



## AVANÇOS EM MÉTODOS DE COLETA DE PEIXES E CARACTERIZAÇÃO DE HABITAT DE RIACHOS TROPICAIS

Carlos Bernardo Mascarenhas Alves<sup>1\*</sup>, Paulo Santos Pompeu<sup>2</sup>, Rosana Mazzoni<sup>3</sup> & Marcelo Fulgêncio Guedes Brito<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Projeto Manuelzão, Universidade Administrativa III, Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras, Instituto de Ciências Naturais, Departamento de Ecologia e Conservação, Campus Universitário, CEP 37200-900, Lavras, MG, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Rua São Francisco Xavier, 524, CEP 20550-013, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade Federal de Sergipe, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia, Laboratório de Ictiologia, Av. Marechal Rondon S/N, CEP 49100-000, São Cristóvão, SE, Brasil.

E-mails: cbmalves@ufmg.br (\*autor correspondente); pompeu@ufla.br; mazzoni@uerj.br; marcelictio@gmail.com.

---

**Resumo:** O presente estudo mostra os avanços obtidos na coleta de peixes e caracterização ambiental de riachos. Desde a publicação em 1999 do volume VI “Ecologia de Peixes de Riachos”, da então denominada *Oecologia Brasiliensis*, hoje *Oecologia Australis*, vários progressos ocorreram. Diversos métodos de coleta de peixes propriamente ditos, permaneceram os mesmos. Porém, em relação ao uso da pesca elétrica, coleta de ovos e larvas de peixes, e caracterização de habitat físicos em riachos, houve notável desenvolvimento e aperfeiçoamento. O objetivo deste artigo é apresentar o “estado da arte” destes aspectos da amostragem de peixes e habitat em riachos. Métodos de preparo de amostras para análises genéticas, isótopos estáveis e metais pesados são apresentados resumidamente ao final.

**Palavras-chave:** ictioplâncton; integridade biótica; pesca elétrica; preparo de amostras biológicas; suficiência amostral.

### ADVANCES IN METHODS FOR FISH SAMPLING AND HABITAT ASSESSMENT IN TROPICAL STREAMS:

This paper brings some advances in fish data sampling and stream environments. Since the publication in 1999 of volume VI “Ecology of Stream Fishes” in the former *Oecologia Brasiliensis* journal, today *Oecologia Australis*, many progresses have occurred. Several methods of collecting fish themselves, have remained the same. However, in relation to the use of electric fishing, collection of eggs and fish larvae, and characterization of physical habitats in streams, there was remarkable development and improvement. The purpose of this article is to present the “state of the art” of these three aspects of sampling fish and habitats in streams. By the end, preparation methods of samples for genetic, stable isotopes and heavy metal analyses are briefly presented.

**Keywords:** biological samples preparation; biotic integrity; electrofishing; ictioplankton; sampling sufficiency.

---

## INTRODUÇÃO

Como em qualquer outra área das Ciências Naturais, amostragens em ambientes de água doce de pequeno porte representam um desafio para a caracterização de sua biota, incluindo os peixes. Apesar de abrigar alta diversidade de espécies (Buckup 2021), riachos tropicais estão entre os ecossistemas mais ameaçados do mundo (Dudgeon *et al.* 2006), e ainda são menos estudados que riachos temperados (Winemiller *et al.* 2008). A diversidade de ambientes aos quais nos referimos como “riachos” impõe cuidados para que sejam adequadamente amostrados. Eles podem ser de altitude, ao nível do mar, dentro de matas fechadas ou ambientes abertos, em diferentes biomas e latitudes, perenes ou intermitentes. Neste volume especial são abordados diversos tipos de ambientes específicos, como por exemplo, riachos de caverna (Bichuette 2021), intermitentes (Terra *et al.* 2021), urbanos (Marques & Cunico, 2021), ou numa abordagem macroecológica (Dias *et al.* 2021).

A pesquisa em biologia de peixes pode ser genericamente definida como “um processo sistemático e ordenado pelo qual novos conhecimentos ou informações são obtidos de acordo com os objetivos especificados” (Waters & Erman 1990). Como toda área de pesquisa, o planejamento antecede qualquer outra atividade, principalmente antes de efetivamente ir ao campo para a coleta das informações. Esse planejamento deve envolver justificativas bem claras para sua execução, com a definição de perguntas a serem respondidas e hipóteses a serem testadas (Willis & Murphy 1996), e que definirão o desenho amostral (*e.g.*, número e distribuição espacial de pontos amostrais e frequência amostral), que deve ser estatisticamente robusto.

A padronização de amostragens é a maneira de permitir comparações (Bonar *et al.* 2009). A utilização de métodos facilmente replicáveis por profissionais e estudantes permite comparações espaciais e temporais, que são fundamentais para a avaliação da qualidade ambiental, conservação e manejo desses ambientes. Seguindo o método científico (Trujillo 1974, Galliano 1979), algumas etapas devem ser previamente cumpridas. Basicamente, parte-se de uma pergunta inicial a ser investigada, em seguida faz-se uma prospecção

sobre o “estado da arte” do conhecimento sobre o tema. Nessa fase, o pesquisador e/ou estudante podem dimensionar o nível de informação existente e formar a base conceitual para responder aquela pergunta. De posse da pergunta e das informações disponíveis, são elaboradas as hipóteses que nortearão o estudo e previsões do que se espera como resultados. Seguem-se, então, as etapas de coleta de dados em campo, processamento de material em laboratório, análises estatísticas, interpretação e discussão dos resultados obtidos e as conclusões.

Entre as diversas abordagens no estudo da ictiofauna de riachos, é possível planejar atividades em diferentes escalas, partindo da autoecologia e estudos populacionais de uma espécie, até a ecologia de comunidades e ecossistemas. Medidas de estrutura de comunidades, por exemplo, servem para avaliar comparativamente a saúde do ambiente, tanto na escala espacial quanto temporal. Mais recentemente, os índices tradicionais como riqueza de espécies, diversidade, equitabilidade, similaridade (Leal *et al.* 2014) têm sido complementados por índices multimétricos como o Índice de Integridade Biótica (em inglês *Index of Biotic Integrity* – IBI) proposto por (Karr 1981), posteriormente desenvolvido por Peck *et al.* (2006) e adotado pela Agência Ambiental Americana (US-EPA) para aplicação em todo o território americano. Hoje esse protocolo da US-EPA encontra-se integralmente traduzido, adaptado e validado para as condições tropicais (Callisto *et al.* 2014), assim como o primeiro índice proposto por Karr (1981) (Jaramillo-Villa & Caramaschi 2008). Além de todos os formulários de campo para a caracterização do habitat físico em riachos (Callisto *et al.* 2014), toda a metodologia de planejamento e realização de amostragens é apresentada na mesma obra (Macedo *et al.* 2014). Aplicações do IBI foram recentemente publicados para riachos de cerrado (De Carvalho *et al.* 2017), Mata Atlântica (Ferreira & Casatti 2006), caatinga (Santos & Caiola 2020), e igarapés da Amazônia (Chen *et al.* 2017, Prudente *et al.* 2018), por exemplo. No presente volume, Casatti & Ortigossa (2021) revisam o tema.

Nas amostragens com esforço padronizado é possível gerar o cálculo de métricas ou mesmo CPUE (Captura por Unidade de Esforço). Além das

amostragens quantitativas, cuja padronização e possibilidade de replicação permitem análises e testes estatísticos com base em médias, variâncias, desvios e erros padrões, as amostragens qualitativas também são importantes. Este tipo de amostragem ativa permite escolher e explorar biótopos específicos no ambiente, resultando em um maior número de espécies coletadas em trabalhos de inventário. Dessa forma, temos a captura expressiva de espécies de pequeno porte, enriquecendo significativamente a biodiversidade. Em levantamentos de biodiversidade e trabalhos de sistemática/taxonomia como inventários, *surveys* e Avaliações Rápidas (RAP – *Rapid Assessment Protocols*) (Birindelli *et al.* 2016) a coleta não padronizada (qualitativa) tem foco em uma espécie, grupo de espécies ou ambiente específico.

O objetivo deste artigo é apresentar os avanços em métodos de amostragem da ictiofauna de riachos, ressaltando que a maioria dos métodos de coleta já estão descritos em Uieda & Castro (1999). Nesta obra, da então série *Oecologia Brasiliensis*, foram abordadas técnicas de captura ativa e passiva, equipamentos utilizados, métodos de fixação, avaliação dos ambientes, observação visual, e até o uso de ictiotóxicos (timbó, rotenona) atualmente proibidos no Brasil pela Lei de Crimes Ambientais (Brasil 1998). Devido aos avanços, tanto de técnicas quanto de textos regulatórios para pesquisas em sistemas naturais, apresentamos neste trabalho uma ampliação do conteúdo apresentado em Uieda & Castro (1999) de modo a atender às demandas atuais para esse tipo de estudo. Pretende-se, assim, complementar o trabalho acima mencionado com informações mais recentes não abordadas àquela época.

## ASPECTOS METODOLÓGICOS

### *Caracterização do habitat físico*

Riachos podem ser compreendidos a partir de diversas escalas espaciais, contemplando desde sua bacia hidrográfica, onde predominam a influência do clima, a geologia e a topografia, até escalas mais finas, de habitat (*e.g.*, corredeiras e remansos) e micro-habitat (*e.g.*, tipos de substrato, presença de matéria orgânica) (Frissel *et al.* 1986, Allan *et al.* 1997, Poff 1997). Tais componentes são interligados, já que os habitats físicos e

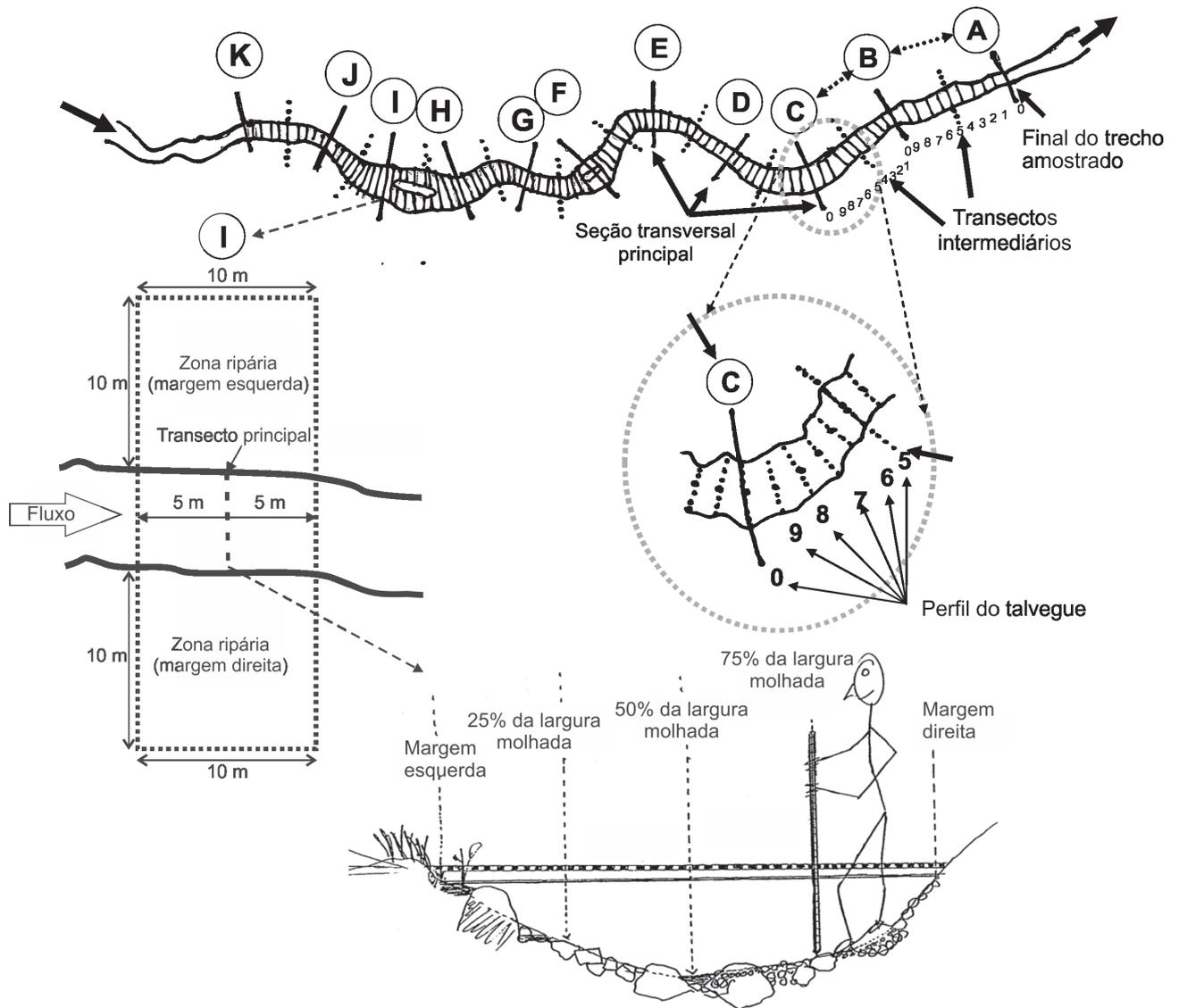
características químicas locais são determinados por processos em larga escala, como mudanças no uso do solo (Leal *et al.* 2016).

Uma vez que cada espécie possui um conjunto específico de atributos ecológicos e biológicos (*traits*) que a capacitam para adaptar-se e resistir a filtros de habitat (Leal *et al.* 2018), padrões de distribuição estão ligados às condições dos habitat locais (Townsend & Hildrew 1994, Poff 1997, Leal *et al.* 2011). Assim, identificar atributos das espécies associados a características do habitat aumenta a capacidade de previsão de como as distribuições de espécies são reguladas em toda a paisagem (Castro *et al.* 2018).

Nesse sentido, uma série de protocolos vem sendo aplicados no Brasil para caracterizar o ambiente físico de riachos (*e.g.*, Roth *et al.* 1996, Barbour *et al.* 1999, Hall *et al.* 1999, Callisto *et al.* 2002). Um deles em especial, descrito por Kaufmann *et al.* (1999) e por Peck *et al.* (2006), é aqui apresentado brevemente de forma a exemplificar metodologias e aspectos da estrutura física de riachos relevantes para estudos ecológicos. Esse protocolo vem sendo aplicado em diferentes biomas brasileiros, incluindo o Cerrado (Macedo *et al.* 2014, De Carvalho *et al.* 2017), a Mata Atlântica (Mazzoni *et al.* 2011, Terra *et al.* 2013b, 2016) e a Amazônia (Juen *et al.* 2016, Leal *et al.* 2016, 2018, Benone *et al.* 2017, Leitão *et al.* 2018, Prudente *et al.* 2018).

Nesta metodologia, cada trecho amostral possui 40 vezes a largura do ponto central sorteado, ou pelo menos 150 m de extensão, que é dividido por 11 transectos em 10 seções contínuas, cada uma com 15 m de comprimento (Figura 1). Cada transecto é geralmente nomeado das letras “A” a “K” e as sessões das letras “AB” a “JK”. A caracterização física é feita de jusante para montante, alternando-se transectos e sessões, em sua sequência. Assim, inicia-se caracterizando o transecto “A”, a sessão “AB”, o transecto “B”, e assim sucessivamente. Duas pessoas bem treinadas são capazes de completar a caracterização do habitat físico em cerca de duas horas e meia.

Ao longo dos 11 transectos (transversais ao leito do rio) é medida a profundidade e caracterizado o tipo de substrato (Tabela 1) em cinco pontos equidistantes. Nesses mesmos cinco pontos, é estimada a fração em que cada



**Figura 1.** Esquema dos transectos amostrados em riachos. De acordo com Macedo *et al.* (2014).

**Figure 1.** Site sampling scheme in stream. According to Macedo *et al.* (2014).

substrato está imerso em substrato fino, sendo que areia e silte são considerados como 100 % de imersão. A caracterização do transecto ainda inclui largura e profundidade do leito sazonal, largura molhada, altura da incisão, profundidade da margem escavada (quando presente) e ângulos das margens. Em cada transecto é também estimada visualmente a complexidade do habitat em parcelas de 10 m de comprimento (5 m acima e 5 m abaixo da linha do transecto) dentro do leito do rio, avaliando-se de forma semi-quantitativa a cobertura por algas filamentosas, macrófitas aquáticas, bancos de folhas, árvores vivas e raízes, madeiras grandes (> 30 cm de diâmetro) e pequenas, vegetação pendente sobre o canal (< 1 metro da superfície da água), margem escavada,

matação e estruturas artificiais.

Para avaliar a densidade e estrutura da vegetação ripária, estima-se visualmente a cobertura de três camadas de vegetação ripária (dossel, sub-bosque, herbáceo) em parcelas de 10 x 10 m com seus pontos médios em ambas as margens de cada transecto. O densiômetro deverá ser utilizado para medir a cobertura do dossel da vegetação acima do canal no centro de cada transecto voltado para montante, jusante, esquerda e direita, bem como voltado para ambas as margens perto das mesmas. Estima-se, ainda visualmente, a presença e proximidade de 11 categorias de atividades humanas na zona ribeirinha (plantações, pastagens, represas e revestimentos, edifícios, pavimentação, estradas,

**Tabela 1.** Categorias de substrato para a caracterização do habitat físico em riachos.**Table 1.** Substrate categories used to characterize physical habitat in streams.

Substrato	Tamanho	Caracterização prática
RL = Rocha Lisa	> 4 m	Mais larga que um carro
RR = Rocha Rugosa	> 4 m	Mais larga que um carro
CO = Concreto/Asfalto	-	-
ML = Matação Largo	1 a 4 m	Caixa d'água até um carro
MT = Matação	25 cm a 1 m	Bola de basquete até caixa d'água
SX = Seixo	64 a 250 mm	Bola de tênis até bola de basquete
CG = Cascalho Grosso	16 a 64 mm	Jabuticaba até bola de tênis
CF = Cascalho Fino	2 a 16 mm	Joaninha até jabuticaba
AR = Areia	0.06 a 2 mm	Arenosa até tamanho de joaninha
ST = Silte/Argila/Lama	< 0.06 mm	Não arenoso
AC = Argila Consolidada ( <i>Hardpan</i> )	-	Substrato fino consolidado, firme.
BF = Banco de Folhas e galhos pequenos	-	-
MO = Matéria Orgânica Particulada	-	-
MA = Macrófitas	-	-
AL = Algas	-	-
RZ = Raízes Finas da Mata Ciliar	-	-
MD = Madeira (qualquer tamanho)	-	-

tubulações, aterro/lixo, gramados, extração de madeira e mineração).

Já a caracterização de cada uma das 10 sessões, é feita caminhando-se de um transecto a outro. Nesse percurso, são tomadas 10 medidas equidistantes de profundidade do talvegue, ao mesmo tempo em que se avalia a presença de sedimentos finos (< 16 mm). Nesse percurso também é feita a quantificação visual de barras no canal, canais laterais, remansos, e tipo de unidade do canal (piscina, fluxo suave, corredeira, rápido, cascata, queda ou canal seco). Finalmente, ao longo de cada sessão, é computado o número de pedaços grandes de madeira de diferentes classes de comprimento e diâmetro, dentro e fora do leito sazonal.

Após a caracterização física, em cada seção é medida a declividade (com o auxílio de uma mangueira de nível) e a sinuosidade (com auxílio de uma bússola). Finalmente, procede-se à estimativa da vazão do riacho. Usualmente, isso é feito a partir da velocidade média da corrente (estimada a partir do tempo de deslocamento de

um objeto flutuante ao longo de três distâncias conhecidas) e do cálculo da área transversal média (medido como profundidade média x largura média das três distâncias conhecidas) do local onde foi realizada a medição.

A partir dessa caracterização podem ser calculadas até 237 métricas de habitat físico (Kaufmann *et al.* 1999), incluindo 25 métricas de morfologia do canal, 16 de unidade do canal, 5 de sinuosidade e declividade, 32 de caracterização do substrato e estabilidade do canal, 33 de complexidade de habitat, 60 relacionadas à presença de grandes pedaços de madeira, 37 de características da vegetação ripária e cobertura do canal, além de 29 variáveis relacionadas ao impacto humano.

Embora produza um elevado número de métricas relacionadas aos diferentes componentes que estruturam um riacho, o protocolo proposto por Peck *et al.* (2006) demanda recursos financeiros e de pessoal elevados. Outros protocolos, um pouco mais simplificados, também vem sendo aplicados com

sucesso (e.g. Mendonça *et al.* 2005, Casatti *et al.* 2006). Esses incorporam, em graus diferentes, várias das métricas ambientais descritas acima. Essas mesmas métricas também podem ser medidas de formas diferentes, incorporando novas tecnologias. Um exemplo é o densímetro, que pode ser substituído por fotografias ou, mais recentemente, por aplicativo do celular (GLAMA) (Suganuma *et al.* 2008, Tichý 2014, Tichý 2016).

### ***Pesca elétrica***

Arrastos e peneiras são, também, artefatos amplamente usados em amostragens de riachos. Não detalhamos seu uso aqui, pois os mesmos estão bem descritos em Uieda & Castro (1999), o qual recomendamos para mais informações sobre seu uso e aplicação. A pesca elétrica é um dos muitos métodos de coleta de peixes usados em amostragens de riachos. Por ter sido abordado superficialmente em Uieda & Castro (1999), apresentamos os avanços alcançados nas últimas décadas.

Pesca elétrica é o termo dado a uma série de métodos que têm em comum a utilização da reação de peixes a campos elétricos na água. O uso da eletricidade para pesca remonta aos anos 1800, quando era usada para manejo de açudes e criadouros de peixes (Hartley 1990). No início do século XX foi incorporada, pela ictiologia, em estudos sobre organização e funcionamento de comunidades de peixes de riachos, em especial na América do Norte, Europa e alguns países da Ásia. No Brasil, a primeira menção ao uso da pesca elétrica como ferramenta em estudos científicos foi realizada por Ihering (1934), mas apenas a partir do final do século XX foi efetivamente incorporada como técnica de amostragem em estudos de ecologia de peixes de riacho (e.g., Severi *et al.* 1995, Mazzoni *et al.* 2000a). A introdução da pesca elétrica como ferramenta amostral em estudos de ecologia de peixes de riachos possibilitou o desenvolvimento de abordagens que requerem informação quantitativa em amplas séries temporais. Estudos sobre persistência, estabilidade e resiliência de populações e comunidades ganharam força e possibilitaram avanços importantes na área de ecologia de peixes (e.g., Wiley & Tsai 1983, Gowns *et al.* 1996, Mazzoni & Lobón-Cerviá 2000b).

Dentre os principais pontos positivos da

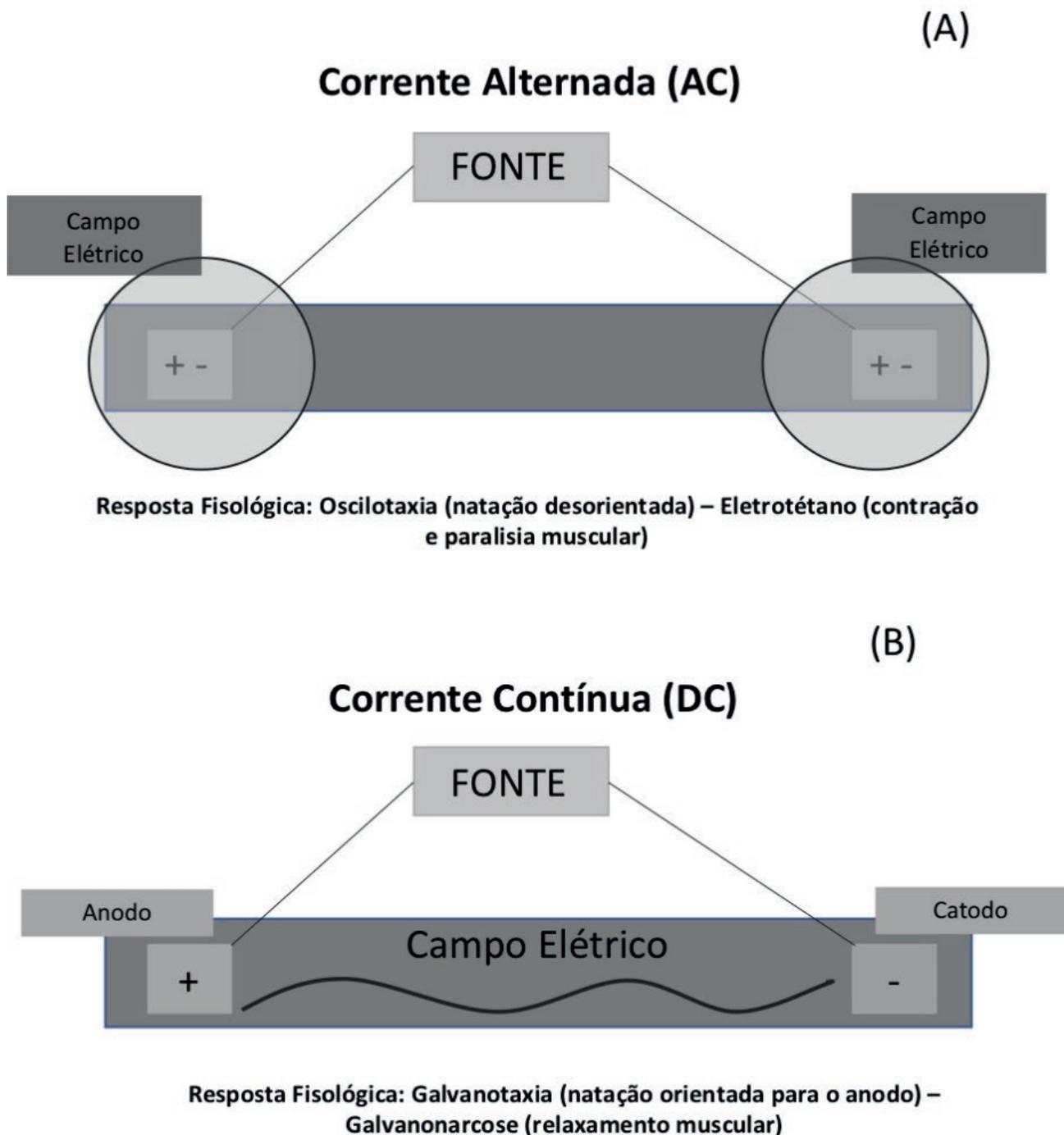
pesca elétrica, destacam-se a baixa seletividade e a possibilidade de amostragem não invasiva/destrutiva, como costuma ser a pesca por outros artefatos que envolvem redes e anzóis. É um método para facilitar a captura (Hartley 1980, Pusey *et al.* 1998) e, embora tenha um custo inicial elevado, é considerado um excelente custo-benefício dada a durabilidade do equipamento e o reduzido número de pessoas necessárias para realizar o trabalho de campo.

Existem basicamente dois tipos de equipamentos para a pesca elétrica: (i) os geradores de corrente alternada, disponíveis no mercado brasileiro; e (ii) os geradores de mochila auto reguladores da corrente elétrica, disponíveis para importação dos EUA ou Europa. O custo desses últimos é bastante elevado, mas têm a vantagem de serem relativamente leves (~ 9,5 kg), de fácil operação, e possibilitarem diversas combinações de tipo de corrente, amperagem e voltagem. Esse é um elemento importante, pois implica na redução dos riscos associados à sobrecarga elétrica que pode ser nociva aos peixes (e outras espécies aquáticas presentes na área de estudo). Os geradores de corrente alternada, em alguns casos, necessitam de um retificador para fazê-los trabalhar em corrente contínua. Isso os torna bastante pesados, o que, muitas vezes, limita seu uso em locais de difícil acesso. Quanto aos protocolos de segurança, recomenda-se o uso de macacão de borracha ou neoprene e luvas isolantes para os operadores do equipamento. Além disso, ao menos um auxiliar de coleta deve estar na margem para desligar o gerador em caso de necessidade. Recomenda-se os mesmos cuidados e protocolo de segurança adotados para o uso dos geradores portáteis de corrente alternada (com ou sem retificador de corrente) e do gerador de mochila.

A aplicabilidade da pesca elétrica em riachos no Brasil sempre foi questionada pela crença de sua inoperância em águas límpidas e de reduzida produtividade, características frequentemente encontradas em riachos que drenam o solo das bacias e microbacias brasileiras. O principal limitador ambiental para o uso da eletricidade como ferramenta amostral é a condutividade. Nos riachos Neotropicais a condutividade costuma ser reduzida, dificultando o uso da eletricidade por corrente contínua (DC), pois a

mesma prevê a existência de um campo elétrico entre os eletrodos do equipamento (Figura 2). O uso da corrente alternada (AC) tem se mostrado uma excelente alternativa, pois, nesse caso, o campo elétrico fica limitado ao entorno do puçá acoplado ao gerador (Figura 2). No entanto, alguns cuidados devem ser tomados de acordo com tipo de corrente (AC ou DC) usada. A corrente contínua

gera uma resposta fisiológica de galvanotaxia, que é a natação forçada e orientada para o anodo, seguida de galvanonarcose (= relaxamento muscular). A corrente alternada, por sua vez, gera uma resposta fisiológica de oscilotaxia, que é a natação desorientada, seguida de eletrotétano (= contração e paralisia muscular). Essas respostas e suas consequências fisiológicas podem



**Figura 2.** Esquema da aplicação da pesca elétrica com o uso de corrente contínua (acima) e alternada (abaixo).

**Figure 2.** Electric fishing application using direct (above) and alternating current (below).

ser amenizadas com a redução do tempo de exposição dos peixes à eletricidade.

### ***Protocolo amostral para quantificação de populações***

A obtenção de dados quantitativos é um dos maiores problemas nos estudos de ecologia de peixes e, por conta da seletividade, os métodos de amostragem são a principal limitação de tais estudos (Pavanelli & Caramaschi 1997). Recomenda-se, para a quantificação de populações, o uso da pesca elétrica, devido a sua reduzida seletividade (*e.g.*, Stewart 1975). No entanto, o protocolo apresentado a seguir pode ser utilizado, também, com outros artefatos, tal como rede de arrasto ou peneiras.

Para seguir ao protocolo de quantificação, no caso da pesca elétrica, a amostragem deve ser realizada por uma pessoa munida de um puçá acoplado ao gerador seguida por um auxiliar munido de um outro puçá não acoplado. Ambos se deslocam contra o fluxo da água (sentido jusante para montante), de uma extremidade à outra do trecho amostral, retirando todos os peixes presentes no campo elétrico. Esse protocolo de amostragem vale tanto para os geradores portáteis de corrente alternada (com ou sem retificador de corrente), como para os geradores de mochila. As duas extremidades da área amostrada devem ser bloqueadas por uma rede de fechamento (0,5 cm de malha), de forma que nenhum peixe entre ou saia da localidade amostrada (= população fechada – que é a primeira premissa, como será visto adiante). Esse mesmo trajeto é repetido mais duas vezes e os peixes coletados em cada uma das capturas (são três capturas no total) devem ser mantidos isolados para serem identificados e contados considerando cada captura separadamente. Os peixes coletados devem ser mantidos em gaiolas flutuantes com água corrente do riacho e fora da área de ação da eletricidade. Uma vez contados e medidos, os peixes devem ser devolvidos ao riacho no ponto médio da localidade amostral. Os dados relativos ao número de indivíduos de cada espécie e cada captura devem ser contabilizados separadamente para aplicação de um modelo de estimativa de abundância. Sugerimos o método de Zippin (1958) para a estimativa de abundância, baseada no número de indivíduos de cada espécie, por captura. A aplicação do método Zippin está

condicionado a três premissas: (i) população estudada fechada, ou seja, nenhum indivíduo entra ou sai da área de amostragem durante o experimento; (ii) o esforço de pesca é constante, ou seja, o tempo de pesca é o mesmo para todas as capturas; (iii) a capturabilidade é constante, ou seja, a probabilidade de ser pego é a mesma para cada um dos indivíduos da população. De posse desses dados e da aplicação do método de Zippin tem-se a estimativa de abundância que pode ser transformada em densidade a partir dos dados batimétricos para cálculo da área amostrada.

### ***Suficiência amostral***

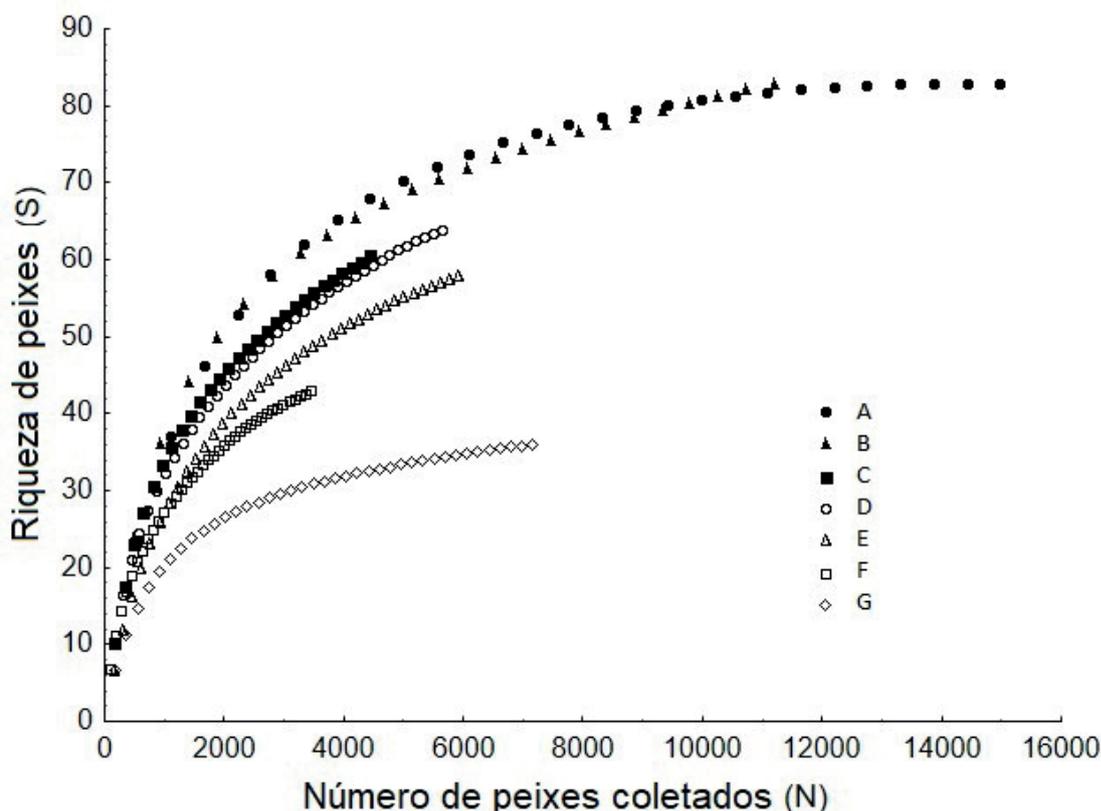
A riqueza de espécies de peixes é frequentemente usada para avaliar os efeitos biológicos das mudanças ambientais (Xenopoulos & Lodge 2006) e a condição biológica dos ecossistemas de riachos (Karr 1981, Simon 1998, Whittier *et al.* 2007, Pont *et al.* 2009). No entanto, essa métrica de estrutura da comunidade é uma função do esforço de amostragem. Por isso, é fundamental entender se a extensão do local e a cobertura regional são suficientes para uma avaliação adequada dos padrões de biodiversidade, ou mesmo, uma boa representação da fauna local. Normalmente, a riqueza de espécies de peixes aumenta abruptamente com o aumento da extensão do trecho amostrado, mas a partir de certo ponto, este incremento é cada vez menor (Lyons 1992, Angermeier & Smogor 1995, Paller 1995, Patton *et al.* 2000, Dauwalter & Pert 2003, Reynolds *et al.* 2003, Terra *et al.* 2013a). Essa relação produz curvas de acumulação de taxa assintóticas. Portanto, esforços de amostragem baixos (ou seja, pequenas extensões de riacho amostradas) subestimam a verdadeira riqueza de espécies de peixes. Por outro lado, extensões longas significam que, em um cenário de recursos limitados, menos riachos serão amostrados em uma região (Fritz *et al.* 2006).

Alguns estudos têm sugerido que uma amostragem seria suficiente quando 90-95 % das espécies observadas são coletadas (Angermeier & Smogor 1995, Patton *et al.* 2000, Dauwalter & Pert 2003, Reynolds *et al.* 2003). No entanto, estudos sobre ecologia de comunidades de peixes de riachos apresentam grande variação na extensão amostrada, variando de 22 a 85 vezes a largura média do riacho (Lyons 1992, Angermeier & Smogor 1995, Paller 1995, Patton *et al.* 2000,

Reynolds *et al.* 2003, dos Anjos & Zuanon 2007, Terra *et al.* 2013a, Casarim *et al.* 2020). O número necessário de riachos a ser amostrado para caracterizar a fauna de uma região, pode ser ainda mais variável. Essas diferenças provavelmente resultam de vários fatores de interação, como variações no *pool* regional de espécies (Cao *et al.* 2001), condições de habitat (Angermeier & Smogor 1995, Angermeier & Winston 1998), padrões de distribuição (Angermeier & Smogor 1995, Paller 1995, Kanno *et al.* 2009), abundâncias individuais (Angermeier & Schlosser 1989, Angermeier & Smogor 1995), processos de metacomunidade (Leibold *et al.* 2004, Brown *et al.* 2017) e o número de espécies raras (Paller 1995, Kanno *et al.* 2009, Terra *et al.* 2013a). Adicionalmente, não pode ser subestimado o papel de diferenças nos métodos de

amostragem (Kimmel & Argent 2006), seletividade de equipamento e eficiência de pesca (Meador & McIntyre 2003), além da experiência das equipes de amostragem (Hughes & Peck 2008).

Dado o conjunto de fatores que podem interferir na suficiência amostral, é importante conhecer as ferramentas que permitem tal avaliação. Curvas de acumulação de espécies e estimadores de riqueza são as principais delas. Para uma dada região, por exemplo, pode ser determinado o número cumulativo de espécies em função do número de riachos, ou mesmo o número de indivíduos coletados (Figura 3). O formato da curva indicará se são esperados novos registros de espécies diferentes com a adição de novos riachos. Como o formato da curva varia em função da sequência em que os riachos são



**Figura 3.** Relação entre o número de indivíduos de peixes coletados e a riqueza de espécies de peixes para sete regiões hipotéticas. Neste caso, apenas para a região “A” alcançou-se uma assíntota. Após a coleta de 12 mil exemplares, não eram esperados novos registros de espécies. Curvas similares podem ser geradas para número de riachos em uma região, número de seções ou extensão amostrada em um riacho (Eixo X), ou para número de novos registros ou de espécies raras (Eixo Y).

**Figure 3.** Relationship between the number of fish individuals collected and the species richness for seven hypothetical regions. In this case, only for region “A” an asymptote was achieved. After registering 12,000 specimens, new species records were not expected. Similar curves can be generated for number of streams in a region, number of sections or extension sampled in a stream (X axis), or for number of new records or rare species (Y axis).

ordenados, alguns softwares produzem todas as curvas possíveis (sorteando a sequência em que os riachos são ordenados), e as combinam em uma curva média, com a apresentação dos respectivos desvios. A mesma avaliação vale para a extensão do trecho a ser amostrado. Nesse caso, é necessário que a amostragem seja fragmentada. Em um riacho que terá 150 m de sua extensão amostrada, os peixes são coletados a cada 15 m. A partir dessas 10 “sub-amostras”, é possível produzir curva de acumulação de espécies que indicará se seriam esperadas novas ocorrências com o aumento da extensão do trecho amostrado. Já os estimadores de riqueza se valem de diferentes fórmulas para tentar fornecer informações sobre o número de espécies que não foram capturadas (Magurran 2004). Diferentes tipos de estimadores vêm sendo propostos (*e.g.*, Chao 1, Chao 2, Jackknife 1 e Jackknife 2). Esses variam com relação à natureza dos dados (presença/ausência ou abundância) e com relação ao peso da presença de espécies raras (singletons/dobletons e/ou uniques/duplicates). Assim, a escolha de qual é mais adequado para cada caso varia em função de algumas características do *pool* de espécies (Palmer 1990, Dias 2004, Glowacki 2011).

### **Coleta de ovos e larvas**

Em estudos envolvendo reprodução e estrutura populacional, é importante que a amostragem contemple não somente as formas adultas, mas também ovos, larvas e jovens. Assim, é necessário que mais de um equipamento de pesca seja utilizado para explorar o maior número formas de vida e de habitat, uma vez que pode ocorrer segregação espacial na mesma localidade associado à ontogenia (Arratia 1983, Brito *et al.* 2016).

Um grande desafio nos estudos de reprodução de peixes de riacho é a coleta de ovos e larvas (Caramaschi & Brito 2021). A amostragem com rede de deriva, comumente utilizada para coleta de ictioplâncton em rios (Nakatani *et al.* 2001), pode ser uma alternativa principalmente em meses chuvosos, quando há maior volume de água nos riachos. Entretanto, a efetividade para capturar ovos pode ser baixa em função da estratégia reprodutiva da maior parte dos peixes de riacho estar relacionada a um substrato para a postura (*e.g.*, ovos adesivos) ou ocultação da prole

(*e.g.*, ninhos). No caso das larvas, a captura pode ser facilitada pela ausência de autonomia na natação nas primeiras fases pós-eclosão. Nessa técnica, realizada à noite, a rede em forma de funil (malha 500  $\mu$ m, 1 m comprimento, diâmetro 30 cm) com fluxômetro (mecânico ou digital) acoplado (Figura 4) permanece estacionária por 10 minutos no canal do riacho. O fluxômetro corresponde a um equipamento dotado de um rotor associado a um contador que auxiliará na medição do volume de água filtrado pela rede. Para estimar o volume filtrado, multiplica-se a área da boca da rede pelo número de rotações do fluxômetro e pelo fator de calibração do fluxômetro, através da fórmula abaixo:

$$V = a * n * c$$

Onde V = Volume filtrado, a = área da boca da rede cônico-cilíndrica, n = número de rotações do fluxômetro durante a medição e c = Fator de calibração do fluxômetro.

De posse do volume filtrado, após a triagem e contagem dos ovos e larvas coletados, são calculadas as respectivas densidades, geralmente padronizadas por uma unidade de volume (*e.g.*, nº larvas ou nº de ovos por 10 m<sup>3</sup>), utilizando-se a seguinte fórmula:

$$Y = (X/V).10$$

onde Y = densidade de ovos ou larvas, X = número coletado de ovos ou larvas e V = volume de água efetivamente filtrado (m<sup>3</sup>).

Para coleta de ovos e larvas junto à vegetação marginal de riachos, a adaptação da metodologia em ambientes lênticos descrita em Nakatani *et al.* (2001) é uma boa alternativa. Essa metodologia consiste na utilização de duas peneiras sobrepostas com as mesmas dimensões (60 cm x 40 cm). O formato do saco da peneira de malha mais grossa (5 mm) é semelhante ao de uma peneira convencional. A segunda peneira (malha 500  $\mu$ m) apresenta formato em funil e copo coletor na porção inferior (Figura 5), sendo semelhante à rede de ictioplâncton. A sobreposição das duas peneiras permite coletar na malha da primeira peneira peixes adultos e juvenis; ovos e larvas associados à vegetação marginal conseguem passar pela malha de 5 mm e ficam retidos no copo



**Figura 4.** Rede de ictioplâncton com fluxômetro acoplado para coleta de ovos e larvas de peixes em riachos com vazão alta.

**Figure 4.** Ichthyoplankton net with coupled flowmeter for collecting fish eggs and larvae in streams with high flow.

coletor da segunda peneira (Figura 5). A estimativa de densidade para a peneira será calculada de forma similar àquela utilizada para o “peneirão” proposto por Nakatani *et al.* (2001):

$$Z = X / (A * L)$$

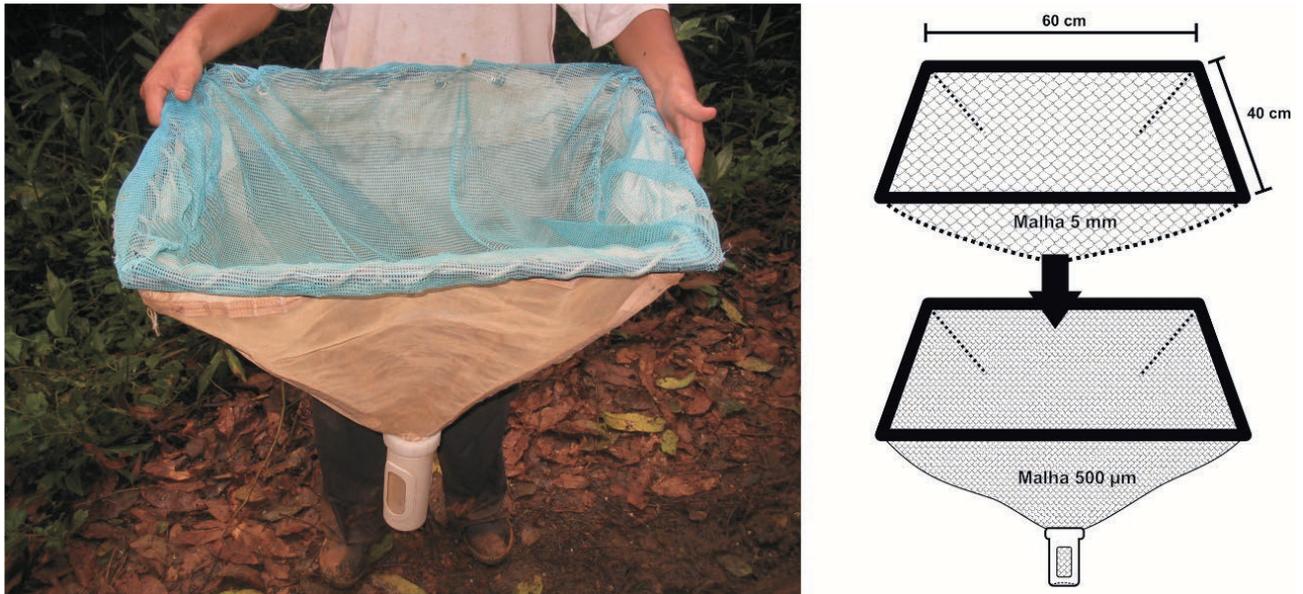
Sendo, Z = número de espécimes por m<sup>2</sup>, X = número de espécimes, A = área da peneira (m<sup>2</sup>) e L = número de lances.

No processo de fixação, inicialmente os espécimes devem ser eutanasiados (CONCEA 2016, Fernandes *et al.* 2017), e em seguida preservados em formalina 4 % tamponada com carbonato de cálcio (1 g CaCO<sub>3</sub> para 1 L de formalina 4 %). Essa solução de formalina deverá ser preparada previamente, pois necessita de repouso por 12 h para ser utilizado somente o sobrenadante (Nakatani *et al.* 2001). Uma parcela das amostras coletadas pode ser fixada em álcool absoluto, para identificação molecular dos ovos e confirmação da identificação morfológica das larvas usando técnica de sequenciamento de DNA pelo método Sanger, de acordo com Becker *et al.* (2015) e/ou de agrupamento de amostras utilizando a técnica de

identificação metagenômica, com o uso de *primers* específicos para peixes.

#### **Anestesia, fixação e conservação de amostras**

Nesse item pretende-se abordar de forma geral sobre anestesia, fixação e preparo de amostras de material biológico para outros fins: genética, isótopos estáveis, metais pesados. Além dos procedimentos de fixação e conservação de material específicos da coleta de ovos e larvas, descritos acima, e os respectivos princípios éticos e legais (CONCEA, 2016), técnicas para outros tipos de estudos possuem suas particularidades. O uso de anestésicos (eugenol, ou óleo de cravo da Índia, mentol e outros) podem ser aplicados tanto para a eutanásia de peixes que serão fixados em formol ou álcool, ou para utilização em procedimentos cujo interesse é manter o indivíduo vivo posteriormente. No caso da telemetria para estudos de movimentações de peixes, com implantação cirúrgica de transmissores na cavidade celomática, utiliza-se anestesia inicial com eugenol. Os peixes são imersos na água com anestésico, na concentração de 0,050 ml/L, até atingirem o



**Figura 5.** Peneira para coleta de ovos e larvas de peixes de riacho, com esquema mostrando a sobreposição da peneira com malha de 5 mm sobre a malha de 500 µm.

**Figure 5.** Hand net for collecting stream fish eggs and larvae, with a scheme showing the overlap of the sieve with a 5 mm mesh over the 500 µm mesh size.

estágio IV de anestesia, caracterizado pela perda total no equilíbrio e do tônus muscular, bem como falta de reação à manipulação e a estímulos visuais (Summerfelt & Smith, 1990). Durante o procedimento, a imobilização é mantida com a irrigação direta das brânquias continuamente com a solução anestésica (Eugenol 0,035 ml/L), sendo substituída por água pura caso haja queda na frequência dos movimentos operculares (Lopes *et al.* 2016).

O uso da solução de formaldeído 10 % (formalina) ainda é o método mais comum de fixação, apesar dos cuidados inerentes à sua inalação e contato direto com as mãos por se tratar de substância carcinogênica (ANVISA, 2013). Peixes devem ficar imersos na solução por um período entre 48 horas a uma semana (Kelsch & Shields; 1996; Uieda & Castro, 1999). Peixes menores requerem menos tempo na solução; peixes até 15 cm de comprimento podem ser injetados com a formalina intramuscularmente e na cavidade celomática, e exemplares maiores devem sofrer uma incisão ventral que permita a entrada do fixador na cavidade celomática. Sugere-se, também, a perfuração da bexiga de gás para evitar que o exemplar flutue na solução. Após o período de fixação, os peixes devem ser retirados da solução, lavados em água corrente e depois transferidos para frascos de vidro

compatíveis com os tamanhos dos espécimes (coleções) ou bombonas plásticas com solução de álcool 70 % (etanol), para conservação. Tanto nos frascos quanto nos recipientes maiores, devidamente tampados, os peixes devem estar completamente imersos nas soluções para evitar a proliferação de fungos que venham a comprometer a qualidade do material biológico, preservado para fins científicos.

Para coleta de amostras de tecidos para estudos genéticos, os fragmentos de nadadeiras ou tecido muscular devem ser armazenados em etanol absoluto (PA), como em Sales *et al.* (2018). É importante fazer a retirada da amostra antes do uso de anestésicos e fixadores. Recomenda-se a utilização de uma das nadadeiras pares (preferencialmente do lado direito), de forma que a outra esteja conservada para a contagem de raios e outras medidas de interesse taxonômico ou ecomorfológico. Os criotubos (Eppendorf ou similares) com os fragmentos devem ser armazenados resfriados ou em local fresco e ao abrigo da luz, até o processamento. Caso se utilize o álcool 70 % como fixador, é aconselhável o congelamento dos frascos com as amostras (D. R. Carvalho, comunicação pessoal). Estudos populacionais requerem maior número de amostras (entre 30 e 50 indivíduos, quando possível) de cada local a ser investigado em

um rio, numa bacia hidrográfica ou bioma. É aconselhável que pelo menos um espécime seja destinado como testemunho (*voucher*) e tombado em uma coleção científica.

Estudos de isótopos estáveis também utilizam fragmentos de tecidos ou peixes inteiros eviscerados, desde que sejam de pequeno porte (até 3 ou 5 cm de comprimento). As amostras frescas são retiradas em campo, com uso de luvas cirúrgicas e material cirúrgico limpo (tesoura, bisturi e lâminas) e acondicionado em criotubos (Eppendorf ou similares) que devem ser resfriados imediatamente após a coleta e congelados o mais rapidamente possível. Da mesma forma que nos estudos genéticos, a retirada da amostra deve preceder do uso de anestésicos e fixadores. Se for necessário o sacrifício do exemplar, o procedimento adequado é a eutanásia por hipotermia de acordo com os critérios éticos e de bem-estar do animal (CONCEA, 2016). Para cada local amostrado, a depender da pergunta científica do trabalho, o ideal é haver até 5 réplicas por espécie, quando possível. Também é desejável a coleta de espécies de níveis tróficos diferentes. Para evitar variações intraespecíficas associadas ao porte, sugere-se a coleta de material de exemplares de tamanho semelhante de cada espécie. Até o envio para as análises específicas, todo o material deve ficar armazenado em freezer. Toda a rotina pode ser consultada em De Carvalho *et al.* (2020).

Por fim, a coleta de material para análises de metais pesados também utiliza material fresco, sem uso de fixadores e anestésicos. Sugere-se a coleta de, pelo menos, oito indivíduos pertencentes a três níveis tróficos (iliófagos/detrítívoros, onívoros/herbívoros/invertívoros/insetívoros/frugívoros e carnívoros). A eutanásia é realizada por hipotermia. Peixes devem ser embalados individualmente em sacos plásticos (evitando contato uns com os outros) e mantidos resfriados até o congelamento em freezer. A assepsia é fundamental e só são recomendados materiais inertes (bandejas de polipropileno e materiais cirúrgicos de aço inoxidável). Qualquer objeto metálico deve ser evitado para não interferir nas dosagens dos elementos químicos visados. Todo o material deve ser lavado com sabão neutro laboratorial, enxaguado com água destilada, seguido de

banho com ácido nítrico 10% e novamente enxaguado com água destilada. Deve-se evitar qualquer contato do material de um peixe com o de outro, bem como com superfícies que não passaram pelos métodos de assepsia descritos, para evitar qualquer foco e contaminação e perda da amostra. No ambiente de laboratório, o processo de filetagem consiste na retirada das amostras de músculo e órgãos (fígado, brânquias, rins e outros), sempre utilizando luvas cirúrgicas. Para tal, descongela-se o indivíduo, e retiram-se amostras do filé através de incisão no dorso. Em seguida, retiram-se as partes moles (lamelas) das brânquias. Só então a cavidade celomática é aberta para retirada de amostras de órgãos de interesse. Todas as alíquotas devem armazenadas em frascos estéreis devidamente rotulados em freezer até o envio para as análises laboratoriais específicas.

## CONCLUSÕES

Desde a publicação do primeiro volume do livro “Ecologia de Peixes de Riacho”, muitos alunos e profissionais utilizaram os procedimentos amostrais ali descritos por Uieda & Castro (1999). Não por acaso correspondia ao primeiro capítulo, que representa uma das etapas mais importante na pesquisa em ictiologia – acessar o peixe em seu habitat. Seguramente, o trabalho de Uieda & Castro (1999) foi utilizado no desenvolvimento de centenas de estudos nas diversas áreas de conhecimento que envolviam a captura de peixes.

Nosso estudo descreve e complementa algumas metodologias àquelas descritas anteriormente. A caracterização do habitat, realizada por meio de seus componentes, traz novas possibilidades de avaliação dos padrões de distribuição de peixes em relação à paisagem, no momento em que associamos essas características aos atributos biológicos e ecológicos das espécies. A pesca elétrica é uma metodologia não seletiva e não invasiva que permite coletar espécimes tanto para responder a perguntas acerca da sua biologia e ecologia como para avaliar populações e comunidades. A coleta de ovos e larvas em riachos com a peneira abre a possibilidade para conhecer e descrever as fases iniciais de desenvolvimento de peixes de pequeno porte, muitas vezes conhecidos apenas em sua forma adulta.

Ressaltamos a grande importância do delineamento experimental e da padronização amostral, para que comparações (espaciais e temporais) possam ser realizadas e avaliar importantes questões ecológicas. Em decorrência da acelerada degradação dos ecossistemas aquáticos provocada principalmente por ações antrópicas (Reid *et al.* 2019), as coletas padronizadas permitem traçar paralelos entre passado e presente, a fim de avaliar a magnitude do impacto e prever cenários.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico através de Bolsas - RM processo nº 301463/2017-4, PSP processo nº 303548/2017-7 e MFGB processo nº 306851/2018-0. RM agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ processo nº E-26/202.762/2018. Também somos gratos ao Daniel Santana pela elaboração da arte da peneira para coleta de ovos e larvas e à Companhia Energética de Minas Gerais (Cemig) pela permissão de uso da imagem da Figura 1.

## REFERÊNCIAS

- Allan, J. D., Erickson, D., & Fay, J. 1997. The influence of catchment land use on stream integrity across multiple spatial scales. *Freshwater Biology*, 37(1), 149–161. DOI: 10.1046/j.1365-2427.1997.d01-546.x
- Angermeier, P. L., & Schlosser, I. J. 1989. Species-area relationship for stream fishes. *Ecology*, 70(5), 1450–1462. DOI: 10.2307/1938204
- Angermeier, P. L., & Smogor, R. A. 1995. Estimating number of species and relative abundances in stream-fish communities: effects of sampling effort and discontinuous spatial distributions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(5), 936–949. DOI: 10.1139/f95-093
- Angermeier, P. L., & Winston, M. R. 1998. Local vs. regional influences on local diversity in stream fish communities of Virginia. *Ecology*, 79(3), 911–927. <https://doi.org/cvj8bp>
- dos Anjos, M. B., & Zuanon, J. 2007. Sampling effort and fish species richness in small terra firme forest streams of central Amazonia, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 5(1), 45–52. DOI: 10.1590/S1679-62252007000100006
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2013. Resolução - RDC Nº 15 (26 de março de 2013). Aprova o Regulamento Técnico “Lista de substâncias de uso cosmético: acetato de chumbo, pirogalol, formaldeído e paraformaldeído” e dá outras providências.
- Arratia, G. 1983. Preferencias de habitat de peces Siluriformes de aguas continentales de Chile (Fam. Diplomystidae y Trichomycteridae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 18(4), 217–237. DOI: 10.1080/01650528309360637
- Barbour, M. T., Gerritsen, J., Snyder, B. D., & Stribling, J. B. 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish, 2nd edition. EPA 841-B-99-002. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency, Office of Water.
- Becker, R. A., Sales, N. G., Santos, G. M., Santos G. B., & Carvalho, D. C. 2015. DNA barcoding and morphological identification of neotropical ichthyoplankton from the Upper Paraná and São Francisco. *Journal of Fish Biology*, 87(1), 159–168. DOI: 10.1111/jfb.12707
- Benone, N. L., Esposito, M. C., Juen, L., Pompeu, P. S., & Montag, L. F. A. 2017. Regional controls on physical habitat structure of Amazon streams. *River Research and Applications*, 33(5), 766–776. DOI: 10.1002/rra.3137
- Bichuette, M. E. 2021. Ecologia de peixes de riachos de cavernas e outros horizontes subterrâneos. *Oecologia Australis*, 25(2), 622–643. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.24
- Birindelli, J. L. O., Meza-Vargas, V., Sousa, L. M., & Hidalgo, M. 2016. Core Standardized Methods for Rapid Biological Field Assessment: Freshwater Fishes. In: Larsen, T. H. (ed.). *Core Standardized Methods for Rapid Biological Field Assessment*. Arlington: Conservation International. pp. 127–138.
- Bonar, S. A., Contreras-Balderas, S., & Iles, A. C. 2009. An introduction to standardized sampling. In: S. A. Bonar, W. A. Hubert, & D. W. Willis (Eds.), *Standard methods for sampling North American freshwater fishes*. pp. 1–12. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society.
- Brasil. 1998. Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998.

- (Acessado em 1º de fevereiro de 2021, [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9605.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9605.htm))
- Brito, M. F. G., Lazzarotto, H., & Caramaschi, E. P. 2016. Life-history features of a rapids-dwelling loricariid catfish from Atlantic forest streams, Brazil. *Biota Neotropica*, 16(2), e20150068. DOI: 10.1590/1676-0611-BN-2015-0068
- Brown, B. L., Sokol, E. R., Skelton, J., & Tornwall, B. 2017. Making sense of metacommunities: dispelling the mythology of a metacommunity typology. *Oecologia*, 183(3), 643–652.
- Buckup, P. A. 2021. Sistemática e Filogenia de Peixes de Riachos. *Oecologia Australis*, 25(2), 197–231. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.01
- Callisto, M., Alves, C. B. M., Lopes, J. M., & Castro, M. A. (org.) 2014. Condições ecológicas em bacias hidrográficas de empreendimentos hidrelétricos. Belo Horizonte: Companhia Energética de Minas Gerais, (Série Peixe Vivo, 2).
- Callisto, M., Ferreira, W. R., Moreno, P., Goulart, M., & Petrucio, M. 2002. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividade de ensino e pesquisa (MG-RJ). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 14(1), 91–98.
- Cao, Y., Larsen, D. P., & Hughes, R. M. 2001. Evaluating sampling sufficiency in fish assemblage surveys: a similarity-based approach. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(9), 1782–1793.
- Caramaschi, E. P., & Brito, M. F. G. 2021. Reprodução de peixes de riacho: estado da arte, métodos e perspectivas. 25(2), 324–344. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.07
- Carvalho, D. C. 2021. (comentário pessoal). Laboratório de Genética da Conservação, Pós-graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Belo Horizonte, Brasil.
- De Carvalho, D. R.; Alves, C. B. M., Moreira, M.Z., & Pompeu, S.S. 2020. Trophic diversity and carbon sources supporting fish communities along a pollution gradient in a tropical river. *Science of the Total Environment*, 738(2020)139878. DOI: [org/10.1016/j.scitotenv.2020.139878](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139878)
- De Carvalho, D. R., Leal, C. G., Junqueira, N. T., Castro, M. A., Fagundes, D. C., Alves, C. B. M., Hughes, R., & Pompeu P. S. 2017. A fish-based multimetric index for Brazilian savanna streams. *Ecological Indicators*, 77, 386–396. DOI: 10.1016/j.ecolind.2017.02.032
- Casarim, R., Caldeira, Y. M., & Pompeu, P. S. 2020. Representativeness of national parks in protecting freshwater biodiversity: A case of Brazilian savanna. *Ecology of Freshwater Fish*, 29(4), 705–721. DOI: 10.1111/eff.12547
- Casatti, L., Langeani, F., & Ferreira, C. P. 2006. Effects of physical habitat degradation on the stream fish assemblage structure in a pasture region. *Environmental Management*, 38(6):974- 982. DOI: 10.1007/s00267-005-0212-4
- Casatti, L. & Ortigossa, C. 2021. Avaliação da integridade biótica de riachos a partir da ictiofauna. *Oecologia Australis*, 25(2), 533–547. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.19
- Castro, D. M. P., Dolédec, S., & Callisto, M. 2018. Land cover disturbance homogenizes aquatic insect functional structure in Neotropical Savanna streams. *Ecological Indicators*, 84, 573–582. DOI: 10.1016/j.ecolind.2017.09.030
- Chen, K., Hughes, R. M., Brito, J. G., Leal, C. G., Leitão, R. P., Oliveira J. R., J. M. B., Oliveira, V. C., Silva, K. D., Ferraz, S., Ferreira, J., Hamada, N., Juen, L., Nessimian, J., Pompeu, P. S., & Zuanon, J. 2017. A multi-assemblage, multi-metric biological condition index for eastern Amazonia streams. *Ecological Indicators*, 78, 48–61. DOI: 10.1016/j.ecolind.2017.03.003
- CONCEA, 2016. Resolução Normativa nº 30 (2 de fevereiro de 2016). Baixa a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica - DBCA. Brasília, DF: Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação. 51p.
- Dauwalter, D. C., & Pert, E. J. 2003. Effect of electrofishing effort on an index of biotic integrity. *North American Journal of Fisheries Management*, 23(4), 1247–1252. DOI: 10.1577/M02-140
- Dias, M. S., Cassemiro, F. A. S., Bailly, D., Ribeiro, L. S., Cossignani, E. F., Graça, W. J., Frota, A., & Villara, G. T. 2021. A perspectiva macroecológica em peixes de riachos brasileiros. *Oecologia Australis*, 25(2), 514–532. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.18
- Dias, S. C. 2004. Planejando estudos de diversidade e riqueza: uma abordagem para estudantes de graduação. *Acta Scientiarum*.

- Biological Sciences, 26(4), 373–379. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v26i4.1511
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C., Naiman, R. J., Prieur-Richard, A. H., Soto, D., Stiassny, M. L. J., & Sullivan, C. A. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 81(2), 163–182. DOI: 10.1017/S1464793105006950
- Fernandes, I. M., Bastos, Y. F., Barreto, D. S., Lourenço, L. S., & Penha, J. M. 2017. The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small-sized tropical fishes. *Brazilian Journal of Biology*, 77(3), 444–450. DOI: 10.1590/1519-6984.15015
- Ferreira, C. P., & Casatti, L. 2006. Integridade biótica de um córrego na bacia do Alto Rio Paraná avaliada por meio da comunidade de peixe. *Biota Neotropica*, 6(3), bn00306032006. DOI: 10.1590/S1676-06032006000300002
- Frissell, C. A., Liss, W. J., Warren, C. E., & Hurley, M. D. 1986. A hierarchical framework for stream habitat classification: viewing streams in a watershed context. *Environmental Management*, 10(2), 199–214. DOI: 10.1007/BF01867358
- Fritz, K. M., Johnson, B. R., & Walters, D. M. 2006. Field operations manual for assessing the hydrologic permanence and ecological condition of headwater streams. United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development.
- Galliano, A. G. 1979. *O método científico: teoria e prática*. São Paulo: Harbra. p. 200.
- Głowacki, Ł. 2011. Accuracy of species richness estimators applied to fish in small and large temperate lowland rivers. *Biodiversity and Conservation*, 20(6), 1365–1384. DOI: 10.1007/s10531-011-0032-1
- Growns, I. O., Pollard, D. A., & Harris, J. H. 1996. A comparison of electric fishing and gillnetting to examine the effects of anthropogenic disturbance on riverine fish communities. *Fisheries Management and Ecology*, 3(1), 13–24. DOI: 10.1111/j.1365-2400.1996.tb00126.x
- Hall Jr. L. W., Morgan, R. P., Perry, E. S., & Waltz, A. 1999. Development of a provisional physical habitat index for Maryland freshwater streams. *Environmental Monitoring and Assessment*, 77, 265–291. DOI: 10.1023/A:1016084507654
- Hartley, W. G. 1980. The use of electrical fishing for estimating stocks of freshwater fish. In: T. Backiel & R. Welcomme (Eds.), *Guidelines for sampling fish in inland waters*. pp 91–95. Rome: FAO.
- Hartley, W. G. 1990. The history of electric fishing. In: I. G. Cowx & P. Lamarque (Eds.), *Fishing with electricity, applications in freshwater fisheries management*. Fishing News Books.
- Hughes, R. M., & Peck, D. V. 2008. Acquiring data for large aquatic resource surveys: the art of compromise among science, logistics, and reality. *Journal of the North American Benthological Society*, 27(4), 837–859. DOI: 10.1899/08-028.1
- Ihering, R. 1934. A pesca com eletricidade. *Boletim da Inspeção Federal de Obras contra as Secas*, 2(6), 252–257.
- Jaramillo-Villa, U., & Caramaschi, E. P. 2008. Índices de integridade biótica usando peixes de água doce: uso nas regiões tropical e subtropical. *Oecologia Brasiliensis*, 12 (3), 442–462.
- Juen, L., Cunha, E. J., Carvalho, F. G., Ferreira, M. C., Begot, T. O., Andrade, A. L., Shimano, Y., Leão, H., Pompeu, P. S., & Montag, L. F. A. 2016. Effects of oil palm plantations on the habitat structure and biota of streams in Eastern Amazon. *River Research and Applications*, 32(10), 2081–2094. DOI: 10.1002/rra.3050
- Kanno, Y., Vokoun, J. C., Dauwalter, D. C., Hughes, R. M., Herlihy, A. T., Maret, T. R., & Patton, T. M. 2009. Influence of rare species on electrofishing distance when estimating species richness of stream and river reaches. *Transactions of the American Fisheries Society*, 138(6), 1240–1251. DOI: 10.1577/T08-210.1
- Karr, J. R. 1981. Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, 6(6), 21–27. DOI: <https://doi.org/b433bz>
- Kaufmann, P. R., Levine, P., Robison, E., Seeliger, C., & Peck, D. 1999. *Quantifying physical habitat in wadeable streams*. Washington, DC: EPA/620/R-99/003. U.S. Environmental Protection Agency.
- Kelsch, S. W. & Shields, B. 1996. Care and handling of sampled organisms. In: Murphy, B. R. & Willis, D. W. (eds.) *Fisheries Techniques*.

- Bethesda. p 121-155.
- Kimmel, W. G., & Argent, D. G. 2006. Efficacy of two-pass electrofishing employing multiple units to assess stream fish species richness. *Fisheries Research*, 82, 14–18. DOI: 10.1016/j.fishres.2006.09.001
- Leal, C. G., Barlow, J., Gardner, T. A., Hughes, R. M., Leitão, R. P., Mac Nally, R., Kaufmann, F. R., Ferraz, S. F. B., Zuanon, J., Paula, F. R., Ferreira, J., Thomson, J. R., Lennox, G. D., Dary, E. P., Ropke, C. P., & Pompeu, P. S. 2018. Is environmental legislation conserving tropical stream faunas? A large-scale assessment of local, riparian and catchment-scale influences on Amazonian fish. *Journal of Applied Ecology*, 55(3), 1312–1326. DOI: 10.1111/1365-2664.13028
- Leal, C. G., Junqueira, N. T., & Pompeu, P. S. 2011. Morphology and habitat use by fishes of the Rio das Velhas basin in southeastern Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 90(2), 143–157. DOI: 10.1007/s10641-010-9726-6
- Leal, C. G., Junqueira, N. T., Castro, M. A., De Carvalho, D. R., Fagundes, D. C., Souza, M. A., Alves, C. B. M., & Pompeu, P. S. 2014. Estrutura da ictiofauna de riachos do cerrado de Minas Gerais. In: M. Callisto, C. B. M. Alves, J. M. Lopes, & M. A. Castro (Orgs.), *Condições ecológicas em bacias hidrográficas de empreendimentos hidrelétricos*. pp. 69–96. Belo Horizonte: Companhia Energética de Minas Gerais, (Série Peixe Vivo, 2).
- Leal, C. G., Pompeu, P. S., Gardner, T. A., Leitão, R. P., Hughes, R. M., Kaufmann, P. R., Zuanon, J., Paula, F. R., Ferraz, S. F. B., Thomson, J. R., Mac Nally, R., Ferreira, J., & Barlow, J. 2016. Multi-scale assessment of human-induced changes to Amazonian instream habitats. *Landscape Ecology* 31(8), 1725–1745. DOI: 10.1007/s10980-016-0358-x
- Leibold, M. A., Holyoak, M., Mouquet, N., Amarasekare, P., Chase, M., Hoppes, M. F., Holt, R. D., Shurin, J. B., Law, S. R., Tilman, D., Loreau, M., & Gonzalez, A. 2004. The metacommunity concept: A framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters*, 7, 601–613. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2004.00608.x
- Leitão, R. P., Zuanon, J., Mouillot, D., Leal, C. G., Hughes, R. M., Kaufmann, P. R., Villéger, S., Pompeu, P. S., Kasper, D., Paula, F. R., Ferraz, S. F., & Gardner, T. A. 2018. Disentangling the pathways of land use impacts on the functional structure of fish assemblages in Amazon streams. *Ecography*, 41(1), 219–232. DOI: 10.1111/ecog.02845
- Lopes, J. M., Alves, C. B. M., Silva, F. O., Bedore, A. G., & Pompeu, P. S. 2016. Effect of anesthetic, tag size, and surgeon experience on postsurgical recovering after implantation of electronic tags in a Neotropical fish: *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837)(Characiformes:Prochilodontidae). *Neotropical Ichthyology*, 14(3), e150189. doi:10.1590/1982-0224-20150189
- Lyons, J. 1992. The length of stream to sample with a towed electrofishing unit when fish species richness is estimated. *North American Journal of Fisheries Management*, 12, 198–203. DOI: <https://doi.org/cj2fxn>
- Macedo, D. R., Pompeu, P. S., Morais, L., Castro, M., Alves, C. B. M., França, J., Sanches, B., Uchôa, J., Callisto, M. 2014. Uso e Ocupação do solo, sorteio de sítios amostrais, reconhecimento em campo e realização de amostragens. In: M. Callisto, C. B. M. Alves, J. M. Lopes, & M. A. Castro (Orgs.), *Condições ecológicas em bacias hidrográficas de empreendimentos hidrelétricos*. pp. 45–66. Belo Horizonte: Companhia Energética de Minas Gerais, (Série Peixe Vivo, 2).
- Macedo, D. R., Hughes, R. M., Ligeiro, R., Ferreira, W. R., Castro, M. A., Junqueira, N. T., Oliveira, D. R., Firmiano, K. R., Kaufmann, P. R., Pompeu, P. S., & Callisto, M. 2014. The relative influence of catchment and site variables on fish and macroinvertebrate richness in cerrado biome streams. *Landscape Ecology*, 29(6), 1001–1016. DOI: 10.1007/s10980-014-0036-9
- Magurran, A. E. 2004. *Measuring biological diversity*. Blackwell Science Ltd. p. 256.
- Marques, P. S., & Cunico, A. M. 2021. Ecologia de peixes em riachos urbanos. *Oecologia Australis*, 25(2), 590–606. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.22
- Mazzoni, R., & Lobón-Cerviá, J. 2008b. Longitudinal structure, density and production rates of a neotropical stream fish assemblage: the river Ubatiba in the Serra do Mar, southeast Brazil. *Ecography*, 23(5), 588–602. DOI:10.1111/j.1600-0587.2000.tb00178.x

- Mazzoni, R., Fenerich-Verani, N., & Caramaschi, E. P. 2000a. Electrofishing as a sampling technique for coastal stream fish populations and communities in the Southeast of Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 60(2), 205–216. DOI:10.1590/s0034-71082000000200003
- Mazzoni, R., Novaes, V. C., & Iglesias-Rios, R. 2011. Microhabitat use by *Phalloceros harpagos* Lucinda (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) from a coastal stream from Southeast Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9(3), 665–672. DOI:10.1590/s1679-62252011005000027
- Meador, M. R., & McIntyre, J. P. 2003. Effects of electrofishing gear type on spatial and temporal variability in fish community sampling. *Transactions of the American Fisheries Society*, 132(4), 709–716. DOI: 10.1577/T01-135
- Mendonça, F. P., Magnusson, W. E., & Zuanon, J. 2005. Relationships between habitat characteristics and fish assemblages in small streams of Central Amazonia. *Copeia*, (4):750–763. DOI: <https://doi.org/cnsmkp>
- Nakatani, K., Agostinho, A. A., Bialecki, A., Sanches, P. V., Makrakis, M. C., Pavanelli, C. S. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: EDUEM: p. 378.
- Orsi, M.L., Almeida, F.S., Swarça, A.C., Claro-García, A., Vianna, N.C., Garcia, D.A.Z., & Bialecki, A. 2016. Ovos, larvas e juvenis dos peixes da Bacia do Rio Paranapanema uma avaliação para a conservação. Assis, SP: Triunfal Gráfica e Editora, Duke Energy. p. 136.
- Paller, M. H. 1995. Relationships among number of fish species sampled, reach length surveyed, and sampling effort in South Carolina coastal plain streams. *North American Journal of Fisheries Management*, 15, 110–120. DOI: <https://doi.org/bb7t47>
- Palmer, M. W. 1990. The estimation of species richness by extrapolation. *Ecology*, 71(3), 1195–1198. DOI: 10.2307/1937387
- Patton, T. M., Hubert, W. A., Rahel, F. J., & Gerow, K. G. 2000. Effort needed to estimate species richness in small streams on the Great Plains in Wyoming. *North American Journal of Fisheries Management*, 20, 394–398. DOI: <https://doi.org/ddk4vw>
- Pavanelli, C. S., & Caramaschi, E. P. 1997. Composition of the ichthyofauna of two small tributaries of the Paraná River, Porto Rico, Paraná State, Brazil. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 8(1), 23–31.
- Peck, D., Herlihy, A., Hill, B., Hughes, R., Kaufmann, P., Klemm, D., Lazorchak, J., McCormick, F., Peterson, S., Ringold, P., Magee, T., & Cappaert, M. 2006. Monitoring and Assessment Program — Surface Waters Western Pilot Study: field operations manual for wadeable streams. EPA/620/R-06/003. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- Poff, N. L. 1997. Landscape filters and species traits: towards mechanistic understanding and prediction in stream ecology. *Journal of the North American Benthological Society*, 16(2), 391–409. DOI: 10.2307/1468026
- Pont, D., Hughes, R. M., Whittier, T. R., Schmutz, S. 2009. A predictive index of biotic integrity model for aquatic vertebrate assemblages of western U.S. streams. *Transactions of the American Fisheries Society*, 138, 292–305. DOI: 10.1577/T07-277.1
- Prudente, B. S., Pompeu, P. S., & Montag, L. 2018. Using multimetric indices to assess the effect of reduced impact logging on ecological integrity of Amazonian streams. *Ecological Indicators*, 91, 315–323. DOI: 10.1016/j.ecolind.2018.04.020
- Pusey, B. J., Kennard, M. J., Arthur, J. M., & Arthington, A. H. 1998. Quantitative sampling of stream fish assemblages: Single- vs multiple-pass electrofishing. *Austral Ecology*, 23(4), 365–374. DOI: 10.1111/j.1442-9993.1998.tb00741.x
- Reid, A. J., Carlson, A. K., Creed, I. F., Eliason, E. J., Gell, P. A., Johnson, P. T., Kidd, K. A., MacCormack, T. J., Olden, J. D., Ormerod, S. J., Smol, J. P., Taylor, W. W., Tockner, K., Vermaire, J. C., Dudgeon, D., & Cooke, S. J. 2019. Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews*, 94(3), 849–873. DOI: 10.1111/brv.12480
- Reynolds, L., Herlihy, A. T., Kaufmann, P. R., Gregory, S. V., & Hughes, R. M. 2003. Electrofishing effort requirements for assessing species richness and biotic integrity in western Oregon streams. *North American Journal of Fisheries Management*, 23, 450–461. DOI: <https://doi.org/fdppv6>
- Roth, N. E., Allan, J. D., & Erickson, D. L. 1996. Landscape influences on stream biotic integrity

- assessed at multiple spatial scales. *Landscape Ecology*, 11, 141–156. DOI: 10.1007/BF02447513
- Sales, N. G., Mariani, S., Salvador, G. N., Pessali, T. C. & Carvalho, D.C. 2018. Hidden Diversity Hampers Conservation Efforts in a Highly Impacted Neotropical River System. *Frontiers in Genetics*. 9:271. DOI: 10.3389/fgene.2018.00271
- Santos, A. C., & Caiola, N. 2020. Environmental typology of rivers from the Brazilian semiarid as a first step for the application of the index of biotic integrity: The case of the Chapada Diamantina. *River Research and Applications*, 36(7), 1151-1159. DOI: 10.1002/rra.3613
- Severi, W., Hickson, R. G., & Maranhão, T. C. F. 1995. Use of electric fishing for fish fauna survey in southern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 55, 631–660.
- Simon, T. P. 1998. Assessing the sustainability and biological integrity of water resources using fish communities. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Stewart, P. A. 1975. Catch selectivity by electrical fishing systems. *ICES Journal of Marine Science*, 36(2), 106-109. DOI: 10.1093/icesjms/36.2.106
- Suganuma, M. S., Torezan, J. M. D., Cavalheiro, A. L., Vanzela, A. L. L., & Benato, T. 2008. Comparando metodologias para avaliar a cobertura do dossel e a luminosidade no sub-bosque de um reflorestamento e uma floresta madura. *Revista Árvore*, 32(2), 377-385. DOI: 10.1590/S0100-67622008000200020
- Summerfelt, R. C. & Smith, L. S. 1990. Anesthesia, Surgery, and related techniques. In: Schreck, C.B. & Moyle, P.B. *Methods for Fish Biology*, American Fisheries Society, Bethesda. p. 213-272.
- Terra, B. D. F., Hughes, R. M., & Araújo, F. G. 2013a. Sampling sufficiency for fish assemblage surveys of Atlantic Forest streams, southeastern Brazil. *Fisheries*, 38, 150–158. DOI: 10.1080/03632415.2013.775572
- Terra, B. F., Hughes, R. M., & Araújo, F. G. 2016. Fish assemblages in Atlantic Forest streams: the relative influence of local and catchment environments on taxonomic and functional species. *Ecology of Freshwater Fish*, 25(4), 527–544. DOI: 10.1111/eff.12231
- Terra, B. F., Hughes, R. M., Francelino, M. R., & Araújo, F. G. 2013b. Assessment of biotic condition of Atlantic Rain Forest streams: a fish-based multimetric approach. *Ecological Indicators*, 34, 136–148. DOI: 10.1016/j.ecolind.2013.05.001
- Terra, B. F., Medeiros, E. S. F., Botero, J. I. S, Novaes, J. L. C., & Rezende, C. F. 2021. Ecologia de peixes de riachos intermitentes. *Oecologia Australis*, 25(2), 607–621. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.23
- Tichý, L. 2014. GLAMA-Gap Light Analysis Mobile Application; Department of Botany and Zoology: Brno, Czech Republic.
- Tichý, L. 2016. Field test of canopy cover estimation by hemispherical photographs taken with a smartphone. *Journal of Vegetation Science*, 27, 427–435. DOI: 10.1111/jvs.12350
- Townsend, C. R., & Hildrew, A. G. 1994. Species traits in relation to a habitat template for river systems. *Freshwater Biology*, 31(3), 265–275. DOI: 10.1111/j.1365-2427.1994.tb01740.x
- Trujillo, F. A. 1974. *Metodologia da ciência*. 3. ed. Rio de Janeiro: Kennedy. p. 242
- Uieda, V. S., & Castro, R. M. C. 1999. Coleta e fixação de peixes de riachos. In: E. P. Caramaschi, R. Mazzoni & P. R. Peres-Neto (Eds.), *Ecologia de peixes de riachos*. pp. 01–22. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro (Oecologia Brasiliensis, 6).
- Waters, W. W., & Erman, D. C. 1990. Research methods: concept and design. In: C. B. Schreck, & P. B. Moyle (Eds), *Methods for fish biology*. pp. 1–34. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Whittier, T. R., Hughes, R. M., Stoddard, J. L., Lomnický, G. A., Peck, D. V., & Herlihy, A. T. 2007. A structured approach to developing indices of biotic integrity: three examples from western USA streams and rivers. *Transactions of the American Fisheries Society*, 136, 718–735. DOI: 10.1577/T06-128.1
- Wiley, M. L., & Tsai, C. F. 1983. The relative efficiencies of electrofishing vs. seines in piedmont streams of Maryland. *North American Journal of Fisheries Management*, 3(3), 243–253. DOI: <https://doi.org/bbpvf8>
- Willis, D. W., & Murphy, B. R. 1996. “Planning for sampling”. In: B. R. Murphy, & D. W. Willis (Eds.), *Fisheries techniques*. pp. 1–15. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society.
- Winemiller, K. O., Agostinho, A. A., & Caramaschi,

E. P. 2008. Fish ecology in tropical streams. In: D. David. (Ed.), Tropical stream ecology. pp. 107–146. London: Elsevier.

Xenopoulos, M. A., & Lodge, D. M. 2006. Going with the flow: using species–discharge relationships to forecast losses in fish biodiversity. *Ecology*, 87(8), 1907–1914. DOI: <https://doi.org/c2cp65>

*Submitted: 29 March 2021*

*Accepted: 6 May 2021*

*Associate Editors: Érica Pellegrini Caramaschi e  
Rafael Pereira Leitão*