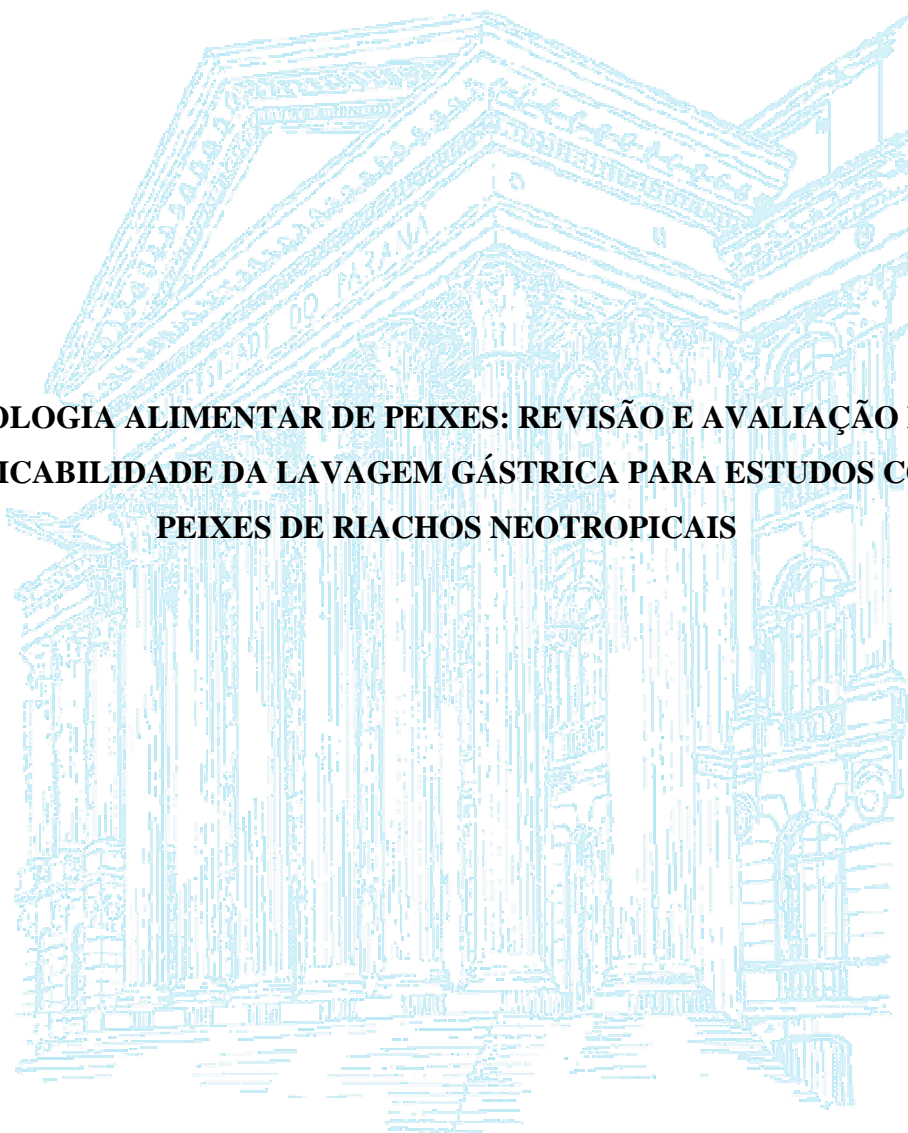


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAUL RENNÓ BRAGA

**ECOLOGIA ALIMENTAR DE PEIXES: REVISÃO E AVALIAÇÃO DA
APLICABILIDADE DA LAVAGEM GÁSTRICA PARA ESTUDOS COM
PEIXES DE RIACHOS NEOTROPICAIS**



CURITIBA

2012

**ECOLOGIA ALIMENTAR DE PEIXES: REVISÃO E AVALIAÇÃO DA
APLICABILIDADE DA LAVAGEM GÁSTRICA PARA ESTUDOS COM
PEIXES DE RIACHOS NEOTROPICAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação – PPGECO da Universidade Federal do Paraná – UFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aluno: Raul Rennó Braga

Orientador: Prof. Dr. Jean Ricardo Simões Vitule

Co-Orientador: Dr. Vinícius Abilhoa

Curitiba

2012



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO



PARECER

Os abaixo-assinados, membros da banca examinadora da defesa da dissertação de mestrado, a que se submeteu **Raul Rennó Braga** para fins de adquirir o título de Mestre em Ecologia e Conservação, são de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do trabalho de conclusão do candidato.


Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

Curitiba, 16 de fevereiro de 2012.


BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Jean Ricardo Simões Vitule
Orientador e Presidente

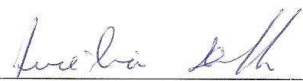


Prof.ª Dra. Lilian Casatti
Membro



Prof. Dr. André Andrian Padial
Membro

Visto:



Prof.ª Dra. Lucélia Donatti
Coordenadora do PPG-ECO

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO GERAL	9
GENERAL ABSTRACT.....	10
PREFÁCIO.....	11
PREFACE.....	14
REFERÊNCIAS	17

CAPÍTULO I

FEEDING ECOLOGY OF FISHES: AN OVERVIEW OF WORLDWIDE PUBLICATIONS

ABSTRACT	22
1. INTRODUCTION	24
2. METHODS	25
3. RESULTS	28
4. DISCUSSION.....	38
ACKNOWLEDGEMENTS	44
REFERENCES	45

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E DA APLICABILIDADE DE MÉTODOS NÃO- LETAIS NO ESTUDO DA ECOLOGIA ALIMENTAR DE PEIXES DE RIACHOS NEOTROPICAIS

RESUMO	51
--------------	----

1. INTRODUÇÃO.....	53
2. METODOLOGIA.....	56
2.1 REVISÃO	56
2.2 TESTES DO MÉTODO DE LAVAGEM GÁSTRICA (LG)	57
2.2.1 ESPÉCIES UTILIZADAS.....	57
2.2.2 COLETA.....	59
2.2.3 ANESTESIA E LAVAGEM GÁSTRICA (LG).....	60
2.2.4 SOBREVIVÊNCIA	62
2.2.5 EFICIÊNCIA	64
3. RESULTADOS	65
3.1 REVISÃO	65
3.2 TESTE DO MÉTODO DE LAVAGEM GÁSTRICA	69
3.2.1 SOBREVIVÊNCIA	69
3.2.3 EFICIÊNCIA	70
4. DISCUSSÃO	71
5. CONCLUSÃO.....	79
AGRADECIMENTOS	80
REFERÊNCIAS	81

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figure 1. Fifteen journals with the greatest amount of published papers related to the feeding ecology of fishes. Numbers above the bars represent (above) the n of resulting papers and (under) the 2 years impact factor for each journal.

Figure 2. Correlation between the percentages of papers published by each journal and its respective 2 years JCR Impact Factor. Each dot represents one journal.

Figure 3. Percentage of studies for each environment compared to the percentage of species described for each environment according to Froese & Pauly (2011).

Figure 4. World map showing the percentage of studies found for each of the 19 most represented countries. Dark gray highlights countries which contributed more than 10% of the total resulting papers. Medium dark gray highlights countries with more than 5%.

Figure 5. Correlation between the numbers of species described for each of the thirty most represented countries according to Froese & Pauly (2011) and the number of studies resulting from our search. Countries above the line publish fewer papers than the average and countries under the line publish more papers than the average expected for the number of described species.

Figure 6. Proportion of studies found for each environment for the three most representative countries. Numbers above bars represent the n of resulting papers for each environment.

Figure 7. Proportion of studies conducted in each of the Wallace's realms. Numbers above bars represent the n of resulting papers for each realm. We included studies on

inland and/or freshwater systems and on estuaries and mangroves in these categories (see methods section).

Figure 8. Proportion of studies conducted in each of the 12 marine realms proposed by Spalding et al. 2007. Numbers above the bars represent the *n* of resulting papers for each realm. We include studies conducted in any marine environment (*e.g.* oceans, seas, reefs, coastal areas) excluding mangroves and estuaries.

Figure 9. Percentage of species found on each category on our review (continuous line) and the percentage of the whole pool of species in each category (dashed lines) according to IUCN (2011).

Figure 10. (a) Correlation between the proportion of orders studied and the actual proportion of species described for each order according to Nelson (2006). (b) The same correlation when Perciformes was excluded from analysis. In both figures, orders above the line indicates the ones in need for further attention and under the line represents orders that are more studied when considering the number of species described for each one.

Capítulo II

Figura 1. Canícula plástica siliconada e seringa de 60 ml utilizadas na lavagem gástrica durante os experimentos de sobrevivência e eficiência do método.

Figura 2. Lavagem gástrica com a utilização de uma canícula plástica.

Figura 3. a) Disposição dos oito aquários no laboratório do Museu de História Natural Capão da Imbuía (MHNCI). b) Porção anterior dos aquários cobertos com plástico preto para minimizar o estresse dos animais. Ao fundo, aquário maior utilizado como estoque.

Figura 4. Proporção de métodos não-letais resultantes da busca na base de dados do Web of Science e na busca adicional.

Figura 5. Mortalidade diária total de *Geophagus brasiliensis*, nos grupos controle e tratamento, registrados durante os oito dias subseqüentes à realização do experimento. Os dias 6 e 7, não representados na figura, correspondem a sábado e domingo, dias estes que não foram monitorados. Sendo assim, os valores do 8º dia correspondem a mortalidade dos dias 6, 7 e 8.

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1. Lista das espécies testadas com métodos não-letais. Seguido do nome da espécie e o autor está a classificação de ameaça da IUCN; LC: Least concern, NT: Near Threatened, VU: Vulnerable, EN: Endangered.

RESUMO GERAL

O impacto da atividade humana é evidente na depleção das populações de peixes em todo o mundo. O conhecimento da ecologia alimentar contribui para a compreensão de temas como preferências de habitat, seleção de presas, predação, e transferência de energia dentro e entre ecossistemas. Esta dissertação tem dois objetivos: primeiro, revisar onde a maioria dos estudos sobre ecologia alimentar de peixes foram realizados, para identificar regiões e/ou ambientes prioritários para futuros estudos; segundo avaliar a aplicação da técnica de lavagem gástrica (LG) para espécies de pequeno porte representativas de riachos neotropicais, uma vez que os métodos tradicionais exigem o sacrifício de um grande número de exemplares. Detectamos uma falta de dados para: espécies ameaçadas; habitats de água doce, especialmente dentro dos reinos da região Neotropical, Etíope e Oriental, em países em desenvolvimento com alta riqueza, e para peixes marinhos, o leste do Indo-Pacífico. No experimento de sobrevivência, *Rhamdia quelen* e *Geophagus brasiliensis* não foram afetados pela LG. Já a eficiência em remover o conteúdo ingerido por *Pimelodella pappenheimi* foi de 71% enquanto que por *G. brasiliensis* foi de 13%. A LG associada ao óleo de cravo como anestésico, é uma técnica promissora como alternativa para estudos de peixes de riachos neotropicais, notoriamente para espécies ou populações raras e/ou sob ameaça. Entretanto testes específicos para cada caso devem ser conduzidos. Se ignorarmos essas lacunas em nosso conhecimento e essas novas técnicas, corremos o risco de perder uma enorme quantidade de informação sem saber que jamais existiu, especialmente no mundo em rápida mudança que enfrentamos hoje.

Palavras-chave: dieta, alimentação, revisão, lavagem gástrica, lavagem estomacal, óleo de cravo.

GENERAL ABSTRACT

The impact of human activity is evident on the depletion of fish populations worldwide. Knowledge of the feeding ecology contributes to our understanding of such subjects as, habitat preferences, prey selection, predation, and energy transfer within and between ecosystems. This dissertation has two objectives: first, to review the where the majority of studies concerning feeding ecology of fish have been conducted, to identify regions and/or environments which further attention is needed; second, assess the applicability of the gastric lavage (GL) for small fish species from Neotropical streams, once traditional methods require a large number of fish to be sacrificed. We detected a lack of data concerning aspects, such as: threatened species; freshwater habitats especially within the Neotropical, Ethiopian and Oriental realms; species rich developing countries; and, when considering marine fish, the eastern Indo-Pacific region. On the survival experiment, *Rhamdia quelen* e *Geophagus brasiliensis* were not affected by the GL. However the efficiency of stomach contents removal for *Pimelodella pappenheimi* was of 71% whereas for *G. brasiliensis* was of 13%. The GL associated with clove oil as an anesthetic is a promising technique as an alternative to Neotropical stream fishes, especially those with rare populations and/or under severe threat. However, specific tests are necessary for each individual case/species. If we ignore these gaps in our knowledge and these new techniques we run the risk of losing a huge amount of information without knowing it ever existed, especially in the fast changing world we face today.

Keywords: diet, feeding, review, gastric lavage, stomach lavage, clove oil

PREFÁCIO

Os peixes representam mais da metade dos vertebrados existentes, com aproximadamente 32.000 espécies habitando praticamente todos os ambientes aquáticos do mundo (Froese & Pauly 2011). Além disso, os peixes são uma importante fonte de alimento para os seres humanos, contribuindo com 15,7 % de toda a proteína animal ingerida no mundo (FAO 2010). Espécies alvo da pesca esportiva movimentam direta ou indiretamente bilhões de dólares em todo o mundo (Donaldson et al. 2011, e referências nela contidas), sendo um elemento significativo na economia de diversos países. Entretanto, a sobre-pesca está causando uma diminuição dos estoques pesqueiros (Jackson et al. 2001; Dulvy et al. 2004; Myers et al. 2007), levando muitas espécies a extinção e por sua vez causando efeitos cascata nos ecossistemas (*e.g.* Pauly et al. 2002; Scheffer et al. 2005; Heithaus et al. 2008). Outras atividades humanas como a poluição, mudanças climáticas, degradação do habitat, introdução de espécies não-nativas e a expansão das áreas urbanas também contribuem para a depleção de populações de peixes ao redor do mundo (Olden et al. 2007, 2010; Vitule et al. 2009; Abilhoa et al. 2011). Neste cenário, há uma grande necessidade de conhecer a biodiversidade e sua importância para o funcionamento dos ecossistemas antes que sua perda leve a um colapso do ambiente natural (Rockström 2009).

O peixes possuem uma ampla variedade de formas corporais, variando em tamanho desde um pequeno peixe da Indonésia, *Paedocypris progenetica* com 8 mm de comprimento total, até o tubarão baleia *Rhincodon typus* com 12 m de comprimento total. O maior teleósteo, o peixe lua *Mola mola*, pode atingir 1.500 Kg, enquanto o peixe cartilaginoso *R. typus* pode alcançar 15.000 Kg (Helfman et al. 2009; Froese & Pauly 2011). Devido a esta ampla variedade de tamanhos também há uma grande variedade de hábitos alimentares. Assim, os peixes estão representados em praticamente

todos os níveis tróficos, de herbívoros a predadores terciários e decompositores (Wootton 1998; Gerking 1994). Algumas espécies são altamente especializadas a se alimentarem de itens como escamas e nadadeiras, enquanto outras são generalistas, com ampla variedade de itens consumidos, especialmente quando há uma grande abundância de diferentes recursos (Nelson 2006; Winemiller et al. 2008). O método de alimentação é fortemente correlacionado com a morfologia interna e externa da espécie (*e.g.* formato do corpo, formato da boca, formato e localização dos dentes e das nadadeiras, comprimento do trato digestório, e tamanho e formato dos arcos branquiais) (Cailliet et al. 1996; Wootton 1998). O comportamento de uma espécie e/ou indivíduo também é altamente influenciado pelo hábito alimentar (Jobling 1995). A ecologia alimentar de uma espécie está ligada a sua dinâmica populacional e contribui para o entendimento de assuntos como partição de recursos (Ross 1986; Guedes & Araújo 2008), preferência de habitats (Wetherbee & Cortés 2004), seleção de presas (Motta & Wilga 2001), predação (Martin et al. 2005; Frid & Marliave 2010), evolução (Collar et al. 2009), efeitos de risco (Connell 2002; Grabowski 2004), competição e ecologia trófica (Stergiou & Karpouzi 2002; Svanbäck & Bolnick 2007), e transferência de energia dentro e entre ecossistemas (Baxter et al. 2004, 2005; Nakano & Murakami 2001; Rezende et al. 2008). Esta informação é também de grande valor para o desenvolvimento de estratégias de conservação e, portanto, um elemento chave para a proteção de espécies e ecossistemas (Primack & Rodrigues 2001; Hoggarth et al. 2005; Simpfendorfer et al. 2011).

Estudos de dieta de peixes, ecologia alimentar e hábitos alimentares são normalmente desenvolvidos através da dissecação e visualização de conteúdos estomacais (Hynes 1950; Hyslop 1980; Cortés 1997). Entretanto, recentemente, diversas outras metodologias estão sendo utilizadas, incluindo métodos não-letais de

extração do conteúdo ingerido (*e.g.* Quist et al. 2002; Waters et al. 2004; Castro et al. 2008), análises de isótopos estáveis (*e.g.* Fanelli et al. 2009; Wells & Rooker 2009; Graham et al. 2007), observações diretas (*e.g.* Lukoschek & McCormick 2001; Morton et al. 2008; Cole 2010), e análises de ácidos graxos (*e.g.* Logan et al. 2000; Young et al. 2010). Independente do método utilizado, escolhido de acordo com os objetivos e limitações do estudo, o resultado deve indicar a importância relativa dos itens ingeridos (Wootton 1998).

Dentro deste contexto nossos objetivos são de revisar onde, geograficamente e/ou biogeograficamente, são conduzidos a maior parte dos estudos de ecologia alimentar de peixes, focando em identificar regiões e/ou ambientes nos quais deve ser dada especial atenção (Capítulo I), e avaliar a aplicabilidade do método não-letal de lavagem gástrica para duas espécies de peixes de riachos neotropicais através de testes de mortalidade causada pela técnica e eficácia em quantificar itens ingeridos (Capítulo II).

Ambos os capítulos são apresentados em forma de artigo científico. O capítulo I é de co-autoria de Hugo Bornatowski e Jean Ricardo Simões Vitule, e está formatado para ser submetido ao periódico “Reviews in Fish Biology and Fisheries”. O capítulo II é de co-autoria de Vinícius Abilhoa e Jean Ricardo Simões Vitule, e será resumido para ser submetido ao periódico “Hydrobiologia”. A formatação segue as normas do periódico a ser submetido.

PREFACE

Fish comprise more than half of all vertebrate species, with approximately 32,000 species inhabiting nearly every aquatic habitat in the world (Froese & Pauly 2011). Moreover, fish are an important food resource for humans, accounting for 15.7 percent of the global population's intake of animal protein (FAO 2010). In addition, game fish generate billions of dollars of direct and indirect income worldwide (Donaldson et al. 2011, and references therein), constituting a significant element in the economy of several countries. Unfortunately, overfishing is causing a decrease in fish stocks (Jackson et al. 2001; Dulvy et al. 2004; Myers et al. 2007), leading many species to face extinction, thereby inducing cascade effects in ecosystems (*e.g.* Pauly et al. 2002; Scheffer et al. 2005; Heithaus et al. 2008). Other human activities, such as pollution, climate change, habitat degradation, the introduction of species, and the expansion of urban areas, also contribute to the depletion of fish populations worldwide (Olden et al. 2007, 2010; Vitule et al. 2009; Abilhoa et al. 2011). This being the case, there is an urgent need to discover our biodiversity before the loss rate exceeds its limits. (Rockström 2009).

Fish present a wide variety of body forms, varying in size from the Indonesian minnow *Paedocypris progenetica* 8 mm total length, to the Whale Shark *Rhincodon typus* 12 m total length. The largest teleost, the ocean sunfish *Mola mola*, can reach 1,500 Kg, while the cartilaginous fish *R. typus* can reach 15,000 Kg (Helfman et al. 2009; Froese & Pauly 2011). Accompanying this vast variety of sizes there is a wide variety of feeding habits. Therefore, fish are represented on practically every trophic level, from herbivores to tertiary predators, to decomposers (Wootton 1998; Gerking 1994). Some species are highly specialized to feed on items such as scales and fins, while others are generalists, with broad diets, especially when exploiting abundant

resources (Nelson 2006; Winemiller et al. 2008). In addition, the method of feeding is strongly correlated with its internal and external morphology (*e.g.* body shape, mouth shape, fin and tooth shape and placement, gut length, and gill raker size and shape) (Cailliet et al. 1996; Wootton 1998). A species's and/or individual's behavior is also highly influenced by the main categories of food it consumes (Jobling 1995). The feeding ecology of a species is thoroughly linked to its population dynamics and contributes our understanding of subjects such as resource partitioning (Ross 1986; Guedes & Araújo 2008), habitat preference (Wetherbee & Cortés 2004), prey selection (Motta & Wilga 2001), predation (Martin et al. 2005; Frid & Marliave 2010), evolution (Collar et al. 2009), risk effects (Connell 2002; Grabowski 2004), competition and trophic ecology (Stergiou & Karpouzi 2002; Svanbäck & Bolnick 2007), and energy transfer within and between ecosystems (Baxter et al. 2004, 2005; Nakano & Murakami 2001; Rezende et al. 2008). Such ecological information is also of great value when developing conservation strategies and, therefore, a key element in the protection of species and ecosystems (Primack & Rodrigues 2001; Hoggarth et al. 2005; Simpfendorfer et al. 2011).

Studies of fish diet, feeding ecology and food habits are carried commonly out through dissection and examination of gut contents (Hynes 1950; Hyslop 1980; Cortés 1997). Recently, however, several other methodologies are currently being used, including non-lethal methods of extracting the gut contents (*e.g.* Quist et al. 2002; Waters et al. 2004; Castro et al. 2008), stable isotope analysis (*e.g.* Fanelli et al. 2009; Wells & Rooker 2009; Graham et al. 2007), direct observations (*e.g.* Lukoschek & McCormick 2001; Morton et al. 2008; Cole 2010), and fatty acid analysis (*e.g.* Logan et al. 2000; Young et al. 2010). Regardless of the method used, typically chosen to match

a particular study's objective and limitations, the results should indicate the relative importance of the items eaten (Wootton 1998).

Within this context our objectives are to review where, geographically and/or biogeographically, are conducted most studies concerning feeding ecology of fish, aiming to identify regions and/or environments in which attention should be drawn (Chapter I), and evaluate the applicability of non-lethal gastric lavage method for two Neotropical stream fishes by testing the delayed mortality caused by the technique and its efficacy on quantifying eaten items (Chapter II).

Chapter I has Hugo Bornatowski and Jean Ricardo Simões Vitule as co-authors and it will be submitted to the journal "Reviews in Fish Biology and Fisheries". Chapter II has Vinícius Abilhoa and Jean Ricardo Simões Vitule as co-authors and it will be summarized to be submitted to the journal "Hydrobiologia". It is formatted according to the journal's instructions for authors.

REFERÊNCIAS

- Abilhoa V, Braga RR, Bornatowski H, Vitule JRS (2011) Fishes of the Atlantic Rain Forest streams: ecological patterns and conservation. In: Grillo O, Venora G. (eds) Changing diversity in changing environment, InTech, Rijeka, pp 259-282.
- Baxter CV, Fausch KD, Murakami M, Chapman PL (2004) Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. *Ecology* 85, 2656-2663.
- Baxter CV, Fausch KD, Saunders C (2005) Tangled webs: reciprocal flows of invertebrate prey link streams and riparian zones. *Freshwater Biol.* 50, 201-220.
- Cailliet GM, Love MS, Ebeling AW (1996) Fishes: A field and laboratory manual on their structure, identification and natural history. Waveland, Long Grove.
- Castro ALC, Diniz ADF, Martins IZ, Vendel AL, Oliveira TPR, Rosa IML (2008) Assessing diet composition of seahorses in the wild using a non destructive method: *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) as a study-case. *Neotrop. Ichthyol.* 6, 637-644.
- Cole AJ (2010) Cleaning to corallivory: ontogenetic shifts in feeding ecology of tubelip wrasse. *Coral Reefs* 29, 125-129.
- Collar DC, O'Meara BC, Wainwright PC, Near TJ (2009) Piscivory limits diversification of feeding morphology in centrarchid fishes. *Evolution* 63, 1557-1573.
- Connell SD (2002) Effects of a predator and prey on a foraging reef fish: implications for understanding density-dependent growth. *J. Fish Biol.* 60, 1551–1561.
- Cortés E (1997) A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 726-738.
- Donaldson MR, O'Connor CM, Thompson LA, Gingerich AJ, Danylchuk SE, Duplain RR, Cooke SJ (2011) Contrasting Global Game Fish and Non-Game Fish Species. *Fisheries* 36, 385-397.
- Dulvy NK, Freckleton RP, Polunin NVC (2004) Coral reef cascades and the indirect effects of predator removal by exploitation. *Ecol. Lett.* 7, 410–416.
- Fanelli E, Badalamenti F, D'anna G, Pipitone C (2009) Diet and trophic level of scaldfish *Arnoglossus laterna* in the southern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean): contrasting trawled versus untrawled areas. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 89, 817-828.

- FAO (2010) The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Frid A, Marliave J (2010) Predatory fishes affect trophic cascades and apparent competition in temperate reefs. *Biol. Lett.* 6, 533-536.
- Froese R, and Pauly D (2011). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (02/2011).
- Gerking SD (1994) Feeding ecology of fish. Academic Press, San Diego.
- Grabowski JH (2004) Habitat complexity disrupts predator-prey interactions but not the trophic cascade on oyster reefs. *Ecology* 85, 995–1004.
- Graham BS, Grubbs D, Holland K, Popp BN (2007) A rapid ontogenetic shift in the diet of juvenile yellowfin tuna from Hawaii. *Mar. Biol.* 150, 647-658.
- Guedes APP, Araújo FG (2008) Trophic resource partitioning among five flatfish species (Actinopterygii, Pleuronectiformes) in a tropical bay in south-eastern Brazil. *J. Fish Biol.* 72, 1035-1054.
- Heithaus MR, Frid A, Wirsing AJ, Worm B (2008) Predicting ecological consequences of marine top predator declines. *Trends Ecol. Evol.* 23, 202-210.
- Helfman GS, Collette BB, Facey ED, Bowen BW (2009) The diversity of fishes: biology, evolution and ecology. Backwell Science, Oxford.
- Hoggarth DD, Mees CC, O'Neill C, Hindson J, Krishna M (2005) A guide to fisheries stock assessment using the FMSP tools. Marine Resource Assessment Group, London.
- Hynes HBN (1950) The food of Fresh-water Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygosteus pungitius*), with a review of methods used in studies of the food of fishes. *J. Anim. Ecol.* 19, 36-58.
- Hyslop, EJ (1980) Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *J. Fish Biol.* 17, 411-429.
- Jackson JBC, Kirby MX, Berger WH, Bjorndal KA, Botsford LW, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke R, Erlandson J, Estes JA, Hughes TP, Kidwell S, Lange CB, Lenihan HS, Pandolfi JM, Peterson CH, Steneck RS, Tegner MJ, Warner RR (2001) Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science* 293, 629-638.
- Jobling M (1995) Environmental Biology of Fishes. Chapman & Hall, London.

- Logan MS, Iverson SJ, Ruzzante DE, Walde SJ, Macchi PJ, Alonso MF, Cussac VE (2000) Long term diet differences between morphs in trophically polymorphic *Percichthys trucha* (Pisces: Percichthyidae) populations from the southern Andes. *Biol. J. Linn. Soc.* 69, 599-616.
- Lukoschek V, McCormick MI (2001) Ontogeny of diet changes in a tropical benthic carnivorous fish, *Parupeneus barberinus* (Mullidae): relationship between foraging behavior, habitat use, jaw size, and prey selection. *Mar. Biol.* 138, 1099-1113.
- Martin RA, Hammerschlag N, Collier RS, Fallows C (2005) Predatory behaviour of White Sharks (*Carcharodon carcharias*) at Seal Island, South Africa. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 85, 1121-1135.
- Morton JK, Platell ME, Gladstone W (2008) Differences in feeding ecology among three co-occurring species of wrasse (Teleostei: Labridae) on rocky reefs of temperate Australia. *Mar. Biol.* 154, 577-592.
- Motta PJ, Wilga CD (2001) Advances in the study of feeding behaviors, mechanisms, and mechanics of sharks. *Environ. Biol. Fish.* 60, 131-156.
- Myers RA, Baum JK, Shepherd TD, Powers SP, Peterson CH (2007) Cascading Effects of the Loss of Apex Predatory Sharks from a Coastal Ocean. *Science* 315, 1846-1850.
- Nakano S, Murakami M (2001) Reciprocal subsidies: Dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 166-170.
- Nelson JS (2006) *Fishes of the World*. John Wiley and Sons, New Jersey.
- Olden JD, Hogan ZS, Zanden MJV (2007) Small fish, big fish, red fish, blue fish: size-biased extinction risk of the world's freshwater and marine fishes. *Global Ecol. Biogeogr.* 16, 694-701.
- Olden JD, Kennard MJ, Leprieur F, Tedesco PA, Winemiller KO, García-Berthou E (2010) Conservation biogeography of freshwater fishes: recent progress and future challenges. *Divers. Distrib.* 16, 496-513.
- Pauly D, Christensen V, Guenette S, Pitcher TJ, Sumaila UR, Walters CJ, Watson R, Zeller D (2002) Towards sustainability in world fisheries. *Nature* 418, 689-695.
- Primack RB, Rodrigues E (2001) *Biologia da conservação*. Editora Planta, Londrina.
- Quist MC, Guy CS, Bernot RJ (2002) Efficiency of removing food items from Walleyes using acrylic tubes. *J. Freshwat. Ecol.* 17, 179-184.

- Rezende CF, Caramaschi EMP, Mazzoni R (2008) Fluxo de energia em comunidades aquáticas, com ênfase em ecossistemas lóticos. *Oecol. Bras.* 12, 626-639.
- Rockström J, Steffen W, Noone K, Persson Å, Chapin FS, III, Lambin EF, Lenton TM, Scheffer M, Folke C, Schellnhuber HJ, Nykvist B, Wit CA, Hughes T, van der Leeuw S, Rodhe H, Sörlin S, Snyder PK, Costanza R, Svedin U, Falkenmark M, Karlberg L, Corell RW, Fabry VJ, Hansen J, Walker B, Liverman D, Richardson K, Crutzen P, Foley JA (2009) A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472-475.
- Ross ST (1986) Resource partitioning in fish assemblages: a review of field studies. *Copeia* 1986, 352-388.
- Scheffer M, Carpenter S, Young B (2005) Cascading effect of overfishing marine systems. *Trends Ecol. Evol.* 20, 579-581.
- Simpfendorfer CA, Heupel MR, White WT, Dulvy NK (2011) The importance of research and public opinion to conservation management of sharks and rays: a synthesis. *Mar. Fresh. Res.* 62, 518-527.
- Stergiou KI, Karpouzi VS (2002) Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 11, 217-254.
- Svanbäck R, Bolnick DI (2007) Intraspecific competition drives increased resource use diversity within a natural population. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* 274, 839-844.
- Vitule JRS, Freire CA, Simberloff D (2009) Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. *Fish Fish.* 10, 98-108.
- Waters DS, Kwak TJ, Arnott JB, Pine III WE (2004) Evaluation of Stomach Tubes and Gastric Lavage for Sampling Diets from Blue Catfish and Flathead Catfish. *N. Am. J. Fish. Manag.* 24, 258-261.
- Wells RJD, Rooker JR (2009) Feeding ecology of pelagic fish larvae and juveniles in slope waters of the Gulf of Mexico. *J. Fish Biol.* 75, 1719-1732.
- Wetherbee BM, Cortés E (2004) Food consumption and feeding habits. In: Carrier JC, Musick JA, Heithaus MR (eds) *Biology of sharks and their relatives*. CRC Press LLC, Boca Raton, pp 225-246.
- Winemiller KO, Agostinho AA, Caramaschi EP (2008) Fish ecology in tropical streams. In: Dudgeon D (ed) *Tropical Stream Ecology*. Elsevier/Academic Press, San Diego, pp 107-146.
- Wootton RJ (1998) *Ecology of Teleost Fishes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Young JW, Guest MA, Lansdell M, Phleger CF, Nichols PD (2010) Discrimination of prey species of juvenile swordfish *Xiphias gladius* (Linnaeus, 1758) using signature fatty acid analyses. Prog. Oceanogr. 86, 139-151.

CAPÍTULO I

FEEDING ECOLOGY OF FISHES: AN OVERVIEW OF WORLDWIDE PUBLICATIONS

Raul Rennó Braga^{1,4*}, Hugo Bornatowski^{2,4}, Jean Ricardo Simões Vitule^{3,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

²Programa de Pós Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

³Departamento de Engenharia Ambiental, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

⁴GPIc – Grupo de Pesquisas em Ictiofauna. Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brasil.

*Corresponding author. E-mail: raulbraga@onda.com.br

ABSTRACT

The impact of human activity is evident on the depletion of fish populations worldwide. Therefore, there is an urgent need to discover the true biodiversity of the world, and its effects on ecosystem functioning, before the loss rate exceeds its limits. Because the feeding ecology of a species is thoroughly linked to its population dynamics, knowledge of the feeding ecology contributes to our understanding of such subjects as resource partitioning, habitat preferences, prey selection, predation, evolution, competition and energy transfer within and between ecosystems. Such ecological information is of great value when developing conservation strategies and is, therefore, a key element in the protection of species and ecosystems. This paper reviews the geographic and/or biogeographic regions where the majority of studies concerning the basic feeding ecology of fish have been conducted, with the goal of identifying regions and/or environments which further attention is needed. Our analysis was

conducted by assessing studies indexed on the ISI Web of Science database. We detected a lack of data concerning several aspects of feeding ecology of fish, such as: threatened species; freshwater habitats especially within the Neotropical, Ethiopian and Oriental realms; species rich developing countries; and, when considering marine fish, the eastern Indo-Pacific region. If we ignore these gaps in our knowledge we run the risk of losing a huge amount of information without knowing it ever existed, especially in the fast changing world we face today.

Keywords: diet, review, ecology, freshwater, marine realms.

1. INTRODUCTION

The interest in studying fish feeding ecology is, in general, to understand the natural history of a species and its role in the trophic ecology of aquatic ecosystems. This information is essential to provide a basis for conservation (*e.g.* Simpfendorfer et al. 2011). The knowledge of fish feeding ecology is fundamental to our ability to understand trophic, material and energy dynamics, to model precise outcomes for each ecosystem (*e.g.* Pimm 2002; Jordán et al. 2006; Myers et al. 2007; Navia et al. 2010), and to conduct studies on macroecology (*e.g.* Cortés 1999; Heithaus 2001; Ebert & Bizarro 2007; Farmer & Wilson 2010; Kleiber et al. 2011). Published data can be used to construct food webs and predict possible changes in food chains and material and energy transferences between and within ecosystems (Baxter et al. 2004, 2005; Nakano & Murakami 2001; Rezende et al. 2008).

Previously, most fish feeding ecology studies were concerned with achieving a basic description of food habits. This trend has long since shifted towards a more theoretical ecosystem approach aimed at understanding community structure (*e.g.* Jennings et al. 2002; Wilson & Wolkovich 2011), interspecies interactions such as competition (*e.g.* Svanbäck & Bolnick 2007; Araújo et al. 2008), niche overlap (*e.g.* Belwood et al. 2006; Longenecker 2007), trophic level (*e.g.* Stergiou & Karpouzi 2002), and food web structure (*e.g.* Zanden & Vadeboncoeur 2002). Ultimately, studies of feeding ecology are used to test predictions based on optimal foraging theory (Werner & Hall 1974; Svanbäck & Bolnick 2007) or ecosystem modeling (Piana et al. 2006; Angelini & Gomes 2008), especially models based on programs such as Ecopath, which have been in use since the early 1980's (Polovina 1984; Livingston 1985; Christensen & Pauly 1992; Christensen & Walters 2004). This shift occurred primarily in developed

countries with low species richness, but there is still a major gap in developing and/or biomegadiverse countries (Abilhoa et al. 2011).

A compilation of the data, with the potential for revealing patterns and/or relationships, should be of great value to the scientific community working on a specific subject. When it comes to fish feeding ecology, reviews tend to focus primarily on methodology and statistical analysis (*e.g.* Hynes 1950; Hyslop 1980; Cortés 1997; Hahn & Delariva 2002; Aguiar & Valentin 2010). Therefore, a thorough review of the geographic patterns of our knowledge is needed.

This paper reviews where most studies concerning basic feeding ecology of fish, geographically and/or biogeographically speaking, have been conducted. Our goal was to identify regions and/or environments which further attention is needed. Therefore, we specifically addressed the following questions: a) Which journals are responsible for the publication of the majority of papers concerning basic fish feeding ecology? b) Is there a relation between a journal's impact factor and number of papers published concerning basic auto-ecology of fishes? c) Which environment/country/terrestrial or marine biogeographical realms have been the subject of the majority of studies about basic auto-ecology of fishes, and which needs further attention? d) Is there a tendency towards the study of commercially important or threatened species? In addition, we have attempted to identify and comment on general gaps in the study of the feeding ecology of fish and have tried to give directions for further studies concerning this subject.

2. METHODS

Our analysis was conducted by assessing papers from journals indexed on the Institute for Scientific Information (ISI) Web of Science database. All papers published

between 1994 and July 2011 that had the words “fish ecology” AND “feeding” OR “diet” in the option “topic” were considered. Because this search resulted in a great number of papers (>200,000), we used the “refine results” option to filter the following subjects: marine & freshwater biology, ecology, fisheries, oceanography, zoology, environmental sciences, biodiversity conservation, limnology, behavioral sciences, biology, environmental studies, evolutionary biology, anatomy & morphology. After this trial there were over still 1,000 results, including many that were not actually related to fish ecology, (*e.g.* human diet based on fish, other animals that fed on fish, etc.), so we used Title and Abstract to examine and exclude papers from the analyses when necessary. The information obtained from the remaining papers included:

Journals: Journal titles were used to identify which journals published more papers regarding fish feeding ecology. We also recorded the 2010 Journal Citations Reports[®] Science Edition (JCR) 2 and 5 years Impact Factors (IF).

Environment: We considered three types of environments (Freshwater, Saltwater and Estuary), aiming at identifying an eventual gap of information.

Geographic information: We obtained information regarding where the study took place. This category was divided into three subcategories:

- a) **Country:** The location where the study took place was identified for each paper, and, where possible, the country in which the location belonged was recorded (*e.g.* Lake Inari is within Finland’s geopolitical boundaries). When the general location straddled a geopolitical boundary (*e.g.* Great Lakes) we looked for the specific coordinates of the sampling sites. In a very few studies in which this information was not available, we considered the first author’s correspondence location.

- b) Biogeographical Realms: Inland and/or freshwater study (*e.g.* streams, rivers, lakes, reservoirs, lagoons) locations were categorized as belonging to one of the biogeographical realms proposed by Wallace (1876) - the Nearctic, Palearctic, Neotropical, Ethiopian, Oriental and Australian; estuaries and mangroves were also included in these categories.
- c) Marine Realms: Studies conducted in any marine environment (*e.g.* oceans, seas, reefs, coastal areas) excluding mangroves and estuaries were categorized according to the system of Spalding et al. (2007) - Arctic, Temperate Northern Pacific, Temperate Northern Atlantic, Tropical Eastern Pacific, Tropical Atlantic, Western Indo-Pacific, Central Indo-Pacific, Eastern Indo-Pacific, Temperate South America, Temperate Southern Africa, Temperate Australasia and Southern Ocean.

Species information:

- a) International Union for the Conservation of Nature (IUCN) Red list status: Extinct, Extinct In The Wild, Critically Endangered, Endangered, Vulnerable, Near Threatened, Least Concern, Data Deficient and Not Evaluated (IUCN 2011).
- b) Taxonomic genera and order according to Froese & Pauly (2011)
- c) Species name and importance to humans according to Froese & Pauly (2011).

2.1 Data analyses

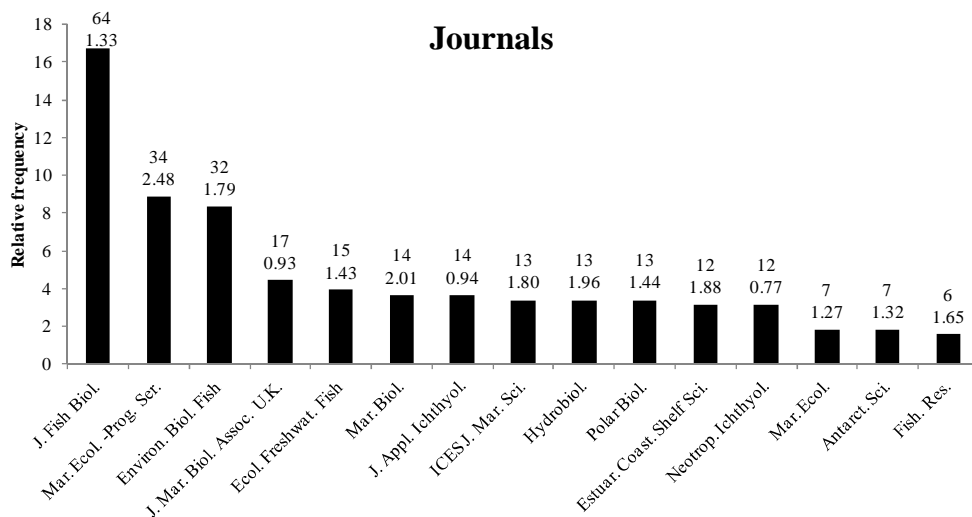
A Shapiro-Wilk test was conducted to test the data for normality. A Spearman's correlation test was performed to test the relation between a journal's impact factor and the number of its resulting papers (%), and to investigate the relationships between the number of resulting papers of the thirty most representative countries and their number of described species according to Froese & Pauly (2011). Finally, this test was used to

determine whether there is a relationship between the number of species described for each of the twenty-four most represented orders and the number of species included in our survey from each of the orders.

A Pearson's Chi-squared test was conducted to test if the proportion of studies for each environment differed from the proportion of species described for each environment. All statistical analyses were conducted in the R software (R Development Core Team 2011).

3. RESULTS

A total of 1135 papers matching our criteria were listed in the ISI Web of Science database for the period 1995 to July 2011. Of these, only 385 were available online and actually related to fish feeding ecology. Seventy-nine scientific journals were recorded as publishing papers concerning the subject. Most of the papers were published in the Journal of Fish Biology (JFB) (16.7%) followed by Marine Ecology Progress Series (MEPS) (8.9%) and Environmental Biology of Fishes (EBF) (8.4%)



(Fig.1).

Fig. 1 Fifteen journals with the greatest amount of published papers related to the feeding ecology of fishes. Numbers above the bars represent (above) the *n* of resulting papers and (under) the 2 years impact factor for each journal.

The average 2-year Impact Factor (IF) of the resulting journals was 1.45 ± 0.98 and the 5-year (IF) was 1.79 ± 1.08 ; the highest IF was 5.073 for Ecology ($n=2$), followed by PLoS One (IF=4.411, $n=2$) and Coral Reefs (IF=3.780, $n=2$). A journal's 2-year impact factor showed no correlation with number of papers per journal ($r=0.037$, $p=0.74$) (**Fig. 2**). We also found no correlation between the number of species studied in each paper and the 2-year IF of the corresponding journal ($r=0.068$, $p=0.82$).

The majority of studies were conducted on marine ecosystems (58.4%), while freshwater systems accounted for 32.2%, and estuaries/mangroves accounted for (9.4%). The proportion of studies for each environment did not differ from of species described for each environment ($\chi^2=6$, $p=0.19$) (**Fig. 3**).

Most studies took place in USA (12%), followed by Australia (10.9%) and Brazil (10.6%) (**Fig. 4**). The Spearman's correlation test showed a weak correlation ($r=0.357$, $p=0.052$) between the number of species described for each of the thirty most represented countries and the number of studies resulting from our search (**Fig. 5**).

Although our results, as a whole, showed a majority of studies for marine environments, the contribution of each country varies widely. For instance, USA and Australia had the majority of studies from marine environment, while Brazil had a higher contribution from freshwater systems (66.6%) (**Fig. 6**).

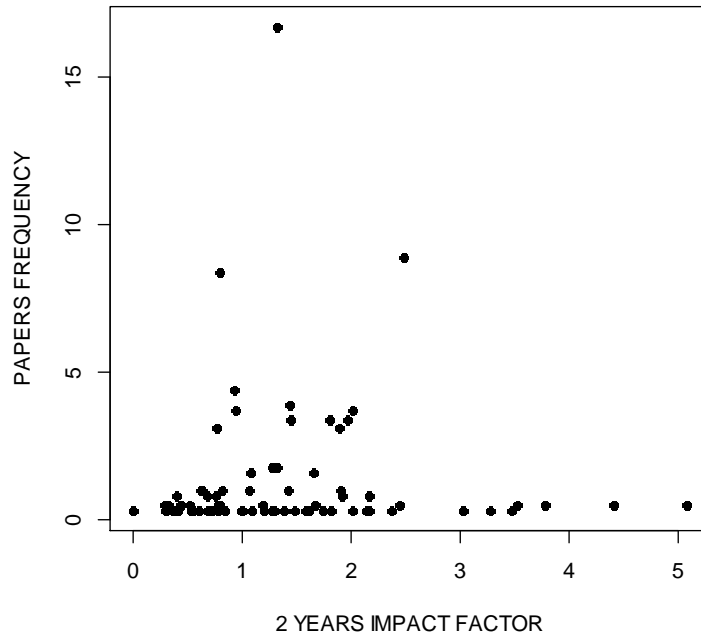


Fig. 2 Correlation between the percentages of papers published by each journal and its respective 2 years JCR Impact Factor. Each dot represents one journal.

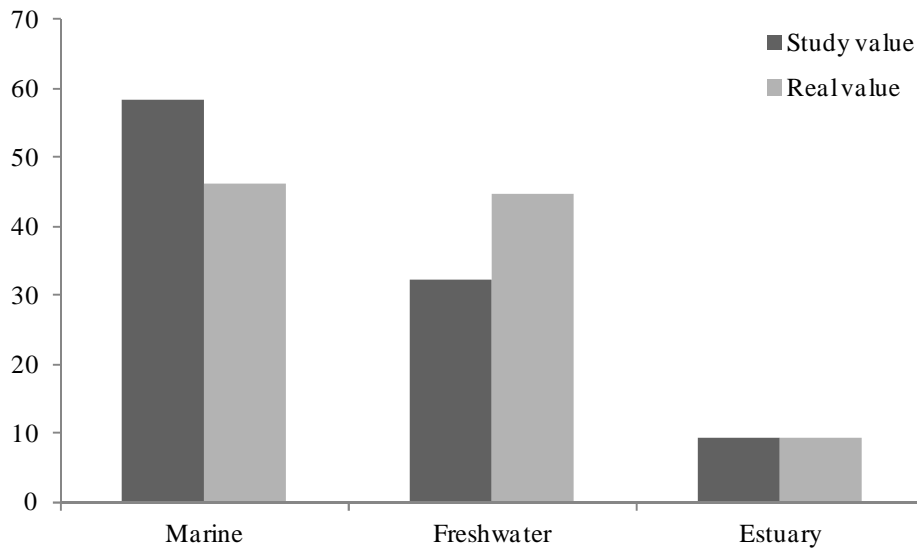


Fig. 3 Percentage of studies for each environment compared to the percentage of species described for each environment according to Froese & Pauly (2011).

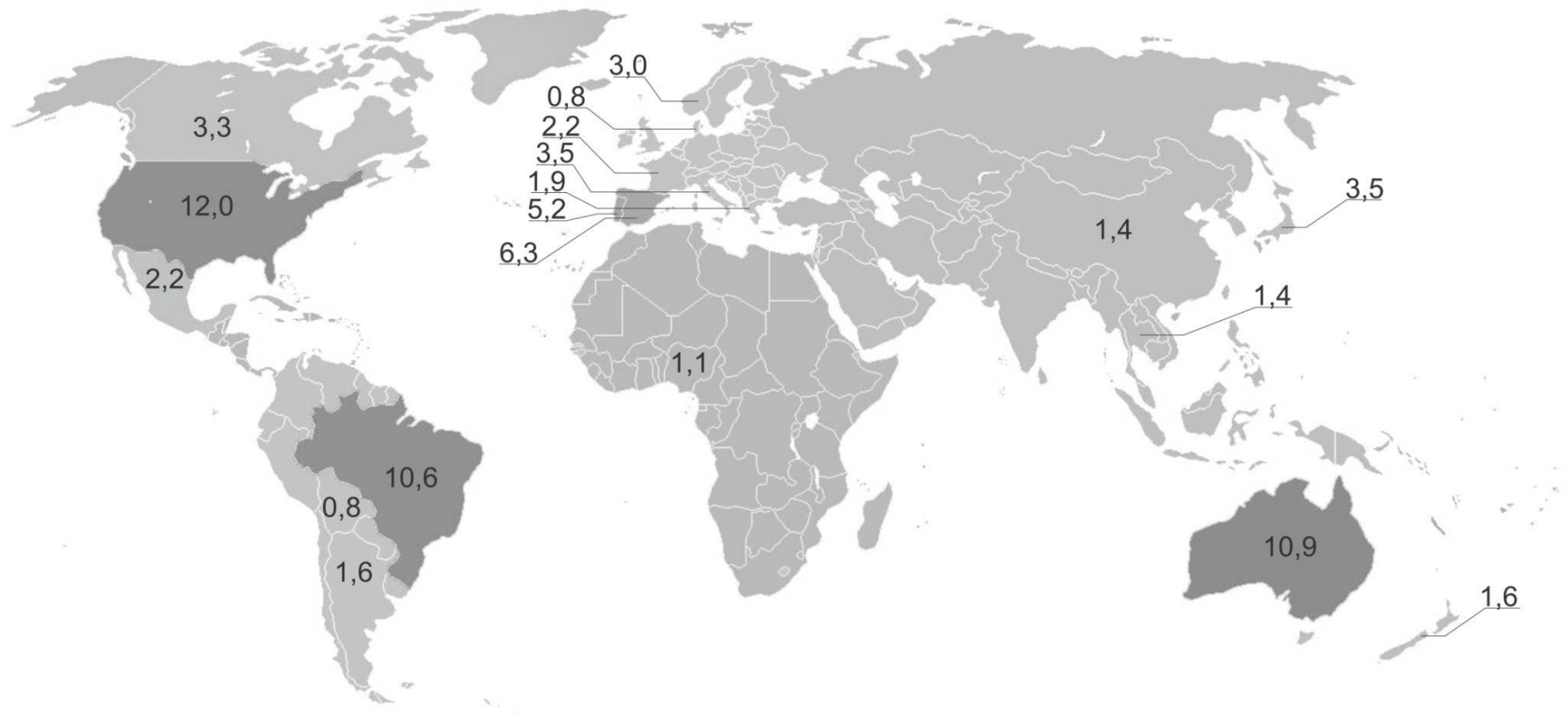


Fig. 4 World map showing the percentage of studies found for each of the 19 most represented countries. Dark gray highlights countries which contributed more than 10% of the total resulting papers. Medium dark gray highlights countries with more than 5%.

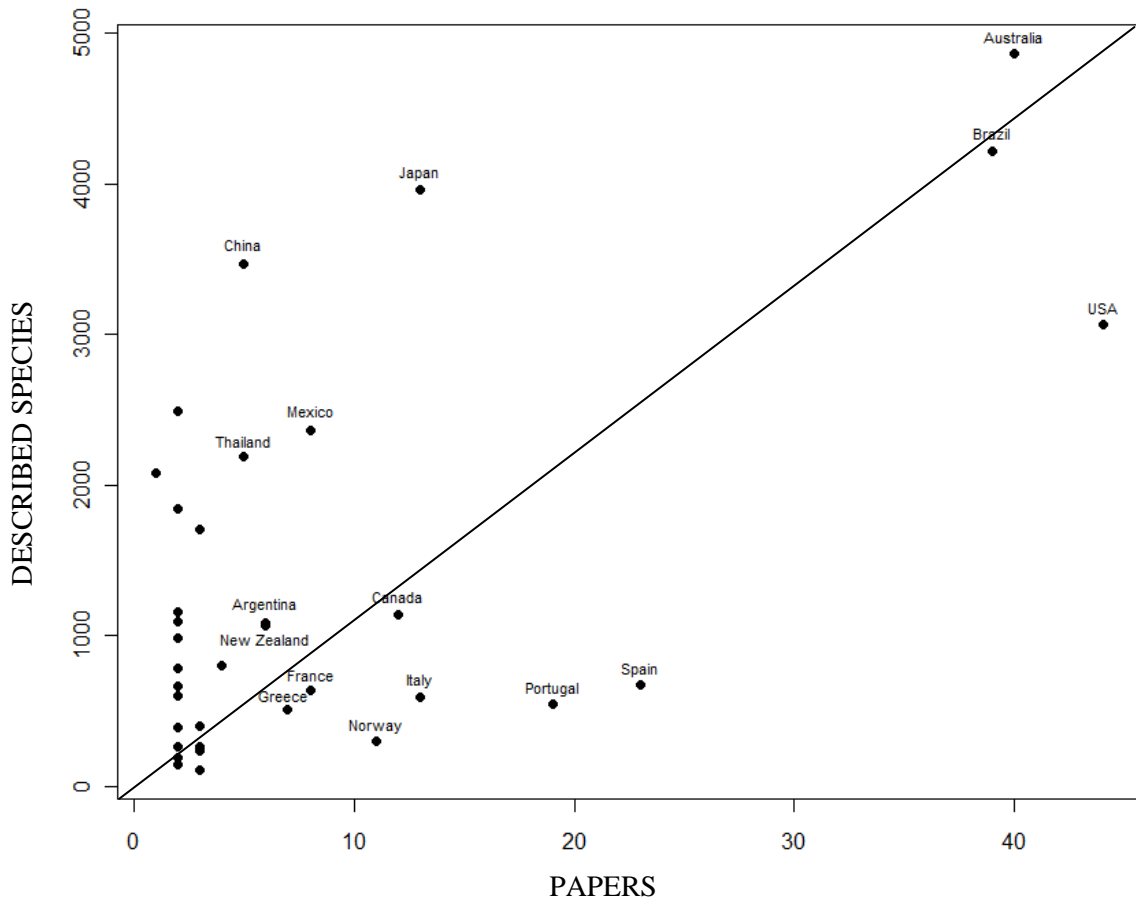


Fig. 5 Correlation between the numbers of species described for each of the thirty most represented countries according to Froese & Pauly (2011) and the number of studies resulting from our search. Countries above the line publish fewer papers than the average and countries under the line publish more papers than the average expected for the number of described species.

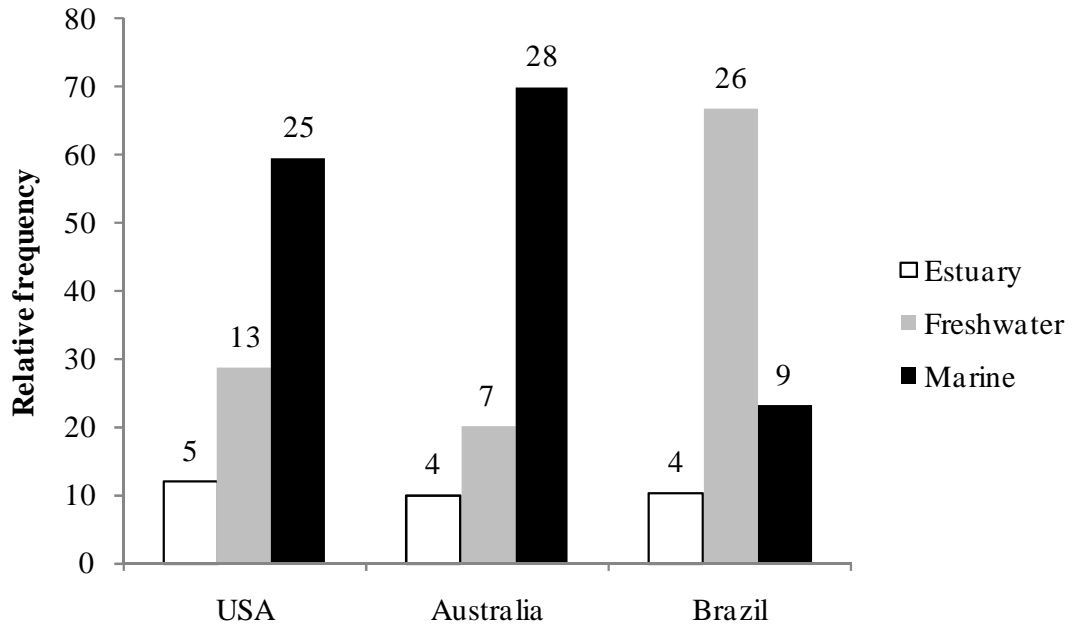


Fig. 6 Proportion of studies found for each environment for the three most representative countries. Numbers above bars represent the n of resulting papers for each environment.

Considering Wallace's Biogeographical Realms, the Palearctic accounted for 34.8% of the studies, followed by the Neotropical (26.2%) and Nearctic (14.9%). The Oriental region accounted for only 5.0% of the total (**Fig. 7**).

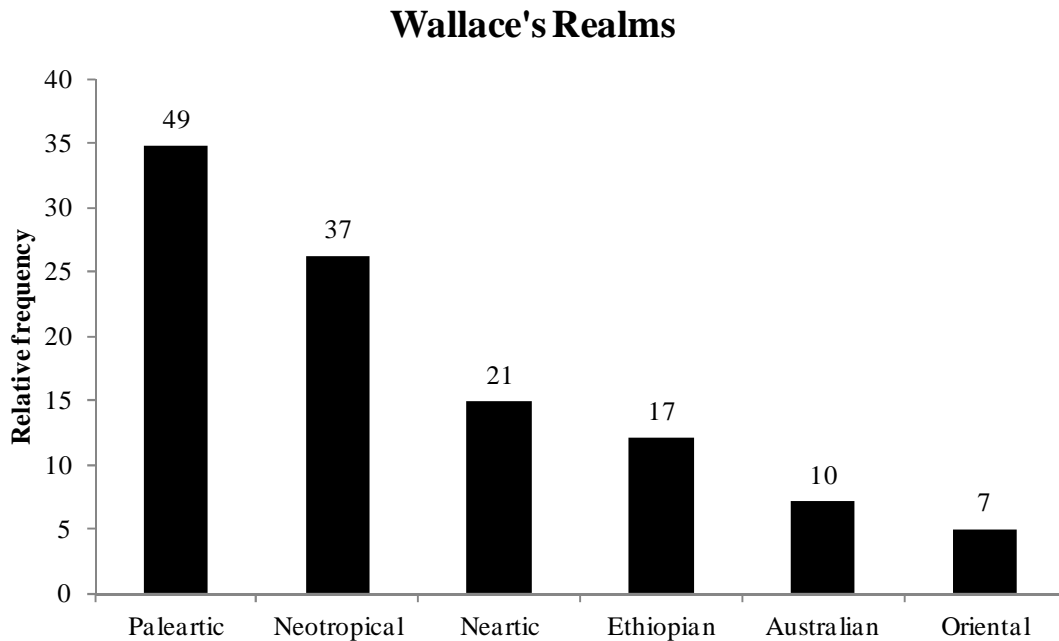


Fig. 7 Proportion of studies conducted in each of the Wallace's realms. Numbers above bars represent the *n* of resulting papers for each realm. We included studies on inland and/or freshwater systems and on estuaries and mangroves in these categories (see methods section).

When analyzing marine related studies, Temperate Northern Atlantic accounted for 41.6 %, followed by the Central Indo-Pacific and Temperate Northern Pacific both with 10.1%. The least studied region was the Temperate South Africa with only 0.4% and the Tropical Eastern Pacific with 1.3% (**Fig. 8**).

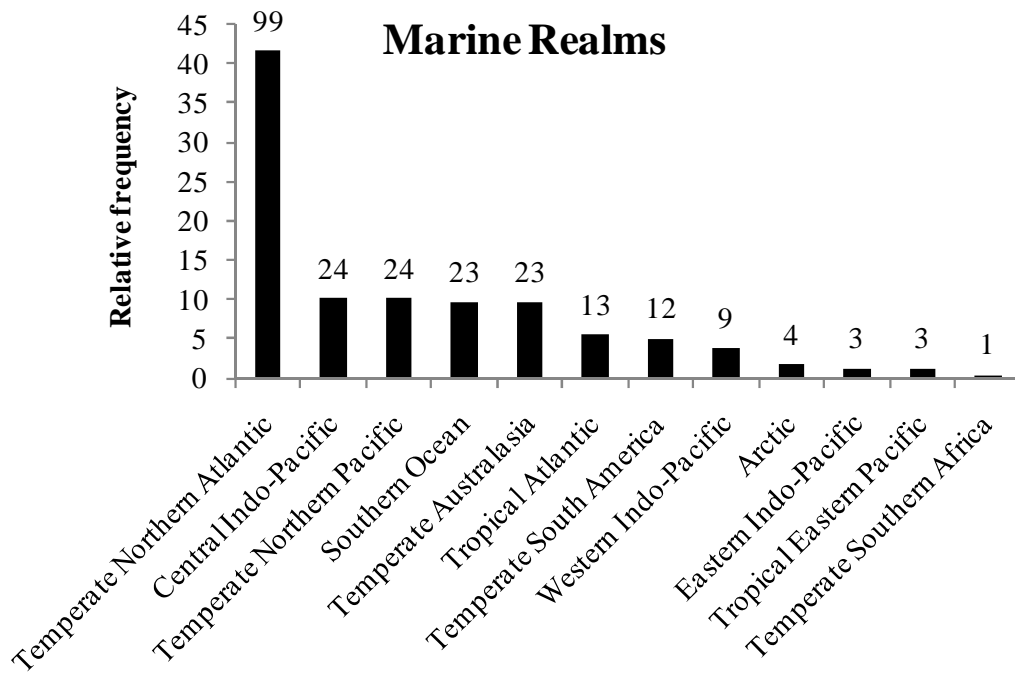


Fig. 8 Proportion of studies conducted in each of the 12 marine realms proposed by Spalding et al. 2007. Numbers above the bars represent the *n* of resulting papers for each realm. We include studies conducted in any marine environment (*e.g.* oceans, seas, reefs, coastal areas) excluding mangroves and estuaries.

Of the total of species studied, 72.9% were classified by the IUCN Redlist as Not Evaluated. Least Concern accounted for 15.9% of the total. Near Threatened (0.7%), Critically Endangered (0.9%) and Endangered (1%) were the least represented categories. No differences were found between the percentage of species found on each category in our review and the percentage of the whole pool of species ($\chi^2 = 20$, $p = 0.220$) (**Fig. 9**).

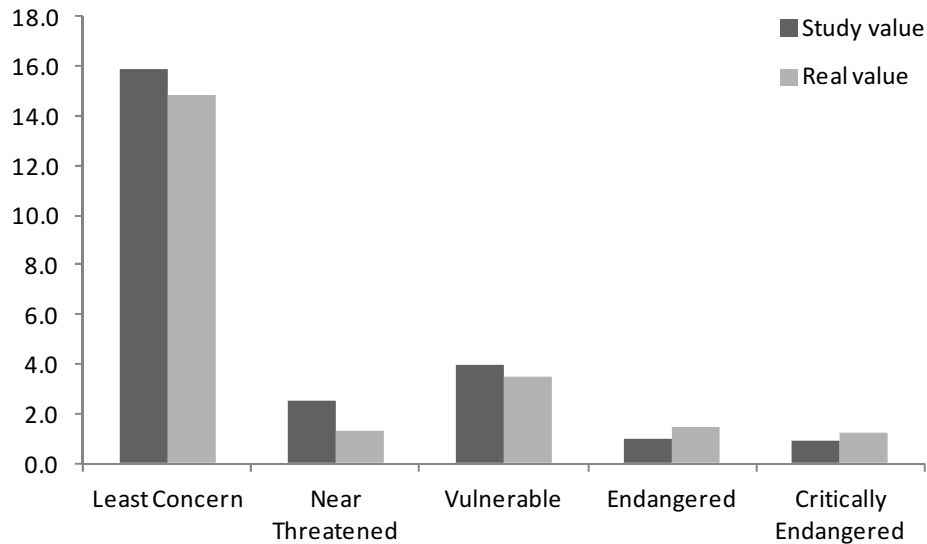


Fig. 9 Percentage of species found on each category on our review and the percentage of the whole pool of species in each category according to IUCN (2011).

According to Froese & Pauly (2011) there are 62 orders of fish; of those only 38 were represented in this survey. Orders with the highest representation were Perciformes (44%), Characiformes (8.1%) and Pleuronectiformes (6%). The proportion of studies found for each order and the proportion of species found in the nature are shown in **Figure 10a**: there was a strong correlation between the two ($r=0.862$, $p=0.0004$), even when Perciformes were excluded ($r=0.619$, $p=0.016$) (**Fig. 10b**).

Representatives of a total of 491 different genera were included in the study. Of those, *Hypostomus* ($n=14$) was the most studied followed by *Astyanax* and *Thunnus* ($n=13$), *Ambassis* ($n=12$), *Merluccius* and *Oncorhynchus* ($n=11$), and *Solea* and *Sebastes* ($n=10$). A total of 782 species were recorded. The most frequently studied were *Gadus morhua* ($n=7$), followed by *Leiopotherapon unicolor*, *Oreochromis niloticus*, *Salvelinus alpinus*, *Solea solea*, each included in 6 studies.

Of the 20 most studied species in our review, 19 are considered commercially important to fisheries, 11 are important to aquaculture and/or considered gamefishes,

and 6 are used for aquariofilia. On the other hand 14 of these were listed as Not Evaluated by the IUCN.

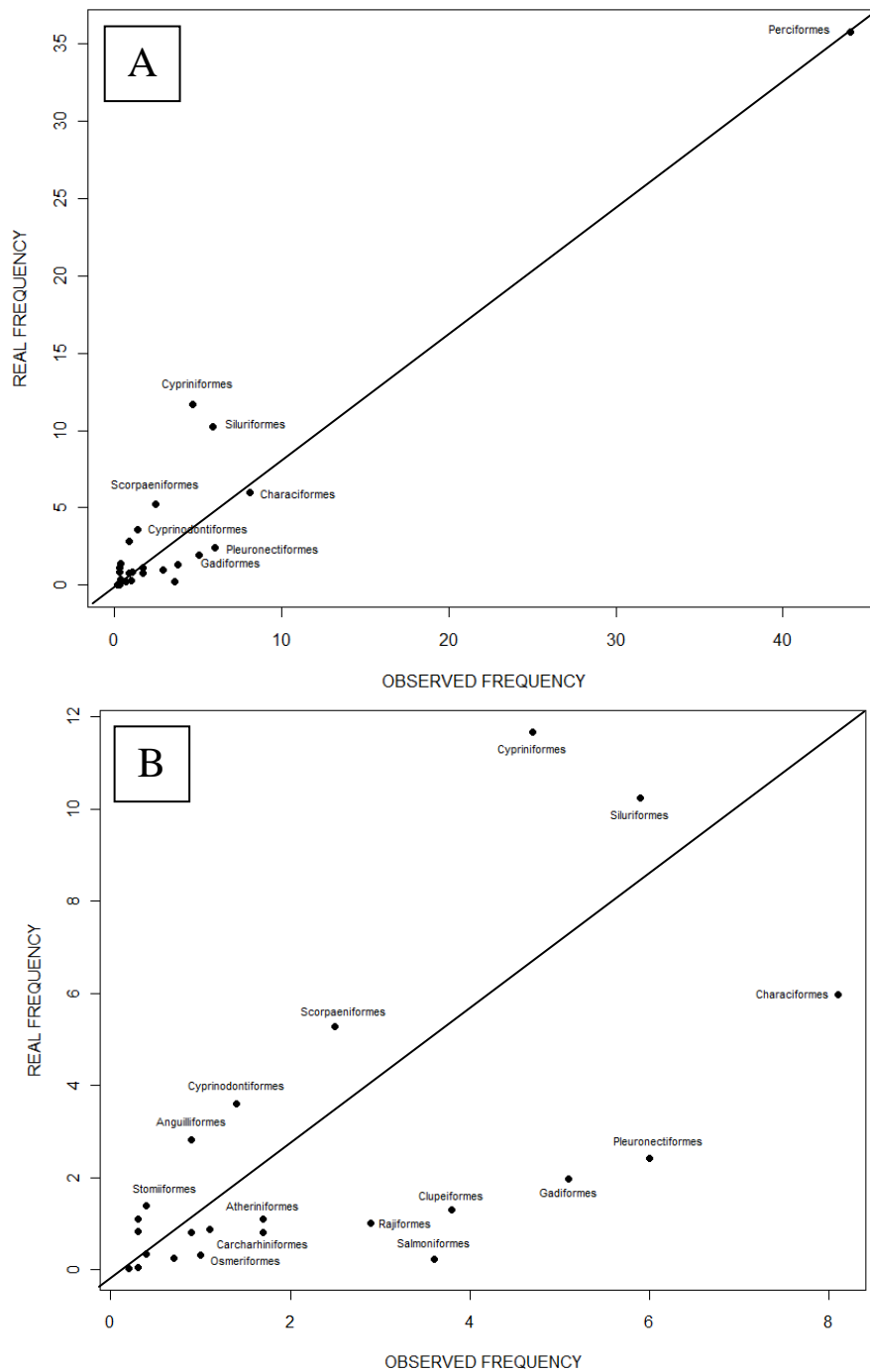


Fig. 10 (a) Correlation between the proportion of orders studied and the actual proportion of species described for each order according to Nelson (2006). (b) The same correlation when Perciformes was excluded from analysis. In both figures, orders above the line indicates the ones in need for further attention and under the line represents

orders that are more studied when considering the number of species described for each one.

4. DISCUSSION

Journals with the largest numbers of resulting papers were JFB, MEPS (2.4) and EBF (0.7). Both JFB and EBF publish fish related papers exclusively and can be considered traditional journals on the subject. The lack of correlation between IF and number of papers and IF and number of species does not corroborate our hypothesis that there would be a tendency for high impact journals to publish fewer basic studies (Ecology and PLoS One with 2 papers each), and a tendency for low impact journals to publish basic diet descriptions for individual species and high impact journals to publish community trophic ecology studies. Other parameters (*i.e.* study's complexity) may be involved but, since they were beyond the scope of this study, they were not tested. Certainly, they need to be tested in future researches.

The U.S.A. (44), Australia (40), Brazil (39) and Spain (23) had the largest number of publications per country, regardless of the number of species addressed in each study. On the other hand, these numbers are very small in comparison with the number of species known for each country (according to Froese & Pauly 2011): U.S.A.-3070, Australia-4871, Brazil-4218 and Spain-677. Other countries registered in this study (*e.g.* Japan-3961, Canada-1140, and South Africa-2082) are rich in fish species, but were involved in only a small number of studies (<15). The notorious lack of biological data on several species around the world may be the result of the tendency for high impact journals to publish studies based on modeling and the testing of hypotheses based on broad ecological theories (*e.g.* Genner et al. 1999), leaving studies describing the basic diet of fish species for publication in local journals often not indexed in international databases therefore with difficult access.

Despite the fact that U.S.A., Australia, Brazil and Spain showed similar large numbers of publications, there is significant difference in publication media among them. Brazilian journals have the lowest average impact factor (0.94) compared to other countries - Spain (1.42), U.S. (1.74) and Australia (1.81). It is difficult to draw any definite conclusions as to why these differences occur, but 20 of the 39 publications on Brazilian fishes were in local journals (*e.g.* Brazilian Journal of Biology, Iheringia, Neotropical Ichthyology), while the publications for the other three countries were in international journals. One hypothesis is that of these four, only Brazil is a developing country with a low financial investment in research acting as a barrier for publication in high quality journals (Man et al. 2004). Although we speak of Brazil in this specific case, other developing countries may be experiencing a similar tendency. In addition, the low number of papers published in international journals by researchers from developing countries can be due to language problems (Anon 2002; Vasconcelos et al. 2008; Clavero 2011) or even prejudice. Clavero (2010) show an intrinsic difference in the probability of acceptance of papers between Native English Speakers and Non-Native English Speakers due to inadequacies in the presentation; Primack et al. (2009) also found a low rate of acceptance of papers from Non-English-speaking countries in the journal Biological Conservation. As pointed out by Vasconcelos et al. (2008), for Latin-America this issue is made worse by the fact that linguistic development is not a major goal of the universities and funding to provide support for writing is scarce. In order for Non-native English speaking scientists to obtain international recognition and access to relevant publications they must master English, at least to some extent (Meneghini & Parker 2007). In addition the ISI database covers mainly North American, Western European and English language titles (Meho & Yang 2007).

Freshwater fish comprise about 41% of world's fish species while occupying only 0.0093% of the water on the planet (Horn 1972; Helfman et al. 2009); approximately 58% of fish species are found in marine environments representing 98% of the planetary waters. In other words nearly half of all fish species live in less than 1% of the world's water supply (Helfman et al. 2009). In addition to this fact, the increase in anthropogenic threats to these environments makes freshwater fish among the most imperiled faunas worldwide (Dudgeon et al. 2006; Olden et al. 2010).

It is understandable that literature on Brazil includes a large number of comparative studies with other countries because of it leads in the number of freshwater fish species (2993 in Froese & Pauly 2011) against 980 and 356 species for USA and Australia, respectively. The Neotropics itself includes 24% of the world's fish species (Agostinho et al. 2005). In USA and Australia the number of marine fishes is greater, 2173 and 4590 species respectively, compared to 1228 species in Brazil (Froese & Pauly 2011).

It is evident that only a minority of the studied species are considered threatened (IUCN, 2011). Of the 782 species recorded in this work, only 5.9% (n=59) are Endangered, Vulnerable or Critically Endangered (IUCN 2011). Therefore, there is a clear lack of knowledge of the basic biology of several species considered threatened (2008 threatened species according to IUCN 2011). In addition, a large number of studied species (n=730) were Not Evaluated according IUCN, perhaps because of limited information about their autoecology and populations status. Of the 13 species included in more than five studies, only two are assessed as Vulnerable (IUCN 2011); all are considered commercially important species and/or for gamefish (Froese & Pauly 2011). It is clear when analyzing the most studied species that there is a tendency of

researchers to choose commercially important ones, while the threat status does not seem to be an important factor.

In addition, there is the difficulty of studying an endangered species due to the difficulty in obtaining permits. In the majority of studies, researchers sacrifice a large number of individuals (Abilhoa et al. 2011) to analyze gut contents, even though non-lethal techniques are available in most cases (Kamler & Pope 2001; Brosse et al. 2002; Wanner 2006). The questionable practice of sacrificing specimens, and manner in which it is done, is a subject of concern for several journals and guidelines have been published to promote best practice and ethical use of live animals (Metcalf & Craig 2011).

The fauna of the Palearctic region (northern Europe and Asia) is as well described as that of the Nearctic. This may be the result of several factors, including a poor ichthyofauna (Palearctic with 546 and Nearctic with 950 valid species, as opposed to 4475 in the Neotropics, *sensu* Helfman et al. 2009), a large number of scientists, and, for Europe, nearly five centuries of research. Another factor that probably influenced the large number of studies concerning Palearctic species is the fact that 10% of European freshwater species were described on the last decade (Kottelat & Freyhof 2007). In comparison, in Brazil alone, 64 new freshwater fish species were described in 2006, at an average rate of 1 new species every 6 days (Buckup et al. 2007).

The Neotropics appear in second place mostly due to the fact that South America, has the largest freshwater fish fauna in the world and that Brazil had a large number of studies and a rich freshwater fish fauna (Froese & Pauly 2011). In South America attention should be drawn to the Trans-Andean province, which has more than 400 described species and was underrepresented in our survey. Attention should also be drawn to the Ethiopian and Oriental realms, which had only a few studies. High

biodiversity regions such as the Indo-Pacific Ocean (Bellwood & Hughes 2001), and several biodiversity hotspots such as the South-Central China, Phillipines, Sundaland, Madagascar (Myers et al. 2000) are also poorly studied; it is however, possible that the information may be present in grey literature. In addition, it should be noted that the Oriental region includes some of the most populated regions of the world, and is therefore, under threat of severe impacts to the environment.

In this sense we must be aware of the fact that the great majority of ecological models and the current trends in conservation and fisheries science are based on studies conducted in regions with comparatively low biodiversity (*i.e.* low species richness and endemism). There are more developing than developed countries, yet most research dealing with feeding ecology of fish are restricted to developed countries. This is made even more relevant by the fact that several environmental problems are accentuated in megadiverse countries, that can also be considered poor or in a state of accelerated economic development. In this sense we suggest that it would be extremely useful to upgrade investments in these regions and/or to value more basic studies (not only in this area, but in all subjects of scientific research), particularly those concerning rare and cryptic species, especially in megadiverse countries (Brickford et al. 2006; Nuñez & Pauchard 2010; Lövei et al. 2011).

A similar pattern to that of freshwater studies is found when analyzing marine related papers. The most studied marine realms, Temperate Northern Atlantic (east coast of North America and Europe) and Temperate Northern Pacific (east coast of Asia and west coast of North America) attract a large number of scientists with a long tradition in research, which results in a large number of published papers (*e.g.* Horinouchi & Sano 2000; Brodeur et al. 2008; Cartes et al. 2009; Arbour et al. 2010). The Central Indo-Pacific (Northern Australia to Southeast Asia) had a high number of

studies mostly due to papers conducted in Australia, which can be explained in the same manner. In addition, Indonesia, New-Guinea and Philippines, which are part of the Central Indo-Pacific, constitutes the richest marine fish fauna of the world, and encompasses the “coral triangle,” a biodiversity hotspot for reef fishes (Roberts et al. 2002; Hoeksema 2007). Future directions should include the Eastern Indo-Pacific realm, which also comprises a high biodiversity area with a high degree of endemism per unit area (Allen 2007). In summary, we detected, not surprisingly, a data lack in several aspects concerning the feeding of fishes. These include: threatened species; freshwater habitats especially within the Neotropical, Ethiopian and Oriental realms; species-rich developing countries; and the eastern Indo-Pacific region, when considering marine fish. It is important to note that these are not the only gaps in our knowledge of this subject. For instance, there is a huge gap concerning marine fishes of the tropical Atlantic. We are only pointing out the most critical gaps that were in focus of our research.

This study also highlights the importance of the diffusion of these papers into international journals (especially studies conducted in megadiverse developing countries), so that other researchers can use the results for future meta-analyses. Perhaps choosing other scientific journals, fleeing the more traditional ones, can provide an interesting alternative.

Questions to be further addressed are: can we conserve and manage a species without knowing its full auto-ecology? What are the consequences of imprecise (*i.e.* lack of ecological information of species present in certain environment – the majority in general) conservation management? If we ignore these knowledge gaps we run the risk of losing a huge amount of information without knowing it even existed, especially in the fast changing world we face today.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank GPIc and Lec associates and students, Anderson Scorsato for helping statistical analysis, the Ecological Society of America Author Help Directory initiative and Dr. Jim Nienow for English revision. This work was supported by REUNI scholarship to R.R.B. and CNPq scholarship to H.B. We also thank Igor Kintopp Ribeiro for elaborating the world map.

REFERENCES

- Abilhoa V, Braga RR, Bornatowski H, Vitule JRS (2011) Fishes of the Atlantic Rain Forest streams: ecological patterns and conservation. In: Grillo O, Venora G (eds) Changing diversity in changing environment, InTech, Rijeka, pp 259-282.
- Agostinho AA, Thomaz SM, Gomes LC (2005) Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. *Conserv. Biol.* 19, 646-652.
- Aguiar AA, Valentin JL (2010) Biologia e ecologia alimentar de elasmobrânquios (Chondrichthyes: Elasmobranchii): uma revisão dos métodos e do estado da arte no Brasil. *Oecologia Aust.* 14, 464-489.
- Allen GR (2007) Conservation hotspots of biodiversity and endemism for Indo-Pacific coral reef fishes. *Aquat. Conserv.* 18, 541-556.
- Angelini R, Gomes LC (2008) O artesão de ecossistemas: construindo modelos com dados. Eduem, Maringá.
- Anon (2002) Breaking down the barriers. *Nature* 419, 863.
- Araújo MS, Guimarães PR, Svanbäck R, Pinheiro A, Guimarães P, Reis SF, Bolnick DI (2008) Network analysis reveals contrasting effects of intraspecific competition on individual vs. population diets. *Ecology* 89, 1981-1993.
- Arbour JH, Avendaño P, Hutchings JA (2010) Aspects of the ecology and life history of Alligatorfish *Aspidophoroides monoptyerygius*. *Environ. Biol. Fish* 87, 353-362.
- Baxter CV, Fausch KD, Murakami M, Chapman PL (2004) Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. *Ecology* 85, 2656-2663.
- Baxter CV, Fausch KD, Saunders C (2005) Tangled webs: reciprocal flows of invertebrate prey link streams and riparian zones. *Freshwater Biol.* 50, 201-220.
- Bellwood DR, Hughes TP (2001) Regional-scale assembly rules and biodiversity of coral reefs. *Science* 292, 1532-1534.
- Bellwood DR, Wainwright PC, Fulton CJ, Hoey AS (2006) Functional versatility supports coral reef biodiversity. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* 273, 101-107.
- Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NS, Ng PKL, Meier R, Winker K, Ingram KK, Das I (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 22, 148-155.

- Brodeur RD, Suchman CL, Reese DC, Miller TW, Daly EA (2008) Spatial overlap and trophic interactions between pelagic fish and large jellyfish in the northern California Current. *Mar. Biol.* 154, 649-659.
- Brosse L, Dumont P, Lepage M, Rochard E (2002) Evaluation of a Gastic Lavage Method for Sturgeons. *N. Am. J. Fish. Manage.* 22, 955-960.
- Buckup PA, Menezes NA, Ghazzi MS (2007) Catálogo das Espécies de Peixes de Água Doce do Brasil. Museu Nacional, Rio de Janeiro.
- Cartes JE, Hidalgo M, Papiol V, Massutí E, Morante J (2009) Changes in the diet and feeding of the hake *Merluccius merluccius* at the shelf-break of the Balearic Islands: Influence of the mesopelagic-boundary community. *Deep-Sea Res. I* 56, 344-365.
- Christensen V, Pauly D (1992) The ECOPATH II – a software for balancing steady-state models and calculating network characteristics. *Ecol. Model.* 61, 169–185.
- Christensen V, Walters CJ (2004) Ecopath with Ecosim: methods, capabilities and limitation. *Ecol. Model.* 172, 109-139.
- Clavero M (2010) “Awkward wording. Rephrase”: linguistic injustice in ecological journals. *Trends Ecol. Evol.* 25, 552-553.
- Clavero M (2011) Linguistic bias in ecological journals. *Front. Ecol. Environ.* 9, 93-94.
- Cortés E (1997) A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 726-738.
- Cortés E (1999) Standardized diet compositions and trophic levels of sharks. *ICES J. Mar. Sci.* 56, 707–717.
- Dudgeon D, Arthington AH, Gessner MO, Kawabata Z, Knowler DJ, Lévêque C, Naiman RJ, Prieur-Richard A, Soto D, Stiassny MLJ, Sullivan CA (2006) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biol. Rev.* 81, 163-182.
- Ebert DA, Bizzarro JJ (2007) Standardized diet composition and trophic levels of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). *Environ. Biol. Fish.* 80, 221-237.
- Farmer BM, Wilson SK (2010) Diet of finfish targeted by fishers in North West Australia and the implications for trophic cascades. *Environ. Biol. Fish.* 91, 71-85.
- Froese R, and Pauly D (2011). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (02/2011).

- Genner MJ, Turner GF, Barker S, Hawkins SJ (1999) Niche segregation among Lake Malawi cichlid fishes? Evidence from stable isotope signatures. *Ecol. Lett.* 2, 185-190.
- Hahn NS, Delariva RL (2002) Métodos para avaliação da alimentação natural de peixes: o que estamos usando? *Interciência* 28, 100-104.
- Heithaus MR (2001) Predator-prey and competitive interactions between sharks (order Selachii) and dolphins (suborder Odontoceti): a review. *J. Zool.* 253, 53-68.
- Helfman GS, Collette BB, Facey ED, Bowen BW (2009) *The diversity of fishes: biology, evolution and ecology.* Backwell Science, Oxford.
- Hoeksema B (2007) Delineation of the Indo-Malayan Centre of Maximum Marine Biodiversity: The Coral Triangle. In: Renema W (ed) *Biogeography, Time, and Place: Distributions, Barriers, and Islands*, Springer Netherlands, 117-178.
- Horinouchi M, Sano M (2000) Food habits of fishes in a *Zostera marina* bed at Aburatsubo, central Japan. *Ichthyol. Res.* 47, 163-173
- Horn MH (1972) The amount of space available for marine and freshwater fishes. *Fish. Bull.* 70, 1295–1297.
- Hynes HBN (1950) The food of Fresh-water Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygosteus pungitius*), with a review of methods used in studies of the food of fishes. *J. Anim. Ecol.* 19, 36-58.
- Hyslop, EJ (1980) Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *J. Fish Biol.* 17, 411-429.
- IUCN (2011) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded 13 July 2011.
- Jennings S, Greenstreet SPR, Hill L, Piet GJ, Pinnegar JK, War KJ (2002) Long-term trends in the trophic structure of the North Sea fish community: evidence from stable-isotopes analysis, size-spectra and community metrics. *Mar. Biol.* 141, 1085-1097.
- Jordán F, Liu W, Davis AJ (2006) Topological keystone species: measures of positional importance in food webs. *Oikos* 112, 535–546.
- Kamler JF, Pope KL (2001) Nonlethal methods of examining fish stomach contents. *Rev. Fish. Sci.* 9, 1-11.
- Kleiber D, Blight LK, Caldwell IR, Vincent ACJ (2011) The importance of seahorses and pipefishes in the diet of marine animals. *Rev. Fish Biol. Fish.* 21, 205-223.

- Kottelat M, Freyhof J (2007) Handbook of European Freshwater Fishes. Publications Kottelat, Cornol.
- Livingston PA (1985) An ecosystem model evaluation: the importance of fish food habits data. *Mar. Fish. Rev.* 47, 9-12.
- Longenecker K (2007) Devil in the details: High-resolution dietary analysis contradicts a basic assumption of reef-fish diversity models. *Copeia*, 543-555.
- Lövei GL, Lewinsohn TM, Dirzo R, Elhassan EFM, Ezcurra E, Freire CA, Gui F, Halley J M, Tibazarwa FI, Jiang M, Katebaka R, Kinyamario J, Kymanywa S, Liu F, Liu W, Liu Y, Lu B, Minot EO, Qiang S, Qiu B, Shen H, Soberon J, Sujii ER, Tang J, Uludag A, Vitule JRS, Wan F, Wang Y, Yang G, Zhang Y, You M (2011) Megadiverse developing countries face huge risks from invasives. *Trends Ecol. Evol.* 27, 2-3.
- Man JP, Weinkauff JG, Tsang M, DD Sin (2004) Why do some countries publish more than others? An international comparison of research funding, English proficiency and publication output in highly ranked general medical journals. *Eur. J. Epidemiol.* 19, 811-817.
- Meho LI, Yang K (2007) Impact of data sources on citation counts and ranking of LIS faculty: Web of Science versus Scopus and Google Scholar. *J. Am. Soc. Inf. Sci. Tec.* 58, 2105-2125.
- Meneghini R, Packer AL (2007) Is there science beyond English? *EMBO Rep.* 8, 112-116.
- Metcalf JD, Craig JF (2011) Ethical justification for the use and treatment of fishes in research: an update. *J. Fish Biol.* 78, 393-394.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GA, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853-858.
- Myers RA, Baum JK, Shepherd TD, Powers SP, Peterson CH (2007) Cascading Effects of the Loss of Apex Predatory Sharks from a Coastal Ocean. *Science* 315, 1846-1850.
- Nakano S, Murakami M (2001) Reciprocal subsidies: Dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 166-170.
- Navia AF, Cortés E, Mejía-Falla PA (2010) Topological analysis of the ecological importance of elasmobranch fishes: A food web study on the Gulf of Tortugas, Colombia. *Ecol. Model.* 221, 2918-2926.

- Nelson JS (2006) *Fishes of the World*. John Wiley and Sons, New Jersey.
- Núñez MA, Pauchard A (2010) Biological invasions in developing and developed countries: does one model fit all? *Biol. Invasion* 12, 707-714.
- Olden JD, Kennard MJ, Leprieur F, Tedesco PA, Winemiller KO, García-Berthou E (2010) Conservation biogeography of freshwater fishes: recent progress and future challenges. *Divers. Distrib.* 16, 496-513.
- Piana PA, Gomes LC, Agostinho AA (2006) Comparison of predator-prey interaction models for fish assemblages from the neotropical region. *Ecol. Model.* 192, 259-270.
- Pimm SL (2002) *Food Webs*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Polovina JJ (1984) An overview of the ECOPATH model. *Fishbyte* 2, 5-7.
- Primack RB, Ellwood E, Miller-Rushing AJ, Marrs R, Mulligan A (2009) Do gender, nationality, or academic age affect review decisions? An analysis of submissions to the journal *Biological Conservation*. *Biol. Conserv.* 142, 2415-2418.
- R Development Core Team (2011) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rezende CF, Caramaschi EMP, Mazzoni R (2008) Fluxo de energia em comunidades aquáticas, com ênfase em ecossistemas lóticos. *Oecol. Bras.* 12, 626-639.
- Roberts CM, McClean CJ, Veron JEN, Hawkins JP, Allen GR, McAllister DE, Mittermeier CG, Schueler FW, Spalding M, Wells F, Vynne C, Werner TB (2002) Marine Biodiversity Hotspots and Conservation Priorities for Tropical Reefs. *Science* 295, 1280-1284.
- Simpfendorfer CA, Heupel MR, White WT, Dulvy NK (2011) The importance of research and public opinion to conservation management of sharks and rays: a synthesis. *Mar. Fresh. Res.* 62, 518-527.
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA, Robertson J (2007) *Marine Ecoregions of the World: A bioregionalization of coastal and shelf areas*. *Bioscience* 57, 573-583.
- Stergiou KI, Karpouzi VS (2002) Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 11, 217-254.
- Svanbäck R, Bolnick DI (2007) Intraspecific competition drives increased resource use diversity within a natural population. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* 274, 839-844.

- Vasconcelos SMR, Sorenson MM, Leta J (2008) Researchers' writing competence: a bottleneck in the publication of Latin-American science? *EMBO Rep.* 9, 700-702.
- Wallace AR (1876) *The geographical distribution of animals.* Macmillan, London.
- Wanner G (2006) Evaluation of a gastric lavage method on juvenile pallid sturgeon. *N. Am. J. Fish. Manage.* 26, 587-591.
- Werner EE, Hall DJ (1974) Optimal foraging and the size selection of prey by the Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Ecology* 55, 1042-1052.
- Wilson EE, Wolkovich EM (2011) Scavenging: how carnivores and carrion structure communities. *Trends Ecol. Evol.* 26, 129-135.
- Zanden MJV, Vadeboncoeur Y (2002) Fishes as integrators of benthic and pelagic food webs in lakes. *Ecology* 83, 2152-2161.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E DA APLICABILIDADE DE MÉTODOS NÃO-LETAIS NO ESTUDO DA ECOLOGIA ALIMENTAR DE PEIXES DE RIACHOS NEOTROPICAIS

Raul Rennó Braga^{1,3*}, Vinicius Abilhoa³, Jean Ricardo Simões Vitule^{2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

²Departamento de Engenharia Ambiental, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

³GPIc – Grupo de Pesquisas em Ictiofauna. Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: raulbraga@onda.com.br

RESUMO

Para se obter informações sobre os padrões alimentares dos peixes, os métodos tradicionais exigem o sacrifício de um grande número de exemplares. Isto pode afetar seriamente uma população, além de causar uma má impressão para a sociedade. Neste cenário, foram desenvolvidos métodos não-letais para a obtenção do conteúdo, mas estas técnicas ainda são raramente utilizadas com peixes de riachos no Brasil. Primeiramente uma revisão do tema foi realizada. Além disso, foram conduzidos experimentos visando avaliar a aplicação da técnica de lavagem gástrica (LG) para espécies de pequeno porte representativas de riachos neotropicais. Revisando as metodologias utilizadas para estudos de dieta, apenas 3% dos estudos utilizaram métodos não-letais sendo que os EUA representam mais da metade desses resultados. No experimento de sobrevivência ao método, *Rhamdia quelen* e *Geophagus brasiliensis* não foram afetados pela LG. Já a eficiência em remover o conteúdo ingerido por *Pimelodella pappenheimi* foi de 71% enquanto que por *G. brasiliensis* foi de 13%.

Ficou constatada uma enorme lacuna a ser preenchida por ictiólogos da região neotropical com relação às técnicas empregadas nos estudos de ecologia alimentar. A LG associada ao óleo de cravo como anestésico, é uma técnica promissora como alternativa para estudos de peixes de riachos neotropicais, notoriamente para espécies ou populações raras e/ou sob ameaça. Entretanto testes específicos para cada caso devem ser conduzidos, visto que existe uma ampla gama de fatores a serem considerados (*e.g.* morfologia, natureza dos itens ingeridos, tamanho dos itens ingeridos, tamanho da espécie).

Palavras-chave: dieta, alimentação, revisão, lavagem gástrica, lavagem estomacal, óleo de cravo.

1. INTRODUÇÃO

A análise do conteúdo alimentar de peixes é de grande importância para o conhecimento dos ecossistemas aquáticos (Meehan & Miller, 1978; Wasowicz & Valdez, 1994). Na maioria das vezes, para se obter informações sobre os padrões alimentares dos peixes, os métodos exigem a coleta e sacrifício de um grande número de exemplares para a remoção do estômago e/ou intestino da cavidade celomática (Petridis & O'Hara, 1988; Kamler & Pope, 2001; Barnett et al., 2011). Esta prática pode afetar seriamente uma população ao reduzir sua diversidade genética a níveis deletérios (Hyslop, 1980; Kamler & Pope, 2001) e ao alterar sua estrutura populacional (Light et al., 1983; Hartleb & Moring, 1995), além de causar uma má impressão para a sociedade em geral (Seaburg, 1957; Hakala & Johnson, 2004). Populações de espécies piscívoras, por exemplo, geralmente apresentam um grande número de indivíduos com o estômago vazio, o que aumenta a necessidade de um grande número amostral, podendo levar em alguns casos ao colapso da população (Jernejcic, 1969; Arrington et al., 2002). Esta preocupação é ainda maior quando esta já se encontra em algum nível de ameaça de extinção (Brosse et al., 2002; Wanner, 2006; Shuman & Peters, 2007). Nestes casos, devido à proteção legal envolvida, torna-se necessária a utilização de metodologias não-letais para o estudo de sua ecologia (Wasowicz & Valdez, 1994; Haley, 1998; Grohs et al., 2009).

Técnicas não-letais também são de grande importância para estudos experimentais em que é necessária a manipulação e recaptura dos animais (Strange & Kennedy, 1981; Baxter et al., 2004; 2007). Além desses problemas, há também questões éticas envolvidas, pois de acordo com algumas diretrizes para utilização de animais em estudos científicos (Raymundo & Goldim, 2003), devemos reduzir ao máximo o

número de animais sacrificados por meio de planejamento experimental e técnicas estatísticas (Cecílio et al., 2011).

Com vistas nesses problemas, foram desenvolvidos alguns métodos alternativos para a obtenção do conteúdo estomacal, no qual o peixe não é sacrificado (*e.g.* White, 1930; Robertson, 1945; Dubets, 1954; Seaburg, 1957; Kuthalingham, 1961; Wales, 1962; Jernejcic, 1969; Baker & Fraser, 1976; Foster, 1977; Crossman & Hamilton, 1978; Meehan & Miller, 1978; Van Den Avyle & Roussel, 1980; Giles, 1980; Strange & Kennedy, 1981; Light et al., 1983; Culp et al., 1988; Petridis & O'Hara, 1988; Wasowicz & Valdez, 1994; Hartleb & Moring, 1995; Quist et al., 2002).

Uma revisão detalhada com descrições das metodologias existentes foi conduzida por Kamler & Pope (2001), contudo essa já possui 11 anos de defasagem. Esses estudos indicam que a eficiência de cada método depende do tamanho do indivíduo, idade e espécie, além do tamanho e natureza dos itens alimentares no estômago (Kamler & Pope, 2001).

Apesar da existência de um considerável número de técnicas não letais, não há registros em periódicos da utilização dessas para peixes de riachos neotropicais. A ictiofauna neotropical de riachos é caracterizada pela presença de espécies de pequeno porte (Abilhoa et al., 2011), o que dificulta a utilização da grande maioria das metodologias propostas até o momento (Foster, 1977; Hyslop, 1980; Hartleb & Moring, 1995). Associado à restrição relacionada com o tamanho das espécies está o fato que somente no Brasil existem 159 espécies de peixes em ameaça de extinção, sendo 135 de água doce e 24 marinhas (Agostinho et al., 2005; Rosa & Lima, 2008), nas quais seria de primordial importância se utilizar de técnicas não-letais, para garantir o conhecimento sobre sua auto-ecologia sem comprometimento da integridade física dos indivíduos. É importante destacar que a técnica deve também cumprir alguns requisitos

como: baixo custo, facilidade de obtenção dos componentes e construção do equipamento, facilidade de operação em campo por uma ou duas pessoas e curto tempo requerido para o procedimento, além de ser não-letal e eficiente na remoção dos itens ingeridos.

A técnica de lavagem gástrica com a utilização de uma seringa é a mais indicada para espécies de pequeno porte (Meehan & Miller, 1978; Hyslop, 1980; Kamler & Pope, 2001). Essa técnica, descrita por Baker & Fraser (1976), consiste em utilizar um tubo pequeno inserido no ânus do animal para injetar água, que por sua vez faz com que os itens alimentares sejam coletados através da cavidade oral. Os autores relataram uma alta variabilidade na eficiência deste método de acordo com a morfologia do trato digestório de cada espécie. Meehan & Miller (1978) ao adaptar esta técnica e injetar a água através da boca e esôfago constataram uma alta eficiência (> 90 %) em remover o conteúdo ingerido por juvenis de trutas e salmões com comprimento padrão entre 52 e 232 mm respectivamente. Apesar disso, essa técnica pode levar a altas taxas de mortalidade (Sprague et al., 1993). Quando a água é injetada com muita pressão pode ocorrer ruptura da bexiga natatória, além de ocasionar outras lesões internas (Sprague et al., 1993). Além desses, outros riscos associados a esses métodos não foram devidamente analisados, como, por exemplo: estresse, tempo de manipulação prolongado e danos aos tecidos do esôfago e estômago (Shuman & Peters, 2007; Castro et al., 2008), assim como a viabilidade, sobrevivência e longevidade dos indivíduos em longo prazo após soltura em ambiente natural. O desconhecimento desses danos, da sua eficácia e aplicabilidade e da própria metodologia pela comunidade científica tem limitado a utilização rotineira em análises alimentares, notoriamente com peixes de riacho e em especial na região neotropical.

Tendo em vista essa problemática, o presente estudo teve como objetivo avaliar e incentivar a aplicação dessa técnica para espécies de pequeno porte representativas de riachos neotropicais. Primeiramente, uma revisão do tema foi realizada para ajudar a responder os seguintes questionamentos relevantes à problemática abordada: Qual a proporção de estudos sobre ecologia alimentar de peixes no mundo que utilizam técnicas não-letais? Quais países estão se preocupando com estas questões e testando tais metodologias? Quais outras técnicas são utilizadas no estudo de dieta de peixes?

Além disso, partindo do princípio de que a lavagem gástrica com a utilização de seringas é o método mais adequado para espécies de pequeno porte (Kamler & Pope, 2001) e que a região Neotropical é predominantemente composta por espécies com esta característica, foram realizados experimentos com o objetivo de avaliar a aplicação dessa técnica para duas espécies de pequeno porte de riachos neotropicais. Para isso, foram levantadas as seguintes questões: o método afeta a sobrevivência dos indivíduos submetidos à técnica? O método realmente é efetivo na retirada do conteúdo ingerido pelos animais?

2. METODOLOGIA

2.1 Revisão

Um levantamento bibliográfico foi realizado para avaliar o emprego de métodos não-letais em estudos de ecologia alimentar de peixes. Para isso foi realizada uma busca dos artigos indexados à base de dados do Institute for Scientific Information Web of Science que continham como tópico as palavras “*fish ecology*” AND “*feeding*” OR “*diet*”. Para o refinamento dos resultados foi utilizado o sistema de filtros para as seguintes áreas: “*marine & freshwater biology, ecology, fisheries, oceanography, zoology, environmental sciences, biodiversity conservation, limnology, behavioral*

sciences, biology, environmental studies, evolutionary biology, anatomy & morphology". Os artigos resultantes foram primeiramente analisados pelo título e resumo para excluir artigos não relacionados à dieta de peixes.

Para obtenção de trabalhos adicionais foi realizada uma busca secundária através das referências dos artigos já obtidos na busca pelo ISI Web of Science. Artigos indisponíveis pelo portal da Capes foram pedidos via e-mail aos autores ou foram obtidos através do sistema de comutação bibliográfica (Comut).

As informações compiladas dos artigos obtidos na revisão foram: ano de publicação, título do periódico, país onde o estudo foi conduzido, método de amostragem do conteúdo estomacal, utilização do material para outras análises (*e.g.* reprodução), espécies utilizadas, ordem à que pertencem de acordo com Froese & Pauly (2011), status de ameaça de acordo com a IUCN (2011), e tamanho mínimo e máximo dos indivíduos testados nos artigos, o que muitas vezes diferiu do tamanho máximo registrado por Froese & Pauly (2011).

2.2 Testes do método de lavagem gástrica (LG)

2.2.1 Espécies utilizadas

Os experimentos foram realizados com espécies de pequeno a médio porte de ampla distribuição que ocorrem em riachos da Mata Atlântica, bioma sob intensa ameaça e de suma importância para conservação de sua biodiversidade (Myers et al., 2000). Como modelo para os testes foram escolhidas espécies de duas ordens distintas considerando suas notórias diferenças morfológicas e hábitos alimentares. Além disso, a escolha das espécies levou em consideração semelhanças morfológicas com espécies presentes na lista vermelha brasileira e paranaense de fauna ameaçada (Mikich & Bérnils, 2004; Rosa & Lima, 2008).

A análise de eficácia (descrição na seção 2.2.5) foi realizada com *Pimelodella pappenheimi* e *Geophagus brasiliensis*, enquanto as análises de sobrevivência (descrição na seção 2.2.4) foram realizadas com *Rhamdia quelen* e *Geophagus brasiliensis*.

Siluriformes: Heptapteridae

Rhamdia quelen (Quoy & Gaimard, 1824): possui ampla distribuição natural na região neotropical, estendendo desde o sul do México até Rio da Prata, onde pode ser encontrada em lagoas, córregos, e até rios de tamanho moderado (Menezes et al., 2007). Seu hábito alimentar pode ser considerado como onívoro, mas insetos, crustáceos e pequenos peixes constituem a maior parte dos itens ingeridos (Brazil-Souza, 2009; Gomiero et al., 2007; Kütter et al., 2009).

Pimelodella pappenheimi Ahl, 1925: sua área de ocorrência está restrita às bacias do Itajaí-Açu, Itapocú e Cubatão em Santa Catarina e à bacia de Paranaguá no Paraná (Bockmann & Guazzelli, 2003). Possui hábito alimentar onívoro e comportamento oportunista, se alimentando de itens no substrato (Aranha et al., 1998).

Dentre as espécies de Heptapteridae presentes em listas vermelhas de ameaça estão: *Chasmocranus brachynema*, *Rhamdia jequitinhonha*, *Rhamdiopsis microcephala*, *Taunayia bifasciata*, *Heptaterus multiradiatus*, *Pimelodella kronei* e *Rhamdiopsis moreirai*

Perciformes: Cichlidae

Geophagus brasiliensis (Quoy & Gaimard, 1824): sua distribuição natural abrange drenagens costeiras do leste e sul do Brasil e Uruguai (Kullander, 2003), além de áreas do alto rio Paraná (Graça & Pavanelli, 2007). É uma espécie onívora na qual os juvenis alimentam-se preferencialmente de itens animais, enquanto adultos alimentam-

se de matéria animal e vegetal em igual proporção (Abelha & Goulart, 2004; Mazzoni & Costa, 2007).

Dentre as espécies desta família presentes em listas vermelhas de ameaça estão: *Crenicichla cyclostoma*, *Crenicichla jegui*, *Crenicichla jupiaiensis*, *Gymnogeophagus setequedas*, *Teleocichla cinderella*.

2.2.2 Coleta

Para a captura de *G. brasiliensis* foi utilizada a técnica de pesca elétrica (Northrop, 1967). A pesca elétrica funciona com a utilização de dois puçás energizados (cátodo e ânodo) por um gerador de eletricidade com corrente contínua (Northrop 1967). Os espécimes de *G. brasiliensis* foram coletados no reservatório do Passaúna localizado na região metropolitana de Curitiba, Paraná (25°31'58.54"S 49°23'22.08"O) e em um riacho localizado no município de Quatro Barra, Paraná (25°22'36.76"S 49°04'08.40"O).

Para a coleta de *P. pappenheimi* foi utilizada a pesca com vara e anzol (Cailliet, 1996) no rio Guaraguaçu, localizado na sub-bacia da baía de Paranaguá, litoral do Paraná (25°40'22.87"S 48°30'45.79"O).

Os indivíduos de *R. quelen* utilizados nos experimentos de sobrevivência foram comprados de criadouro devido à facilidade de aquisição, baixo custo e a vantagens para a realização dos experimentos decorrentes do estresse animal, uma vez que estes já estão acostumados ao ambiente de cativeiro (Morgan & Tromborg, 2007). Adicionado a isso, esta espécie já foi amplamente estudada com relação ao efeito de anestésicos e ao estresse (Barcellos et al., 2009; Cunha et al., 2010)

2.2.3 Anestesia e Lavagem gástrica (LG)

Previamente a LG, os peixes foram anestesiados em solução de óleo de cravo (Soto & Burhanuddin, 1995; Cunha & Rosa, 2006). Esta substância, proveniente da destilação de flores, folhas, caules e raízes de *Eugenia aromatica* e *Eugenia caryophyllata*, tem como princípio ativo o eugenol (Soto & Burhanuddin, 1995; Simões, 2011). É considerada não mutagênica e de acordo com o FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) segura para utilização por humanos (Woody et al., 2002), além de não causar danos ao meio ambiente (Iversen et al., 2003)

Para *R. quelen* e *P. pappenheimi* foi utilizada uma solução de 10% de óleo de cravo, 40% de álcool 70%, e 50% de água. Para *G. brasiliensis* foram testadas três soluções para avaliação da melhor concentração de óleo de cravo: 0,5% óleo de cravo, 9,5% álcool 70 % e 90% água; outra 1% óleo de cravo, 9% álcool 70% e 90% água; e outra 3% óleo de cravo, 7% álcool e 90% água.

Os procedimentos foram visualmente monitorados e a anestesia foi caracterizada através dos estágios de diminuição do movimento opercular, da perda de equilíbrio e da perda total de reação ao estímulo. Depois de anestesiados, os animais foram medidos (comprimento total e padrão em mm) e pesados (precisão de 1g no teste de eficiência do método em campo e 0,001g no teste de sobrevivência em laboratório), para então serem submetidos à LG.

Para o realização da LG foi utilizada uma cânícula plástica siliconada de extremidade arredondada com 380 mm de comprimento, dois mm de diâmetro externo e um mm de diâmetro interno acoplada a uma seringa de 60 ml com água (**Fig. 1**). A cânícula foi inserida na cavidade oral e suavemente empurrada até o estômago. Em *R. quelen* e *P. pappenheimi* era possível sentir com o dedo sobre a porção ventral do animal quando a extremidade da cânícula alcançava o estômago. Com a cânícula

inserida leve e delicadamente, a água da seringa era injetada de forma contínua e lenta (**Fig. 2**). Com o animal posicionado com a porção anterior voltada para baixo e uma leve pressão digital na porção do estômago o conteúdo estomacal foi retirado e armazenado em um pote plástico. Um mínimo de 30 ml e um máximo de 60 ml de água foi utilizado para cada indivíduo. Quando algum alimento era visualizado preso na cavidade oral do animal este era retirado com o auxílio de uma pinça. O conteúdo estomacal recuperado foi fixado em solução de formol 10%.

Após o término da LG os indivíduos foram colocados em uma caixa plástica contendo dois litros de água e sua recuperação foi monitorada. No campo a recuperação também foi realizada no ambiente natural, no qual os indivíduos em recuperação foram colocados em um puçá dentro da água.



Fig. 1 Canícula plástica siliconada e seringa de 60 ml utilizadas na lavagem gástrica durante os experimentos de sobrevivência e eficiência do método.



Fig. 2 Lavagem gástrica com a utilização de uma canícula plástica.

Com um cronômetro, o tempo de anestesia (em segundos), tempo de recuperação do anestésico (em segundos), e o tempo total de duração do procedimento de canulação (em minutos; descontado o tempo de indução e recuperação do anestésico) foram registrados.

2.2.4 Sobrevivência

Para a avaliação da sobrevivência foram realizados experimentos em laboratório com *R. quelen* e *G. brasiliensis*.

Foram utilizados oito aquários plásticos com 20 l de água, medindo (41 cm x 24 cm x 25 cm) (**Fig 3a**). Para a aeração dos aquários foi utilizado um compressor (nove watts) de quatro saídas de 3,2 l/min. Para o aquecimento e manutenção da temperatura a 25 °C foi utilizado um aquecedor (300 watts) com termostato. Também foi utilizado um aquário de 70 l como estoque para acondicionamento de peixes para a reposição de indivíduos mortos antes do início dos experimentos. Todos os aquários foram cobertos na sua porção anterior com um plástico preto para minimizar estresse decorrente do fluxo de pessoas no laboratório (**Fig. 3b**). Durante a realização dos experimentos, a triagem de material fixados em solução de formol ou álcool foi suspensa no laboratório.



Fig. 3 (a) Disposição dos oito aquários no laboratório do Museu de História Natural Capão da Imbuía (MHNCI). (b) Porção anterior dos aquários cobertos com plástico preto para minimizar o estresse dos animais. Ao fundo, aquário maior utilizado como estoque.

Os aquários foram divididos em quatro controles e quatro tratamentos (procedimento de lavagem gástrica). Para *R. quelen* foram utilizados 10 indivíduos por aquário. Para *G. brasiliensis*, devido à dificuldade de obtenção dos espécimes, foram realizadas duas baterias de experimentos: a primeira com 25 indivíduos divididos em seis aquários, sendo três controles e três tratamentos, e a segunda bateria com 38 indivíduos divididos em cinco aquários, sendo dois controles e três tratamentos. Os indivíduos presentes nos aquários controles foram submetidos a todo o processo de coleta, aclimatação, manuseio, alimentação, anestesia, medição do comprimento total e padrão, pesagem e recuperação do anestésico assim como aqueles presentes nos aquários de tratamentos, sendo excluídos apenas do processo de canulação e LG.

Cada bateria de experimentos teve duração de duas semanas. Ao serem colocados nos aquários, os peixes foram submetidos a uma semana de aclimatação. Após terem sido submetidos ao processo de LG a mortalidade dos peixes foi avaliada diariamente durante uma semana. Ao final do experimento os indivíduos sobreviventes foram sacrificados ou doados para realização de outros experimentos.

Para a análise da sobrevivência foi realizado o teste de Mann-Whitney, onde foi comparada a taxa de mortalidade (n de indivíduos no aquário/ n mortes ao final do experimento) entre os aquários de tratamentos e de controles. Este teste foi realizado para cada bateria de experimento separadamente e para todos juntos. As análises foram conduzidas utilizando o software Statística 7.0. Uma correlação de Spearman foi realizada para verificar uma possível correlação entre comprimento total dos indivíduos e tempo de ação do anestésico, sendo para isso utilizado o software Past 1.95 (Hammer et al., 2001).

2.2.5 Eficiência

Para a avaliação da eficiência do método foram realizados testes em campo com *P. pappenheimi* e *G. brasiliensis*. Os indivíduos capturados foram acondicionados em uma caixa plástica (35 cm de altura por 33 cm de largura e 66 cm de comprimento, e aproximadamente 40 litros de água do próprio local de coleta), com aerador até que estes apresentassem natação normal. Após a recuperação, todos os indivíduos foram submetidos ao processo de anestesia e LG (seção 2.2.3). O conteúdo estomacal recuperado e o espécime testado foram separadamente fixados em formol 10% para posterior análise em laboratório.

Em laboratório os conteúdos estomacais retirados pela LG foram filtrados com uma membrana de 45 μ m e auxílio de uma bomba a vácuo. O material resultante da filtragem e o conteúdo restante nos estômagos foram separadamente pesados em balança digital (0,001g). A eficiência do método foi calculada como o percentual de itens recuperados durante a lavagem estomacal (peso) em relação ao total ingerido pelo animal (restante no estômago somado ao obtido pela lavagem) (Hakala & Johnson, 2004).

Também foi realizada uma correlação de Spearman, através do software Past 1.95 (Hammer et al., 2001), para verificar uma possível correlação entre comprimento total e tempo de ação do anestésico.

3. RESULTADOS

3.1 Revisão

Foi encontrado um total de 1.135 artigos na base de dados do ISI Web of Science referentes ao período de 1995 e julho de 2011. Destes, 385 estavam disponíveis online através do portal da CAPES e efetivamente estavam relacionados à dieta de peixes. Em média, os artigos amostrados apresentaram um n amostral de 950 ± 7158 indivíduos por espécie, atingindo um máximo de 121.318 indivíduos de *Chlorophthalmus agassizi* capturados e 605 estômagos analisados (Anastasopoulou & Kapiris, 2008), sendo que a maioria dos estudos (67 %) apresentou apenas dados de dieta. Dos artigos obtidos, apenas 13 (3,3%) utilizaram métodos não-letais (*e.g.* observações comportamentais, lavagem estomacal, regurgito espontâneo).

Na busca secundária foram encontrados 25 artigos adicionais que tinham por objetivo desenvolver e/ou testar métodos não-letais, publicados entre 1945 e 2011. Dentre os 14 periódicos em que testes de métodos não-letais foram publicados, o North American Journal of Fisheries Management foi o de maior representatividade, com 32% dos artigos publicados, seguido do The Progressive Fish-Culturist (16%) (atualmente chamado de North American Journal of Aquaculture) e Transactions of the American Fisheries Society (8%). Quando analisados os países onde foram utilizados (não somente testados) os métodos não-letais (artigos resultantes da busca no ISI Web of Science e da busca secundária), os EUA representam mais da metade dos resultados (52,5%).

Com a busca secundária foi possível identificar seis métodos para estudos de alimentação de peixes sem a necessidade de sacrifício de exemplares. Foram eles: lavagem gástrica (ver seção 2.2.3); lavagem intestinal (Baker & Fraser, 1976; Culp et al., 1988); observações comportamentais diretas (Morton et al., 2008; Cole, 2010); regurgito natural (Beukers-Stewart & Jones, 2004; Vignon & Dierking, 2011); uso de substâncias eméticas (Jernejcic, 1969); e uso de fórceps (Wales, 1962) (**Fig. 4**).

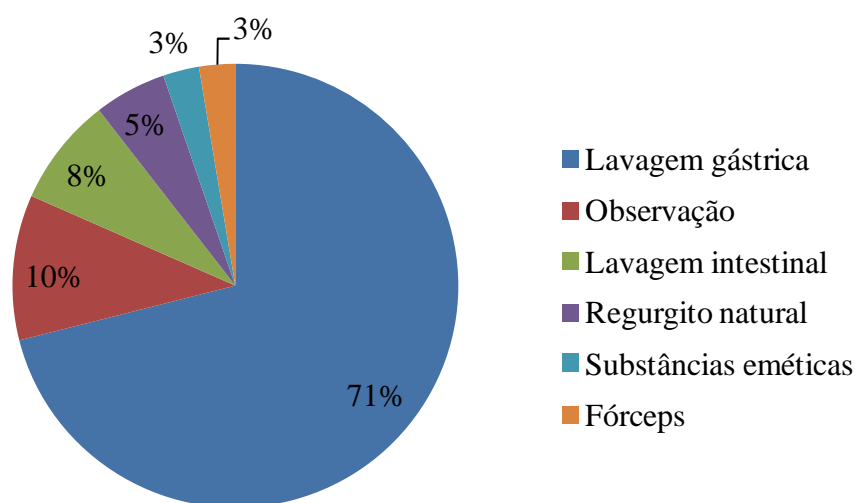


Fig. 4 Proporção de métodos não-letais resultantes da busca na base de dados do Web of Science e na busca adicional.

Na revisão pelo ISI Web of Science foi possível observar a proporção de estudos para cada diferente método. O método tradicional de remoção do estômago foi utilizado em 298 estudos, 92,3% do total. Análises através de isótopos estáveis, que também exigem o sacrifício dos animais foram utilizadas em 11 estudos (3,4%). A lavagem estomacal foi utilizada em 6 estudos (1,9%), observações comportamentais foram utilizadas em 4 (1,2%), análises através de ácidos graxos em 2 (0,6%) e o regurgito acidental também em 2 artigos (0,6).

No total, 36 espécies foram utilizadas para testar efetivamente um método não-letal (foram excluídos os trabalhos que apenas utilizaram o método sem testes), em um total de 24 artigos (**Tab. 1**). *Micropterus salmoides* foi a espécie mais testada ($n=7$), seguida de *Sander vitreus* ($n=3$), *Oncorhynchus mykiss* ($n=3$), *Salvelinus fontinalis* ($n=3$) e *Salmo trutta* ($n=2$). O restante das espécies foi testado apenas uma vez.

Tabela 1. Lista das espécies testadas com métodos não-letais. Seguido do nome da espécie e o autor está a classificação de ameaça da IUCN; LC: Least concern, NT: Near Threatened, VU: Vulnerable, EN: Endangered.

Acipenseriformes

Acipenseridae

Acipenser baerii Brandt, 1869; EN

Acipenser brevirostrum Lesueur, 1818; VU

Acipenser oxyrinchus Mitchill, 1815; NT

Scaphirhynchus albus (Forbes & Richardson, 1905); EN

Cypriniformes

Cyprinidae

Ctenopharyngodon idella (Valenciennes, 1844)

Gila robusta Baird & Girard, 1853

Notemigonus crysoleucas (Mitchill, 1814); LC

Rhinichthys cataractae (Valenciennes, 1842)

Tinca tinca (Linnaeus, 1758); LC

Siluriformes

Ictaluridae

Ameiurus nebulosus (Lesueur, 1819)

Ictalurus furcatus (Valenciennes, 1840)

Pylodictis olivaris (Rafinesque, 1818)

Salmoniformes

Salmonidae

Oncorhynchus aguabonita (Jordan, 1892)

Oncorhynchus clarkii (Richardson, 1836)

Oncorhynchus kisutch (Walbaum, 1792)

Oncorhynchus mykiss (Walbaum, 1792)

Salmo clarki (Richardson, 1836)

Salmo salar Linnaeus, 1758; LC

Salmo trutta Linnaeus, 1758; LC

Salvelinus fontinalis (Mitchill, 1814)

Esociformes

Esocidae

Esox americanus vermiculatus Lesueur, 1846

Esox lucius Linnaeus, 1758; LC

Esox masquinongy Mitchill, 1824

Esox niger Lesueur, 1818

Cyprinodontiformes

Fundulidae

Fundulus heteroclitus (Linnaeus, 1766)

Scorpaeniformes

Cottidae

Cottus cognatus Richardson, 1836

Perciformes

Centrarchidae

Lepomis gibbosus (Linnaeus, 1758)

Lepomis macrochirus Rafinesque, 1819

Micropterus dolomieu Lacepède, 1802

Micropterus punctulatus (Rafinesque, 1819)

Micropterus salmoides (Lacepède, 1802)

Pomoxis nigromaculatus (Lesueur, 1829)

Moronidae

Morone americana (Gmelin, 1789); LC

Percidae

Sander vitreus (Mitchill, 1818)

Perca fluviatilis Linnaeus, 1758; LC

3.2 Testes do método de lavagem gástrica

3.2.1 Sobrevivência

No experimento com *R. quelen*, tanto nos aquários controles quanto nos aquários tratamentos, dos 80 indivíduos utilizados, não houve mortes. O comprimento total médio foi de 76 mm \pm 10 e o peso total médio de 3,7 g \pm 1,44. O tempo médio para efeito do anestésico foi de 52 s \pm 15,7 e para a recuperação foi de 420 s \pm 360. Não houve correlação entre o tempo de anestesia e o comprimento total ($r = 0,16$; $p = 0,15$)

Os espécimes de *G. brasiliensis* utilizados tiveram um comprimento total médio de 77 mm \pm 21 e peso total médio de 7,8 g \pm 7,10. Quando utilizada a solução de 1 ml de óleo de cravo (ver seção 2.2.3) o tempo médio para o efeito do anestésico foi de 30 s \pm 12,33 e o tempo para recuperação foi de 366 s \pm 162. Não houve correlação entre o

tempo de anestesia e o comprimento total dos indivíduos quando utilizado 1 ml do anestésico ($r = 0,14$; $p = 0,37$) ou quando utilizados 10 ml ($r = 0,42$; $p = 0,03$).

Para *G. brasiliensis*, quanto à mortalidade total, ao final do experimento (para as duas baterias em conjunto) não houve diferença significativa ($U = 12,00$; $p = 0,58$). Quando analisadas separadamente também não houve diferença significativa tanto para a primeira bateria ($U = 4,00$; $p = 0,82$), quanto para a segunda ($U = 3,00$; $p = 1,00$).

A mortalidade diária total até o oitavo dia de observação (excetuando-se o 6° e o 7° dia que correspondem a sábado e domingo), para os grupos tratamento e controle, estão representados na **Fig. 3**.

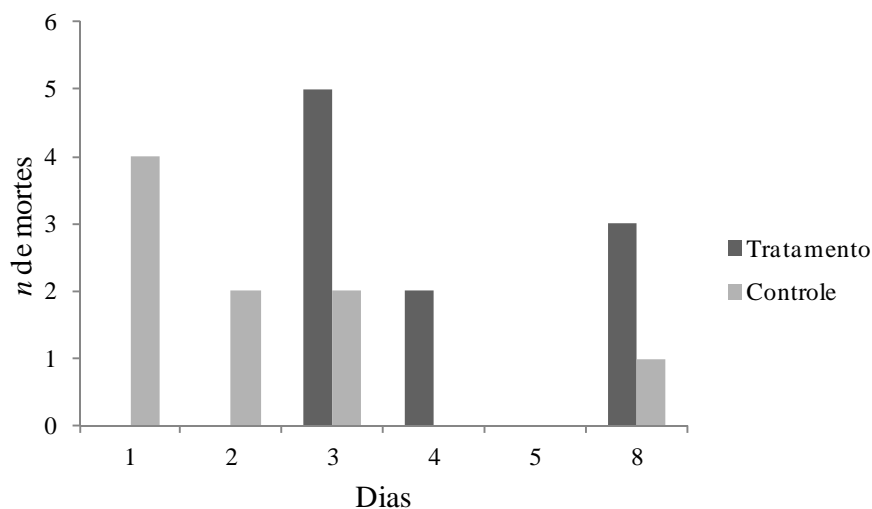


Fig 5. Mortalidade diária total de *Geophagus brasiliensis*, nos grupos controle e tratamento, registrados durante os oito dias subsequentes à realização do experimento. Os dias 6 e 7, não representados na figura, correspondem a sábado e domingo, dias estes que não foram monitorados. Sendo assim, os valores do 8° dia correspondem a mortalidade dos dias 6, 7 e 8.

3.2.1 Eficiência

Foram capturados 34 indivíduos de *P. pappenheimi*. O comprimento total médio foi de $122 \pm 35,5$ mm e o peso total médio de $18,5 \pm 16,9$ g. O tempo médio para efeito do anestésico foi de $68 \pm 16,5$ s e para recuperação foi de 270 ± 99 s. Não houve

correlação entre o tempo de anestesia e o comprimento total ($r = 0,47$; $p = 0,06$). O procedimento da LG teve um tempo médio de $174,5 \pm 53,9$ s. Todos os indivíduos sobreviveram à LG e após a recuperação do anestésico, apresentavam natação normal. A utilização do método de lavagem estomacal foi responsável pela remoção de 71,4 % do peso dos itens alimentares ingeridos por *P. pappenheimi*.

Para o teste com *G. brasiliensis* foram coletados 38 indivíduos, com um comprimento total médio de 99 ± 24 mm e peso total médio de $19,9 \pm 15,8$ g. O tempo médio necessário para a anestesia (0,5 ml de anestésico, ver seção 2.2.3) foi de $88,4 \pm 43,5$ s e para recuperação foi de $105 \pm 51,4$ s. Também não houve correlação entre comprimento total e tempo de anestesia ($r = 0,37$; $p = 0,05$). O procedimento da LG durou em média $197,6 \pm 45,2$ s.

Apenas um indivíduo de *G. brasiliensis* não sobreviveu à lavagem estomacal, tendo seu intestino evertido pelo orifício anal. Os restantes recuperaram totalmente o padrão normal de natação. O tempo médio gasto para realizar o procedimento de LG foi de $197 \pm 45,2$ s. Com *G. brasiliensis*, o método de lavagem estomacal removeu 13,5 % do peso de seu conteúdo alimentar.

4. DISCUSSÃO

Em algumas situações a captura e subsequente sacrifício de um grande número de peixes, como mostrado pelo número de indivíduos sacrificados nos estudos revisados, é de fato bastante questionável, principalmente pela ampla disponibilidade de alternativas existentes (Kamler & Pope, 2001). Esse fato se aplica não somente para estudos de dieta, como para estudos de reprodução (Whittamore et al., 2010). Populações e comunidades de peixes já estão sob intensa pressão em praticamente todos os ambientes em que estão presentes (Jackson et al., 2001; Myers et al., 2007; Olden et

al., 2010; Vitule et al., 2009; Abilhoa et al., 2011) e a busca por informações ecológicas pode acabar por ser um ultimato em algumas situações.

Apesar de nos últimos 80 anos (desde White, 1930) diversos métodos não-letais já terem sido desenvolvidos, esses ainda não foram e/ou são pouquíssimos utilizados. O fato de não existir um único método aplicável e eficiente a todas as espécies de peixes (Hyslop, 1980; Kamler & Pope, 2001), é provavelmente um fator determinante para esta pequena utilização, pois testes devem ser feitos para cada caso específico. Isso ocorre devido principalmente a diferenças morfológicas do trato digestório (Light et al., 1983; Petridis & O'Hara, 1988; Waters et al., 2004). Durante a escolha de qual método não-letal vai ser utilizado, os pesquisadores devem considerar, quando possível, além da espécie em estudo, outros fatores como tamanho dos indivíduos amostrados, natureza e tamanho dos itens ingeridos, morfologia do trato digestivo, orçamento e número de pessoas envolvidas nas coletas (Baker & Fraser, 1976; Hyslop, 1980; Kamler & Pope, 2001). Também é necessário avaliar outras questões logísticas e operacionais como, por exemplo, tempo necessário e disponível para triagem em campo dos peixes capturados e disponibilidade de um local adequado para a realização dos experimentos.

É notável a escassez da aplicação de métodos não-letais em regiões com alta diversidade biológica como a região Neotropical (Lowe-McConnell, 1999). No Brasil, o único registro encontrado refere-se ao estudo da dieta de *Hippocampus reidi* na região nordeste (Castro et al., 2008). Apesar da iniciativa de utilizar a LG, os autores não avaliaram a eficiência do método e sua influência na mortalidade. Resultados de análises de dieta sem uma avaliação da eficiência do método podem levar a conclusões errôneas, pois o método por ser mais eficiente em remover itens menores e menos eficiente na remoção de itens maiores. A alta riqueza da região Neotropical, notavelmente àquela de espécies ameaçadas, torna essa região carente de estudos que

desenvolvam e/ou apliquem essas técnicas já há tanto tempo presentes na literatura científica. Por outro lado a alta representatividade de revistas e trabalhos conduzidos nos Estados Unidos da América pode estar associada à tendência existente na base de dados do ISI Web of Science em resultar artigos de revistas provenientes da América do Norte, Europa Ocidental e de artigos na língua Inglesa (Meho & Yang, 2007). Entretanto, é notável que pesquisadores norte-americanos estão a muitos anos preocupados com o impacto de suas pesquisas nas populações em estudo, e tendências da base de dados utilizada não mudam o fato de técnicas não-letais estão sendo negligenciadas por pesquisadores de regiões megadiversas.

As espécies testadas, em geral, são espécies de médio a grande porte com importância comercial e/ou apelo na sociedade, como as utilizadas para a pesca esportiva (*e.g. Micropterus salmoides*). O tamanho corporal foi diagnosticado como uma das maiores desvantagens para a utilização das técnicas de LG (Foster, 1977; Hartleb & Moring, 1995), o que deixa uma lacuna a ser preenchida no desenvolvimento e aplicabilidade dessas técnicas. Alguns poucos estudos utilizaram espécies ameaçadas, como o esturjão, pois devido à proteção legal envolvendo essas espécies, a utilização de metodologias não-letais era a única opção para o estudo de sua ecologia alimentar (Wasowicz & Valdez, 1994; Haley, 1998; Grohs et al., 2009). Quando não há necessidade legal da utilização de um método não-letal, por comodidade ou desconhecimento, pesquisadores acabam por optar pelo sacrifício dos animais.

É evidente que ao revisar as metodologias desenvolvidas alguns estudos escapem dos resultados. Isto ocorreu em decorrência da indisponibilidade dos artigos em versões online pelo portal da Capes, impossibilidade de contato com os autores devido ao ano em que foram publicados, indisponibilidade pelo serviço de Comut e o fato de serem publicados em veículos de difícil acesso como periódicos e relatórios

regionais. Entretanto, esses poucos artigos (< 10) não seriam suficientes para mudar os padrões encontrados.

Durante a análise de sobrevivência, a percentagem de mortalidade após os sete dias não apresentou diferença significativa entre os indivíduos de *G. brasiliensis* que foram submetidos à LG (16,4 %) e os do grupo controle (21,5 %). Estes resultados de *G. brasiliensis*, juntamente com o fato de *R. quelen* ter apresentado 100% de sobrevivência, sugerem que esta metodologia é segura para ser aplicada a essas espécies além de outros ciclídeos e heptapterídeos. Resultados semelhantes foram encontrados para metodologias similares de LG e para diferentes espécies (Foster, 1977; Light et al., 1983; Brosse et al., 2002; Hakala & Johnson, 2004; Wanner, 2006; Shuman & Peters, 2007).

Nos experimentos de *G. brasiliensis*, houve um caso de mortalidade em que ficou evidente que a causa da morte foi devido à técnica de lavagem estomacal. Neste caso a bexiga natatória do animal foi evertida durante a lavagem. Outros seis animais do grupo controle não recuperaram do anestésico, sendo que cinco deles proviam de um mesmo aquário em que o aquecedor estragou, estando então a uma temperatura muito abaixo do ajustado nos outros aquários (25°C). Cinco indivíduos do grupo controle tiveram óbito após serem anestesiados.

Apesar de *G. brasiliensis* não ter apresentado diferença significativa entre o grupo tratamento e o grupo controle, para essa espécie houve uma mortalidade inerente ao estresse experimental. Indivíduos da família Cichlidae são reconhecidamente agressivos (Ros et al., 2006; Brooks & Jordan, 2010; Kadry & Barreto, 2010) e esse fato, possivelmente, foi responsável pela mortalidade de 18,8% dos indivíduos durante os experimentos. Durante o período de aclimação, assim como no período subsequente à lavagem estomacal, foi observado que indivíduos maiores realizavam

frequentemente investidas aos outros peixes, causando lesões às nadadeiras e a lateral do corpo. Adicionalmente, indivíduos menores eram impedidos de se alimentar. Em função do comportamento agressivo e subsequente mortalidade de alguns indivíduos ter ocorrido igualmente nos aquários controles e tratamentos (ver figura 3, no qual após oito dias ainda houve mortes tanto no grupo tratamento quanto no grupo controle), esse comportamento não veio a interferir nos resultados encontrados. Para amenizar esse problema, experimentos com essa espécie devem utilizar ambientes mais complexos e/ou enriquecidos, o que leva a uma coabitação sem lutas (Kadry & Barreto, 2010). O mesmo problema ocorreu na tentativa de realizar o mesmo experimento de sobrevivência à LG com espécies do gênero *Astyanax* (Characiformes). Foram realizadas duas coletas, totalizando aproximadamente 40 indivíduos, mas a agressividade desta espécie impossibilitou a manutenção destas em aquários (Cruz, 2002).

Também é importante ressaltar o fato de que manter animais selvagens em aquários acarreta em aumento do nível de estresse dos animais por estes estarem em um ambiente com diferente luminosidade, sons, temperatura e substrato (Morgan & Tromborg, 2007). Esses fatores podem ter contribuído para taxas mais elevadas de mortalidade (Hakala & Johnson, 2004). Por outro lado, o fato de *R. quelen* ter sido obtido de criadouros, portanto habituados a conviverem em altas densidades, e a ausência de interações agonísticas durante a realização dos experimentos pode ter contribuído para a sobrevivência desta espécie nos aquários.

Quando analisamos a eficiência do método em remover o conteúdo alimentar ingerido é possível observar que para *P. pappenheimi*, a técnica de LG se mostrou eficiente. Testes com outras espécies de Siluriformes também se mostraram eficientes, removendo aproximadamente 95 % dos itens ingeridos (Waters et al., 2004). Um fator

potencialmente responsável por esta eficácia é a morfologia da espécie. O fato de possuir uma ampla cavidade bucal e esofágica (de forma linear e curta) facilita a inserção da canícula e a simultânea saída do conteúdo. Além disso, a região ventral dessa espécie, por não conter estruturas ósseas (placas) na região do estômago, permite que o momento em que a canícula atinge a cavidade estomacal seja facilmente identificado com os dedos, conseqüentemente também é perceptível a presença de itens alimentares de maior porte.

Diferentemente, *G. brasiliensis* apresentou um baixo percentual de remoção do conteúdo ingerido. Diversos fatores devem ter influenciado esse resultado, como, por exemplo, a sua pequena cavidade oral que dificultou a saída do material. Além disso, ao analisar o trato digestório foi possível perceber que o estômago dessa espécie é proporcionalmente reduzido quando comparado com sua cavidade celomática e a porção intestinal do trato digestório. Ficou evidente que em muitos dos casos a canícula atingiu a porção intestinal dos animais, forçando a saída de itens pelo orifício anal e não pela cavidade oral. Outra característica morfológica que é plausível de ter influenciado a saída do alimento é a presença de dentes faringeanos, como observado por Petridis & O'Hara (1988).

Considerando a sobrevivência de indivíduos de pequeno porte de *R. quelen* (< 80 mm) e a eficiência em extrair o conteúdo ingerido por *P. pappenheimi*, esta metodologia pode e deve ser utilizada para estudos de espécies como, por exemplo, *Rhamdiopsis moreirai* Haseman, 1911. Esta é uma espécie também de pequeno porte (Ct Máx = 117 mm; Froese & Pauly, 2011) de biologia ainda desconhecida, além de ser considerada rara e constar como vulnerável no livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná (Mikich & Bérnils, 2004; Vitule & Abilhoa, 2009). Na lista brasileira de peixes ameaçados (Rosa & Lima et al., 2008) estão presentes 10 espécies da família

Trichomycteridae, seis Heptapteridae e cinco Pimelodidae que podem potencialmente ser beneficiadas da aplicação dessa técnica.

Apesar da baixa eficácia para *G. brasiliensis*, a metodologia de LG utilizada se mostrou promissora para aplicação em espécies de pequeno porte da região neotropical. Os equipamentos necessários tiveram um custo aproximado inferior a R\$ 80,00. Seus componentes podem ser adquiridos em farmácias, lojas de equipamentos hospitalares e de aquários. Sua construção é bastante simples e permite o fácil transporte para locais de coleta, mesmo quando esses são de difícil acesso, fato que parece ser bastante restritivo para as metodologias propostas por Foster (1977), Culp et al. (1988) e Light et al. (1983). Duas pessoas são suficientes para realizar todo o procedimento em aproximadamente 3 minutos por exemplar. E, por último, possui baixo índice de mortalidade e considerável eficiência para determinadas espécies, devendo ainda ser testada e aprimorada. Algumas outras vantagens são importantes de serem destacadas. Ao contrário das técnicas que utilizam bombas elétricas, com a utilização da seringa é possível interromper o fluxo de água quando algum item de maior tamanho obstruir a saída de água, preservando assim a vida do animal. É também facilmente adaptável para indivíduos de diferentes tamanhos, pois a troca por cânulas de diâmetros maiores é simples de ser feita. Entretanto, algumas dificuldades encontradas deverão ter atenção especial, quando da utilização da LG. Devido ao estresse de coleta e manipulação, os peixes ao serem colocados em uma caixa para posterior realização da LG, regurgitaram parte do alimento ingerido. Se para um determinado estudo específico, por exemplo, de variação ontogenética na dieta de uma espécie (e.g. Vitule & Aranha, 2002), são necessárias informações de cada indivíduo separadamente, esse regurgito acidental pode afetar seriamente os resultados. Uma possível solução é a imediata realização da LG após a coleta, ou o acondicionamento separado dos animais. Durante a LG também se

deve ter grande cuidado para evitar perda e contaminação do material alimentar coletado (Petridis & O'Hara, 1988). Em alguns casos também é possível que a própria canícula empurre itens presentes no estômago para a porção intestinal do trato digestório.

A utilização do óleo de cravo como anestésico se mostrou muito satisfatória. Para *P. pappenheimi* e *R. quelen* a utilização de 10 ml de óleo de cravo por litro de água foi a mais próxima do ideal (Marking & Meyer, 1985). Já para *G. brasiliensis* a concentração ideal está mais próxima de 0,1 ml de óleo de cravo por litro de água. Ficou evidente que há uma alta variação interespecífica e baixa variação intraespecífica nos tempos de indução do anestésico, o que demonstra que também há necessidade de testes para cada estudo específico (Hoskonen & Pirhonen, 2004; Cunha & Rosa, 2006; Perdikaris et al., 2010). Também foi constatado que com o aumento da concentração há uma diminuição do tempo de indução e um aumento do tempo de recuperação, corroborando o resultado de diversos autores (Durville & Collet, 2001; Woody et al., 2002; Hoskonen & Pirhonen, 2004; Cunha & Rosa, 2006; Perdikaris et al., 2010).

Foi evidente também que para as espécies testadas não há relação do tamanho com o tempo de indução do anestésico, apesar de resultados inversos já terem sido encontrados para *R. quelen* (Gomes et al., 2011). Apesar desta diferença, os mesmos autores (Gomes et al., 2011) afirmaram haver uma considerável variação dentro de uma mesma espécie. Ao que é demonstrado por diversos estudos, ainda é incerta a existência de um efeito direto e unidirecional do tamanho do corpo com o tempo de indução de anestesia pelo óleo de cravo (Durville & Collet, 2001; Woody et al., 2002; Hoskonen & Pirhonen, 2004; Cunha & Rosa, 2006; Perdikaris et al., 2010; Gomes et al., 2011).

Outro fator interessante e importante de ser testado é a relação entre o efeito do anestésico e a temperatura da água. Ao submeter indivíduos de *G. brasiliensis* que

estavam acondicionados em aquários sem aquecimento, a concentração utilizada (10 ml de óleo de cravo por litro) foi letal para todos os indivíduos. Apesar de já ter sido constatada uma diferença na eficiência deste anestésico com a variação da temperatura da água (Endo et al., 1972; Hoskonen & Pirhonen, 2004), ainda é necessário um melhor entendimento dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos. Hoskonen & Pirhonen (2004) atribuíram este efeito dependente da temperatura a dependência térmica da taxa metabólica. Portanto esta relação e suas implicações devem ser analisadas cautelosamente (Cunha & Rosa, 2006).

5. CONCLUSÃO

Ficou constatada uma grande lacuna a ser preenchida por ictiólogos da região neotropical com relação às técnicas empregadas nos estudos de ecologia alimentar de peixes. Para pesquisadores que visam conservar e preservar as espécies alvo de seus estudos é imprescindível que esses façam a sua parte também durante seus trabalhos, pois utilizar a pesquisa para justificar o sacrifício de um grande número de animais não pode ser mais aceitável.

A utilização da LG associada à utilização do óleo de cravo como anestésico, como descrito neste trabalho, é uma técnica bastante promissora como alternativa para estudos de espécies e/ou populações de peixes de riachos neotropicais, notoriamente para espécies ou populações raras e que se apresentam sob ameaça. Entretanto testes específicos para cada caso devem ser conduzidos com espécies similares, visto que existe uma ampla gama de fatores a serem considerados (*e.g.* morfologia, natureza dos itens ingeridos, tamanho dos itens ingeridos, tamanho da espécie).

Especial atenção deve ser dada para revelar e entender a biodiversidade existente no mundo, especialmente em regiões em desenvolvimento econômico com grande

riqueza biológica como a região neotropical. O prazo para esse conhecimento está se esgotando uma vez que os seres humanos já excederam os limites aceitáveis de perda de biodiversidade (Rockström, 2009).

O presente estudo não possui a intenção de esgotar o tema abordado. Espera-se que este sirva de estímulo e incentivo para novas pesquisas e formas de abordagem inovadoras sobre um tema importante, porém pouco explorado na região neotropical.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas do GPIc e Lec, principalmente ao Hugo Bornatowski, Suellen Vasconcelos e a Vanessa Ribeiro pela ajuda durante os experimentos e triagem do material, e ao Marcos Ostrowski Valduga pela ajuda durante o projeto. Agradeço também à bolsa concedida pelo programa REUNI e ao financiamento do projeto concedido pelo CNPq.

REFERÊNCIAS

- Abelha, M.C.F. & E. Goulart, 2004. Oportunismo trófico de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824)(Osteichthyes, Cichlidae) no reservatório de Capivari, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 26: 37-45.
- Abilhoa, V., R. R. Braga, H. Bornatowski & J. R. S. Vitule, 2011. Fishes of the Atlantic Rain Forest streams: ecological patterns and conservation. In Grillo, O. & G. Venora (eds), *Changing Diversity in Changing Environment*. InTech, Rijeka: 259-282.
- Agostinho, A. A., S. M. Thomaz & L. C. Gomes, 2005. Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. *Conservation Biology* 19: 646-652.
- Anastasopoulou, A. & K. Kaporis, 2008. Feeding ecology of the shortnose greeneye *Chlorophthalmus agassizi* Bonaparte, 1840 (Pisces: Chlorophthalmidae) in the eastern Ionian Sea (eastern Mediterranean). *Journal of Applied Ichthyology* 24: 170-179.
- Aranha, J. M. R., D. F. Takeuti & T. M. Yoshimura, 1998. Habitat use and food partitioning of fishes in a coastal stream of the Atlantic Forest, Brazil. *Revista de Biología Tropical* 46: 951-959.
- Arrington, D.A., K. O. Winemiller, W. F. Loftus & S. Akin, 2002. How often do fishes "run on empty". *Ecology* 83: 2145-2151.
- Baker, A. M. & D. F. Fraser, 1976. A method for securing the gut contents of small live fish. *Transactions of the American Fisheries Society* 105: 520-522.
- Barcellos, L. J. G., L. C. Kreutz, R. M. Quevedo, J. G. S. Rosa, G. Koakoski, L. Centenaro & E. Pottker, 2009. Influence of color background and shelter availability on jundiá (*Rhamdia quelen*) stress response. *Aquaculture* 288: 51-56.
- Barnett, A., K. S. Redd, S. D. Frusher, J. D. Stevens & J. M. Semmens, 2010. Non-lethal method to obtain stomach samples from a large marine predator and the use of DNA analysis to improve dietary information. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 393: 188-192.
- Baxter, C. V., K. D. Fausch, M. Murakami & P. L. Chapman, 2004. Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. *Ecology* 85: 2656-2663.
- Baxter, C. V., K. D. Fausch, M. Murakami & P. L. Chapman, 2007. Invading trout usurp a terrestrial prey subsidy from native charr and reduce their growth and abundance. *Oecologia* 153: 461-470.

- Beukers-Stewart, B. D. & G. P. Jones, 2004. The influence of prey abundance on the feeding ecology of two piscivorous species of coral reef fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 299: 155-184.
- Bockman, F. A. & G. Guazzelli, 2003. Family Heptapteridae. In: Reis, R. E., S. O. Kullander & C. J. Ferraris-Jr (eds), Check list of the Freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre: 406-431.
- Brazil-Souza, C., R. M. Marques & M. P. Albrecht, 2009. Segregação alimentar entre duas espécies de Heptapteridae no Rio Macaé, RJ. *Biota Neotropica* 9: 31-37.
- Brooks, W. R. & R. C. Jordan, 2010. Enhanced interspecific territoriality and the invasion success of the spotted tilapia (*Tilapia mariae*) in South Florida. *Biological Invasions* 12: 865-874.
- Brosse, L., P. Dumont, M. Lepage & E. Rochard, 2002. Evaluation of a gastric lavage method for sturgeons. *North American Journal of Fisheries Management* 22: 955-960.
- Cailliet, G. M., M. S. Love & A. W. Ebeling, 1996. *Fishes: A field and laboratory manual on their structure, identification and natural history*. Waveland, Long Grove.
- Castro, A. L. C., A. F. Diniz, I. Z. Martins, A. L. Vendel, T. P. R. Oliveira & I. M. L. Rosa, 2008. Assessing diet composition of seahorses in the wild using a non destructive method: *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) as a study-case. *Neotropical Ichthyology* 6: 637-644.
- Cecílio, E. B., M. F. Castilho, O. A. Shibatta, F. X. V. Domingos & G. M. Santos, 2011. Ética na ciência. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia* 102: 5-7.
- Cole, A. J., 2010. Cleaning to corallivory: ontogenetic shifts in feeding ecology of tubelip wrasse. *Coral Reefs* 29: 125-129.
- Crossman, E. J. & J. G. Hamilton, 1978. An apparatus for sampling gut contents from large, living fishes. *Environmental Biology of Fishes* 3: 297-300.
- Cruz, A. L., 2002. Sub-lethal concentrations of monocrotophos affect aggressive behavior of the fishes *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus)(Teleostei, Cichlidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 19: 1131-1138.
- Culp, J. M., I. Boyd & N. E. Glozier, 1988. An improved method for obtaining gut contents from small live fishes by anal and stomach flushing. *Copeia*, 1988: 1079-1082.

- Cunha, F. E. A. & I. L. Rosa, 2006. Anaesthetic effects of clove oil on seven species of tropical reef teleosts. *Journal of Fish Biology* 69: 1504-1512.
- Cunha, M. A., C. C. Zeppenfeld, L. O. Garcia, V. L. Loro, M. B. Fonseca, T. Emanuelli, A. P. L. Veeck, C. E. Copatti & B. Baldisserotto, 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciência Rural* 40: 2107-2114.
- Dubets, H., 1954. Feeding habits of the largemouthbass as revealed by a gastroscope. *Progressive Fish-Culturist* 16: 134-136.
- Durville, P. & A. Collet, 2001. Clove oil used as an anaesthetic with juvenile tropical marine fish. *SPC Live Reef Fish Information Bulletin* 9: 17-19.
- Endo, T., K. Ogishima, H. Tanaka & S. Ohshima, 1972. Studies on the anaesthetic effect of eugenol in some freshwater fishes. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 38: 761-767.
- Foster, J. R., 1977. Pulsed gastric lavage: An efficient method of removing the stomach contents of live fish. *Progressive Fish-Culturist* 39: 166-169.
- Froese, R. & D. Pauly, 2011. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, versão (02/2011).
- Giles, N., 1980. A stomach sampler for use on live fish. *Journal of Fish Biology* 16: 441-444.
- Gomes, D. P., B. W. Chaves, A. G. Becker & B. Baldisserotto, 2011. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture Research* 42: 878-886.
- Gomiero, L. M., U. P. Souza & F. M. S. Braga, 2007. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. *Biota Neotropica* 7: 127-133.
- Graça, W. J. & C. S. Pavanelli, 2007. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. EDUEM, Maringá.
- Grohs, K. L., R. A. Klumb, S. R. Chipps & G. A. Wanner, 2009. Ontogenetic patterns in prey use by pallid sturgeon in the Missouri River, South Dakota and Nebraska. *Journal of Applied Ichthyology* 25: 48-53.
- Hakala, J. P. & F. D. Johnson, 2004. Evaluation of a gastric lavage method for use on largemouth bass. *North American Journal of Fisheries Management* 24: 1398-1403.

- Haley, N., 1998. A gastric lavage technique for characterizing diets of Sturgeons. *North American Journal of Fisheries Management* 18: 978-981.
- Hammer, Ø., D. T. Harper & P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. Acesso 1 de Agosto de 2011.
- Hartleb, C. F. & J. R. Moring, 1995. An improved gastric lavage device for removing stomach contents from live fish. *Fisheries Research* 24: 261-265.
- Hoskonen, P. & J. Pirhonen, 2004. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. *Journal of Fish Biology* 64: 1136-1142.
- Hyslop, E. J., 1980. Stomach contents analysis – a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology* 17: 411-429.
- IUCN, 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Versão 2011.1. <http://www.iucnredlist.org>. Acesso 13 de Julho de 2011.
- Iversen, M., B. Finstad, R. S. McKinley & R. A. Eliassen, 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture* 221: 549-566.
- Jackson, J. B. C., M. X. Kirby, W. H. Berger, K. A. Bjorndal, L. W. Botsford, B. J. Bourque, R. H. Bradbury, R. Cooke, J. Erlandson, J. A. Estes, T. P. Hughes, S. Kidwell, C. B. Lange, H. S. Lenihan, J. M. Pandolfi, C. H. Peterson, R. S. Steneck, M. J. Tegner & R. R. Warner, 2001. Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science* 293: 629-638.
- Jernejcic, F., 1969. Use of emetics to collect stomach contents of Walleye and Largemouth Bass. *Transactions of the American Fisheries Society* 98: 698-702.
- Kadry, V. O. & R. E. Barreto, 2010. Environmental enrichment reduces aggression of pearl cichlid, *Geophagus brasiliensis*, during resident-intruder interactions. *Neotropical Ichthyology* 8: 329-332.
- Kamler, J. F. & K. L. Pope, 2001. Nonlethal methods of examining fish stomach contents. *Reviews in Fisheries Science* 9: 1-11.
- Kullander, S. O., 2003. Family Cichliae. In Reis, R. E., S. O. Kullander & C. J. Ferraris-Jr. (eds) Check list of the Freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre: 605-654.
- Kuthalingham, M. D. K., 1961. Observations on the life history and feeding habits of a plankton-feeder, the Rainbow Sardine (*Dussumieria acuta*) with a note on the

method of securing stomach contents of live fish. *Journal of the Zoological Society of India* 13: 24-33.

- Kütter, M. T., M. A. Bemvenuti & A. Moresco, 2009. Feeding strategy of the jundiá *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) in costal lagoons of southern Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 31: 41-47.
- Light, R. W., P. H. Adler & D. E. Arnold, 1983. Evaluation of gastric lavage for stomach analyses. *North American Journal of Fisheries Management* 3: 81-85.
- Lowe-McConnell, R. H., 1999. *Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais*. Edusp, São Paulo.
- Marking, L. L. & F. P. Meyer, 1985. Are better anaesthetics needed in fisheries? *Fisheries* 10: 2-5.
- Mazzoni, R. & L. D. S. Costa, 2007. Feeding ecology of stream-dwelling fishes from coastal streams in the southeast of Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50: 627-635.
- Meehan, W. R. & R. A. Miller, 1978. Stomach flushing: Effectiveness and influence on survival and condition of Juveniles Salmonids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35: 1359-1363.
- Meho, L. I. & K. Yang, 2007. Impact of data sources on citation counts and ranking of LIS faculty: Web of Science versus Scopus and Google Scholar. *Journal of the American Society for Information Science and Technology* 58: 2105-2125.
- Menezes, N. A., S. H. Weitzman, O. T. Oyakawa, F. C. T. Lima, R. M. C. Castro & M. J. Weitzman, 2007. *Peixes de água doce da Mata Atlântica*. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Mikich, S. B. & R. S. Bérnils, 2004. Livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná. Disponível em: <http://www.pr.gov.br/iap> Acessado em 19/12/11.
- Morgan, K. N. & C. T. Tromborg, 2007. Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science* 102: 262-302.
- Morton, J. K., M. E. Platell & W. Gladstone, 2008. Differences in feeding ecology among three co-occurring species of wrasse (Teleostei: Labridae) on rocky reefs of temperate Australia. *Marine Biology* 154: 577-592.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. Fonseca & J. Kent, 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.

- Myers, R. A., J. K. Baum, T. D. Shepherd, S. P. Powers & C. H. Peterson, 2007. Cascading Effects of the Loss of Apex Predatory Sharks from a Coastal Ocean. *Science* 315: 1846-1850.
- Northrop, R. B., 1967. Electrofishing. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 14: 191-200.
- Olden, J. D., M. J. Kennard, F. Leprieur, P. A. Tedesco, K. O. Winemiller & E. García-Berthou, 2010. Conservation biogeography of freshwater fishes: recent progress and future challenges. *Diversity and Distributions* 16: 496-513.
- Perdikaris, C., C. Nathanailides, E. Gouva, U. U. Gabriel, K. Bitchava, F. Athanasopoulou, A. Paschou & I. Paschos, 2010. Size-relative effectiveness of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). *Acta Veterinaria Brno* 79: 481-490.
- Petridis, D. & K. O'Hara, 1988. Assessment of diet in two cyprinids using a modified stomach-flushing technique. *Aquaculture and Fisheries Management* 19: 63-68.
- Quist, M. C., C. S. Guy & R. J. Bernot, 2002. Efficiency of removing food items from Walleyes using acrylic tubes. *Journal of Freshwater Ecology* 17: 179-184.
- Raymundo, M. M., & J. R. Goldim, 2003. Diretrizes para a utilização de animais em experimentos científicos. Disponível em <http://www.ufrgs.br/bioetica/anindir.htm>. Acessado em 17/11/2011.
- Robertson, O., 1945. A method for securing stomach contents of live fish. *Ecology* 26: 95-96.
- Rockström, J., W. Steffen, K. Noone, Å. Persson, F. S. Chapin III, E. F. Lambin, T. M. Lenton, M. Scheffer, C. Folke, H. J. Schellnhuber, B. Nykvist, C. A. Wit, T. Hughes, S. van der Leeuw, H. Rodhe, S. Sörlin, P. K. Snyder, R. Costanza, U. Svedin, M. Falkenmark, L. Karlberg, R. W. Corell, V. J. Fabry, J. Hansen, B. Walker, D. Liverman, K. Richardson, P. Crutzen & J. A. Foley, 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* 461: 472-475.
- Ros, A. F. H, K. Becker & R. F. Oliveira, 2006. Aggressive behavior and energy metabolism in a cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*. *Physiology & Behavior* 89: 164-170.
- Rosa, R. S. & F. C. T. Lima, 2008. Peixes. In Machado, A. B. M., G. M. Drummond & A. P. Paglia (eds), Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Ministério do Meio Ambiente, Brasília: 8-287.

- Seaburg, K. G., 1957. A stomach sampler for live fish. *The Progressive Fish-Culturist* 19: 137-139.
- Shuman, D. A. & E. J. Peters, 2007. Evaluation of pulsed gastric lavage on the survival of captive shovelnose sturgeon. *Journal of Applied Ichthyology* 23: 521-524.
- Simões, L. N., D. C. Lombardi, A. T. M. Gomide & L. C. Gomes, 2011. Efficacy of clove oil as anesthetic in handling and transportation of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) juveniles. *Zoologia* 28: 285-290.
- Soto, C. G., & Burhanuddin, 1995. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture* 136: 149-152.
- Sprague, C. R., L. G. Beckham & S. D. Duke, 1993. Prey selection of juveniles white sturgeon in reservoirs of the Columbia River. In Beamesderfer, R. C. & A. A. Nigro (eds) Status and habitat requirements of the white sturgeon populations in the Columbia River downstream from McNary Dam. Final Report of Oregon Department of Fish and Wildlife to Bonneville Power Administration, Portland: 229-243.
- Strange, C. D. & G. J. Kennedy, 1981. Stomach flushing of salmonids: a simple and effective technique for removal of the stomach contents. *Fisheries Management* 12: 9-15.
- Van Den Avyle, M. J. & J. E. Roussel, 1980. Evaluation of a simple method for removing food items from live black bass. *The Progressive Fish-Culturist* 42: 222-223.
- Vignon, M. & J. Dierking, 2011. Prey regurgitation and stomach vacuity among groupers and snappers. *Environmental Biology of Fishes* 90: 361-366.
- Vitule, J. R. S., C. A. Freire & D. Simberloff, 2009. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. *Fish and Fisheries* 10: 98-108.
- Vitule, J. R. S. & J. M. R. Aranha, 2002. Feeding ecology of the “lambari”, *Deuterodon langei* Travassos, 1957 (Characidae, Tetragonopterinae), of different sizes on the Atlantic Forest stream, Paraná (Brazil). *Acta Biológica Paranaense* 31: 137-150.
- Vitule, J. R. S. & V. Abilhoa, 2009. Plano de Conservação para Peixes de Água Doce da Planície Litorânea. In Vidolin, G. P., M. G. P. Tossulino & M. M. Britto (eds) Plano de Conservação para Espécies da Ictiofauna ameaçada do Paraná, 1 ed. IAP - Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba: 13-26.
- Wales, J. H., 1962. Forceps for removal of trout stomach content. *Progressive Fish Culturist* 24: 171.

- Wanner, G. A., 2006. Evaluation of a gastric lavage method on juvenile Pallid Sturgeon. North American Journal of Fisheries Management 26: 587-591.
- Wasowicz, A. & R. A. Valdez, 1994. A nonlethal technique to recover gut contents of Roundtail Chub. North American Journal of Fisheries Management 14: 656-658.
- Waters, D. S., T. J. Kwak, J. B. Arnott & W. E. Pine III, 2004. Evaluation of Stomach Tubes and Gastric Lavage for Sampling Diets from Blue Catfish and Flathead Catfish. North American Journal of Fisheries Management 24: 258-261.
- White, H. C., 1930. Some observations on the eastern brook trout (*Salvinus fontinalis*) of Prince Edward Island. Transactions of the American Fisheries Society 60: 101-108.
- Whittamore, J. M., C. Bloomer, G. M. Hanna & I. D. McCarthy, 2010. Evaluating ultrasonography as a non-lethal method for the assessment of maturity in oviparous elasmobranchs. Marine Biology 157: 2613-2624.
- Woody, C. A., J. Nelson & K. Ramstad, 2002. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. Journal of Fish Biology 60: 340-347.