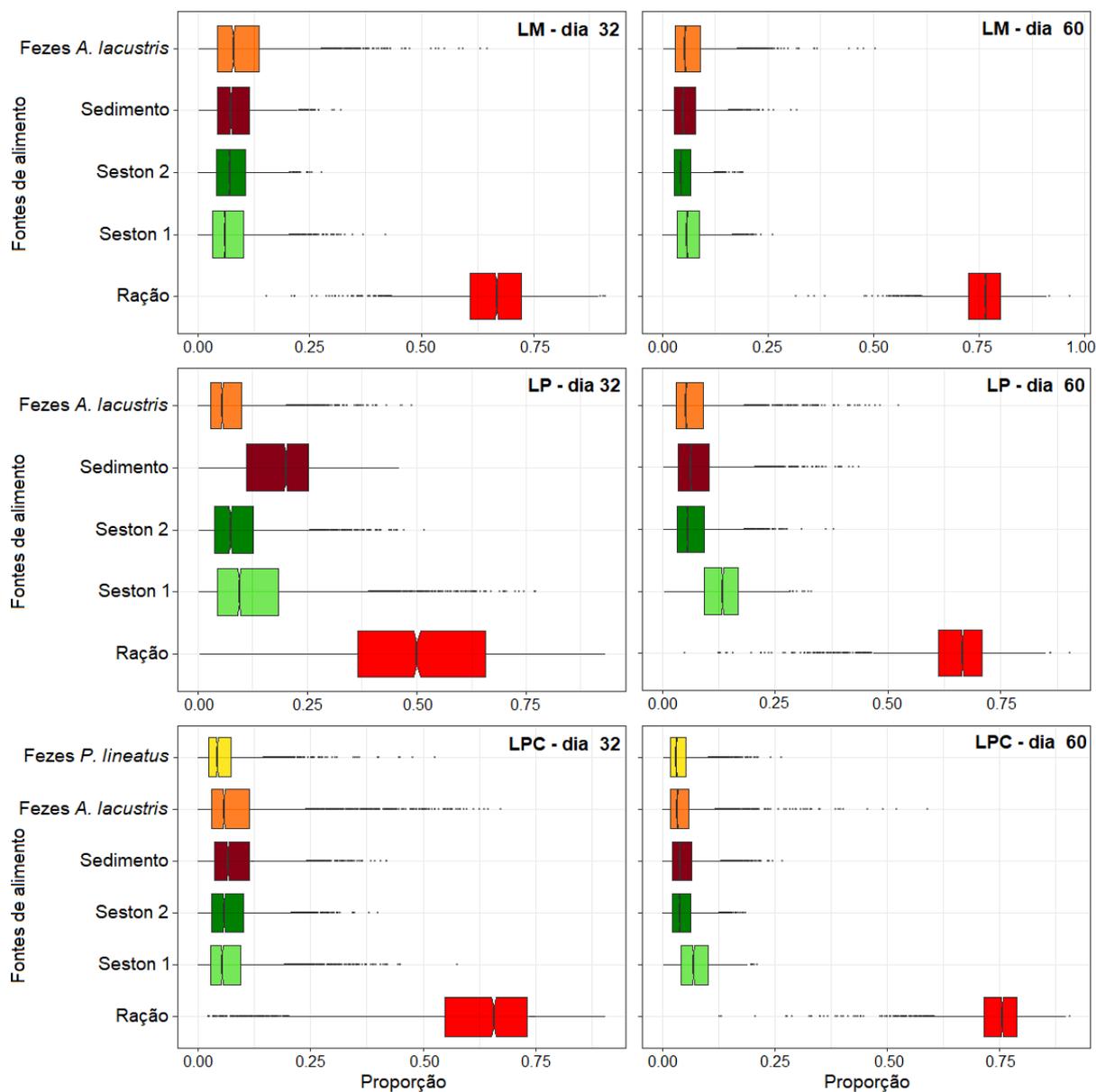


Figura 4. *Boxplot* das contribuições das fontes de alimento: Ração, Séston 1, Séston 2, Sedimento, Fezes de *A. lacustris*, Fezes de *P. lineatus* e Macroinvertebrados Bentônicos (MIB), para o perfil isotópico do músculo dorsal do consumidor *A. lacustris* no 32^o e 60^o dia de experimento.

As proporções dos recursos alimentares consumidos pelo *M. amazonicum* apresentaram comportamento heterogêneo entre os tratamentos e entre os dois períodos de coleta (Tabela 5; Figura 5). As únicas fontes de alimento que não apresentaram contribuição elevada em nenhum dos tratamentos ou período de coleta foram a ração e os macroinvertebrados bentônicos (MIB). Era esperado que a ração não fosse um recurso utilizado diretamente pela espécie em cultivos

integrados. Isso porque o *M. amazonicum* apresenta hábitos bentônicos (Maciel & Valenti, 2009; Moraes-Valenti & Valenti, 2010; Marques et al., 2016), e a ração é do tipo extrusada de baixa densidade, permanecendo na superfície da água. Somado a isso, o *A. lacustris* apresenta alta voracidade de captura da ração, não permitindo que a mesma seja acessível diretamente ao *M. amazonicum*. Porém, era esperado que o MIB apresentasse proporções mais elevadas que as encontradas, em que o valor mais alto foi de $14 \pm 13\%$ e os demais entre 7 e 9%. Isso porque, como discutido anteriormente, a presença do *M. amazonicum* no viveiro pode ter resultado na eliminação do MIB junto ao sedimento. Possivelmente, a predação dos camarões sobre os organismos bentônicos impediu o desenvolvimento do MIB de modo que a baixa abundância desses organismos se traduziu por pequena contribuição do material incorporado na musculatura de *M. amazonicum*.

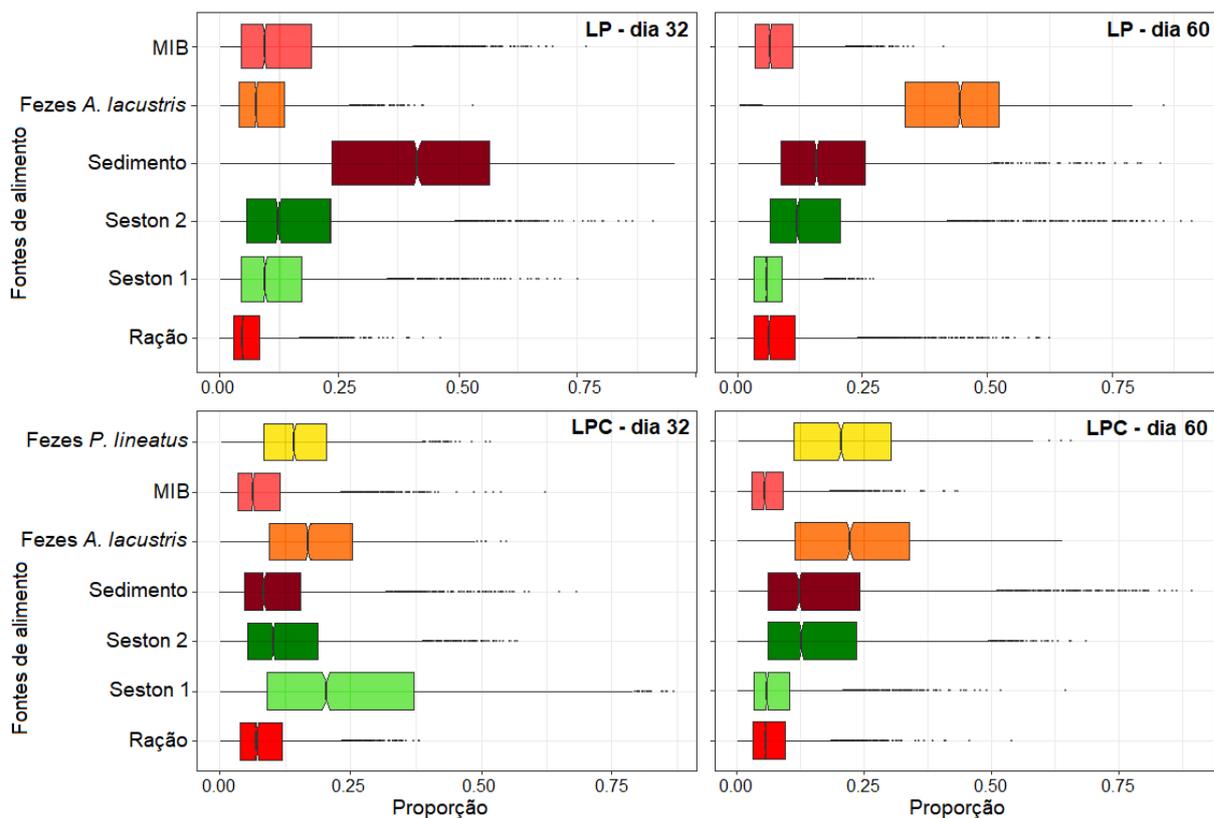


Figura 5. Boxplot das contribuições das fontes de alimento Ração, Séston 1, Séston 2, Sedimento, Fezes de *A. lacustris*, Fezes de *P. lineatus* e Macroinvertebrados Bentônicos (MIB), para o perfil isotópico do músculo abdominal do consumidor *M. amazonicum* no 32^o e 60^o dia de experimento.

Todos os outros recursos apresentaram contribuição elevada para *M. amazonicum* em pelo menos um dos cenários. De forma geral, não foi observado um alimento que se destacasse em diversos cenários em relação as demais fontes, para que possa ser apontado como sendo o mais importante para o desenvolvimento e incorporação do tecido muscular (Figura 5). Apenas em dois cenários um alimento se destacou dos demais. No tratamento LP ao 32º dia de experimento, o sedimento se destacou com $41 \pm 21\%$ de contribuição, enquanto que as demais fontes de alimento permaneceram de 6 a 17%. O tratamento LP para o 60º dia, as fezes de *A. lacustris* foi o recurso mais consumido, com $42 \pm 15\%$, enquanto que os outros recursos permaneceram com proporções de 7 a 19%. Esta visão geral de heterogeneidade dos resultados, corrobora com a apresentada por Costa (2017) e Heldt et al. (2019), em que utilizaram também IE juntamente com modelos de mistura Bayesiano como ferramenta metodológica, para estimar as fontes de alimento para *M. amazonicum*. De forma similar aos resultados do presente estudo, os dados obtidos por esses autores reforçaram o hábito onívoro da espécie e a grande diversificação e plasticidade na utilização dos recursos disponíveis dentro do sistema em que estão sendo cultivados. Os resultados corroboram com outros estudos utilizando outras metodologias além do uso de IE (Valenti, 1996; Maciel & Valenti, 2009; Moraes-Valenti & Valenti, 2010; Marques et al., 2016). Sendo *M. amazonicum*, portanto, uma espécie onívora e detritívora oportunista, com fácil adaptação aos recursos alimentares disponíveis no sistema de cultivo em que se encontram.

Para a espécie *P. lineatus*, os recursos alimentares, fezes *A. lacustris*, fezes *P. lineatus*, sedimento e séston 2, apresentaram resultados baixos de consumo, com contribuições individuais variando de 5 a 9% (Tabela 5; Figura 6). O baixo consumo de sedimento foi um resultado oposto do esperado, pois é uma espécie que reside na porção inferior da coluna d'água (Valenti et al., 2021) e a literatura afirma que uma das principais fontes de alimento consiste no sedimento, juntamente com detritos e organismos ali presentes (Bayol & de Yuan, 1996; Fugi et al., 1996; Resende et al., 1995; Lopes et al., 2007; Kalous et al., 2012; Sacramento et al., 2016; Valenti et al., 2021).

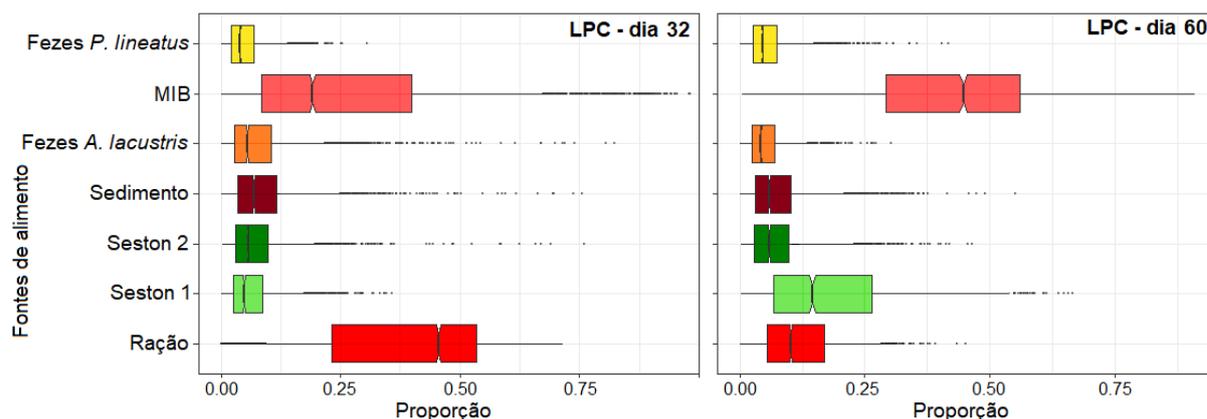


Figura 6. Boxplot das contribuições das fontes de alimento Ração, Séston 1, Séston 2, Sedimento, Fezes de *A. lacustris*, Fezes de *P. lineatus* e Macroinvertebrados Bentônicos (MIB), para o perfil isotópico do músculo dorsal do consumidor *P. lineatus* no 32^o e 60^o dia de experimento. BMI = Macroinvertebrados bentônicos.

No 32^o dia de cultivo, a ração correspondeu a maior fonte de alimento assimilada por *P. lineatus* ($39 \pm 19\%$). Esse resultado não era esperado. Durante os arraçoamentos, não foi identificado *P. lineatus* ingerindo diretamente a ração, até porque o *A. lacustris* apresentou grande voracidade em consumir a ração ofertada. Pode ser entendido que o arraçoamento com 10% da biomassa de *A. lacustris* no primeiro mês de cultivo excedeu a quantidade de alimento necessária para o *A. lacustris*, de forma que ocorressem sobras que foram consumidas pelo *P. lineatus*. Após a primeira metade do experimento, com a redução da taxa de ração ofertada para 5% da biomassa do *A. lacustris*, as sobras de ração foram muito reduzidas e, portanto, a incorporação dessa fonte na musculatura de *P. lineatus* foi pequena.

Na coleta do 60^o dia, o MIB foi o alimento com maior incorporação em *P. lineatus* ($42 \pm 19\%$), seguido do séston 1 ($18 \pm 14\%$). Embora não tenham sido consideradas as principais fontes de alimentos que aparecem na literatura, foram apontadas como fontes secundárias de grande importância para a espécie (Bayol & de Yuan, 1996; Fugi et al., 1996; Resende et al., 1996; Lopes et al., 2007; Kalous et al., 2012; Sacramento et al., 2016; Valenti et al., 2021). Porém, uma vez que as fontes de alimentos para a espécie foram determinadas por meio da análise de conteúdo estomacal, o sedimento identificado em grandes quantidades nessas análises pode não ter sido incorporado nos tecidos do animal. A absorção e

incorporação no tecido muscular pode ocorrer de forma seletiva, priorizando o séston 1 e MIB presentes vivos ou mortos no sedimento, na forma de matéria orgânica particulada.

Os resultados desse trabalho indicam que a ração é o principal recurso alimentar para o crescimento do *A. lacustris* durante todo o seu desenvolvimento. Porém, a contribuição dos alimentos autóctones somados pode representar até 49% do material incorporado na musculatura. Portanto, os aquicultores devem planejar o manejo dos viveiros de modo a favorecer o desenvolvimento da biota aquática mesmo no monocultivo do *A. lacustris*. O perfil onívoro com alta plasticidade alimentar observado em *M. amazonicum* mostra que esta espécie é adequada para sistemas integrados. Essa plasticidade permite o cultivo da espécie em diferentes sistemas e integrada com diferentes espécies, uma vez que ela se adapta às condições de recursos alimentares disponíveis com facilidade. O *P. lineatus* pode apresentar seletividade na absorção e incorporação de alimentos presentes no sedimento. Havendo ração disponível, esse peixe irá se alimentar dela incorporando seus componentes na musculatura. Portanto, é uma opção interessante como espécie secundária de produção no sentido de não permitir que ocorra sobras de ração. Sugere-se que na falta de ração, essa espécie possa se desenvolver com os recursos autóctones, como pôde ser observado neste estudo, principalmente do meio até o termino do cultivo. Desta forma, as três espécies se utilizam de fontes de alimentos que contribuem para o seu desenvolvimento de modo a não ocorrer competição por recursos mesmo quando há sobreposição dos mesmos. Portanto, nesse estudo foram observadas três espécies aquáticas diferentes com características alimentares que favoreceram o cultivo, em sistemas integrados de produção.

4. REFERÊNCIAS

- Abilhoa, V. (2007). Aspectos da história natural de *Astyanax scabripinnis* Jenyns (Teleostei, Characidae) em um riacho de floresta com araucária no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 24(4), 997-1005.
- APHA (American Public Health Association), (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd ed.; APHA: Washington, DC, USA.
- Bayol, V., & de Yuan Cordiviola, E. (1996). Food assimilation of a neotropical riverine detritivorous fish, *Prochilodus lineatus*, studied by fatty acid composition (Pisces, Curimatidae). *Hydrobiologia*, 330(2), 81-88. DOI: 10.1007/BF00019997.
- Boyd, C.E, (2019). Water Quality: An Introduction; Springer Nature: Alburn, AL, USA.
- Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., ... & Valenti, W. C. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633. Doi: 10.1111/jwas.12714.
- Brand, W. A., & Coplen, T. B. (2012). Stable isotope deltas: tiny, yet robust signatures in nature. *Isotopes in environmental and health studies*, 48(3), 393-409. DOI: 10.1080/10256016.2012.666977.
- Brand, W. A., Coplen, T. B., Vogl, J., Rosner, M., & Prohaska, T. (2014). Assessment of international reference materials for isotope-ratio analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 86(3), 425-467. DOI: 10.1515/pac-2013-1023.
- Brooks, S. P., & Gelman, A. (1998). General methods for monitoring convergence of iterative simulations. *Journal of computational and graphical statistics*, 7(4), 434-455. DOI: 10.1080/10618600.1998.10474787.
- Brown, T., & Simpson, J. (2001). Managing phosphorus inputs to urban lakes: I. Determining the trophic state of your lake. *Watershed Protection Techniques*, 3(4), 771.
- Carter, W. A., Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2019). The importance of isotopic turnover for understanding key aspects of animal ecology and nutrition. *Diversity*, 11(5), 84. DOI: 10.3390/d11050084.
- Cassemiro, F. A. S., Hahn, N. S., & Fugi, R. (2002). Avaliação da dieta de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Osteichthyes, Tetragonopterinae) antes e após a formação do reservatório de Salto Caxias, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 24, 419-425. DOI: 10.4025/actascibiols.v24i0.2314.
- Coplen, T. B. (2011). Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results. *Rapid communications in mass spectrometry*, 25(17), 2538-2560. DOI: 10.1002/rcm.5129.

- Costa, G. A. (2017). Determinação das fontes de alimentos no cultivo do camarão-da-amazônia e tambaqui, utilizando isótopos estáveis. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, p. 139.
- Dantas, D. P., Flickinger, D. L., Costa, G. A., Batlouni, S. R., Moraes-Valenti, P., & Valenti, W. C. (2020). Technical feasibility of integrating Amazon river prawn culture during the first phase of tambaqui grow-out in stagnant ponds, using nutrient-rich water. *Aquaculture*, 516, 734611. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734611.
- Flickinger, D. L., Costa, G. A., Dantas, D. P., Proença, D. C., David, F. S., Durborow, R. M., Moraes-Valenti, P. & Valenti, W. C. (2020). The budget of carbon in the farming of the Amazon river prawn and tambaqui fish in earthen pond monoculture and integrated multitrophic systems. *Aquaculture Reports*, 17, 100340. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100340
- Fonseca, T., Costa-Pierce, B. A., & Valenti, W. C. (2017). Lambari aquaculture as a means for the sustainable development of rural communities in Brazil. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(4), 316-330. DOI: 10.1080/23308249.2017.1320647.
- Forsberg, B. R., Araújo-Lima, C. A. R. M., Martinelli, L. A., Victória, R. L., & Bonassi, J. A. (1993). Autotrophic carbon sources for fish of the central Amazon. *Ecology*, 74(3), 643-652. DOI: 10.2307/1940793.
- Franchini, A. C., Costa, G. A., Pereira, S. A., Valenti, W. C., & Moraes-Valenti, P. (2020). Improving production and diet assimilation in fish-prawn integrated aquaculture, using iliophagus species. *Aquaculture*, 521, 735048. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735048.
- Fugi, R., Hahn, N. S., & Agostinho, A. A. (1996). Feeding styles of five species of bottom-feeding fishes of the high Paraná River. *Environmental Biology of fishes*, 46(3), 297-307. DOI: 10.1007/BF00005006.
- Gamboa-Delgado, J. (2021). Isotopic techniques in aquaculture nutrition: State of the art and future perspectives. *Reviews in Aquaculture* DOI: 10.1111/raq.12609.
- Garutti, V. (2003). Piscicultura ecológica. São Paulo: Ed. UNESP.
- Heldt, A., Suita, S., Dutra, F. M., Pereira, A. L., & Ballester, E. (2019). Stable isotopes as a method for analysis of the contribution of different dietary sources in the production of *Macrobrachium amazonicum*. *Latin american journal of aquatic research*, 47(2), 282-291. DOI: 10.3856/vol47-issue2-fulltext-8.
- Holden, M. J. & Raitt, D. F. S. (1975). Manual of Fisheries science. Part 2-Methods of Resource Investigation and their Application. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome, Italy.
- Kalous, L., Bui, A. T., Petrýl, M., Bohlen, J., & Chaloupková, P. (2012). The South American freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Actinopterygii: characiformes: Prochilodontidae): new species in Vietnamese aquaculture. *Aquaculture Research*, 43(6), 955-958. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02895.x.

- Kimpara, J. M., Tito Rosa, F. R., de Lima Preto, B., & Valenti, W. C. (2011). Limnology of *Macrobrachium amazonicum* grow-out ponds subject to high inflow of nutrient-rich water and different stocking and harvest management. *Aquaculture Research*, 42(9), 1289-1297. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02717.x.
- Kuhlmann, M. L., Johnscher-Fornasaro, G., Ogura, L. L., & Imbimbo, H. R. V. (2012). Protocolo para o biomonitoramento com as comunidades bentônicas de rios e reservatórios do estado de São Paulo. São Paulo: CETESB.
- Lobón-Cerviá, J., & Bennemann, S. (2000). Temporal trophic shifts and feeding diversity in two sympatric, neotropical, omnivorous fishes: *Astyanax bimaculatus* and *Pimelodus maculatus* in Rio Tibagi (Paraná, Southern Brazil). *Archiv für Hydrobiologie*, 149 (2), 285-306. DOI: 10.1127/archiv-hydrobiol/149/2000/285.
- Lopes, C. A., Benedito - Cecilio, E., & Martinelli, L. A. (2007). Variability in the carbon isotope signature of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae, Characiformes) a bottom-feeding fish of the Neotropical region. *Journal of Fish Biology*, 70(6), 1649-1659. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2007.01388.x.
- Maciel, C. R., & Valenti, W. C. (2009). Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*: a review. *Nauplius*, 17(2), 61-79.
- Mahmood, T., Fang, J., Jiang, Z., & Zhang, J. (2016). Carbon and nitrogen flow, and trophic relationships, among the cultured species in an integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) bay. *Aquaculture Environment Interactions*, 8, 207-219. DOI: 10.3354/aei00152.
- Marques, H. L., New, M. B., Boock, M. V., Barros, H. P., Mallasen, M., & Valenti, W. C. (2016). Integrated freshwater prawn farming: state-of-the-art and future potential. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(3), 264-293. DOI: 10.1080/23308249.2016.1169245.
- Marques, A. M., Boaratti, A. Z., Belmudes, D., Ferreira, J. R., Mantoan, P. V., Moraes-Valenti, P., & Valenti, W. C. (2021). Improving the efficiency of lambari production and diet assimilation using integrated aquaculture with benthic species. *Sustainability*, 13(18), 10196. DOI: 10.3390/su131810196.
- Martinelli, L. A., Victoria, R. L., Matsui, E., Forsberg, B. R., & Mozeto, A. A. (1988). Utilização das variações naturais de $\delta^{13}\text{C}$ no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. *Acta Limnol Bras*, 1, 859-882.
- Martínez del Rio, C., & Wolf, B. O. (2005). Mass balance models for animal isotopic ecology. *Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates* (eds. M. A. Starck & T. Wang), pp. 141–174.
- Martínez del Rio, C., Wolf, N., Carleton, S. A., & Gannes, L. Z. (2009). Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews*, 84(1), 91-111. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00064.x

- Moraes, C. R. F., de Attayde, J. L., & Henry-Silva, G. G. (2020). Stable isotopes of C and N as dietary indicators of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in net cages in a tropical reservoir. *Aquaculture Reports*, 18, 100458. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100458.
- Moraes-Riodades, P.M.C. & Valenti, W.C. (2002). Crescimento relativo do camarão canela *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em viveiros. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(4), 1169-1176.
- Moraes-Valenti, P. M., & Valenti, W. C. (2007). Effect of intensification on grow out of the Amazon River prawn, *Macrobrachium amazonicum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(4), 516-526. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2007.00125.x.
- Moraes-Valenti, P. & Valenti, W. C. (2010). Culture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. p. 485-501. In: M. B. New; W. C. Valenti; J. H. Tidwell; L. R. D'Abramo, and M. N. Kutty, (eds). *Freshwater prawns: biology and farming*. Oxford, Wiley-Blackwell.
- Parnell, A. C., Inger, R., Bearhop, S., & Jackson, A. L. (2010). Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation. *PLoS ONE*, 5(3), e9672. DOI: 10.1371/journal.pone.0009672.
- Parnell, A. C., Phillips, D. L., Bearhop, S., Semmens, B. X., Ward, E. J., Moore, J. W., Jackson, A. L., Grey, J., Kelly, D. J., & Inger, R. (2013). Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*, 24(6), 387-399. DOI: 10.1002/env.2221.
- Phillips, D. L. (2001). Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia*, 127(2), 166-170. DOI: 10.1007/s004420000571.
- Resende, E. K., Catella, A. D., Nascimento, F. L., Palmeira, S. D. S., Pereira, R. A. C., Lima, M. D. S., & de Almeida, V. L. L. (1995). Biologia do Curimatá (*Prochilodus lineatus*), Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e Cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do Rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Embrapa Pantanal-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* (INFOTECA-E). <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/789558>.
- Rodrigues, C. G., Garcia, B. F., Verdegem, M., Santos, M. R., Amorim, R. V., & Valenti, W. C. (2019). Integrated culture of Nile tilapia and Amazon river prawn in stagnant ponds, using nutrient-rich water and substrates. *Aquaculture*, 503, 111-117. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.073.
- Sacramento, P. A., Manetta, G. I., & Benedito, E. (2016). Diet-tissue discrimination factors ($\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$) and turnover rate in somatic tissues of a neotropical detritivorous fish on C3 and C4 diets. *Journal of Fish Biology*, 89(1), 213-219. DOI: 10.1111/jfb.12859.
- Silva, D. A., Pessoa, E. K. R., da Costa, S. A. G. L., Chellappa, N. T., & Chellappa, S. (2012). Ecologia alimentar de *Astyanax lacustris* (Osteichthyes: Characidae) na Lagoa do Piató, Assú, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, 2(1), 74-82. DOI: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v2n1p74-82.

- Sipaúba-Tavares, L.H. (2013). Uso Racional da água em Aquicultura. *Jaboticabal: Funep*. 189p.
- Valenti, W. C. (1996). Criação de camarões em águas interiores. FUNEP, Jaboticabal.
- Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, 19, 100611. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100611
- Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369.
- Wolf, N., Carleton, S. A., & Martínez del Rio, C. (2009). Ten years of experimental animal isotopic ecology. *Functional Ecology*, 23(1), 17-26. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2009.01529.x.

Capítulo 4

Considerações Finais e Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmaram nossa hipótese inicial de que no monocultivo intensivamente arraçoado do lambari-do-rabo-amarelo (*A. lacustris*) ou no cultivo integrado dessa espécie com o camarão-da-amazônia (*M. amazonicum*) e curimatá (*P. lineatus*), parte significativa do alimento assimilado tem origem autóctone, sendo composto pela biota aquática. Essa fração pode chegar a 49% para o *A. lacustris*. Portanto, o manejo da biota aquática é importante para o bom crescimento e produção da espécie. Também foi confirmada a hipótese inicial de que a presença de *M. amazonicum* e *P. lineatus* não interfere nas fontes de alimento usadas para o crescimento de *A. lacustris*.

Nossa hipótese de que as fezes de *A. lacustris* tem papel importante como fonte de alimento de *M. amazonicum* também foi confirmada. Porém, foi refutada a hipótese de que as sobras de ração seriam outro componente importante na alimentação dessa espécie no presente estudo, provavelmente porque não houve restos de ração que foi totalmente ingerida pelos *A. lacustris* e *P. lineatus*. Os dados mostraram que o sedimento como um todo, o séston 1, o séston 2, formado principalmente por zooplâncton e matéria orgânica particulada, e as fezes de *A. lacustris* e *P. lineatus* podem desempenhar papel mais importante do que os resíduos de ração, diretamente, no desenvolvimento de *M. amazonicum*. No desenvolvimento de *P. lineatus*, as principais fontes de alimento incorporado foi a ração, conforme nossa hipótese inicial, e os macroinvertebrados bentônicos.

A hipótese de que as fontes de alimentos usadas no crescimento variam ao longo do desenvolvimento do *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* não foi confirmada. Os dados mostraram que de um modo geral as mesmas fontes se mantêm ao longo do desenvolvimento dos animais no período de cultivo, podendo variar mais em função da disponibilidade do que de uma alimentação seletiva. Principalmente para *M. amazonicum* e *P. lineatus* que não apresentaram preferência alimentar no que diz respeito à incorporação das fontes de alimento na musculatura das espécies.

A determinação do fator de discriminação isotópica para *A. lacustris*, *M. amazonicum* e *P. lineatus* mostrou-se muito importante na aplicação da técnica dos isótopos estáveis para determinação das fontes de alimento usadas no crescimento desses organismos aquáticos, considerando que este fator havia sido determinado somente para *M. amazonicum* e *P. lineatus*, mas ainda não havia sido para *A. lacustris*.

Finalmente, podemos concluir que a adição de espécies bentônicas, que se alimentam da biota aquática e detritos, ao monocultivo do *A. lacustris* aumentou a eficiência do cultivo, levando a um aumento na produtividade e redução da conversão alimentar aparente. Portanto, representa uma maior eficiência no uso da ração, que é o insumo mais caro no cultivo de peixes intensivamente arraçados. Portanto, aquicultura em sistemas integrados usando espécies com funções ecológicas complementares, quando bem planejados e executados de forma adequada otimiza o uso dos alimentos e reciclagem dos resíduos, transformando detritos em biomassa de valor econômico, aumentando a sustentabilidade desta atividade.

ANEXOS

ANEXO 01

Unidades experimentais de 900 L úteis com renovação contínua de água e aeração forçada por compressor radial e pedras difusoras, utilizadas para os experimentos de fator de discriminação isotópica para *A. lacustris*, *P. lineatus* e *M. amazonicum*.



ANEXO 02

Composição de produtos e eventuais substitutos de acordo com as informações oferecidas na embalagem da ração comercial “Guabi tech Onívoros QS” de 2 a 3mm de granulometria:

“Composição Básica do Produto: Milho Integral Mopido, Farelo de Soja, Farelo de Trigo, Farelo de Gérmen de Milho Desengordurado, Farinha de Carne e Ossos, Farinha de Peixe, Farinha de Sangue, Farinha de Penas Hidrolisadas, Farinha de Vísceras de Aves, Óleo de Soja Degomado, Cloreto de Sódio (Sal Comum), L-Lisina, DL-Metionina, Vitamina A, Vitamina D3, Vitamina E, Vitamina K3, Vitamina C, Tianina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6), Vitamina B12, Ácido Fólico, Biotina, Niacina, Pantotenato de Cálcio, Sulfato de Cobre, Sulfato de Ferro, Monóxido de Manganês, Proteinato de Zinco, Selênio na Forma Orgânica, Aditivo Prebiótico, Aditivo Probiônico, Extrato de Alecrim, Óleo de Palma, Óleo de Coco, Ácido Propiônico, Aluminossilicato de Cálcio e Sódio, B.H.A. (Butil Hidroxianisol), B.H.T. (Hidróxido de Tolueno Butilado), Propilgalato;

Eventuais Substitutos: Sorgo Integral Moído, Farelo de Glúten de Milho 60, Farelo de Arroz, Farelo de Gérmen de Milho, Farelo de Glúten de Milho 21, Quirera de Arroz, Levedura Seca de Cana-de-Açúcar, Hemoglobina, Óleo de Peixe Refinado, Óleo de Vísceras de Aves, Calcário Calcítico, Fosfato Bicálcico, Bacillus ssp.”

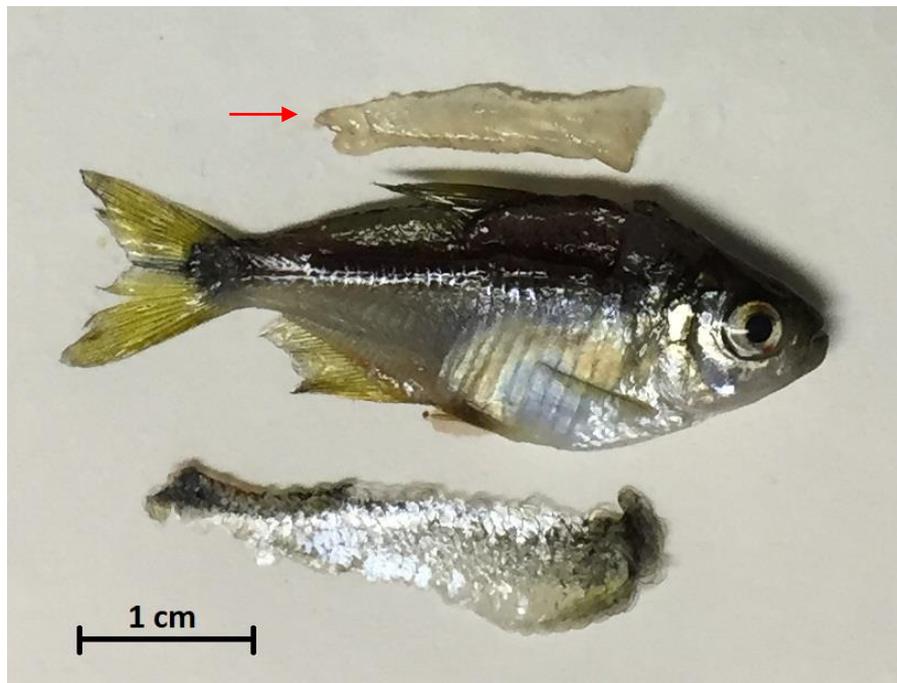
ANEXO 03

Coleta da musculatura abdominal do *M. amazonicum*.



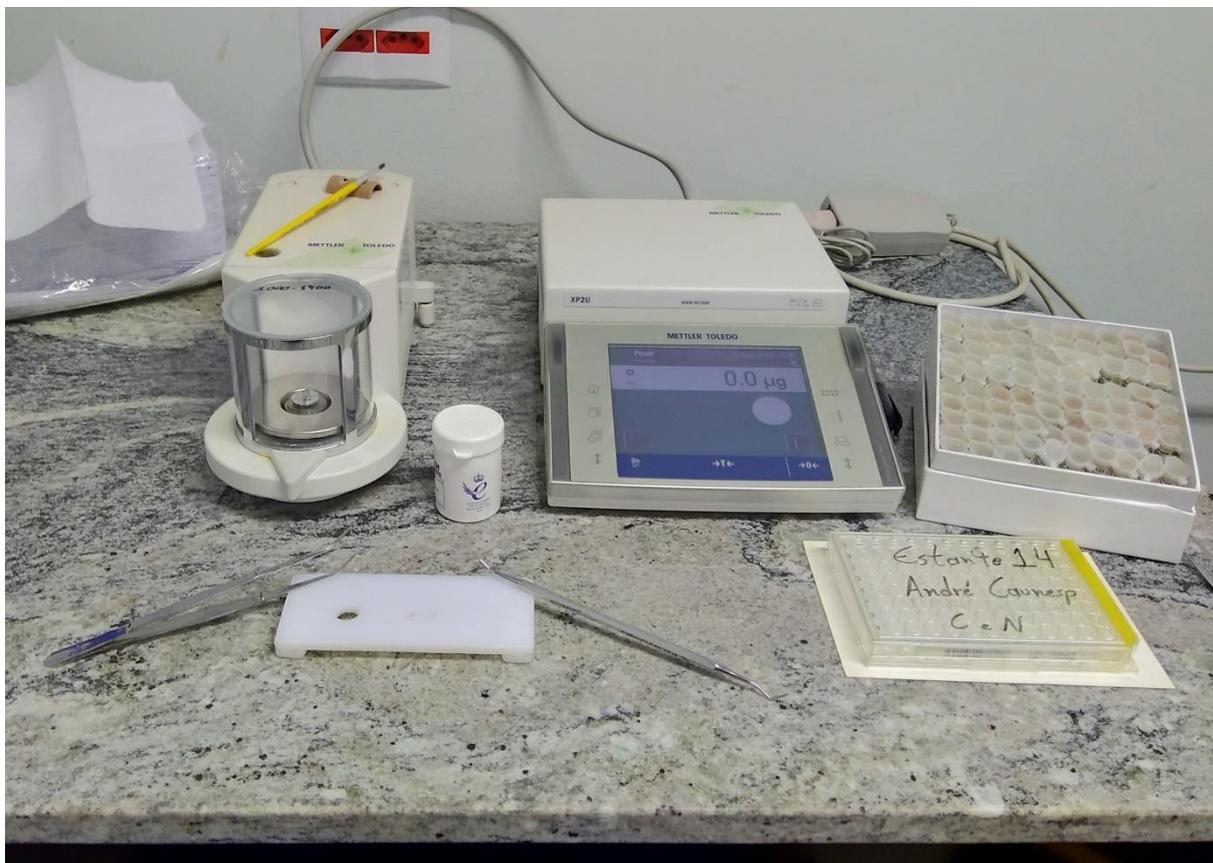
ANEXO 04

Coleta da musculatura dorsal do *A. lacustris*.



ANEXO 05

Equipamentos utilizados para a pesagem das amostras. Micro balança modelo XP2U Ultra Micro Balance da marca Mettler Toledo, com precisão de 0,1 μ .



ANEXO 06

Coletada das amostras de fezes, por dissecação do conteúdo fecal presente no intestino.



Foto: Boaratti A. Z.

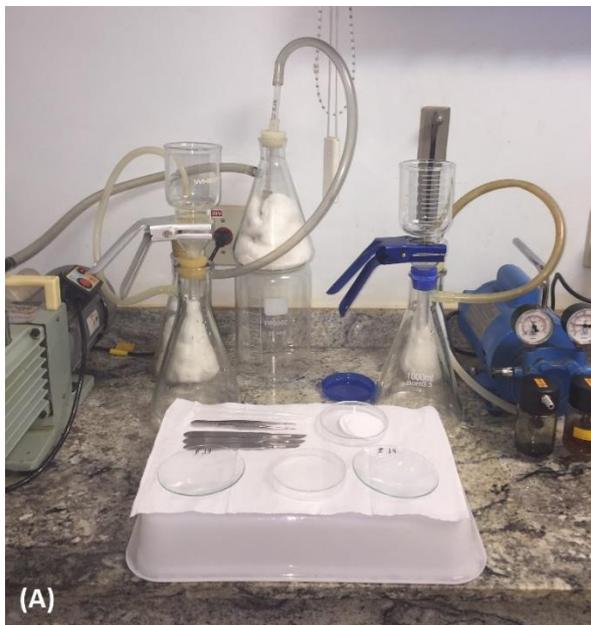
ANEXO 07

Rede de malha de 20 μm para compor uma amostra concentrada no campo (A). Peneira de aço inox de malha 500 μm , para retenção de partículas indesejadas, peneira de aço inox de 60 μm para retenção da amostra Sésston 2, e amostra de Sésston 1 filtrada no béquer (B).



ANEXO 08

Bomba a vácuo com microfiltros de fibra de vidro tipo GF 3 com porosidade de 0,6 μm (A). Amostra retida nos microfiltros raspada para vidro de relógio (B).



ANEXO 09

Coleta de Material orgânico sedimentado com auxílio de draga do tipo Petersen.



ANEXO 10

Macroinvertebrados bentônicos retidos nas peneiras de aço inox, e flutuando em solução saturada de sal (NaCl). Animais coletados com auxílio de pinças e peneiras plásticas pequenas.

