



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade

**Predação de moluscos invasores pela ictiofauna: análise no rio Araguari e revisão
na bacia hidrográfica do Paraná**

Barbara Regina Fernandes da Cruz

Uberlândia – Minas Gerais

2025

Barbara Regina Fernandes da Cruz

**Predação de moluscos invasores pela ictiofauna: análise no rio Araguari e revisão
na bacia hidrográfica do Paraná**

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade para a obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Giuliano Buzá Jacobucci

Coorientador: Prof. Dr. Victor Alberto Tagliacollo

Uberlândia – Minas Gerais

Junho, 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia,
Conservação e Biodiversidade

Av. Pará, 1720, Bloco 2D, Sala 26 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320
Telefone: (34) 3225-8641 - www.ppgeco.ib.ufu.br - ecologia@umuarama.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ecologia, Conservação e Biodiversidade				
Defesa de:	Tese, número 103, PPGECEB				
Data:	vinte e oito de julho de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	09:30	Hora de encerramento:	13:30
Matrícula do Discente:	12123ECR003				
Nome do Discente:	Barbara Regina Fernandes da Cruz				
Título do Trabalho:	Predação de moluscos invasores pela ictiofauna: análise no rio Araguari e revisão na bacia hidrográfica do Paraná				
Área de concentração:	Ecologia				
Linha de pesquisa:	Ecologia de comunidades e biodiversidade				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Papel trófico de moluscos invasores na dieta de peixes e decápodes				

Reuniu-se por videoconferência a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade assim composta pelos doutores: Rosa Maria Dias - UEMS; Mayara Pereira Neves - UFPF; Junior Alberto Chuctaya Vasquez - IPA; Katia Gomes Facure Giarretta - UFU e Giuliano Buzá Jacobucci - INBIO/UFU, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Giuliano Buzá Jacobucci, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público e concedeu ao(à) Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as) que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Giuliano Buza Jacobucci, Presidente**, em 30/07/2025, às 09:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mayara Pereira Neves, Usuário Externo**, em 31/07/2025, às 10:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Katia Gomes Facure Giarretta, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/07/2025, às 10:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Junior Alberto Chuctaya Vasquez, Usuário Externo**, em 31/07/2025, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosa Maria Dias, Usuário Externo**, em 03/08/2025, às 19:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6492521** e o código CRC **7731A921**.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C957p
2025 Cruz, Barbara Regina Fernandes da, 1994-
Predação de moluscos invasores pela ictiofauna [recurso eletrônico] :
análise no rio Araguari e revisão na bacia hidrográfica / Barbara Regina
Fernandes da Cruz. - 2025.

Orientador: Giuliano Buzá Jacobucci.
Coorientador: Victor Alberto Tagliacollo.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2025.5038>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Ecologia. I. Jacobucci, Giuliano Buzá, 1969-, (Orient.). II.
Tagliacollo, Victor Alberto, 1985-, (Coorient.). III. Universidade Federal
de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e
Biodiversidade. IV. Título.

CDU: 574

André Carlos Francisco
Bibliotecário-Documentalista - CRB-6/3408

Agradecimentos

Ao olhar para trás e refletir sobre essa jornada intensa e transformadora, sinto-me profundamente grata a todas as pessoas que, de diferentes formas, contribuíram para a realização desta tese.

Em primeiro lugar, agradeço à minha mãe, Claudete Fernandes, por todo amor, apoio incondicional e por sempre incentivar minha busca pelo conhecimento. Estendo minha gratidão a toda a minha família, pelo afeto constante e pelo cuidado com minha vida pessoal e acadêmica ao longo desses anos.

Aos meus amigos tão amorosos e presentes, que me ofereceram abrigo e acolhimento nos momentos mais difíceis, — seja em uma conversa, uma risada, um abraço ou uma simples mensagem — meu sincero agradecimento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Giuliano, agradeço pela atenção, confiança e generosidade na partilha de conhecimento. Seu suporte foi essencial para minha permanência e desenvolvimento profissional ao longo dessa trajetória.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Victor Alberto Tagliacollo, agradeço pelas valiosas contribuições e pelo apoio fundamental nos últimos dois anos, que foram determinantes para a concretização deste trabalho.

Minha enorme gratidão também a Dra. Rafaela Brazil, ao Daniel Duarte, M.e. Virgílio Teixeira e às graduandas Rayanne Alencar e Ana Clara Regina, pelo auxílio nas atividades de campo e laboratório. O comprometimento de vocês fez toda a diferença.

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pela estrutura oferecida, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro na forma de bolsa, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [CNPq - 441142/2020-6] e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte [APQ-03372-21] e que viabilizaram a realização desta pesquisa.

Concluir esta etapa representa mais do que uma realização acadêmica — é a concretização de um sonho construído com esforço, resiliência e afeto. Desejo que minha trajetória possa encorajar outras mulheres, especialmente mulheres pretas, a ocuparem seus espaços na ciência, reafirmando que cada caminho é válido, mesmo com os desafios que surgem ao longo do percurso.

A todos e todas que fizeram parte disso, meu mais profundo e sincero agradecimento.

*Minha mãe não teve a chance de escrever uma tese, mas me deu o lápis.
Com ele, aprendi a traçar caminhos que ela só pôde sonhar.
Cada linha que escrevo carrega também a história dela,
feita de silêncios, lutas e amor que me sustentou até aqui.*

Sumário

Introdução geral.....	9
Referências	12
Capítulo 1	14
Moluscos invasores na dieta de peixes neotropicais: uma revisão de padrões de consumo na bacia do rio Paraná.....	14
Resumo.....	14
Abstract	15
Introdução.....	16
Moluscos invasores na bacia do Paraná	17
Predação de moluscos pela ictiofauna: interações tróficas e estratégias alimentares.....	20
Materiais e Métodos	22
Resultados	22
Discussão.....	29
Conclusão	33
Referências Bibliográficas.....	33
Capítulo 2	40
Predation of invasive mollusks by fish in a dam-impacted river in southeastern Brazil.....	40
Abstract	40
Introduction	42
Materials and methods	44
Study area	44
Ichthyofauna diet.....	45
Colonization experiment of <i>Limnoperna fortunei</i>	46
Sampling of benthic organisms and larval density of <i>L. fortunei</i>	48
Data Analysis.....	49
Results	51
Diet of the ichthyofauna upstream and downstream of the Amador Aguiar II dam	51
Fouling experiment of <i>Limnoperna fortunei</i>	56
Benthic Community	56
Larval density of <i>Limnoperna fortunei</i>	59
Discussion	60
Conclusion.....	65
Acknowledgements.....	66
References	66

Supplementary material	70
Capítulo 3	75
A utilização de DNA <i>metabarcoding</i> na análise de invertebrados em dieta de peixes do rio Araguari, Minas Gerais	75
Resumo.....	75
Abstract	76
Introdução.....	77
Material e métodos.....	79
Área de estudo	79
DNA <i>metabarcoding</i>	80
Amplificação em massa do DNA.....	81
Preparo de bibliotecas e sequenciamento de DNA	82
Análises de Bioinformática.....	83
Curva de rarefação	84
Resultados	87
Discussão.....	93
Conclusão	96
Referências	97
Conclusão geral	99
Sugestões para pesquisas futuras	100

Introdução geral

A introdução e o estabelecimento de espécies invasoras em ecossistemas aquáticos têm sido reconhecidos como uma das principais causas de transformação da biodiversidade e do funcionamento ecológico nesses ambientes (Strayer, 2010; Ricciardi e MacIsaac, 2011). Dentre os vetores mais influentes nesse processo está a construção de grandes barragens, especialmente as usinas hidrelétricas (UHEs), que promovem a conversão de ambientes lóticos em sistemas lênticos artificiais, resultando em mudanças profundas na estrutura física, na composição biótica e nos processos ecológicos (Stanford e Ward, 2001; Nilsson et al., 2005; Rodrigues e Silva, 2012).

A modificação do regime hidrológico imposta por barramentos altera a dinâmica de nutrientes, os fluxos de energia, a retenção de sedimentos e a conectividade longitudinal dos rios (Rodrigues e Silva, 2012; Havel et al., 2005; Alho, 2020), ao mesmo tempo em que favorece a proliferação de espécies oportunistas e a introdução de organismos não nativos (Linares et al., 2020). Tais alterações promovem a substituição de espécies nativas por invasoras, reorganizando as redes tróficas e interferindo nas interações ecológicas estabelecidas. Esses efeitos são particularmente evidentes no rio Araguari (MG), afluente do rio Paranaíba, na região do Alto Paraná. O rio Araguari é um sistema caracterizado por um conjunto de UHEs dispostas em cascata — Nova Ponte, Miranda, Amador Aguiar I e II — que transformaram a paisagem fluvial e alteraram significativamente as condições ecológicas regionais (Loures e Pompeu, 2019; Santiago do Vale et al., 2021).

As perturbações associadas a essas barragens incluem o alagamento de áreas ripárias, a eliminação de vegetação aquática, a modificação dos padrões de correnteza e a elevação na concentração de nutrientes, promovendo a colonização por espécies invasoras bem adaptadas a ambientes artificiais (Rodrigues e Silva, 2012; Linares et al., 2020). No contexto do rio Araguari, destacam-se três moluscos invasores de origem asiática: o gastrópode *Melanoides tuberculata* e os bivalves *Corbicula fluminea* e *Limnoperna fortunei* (Maroneze et al., 2011; Linares et al., 2020).

Esses moluscos invasores competem por espaço e alimento com espécies nativas, podem servir como vetores de doenças e influenciam diretamente as interações tróficas em ambientes invadidos (Oliveira et al., 2010; Strayer, 2010). Entretanto, embora sejam frequentemente descritos como agentes de perturbação, há evidências de que esses

organismos também têm sido integrados às cadeias alimentares locais, atuando como novo recurso alimentar para predadores nativos, incluindo peixes e decápodes (Montalto et al., 1999; de Ávila-Simas et al., 2019). Estudos demonstram, por exemplo, que juvenis e larvas de *L. fortunei* podem ser consumidos por diferentes grupos de predadores em ambientes dulcícolas tropicais, especialmente em regiões como a bacia do rio Paraná (Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015).

No caso dos peixes neotropicais, diversas espécies têm demonstrado plasticidade alimentar suficiente para incorporar moluscos invasores em sua dieta, especialmente em ambientes onde esses invertebrados estão amplamente disponíveis (Oliveira et al., 2010; de Ávila-Simas et al., 2019; González-Bergonzoni et al., 2020). Essa incorporação pode ocorrer em diferentes estágios ontogenéticos e em distintas guildas alimentares, incluindo espécies onívoras, bentívoras e carnívoras (Isaac et al., 2014; Rosa et al., 2018). No entanto, a magnitude e os efeitos dessa predação ainda são incertos, uma vez que, em muitos casos, a frequência de consumo é baixa e insuficiente para reduzir a densidade das populações invasoras (Ricciardi e MacIsaac, 2011; Rosa et al., 2021).

Além disso, lacunas metodológicas limitam o conhecimento sobre essas interações. As análises visuais tradicionais de conteúdo estomacal apresentam limitações quanto à detecção de presas pequenas, fragmentadas ou digeridas. Por isso, o uso de ferramentas moleculares como o DNA *metabarcoding* tem ganhado destaque, oferecendo maior resolução taxonômica e capacidade de detecção de presas crípticas ou não identificáveis morfologicamente (Nielsen et al., 2018; Bucklin et al., 2024).

Neste cenário, a presente tese teve como objetivo ampliar a compreensão sobre as interações tróficas entre peixes e moluscos invasores, por meio de uma abordagem integrada e multidisciplinar. Ao articular revisão bibliográfica, dados empíricos e análise molecular, esta tese oferece uma contribuição relevante ao campo da ecologia trófica e das invasões biológicas, com foco em ambientes dulcícolas tropicais sob influência de barragens. Os resultados obtidos não apenas aprofundam o entendimento das dinâmicas ecológicas entre predadores nativos e presas invasoras, como também fornecem subsídios para estratégias de monitoramento, conservação e manejo adaptativo da biodiversidade aquática.

Assim, este trabalho foi dividido em três capítulos, brevemente apresentados a seguir:

Capítulo 1 – Moluscos invasores na dieta de peixes neotropicais: um revisão de padrões de consumo na bacia do rio Paraná

No primeiro capítulo, realizamos uma revisão sistemática da literatura científica sobre o consumo de moluscos invasores por peixes na bacia do rio Paraná. Foram identificados as principais espécies consumidoras, os grupos tróficos envolvidos, os ambientes de ocorrência e a frequência relativa dos moluscos na dieta ictiofaunística. Além disso, discutimos os padrões espaciais de predação, os fatores que influenciam a incorporação desses invertebrados à dieta dos peixes e as possíveis implicações ecológicas dessas interações nos ecossistemas invadidos.

Capítulo 2 – Predação de moluscos invasores por peixes em um rio impactado por barragem no sudeste do Brasil

Neste capítulo, avaliamos a presença dos moluscos invasores *Melanooides tuberculata*, *Corbicula fluminea* e *Limnoperna fortunei* na dieta de peixes capturados na área da barragem de Amador Aguiar II, no rio Araguari (Minas Gerais). Foram comparados os trechos a montante e jusante da barragem quanto à composição alimentar da ictiofauna, com foco na variação da ocorrência de *L. fortunei*. As hipóteses testadas consideraram (i) a alta proporção de moluscos invasores na dieta dos peixes e (ii) uma menor representação de *L. fortunei* no trecho a montante, onde sua invasão é mais recente.

Capítulo 3 – A utilização de DNA *metabarcoding* na análise de invertebrados em dieta de peixes do rio Araguari, Minas Gerais

No terceiro capítulo, utilizamos a técnica de DNA *metabarcoding* para identificar os invertebrados presentes nos conteúdos estomacais de peixes da região da barragem de Amador Aguiar II. Este capítulo complementa o anterior ao empregar uma abordagem molecular mais sensível e abrangente. Foram comparadas a riqueza e a composição faunística detectadas com aquelas obtidas pelo método de análise visual do conteúdo estomacal, considerando os táxons em comum. Essa comparação visou avaliar a eficácia e a complementaridade das duas metodologias no contexto da ecologia trófica em ambientes impactados por espécies invasoras.

Referências

- Alho C.J. (2020) Hydropower dams and reservoirs and their impacts on Brazil's biodiversity and natural habitats: a review. *World J Adv Res Rev* 6:205-215. 10.30574/wjarr.2020.6.3.0197
- Bucklin, A., Batta-Lona, P. G., Questel, J. M., McMonagle, H., Wojcicki, M., Llopiz, J. K., Glancy, S., Caiger, P. E., Francolini, R., Govindarajan, A., Thorrold, S. R., Jech, M., Wiebe, P. H. (2024). Metabarcoding and morphological analysis of diets of mesopelagic fishes in the NW Atlantic Slope Water. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1411996. 10.3389/fmars.2024.1411996
- de Ávila-Simas, S., Reynalte-Tataje, D. A., Zaniboni-Filho, E. (2019). Fish predators of the golden mussel *Limnoperna fortunei* in different environments in a South American subtropical river. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45(2). 10.20950/1678-2305.2019.45.2.468
- González-Bergonzoni I, Silva I, Teixeira de Mello F, D'Anatro A, Boccardi L, Stebniki S, Brugnoli E, Tesitore G, Vidal N, Naya DE (2020) Evaluating the role of predatory fish controlling the invasion of the Asian golden mussel *Limnoperna fortunei* in a subtropical river. *Journal of Applied Ecology* 57(4): 717-728. doi: 10.1111/1365-2664.13573
- Havel, J., Lee, C., Vander Zanden, M. J. (2005). Do reservoirs facilitate invasions into landscapes? *BioScience*, 55(6), 518–525. <https://academic.oup.com/bioscience/article-abstract/55/6/518/363697>
- Isaac, A., Fernandes, A., Ganassin, M. J. M., Hahn, N. S. (2014). Three invasive species occurring in the diets of fishes in a Neotropical floodplain. *Brazilian Journal of Biology*, 74(Suppl 1), S016–S022. 10.1590/1519-6984.08813
- Linares, M. S., Macedo, D. R., Massara, R. L., Callisto, M. (2020). Why are they here? Local variables explain the distribution of invasive mollusk species in neotropical hydropower reservoirs. *Ecological Indicators*, 117, 106674. 10.1016/j.ecolind.2020.106674
- Loures, R. C., Pompeu, P. S. (2019). Temporal changes in fish diversity in lotic and lentic environments along a reservoir cascade. *Freshwater Biology*, 64(10), 1806–1820. 10.1111/FWB.13372
- Maroneze, D.M, Coscarelli, D., Vidigal, T.H.D.A, Callisto, M. (2011). First record of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the drainage basin of the Araguari River, Minas Gerais, Brazil. *Brazilian journal of Biology* 71: 221-222. 10.1590/S1519-69842011000100033
- Montalto, L., Oliveros, O. B., De Drago, I. E., Demonte, L. D. (1999). Peces del río Paraná Medio predadores de una especie invasora: *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae). *Revista FABICIB*, 3, 85-101.

Nielsen, J. M., Clare, E. L., Hayden, B., Brett, M. T., Kratina, P. (2018). Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(2), 278–291. 10.1111/2041-210X.12869

Nilsson, C., Reidy, C. A., Dynesius, M., Revenga, C. (2005). Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. *Science*, 308(5720), 405–408. 10.1126/SCIENCE.1107887

Oliveira, M. D., Calheiros, D. F., Jacobi, C. M., Hamilton, S. K. (2010). Abiotic factors controlling the establishment and abundance of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei*. *Biological invasions*, 13, 717–729. 10.1007/s10530-010-9862-0

Paolucci, E. M., Thuesen, E. V. (2015). Trophic Relationships of *Limnoperna fortunei* with Larval Fishes. In D. Boltovskoy (Ed.), *Limnoperna fortunei: the ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*. Springer, 211–229

Paolucci, E. M., Almada, P., Cataldo, D. H., Boltovskoy, D. (2015). Native fish larvae take advantage of introduced mussel larvae: field evidence of feeding preferences on veligers of the introduced freshwater bivalve *Limnoperna fortunei*. *Hydrobiologia*, 745, 211–224. 10.1007/s10750-014-2116-z

Ricciardi A., MacIsaac H.J (2011) Impacts of biological invasions on freshwater ecosystems. Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton 1: 211–224. doi: 10.1002/9781444329988.ch16

Rodrigues, S. C., Silva, T. I. (2012). Dam construction and loss of geodiversity in the araguari river basin, brazil. *Land Degradation and Development*, 23(4), 419–426. 10.1002/ldr.2157

Rosa DM, de Sene AM, Moreira MZ, Pompeu PS (2021) Non-native prey species supporting fish assemblage biomass in a Neotropical reservoir. *Biological Invasions*, 23: 2355–2370. doi:10.1007/s10530-021-02510-x

Santiago do Vale, V., Raymundo, D., Afonso do Prado Júnior, J., Cristina da Silva Santos, L., Paulo Costa, J., Eugênio Alves Macedo Oliveira, P., Gabriele Vaz Souza, A., Júnior, P. (2021). Impacts on seasonal dry forests located for several years near dams in the Araguari River Basin. *Scientia Forestalis*, 49, 130. 10.18671/scifor.v49n130

Stanford, J. A., Ward, J. V. (2001). Revisiting the serial discontinuity concept. *Regulated Rivers: Research & Management*, 17(4–5), 303–310. 10.1002/RRR.659

Strayer, D. L. (2010). Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology*, 55(s1), 152–174. 10.1111/j.1365-2427.2009.02380.x

Capítulo 1

Moluscos invasores na dieta de peixes neotropicais: uma revisão de padrões de consumo na bacia do rio Paraná

Resumo

A introdução de moluscos invasores em ecossistemas aquáticos tem provocado diversos impactos ecológicos, alterando a estrutura e o funcionamento das comunidades nativas. Na bacia do rio Paraná, espécies como *Melanooides tuberculata*, *Corbicula fluminea* e *Limnoperna fortunei* têm se estabelecido com sucesso, tornando-se abundantes em diferentes habitats. Este capítulo apresenta uma revisão da literatura sobre a presença desses moluscos na dieta de peixes da bacia do Paraná, com o objetivo de identificar padrões de predação, espécies consumidoras e possíveis implicações ecológicas da incorporação de invertebrados invasores na alimentação da ictiofauna. A revisão considerou 16 estudos publicados entre 1999 e 2025, que aplicaram métodos visuais de análise de conteúdo estomacal em diferentes regiões da bacia. Os resultados mostram que diversos grupos de peixes, especialmente onívoros e consumidores de invertebrados, incluem moluscos invasores em sua dieta, embora a frequência de consumo varie entre espécies, ambientes e estágios de invasão. *Limnoperna fortunei* é a espécie mais frequentemente registrada, inclusive em áreas onde a invasão é recente, o que sugere um oportunismo trófico por parte da ictiofauna. A presença constante desses moluscos na dieta de peixes pode indicar sua integração às cadeias alimentares locais, com possíveis consequências para a dinâmica de populações nativas e o fluxo de energia nos ecossistemas. Conclui-se que, embora a predação por peixes possa atuar como uma forma de controle natural, ela não parece limitar a expansão dos moluscos invasores como em situações de baixa taxa de consumo, ausência de predadores especializados e ciclo reprodutivo rápido dos moluscos, reforçando a necessidade de estratégias de manejo integradas e estudos que avaliem os efeitos tróficos de longo prazo dessas interações.

Palavras-chave: Ictiofauna; predação; interações tróficas; espécies exóticas; análise alimentar

Abstract

The introduction of invasive mollusks into aquatic ecosystems has caused several ecological impacts, altering the structure and functioning of native communities. In the Paraná River basin, species such as *Melanoides tuberculata*, *Corbicula fluminea*, and *Limnoperna fortunei* have successfully established and become abundant in various habitats. This chapter presents a literature review on the occurrence of these mollusks in the diet of fish from the Paraná basin, aiming to identify predation patterns, consumer species, and potential ecological implications of incorporating exotic invertebrates into the diet of the ichthyofauna. This review considered 16 studies published between 1999 and 2025, which applied visual methods of stomach content analysis in different regions of the basin. The results show that several fish groups, especially omnivores and invertebrate feeders, include invasive mollusks in their diet, although consumption frequency varies among species, habitats, and invasion stages. *L. fortunei* is the most frequently recorded species, even in recently invaded areas, suggesting rapid trophic adaptation by the fish assemblage. The consistent presence of these mollusks in fish diets may indicate their integration into local food webs, with potential consequences for native population dynamics and energy flow. Although predation by fish may act as a form of natural control, it does not appear to limit the expansion of invasive mollusks, highlighting the need for integrated management strategies and further studies on the long-term trophic effects of these interactions.

Keywords: Ichthyofauna; predation; trophic interactions; exotic species; diet analysis

Introdução

Nas últimas décadas, a bacia do rio Paraná tem se destacado como uma das regiões mais afetadas por invasões biológicas em ecossistemas de água doce na América do Sul (Darrigran e Damborenea, 2011; Miyahira et al., 2020). Entre os principais organismos invasores presentes nesse sistema, destacam-se os moluscos não nativos *Limnoperna fortunei*, *Melanoides tuberculata* e *Corbicula fluminea*, cuja expansão tem sido amplamente facilitada por atividades humanas como a construção de barragens, o transporte fluvial e a transposição de bacias hidrográficas (Miyahira et al., 2020; Mansur et al., 2012). Paralelamente, a ictiofauna nativa da bacia do Paraná, reconhecida por sua diversidade funcional e importância ecológica, tem respondido de formas diversas à presença dessas novas presas em seu ambiente (García e Protogino, 2005; González-Bergonzoni et al., 2020).

A interação entre predadores e presas é um dos principais motores da dinâmica ecológica, influenciando a estrutura trófica e a estabilidade dos ecossistemas (Strayer, 2010). Em ambientes aquáticos, as relações entre peixes e macroinvertebrados — incluindo moluscos — podem determinar padrões de coexistência, regulação populacional e fluxos de energia (Ricciardi e MacIsaac, 2011). No caso de espécies invasoras, o consumo por predadores nativos tem sido apontado como um possível mecanismo de mitigação dos impactos ecológicos, embora sua eficácia dependa de fatores como a densidade dos invasores, a capacidade de predação e a disponibilidade de presas alternativas (González-Bergonzoni et al., 2020; Glassic et al., 2023).

Além das alterações tróficas, a presença de moluscos invasores na bacia do Paraná também tem provocado impactos físicos e químicos relevantes para a estrutura dos ecossistemas aquáticos, com consequências que vão desde a modificação da composição bentônica até a bioacumulação de metais pesados e o entupimento de estruturas artificiais (Miyahira et al., 2020; Darrigran e Damborenea, 2011). Apesar disso, estudos vêm mostrando que algumas espécies de peixes têm incorporado esses moluscos em sua dieta, o que pode representar um oportunismo trófico à mudança na disponibilidade de recursos alimentares (García e Protogino, 2005; González-Bergonzoni et al., 2020). Além disso, a plasticidade alimentar de certos predadores pode influenciar diretamente a relevância

trófica desses invasores e, em alguns casos, contribuir para sua supressão local (Glassic et al., 2023; Ricciardi e MacIsaac, 2011).

Diante disso, torna-se necessário compreender o papel que os moluscos invasores desempenham na dieta da ictiofauna regional, especialmente em uma bacia hidrográfica de elevada complexidade ecológica e forte pressão antrópica como a do Paraná (Miyahira et al., 2020; Mansur et al., 2012). Uma revisão da literatura sobre esse tema pode oferecer subsídios para a formulação de estratégias de manejo e conservação, além de ampliar o conhecimento sobre os efeitos ecológicos das invasões biológicas em sistemas tropicais e subtropicais (Ricciardi e MacIsaac, 2011).

Nesse contexto, este capítulo tem como objetivo revisar a literatura científica sobre o consumo de moluscos invasores pela ictiofauna da bacia do rio Paraná. Especificamente, busca-se: (i) identificar, por meio de revisão bibliográfica, as espécies de peixes que consomem moluscos invasores; e (ii) avaliar a contribuição desses moluscos para a dieta da ictiofauna em termos de frequência e relevância trófica. As hipóteses propostas são: (i) os moluscos invasores representam uma importante fonte alimentar para a ictiofauna da bacia do Paraná; e (ii) o consumo de moluscos invasores pela ictiofauna varia conforme a disponibilidade local dos invasores, a estrutura da comunidade de invertebrados nativos e os hábitos alimentares dos peixes predadores.

Moluscos invasores na bacia do Paraná

A bacia do rio Paraná tem sido amplamente afetada pela introdução e dispersão de espécies invasoras de moluscos de água doce, sendo considerada uma das regiões mais vulneráveis a processos de bioinvasão no continente sul-americano (Oliveira et al., 2015; Coelho et al., 2018; Sousa et al., 2024). Cinco espécies se destacam pela sua ampla distribuição, impacto ecológico e alta capacidade de colonização: os bivalves *Limnoperna fortunei* (mexilhão-dourado) e *Corbicula fluminea* (corbícula asiática) e os gastrópodes *Melanoides tuberculata*, *Helisoma duryi* e *Physa acuta* (Cataldo e Boltovskoy, 1998; Oliveira et al., 2011; Coelho et al., 2018; Miyahira et al., 2020).

Esses moluscos invasores compartilham características típicas de espécies bem-sucedidas em ambientes invadidos, como elevadas taxas de fecundidade, ampla tolerância ambiental e rápida dispersão, muitas vezes facilitada por ações humanas como navegação,

aquarismo ou uso de estruturas artificiais (Oliveira et al., 2015; Sousa et al., 2024; Durán-Rodríguez et al., 2024).

Originário do sudeste asiático, *L. fortunei* foi detectado pela primeira vez na bacia do rio da Prata na década de 1990 e, desde então, expandiu-se rapidamente para diversas bacias hidrográficas sul-americanas, incluindo a do Paraná (Boltovskoy e Cataldo, 1999; Oliveira et al., 2015). A dispersão dessa espécie ocorre tanto de forma natural quanto antrópica, especialmente por meio de embarcações, equipamentos náuticos e estruturas fixas, como represas e dutos (Oliveira et al., 2011; Oliveira et al., 2015).

A espécie apresenta notável capacidade de aderência a substratos duros, formando colônias densas sobre rochas, conchas, raízes e até outros organismos bentônicos, o que favorece sua fixação e expansão territorial (Oliveira et al., 2015). Em ambientes tropicais e subtropicais, *L. fortunei* pode se reproduzir continuamente ao longo do ano, com altas taxas de crescimento populacional (Boltovskoy e Cataldo, 1999; Oliveira et al., 2011).

Seus impactos ecológicos são extensos, incluindo a obstrução de estruturas hidráulicas, alteração da qualidade da água, modificação na transparência e disponibilidade de nutrientes e mudanças na estrutura da comunidade bentônica (Oliveira et al., 2011; Oliveira et al., 2015). Além disso, há indícios de que sua introdução criou novas oportunidades alimentares para predadores nativos, como algumas espécies de peixes da bacia do Paraná (Sylvester et al., 2007).

Corbicula fluminea, originária da Ásia, foi introduzida na América do Sul décadas antes de *L. fortunei* e é amplamente distribuída em rios e reservatórios brasileiros, incluindo o sistema do Paraná (Cataldo e Boltovskoy, 1998; Maroneze et al., 2011). Essa espécie habita principalmente substratos arenosos e lamosos de ambientes lênticos ou de baixa velocidade de corrente, onde pode formar populações densas (Paschoal et al., 2015).

A alta densidade de *C. fluminea* pode gerar efeitos negativos sobre espécies nativas por meio da competição por espaço e alimento, além de alterar o funcionamento do ecossistema bentônico (Ferreira-Rodríguez et al., 2018). Estudos também mostram que flutuações nos níveis da água podem afetar diretamente a densidade dessa espécie, uma vez que ela é sensível a eventos de estresse hídrico (Paschoal et al., 2015). Na bacia do Paraná, a presença simultânea de *L. fortunei* e *C. fluminea* pode levar a interações

competitivas, nas quais o primeiro tende a sobrepor fisicamente o segundo, agravando o impacto ecológico (Oliveira et al., 2015; Ferreira-Rodríguez et al., 2018).

O gastrópode *Melanoides tuberculata* é originário do norte da África e do sul da Ásia, tendo sido introduzido em ambientes dulcícolas brasileiros principalmente via aquarismo (Coelho et al., 2018; Sousa et al., 2024). A espécie apresenta reprodução partenogenética e elevada tolerância ambiental, o que favorece seu estabelecimento em uma ampla variedade de habitats, inclusive em áreas urbanas e canais de irrigação (Coelho et al., 2018; Durán-Rodríguez et al., 2024).

Sua presença tem sido confirmada em múltiplas bacias hidrográficas, incluindo a do Paraná, onde ocupa ambientes lênticos e lêntico-lóticos (Coelho et al., 2018; Sousa et al., 2024). Estudos de modelagem geoespacial indicam um alto potencial de sobreposição com a distribuição de gastrópodes nativos, sugerindo risco de competição e substituição de espécies locais (Sousa et al., 2024).

Além disso, *M. tuberculata* é reconhecida como hospedeira intermediária de trematódeos parasitas, o que representa uma ameaça adicional à fauna nativa de vertebrados aquáticos (Durán-Rodríguez et al., 2024). Embora existam poucos registros de sua predação por peixes na bacia do Paraná, sua abundância e ampla distribuição podem gerar implicações ecológicas indiretas relevantes (Coelho et al., 2018; Sousa et al., 2024).

Physa acuta, originária da América do Norte, é uma espécie de gastrópode invasora amplamente registrada em ambientes lênticos no Brasil, incluindo reservatórios do baixo rio Tietê (França et al., 2007). Trata-se de um molusco pulmonado que habita principalmente margens rasas com vegetação aquática, tolerando ampla variação de condições ambientais. Sua presença tem sido associada a alterações na composição das comunidades bentônicas, competindo com espécies nativas por espaço e recursos. Além disso, a capacidade de rápida reprodução e dispersão contribui para sua ampla distribuição e potencial impacto ecológico em ecossistemas aquáticos impactados por atividades humanas (França et al., 2007).

Helisoma duryi, gastrópode planorbídeo originário da América do Norte, foi registrado pela primeira vez em ambiente natural no Brasil em Juiz de Fora, Minas Gerais

(Paraense, 1976). Desde então, a espécie tem sido registrada em diversas regiões do país, com uma expansão notável em ambientes lênticos e artificiais, como tanques, canais e reservatórios (Fernandez et al., 2010). *Helisoma duryi* possui ampla tolerância a variações físico-químicas da água, o que favorece sua dispersão e colonização de novos habitats. Devido a isso, sua presença pode representar risco ecológico ao competir com espécies nativas por recursos e espaço, além de contribuir para a homogeneização da malacofauna local. A facilidade de dispersão por meio de atividades humanas, como o comércio de plantas aquáticas ornamentais, também tem sido apontada como um dos principais vetores da sua introdução (Fernandez et al., 2010).

Predação de moluscos pela ictiofauna: interações tróficas e estratégias alimentares

A predação de moluscos por peixes em ambientes dulcícolas tem sido documentada em diferentes regiões do mundo, sendo considerada uma interação trófica relevante, especialmente frente ao avanço de espécies invasoras (Meira et al., 2024; Magoulick e Lewis, 2002). No Brasil, estudos demonstram que várias espécies de peixes da bacia do rio Paraná incorporam moluscos, como *L. fortunei* e *C. fluminea*, em suas dietas, o que sugere um potencial papel no controle natural dessas populações invasoras (de Oliveira et al., 2010).

Essas interações entre peixes e moluscos envolvem características morfofuncionais associadas à dieta bentívora, como o desenvolvimento de estruturas bucais capazes de triturar ou aspirar presas de concha dura (Peretti e Andrian, 2008; Pessanha et al., 2015). Espécies com especialização invertívora ou carnívora, como *Serrasalmus marginatus* e *Hoplias* aff. *malabaricus*, apresentam características morfofuncionais que favorecem a manipulação e ingestão de presas bentônicas, incluindo moluscos (Peretti e Andrian, 2008).

Bivalves e gastrópodes são consumidos por uma ampla diversidade de peixes ao redor do mundo, embora a intensidade da predação dependa da disponibilidade de presas, do tipo de substrato e da experiência alimentar dos predadores (Meira et al., 2024). No caso da bacia do Paraná, a abundância de moluscos invasores pode representar um recurso alimentar emergente explorado principalmente por espécies generalistas e oportunistas (de Oliveira et al., 2010;).

As interações tróficas entre peixes e moluscos também estão condicionadas por alterações ambientais, como a formação de reservatórios, que favorecem o aumento de ambientes lênticos e, conseqüentemente, a proliferação de espécies como *L. fortunei* (Hahn et al., 2008; de Oliveira et al., 2010). Essas modificações no habitat podem facilitar o encontro entre predadores e presas, aumentando as chances de incorporação de moluscos na dieta da ictiofauna (Hahn et al., 2008; Braga et al., 2012).

Além disso, estratégias alimentares como o oportunismo e a flexibilidade trófica são determinantes para a capacidade de os peixes explorarem moluscos invasores como recurso (Kütter et al., 2009; Braga et al., 2012). Espécies com ampla amplitude trófica conseguem ajustar sua dieta de acordo com a oferta de presas, o que pode incluir moluscos quando estes estão abundantes no ambiente (Braga et al., 2012; Pessanha et al., 2015; Neves et al., 2024).

Do ponto de vista morfológico, a forma e o comprimento do trato digestivo, a estrutura dos dentes e a posição da boca estão diretamente associados ao tipo de recurso consumido pelos peixes (Peretti e Andrian, 2008; Pessanha et al., 2015). Essas características, quando associadas a hábitos bentônicos ou demersais, favorecem o acesso a presas como moluscos, principalmente nos substratos onde esses invertebrados se concentram (Kütter et al., 2009; de Oliveira et al., 2010).

Por fim, a eficiência predatória sobre moluscos pode variar entre espécies e indivíduos, influenciada por fatores como experiência alimentar, idade, morfologia e habitat (Magoulick e Lewis, 2002; Meira et al., 2024). Tais variações devem ser consideradas na avaliação do papel da ictiofauna no controle biológico de moluscos invasores, bem como na compreensão das mudanças estruturais nas redes alimentares em ambientes impactados (Magoulick e Lewis, 2002).

Materiais e Métodos

Foi realizada uma busca sistemática na literatura científica para identificar estudos que investigaram o consumo de moluscos invasores pela ictiofauna na bacia do rio Paraná. As buscas foram conduzidas nas plataformas Google Scholar, Scopus e Web of Science, utilizando as combinações de palavras-chave: ("molusco invasor" OR "Limnoperna fortunei" OR "Melanoides tuberculata" OR "Corbicula fluminea" OR "Physa acuta" OR "Helisoma duryi") AND ("conteúdo estomacal" OR "análise de dieta" OR "predação") AND ("peixe" OR "ictiofauna") AND ("bacia do Paraná" OR "reservatório"). Foram incluídos artigos publicados até 2025. Os critérios de inclusão foram: (i) ocorrência comprovada de consumo de moluscos invasores por peixes nativos ou não nativos; (ii) localização do estudo em rios ou reservatórios da bacia do Paraná; e (iii) descrição clara da metodologia de análise alimentar. Foram excluídos trabalhos que não diferenciavam moluscos nativos e invasores ou que não permitiam associar diretamente as espécies consumidoras às espécies de moluscos.

Resultados

Foram encontrados 16 artigos científicos entre os anos de 1999 e 2025 que abordam o consumo de moluscos invasores pela ictiofauna na bacia do rio Paraná, com ênfase nas espécies *Limnoperna fortunei*, *Corbicula fluminea*, *Melanoides tuberculata*, *Physa acuta* e *Helisoma duryi*. Os estudos contemplam diferentes trechos da bacia — alto, médio e baixo Paraná — e abrangem ambientes variados, como rios, planícies de inundação, canais e reservatórios (Cantanhêde et al., 2008; de Ávila-Simas et al., 2019).

A espécie *Limnoperna fortunei* foi a mais investigada entre os moluscos invasores, sendo identificada na dieta de aproximadamente 79 espécies de peixes, abrangendo estágios adultos, juvenis e larvais (Oliveira et al., 2010; Ávila-Simas et al., 2019; Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015). Sua ingestão foi registrada tanto na forma adulta quanto como larvas véligers, conforme demonstrado por análises de conteúdo estomacal em diferentes fases ontogenéticas dos peixes (Paolucci e Thuesen, 2015; Paolucci et al., 2017). *Corbicula fluminea* foi registrada com frequência na dieta de 14 espécies de peixes bentívoros, especialmente em ambientes lóticos com substrato arenoso (Cantanhêde et al., 2008; Oliveira et al., 2010; González-Bergonzoni et al., 2020). Por sua vez,

Melanoides tuberculata foi consumida exclusivamente por *Pimelodus maculatus*, espécie que também apresentou consumo de *L. fortunei* e *C. fluminea* (Cruz et al., 2025 – Capítulo 2 da presente tese) (Tabela 1). Não foram encontrados registros de consumo das espécies *Physa acuta* e *Helisoma duryi* por peixes na bacia do rio Paraná.

Tabela 1. Espécies de peixes consumidoras de moluscos invasores na bacia do Paraná.

Espécies	Molusco(s) consumido(s)	Referência
<i>Crenicichla celidochilus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Crenicichla jurubi</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Crenicichla minuano</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Crenicichla missioneira</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Geophagus brasiliensis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Gymnogeophagus gymnogenys</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Acestrorhynchus pantaneiro</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Schizodon nasutus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Psalidodon fasciatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Astyanax lacustris</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Serrasalmus maculatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014; Ávila-Simas et al., 2019
<i>Steindachnerina brevipinna</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Cataldo et al., 2002; Ávila-Simas et al., 2019
<i>Hypostomus isbrueckeri</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Hypostomus roseopunctatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019
<i>Hypostomus uruguayensis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Boltovskoy e Cataldo, 1999; Ávila-Simas et al., 2019

<i>Loricariichthys anus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Ávila-Simas et al., 2019; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pterodoras granulosus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Boltovskoy e Cataldo, 1999; Montalto et al., 1999; Garcia e Protogino, 2005; Oliveira et al., 2010; Belz et al., 2012; Isaac et al., 2014 Catenhêde et al., 2018; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Sorubim lima</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015
<i>Parapimelodus valenciennisi</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Paolucci e Thuesen, 2015; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pimelodus</i> spp.	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015
<i>Iheringichthys labrosus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers e adultos / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010; Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pseudoplatystoma</i> spp.	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci e Thuesen, 2015
<i>Luciopimelodus pati</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci e Thuesen, 2015
<i>Aphyocharax</i> sp.	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci e Thuesen, 2015
<i>Prochilodus lineatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers e adultos	Oliveira et al., 2010; Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Apareiodon affinis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers e adultos	Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015; Paolucci et al., 2017; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Lycengraulis grossidens</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci e Thuesen, 2015; Paolucci et al., 2017
<i>Catathyridium jenynsii</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015; Paolucci et al., 2017
<i>Salminus brasiliensis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> véligers	Paolucci et al., 2015

<i>Megaleporinus obtusidens</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Montalto et al., 1999; Boltovskoy e Cataldo, 1999; Garcia e Protogino, 2005; Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014; Rosa et al., 2018; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Brochiloricaria chauliodon</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Garcia e Protogino, 2005; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Leporinus striatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Rhinodoras dorbignyi</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Garcia e Protogino, 2005; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Odontesthes humensis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pimelodus absconditus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Paraloricaria vetula</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Boltovskoy e Cataldo, 1999; Garcia e Protogino, 2005; Lopes e Vieira, 2012; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pimelodus maculatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i> / <i>Melanoides tuberculata</i>	Garcia e Protogino, 2005; Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014; González-Bergonzoni et al., 2020; Cruz et al., 2025 (cap 2 da tese)
<i>Pimelodella gracilis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pseudobonocephalus</i> sp.	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Rhaphiodon vulpinus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Galeocharax humeralis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Hypostomus commersoni</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pimelodus albicans</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Montalto et al., 1999; Boltovskoy e Cataldo, 1999; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Ricola macrops</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Garcia e Protogino, 2005; González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Eigenmannia</i> sp.	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Pimelodella australis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Auchenipterus nuchalis</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Loricariichthys melanocheilus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	González-Bergonzoni et al., 2020
<i>Geophagus</i> cf. <i>proximus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Isaac et al., 2014

<i>Megaleporinus elongatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Isaac et al., 2014
<i>Leporinus friderici</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014
<i>Leporinus lacustris</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Isaac et al., 2014
<i>Potamotrygon cf. falkneri</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Isaac et al., 2014
<i>Schizodon borellii</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014
<i>Megalancistrus parananus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Megaleporinus macrocephalus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Hypostomus ternetzi</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Serrasalmus marginatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Hypostomus regani</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Pterygoplichthys ambrosettii</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Potamotrygon motoro</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Metynnis lippincottianus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Auchenipterus osteomystax</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Satanoperca setepele</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Pinirampus pirinampu</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Hoplias aff. malabaricus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Oliveira et al., 2010; Lopes e Vieira, 2012; Cruz et al., 2025 (cap 2 da tese)
<i>Trachelyopterus galeatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010; Cruz et al., 2025 (cap 2 da tese)
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i> / <i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Loricaria sp.</i>	<i>Corbicula fluminea</i>	Oliveira et al., 2010
<i>Spatuloricaria nudiventris</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Cataldo et al., 2002

<i>Megalancistrus aculeatus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Belz et al., 2012
<i>Micropogonias furnieri</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Lopes e Vieira, 2012
<i>Oxydoras kneri</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Cataldo et al., 2002
<i>Potamotrygon cf. brachiurus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Montalto et al., 1999
<i>Rhamdia aff. quelen</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Lopes e Vieira, 2012
<i>Triportheus nematurus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Cruz et al., 2025 (cap 2 da tese)
<i>Leporinus amblyrhynchus</i>	<i>Limnoperna fortunei</i>	Cruz et al., 2025 (cap 2 da tese)

As metodologias empregadas concentram-se na análise visual de conteúdo estomacal, com identificação de conchas ou fragmentos calcificados, embora também incluam abordagens experimentais e observacionais sobre efeitos populacionais (Rosa et al., 2018; González-Bergonzoni et al., 2020). Os estudos abrangem espécies com diferentes hábitos alimentares e graus de especialização trófica (Isaac et al., 2014; Rosa et al., 2018).

Dentre as espécies consumidoras, *Pterodoras granulosus* apresentou alta frequência de *C. fluminea* em ambientes lóticos, com ocorrência superior a 40% em algumas amostras (Boltovskoy e Cataldo, 1999; Montalto et al., 1999; Cantanhêde et al., 2008). *Limnoperna fortunei* também foi identificado na dieta dessa espécie, especialmente em canais mais estáveis (Isaac et al., 2014; Garcia e Protogino, 2005; Cantanhêde et al., 2008). *Megaleporinus obtusidens* se destacou como predador ativo de *L. fortunei* em reservatórios, com redução significativa na densidade do molusco em áreas sob forte pressão predatória (Montalto et al., 1999; Boltovskoy e Cataldo, 1999; Garcia e Protogino, 2005; Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014; Rosa et al., 2018; González-Bergonzoni et al., 2020).

O consumo de moluscos invasores não se restringiu a poucos grupos taxonômicos. *Limnoperna fortunei* e *C. fluminea* foram registrados na dieta de ao menos 13 espécies de peixes em estudos realizados na planície de inundação do alto rio Paraná (Oliveira et al., 2010). Em um levantamento mais amplo, *L. fortunei* foi identificado nos conteúdos

estomacais de 22 espécies, sendo que 11 dessas não haviam sido previamente reconhecidas como moluscívoras (de Ávila-Simas et al., 2019).

O consumo também foi registrado em fases iniciais de ontogenia. Larvas de peixes como *Catathyridium jenynsii* e *Salminus brasiliensis* foram observadas ingerindo véligeres de *L. fortunei* em ambientes eutróficos e subtropicais (Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015; Paolucci et al., 2017).

As evidências diretas de predação, obtidas principalmente por meio de análise de conteúdos estomacais, confirmam a presença recorrente de *L. fortunei* e *C. fluminea* em dietas de peixes bentívoros e onívoros (Garcia e Protogino, 2005; Cantanhêde et al., 2008; Oliveira et al., 2010; Isaac et al., 2014). Esses dados são reforçados por estudos que demonstram correlação positiva entre a abundância ambiental de *L. fortunei* e sua frequência nos estômagos de peixes como *M. obtusidens* e *Prochilodus lineatus* (de Ávila-Simas et al., 2019; González-Bergonzoni et al., 2020).

A frequência de ocorrência de *L. fortunei* nos conteúdos estomacais variou entre 10% e 35% nas planícies de inundação, com maiores valores em espécies bentívoras e habitats com substrato consolidado (Isaac et al., 2014; de Ávila-Simas et al., 2019). Em reservatórios como o de Funil, os valores oscilaram entre 12% e 28%, principalmente em zonas litorâneas e áreas com presença de estruturas artificiais (Rosa et al., 2014). Já *C. fluminea* apresentou frequências superiores a 40% em *P. granulosus* em trechos de rio com substrato fino (Cantanhêde et al., 2008).

Os fatores que influenciam o consumo incluem a abundância e acessibilidade das presas, estrutura física do hábitat, tipo de substrato e morfologia alimentar dos peixes (Peretti e Andrian, 2008; Miyahira et al., 2020; Linares et al., 2020). Peixes com estruturas bucais robustas e comportamento bentônico apresentam maior eficiência na predação de moluscos com conchas rígidas (Cantanhêde et al., 2008; Rosa et al., 2023). A plasticidade alimentar e o oportunismo trófico também favorecem a incorporação desses itens por espécies originalmente não moluscívoras (Isaac et al., 2014; de Ávila-Simas et al., 2019).

Ambientes lênticos, como reservatórios e canais, favoreceram a fixação e o consumo de *L. fortunei*, enquanto *C. fluminea* foi mais frequente em ambientes lóticos,

especialmente rios com substrato arenoso (Cantanhêde et al., 2008; Rosa et al., 2014). Em regiões a jusante de barragens, a redução da correnteza e o acúmulo de matéria orgânica favorecem a agregação de moluscos e ampliam sua exploração trófica (de Oliveira et al., 2010; Boltovskoy e Correa, 2014). Em termos regionais, os maiores registros de predação foram encontrados no sudeste e sul do Brasil, onde condições ambientais estáveis e presença de substratos artificiais promovem altas densidades de moluscos invasores (Oliveira et al., 2010; Lopes e Vieira, 2012; Isaac et al., 2014; Cantanhêde et al., 2018; Rosa et al., 2018).

Por fim, variações sazonais também podem influenciar o consumo. Durante a estação seca, a retração do nível da água concentrou presas em zonas rasas, aumentando a ocorrência de moluscos nos conteúdos estomacais (Rosa et al., 2018). Na cheia, a maior disponibilidade de recursos reduziu essa frequência (Isaac et al., 2014).

Discussão

A análise dos estudos revisados revelou padrões consistentes de predação de moluscos invasores pela ictiofauna da bacia do Paraná, com destaque para *L. fortunei* e *C. fluminea*. Ambas as espécies foram detectadas com frequência nos conteúdos estomacais de peixes de diferentes guildas alimentares, tanto em ambientes lênticos quanto lóticos (Cantanhêde et al., 2008; Isaac et al., 2014; de Ávila-Simas et al., 2019; Rosa et al., 2014).

A ocorrência desses moluscos em dietas variadas sugere um padrão de incorporação trófica oportunista por parte dos peixes, influenciado pela abundância da presa e pela disponibilidade no ambiente (González-Bergonzoni et al., 2020; Linares et al., 2020). O consumo foi registrado em diferentes estágios ontogenéticos, inclusive em larvas, como observado para *L. fortunei* (Paolucci et al., 2015; Paolucci e Thuesen, 2015). Tal plasticidade trófica contribui para o reposicionamento funcional de espécies invasoras dentro da cadeia alimentar, ampliando seu papel ecológico nos sistemas invadidos (Rosa et al., 2023; Ramos, 2024).

A disponibilidade ambiental das presas, especialmente em ambientes eutrofizados e regulados por barragens, influencia diretamente o padrão de consumo. Ambientes lênticos, com substratos duros e estruturas artificiais, favorecem a fixação de *L. fortunei*,

o que aumenta sua acessibilidade e, consequentemente, sua exploração pela ictiofauna (Oliveira et al., 2015; Pereira et al., 2018). Além disso, a presença de represas modifica os fluxos hidrológicos, facilitando o estabelecimento e expansão desses moluscos (Boltovskoy e Correa, 2014; Linares et al., 2020).

Os estudos indicam que peixes com morfologia alimentar adaptada à ingestão de presas duras — como estruturas bucais robustas e dentes trituradores — têm maior eficiência na predação de bivalves e gastrópodes invasores (Peretti e Andrian, 2008; Paolucci e Thuesen, 2015). Espécies bentônicas, como *Pterodoras granulosus* e *Rhamdia aff. quelen*, demonstraram maior frequência de consumo, principalmente em substratos arenosos e de baixa velocidade de corrente (Cantanhêde et al., 2008; Rosa et al., 2023). No entanto, apesar da riqueza de informações sobre *L. fortunei* e *C. fluminea*, os dados sobre *M. tuberculata* permanecem escassos.

Apesar de *Melanoides tuberculata* ser uma das principais espécies invasoras de água doce no Brasil, os estudos que avaliam especificamente sua predação por peixes na bacia do Paraná ainda são inexistentes ou escassos. O mesmo ocorre para as espécies *Physa acuta* e *H. duryi*. Porém, a ausência de registros diretos não deve ser interpretada como ausência de interação trófica, mas sim como reflexo da escassez de estudos específicos sobre essas espécies (Isaac et al., 2014).

Embora ainda não haja outros registros da predação de *M. tuberculata* por peixes na bacia do rio Paraná, estudos realizados em outras bacias hidrográficas brasileiras sugerem que essa interação é possível. No reservatório de Lajeado, bacia do rio Tocantins, foi documentada a presença de *M. tuberculata* no conteúdo estomacal de *Pterodoras granulosus*, uma espécie nativa amplamente distribuída na bacia do Paraná (Agostinho et al., 2009). Essa evidência reforça a hipótese de que peixes nativos podem explorar esse molusco invasor como recurso alimentar.

Em outras regiões do mundo, *M. tuberculata* tem demonstrado alta capacidade de adaptação ambiental, o que pode favorecer sua persistência e proliferação mesmo em condições adversas (Mitchell e Brandt, 2005). A espécie tolera uma ampla faixa de temperatura, inclusive em ambientes artificiais ou termicamente alterados, como canais e reservatórios aquecidos, o que pode dificultar a atuação de predadores nativos (Mitchell e Brandt, 2005).

Estudos realizados com *Tarebia granifera*, espécie com nicho ecológico semelhante ao de *M. tuberculata*, mostram que moluscos do grupo Thiaridae têm potencial para alterar cadeias tróficas, afetando desde moluscos nativos até o acesso da ictiofauna a presas bentônicas (Pearson et al., 2024). Além disso, um experimento demonstrou que moluscívoros como a carpa-negra (*Mylopharyngodon piceus*) consomem *M. tuberculata* ativamente, adaptando sua estratégia alimentar à oferta e ao tamanho da presa (Mitchell e Brandt, 2005).

No Brasil, *M. tuberculata* tem sido registrada como espécie dominante em habitats alterados, inclusive suprimindo populações de *Biomphalaria glabrata*, o que evidencia sua capacidade competitiva e de alteração da fauna local (Giovanelli et al., 2005). Essa evidência reforça a necessidade de investigações futuras que explorem essa possível interação com espécies da ictiofauna brasileira.

A espécie *Physa acuta* apresenta alta tolerância a ambientes impactados e artificializados, o que favorece sua permanência em locais onde outras espécies de moluscos não persistem (França et al., 2007). A espécie é frequentemente encontrada em corpos d'água com baixa qualidade ambiental, inclusive em locais contaminados por compostos químicos e esgoto doméstico (Cieplik e Spyra, 2020). Essa capacidade de tolerância e adaptação ambiental pode reduzir sua vulnerabilidade à predação direta, uma vez que ela é capaz de sobreviver em condições adversas, onde predadores potenciais são menos abundantes ou eficientes.

Estudos experimentais demonstram que *P. acuta* responde de forma adaptativa a diferentes formas de estresse ambiental. Em estudo de Bernot et al. (2005), nos Estados Unidos, foi observado que a exposição a líquidos iônicos alterou significativamente o comportamento de locomoção e alimentação da espécie. Da mesma forma, Brown et al. (2012), também nos Estados Unidos, relataram em experimento que o triclosan, um contaminante comum em águas urbanas, influencia negativamente o crescimento e a atividade de *P. acuta*. Essas alterações comportamentais podem ter implicações ecológicas importantes, incluindo o potencial de evasão de predadores ou alteração da disponibilidade como presa (Brown et al., 2012).

Embora ainda não haja documentação formal sobre a predação de *P. acuta* por peixes na bacia do Paraná, estudos internacionais com peixes moluscívoros indicam que

a morfologia e o desempenho alimentar dos predadores são fatores cruciais para determinar a predação de moluscos de corpo mole e conchas frágeis, como é o caso de *P. acuta* (Huckins, 1997; Slootweg, 1998). Assim, é possível que a ictiofauna neotropical com adaptações para consumo de moluscos seja capaz de consumir *P. acuta* como recurso alimentar, especialmente em habitats com alta densidade da espécie. Investigações futuras poderão elucidar o papel trófico dessa espécie nas cadeias alimentares dos sistemas aquáticos da bacia do Paraná.

A espécie *Helisoma duryi* apresenta uma capacidade adaptativa que inclui respostas fisiológicas e comportamentais a estresses ambientais, como variações no oxigênio dissolvido e poluentes, favorecendo sua sobrevivência em habitats antropogênicos (Fernandez et al., 2010; Miyahira et al., 2020). Tal resistência pode reduzir a vulnerabilidade da espécie à predação direta, uma vez que ambientes degradados tendem a abrigar menos predadores naturais ou predadores com eficiência reduzida (Miyahira et al., 2020). Esse contexto ecológico pode ajudar a explicar a escassez de estudos sobre interações tróficas envolvendo *H. duryi* nos ambientes invadidos, refletindo mais uma lacuna de pesquisa do que a inexistência da predação.

Os resultados revisados confirmam a hipótese de que moluscos invasores representam um recurso trófico importante para diversas espécies de peixes na bacia do Paraná (Isaac et al., 2014; de Ávila-Simas et al., 2019). A segunda hipótese, de que a predação é influenciada pela disponibilidade ambiental e competição com presas nativas, também foi corroborada, especialmente nos casos em que *L. fortunei* se torna dominante em ambientes alterados (Rosa et al., 2023; González-Bergonzoni et al., 2020).

Do ponto de vista do manejo, os dados sugerem que a ictiofauna nativa pode exercer controle biológico parcial sobre moluscos invasores, principalmente em habitats favoráveis à predação (Rosa et al., 2018). No entanto, esse efeito depende de múltiplos fatores — incluindo morfologia dos peixes, tipo de habitat e densidade das presas — e não deve ser superestimado sem validação experimental.

As principais limitações dos estudos revisados incluem a escassez de dados de predação para *M. tuberculata*, *P. acuta* e *H. duryi*, a ausência de abordagens moleculares (como DNA *mabarcoding*) e a restrição geográfica das pesquisas. Há também uma carência de estudos longitudinais e em microhabitats específicos, o que limita a

compreensão de como as interações tróficas variam ao longo do tempo e em diferentes contextos ambientais.

Conclusão

Os dados disponíveis demonstram que *L. fortunei* e *C. fluminea* já desempenham um papel relevante nas dietas da ictiofauna da bacia do Paraná, com variações conforme ambiente, hábitos alimentares e estágio ontogenético. A presença frequente desses bivalves em conteúdos estomacais evidencia sua relevância como recurso alimentar, especialmente em ambientes com substratos favoráveis e alta densidade de moluscos.

Em contraste, informações sobre a predação de *Melanoides tuberculata*, *P. acuta* e *H. duryi* ainda são ausentes, representando uma lacuna relevante no conhecimento ecológico da região. Investigar a predação dessas espécies e realizar comparações com outras regiões invadidas pode ser essencial para orientar ações de conservação e mitigação em ecossistemas aquáticos neotropicais.

A presença de moluscos invasores na dieta da ictiofauna aponta para alterações nas redes tróficas locais, com potencial redistribuição de nichos e aumento da conectividade alimentar. Embora espécies nativas possam atuar como predadores naturais, o controle biológico exercido é limitado e dependente de fatores ecológicos, como estrutura do habitat e abundância das presas. Assim, estratégias de manejo devem considerar essas interações, mas com base em evidências específicas e integradas a outras abordagens.

Futuras pesquisas devem priorizar o uso de técnicas como o DNA *metabarcoding* aliado a metodologia morfológica tradicional para detecção mais precisa de itens alimentares, além de estudos experimentais e de longo prazo que avaliem o papel funcional de moluscos invasores em diferentes contextos ambientais, subsidiando estratégias de manejo e conservação mais eficazes.

Referências Bibliográficas

Agostinho, C. S., Marques, E. E., Oliveira, R. J. D., Braz, P. S. (2009). Feeding ecology of *Pterodoras granulosus* (Siluriformes, Doradidae) in the Lajeado Reservoir,

Tocantins, Brazil. Iheringia. Série Zoologia, 99, 301-306. 10.1590/S0073-47212009000300012

Belz, C. E., Darrigran, G., Netto, O. S. M., Boeger, W. A., Ribeiro, P. J. (2012). Analysis of four dispersion vectors in inland waters: the case of the invading bivalves in South America. Journal of Shellfish Research, 31(3), 777-784. 10.2983/035.031.0322

Bernot, R. J., Kennedy, E. E., Lamberti, G. A. (2005). Effects of ionic liquids on the survival, movement, and feeding behavior of the freshwater snail, *Physa acuta*. Environmental Toxicology and Chemistry, 24(7), 1759-1765. 10.1897/04-614r.1

Boltovskoy, D., Cataldo, D. H. (1999). Population dynamics of *Limnoperna fortunei*, an invasive fouling mollusc, in the lower Paraná River (Argentina). Biofouling, 14(3), 255-263. 10.1080/08927019909378417

Boltovskoy, D., Correa, N. (2015). Ecosystem impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (golden mussel) in South America. Hydrobiologia, 746, 81–95. 10.1007/s10750-014-1882-9

Braga, R. R., Bornatowski, H., Vitule, J. R. S. (2012). Feeding ecology of fishes: an overview of worldwide publications. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 22, 915-929. 10.1007/s11160-012-9273-7

Brown, J., Bernot, M. J., Bernot, R. J. (2012). The influence of TCS on the growth and behavior of the freshwater snail, *Physa acuta*. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 47(11), 1626-1630. 10.1080/10934529.2012.687171

Cantanhêde, G., Hahn, N. S., Gubiani, E. A., Fugi, R. (2008). Invasive molluscs in the diet of *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Pisces, Doradidae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. Ecology of Freshwater Fish, 17(1), 47–53. 10.1111/j.1600-0633.2007.00259.x

Cataldo, D., Boltovskoy, D., Marini, V., Correa, N. (2002). Limitantes de *Limnoperna fortunei* en la cuenca del Plata: la predación por peces. Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el río Uruguay. Paysandu, Uruguay, La Comisión Administradora de Río Uruguay.

Cataldo, D., Boltovskoy, D. (1999). Population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) in the Paraná river delta (Argentina). Hydrobiologia, 380, 153-163. 10.1023/A:1003428728693

Coelho, P. N., Fernandez, M. A., Cesar, D. A. S., Ruocco, A. M. C., Henry, R. (2018). Updated distribution and range expansion of the gastropod invader *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) in Brazilian waters. BioInvasions Records, 7(4), 405-409. 10.3391/bir.2018.7.4.08

Darrigran, G., Damborenea, C. (2011). Ecosystem engineering impact of *Limnoperna fortunei* in South America. Zoological Science, 28(1), 1–7. 10.2108/zsj.28.1

de Ávila-Simas, S., Reynalte-Tataje, D. A., Zaniboni-Filho, E. (2019). Fish predators of the golden mussel *Limnoperna fortunei* in different environments in a South American subtropical river. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45(2). 10.20950/1678-2305.2019.45.2.468

de Oliveira, C. R. C., Fugi, R., Brancalhão, K. P., Agostinho, A. A. (2010). Fish as potential controllers of invasive mollusks in a neotropical reservoir. *Natureza & Conservação*, 8, 140-144. 10.4322/natcon.00802006

Durán-Rodríguez, O. Y., Moncayo-Estrada, R., Torres-Olvera, M. J., Pineda-López, R. F., Ramírez-Herrejón, J. P. (2024). Invasion stage of the exotic snail *Melanoides tuberculata* related to environmental and biological factors in a subtropical river drainage. *Journal of Freshwater Ecology*, 39(1), 2403368. 10.1080/02705060.2024.2403368

Fernandez, M. A., Thiengo, S. C., Bezerra, F. S., Alencar, L. M. (2010). Current distribution of the exotic freshwater snail *Helisoma duryi* (Gastropoda: Planorbidae) in Brazil. *Nautilus*, 124(1), 44.

Ferreira-Rodríguez, N., Sousa, R., Pardo, I. (2018). Negative effects of *Corbicula fluminea* over native freshwater mussels. *Hydrobiologia*, 810, 85-95. 10.1007/s10750-016-3059-1

França, R. S., Suriani, A. L., Rocha, O. (2007). Composição das espécies de moluscos bentônicos nos reservatórios do baixo rio Tietê (São Paulo, Brasil) com uma avaliação do impacto causado pelas espécies exóticas invasoras. *Revista Brasileira de Zoologia*, 24, 41-51. 10.1590/S0101-81752007000100005

García, M. L., Protogino, L. C. (2005). Invasive freshwater molluscs are consumed by native fishes in South America. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(1), 34-38. 10.1111/j.1439-0426.2004.00570.x

Giovanelli, A., Vieira, M. V., Coelho da Silva, C. L. P. A. (2005). Interaction between the intermediate host of schistosomiasis in Brazil, *Biomphalaria glabrata*, and a possible competitor, *Melanoides tuberculata*: A field study. *Journal of Molluscan Studies*, 71(1), 7–13. 10.1093/mollus/eyi004

Glassic, H. C., Guy, C. S., Tronstad, L. M., Lujan, D. R., Briggs, M. A., Albertson, L. K., Koel, T. M. (2023). Invasive predator diet plasticity has implications for native fish conservation and invasive species suppression. *PloS One*, 18(2), e0279099. 10.1371/journal.pone.0279099

González-Bergonzoni, I., Silva, I., Teixeira de Mello, F., D'Anatro, A., Boccardi, L., Stebniki, S., ... Naya, D. E. (2020). Evaluating the role of predatory fish controlling the invasion of the Asian golden mussel *Limnoperna fortunei* in a subtropical river. *Journal of Applied Ecology*, 57(4), 717-728. 10.1111/1365-2664.13573

Hahn, N. S., Fugi, R., Cyrino, J. E. P., Bureau, D. P., Kapoor, B. G. (2008). Environmental changes, habitat modifications and feeding ecology of freshwater

fish. Feeding and digestive functions of fishes. Science, New Hampshire, USA, 35-65. 10.1201/b10749-3

Huckins, C. J. F. (1997). Functional linkages among morphology, feeding performance, diet, and competitive ability in molluscivorous sunfish. *Ecology*, 78(8), 2401-2414. 10.1890/0012-9658(1997)078[2401:flamfp]2.0.co;2

Isaac, A., Fernandes, A., Ganassin, M. J. M., Hahn, N. S. (2014). Three invasive species occurring in the diets of fishes in a Neotropical floodplain. *Brazilian Journal of Biology*, 74(Suppl 1), S016–S022. 10.1590/1519-6984.08813

Kütter, M. T., de Azevedo Bemvenuti, M., Moresco, A. (2009). Feeding strategy of the jundiá *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) in costal lagoons of southern Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 31(1), 41-47. 10.4025/actascibiols.v31i1.335

Linares, M. S., Macedo, D. R., Massara, R. L., Callisto, M. (2020). Why are they here? Local variables explain the distribution of invasive mollusk species in neotropical hydropower reservoirs. *Ecological Indicators*, 117, 106674. 10.1016/j.ecolind.2020.106674

Lopes, M., Vieira, J. (2012). Predadores potenciais para o controle do mexilhão-dourado. In: Mansur M.C.D, Santos C.P, Pereira D., Padula Paz I.C, Leite Zurita M.L, Raya Rodriguez M.T, Vilar Nehrke M., Aydos Bergonci P.E. (eds) *Moluscos límnicos invasores no Brasil. Biologia, prevenção, controle*. Redes Editora, Porto Alegre, pp 357–363.

Magoulick, D. D., Lewis, L. C. (2002). Predation on exotic zebra mussels by native fishes: effects on predator and prey. *Freshwater Biology*, 47(10), 1908-1918. 10.1046/j.1365-2427.2002.00940.x

Mansur, M. C. D., Santos, C. P., Pereira, D., Paz, I. P., Zurita, M. L., Rodriguez, M. R., Bergonci, P. A. (2012). *Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle*. Porto Alegre: Redes Editora.

Maroneze, D. M., Coscarelli, D., Vidigal, T. H. D. A., Callisto, M. (2011). First record of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the drainage basin of the Araguari River, Minas Gerais, Brazil. *Brazilian journal of Biology*, 71, 221-222. 10.1590/S1519-69842011000100033

Meira, A., Byers, J. E., Sousa, R. (2024). A global synthesis of predation on bivalves. *Biological Reviews*, 99(3), 1015-1057. 10.1111/brv.13057

Mitchell, A. J., Brandt, T. M. (2005). Temperature tolerance of red-rim melania *Melanoides tuberculatus*, an exotic aquatic snail established in the United States. *Transactions of the American Fisheries Society*, 134(1), 126–131. 10.1577/T03-188.1

Miyahira, I. C., Pereira, L. S., dos Santos, L. N. (2020). Non-native freshwater molluscs in the Neotropics: what can be learned from Brazilian reservoirs? *Aquatic Invasions*, 15(3), 455–472. 10.3391/ai.2020.15.3.06

Montalto, L., Oliveros, O. B., De Drago, I. E., Demonte, L. D. (1999). Peces del río Paraná Medio predadores de una especie invasora: *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae). Revista FABICIB, 3, 85-101.

Neves, M. P., Amorim, J. P. D. A., Delariva, R. L., Kratina, P., Fialho, C. B. (2024). Linking anatomical and histological traits of the digestive tract to resource consumption and assimilation of omnivorous tetra fishes. Ecology and Evolution, 14(5), e11375. 10.1002/ece3.11375

Oliveira, M. D., Calheiros, D. F., Jacobi, C. M., Hamilton, S. K. (2010). Abiotic factors controlling the establishment and abundance of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei*. Biological invasions, 13, 717-729. 10.1007/s10530-010-9862-0

Oliveira, M. D., Campos, M. C., Paolucci, E. M., Mansur, M. C., Hamilton, S. K. (2015). Colonization and spread of *Limnoperna fortunei* in South America. In D. Boltovskoy (Ed.), *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*. Springer, 333–355.

Paolucci, E. M., Thuesen, E. V. (2015). Trophic Relationships of *Limnoperna fortunei* with Larval Fishes. In D. Boltovskoy (Ed.), *Limnoperna fortunei: the ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*. Springer, 211–229

Paolucci, E. M., Almada, P., Cataldo, D. H., Boltovskoy, D. (2015). Native fish larvae take advantage of introduced mussel larvae: field evidence of feeding preferences on veligers of the introduced freshwater bivalve *Limnoperna fortunei*. Hydrobiologia, 745, 211–224. 10.1007/s10750-014-2116-z

Paolucci, E. M., Leites, V., Cataldo, D. H., Boltovskoy, D. (2017). Veligers of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* in the diet of indigenous fish larvae in a eutrophic subtropical reservoir. Austral Ecology, 42(7), 759–771. <https://doi.org/10.1111/aec.12501>

Paschoal, L. R. P., Andrade, D. D. P., Darrigran, G. (2015). How the fluctuations of water levels affect populations of invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in a Neotropical reservoir?. Brazilian Journal of Biology, 75(1), 135-143. 10.1590/1519-6984.09113

Pearson, J. J., Gerber, R., Malherbe, W., Smit, N. J., de Necker, L. (2024). A review of the reported and future potential ecological impacts of the invasive freshwater snail *Tarebia granifera* in South Africa. African Journal of Aquatic Science, 49(3), 179–195. 10.2989/16085914.2024.1234567

Pereira, L. S., Neves, R. D. A. F., Miyahira, I. C., Kozlowsky-Suzuki, B., Branco, C. W. C., de Paula, J. C., dos Santos, L. N. (2018). Non-native species in reservoirs: how are we doing in Brazil? Hydrobiologia, 817, 71–84. 10.1007/s10750-018-3580-0

Peretti, D., Andrian, I. D. F. (2008). Feeding and morphological analysis of the digestive tract of four species of fish from the upper Paraná River floodplain, Brazil.

Brazilian Journal of Biology, 68(4 Suppl), 671–679. 10.1590/S1519-69842008000500009

Pessanha, A. L. M., Araújo, F. G., Oliveira, R. E. M., Silva, A. F. D., Sales, N. S. (2015). Ecomorphology and resource use by dominant species of tropical estuarine juvenile fishes. *Neotropical Ichthyology*, 13(02), 401-412. 10.1590/1982-0224-20140080

Ramos, J. K. K. (2024). Variações na composição de guildas tróficas de peixes: estudo de caso no reservatório de Batalha (alto Paraná) e no Complexo Hidrelétrico Anta/Simplicio (Paraíba do Sul). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu. Repositório UNESP.

Ricciardi, A., MacIsaac, H. J. (2011). Impacts of biological invasions on freshwater ecosystems. Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton, 1, 211-224. 10.1002/9781444329988.ch16

Rosa, D., da Costa Gaspar, M. R., Silva, F. A., Pompeu, P. S. (2019). Impacts of predation by piapara *Megaleporinus obtusidens* on the population densities of the invasive golden mussel *Limnoperma fortunei*. *Biological Control*, 129, 158–163. 10.1016/j.biocontrol.2018.10.012

Rosa, D. M., Monteiro, A. B., Faria, L. D. B., Pompeu, P. S. (2023). The influence of non-native invertebrate species in the food web structure of two Neotropical reservoirs. *Aquatic Invasions*, 18(2), 277–293. 10.3391/ai.2023.18.2.0

Rosa, D. M., Santos, G. B., Gomes, P. L. A., Campos, M. C. S., Dias, J. H. P. (2014). Occurrence of *Limnoperma fortunei* (Dunker, 1857) in the fish diet from a south-eastern Brazilian reservoir. *Journal of Applied Ichthyology*, 31(1), 1–4. 10.1111/jai.12623

Ruaro, R., Tramonte, R. P., Buosi, P. R., Manetta, G. I., Benedito, E. (2020). Trends in studies of nonnative populations: Invasions in the Upper Paraná River Floodplain. *Wetlands*, 40(1), 113–124. 10.1007/s13157-019-01171-4

Sardiña, P., Cataldo, D. H., Boltovskoy, D. (2008). The effects of the invasive mussel, *Limnoperma fortunei*, on associated fauna in South American freshwaters: importance of physical structure and food supply. *Fundamental and Applied Limnology*, 173(2), 135–144. 10.1127/1863-9135/2008/0173-0135

Slootweg, R. (1987). Prey selection by molluscivorous cichlids foraging on a schistosomiasis vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Oecologia*, 74, 193-202. 10.1007/bf00379359

Sousa, D. G. D. S., Pires-Oliveira, J. C., Sousa, R. L. T. D., Freire, S. M., Pinto, H. A. (2024). Use of a geospatial tool to predict the distribution of *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) and some native freshwater gastropods found in Brazil. *Biota Neotropica*, 24(3), e20241638. 10.1590/1676-0611-BN-2024-1638

Strayer, D. L. (2010). Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology*, 55(s1), 152–174. 10.1111/j.1365-2427.2009.02380.x

Sylvester, F., Boltovskoy, D., Cataldo, D. H. (2007). Fast response of freshwater consumers to a new trophic resource: predation on the recently introduced Asian bivalve *Limnoperna fortunei* in the lower Paraná River, South America. *Austral Ecology*, 32(4), 403-415. 10.1111/j.1442-9993.2007.01707.x

Capítulo 2

Predation of invasive mollusks by fish in a dam-impacted river in southeastern

Brazil

Barbara Regina Fernandes da Cruz^{1*}, Virgílio Teixeira Carrijo^{1†}, Victor Alberto Tagliacollo^{1†} and Giuliano Buzá Jacobucci^{1 †}

¹Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Rua Ceará, Bloco 2D, 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil

*Corresponding author(s). E-mail(s): b.reg@ufu.br;

Este capítulo foi redigido no formato de artigo científico e submetido ao periódico *Biological Invasions* em junho de 2025 (BINV-S-25-00476).

Abstract

This study explores the interaction between ichthyofauna and invasive species in aquatic environments of the Amador Aguiar II dam, located in the Araguari River, Minas Gerais, Brazil. The research focuses on the impact of invasive mollusks, such as *Limnoperna fortunei*, *Melanooides tuberculata*, and *Corbicula fluminea*, on the structure and dynamics of aquatic ecosystems, evaluating their presence in the diet of ichthyofauna in upstream and downstream areas of the dam. The results showed that the proportion of *L. fortunei* in ichthyofauna diet was significantly higher downstream, while *M. tuberculata* and *C. fluminea* predominated upstream. The stomach content analysis revealed that only a few fish species, such as *Pimelodus maculatus* and *Triportheus nematurus*, consistently consumed these invasive mollusks, albeit with low frequency compared to other food items, such as plant material and aquatic insects. The data suggest that the consumption of invasive mollusks by fish can partially moderate their impacts, but isolated predation is insufficient to control their populations. The incrustation experiment revealed a

homogeneous distribution of *L. fortunei* between the sites, indicating its trophic plasticity to fragmented environments and adverse conditions, such as water level variation. Despite the partial integration of these invaders into the food webs, their ecological impacts, including alterations in sediments and nutrient availability, highlight the need for continuous management. The study underscores the importance of control and conservation strategies to mitigate the impacts of invaders, especially in areas influenced by dams, contributing to biodiversity preservation and aquatic ecosystem sustainability.

Keywords: Aquatic biodiversity; Exotic species; Trophic interactions; Neotropical fish; Dam; Cerrado.

Introduction

The accelerated globalization since the late 20th century has intensified the accidental or intentional introduction of invasive species, creating a growing and widespread problem (Machado and Oliveira, 2009). In the Brazilian context, the introduction of invasive species dates back to the arrival of European and African ships, whose hulls transported non-native marine organisms (Souza et al., 2009). More recently, ballast water discharge has facilitated the entry of exotic species into freshwater environments, contributing to the alteration of local biodiversity (Carlton and Geller, 1993; Souza et al., 2009).

In aquatic environments, many of these species have caused significant negative impacts, mainly due to the predation of native species by exotic predators, which has led to a reduction in the diversity and abundance of local fauna, as well as changes in trophic dynamics and destabilization of ecosystems (Moyle and Light, 1996; Beisner et al., 2003). However, some of these species, such as certain invasive mollusks, can create new trophic niches for local predators, generating complex interactions between native and exotic species (Pelicice and Agostinho, 2009). This phenomenon is particularly relevant for understanding the long-term impacts of these invasions, as native predators may exhibit trophic plasticity to these new food sources, which could alter their foraging strategies and, consequently, impact the ecological balance in unpredictable ways (Beisner et al., 2003).

In Brazil, the introduction of exotic mollusks into freshwater environments began in the 1960s, with notable species such as the bivalves *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) and *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), as well as the gastropod *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) (Latini et al., 2016). These species are highly adaptable, capable of colonizing various types of aquatic environments, including those impacted

by human activities (Latini et al., 2016). The rapid spread of *L. fortunei* is favored by the mobility of its larvae and the ability of adults to attach to hard substrates (Andrade et al., 2015), with its dispersal further facilitated by dam construction, increased connectivity between river basins, and inland navigation (Boltovskoy, 2015). All three species have already been recorded in various aquatic environments in Minas Gerais (Fernandez et al., 2003; Maroneze et al., 2011; Bastos, 2020), including the area surrounding the Amador Aguiar II Hydroelectric Power Plant (HPP), either through studies conducted in the region or based on visual observation (Jacobucci, pers. obs., 2015; Bastos, 2020; Barboza et al., 2025).

The presence of these invasive species has caused changes in the dynamics of aquatic communities, particularly in reservoirs, where the formation of lentic environments favors the proliferation of these mollusks, often to the detriment of native species. Different studies indicate that *M. tuberculata*, *C. fluminea*, and *L. fortunei* have altered the structure of fish and invertebrate communities in several Brazilian reservoirs, by competing with native species for essential resources such as food and habitat (García and Montalto, 2009; Pelicice and Agostinho, 2009; Ricciardi and MacIsaac, 2011; Andrade et al., 2015; Silva et al., 2021). These impacts are even more pronounced due to the absence of natural predators of these species in the newly invaded areas, which gives them a significant competitive advantage (González-Bergonzoni et al., 2020).

Moreover, the ingestion of these invasive mollusks by fish has been observed in several studies, highlighting a shift in the diets of these animals (Junior et al., 2008; García and Montalto, 2009; Pereira, 2014). Specifically, the presence of fragments of *L. fortunei* and *C. fluminea* shells in the digestive tracts of fish indicates that these mollusks have become a predominant food source in some regions (Junior et al., 2008; García and Montalto, 2009). Such trophic plasticity may contribute to the stabilization of invasive

populations, as fish consume these mollusks in large quantities, leading to an increase in the homogenization of diets and a decrease in the diversity of available food sources in the environment (Rosa et al., 2021; Silva et al., 2021).

In this context, the present study aims to evaluate the presence of *M. tuberculata*, *C. fluminea*, and *L. fortunei* in the stomach content analysis diets of fish in the area of the Amador Aguiar II Dam, located in the Araguari River, Minas Gerais. The specific objectives were: (i) to assess the presence of these invasive species in the diets of fish upstream and downstream of the dam; and (ii) to investigate the variation in the occurrence of *L. fortunei* in the diets of fish between the upstream and downstream stretches. The formulated hypotheses are: (1) there will be a high proportion of invasive mollusks compared to other items in the dietary composition of fish; and (2) in the upstream stretch, where *L. fortunei* invasion is more recent, the representation of this species in the fish diet should be lower.

Materials and methods

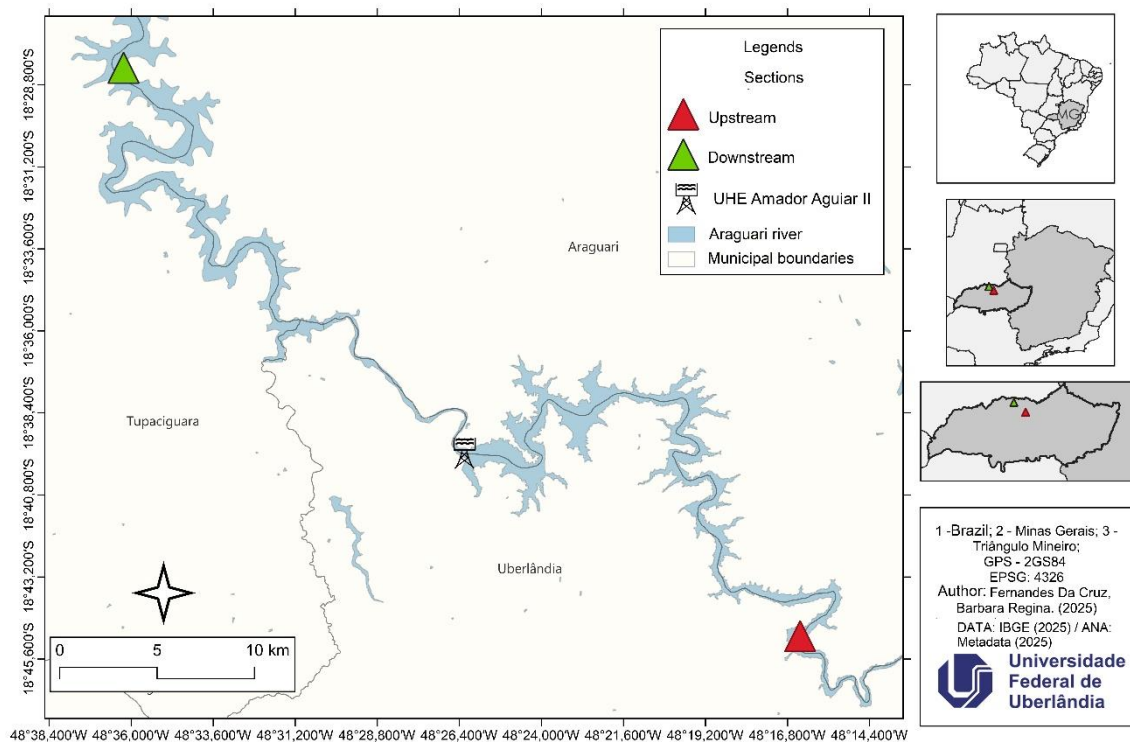
Study area

The Araguari River (Figure 1) originates in the Serra da Canastra National Park, located in the municipality of São Roque de Minas, and has a drainage area of 21,063 km², flowing for 475 km before emptying into the Paranaíba River. The Araguari River is one of the main tributaries of the Paranaíba River, which, in turn, joins the Grande River to form the Paraná River, thereby integrating the La Plata Basin (Agência Nacional de Águas – ANA, 2013).

According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE, 2021), the Araguari River spans 30 municipalities in the Mesoregion of Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba, in the state of Minas Gerais, including the municipality of Araguari, where the

Amador Aguiar II Hydroelectric Power Plant ($18^{\circ}39'33''$ S; $48^{\circ}26'14''$ W) is located. This plant has an installed generation capacity of 210 MW and a reservoir with a useful volume of 872.83 million m^3 (Capim Branco Energy Consortium – CCBE, [n.d.]).

Figure 1. Location of the sampling sites upstream and downstream of the Amador Aguiar II Hydroelectric Power Plant, Araguari River, Minas Gerais, Brazil.



Ichthyofauna sampling

Fish collections were conducted at two distinct sections of the Amador Aguiar II Hydroelectric Power Plant reservoir: one located upstream ($18^{\circ} 44.931' \text{ S}$, $48^{\circ} 16.430' \text{ W}$) and the other downstream ($18^{\circ} 28.301' \text{ S}$, $48^{\circ} 36.224' \text{ W}$) (Fig. 1). Sampling took place in July and October 2023 and February and May 2024, totaling four campaigns throughout the study period.

At each site and sampling period, a set of eight gillnets (10 x 2 m) with different mesh sizes (15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, and 60 mm between opposite knots) was deployed to ensure the capture of individuals from various size classes. The nets were set in the late afternoon and retrieved the following morning, remaining submerged for approximately 16 hours. Each net functioned as an independent replicate within each sampling site, while the different sampling campaigns represented temporal replicates.

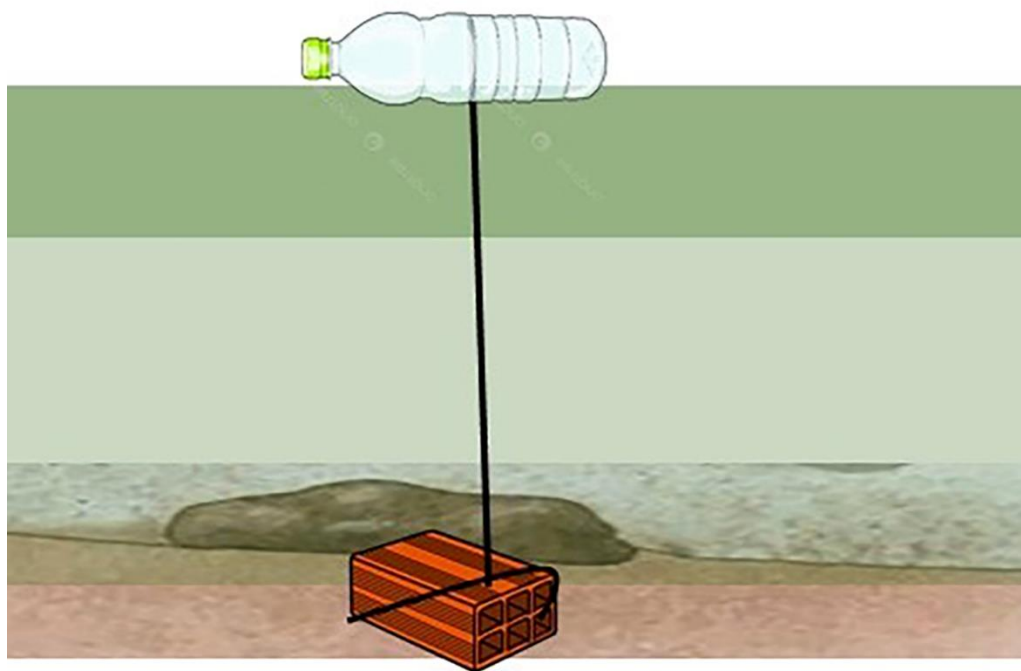
To minimize suffering after removal from the nets, fish were euthanized in a clove oil solution (whose active compound is eugenol) at a concentration of 300 mg/L for 10 minutes. After this period, opercular movement was monitored, and stimuli were applied to confirm death. Captured individuals were identified, measured for standard length (SL, cm), and weighed using a precision scale (0.1 g). Specimens were subsequently deposited in the fish collection of the Cerrado Biodiversity Museum (Museu de Biodiversidade do Cerrado – MBC), INBIO – Federal University of Uberlândia (UFU). Next, fish were dissected for removal of stomachs and intestines, which were immediately preserved in 96% ethanol. Gastrointestinal contents were then examined under a stereomicroscope, and food items were identified, whenever possible, to the taxonomic level of order and species. Additional categories were created when necessary.

The procedures described above comply with the provisions of Law No. 11.794 of October 8, 2008, Decree No. 6.899 of July 15, 2009, and the regulations issued by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), and were approved by the Ethics Committee for the Use of Animals (CEUA) of the Federal University of Uberlândia under protocol No. 23117.014834/2023-95.

Colonization experiment of *Limnoperna fortunei*

An experiment was conducted to assess the colonization of *Limnoperna fortunei* on artificial substrates, providing an estimate of the occurrence of this invasive species in stretches with both recent and long-term presence of the golden mussel. The substrate used was adapted from the artificial substrate proposed by Mansur et al. (2009). A total of 40 bricks were employed as experimental units (20 upstream and 20 downstream), wrapped with plastic tape and connected to a PET bottle (Figure 2). Each brick represented an independent replicate, allowing for the capture of variability within each site. The bricks were submerged at spaced points near the sections where gillnets were deployed for ichthyofauna sampling, in February 2024, and were retrieved in May 2024.

Figure 2. Representation of the artificial substrate used in the colonization experiment



Summer was selected as the submersion period due to its correspondence with the peak larval production of the invasive golden mussel (*Limnoperna fortunei*) (Mansur et al., 2009; Bergonci et al., 2009), as well as its characteristic high diversity and abundance

of benthic fauna (Martins et al., 2015). Following a 90-day submersion period, 13 out of the 20 bricks deployed upstream and 19 out of the 20 bricks deployed downstream were successfully recovered. The bricks were retrieved and transported to the Laboratory of Aquatic Ecosystem Ecology (LEEa) at the Federal University of Uberlândia, Minas Gerais. The PET bottles were discarded along with the plastic ties and the organisms attached to them, such as sponges. The bricks were then individually examined, and the mussels found adhered to their surfaces were fixed in 70% ethanol for preservation (Figure 3).

Figure 3. Bricks recovered after 90 days of submersion.



Sampling of benthic organisms and larval density of *L. fortunei*

To assess the availability of benthic organisms at the sampling sites, a single collection was carried out upstream and downstream of the dam in February 2024. Benthic organisms were collected by dragging a D-frame net along the riverbanks of the sampled stretches, both upstream and downstream. Material collected at four points near the fish

sampling nets was stored in four plastic bags, fixed in 10% formalin during the collection, and later washed in the laboratory and preserved in 70% ethanol in three plastic bags for sorting and identification under a stereoscopic microscope. The organisms were sorted and identified to the order level in the case of insects, and to the species level for the target invasive species.

Larval sampling of *L. fortunei* was conducted during two distinct periods, in November 2023 and February 2024. For sampling, a 30 µm mesh plankton net was used to filter a total volume of 300 L of water, obtained through successive collections using a 10 L bucket. Each campaign represented a temporal replicate of the experiment, while each 300 L sampling was considered an independent replicate. After collection, the samples were stored in appropriate containers and fixed in a 4% formalin solution for preservation and subsequent analysis.

Data Analysis

Regarding the diet of the ichthyofauna, fish abundance and biomass were assessed using estimates based on Catch Per Unit Effort (CPUE):

$$CPUE = (C/E) * 100$$

Where: C = total number of individuals or total weight captured, and E = fishing effort employed (net area × fishing time × number of samplings). The index was calculated based on the number of individuals (individuals/m²) and biomass (kg/m²).

The frequency of occurrence (F) and the percentage by weight (%P) of the food items found in the stomachs were used to describe the diet of the species (Hyslop, 1980). These values were combined to identify the main food items through the Index of Relative Importance (IA), as proposed by Kawakami and Vazzoler (1980):

$$IA_i = \frac{F_i \times \%P_i}{\sum (F_i \times \%P_i)}$$

Where: IA_i represents the Feeding Index of item i ; F_i is the frequency of occurrence of item i ; and $\%P_i$ is the relative weight of item i .

Finally, to estimate the contribution of each food category to the total biomass of the captured fish, the Feeding Contribution Index was calculated as:

$$\sum CPUE_i \times IA_i$$

Where: $CPUE_i$ = biomass-based catch per unit effort (CPUE) for species i ; IA_i = Feeding Index of item i .

The total quantification of *L. fortunei* was performed across the entire surface area of each brick used in the artificial substrate experiment. Quantitative data were used to calculate mussel coverage relative to the brick area (area = 4,959 cm²). Mussel coverage on each brick was measured from laboratory-acquired photographs, which were processed using the ImageJ software.

The Mann-Whitney test was used to compare mean mussel cover between locations (upstream and downstream), while the Student's t-test was employed to compare benthic organism abundance per sample between locations, for each taxonomic group identified. All statistical analyses were performed using RStudio version 3.5.1 (R Core Team, 2018), adopting a 5% significance level.

To assess *L. fortunei* larval density, samples were homogenized and aliquots were extracted for analysis under optical microscopy, using a Sedgewick-Rafter counting chamber with internal dimensions of $20 \times 50 \times 1$ mm and a capacity of 1 mL. In the laboratory, aliquots corresponding to 10% of the total sample volume were examined. When fewer than 100 individuals were counted, additional aliquots were analyzed until this threshold was reached, or the entire sample was examined when necessary. *L. fortunei* larval density (ind. m^{-3}) was calculated using the following formula (APHA, 2005):

$$Ind.m^{-3} = \frac{CxV'}{V''xV'''}$$

Where:

C = number of individuals counted

V' = volume of the concentrated sample (mL)

V'' = volume of the aliquot (mL)

V''' = volume of the collected sample (m^3)

Results

Diet of the ichthyofauna upstream and downstream of the Amador Aguiar II dam

During the four sampling campaigns conducted upstream of the Amador Aguiar II dam, a total of 11 fish species were identified, comprising 88 individuals. Of these, 56 individuals had empty stomachs, while 31 had full stomachs, in which 19 food items were identified (Table S1; see supplementary material). These included digested material (d.m), vegetal material (v.m) (leaf fragments, seeds, twigs, etc.), algae, soybean, sponge

spicules, Trichoptera, Diptera, Plecoptera, Coleoptera, Ephemeroptera, Odonata, *Melanoides tuberculata*, *Corbicula fluminea*, Ostracoda, zooplankton, *Dilocarcinus pagei*, unidentified insects (u.i), fish, and plastic (Figure 4a).

Vegetal material was the most frequently consumed food item, being present in the stomach contents of 7 out of the 15 species analyzed (Figure 4a). The species *Pimelodus maculatus* exhibited the highest dietary diversity, ingesting 17 of the 19 items recorded throughout the four sampling periods, with soybean ($F = 13.46$), vegetal material ($F = 5.41$), and fish ($F = 4.25$) being the most frequent. *Rhamdia* aff. *quelen*, in turn, consumed six items, with Odonata ($F = 2.11$) and spicules ($F = 0.73$) being the most frequent.

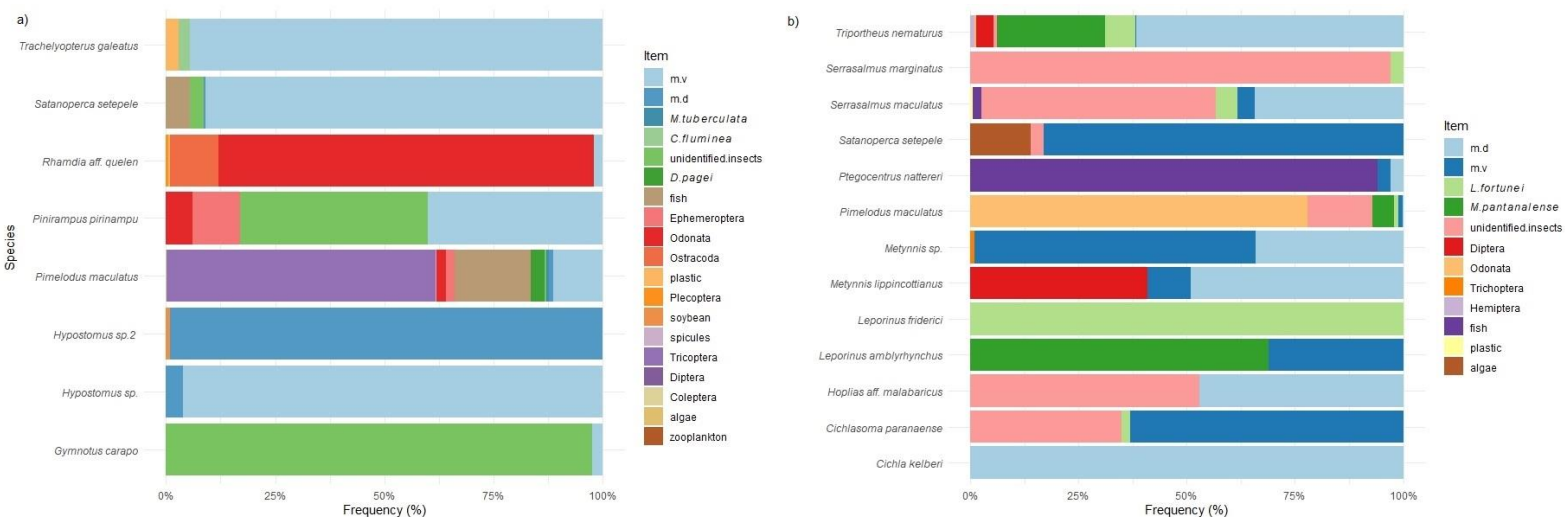
Among the invasive species, *Melanoides tuberculata* was consumed exclusively by *P. maculatus* ($F = 0.71$), while *Corbicula fluminea* was recorded only in the diet of *Trachelyopterus galeatus* ($F = 0.005$).

Downstream, 12 species were identified, totaling 110 individuals, of which 29 had empty stomachs and 81 had full stomachs. A total of 12 food items were identified: digested material (d.m), vegetal material (v.m), unidentified insects, *Limnoperna fortunei*, *Macrobrachium pantanalense*, Diptera, Odonata, Trichoptera, Hemiptera, fish, plastic, and algae (Table S2; see supplementary material). The most prevalent food item was vegetal material, consumed by 9 of the 12 species (Figure 4b).

Triportheus nematurus exhibited the highest dietary diversity, consuming 9 out of the 13 identified items. The most frequent items in its diet were digested material ($F = 6.50$), the invasive species *L. fortunei* ($F = 2.32$), and Diptera ($F = 0.98$). *Serrasalmus maculatus* stood out as the second most diverse feeder, ingesting seven items, with the invasive species *Melanoides tuberculata* being the most frequent ($F = 16.62$).

The invasive species *L. fortunei* was recorded in the diet of *T. nematurus* ($F = 2.32$), *P. maculatus* ($F = 1.65$), *Leporinus amblyrhynchus* ($F = 0.24$), and *Hoplias* aff. *malabaricus* ($F = 0.97$). The item *Macrobrachium pantanalense* was consumed by several species, including *P. maculatus* ($F = 1.65$) and *H. aff. malabaricus* ($F = 0.97$), with the highest consumption frequency observed for *S. maculatus* ($F = 16.62$).

Figure 4. Frequency of food items found in the stomachs of fish species captured during the four sampling campaigns in the upstream (a) and downstream (b) area of the Amador Aguiar II dam (insect.n.i = unidentified insects; m.d = digested material; m.v = vegetal material).

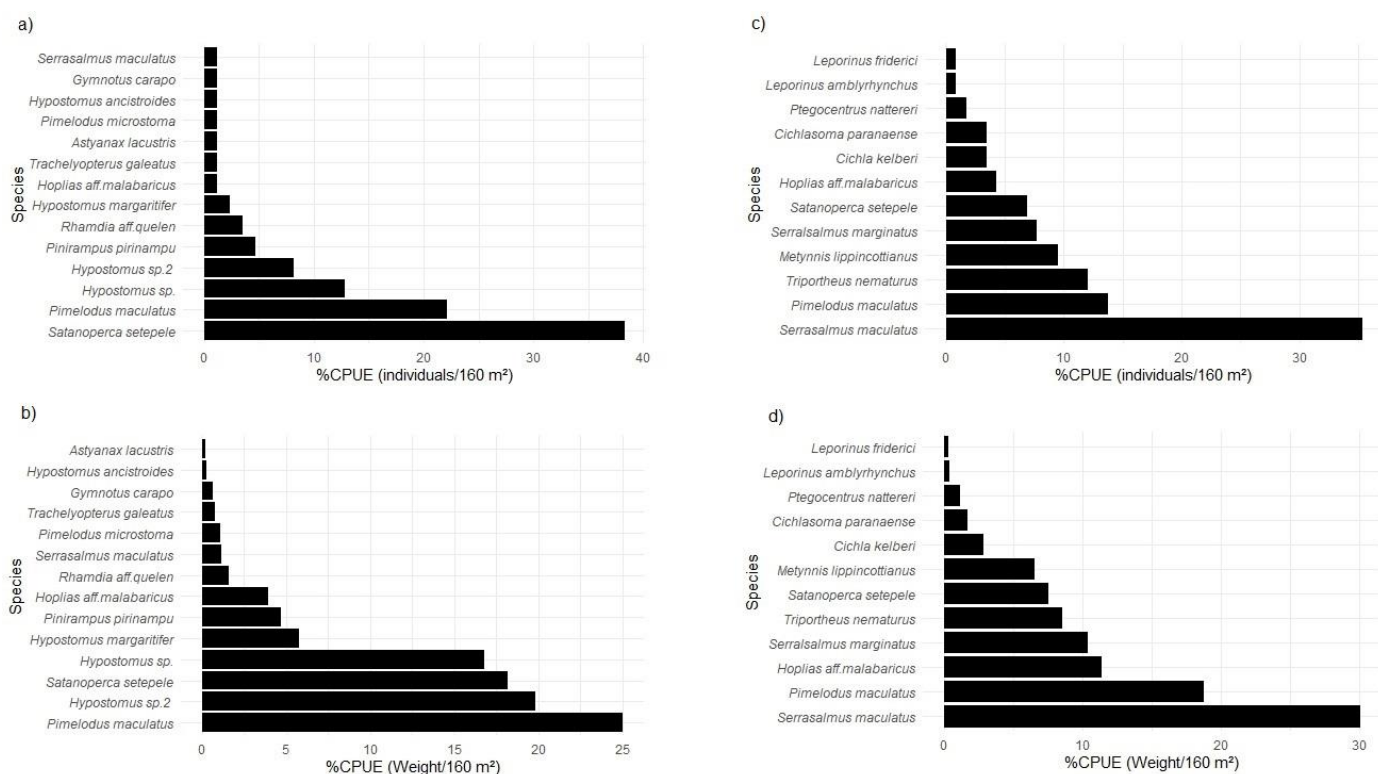


Regarding numerical abundance, the most representative species upstream were *Satanoperca setepele*, *Pimelodus maculatus*, and *Hypostomus* sp. 2, which together contributed 73.25% of the total number of individuals captured (Figure 5a). In terms of biomass, the most abundant species were *P. maculatus*, *Hypostomus* sp. 2, and *S. setepele*, accounting for 61.66% of the total biomass captured (Figure 5b).

Downstream, regarding numerical abundance, the most representative species were *Serrasalmus maculatus*, *Pimelodus maculatus*, and *Triportheus nematurus*, which together contributed 62.71% of the total number of individuals captured (Figure 5c). In

terms of biomass, the most abundant species were *S. maculatus*, *P. maculatus*, and *Hoplias* aff. *malabaricus*, accounting for 58.94% of the total biomass captured (Figure 5d).

Figure 5. Percentage of Catch Per Unit Effort (CPUE) by number of individuals and biomass for fish species collected in July and October 2023, and February and May 2024, in the upstream (a, b) and downstream (c, d) section of the Araguari River, Minas Gerais.



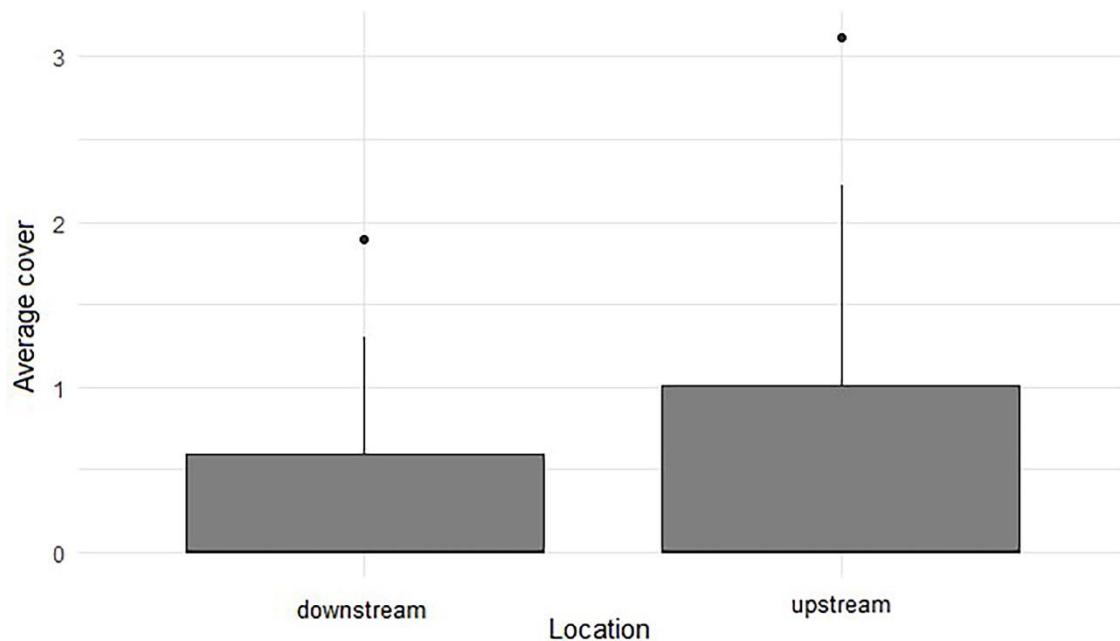
The estimated contribution of each food category to the total fish biomass captured upstream suggests that 43.59% of the biomass is sustained by vegetal material, 23.99% by digested material, 17.30% by soybeans, 5.92% by fish, and 3.90% by unidentified insects.

Downstream, the estimated contribution of each food category to the total fish biomass captured suggests that 28.03% is derived from digested material, 27.41% from *Macrobrachium pantanalense*, 23.27% from vegetal material, and 11.68% from Odonata.

Fouling experiment of *Limnoperna fortunei*

Among the bricks recovered upstream, only two exhibited the presence of the golden mussel, whereas downstream, six bricks showed colonization by this invasive species. The fouling experiment indicated that the mean coverage of *L. fortunei* did not differ significantly between upstream and downstream areas (Figure 6), as demonstrated by the Kruskal-Wallis test ($p = 0.9795$).

Figure 6. Boxplot showing the mean coverage of *Limnoperna fortunei* between upstream and downstream locations.



Benthic Community

A total of 291 individuals were identified upstream, distributed among 10 taxa (Table 1). *Corbicula fluminea* was the dominant species, accounting for 59.45% of all specimens. Other observed species included *Melanoides tuberculata* (20.62%),

Limnoperna fortunei (5.50%), and *Pomacea lineata* (1.37%). Aquatic insects were less abundant, with representatives from the orders Odonata, Trichoptera, Plecoptera, Ephemeroptera, Diptera, and Coleoptera, each contributing between 0.34% and 5.15% of the total.

Table 1. Composition and relative abundance (%) of benthic organisms recorded in the upstream sampling site of the Amador Aguiar II dam.

Upstream			
Taxa	N	%	
<i>Corbicula fluminea</i>	173	59.45	
<i>Limnoperna fortunei</i>	16	5.50	
<i>Melanoides tuberculata</i>	60	20.62	
<i>Pomacea lineata</i>	4	1.37	
Odonata	5	1.72	
Trichoptera	2	0.69	
Plecoptera	8	2.75	
Ephemeroptera	3	1.03	
Diptera	15	5.15	
Coleoptera	5	1.72	
Total	291	100.00	

Downstream, a total of 429 individuals were recorded, with *L. fortunei* being the most abundant species, accounting for 78.09% of the total, followed by *M. pantanalense* (12.35%). The orders Diptera, Odonata, and Hemiptera were also identified, with relative abundances ranging from 0.70% to 5.13% (Table 2).

Table 2. Composition, number of individuals (N), and relative abundance (%) of benthic organisms recorded in the downstream sampling section of the Amador Aguiar II dam.

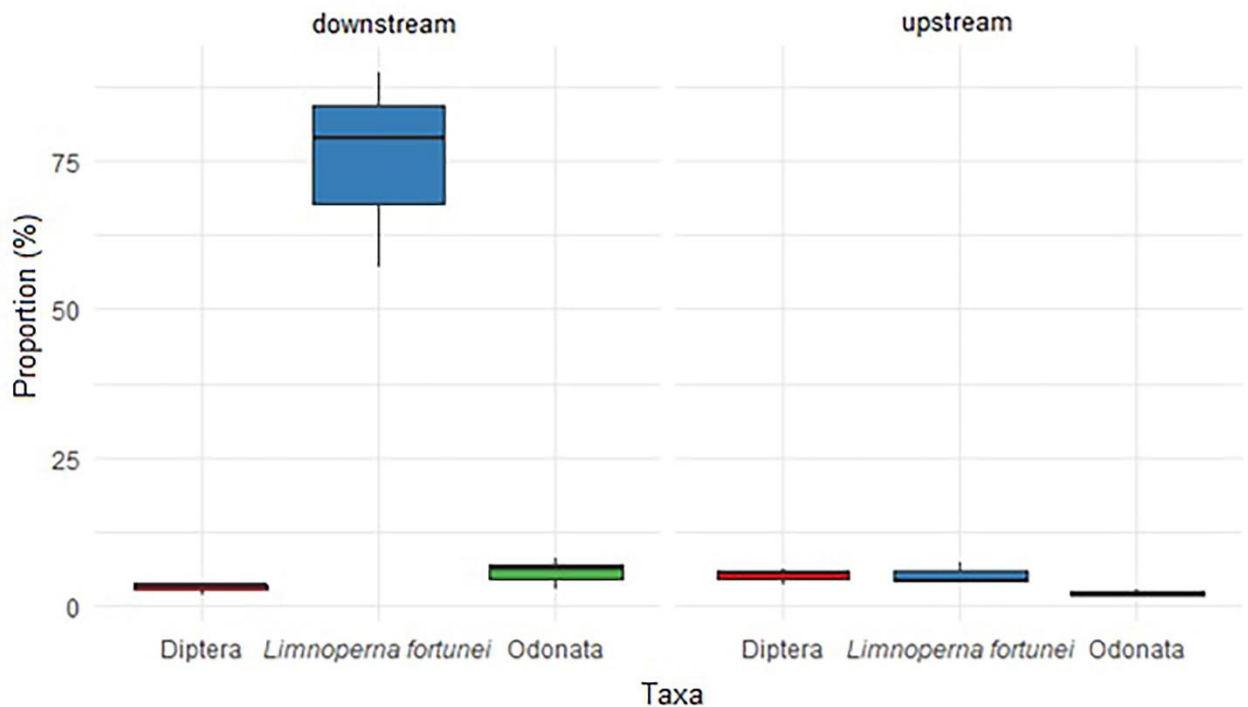
Downstream		
Taxa	N	%
<i>Limnoperna fortunei</i>	335	78.09
<i>Macrobrachium pantanalense</i>	53	12.35
Diptera	12	2.80
Odonata	22	5.13
Hemiptera	7	1.63
Total	429	100.00

These results indicate a difference in the composition and abundance of species between the two sampling sites, with the predominance of different species at each location.

In the comparison between common organisms upstream and downstream, the normality analysis of benthos indicated that Diptera and Odonata had a normal distribution both upstream and downstream. However, for *L. fortunei*, only downstream was considered normal, while upstream the normality value was lower ($p = 0.03918$), suggesting a more heterogeneous distribution.

The t-tests performed to compare the proportions of common taxa between upstream and downstream showed a higher proportion of *L. fortunei* downstream ($p = 0.0175$). For Diptera ($p = 0.1085$) and Odonata ($p = 0.0821$), the differences observed between the sites were not statistically significant (Figure 7).

Figure 7. Proportion of benthic organisms by shared categories related to upstream and downstream locations.



Larval density of *Limnoperna fortunei*

Upstream, a sample volume of 450 mL was obtained, and downstream, 300 mL, both filtered from a total volume of 0.3 m³. In November 2023, five individuals were recorded upstream, resulting in a density of 16.67 individuals per cubic meter (ind. m⁻³), whereas two individuals were observed downstream, corresponding to a density of 6.67 ind. m⁻³.

In February 2024, the sample volumes were reduced to 195 mL upstream and 200 mL downstream, while maintaining the same filtered volume of 0.3 m³. The abundance of *L. fortunei* larvae decreased compared to November: only one individual was recorded

upstream, resulting in a density of 3.33 ind. m⁻³, while no individuals were recorded downstream.

These data indicate a decline in the abundance of *L. fortunei* larvae from November to February, with a reduction in both the number of individuals and their density, especially downstream of the dam, where no individuals were found during the second sampling (Table 3).

Table 3. Density of *L. fortunei* larvae (ind. m⁻³).

	nov/23		fev/24	
	Upstream	Downstream	Upstream	Downstream
Sample volume in mL (V')	450	300	195	200
Aliquot volume in mL (V'')	450	300	195	200
Filtered volume in m ³ (V''')	0.3	0.3	0.3	0.3
Number of <i>L. fortunei</i> individuals (C)	5.0	2.0	1.0	0.00
Density of <i>L. fortunei</i> (m ⁻³)	16.67	6.67	3.33	0.00

Discussion

The results highlight significant interactions between the local ichthyofauna and invasive species, emphasizing the role that such trophic interactions play in aquatic environments. Although invasive species occurred at a lower frequency compared to other dietary items, the presence of *Limnoperna fortunei*, *Melanoides tuberculata*, and *Corbicula fluminea* in the diet of fish both upstream and downstream of the Amador Aguiar II dam indicates a process of integration of these species into the food webs, potentially mitigating some of their negative impacts (Ricciardi and MacIsaac, 2011). This adaptation suggests that the consumption of invasive mollusks by native fish may

function as a natural control mechanism, reducing the harmful effects these invaders exert on the local ecosystem (Garcia and Protogino, 2005).

In the present study, only four species were classified as detritivorous or herbivorous, and therefore unable to feed on the target invasive species. In contrast, omnivorous species are capable of consuming mollusks, which may be related to the high abundance of invasive species in reservoir environments. As generalist feeders, omnivorous fish tend to exploit the most readily available resources in their surroundings (Pelicice and Agostinho, 2009). However, these results do not support our initial hypothesis of a significant presence of invasive mollusks in the fish diet. Although the ichthyofauna does feed on these species, their frequency of occurrence in the diet was low compared to other analyzed items (Figures 4a and 4b).

Previous studies have shown that native fish can play a relevant role in controlling invasive mollusks by incorporating them into their diet. In the lower Uruguay River, approximately one-third of the fish species analyzed (28 out of 81) consumed *L. fortunei*, with 11 species exhibiting a high frequency of ingestion, where the mussel represented more than 10% of stomach contents. This predation resulted in a reduction of up to 70% in the density and 40% in the maximum size of the bivalve at the study site (González-Bergonzoni et al., 2020). Similarly, in the Río de la Plata, García and Protogino (2005) observed that five out of seven fish species studied consumed *L. fortunei* and *C. fluminea*. The former species had a frequency of 14.3% and 40% in the stomachs of the two fish species in which it was found, while *C. fluminea* showed variable frequency, reaching up to 44.4% in one of them.

The literature highlights the broad ecological impacts of biological invasions. Invasive species alter community structure and nutrient availability, often to the detriment of native

species (Ricciardi and MacIsaac, 2011; Souza et al., 2009). In this context, the low frequency of *C. fluminea* and *M. tuberculata* consumption upstream and of *L. fortunei* downstream suggests that, although partially integrated into fish diets, some invasive species are not consumed on a large scale.

The consumption of *M. tuberculata* by *Pimelodus maculatus* and of *C. fluminea* by *Trachelyopterus galeatus* upstream, as well as *L. fortunei* by *Triportheus nematurus*, *P. maculatus*, *Leporinus amblyrhynchus*, and *Hoplias* aff. *malabaricus*, reveals that certain fish species are capable of incorporating these invasive species into their diets. Previous studies have reported the presence of gastropods in the stomach contents of *P. maculatus*, *L. amblyrhynchus* and *T. galeatus* (Garcia et al., 2018; Garcia et al., 2023), but specific predation on these invasive mollusks by these or other fish species had not been documented until now. However, isolated predation is likely insufficient to control invasive populations, considering the ongoing impacts these organisms exert on the substrate and water quality (Souza et al., 2009).

Invasive mollusks influence benthic structure and ecological processes such as nutrient cycling and sediment dynamics (Miyahira et al., 2020). The consistent presence of *M. tuberculata*, *C. fluminea*, and *L. fortunei* in both upstream and downstream areas indicates that these species are established at the sampling sites (Table 1 and 2). Furthermore, the fouling experiment showed that *L. fortunei* cover was similar between locations (Figure 6), despite colonization occurring at different times, suggesting an adaptation of these invasive species to fragmented environments (Boltovskoy, 2015; Rosa et al., 2021; González-Bergonzoni et al., 2020). Nevertheless, this result may be influenced by substrate loss and aerial exposure caused by water level fluctuations—conditions that can affect colonization dynamics. While periodic exposure to air generally

limits colonization for many benthic organisms, *L. fortunei* is known for its high tolerance to desiccation and its ability to survive short-term aerial exposure, especially when attached to shaded or humid substrates. Therefore, its persistence under such conditions may reflect both its physiological tolerance and the availability of suitable microhabitats (Miyahira et al., 2020).

Besides the diet analysis, bricks colonization and larval sampling data indicate that the establishment of *L. fortunei* at the sampling sites was confirmed through complementary data from the fouling experiment and benthic collections. The bricks colonization revealed active settlement of adult individuals on submerged substrates, demonstrating the species capacity to attach and persist in these habitats. This pattern is consistent with findings from studies on artificial substrate colonization by limnic macroinvertebrates, such as those reported in the delta of the Jacuí River (Pereira et al., 2010), where substrate type and environmental conditions strongly influenced species composition and colonization success. Similarly, our results highlight the importance of substrate availability and quality in facilitating *L. fortunei* settlement and population establishment.

Benthic samples showed a higher abundance of *L. fortunei* downstream, consistent with the older invasion history in this region, indicating population stabilization in areas where environmental conditions, such as substrate stability and water level fluctuations, favor persistence. Furthermore, planktonic samples detected *L. fortunei* larvae, indicating ongoing reproduction and recruitment in the study areas.

The larval densities recorded here can be compared with those found by Eilers et al. (2011) and Rezende Ayroza et al. (2019), who reported variations in larval density influenced by hydrological factors and habitat structures such as net cages that enhance

larval retention and condition. These comparisons suggest that local environmental factors strongly regulate larval abundance and recruitment success, which ultimately influence the invasion dynamics of *L. fortunei* in dam-impacted freshwater ecosystems.

The presence of both larval and adult stages highlights a complete reproductive cycle and continuous dispersal, which likely enhance the invasive potential by enabling rapid colonization of new substrates and recovery after disturbances. These findings align with previous research indicating that *L. fortunei* thrives in hydrologically altered environments where flow regimes and habitat fragmentation create favorable conditions for proliferation (Boltovskoy, 2015; Rosa et al., 2021).

Integrating data from colonization experiments, benthic community assessments, and planktonic larval samplings provides a comprehensive picture of *L. fortunei* invasion dynamics, underscoring the species' resilience and the challenges posed for management in these ecosystems.

The analysis of the benthic community indicated a greater abundance of *Limnoperla fortunei*, compared to the other invertebrates, and when combined with the ichthyofauna diet data, it supports our second hypothesis. That is, the representation of *L. fortunei* is higher downstream of the dam, where the invasion process is older, in contrast to the upstream area, which has a more recent invasion history.

The varied and opportunistic diet of *Serrasalmus marginatus* indicates an adaptive behavior related to the seasonal availability of food resources (Peretti and Andrian, 2008; Ferreira et al., 2014). Therefore, *S. marginatus* adjusts its diet in response to seasonal variations and prey abundance in floodplain environments, such as those of the upper

Paraná River basin (Peretti and Andrian, 2008) and the Negro River basin (Ferreira et al., 2014).

The presence of non-native species can modify the structure of aquatic food webs, directly influencing the availability of benthic resources (Rosa et al., 2023). However, a study by Linares et al. (2020) suggested that invasive mollusks may increase benthic biomass by enriching the substrate. The results of this study suggest an opposite effect, with a lower total abundance of benthic organisms downstream, where *L. fortunei* predominated. This may be related to changes in trophic flows, where invasive species can redirect organic matter transfer, favoring certain groups to the detriment of others (Linares et al., 2020). Thus, the high density of *L. fortunei* may be promoting alterations in microhabitat availability and in the composition of deposited organic matter, negatively affecting some benthic guilds (Rosa et al., 2023).

Conclusion

The present study contributes to understanding the interactions between ichthyofauna and invasive mollusk species in dam-altered ecosystems, demonstrating how these interactions can influence the structure and dynamics of aquatic communities. Although invasive species were detected in the diets of several fish species, their overall frequency was low compared to other dietary items, leading to the rejection of our first hypothesis. However, the second hypothesis was confirmed: *L. fortunei* was more prevalent downstream of the dam, where the invasion is more advanced, as evidenced by both dietary data and benthic community assessments.

The presence of *M. tuberculata*, *C. fluminea*, and *L. fortunei* in both larval and adult stages, combined with evidence from colonization experiments, underscores the ongoing

establishment and reproductive success of these species in the study area. Although certain fish species are incorporating invasive mollusks into their diets—indicating some level of ecological adaptation—predation alone appears insufficient to contain their spread.

These findings reinforce the need for continuous monitoring and the development of integrated management strategies to mitigate the impacts of invasive species. In dam-influenced systems, where altered flow regimes and substrate conditions may facilitate invasions, such efforts are essential to protect native biodiversity and maintain ecosystem resilience.

Acknowledgements

We thank Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the PhD scholarship granted to B. R. F. C. and the Graduate Program in Ecology, Conservation and Biodiversity and Universidade Federal de Uberlândia for the logistic support. We also thank D. F. Duarte, R. M. de Jesus, R. A. Alencar and A. C. Regina for their help in the field and in sample processing. This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development [CNPq - 441142/2020-6]; and Minas Gerais State Agency for Research and Development [FAPEMIG - APQ-03372-21].

References

- Agência Nacional De Águas – ANA (2013) Hidrologia do Brasil: aspectos hidrológicos e hidrogeológicos. Brasília.
- Andrade GR, Araújo JLF, Nakamura Filho A, Guañabens ACP, Carvalho MD, Cardoso AV (2015) Functional Surface of the golden mussel's foot: morphology, structures and the role of cilia on underwater adhesion. *Materials Science and Engineering C* 54: 32–42. doi: 10.1016/j.msec.2015.04.032

American Public Health Association – APHA (2005) Water environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21^a ed. Washington.

Bastos DM (2020) Ofício CCBE_ARI nº 110/2020: Monitoramento de espécies invasoras na UHE Amador Aguiar II. Uberlândia: Consórcio Capim Branco Energia.

Beisner BE, Ives AR, Carpenter SR (2003) The effects of an exotic fish invasion on the prey communities of two lakes. *Journal of Animal Ecology* 72(2): 331–342. doi: 10.1046/j.1365-2656.2003.00699.x

Bergonci PEA, Mansur MCD, Pereira D, Santos CP (2011) Population sampling of the golden mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), based on artificial ceramic substrate. *Biotemas*, 22(3). doi: 10.5007/2175-7925.2009v22n3p85

Boltovskoy D (2015) *Limnoperna fortunei*: the ecology, distribution and impact of an aquatic invasive species in South America. Springer, Cham.

Carlton JT, Geller JB (1993) Ecological roulette: the global transport of nonindigenous marine organisms. *Science* 261: 78–82. doi: 10.1126/science.261.5117.78

Eilers V, Oliveira MDD, Roche KF (2011) Density and body size of the larval stages of the invasive golden mussel (*Limnoperna fortunei*) in two neotropical rivers. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 23, 282–292. doi: 10.1590/S2179-975X2012005000006

Fernandez MA, Thiengo SC, Simone LRL (2003) Distribution of the introduced freshwater snail *Melanoides tuberculatus* (Gastropoda: Thiaridae) in Brazil. *The Nautilus* 117(3): 78–82.

Ferreira FS, Vicentin W, Costa FEDS, Suárez YR (2014) Trophic ecology of two piranha species, *Pygocentrus nattereri* and *Serrasalmus marginatus* (Characiformes, Characidae), in the floodplain of the Negro River, Pantanal. *Acta Limnologica Brasiliensia*. doi: 10.1590/S2179-975X2014000400006

Garcia DAZ, Vidotto-Magnoni AP, Orsi ML (2018) Diet and feeding ecology of non-native fishes in lentic and lotic freshwater habitats. *Aquatic Invasions* 13(4): 1–9. doi: 10.3391/ai.2018.13.4.13

Garcia ML, Protogino LC (2005). Invasive freshwater molluscs are consumed by native fishes in South America. *Journal of Applied Ichthyology* 21(1): 34–38. doi: 10.1111/j.1439-0426.2004.00570.x

García M, Montalto L (2009) Os peixes predadores do *Limnoperna fortunei* nos ambientes colonizados. Em: Darrigran G, Damborenea C. (Eds.). *Introdução a biologia das invasões. O mexilhão-dourado na América do Sul: biologia, dispersão, impacto, prevenção e controle*. São Carlos, SP: Editora Cubo Multimídia Ltda 111–126.

Garcia TD, Quirino BA, Jarduli LR, Carvalho ED, Vidotto-Magnoni AP (2023) Spatial variation in the trophic category of fish assemblages in longitudinal stretches in a Neotropical reservoir. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 95(1): e20220173. doi: 10.1590/0001-3765202320220173

- González-Bergonzoni I, Silva I, Teixeira de Mello F, D'Anatro A, Boccardi L, Stebniki S, Brugnoli E, Tesitore G, Vidal N, Naya DE (2020) Evaluating the role of predatory fish controlling the invasion of the Asian golden mussel *Limnoperna fortunei* in a subtropical river. *Journal of Applied Ecology* 57(4): 717-728. doi: 10.1111/1365-2664.13573
- Hyslop EJ (1980) Stomach content analysis—a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17(4): 411-429. doi: 10.1111/j.1095-8649.1980.tb02775.x
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2021) Censo demográfico e geográfico do Brasil. Rio de Janeiro: IBGE.
- Junior HV, Giamas MTD (2008) Occurrence of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca; Bivalvia; Mytilidae), in the digestive tract of armal *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Siluriformes; Doradidae), of the Paraná River, São Paulo State, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca* 34(1): 175-179.
- Kawakami E, Vazzoler G (1980) Método gráfico e estimativa do índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 29: 205-207. doi: 10.1590/S0373-55241980000200043
- Latini AO, Resende DC, Pombo VB, Coradin L (2016) Espécies exóticas invasoras de águas continentais no Brasil. 2. ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente (MMA). Biodiversidade 39.
- Linares MS, Macedo DR, Massara RL, Callisto (2020) Why are they here? Local variables explain the distribution of invasive mollusk species in neotropical hydropower reservoirs. *Ecological Indicators* 117: 106674. doi: 10.1016/j.ecolind.2020.106674
- Machado CJS, Oliveira AES (2009) Espécies exóticas invasoras: problema nacional ainda pouco conhecido. *Ciência e Cultura* 61(1): 22–23.
- Mansur MCD, Pereira D, Santos CP, Bergonci PEA, Thormann BM, Takeda AM (2009) Colonização de substrato artificial de madeira pelo mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytiloidea, Mytilidae), no Delta do Rio Jacuí (RS, Brasil). *Biotemas*, 22 (1): 75-80. doi: 10.5007/2175-7925.2009v22n1p75
- Maroneze DM, Coscarelli D, Vidigal THDA, Callisto M (2011) First record of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the drainage basin of the Araguari River, Minas Gerais, Brazil. *Brazilian journal of Biology* 71: 221-222. doi: 10.1590/S1519-69842011000100033
- Martins I, Sanches B, Kaufmann PR, Hughes RM, Santos GB, Molozzi J, Callisto M (2015) Ecological assessment of a southeastern Brazil reservoir. *Biota Neotropica* 15: e20140061. doi: 10.1590/1676-06032015006114
- Miyahira IC, Pereira LS, dos Santos LN (2020) Non-native freshwater molluscs in the Neotropics: what can be learned from Brazilian reservoirs? *Aquatic Invasions* 15(3). doi: 10.3391/ai.2020.15.3.06

- Moyle PB, Light T (1996) Biological invasions of fresh water: empirical rules and assembly theory. *Biological Conservation* 78(1-2): 149-161. doi: 10.1016/0006-3207(96)00024-9
- Pellicice FM, Agostinho AA (2009) Fish fauna destruction after the introduction of a non-native predator (*Cichla kelberi*) in a Neotropical reservoir. *Biological Invasions*, 11(8): 1789-1801. doi: 10.1007/s10530-008-9358-3
- Pereira D., Mansur MCD, Volkmer-Ribeiro C, Oliveira MD, Santos CP, Bergonci PEA (2011) Colonização de substrato artificial por macroinvertebrados límnicos, no delta do rio Jacuí (RS, Brasil). *Biotemas*, 23(1). doi: 10.5007/2175-7925.2010v23n1p101
- Peretti D, Andrian IDF (2008) Feeding and morphological analysis of the digestive tract of four species of fish (*Astyanax altiparanae*, *Parauchenipterus galeatus*, *Serrasalmus marginatus* and *Hoplias* aff. *malabaricus*) from the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 68: 671-679. doi: 10.1590/S1519-69842008000300027
- Rezende Ayroza DMM, do Carmo CF, Camargo AFM, de Oliveira MD, Petesse ML (2019) Net cages enhance golden mussel (*Limnoperna fortunei*) larval density and condition factor. *Freshwater Biology*, 64(9), 1593-1602. doi: 10.1111/fwb.13355
- Ricciardi A, MacIsaac HJ (2011) Impacts of biological invasions on freshwater ecosystems. Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton 1: 211-224. doi: 10.1002/9781444329988.ch16
- Rosa DM, de Sene AM, Moreira MZ, Pompeu PS (2021) Non-native prey species supporting fish assemblage biomass in a Neotropical reservoir. *Biological Invasions*, 23: 2355-2370. doi:10.1007/s10530-021-02510-x
- Rosa DM, Monteiro AB, Faria LDB, Pompeu OS (2023) The influence of non-native invertebrate species in the food web structure of two Neotropical reservoirs. *Aquatic Invasions*, 18(2): 277-293. doi: 10.3391/ai.2023.18.2.103850
- Silva I, Naya D, Teixeira de Mello F, D'Anatro A, Tesitore G, Clavijo C, Gonzalez-Bergonzoni I (2021) Fish vs. Aliens: predatory fish regulate populations of *Limnoperna fortunei* mitigating impacts on native macroinvertebrate communities. *Hydrobiologia* 848(9): 2303-2303. doi: 10.1007/s10750-020-04421-9
- Souza RCCL, Calazans SH, Silva EP (2009) Impacto das espécies invasoras no ambiente aquático. *Ciência e cultura* 61(1): 35-41.

Supplementary material

Table captions

N= individuals, e.s = empty stomachs, F= frequency of occurrence, %P= percentage by weight, IAI= Index of Relative Importance

Table S1. Frequency of occurrence (%) of fish species analyzed upstream of the Amador Aguiar II dam, Minas Gerais, Brazil. Food items are coded as follows:

1 = plant material, 2 = digested material, 3 = algae, 4 = Trichoptera, 5 = soybean, 6 = sponge spicules, 7 = Diptera, 8 = Plecoptera, 9 = *Melanoides tuberculata*, 10 = *Corbicula fluminea*, 11 = unidentified insects, 12 = Ostracoda, 13 = zooplankton, 14 = *Dilocarcinus pagei*, 15 = fish, 16 = Coleoptera, 17 = Ephemeroptera, 18 = Odonata, 19 = plastic.

[illegible]

Table S1. Continuation

<i>Trachelyopterus galeatus</i>	F	0.03	0	0	0	0	0	0.005	0	0	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n=1	%P	0.6	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 0	IAi	0.95	0	0	0	0	0	0.03	0	0	0.026	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Astyanax lacustres</i>	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n= 1	%P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 1	IAi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pinirampus pirinampu</i>	F	0.17	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0.23	0	0	0	0	0	0.12	0.09	0
n= 4	%P	0.2	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0.16	0	0	0	0	0	0.08	0.06	0
e.s= 2	IAi	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.43	0	0	0	0	0	0.11	0.06	0
<i>Pimelodus sp.</i>	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n= 1	%P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 1	IAi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hypostomus ancistroides</i>	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n= 1	%P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 1	IAi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hypostomus margaritifer</i>	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n= 2	%P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 2	IAi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Gymnotus carapo</i>	F	0.07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.43	0	0	0	0	0	0	0	0
n= 1	%P	0.06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.37	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 0	IAi	0.024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.98	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hypostomus sp. 2</i>	F	0	7.93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n= 7	%P	0	9.86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e.s= 6	IAi	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pimelodus maculatus</i>	F	5.41	1.43	0.26	0.41	13.46	0	0.06	0	0.71	0	0.51	0.19	0.2	2.32	4.26	0.15	1.87	1.41	0.01
n= 19	%P	0.93	0.38	2.03	0.29	2.04	0	0.11	0	0.46	0	0.47	0.33	0.23	0.63	1.79	0.05	0.57	0.78	0.03
e.s= 3	IAi	0.11	0.01	0.01	0.003	0.60	0	<0.001	0	0.006	0	0.005	0.001	0.001	0.03	0.17	<0.001	0.02	0.02	<0.001

Species	P												
			Food items										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cichla kelberi n= 3 e.s= 2	F %P IAi	0.66 7.78 1	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Cichlasoma paranaense n= 4 e.s= 1	F %P IAi	0 0 0	0.18 1.38 0.63	0.03 0.27 0.02	0 0 0	0.13 1.06 0.35	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Hoplias aff. malabaricus n= 5 e.s= 3	F %P IAi	1.295 0.147 0.47	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0.977 0.22 0.53	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Leporinus amblyrhynchus n= 1 e.s= 0	F %P IAi	0 0 0	0.16 0.28 0.31	0 0 0	0.24 0.41 0.69	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Leporinus friderici n= 1 e.s= 0	F %P IAi	0 0 0	0 0 0	0.39 0.86 1	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Metynnis lippincottianus n= 6 e.s= 0	F %P IAi	7.35 3.56 0.49	2.86 1.87 0.10	0 0 0	0 0 0	0 0 0	4.53 4.84 0.41	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Pimelodus maculatus n= 14 e.s= 3	F %P IAi	0.171 0.14 0.002	1.49 0.11 0.01	0.65 0.14 0.01	1.65 0.38 0.05	2.37 0.8 0.15	0 0 0	1.99 5.09 0.78	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Serrasalmus marginatus n= 7 e.s= 3	F %P IAi	0 0 0	0 0 0	0.44 0.33 0.03	0 0 0	2.28 2.27 0.97	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Triporthesus nematurus n= 14 e.s= 2	F %P IAi	6.5 1.65 0.62	0.35 0.11 0.002	0.72 0.52 0.07	2.33 1.86 0.25	0.29 0.55 0.009	0.99 0.69 0.04	0.49 0.18 0.005	0 0 0	0.57 0.39 0.009	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Metynnis sp. n= 5 e.s=0	F %P IAi	2.55 2.17 0.34	4.59 2.27 0.65	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0.31 0.59 0.01	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Serrasalmus maculatus n= 41 e.s= 10	F %P IAi	3.69 3.75 0.34	1.14 1.3 0.04	1.05 2.09 0.05	0 0 0	16.62 1.31 0.538	0.12 0.43 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	1.43 0.68 0.02	0.75 0.29 0.005	0 0 0
Ptegocentrus nattereri n= 2	F %P	0.24 0.09	0.288 0.07	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	1.035 0.62	0 0	0 0

e.s= 0	IAi	0.03	0.03	0	0	0	0	0	0	0	0.94	0	0
<i>Satanoperca setepele</i>	F	0	0.049	0	0	0.03	0	0	0	0	0	0	0.06
n= 7	%P	0	0.29	0	0	0.02	0	0	0	0	0	0	0.04
e.s= 5	IAi	0	0.83	0	0	0.03	0	0	0	0	0	0	0.14

Capítulo 3

A utilização de DNA *metabarcoding* na análise de invertebrados em dieta de peixes do rio Araguari, Minas Gerais

Resumo

Este capítulo apresenta a aplicação do DNA *metabarcoding* para caracterizar a dieta de espécies de peixes na barragem de Amador Aguiar II, rio Araguari, Minas Gerais. O objetivo foi identificar os invertebrados consumidos pela ictiofauna por meio de análises moleculares e comparar a riqueza e composição da dieta com aquelas obtidas por meio da análise visual tradicional do conteúdo estomacal. Foram analisadas 14 amostras de conteúdo estomacal, com extração, amplificação e sequenciamento de fragmentos do gene COI. Após rigoroso processamento bioinformático, aproximadamente de 415 mil leituras foram atribuídas a invertebrados, revelando ampla diversidade taxonômica, incluindo táxons dos filos Arthropoda, Mollusca, Annelida, Platyhelminthes e outros. Crustáceos da ordem Decapoda foram os mais abundantes, seguidos por formigas do gênero *Atta*, larvas de Diptera e bivalves como *Corbicula fluminea*. As curvas de rarefação indicaram que o *metabarcoding* alcançou saturação com menor esforço amostral e recuperou maior riqueza de ordens e famílias do que o método de análise visual do conteúdo estomacal. A comparação entre métodos mostrou que, embora ambos detectem grupos amplos semelhantes, o *metabarcoding* possui maior sensibilidade e resolução, especialmente para itens digeridos ou fragmentados. Conclui-se que o DNA *metabarcoding* é uma ferramenta eficaz para estudos tróficos em ambientes tropicais e complementa, com vantagens significativas, as abordagens tradicionais de análise alimentar.

Palavras-chave: interações tróficas; ictiofauna; análise molecular; riqueza taxonômica; curva de rarefação

Abstract

This chapter presents the application of DNA *metabarcoding* to characterize the diet of fish species from the Amador Aguiar II reservoir, located in the Araguari River, Minas Gerais, Brazil. The objective was to identify invertebrate prey consumed by the ichthyofauna using molecular analyses and to compare the richness and taxonomic composition of the diet obtained through this method with those identified using traditional morphological approaches. Fourteen stomach content samples were analyzed through extraction, amplification, and sequencing of COI gene fragments. After stringent bioinformatic processing, over 415,000 reads were assigned to invertebrates, revealing broad taxonomic diversity, including representatives of Arthropoda, Mollusca, Annelida, Platyhelminthes, and others. Crustaceans from the order Decapoda were the most abundant, followed by ants of the genus *Atta*, dipteran larvae, and bivalves such as *Corbicula fluminea*. Rarefaction curves showed that metabarcoding reached saturation with lower sampling effort and recovered higher richness at the order and family levels than the traditional method. The comparison between methods indicated that although both detected similar broad taxonomic groups, metabarcoding offered greater sensitivity and resolution, especially for highly digested or fragmented items. These results demonstrate that DNA metabarcoding is an effective tool for trophic studies in tropical freshwater environments and provides significant advantages when used in conjunction with traditional diet analysis methods.

Keywords: Trophic interactions; ichthyofauna; molecular analysis; taxonomic richness; rarefaction curve.

Introdução

A compreensão das interações tróficas é fundamental para o entendimento da estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Abdala-Roberts et al., 2019; Lomartire et al., 2021). Nesse contexto, as redes tróficas — representações das relações alimentares entre os diferentes componentes do ecossistema — desempenham um papel central na avaliação da dinâmica ecológica e na formulação de estratégias de manejo ambiental (Abdala-Roberts et al., 2019). Tradicionalmente, essas redes têm sido construídas com base em estudos de dieta, particularmente por meio da análise microscópica do conteúdo estomacal, que fornece um retrato quase em tempo real da ecologia alimentar dos organismos (Hyslop, 1980; Nielsen et al., 2018).

Embora amplamente utilizadas, as abordagens convencionais baseadas em morfologia, apresentam limitações (Balestrieri et al. 2011; Berry et al., 2015; Basset et al., 2022). A análise microscópica, por exemplo, é mais lenta, restringindo o número de amostras que podem ser processadas de maneira viável (Davidson et al. 2004; Williams et al. 2012; Gonzalez-Varo et al. 2014). Além disso, esse método exige conhecimento taxonômico especializado abrangendo uma ampla diversidade de táxons (Basset et al., 2022; Bucklin et al., 2024). Mesmo quando tal expertise está disponível, os processos de mastigação e digestão podem comprometer a identificação dos itens alimentares, tornando-os irreconhecíveis (Sakaguchi et al., 2016).

Nesse cenário, abordagens moleculares baseadas em DNA vêm sendo consideradas alternativas mais precisas para estudos de dieta, especialmente quando os itens consumidos não são mais identificáveis por métodos tradicionais (Kartzinel et al. 2015; Granquist et al. 2018). O DNA *metabarcoding*, em particular, tem se consolidado como uma metodologia confiável para estimar características alimentares de animais (Pompanon et al. 2012; Xiong et al. 2016; Klymus et al., 2017; Campbell et al., 2023). Essa técnica envolve a amplificação e o sequenciamento de fragmentos curtos de DNA por meio de primers universais, permitindo a identificação simultânea de múltiplas espécies presentes em amostras individuais de conteúdo estomacal (Valentini et al. 2009; Taberlet et al. 2012).

Para invertebrados, o marcador mais amplamente utilizado nos estudos com DNA *metabarcoding* é um fragmento do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I

(COI) (Elbrecht et al. 2017). Este gene tem se mostrado eficaz tanto em estudos com DNA ambiental (Klymus et al. 2017) quanto em análises de conteúdo estomacal (Campbell et al. 2023), possibilitando a detecção e diferenciação de ordens, famílias e, frequentemente, espécies, dentro desse grupo altamente diverso. Sua capacidade de fornecer resultados rápidos, robustos e confiáveis é especialmente relevante para órgãos reguladores e empresas, contribuindo para a formulação de planos de manejo e conservação mais eficazes (Deiner et al. 2017).

Além de suas vantagens operacionais, a caracterização de dietas por meio do *metabarcoding* tem se beneficiado de avanços conceituais e tecnológicos recentes (Campbell et al., 2023). Conceitualmente, essa abordagem aplica os princípios do DNA *barcoding*, no qual sequências diagnósticas são obtidas de amostras desconhecidas e comparadas a bancos de referência compostos por sequências provenientes de organismos previamente identificados e, idealmente, depositados em coleções científicas (Cronin et al. 1991; Hebert et al. 2003; Hollingsworth et al. 2009).

Apesar das vantagens, o *metabarcoding* possui limitações intrínsecas e exige cuidados metodológicos (Bucklin et al., 2024). Um dos principais desafios está na seleção dos marcadores moleculares, que influencia diretamente a abrangência filogenética e a resolução taxonômica dos organismos detectados (Deagle et al. 2014). Esse processo, muitas vezes, envolve um equilíbrio entre amplitude e detalhamento taxonômico. Além disso, a degradação do DNA em amostras de dieta exige o uso de amplicons curtos, que são fragmentos específicos de DNA amplificados por reação em cadeia polimerase (PCR). Normalmente curtos, esses fragmentos facilitam a recuperação de DNA degradado, mas, por conterem menos sítios informativos, podem limitar a identificação em níveis taxonômicos mais específicos (Deagle et al., 2009). Outro entrave significativo refere-se à disponibilidade e à qualidade dos bancos de referência (Bucklin et al., 2024). Assim como ocorre nas abordagens morfológicas, o DNA *metabarcoding* não permite identificar espécies ausentes dos bancos de dados ou cujas classificações taxonômicas sejam instáveis (Symondson e Harwood 2014).

Neste contexto, o presente estudo propõe analisar a dieta de espécies presentes na área da barragem de Amador Aguiar II utilizando a metodologia de DNA *metabarcoding*. O foco foi a identificação de invertebrados e moluscos invasores presentes no conteúdo estomacal de peixes, buscando entender a composição e a diversidade alimentar dessas

espécies em um ambiente tropical. Especificamente, os objetivos do estudo foram (i) identificar os invertebrados e os moluscos invasores consumidos pelos peixes na região da barragem de Amador Aguiar II, por meio do DNA *metabarcoding*; (ii) avaliar se a riqueza de táxons e a composição faunística obtidas pelo método de análise visual do conteúdo estomacal (dados do capítulo anterior) são semelhantes às obtidas pelo DNA *metabarcoding*, considerando especificamente os táxons em comum.

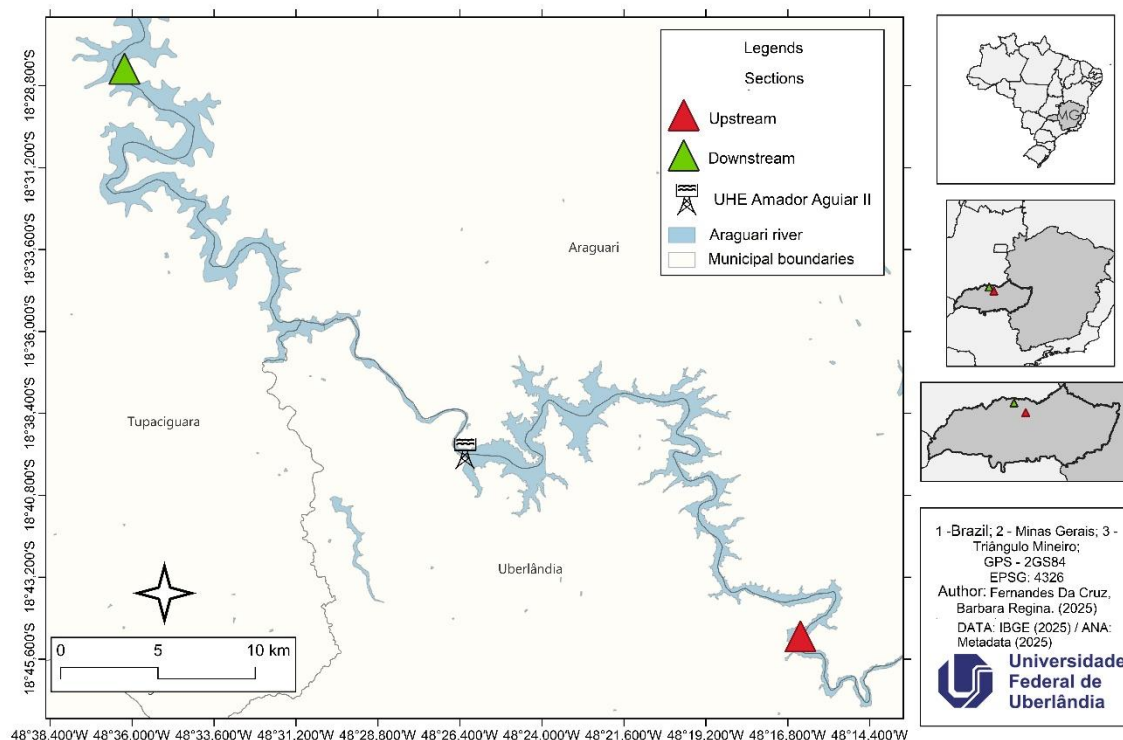
A hipótese central deste estudo é que o método de DNA *metabarcoding* permitirá identificar uma diversidade maior de invertebrados consumidos pela ictiofauna, devido à sua maior sensibilidade na eficiência em detectar itens criptográficos em comparação ao método de análise visual do conteúdo estomacal. Além disso, espera-se que a composição da dieta identificada por *metabarcoding* seja consistente com os padrões gerais observados no método de análise visual do conteúdo estomacal, mas revele itens alimentares adicionais que não foram detectados anteriormente, devido à maior resolução taxonômica e sensibilidade da abordagem molecular.

Material e métodos

Área de estudo

O rio Araguari (Figura 1) tem sua nascente no Parque Nacional da Serra da Canastra, localizado no município de São Roque de Minas, e apresenta uma área de drenagem de 21.063 km², percorrendo 475 km até desaguar no rio Paranaíba (Agência Nacional De Águas – ANA, 2013). O rio Araguari é um dos principais afluentes desse rio, que, por sua vez, se une ao rio Grande, formando o rio Paraná e integrando a Bacia do Prata (Vono, 2002).

Figura 1. Localização dos trechos amostrados a montante e a jusante da UHE Amador Aguiar II, rio Araguari, MG.



Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021), o rio Araguari abrange 30 municípios da Mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, no estado de Minas Gerais, entre eles o município de Araguari, onde está situada a Usina Hidrelétrica (UHE) Amador Aguiar II ($18^{\circ}39'35''$ S $48^{\circ}26'07''$ O). Esta usina possui uma capacidade instalada de geração de 210 MW e um reservatório com volume útil de 872,83 milhões de m^3 (Consórcio Capim Branco de Energia – CCBE, [s.d.]).

DNA metabarcoding

Foram analisadas 14 amostras de conteúdo estomacal, previamente coletadas durante os períodos de julho e outubro de 2023 e fevereiro e maio de 2024 e acondicionadas em álcool absoluto (99,3%). As amostras foram encaminhadas à empresa MetaGen Soluções Moleculares, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais, para a realização das análises de DNA *metabarcoding*. Para facilitar a identificação no laboratório e durante as análises, essas amostras receberam códigos associando ao final seus nomes científicos ao número de coleta (Tabela 1).

Tabela 1. Amostras classificadas de acordo com a espécie de peixe.

Amostra	ID	Espécie
3	MBC_ICT_03	<i>Iheringichthys labrosus</i>
4	MBC_ICT_04	<i>Hypostomus</i> sp. 2
6	MBC_ICT_06	<i>Pimelodus maculatus</i>
7	MBC_ICT_07	<i>Serrasalmus maculatus</i>
14	MBC_ICT_14	<i>Hypostomus</i> sp. 2
22	MBC_ICT_22	<i>Serrasalmus maculatus</i>
26	MBC_ICT_26	<i>Serrasalmus maculatus</i>
27	MBC_ICT_27	<i>Hoplias</i> aff. <i>malabaricus</i>
43	MBC_ICT_43	<i>Hoplias</i> aff. <i>malabaricus</i>
68	MBC_ICT_68	<i>Serrasalmus maculatus</i>
69	MBC_ICT_69	<i>Serrasalmus maculatus</i>
4P2	MBC_ICT_4P2	<i>Serrasalmus maculatus</i>
10P2	MBC_ICT_10	<i>Serrasalmus maculatus</i>
18P2	MBC_ICT_18	<i>Cichlasoma paranaense</i>

Para a extração em massa de DNA, o conteúdo estomacal de cada amostra foi transferido para microtubos de 1,5 ml. Para facilitar o processo de evaporação do álcool, amostras contendo grandes quantidades de conteúdo foram divididas em subamostras, que foram tratadas individualmente até antes da etapa de digestão tecidual. Como o álcool pode inibir reações enzimáticas, seu excesso foi removido por pipetagem e, em seguida, os microtubos foram mantidos em estufa a 55°C até a evaporação completa.

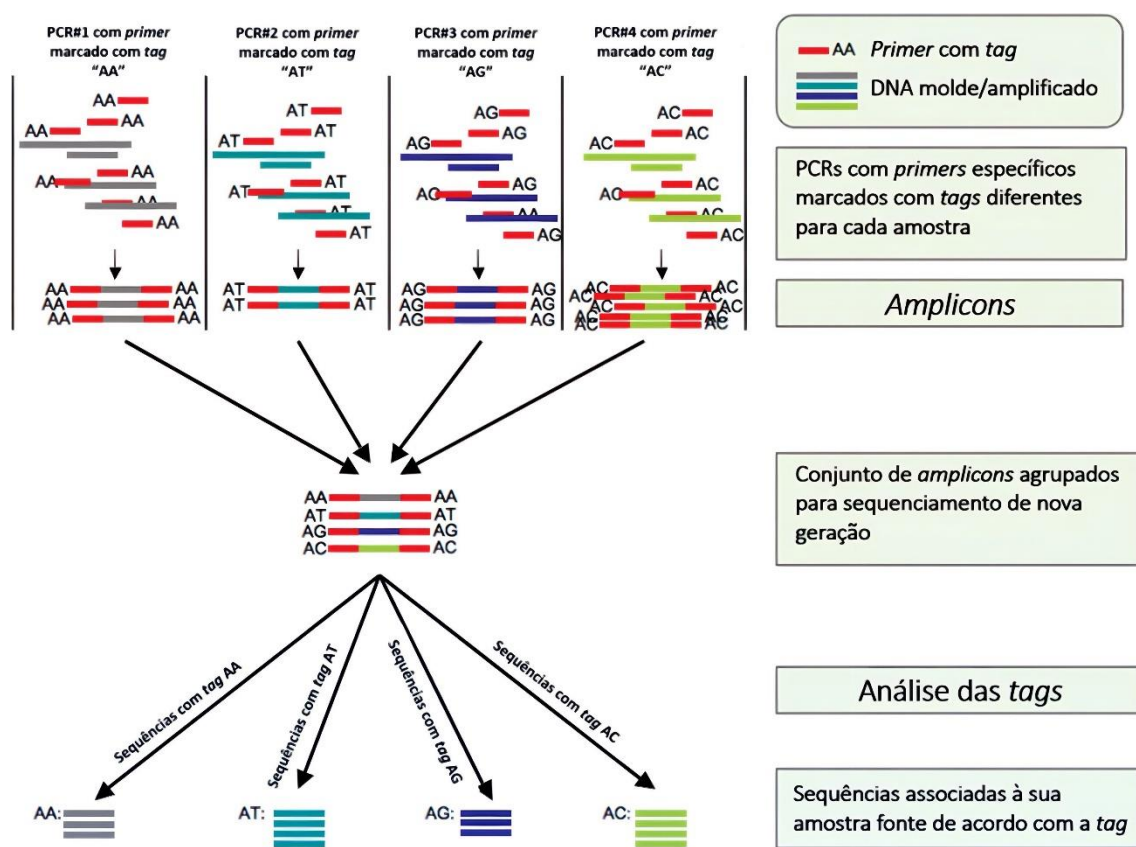
Após secarem completamente, as amostras foram maceradas e trituradas com o auxílio de pistilos plásticos e tesouras cirúrgicas para fragmentação do tecido. Em seguida, o DNA foi extraído utilizando o kit NucleoSpin™ Food (Macherey-Nagel) segundo o manual do fabricante. Este kit foi idealizado visando a extração de DNA de conteúdos estomacais heterogêneos, com itens de origem vegetal e animal. Para cada amostra, foram realizadas duas réplicas de extrações, cujos produtos finais foram misturados em um único tubo. Ao final das extrações em massa, o DNA das amostras foi quantificado por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop Lite Plus (Thermo Scientific™), a fim de verificar o sucesso desta etapa e avaliar a pureza do DNA extraído por meio da razão de absorbância 260/280.

Amplificação em massa do DNA

Através da reação em cadeia da polimerase (PCR), amplificamos um fragmento de aproximadamente 420 pares de base (pb) do gene COI utilizando primers (iniciadores)

adaptados a partir do conjunto BF2/BR2, desenvolvido por Elbrecht et al. (2017) para invertebrados. Os primers foram modificados com a inclusão de caudas (tags) específicas para cada amostra, possibilitando o posterior agrupamento, sequenciamento de todas as amostras simultaneamente e separação de suas respectivas sequências por bioinformática, como na Figura 1. Produzimos três réplicas de amplificação para cada amostra, visando mitigar os impactos dos vieses que a PCR pode causar na representatividade de cada amostra. Foi realizada uma PCR contendo água ao invés de DNA molde para monitorar possíveis contaminações. O resultado da PCR foi conferido em gel de agarose 1,8%.

Figura 2. Utilização de iniciadores modificados para permitir a associação de cada sequência à sua amostra fonte. Adaptado de BinLaden et al. (2007).



Preparo de bibliotecas e sequenciamento de DNA

Após a amplificação com primers marcados com tags exclusivas para cada amostra, estas foram combinadas na construção de uma biblioteca para cada marcador, preparada utilizando o kit Colibri PCR free (ThermoFisher). As bibliotecas foram quantificadas por fluorimetria utilizando o quantificador Qubit, com o kit 1x dsDNA HS Assay (ThermoFisher). O sequenciamento foi realizado utilizando a plataforma Illumina MiSeq,

com um kit V3 (600 ciclos) seguindo o protocolo do fabricante, para a produção de fragmentos paired-end de 600pb.

Análises de Bioinformática

As análises de bioinformática foram realizadas utilizando o pacote de análises de metabarcoding DADA2 (Callahan et al., 2016). FastQC foi usado para avaliar a qualidade das leituras e um filtro de comprimento foi usado para selecionar fragmentos de 400–470 pb e remover leituras com bases ambíguas, seguido de um método de agrupamento usando SWARM em $d = 1$ (Mahé et al., 2014). Após a mesclagem de leituras *paired-end* obtivemos as ASVs (Amplicon Sequence Variants). Etapas de filtragem rigorosas foram aplicadas ao conjunto de dados final para remover ASVs/leituras originadas de erros de sequenciamento ou contaminação para evitar falsos positivos. Para isso, todas as leituras não relacionadas a plantas foram removidas do conjunto de dados, incluindo espécies não-alvo (por exemplo, leituras de espécies humanas e domésticas). Para remover contaminantes putativos, o número máximo de leituras registradas nos controles (brancos de PCR) foi removido de todas as amostras. Todas as ASVs com menos de cinco leituras foram removidas do conjunto de dados final.

A atribuição taxonômica foi realizada usando o pacote BLASTr no R v3.5.1 (<https://www.R-project.org/>), com o banco de dados de referência contemplando as sequências referências de COI disponíveis no GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Além disso, as identificações taxonômicas foram realizadas de acordo com os seguintes limites gerais: ASVs foram identificadas em nível de espécie se a similaridade genética com a sequência referência foi >98%, conforme, em nível de gênero com 95% a 98% de similaridade, em nível de família com 90% a 95% de similaridade, em nível de ordem com 80% a 90%, e o maior nível taxonômico de classe foi atribuído a ASVs com menos de 80% de similaridade com sequências de referência. Caso uma sequência apresentasse similaridade próxima a sequências de referência de duas espécies, gêneros ou famílias distintas, ela foi associada ao nível taxonômico imediatamente superior.

A fim de retirar possíveis contaminações, foram removidas do conjunto de dados final, as ASVs que tiveram uma abundância relativa menor que 1% em cada amostra. A abundância relativa foi calculada dividindo o número de leituras de cada ASV pelo número total de leituras da amostra.

Curva de rarefação

A riqueza de táxons (ordem e família) foi estimada por meio da interpolação e extrapolação de curvas de rarefação, utilizando o pacote iNEXT (Hsieh et al., 2016) na linguagem R. Essa abordagem, fundamentada na teoria dos números de Hill, é amplamente empregada na mensuração da diversidade, pois permite estimar e comparar a riqueza de forma padronizada, independentemente do esforço amostral, minimizando possíveis vieses decorrentes de variações no tamanho das amostras (Noble et al., 2024). Os dados utilizados foram obtidos a partir de amostragens realizadas na UHE Amador Aguiar II, com os registros organizados em uma matriz de presença-ausência contendo informações de abundância para cada ponto amostral.

As curvas de rarefação e extrapolação foram geradas com base em três índices distintos: (i) riqueza de táxons ($q = 0$), que representa o número total estimado de táxons; (ii) índice de Shannon ($q = 1$), que pondera a diversidade segundo a abundância relativa das espécies; e (iii) índice de Simpson ($q = 2$), que atribui maior peso às espécies mais abundantes. Todas as curvas foram acompanhadas de intervalos de confiança de 95%. Contudo, considerando que o objetivo principal deste estudo é avaliar e comparar a riqueza taxonômica entre o método tradicional de análise visual do conteúdo estomacal e o DNA *metabarcoding*, apenas as curvas correspondentes à riqueza ($q = 0$) foram apresentadas na seção de resultados abaixo.

O resultado da quantificação e medida de absorbância do DNA extraído está descrito na Tabela 2. O valor de referência de pureza de DNA para a medida 260/280 foi de 1,8.

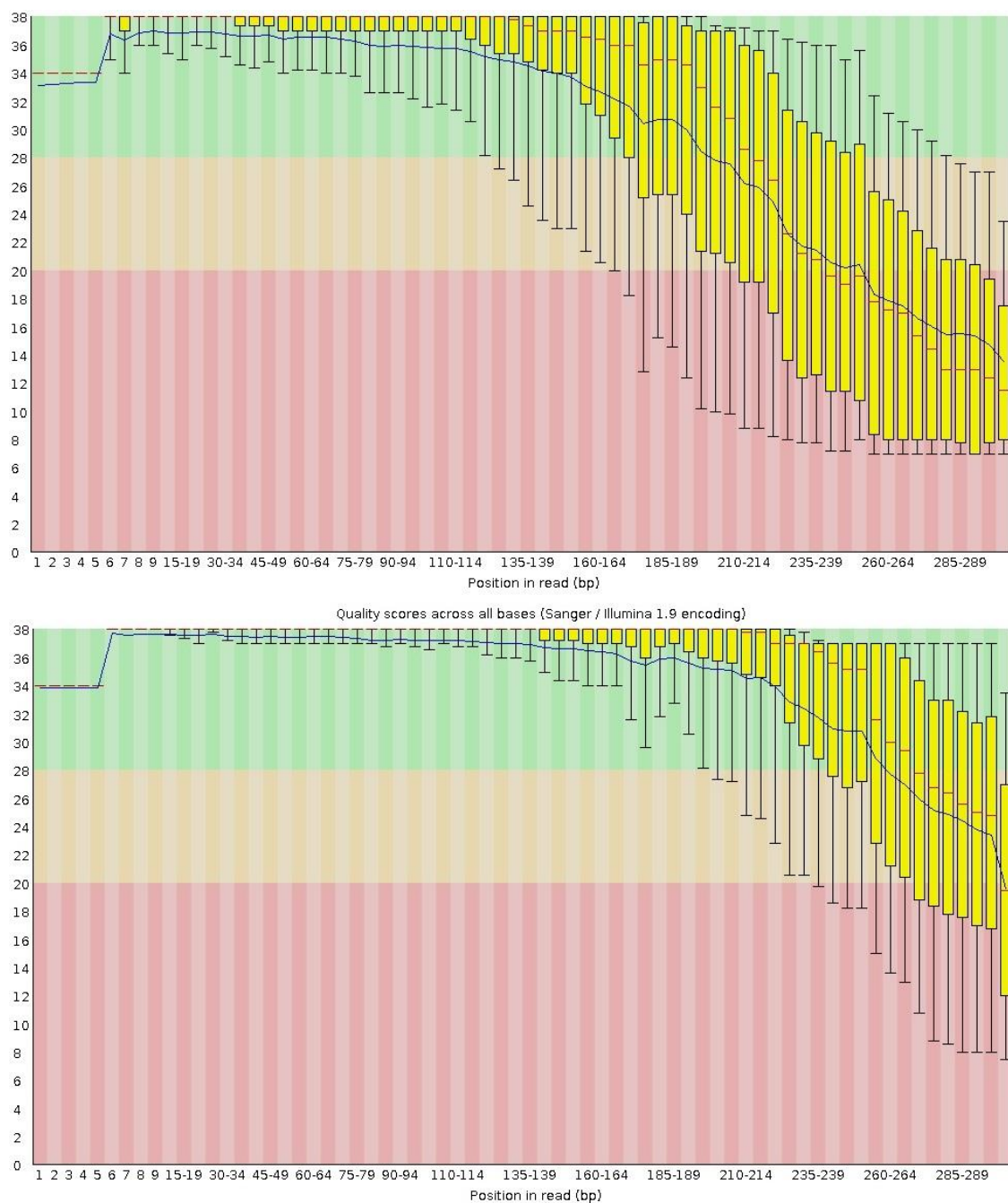
Tabela 2. Quantificações das amostras de estômagos de peixes (ng/mL).

Amostra	ID	Quantificação	A260/280
3	MBC_ICT_03	150,9	2,95
4	MBC_ICT_04	30,8	2,15
6	MBC_ICT_06	430,3	2,18
7	MBC_ICT_07	17,3	2,08
14	MBC_ICT_14	17	2,07
22	MBC_ICT_22	113,6	2,08
26	MBC_ICT_26	8,7	2,01
27	MBC_ICT_27	7,8	2
43	MBC_ICT_43	211,6	2,17
68	MBC_ICT_68	112,4	2,1
69	MBC_ICT_69	8,1	1,97

4P2	MBC_ICT_4P2	18,3	2,26
10P2	MBC_ICT_10	19,7	2,46
18P2	MBC_ICT_18	16,7	2,8

O sequenciamento foi bem-sucedido para todas as amostras e a qualidade das sequências produzidas para cada fita da biblioteca do gene COI. As fitas com tamanho ~210-225pb, que são os tamanhos esperados e utilizados para as análises posteriores, tiveram excelente qualidade para a fita R1, enquanto a fita R2 apresentou menor qualidade (Figura 2).

Figura 2. Análise de qualidade das fitas sequenciadas do gene COI.



A amplificação do gene COI para a identificação de insetos foi bem-sucedida, considerando que foi observado padrão de banda esperado para os amplicons (produtos de amplificação) gerados pelo marcador COI+tag, de aproximadamente, 480pb. O controle negativo não apresentou banda de amplificação.

Foram geradas, 2.088.065 leituras, com uma média de 149.147,5 leituras por amostra. Após as etapas de filtragem, foram removidas as leituras de baixa qualidade e

os erros intrínsecos de sequenciamento foram identificados e corrigidos, totalizando 805.274 leituras, com uma média de 57.520 leituras por amostra. Além disso, as sequências dos primers também foram removidas, uma vez que são homogêneas em todas as leituras de uma mesma biblioteca e, portanto, não informativas.

Um total de 338.919 leituras foram removidas por serem identificadas como peixes. No final das etapas de filtragem e identificação taxonômica, 415.831 leituras foram associadas a invertebrados.

Resultados

O resultado da classificação taxonômica (Tabela 3 e 4) revelou que os artrópodes foram o grupo mais representativo no conjunto de amostras, com destaque para os decápodes, que apresentaram os maiores valores de leituras, superando 80 mil em determinadas amostras. Outros grupos expressivos dentro de Arthropoda incluíram Diptera, principalmente Chironomidae, com mais de 13 mil leituras, além de Hymenoptera, representados por espécies como *Atta sexdens*, que alcançou mais de 23 mil leituras em uma única amostra. Também se destacaram registros elevados de Collembola (Symphypleona), com aproximadamente 64 mil leituras, e de Odonata, com a espécie *Ischnura fluvialis* ultrapassando 13 mil leituras em uma amostra. Entre os Branchiopoda, Macrotrichidae apresentou abundância considerável em algumas amostras, com quase 10 mil leituras. Annelida e Platyhelminthes estiveram presentes em menor escala, com centenas de leituras associadas a ordens como Tubificida e Catenulida. Já os moluscos apresentaram baixa representatividade, sendo detectada a espécie invasora *Corbicula fluminea*, mas em abundância reduzida (35 leituras). De modo geral, o padrão observado indica o predomínio de artrópodes, em especial crustáceos decápodes e insetos, enquanto moluscos invasores, embora presentes, ocorreram em baixa frequência. Apenas nas amostras 18P2, 43, 68 e 69 não foram encontradas leituras associadas a invertebrados.

Tabela 3. Abundância absoluta (número de leituras) de cada táxon de invertebrados. Filos estão em negrito e sublinhados, Classes estão em negrito, Ordens estão sublinhadas e Famílias estão sem formatação especial. Leituras associadas a identificações em nível de Filo, Classe, Ordem ou Famílias são apresentadas em suas linhas respectivas. As colunas são representadas pelas espécies: 10P2 *Serrassalmus maculatus*; 14 *Hypostomus* sp. 2; 22 *Serrassalmus maculatus*; 26 *Serrassalmus maculatus*, 27 *Hoplias* aff. *malabaricus*; 3 *Iheringichthys labrosus*; 4 *Hypostomus* sp. 2; 4P2 *Serrassalmus maculatus*; 6 *Pimelodus maculatus* e 7 *Serrassalmus maculatus*.

Táxons	10P2	14	22	26	27	3	4	4P2	6	7
Annelida										
Clitellata										
<u>Crassiclitellata</u>						1170		29	190	
Aeolosomatidae										
<i>Aeolosoma</i> sp.						118			156	
Rhynchobdellida										
Tubificida	6					327	142		209	28
Arthropoda										
Arachnida										
<u>Trombidiformes</u>						49				2060
Branchiopoda						366				
<u>Diplostraca</u>						97	16			
Chydoridae						269				
Macrotrichidae		17				9691	26	323	2974	
Sididae										
<i>Diaphanosoma</i> sp.							496			
Collembola		3393								
<u>Symphyleona</u>	1460	63380		57		1582	59	30		35
Hexanauplia						716			1200	
<u>Cyclopoida</u>									30	
Insecta		9				5414	57	283	1171	
<u>Blattodea</u>										
Termitidae							15			
<u>Coleoptera</u>						120	3559		19	14
<u>Diptera</u>						2740	91	42	42314	
Chironomidae						522	43		13111	15
Culicidae									132	
<u>Ephemeroptera</u>		8				32			118	
<u>Hymenoptera</u>						27	1154			
<u>Formicidae</u>							876			
<i>Atta</i> sp.							66			
<i>Atta sexdens</i>						405	23855			
<i>Odontomachus bauri</i>							34			

<i>Pseudomyrmex</i> sp.							411			
Vespidae							709			
<i>Apoica</i> sp.							63			
<i>Apoica flavissima</i>		4				166	6995		23	
<u>Odonata</u>									269	
Coenagrionidae										
<i>Ischnura fluviatilis</i>		225						13664		
<u>Trichoptera</u>										
Polycentropodidae										
<i>Cyrnellus</i> sp.									53	
Malacostraca	2754							2693		28
<u>Decapoda</u>										
<i>Macrobrachium</i> sp.	46903		315		467	754		66152	58	83310
Ostracoda						20			43	
<u>Podocopida</u>						202		79	355	
Darwinulidae										
<i>Darwinula</i> sp.						548		13		
<i>Darwinula stevensoni</i>						45				
Mollusca										
Bivalvia										
<u>Venerida</u>										
Cyrenidae										
<i>Corbicula fluminea</i>									35	
Platyhelminthes										
Catenulida						595			157	

Tabela 4. Abundância relativa (número de leituras) de cada táxon de invertebrados. Filos estão em negrito e sublinhados, Classes estão em negrito, Ordens estão sublinhadas e Famílias estão sem formatação especial. Leituras associadas a identificações em nível de Filo, Classe, Ordem ou Famílias são apresentadas em suas linhas respectivas. As colunas são representadas pelas espécies: 10P2 *Serrassalmus maculatus*; 14 *Hypostomus* sp. 2; 22 *Serrassalmus maculatus*; 26 *Serrassalmus maculatus*, 27 *Hoplias* aff. *malabaricus*; 3 *Iheringichthys labrosus*; 4 *Hypostomus* sp. 2; 4P2 *Serrassalmus maculatus*; 6 *Pimelodus maculatus* e 7 *Serrassalmus maculatus*.

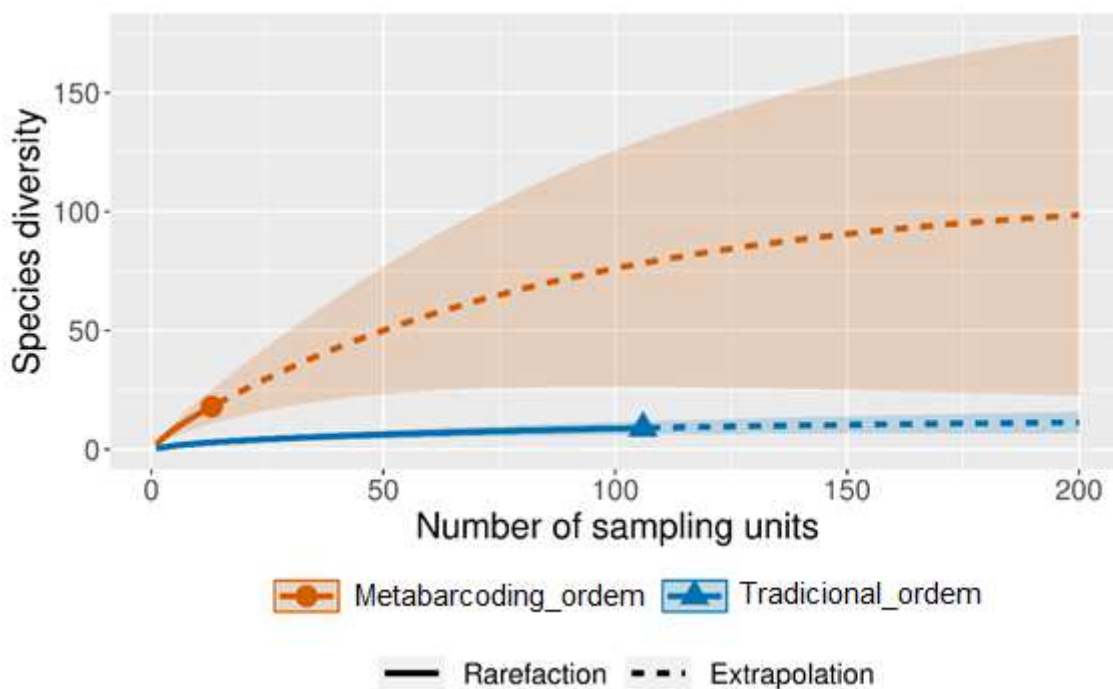
Táxons	10P2	14	22	26	27	3	4	4P2	6	7
Annelida										
Clitellata										
<u>Crassiclitellata</u>						4,50		0,03	0,30	
Aeolosomatidae										
<i>Aeolosoma</i> sp.						0,45			0,25	
Rhynchobdellida									0,11	
Tubificida	0,01					1,26	0,37		0,33	0,03
Arthropoda										
Arachnida										
<u>Trombidiformes</u>						0,19				2,41
Branchiopoda						1,41				
<u>Diplostraca</u>						0,37	0,04			
Chydoridae						1,04			0,02	
Macrotrichidae		0,030				37,31	0,07	0,39	4,74	
Sididae										
<i>Diaphanosoma</i> sp.							1,28			
Collembola		5,03								
<u>Symphyleona</u>	2,84	94,91		100		6,09	0,15	0,04		0,04
Hexanauplia						2,76			1,91	
<u>Cyclopoida</u>									0,05	
Insecta		0,01				20,84	0,15	0,34	1,87	
<u>Blattodea</u>										
Termitidae							0,04			
<u>Coleoptera</u>						0,46	9,20		0,03	0,02
<u>Diptera</u>						10,55	0,24	0,05	67,49	
Chironomidae						2,01	0,11		20,91	0,02
Culicidae									0,21	
<u>Ephemeroptera</u>		0,01				0,12			0,19	
<u>Hymenoptera</u>						0,10	2,98			
<u>Formicidae</u>							2,27			
<i>Atta</i> sp.							0,17			
<i>Atta sexdens</i>						1,56	61,69			

<i>Odontomachus bauri</i>							0,09			
<i>Pseudomyrmex</i> sp.							1,06			
Vespidae							1,83			
<i>Apoica</i> sp.							0,16			
<i>Apoica flavissima</i>		0,01				0,64	18,09		0,04	
<u>Odonata</u>									0,43	
Coenagrionidae										
<i>Ischnura fluviatilis</i>	0,44							16,40		
<u>Trichoptera</u>										
Polycentropodidae										
<i>Cyrnellus</i> sp.									0,08	
Malacostraca	5,36							3,23		0,03
<u>Decapoda</u>										
<i>Macrobrachium</i> sp.	91,34		100		100	2,90		79,41	0,09	97,45
Ostracoda									0,07	
<u>Podocopida</u>						0,78		0,09	0,57	
Darwinulidae										
<i>Darwinula</i> sp.						2,11		0,02		
<i>Darwinula stevensoni</i>						0,17				
Mollusca										
Bivalvia										
<u>Venerida</u>										
Cyrenidae										
<i>Corbicula fluminea</i>									0,06	
Platyhelminthes										
Catenulida						2,29			0,25	

A comparação direta entre as curvas de rarefação obtidas pelos métodos de DNA *metabarcoding* e morfológico tradicional revelou diferenças na estimativa de riqueza de invertebrados consumidos pela ictiofauna da barragem de Amador Aguiar II, especialmente nos níveis taxonômicos de ordem e família.

No nível de ordem, as curvas de rarefação e extrapolação evidenciam que o *metabarcoding* recuperou um número significativamente maior de grupos em comparação ao método tradicional, mesmo com esforço amostral reduzido. Com menos de 20 unidades amostrais, o *metabarcoding* já atingiu mais de 20 ordens, enquanto o método tradicional, mesmo após mais de 100 unidades, não ultrapassou 15 ordens (Figura 3). A extrapolação indica que o *metabarcoding* ainda tem potencial de revelar novos táxons com o aumento do esforço, enquanto a curva do método tradicional apresenta estabilização precoce, sugerindo limitação na detecção de novos grupos.

Figura 3. Curvas de rarefação e extrapolação para a diversidade de ordens de invertebrados detectadas no conteúdo estomacal de peixes por DNA *metabarcoding* (linha laranja) e pelo método tradicional (linha azul). As curvas representam a diversidade esperada ($q = 0$) em função do número de unidades amostrais. As áreas sombreadas indicam os intervalos de confiança de 95%.

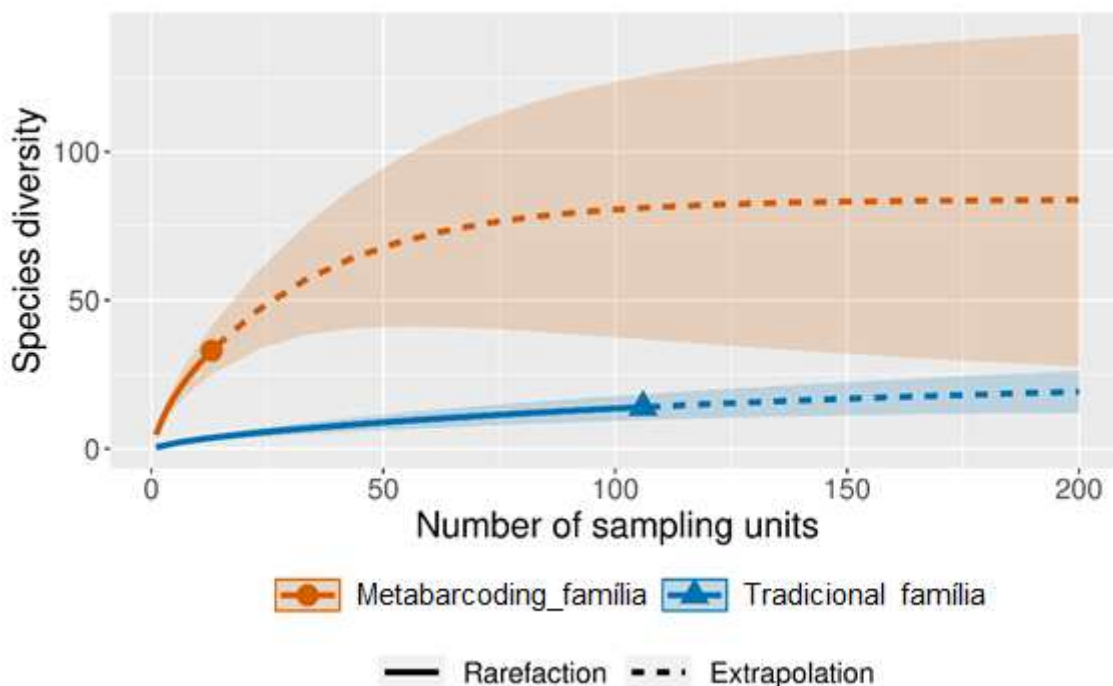


No nível de família, o padrão é semelhante, mas a discrepância entre os métodos é ainda mais pronunciada. O *metabarcoding* detectou cerca de 40 famílias com menos de 20 amostras, superando amplamente o método tradicional, que com mais de 100 amostras não alcançou 20 famílias (Figura 4). A extrapolação mostra que, mesmo com aumento do esforço amostral, o *metabarcoding* tende a revelar maior diversidade, enquanto o método tradicional permanece próximo da saturação.

De forma geral, os resultados demonstram que o *metabarcoding*, além de demandar menor esforço amostral, apresenta maior sensibilidade na detecção da diversidade de invertebrados em diferentes níveis taxonômicos. Essa superioridade metodológica é particularmente relevante em estudos de dieta, pois permite capturar uma fração mais representativa da diversidade de presas consumidas pelos peixes, incluindo grupos subestimados ou não detectados pelas abordagens tradicionais.

Figura 4. Curvas de rarefação e extrapolação para a diversidade de famílias de invertebrados detectadas no conteúdo estomacal de peixes por DNA *metabarcoding*

(linha laranja) e pelo método tradicional (linha azul). As curvas representam a diversidade esperada ($q = 0$) em função do número de unidades amostrais. As áreas sombreadas indicam os intervalos de confiança de 95%.



Discussão

Os resultados obtidos por meio do DNA *metabarcoding* revelaram uma dieta altamente diversa dos peixes analisados da barragem de Amador Aguiar II, com a detecção de táxons pertencentes a múltiplos filos, ordens e famílias. Essa ampla gama de presas é consistente com estudos prévios que utilizaram abordagens moleculares em ambientes dulcícolas tropicais, onde o consumo de invertebrados é uma característica central da ecologia trófica de muitos peixes (Albaina et al., 2016; Lin et al., 2023).

A presença predominante de Decapoda em várias amostras, com frequência superior a 90% em algumas, indica um padrão de consumo similar ao observado por Berry et al. (2015) e Gül et al. (2023), que relataram o papel dominante de crustáceos na dieta de peixes predadores e onívoros em ambientes aquáticos. Em ambos os estudos, assim como no presente, o *metabarcoding* foi decisivo para a detecção de presas com alto grau de digestão — algo subestimado pelos métodos tradicionais. A recorrência de Formicidae, incluindo *Atta sexdens*, também corrobora observações de Roy e Boulding

(2024), que demonstraram como *metabarcoding* é capaz de revelar a presença de presas terrestres ou alóctones associadas ao ambiente aquático-terrestre.

Além disso, a identificação de táxons como Chironomidae, Coenagrionidae e *Corbicula fluminea* reforça que o *metabarcoding* é sensível à detecção de fauna bentônica e de espécies invasoras, como também documentado por Bucklin et al. (2024) em contextos marinhos e por Shaw et al. (2016) em rios temperados. A detecção de *Corbicula fluminea*, um bivalve invasor, é particularmente relevante por indicar possíveis impactos ecológicos e implicações para o manejo ambiental local.

A profundidade taxonômica alcançada — com algumas ASVs atribuídas ao nível de espécie — evidencia o poder resolutivo do marcador COI, algo também destacado em estudos como os de Elbrecht e Leese (2017) e Campbell et al. (2022). A maior resolução é um dos principais diferenciais do *metabarcoding* em relação aos métodos tradicionais, conforme demonstrado por Sakaguchi et al. (2017), que compararam diretamente os dois métodos e mostraram que a identificação morfológica tende a restringir-se a níveis mais altos (ordem ou classe), especialmente em itens parcialmente digeridos.

Ainda que quatro amostras não tenham apresentado leituras associadas a invertebrados, esse resultado não é incomum em estudos com *metabarcoding* e pode estar relacionado a fatores como digestão avançada, baixa concentração de DNA-alvo ou falhas pontuais na amplificação (Basset et al., 2022 e Binladen et al., 2007). A filtragem rigorosa de ASVs com baixa abundância relativa (<1%) e a remoção de contaminantes aumentam a confiabilidade dos dados, mas também podem contribuir para a exclusão de itens alimentares reais, porém pouco representados (Basset et al., 2022).

Os resultados obtidos confirmam a eficácia do *metabarcoding* na identificação de invertebrados consumidos pela ictiofauna analisada, permitindo acessar uma diversidade que dificilmente seria detectável por uma análise tradicional (Pompanon et al., 2012; Shaw et al., 2016). Esses achados não apenas respondem ao primeiro objetivo deste estudo, mas também reforçam o potencial do DNA *metabarcoding* como ferramenta-chave para estudos tróficos em ambientes dulcícolas altamente diversos.

A comparação entre os métodos de análise morfológica tradicional e o DNA *metabarcoding* no presente estudo revela diferenças significativas tanto na riqueza quanto na composição faunística identificada nas amostras analisadas. Como demonstrado pelas curvas de rarefação, o *metabarcoding* proporcionou estimativas consistentemente mais

elevadas de riqueza taxonômica, especialmente nos níveis mais refinados (família e espécie), enquanto o método tradicional apresentou menor diversidade e não atingiu saturação — padrão que já foi amplamente relatado em estudos semelhantes (Roy e Boulding, 2024; Gül et al., 2023; Berry et al., 2015).

As curvas de rarefação também forneceram evidências importantes sobre a suficiência do esforço amostral e a eficiência relativa dos métodos aplicados. A saturação observada nas curvas de *metabarcoding* indica que o número de unidades taxonômicas detectadas se estabilizou com o número de amostras analisadas, sugerindo que novas coletas tenderiam a trazer poucas ou nenhuma unidade nova (Berry et al., 2015). Esse padrão reforça a sensibilidade e a abrangência do DNA *metabarcoding* para detectar a diversidade alimentar (Albaina et al., 2016; Shaw et al., 2016). Em contrapartida, a ausência de saturação nas curvas do método tradicional aponta para sua limitação em captar toda a diversidade disponível, seja por restrições metodológicas ou pela dificuldade de identificar itens morfológicamente degradados (Sakaguchi et al., 2017; Roy e Boulding, 2024). É importante destacar que, para que o método tradicional alcance um nível de saturação comparável ao do *metabarcoding*, o esforço amostral necessário seria substancialmente maior, implicando em maior tempo de processamento, custo e risco de viés de identificação (Gül et al., 2023; Lin et al., 2023).

Essa discrepância pode ser atribuída principalmente à sensibilidade superior do *metabarcoding*, que permite a eficiência em detectar itens criptográficos altamente digeridos ou fragmentados, os quais são muitas vezes ignorados ou não identificáveis nos métodos baseados em morfologia (Albaina et al., 2016; Sakaguchi et al., 2017). Isso ficou evidente nas amostras em que o *metabarcoding* identificou táxons de difícil detecção morfológica, como microcrustáceos, larvas de insetos e espécies de Odonata ou Collembola, que podem ser completamente degradados no processo digestivo.

Apesar disso, observou-se uma coerência geral entre os métodos nos níveis taxonômicos mais amplos, como ordem, indicando que ambos captam os principais componentes da dieta, especialmente os grupos dominantes. Esse padrão foi observado também por Shaw et al. (2016), que ao comparar métodos tradicionais com *metabarcoding* em rios temperados, encontraram convergência parcial em táxons amplos, mas divergência crescente em níveis taxonômicos mais específicos. Essa coerência geral sugere que os dois métodos não são mutuamente excludentes, mas sim complementares, como também defendido por Lin et al. (2023) e Basset et al. (2022).

A ausência de sobreposição entre os intervalos de confiança nas curvas de rarefação para família indica que o *metabarcoding* fornece acesso a uma porção da dieta invisível ao método tradicional. Isso reforça a ideia de que o uso exclusivo de abordagens morfológicas tende a subestimar a diversidade alimentar e pode resultar em vieses nas interpretações ecológicas de nicho alimentar e sobreposição trófica (Berry et al., 2015; Albaina et al., 2016). Por outro lado, o método tradicional pode oferecer vantagens contextuais, como a observação direta da biomassa, do estágio de desenvolvimento das presas ou da estrutura anatômica, aspectos ainda não acessíveis por métodos moleculares (Roy e Boulding, 2024).

Portanto, os resultados do presente estudo estão alinhados com a crescente literatura que recomenda o uso integrado de métodos moleculares e tradicionais para análises tróficas, especialmente em ambientes tropicais de alta diversidade (Pompanon et al., 2012; Bucklin et al., 2024). Essa abordagem combinada maximiza o potencial de detecção e interpretação ecológica da dieta, ao mesmo tempo que mitiga as limitações inerentes a cada método isoladamente (Bucklin et al., 2024).

Conclusão

Este estudo demonstrou que a aplicação do DNA *metabarcoding* é muito eficaz na identificação da diversidade de invertebrados consumidos por peixes na barragem de Amador Aguiar II. A metodologia permitiu detectar uma ampla variedade de grupos taxonômicos, muitos dos quais seriam subestimados ou não identificados por métodos tradicionais, devido à degradação morfológica dos itens alimentares. A profundidade taxonômica alcançada, aliada à sensibilidade da técnica, evidencia o potencial do *metabarcoding* como ferramenta central para estudos de dieta e monitoramento trófico em ambientes tropicais.

A comparação entre os métodos revelou que, embora o tradicional possa captar os principais grupos alimentares em níveis taxonômicos mais amplos, o DNA *metabarcoding* oferece maior riqueza, resolução e eficiência. Além disso, os resultados indicam que o esforço amostral necessário para que o método tradicional atinja um nível de saturação comparável ao do *metabarcoding* seria substancialmente maior, tornando a abordagem molecular mais adequada para contextos de monitoramento em larga escala e ecossistemas de alta complexidade. Assim, os métodos podem ser considerados complementares, e sua aplicação integrada tem o potencial de ampliar significativamente

a compreensão das interações tróficas e apoiar estratégias de conservação e manejo da ictiofauna.

Embora o DNA *metabarcoding* ofereça alto detalhamento na identificação de itens alimentares e revele componentes da dieta não detectáveis por métodos tradicionais, sua aplicação ainda é limitada pelo custo elevado de reagentes e sequenciamento, pela necessidade de infraestrutura laboratorial e por exigir maior tempo de processamento e análise. Esses fatores representam desafios logísticos importantes, especialmente em estudos com grande número de amostras ou em contextos com recursos financeiros restritos.

Referências

- Albaina, A., Aguirre, M., Abad, D., Santos, M., Estonba, A. (2016). 18S rRNA V9 metabarcoding for diet characterization: a critical evaluation with two sympatric zooplanktivorous fish species. *Ecology and Evolution*, 6(6), 1809–1824. 10.1002/ece3.1986
- Balestrieri, A., Remonti, L., Prigioni, C. (2011). Assessing carnivore diet by faecal samples and stomach contents: a case study with Alpine red foxes. *Open Life Sciences*, 6(2). 10.2478/s11535-010-0106-1
- Basset, Y.; Hajibabaei, M.; Wright, M T. G.; Castillo, A. M.; Donoso, D.A.; Segar, S.T.; Souto-Vilarós, D.; Soliman, D. Y.; Roslin, T.; Smith, M. A.; Lamarre, G. P. A.; De León, L.F.; Decaëns, T.; Palacios-Vargas, J. G.; Castaño-Meneses, G.; Scheffrahn, R.H.; Rivera, M.; Perez, F.; Bobadilla, R.; Lopez, Y.; Ramirez S., José A.; Cruz, M.M.; Galván, A.A.; Barrios, H. (2022). Comparison of traditional and DNA metabarcoding samples for monitoring tropical soil arthropods (Formicidae, Collembola and Isoptera). *Scientific Reports*, 12, 10762. 10.1038/s41598-022-14915-2.
- Berry, O., Bulman, C., Bunce, M., Coghlan, M., Murray, D. C., Ward, R. D. (2015). Comparison of morphological and DNA metabarcoding analyses of diets in exploited marine fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 540, 167-181. 10.3354/meps11524
- Binladen, J., Gilbert, M. T. P., Bollback, J. P., Panitz, F., Bendixen, C., Nielsen, R., Willerslev, E. (2007). The Use of Coded PCR Primers Enables High-Throughput Sequencing of Multiple Homolog Amplification Products by 454 Parallel Sequencing. *PLoS ONE*, 2(2), e197. 10.1371/journal.pone.0000197
- Bucklin, A., Batta-Lona, P. G., Questel, J. M., McMonagle, H., Wojcicki, M., Llopiz, J. K., Glancy, S., Caiger, P. E., Francolini, R., Govindarajan, A., Thorrold, S. R., Jech, M., Wiebe, P. H. (2024). Metabarcoding and morphological analysis of diets of mesopelagic fishes in the NW Atlantic Slope Water. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1411996. 10.3389/fmars.2024.1411996
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., e Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. 10.1038/nmeth.3869

Campbell, L. J., Castillo, N. A., Shenker, J., Owens, L. A., Santos, R. O., Adams, A. J., Goldberg, T. L. (2023). Bone appétit: DNA metabarcoding as a non-lethal alternative to morphological dietary assessment in Atlantic bonefish (*Albula vulpes*). *Environmental Biology of Fishes*, 106(2), 337-348. 10.1007/s10641-022-01328-3

Davidson, D. W., Cook, S. C., Snelling, R. R. (2004). Liquid-feeding performances of ants (Formicidae): ecological and evolutionary implications. *Oecologia*, 139, 255-266. 10.2307/40005866

Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F.; Bernatchez, L. (2017). Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular ecology*, 26(21), 5872-5895. 10.1111/mec.14350

Elbrecht, V., Leese, F. (2017). Validation and development of COI metabarcoding primers for freshwater macroinvertebrate bioassessment. *Front Environ Sci* 5: 11. 10.3389/fenvs.2017.00011

González-Varo, J. P., Arroyo, J. M., Jordano, P. (2014). Who dispersed the seeds? The use of DNA barcoding in frugivory and seed dispersal studies. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 806–814. 10.1111/2041-210x.12212

Granquist, S. M., Esparza-Salas, R., Hauksson, E., Karlsson, O., Angerbjörn, A. (2018). Fish consumption of harbour seals (*Phoca vitulina*) in north western Iceland assessed by DNA metabarcoding and morphological analysis. *Polar Biology*, 41(11), 2199-2210. 10.1007/s00300-018-2354-x

Gül, G., Keskin, E., Demirel, N. (2023). Comparison of fish prey contribution in the diet of European hake by visual assessment of stomach contents and DNA metabarcoding. *Environmental Biology of Fishes*, 106(4), 613-625. 10.1007/s10641-023-01398-x

Hyslop, E. J. (1980). Stomach content analysis—a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17(4): 411-429. 10.1111/j.1095-8649.1980.tb02775.x

Jo, H., Ventura, M., Vidal, N., Gim, J. S., Buchaca, T., Barmuta, L. A., Joo, G. J. (2016). Discovering hidden biodiversity: the use of complementary monitoring of fish diet based on DNA barcoding in freshwater ecosystems. *Ecology and Evolution*, 6(1), 219-232. 10.1002/ece3.1825

Kartzinel, T. R., Chen, P. A., Coverdale, T. C., Erickson, D. L., Kress, W. J., Kuzmina, M. L., Pringle, R. M. (2015). DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(26), 8019-8024. 10.1073/pnas.1503283112

Klymus, K. E., Marshall, N. T., Stepien, C. A. (2017). Environmental DNA (eDNA) metabarcoding assays to detect invasive invertebrate species in the Great Lakes. *PloS one*, 12(5), e0177643, 2017. 10.1371/journal.pone.0177643

Lin, X., Hu, S., Zhou, Y., Huang, H., Zhang, L., Liu, S. (2023). A multiple-methods approach to investigate dietary differences among nominally herbivorous fishes. *Marine Biology*, 170(11), 134. 10.1007/s00227-023-04269-2

- Lomartire, S., Marques, J. C., Gonçalves, A. M. (2021). The key role of zooplankton in ecosystem services: A perspective of interaction between zooplankton and fish recruitment. *Ecological Indicators*, 129, 107867. 10.1016/j.ecolind.2021.107867
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M. (2014). Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ*, 2, e593. 10.7717/peerj.593
- Nielsen, J. M., Clare, E. L., Hayden, B., Brett, M. T., Kratina, P. (2018). Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(2), 278-291. 10.1111/2041-210X.12869
- Roy, J. L., Boulding, E. G. (2024). Comparison of DNA metabarcoding and morphological diet analysis of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) as methods of estimating sea lice cleaning efficacy inside commercial Atlantic salmon (*Salmo salar*) sea cages. *Aquaculture*, 586, 740817. 10.1016/j.aquaculture.2024.740817
- Sakaguchi, S. O., Shimamura, S., Shimizu, Y., Ogawa, G., Yamada, Y., Shimizu, K., Kasai, H., Kitazato, H., Fujiwara, Y., Fujikura, K., Takishita, K. (2017). Comparison of morphological and DNA-based techniques for stomach content analyses in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*: a case study on diet richness of juvenile fishes. *Fisheries Science*, 83(1), 47–56. 10.1007/s12562-016-1040-6
- Shaw, J. L., Clarke, L. J., Wedderburn, S. D., Barnes, T. C., Weyrich, L. S., Cooper, A. (2016). Comparison of environmental DNA metabarcoding and conventional fish survey methods in a river system. *Biological conservation*, 197, 131-138. 10.1016/j.biocon.2016.03.010
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., Willerslev, E. (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular ecology*, 21(8), 2045-2050. 10.1111/j.1365-294x.2012.05470.x
- Valentini, A., Pompanon, F., Taberlet, P. (2009) DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology e Evolution*, 24(2), 110–117. 10.1016/j.tree.2008.09.011

Conclusão geral

Esta tese apresentou uma abordagem integrada para investigar as interações tróficas entre peixes e moluscos invasores em ambientes dulcícolas tropicais impactados por barragens. A partir de uma revisão sistemática na bacia do rio Paraná (Capítulo 1), de dados empíricos obtidos por análise visual de conteúdo estomacal (Capítulo 2) e da aplicação de técnicas moleculares por DNA *metabarcoding* (Capítulo 3), foi possível aprofundar o conhecimento sobre os padrões de consumo e a importância trófica desses invertebrados invasores para a ictiofauna.

Os resultados revelaram que *Limnoperna fortunei* e *Corbicula fluminea* são amplamente consumidos por diversas espécies de peixes neotrópicos, especialmente em ambientes onde esses moluscos são abundantes. Essa predação, embora não suficiente

para o controle populacional dos invasores, indica uma integração parcial desses organismos às cadeias alimentares locais. Por outro lado, *Melanoides tuberculata* foi pouco registrado como item alimentar e as espécies *Helisoma duryi* e *Physa acuta* não foram registradas como presas de peixes na bacia do rio Paraná, sugerindo a necessidade de investigações mais específicas sobre essas espécies.

A comparação entre métodos tradicionais e moleculares demonstrou a complementaridade entre abordagens, evidenciando que o DNA *metabarcoding* amplia significativamente a detecção da diversidade de presas consumidas, especialmente aquelas de difícil identificação morfológica. Essa combinação de métodos se mostrou promissora para estudos de ecologia alimentar em sistemas aquáticos complexos.

De forma geral, esta tese reforça que as interações entre peixes e moluscos invasores são influenciadas por múltiplos fatores — incluindo estrutura do hábitat, disponibilidade de presas e características morfofuncionais dos predadores — e que tais interações podem ter implicações ecológicas significativas, como a reorganização trófica e a modificação de nichos ecológicos. Ao abordar a predação como uma via de integração ecológica e não apenas de controle biológico, este trabalho contribui para uma compreensão mais avançada das consequências das invasões biológicas em ambientes dulcícolas sob forte influência antrópica.

Sugestões para pesquisas futuras

1. **Ampliação geográfica e temporal:** Investigações em outras bacias hidrográficas, especialmente no Norte e Nordeste do Brasil, poderão revelar padrões distintos de predação, associados a diferentes contextos ambientais e históricos de invasão. Estudos longitudinais também são necessários para compreender a persistência ou variação das interações ao longo do tempo.
2. **Predação de moluscos pouco estudados:** A predação de *Melanoides tuberculata*, *Physa acuta* e *Helisoma duryi* permanece pouco documentada. Experimentos e estudos de campo focados nessas espécies poderão preencher lacunas importantes sobre seu papel trófico.
3. **Integração de abordagens morfológicas e moleculares:** A continuidade da aplicação de DNA *metabarcoding*, aliada à análise visual tradicional, deve ser estimulada em estudos de dieta. Essa integração é essencial para aumentar a

precisão e robustez das análises, sobretudo em habitats com diversidade de espécies morfológicamente semelhantes ou elevada fragmentação das presas.

4. **Aspectos funcionais da predação:** Avaliações experimentais sobre eficiência predatória, seletividade alimentar e preferências tróficas podem fornecer subsídios para entender se determinadas espécies de peixes poderiam desempenhar um papel relevante na regulação de populações de moluscos invasores em contextos específicos.
5. **Implicações ecossistêmicas:** Pesquisas que explorem os efeitos indiretos da predação de moluscos invasores sobre a rede trófica, fluxo de energia e competição entre espécies são fundamentais para compreender os impactos de longo prazo dessas interações.
6. **Efeitos sinérgicos com outros fatores ambientais:** Estudos que considerem conjuntamente as invasões biológicas e outros fatores de degradação ambiental, como contaminação por nutrientes e compostos tóxicos e alteração hidrológica por barragens, poderão elucidar como outros fatores ambientais interagem para moldar a estrutura das comunidades aquáticas.