**“Box” explicativo 2: Coleta, procedimentos de laboratório e análise**

*Em cada riacho, a coleta de peixes e de seus recursos alimentares devem ser feitas, preferencialmente, no mesmo dia, já que pode haver variações isotópicas diariamente dos recursos. Para AIE em riachos é essencial a coleta de recursos basais, ou seja, os produtores primários tanto autóctones, como perifíton e macrófitas, quanto alóctones, como folhiço e folhas frescas (C3 e C4). Dependendo do estudo e da dieta potencial da espécie de peixe, outros recursos alimentares devem ser coletados, como matéria orgânica particulada e os macroinvertebrados. A coleta desses recursos pode ser qualitativa ou quantitativa, dependendo dos objetivos do estudo. Amostradores do tipo Loeb para coleta do perifíton (Moulton et al. 2009), Surber ou core para coleta dos macroinvertebrados e matéria orgânica particulada bentônica podem ser utilizados para as coletas quantitativas, isto é, por unidade de área. Uma vez que o álcool e, principalmente, o formol podem alterar a razão isotópica das amostras, convém não fixá-las, mas sim**congelá-las ou processá-las imediatamente****.*** *O perifíton é composto por algas, bactérias, fungos, outros microrganismos e matéria orgânica sedimentada, então pode ser necessário fazer a separação de algas do restante deste material por centrifugação da amostra em sílica coloidal (Hamilton et al. 2005) para se obter uma amostra mais pura em algas. Contudo, o valor isotópico de organismos pastadores obrigatórios podem ser utilizados como proxy (substituto) dos valores isotópicos de algas após a correção do FET (Neres-Lima et al. 2017).*

*Os peixes devem ser dissecados para retirada de amostra do tecido. Geralmente utiliza-se partes do tecido muscular (tecidos distintos têm diferentes taxas de reposição, consequentemente refletem diferentes tempos de assimilação de recursos).  No caso de tecidos com alto teor de lipídios, pode ser necessária sua extração ou utilização de correções matemáticas, já que os lipídios podem enviesar os valores de 13C. Geralmente, amostras do corpo inteiro dos macroinvertebrados são utilizadas para as análises de isótopos estáveis, mas o conteúdo do trato digestório desses organismos deve ser evitado, deixando o animal em jejum, esvaziando o trato ou removendo o trato por dissecção.*

*As amostras dos consumidores e recursos, após secas e maceradas até virar um pó homogêneo, são transferidas para cápsulas de estanho e pesadas em balança de precisão para serem analisadas quanto às suas composições isotópicas em um espectrômetro de massas de fluxo contínuo acoplado a um analisador elementar. As amostras de peso conhecido são então inseridas no aparelho e incineradas até se transformarem em um gás. O gás é ionizado em um filamento quente e os diferentes íons que formam esse gás são guiados, dependendo da sua massa ou carga, para diferentes coletores através de um ímã. Se um íon é mais leve, é desviado primeiro para seu coletor. Um software acoplado ao aparelho distingue as proporções de átomos leves e pesados e então calcula a composição isotópica.*