



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE UnB PLANALTINA - FUP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS - PPGCA

GILMAR ANTONIO SILVA FILHO

**USO COMBINADO DE PERFIS ELEMENTARES E RAZÕES ISOTÓPICAS PARA
DISCRIMINAÇÃO DAS ORIGENS GEOGRÁFICAS E PRÁTICAS DE MANEJO DO
ARAPAIMA GIGAS (PIRARUCU)**

BRASÍLIA - DF

2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE UnB PLANALTINA - FUP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS - PPGCA

GILMAR ANTONIO SILVA FILHO

**USO COMBINADO DE PERFIS ELEMENTARES E RAZÕES ISOTÓPICAS PARA
DISCRIMINAÇÃO DAS ORIGENS GEOGRÁFICAS E PRÁTICAS DE MANEJO DO
ARAPAIMA GIGAS (PIRARUCU)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra Gabriela Bielefeld Nardoto
Coorientador: Dr. Fábio José Viana Costa

BRASÍLIA - DF

2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE UnB PLANALTINA - FUP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS - PPGCA

GILMAR ANTONIO SILVA FILHO

**USO COMBINADO DE PERFIS ELEMENTARES E RAZÕES ISOTÓPICAS PARA
DISCRIMINAÇÃO DAS ORIGENS GEOGRÁFICAS E PRÁTICAS DE MANEJO DO
ARAPAIMA GIGAS (PIRARUCU)**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

SS586u Silva Filho, Gilmar Antonio
Uso combinado de perfis elementares e razões isotópicas para discriminação das origens geográficas e práticas de manejo do Arapaima gigas (pirarucu) / Gilmar Antonio Silva Filho; orientador Gabriela Nardoto; co-orientador Fábio Costa. -- Brasília, 2024.
73 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) --
Universidade de Brasília, 2024.

1. Rastreabilidade do pirarucu. 2. Análise elementar. 3. Análise isotópica. I. Nardoto, Gabriela, orient. II. Costa, Fábio, co-orient. III. Título.



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE UnB PLANALTINA - FUP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS - PPGCA

GILMAR ANTONIO SILVA FILHO

**USO COMBINADO DE PERFIS ELEMENTARES E RAZÕES ISOTÓPICAS PARA
DISCRIMINAÇÃO DAS ORIGENS GEOGRÁFICAS E PRÁTICAS DE MANEJO DO
ARAPAIMA GIGAS (PIRARUCU)**

Banca examinadora:

Profa. Dra Gabriela Bielefeld Nardoto / PPGCA – UnB (Presidente/Orientadora)

Prof. Dr Plínio Barbosa de Camargo / CENA/ESALQ – USP (Membro Titular)

Prof. Dr Rodrigo Diana Navarro / PPGCA – UnB (Membro Titular)

Prof. Dr Luiz Fabrício Zara / PPGCA – UnB (Membro Suplente)

BRASÍLIA - DF

2024

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus. Senhor, obrigado por me guiar, fortalecer e fazer prosperar a minha fé nos momentos de maior desconforto dessa jornada.

À Elisabeth, minha esposa e companheira, expressei minha mais profunda gratidão pelo apoio incondicional e irrestrito. O seu suporte me ajudou a unir forças para atingir esse objetivo. À Catarina, minha filha, agradeço por ser meu refúgio e minha fonte de descontração em meio a momentos de dificuldades.

Aos meus pais, Sr Gilmar e Dona Minda, obrigado por serem exemplos de determinação. Vocês sempre me inspiraram a buscar o melhor em todos os ramos da minha vida. Obrigado também às minhas irmãs e demais familiares que confiaram no meu trabalho e sempre estiveram na torcida pelo meu sucesso.

Um agradecimento especial à minha orientadora, Gabriela Nardoto que, desde o início, confiou, apoiou e conduziu de forma brilhante a orientação para a elaboração desse trabalho. Sua empolgação com cada avanço dos seus orientados, por menor que fosse, encorajou-me a perseverar e a buscar a excelência ao longo deste processo.

Ao meu coorientador, Fábio Costa, seu comprometimento e profissionalismo combinado com uma abordagem descontraída tornou a jornada mais profícua e agradável.

Agradeço aos membros do *Environmental isotope studies* – EIS pelo incentivo, pelas trocas de opiniões e pelo compartilhamento de conhecimento que enriqueceram imensamente a minha pesquisa.

Aos estudantes, mestrandos, doutorandos e professores do Laboratório de Química Analítica da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, em especial à professora Clésia Nascentes, que pacientemente respondeu minhas muitas dúvidas e, de forma muito generosa, orientou-me durante as análises feitas naquele laboratório.

Minha gratidão à Universidade de Brasília – UnB, que, pela terceira vez, me acolheu e proporcionou um ambiente de qualidade para desenvolver o ensino e a pesquisa. Ao longo de duas graduações e durante o mestrado testemunhei seu contínuo compromisso com a excelência acadêmica, busca por inovação e compartilhamento do conhecimento.

Agradeço ao Instituto Mamirauá, aos pescadores profissionais de Lagoa da Confusão e aos proprietários das duas pisciculturas por permitirem a coleta de amostras de pirarucu. Obrigado pela disposição em colaborar e contribuir com a ciência.

Agradeço aos membros da banca Prof. Dr Plínio Barbosa de Camargo, Prof. Dr Rodrigo Diana Navarro e Prof. Dr Luiz Fabricio Zara por terem aceitado participar da arguição e aprimoramento do trabalho.

Expresso minha gratidão ao Instituto Brasília Ambiental - IBRAM por conceder a licença remunerada para que eu pudesse me dedicar exclusivamente ao mestrado.

Agradeço à Diretoria Técnico-Científica da Polícia Federal pelo apoio essencial durante as análises isotópicas, etapa fundamental para a realização deste estudo.

Por fim, agradeço a todos que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	16
2.1 Objetivos específicos.....	16
2.2 Hipóteses.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 O pirarucu no ambiente natural.....	17
3.2 O pirarucu no ambiente de cultivo.....	19
3.3 Histórico de exploração e as restrições à pesca do pirarucu.....	21
3.4 Rastreabilidade do pescado.....	22
3.4.1 Metodologia isotópica como ferramenta de rastreamento de peixes.....	24
3.4.2 Análise multielementar como ferramenta de rastreamento de peixes.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1 Área de amostragem.....	28
4.1.1 Bacia do Tocantins-Araguaia.....	28
4.1.2 Bacia Amazônica.....	29
4.1.3 Pisciculturas.....	31
4.1.4 Estabelecimentos Comerciais.....	33
4.2 Coleta de amostras.....	34
4.3 Preparação das amostras, análises de isótopos estáveis e multielementar.....	36
4.4 Espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS).....	37
4.5 Determinação elementar por espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)	38
4.6 Análises estatísticas.....	40
5. RESULTADOS.....	41
5.1. Variações isotópicas entre os pirarucus de manejos e bacias hidrográficas diferentes.....	41
5.2 Perfis elementares dos grupos de pirarucus.....	46
6 DISCUSSÃO.....	54
7 CONCLUSÃO.....	61
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

RESUMO

Apesar dos vários mecanismos de controle da atividade pesqueira, peixes como o Pirarucu (*Arapaima* spp.) estão ameaçados e até extintos em algumas regiões devido à pesca ilegal, não declarada e não regulamentada (INN). Por outro lado, a rápida expansão da aquicultura surgiu como uma alternativa à apanha de pirarucus selvagens. Determinar a origem geográfica e se um peixe ou seu derivado é criado em cativeiro ou capturado na natureza é importante para assegurar o monitoramento da atividade pesqueira e, por consequência, garantir a conservação da biota aquática. As limitações dos métodos atuais de procedência de peixes podem ser superadas utilizando técnicas complementares. O objetivo do presente estudo foi utilizar análises isotópicas e elementares para diferenciar os pirarucus originários de diferentes tipos de manejo (captura no ambiente natural ou criados em cativeiro) e bacias hidrográficas localizadas no território brasileiro. A partir de 79 amostras do músculo dorsal de pirarucus de origem e manejo conhecidos e outras 52 amostras de pirarucus comercializados no Distrito Federal (DF), buscou-se diferenciar e caracterizar o manejo e a bacia hidrográfica de origem, além de caracterizar os pirarucus comercializados no DF. A análise isotópica de carbono e nitrogênio distinguiu os tipos de manejo e as bacias hidrográficas de origem. As maiores diferenças nas concentrações de elementos entre os peixes das bacias hidrográficas Amazônica e do Tocantins-Araguaia foram encontradas para os elementos Cs e Sr. A Análise de Componentes Principais (PCA), combinando perfis elementares e isotópicos estáveis, pôde separar claramente as amostras em dois grupos correspondentes às bacias hidrográficas de origem. Embora não tenha sido possível categorizar todas as amostras comercializadas no DF, os resultados preliminares indicam que houve predominância de pirarucus provenientes da captura na bacia Amazônica. O uso combinado das análises isotópicas e elementares mostrou ser uma ferramenta valiosa para a rastreabilidade e monitoramento do pirarucu, identificando as áreas de origem e as práticas de manejo empregadas no território brasileiro. Essas técnicas são promissoras para combater a pesca ilegal e fortalecer as ações de conservação do pirarucu, contribuindo significativamente para a sustentabilidade e preservação da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: *Arapaima gigas*, composição química, rastreabilidade geográfica, pirarucu, proveniência, isótopos estáveis, oligoelementos.

ABSTRACT

Despite the various mechanisms for controlling fishing activity, fish such as the Pirarucu (*Arapaima gigas*) are threatened and even extinct in some regions due to illegal, unreported, and unregulated fishing (IUU). On the other hand, the rapid expansion of aquaculture has emerged as an alternative to harvesting wild pirarucu. Determining the geographical origin and whether a fish or its derivative is bred in captivity or caught in the wild is essential to ensure the monitoring of fishing activity and, consequently, to guarantee the conservation of aquatic biota. The limitations of current fish provenance methods can be overcome using complementary techniques. This study used isotopic and elemental analyses to differentiate pirarucus from different types of management (capture in the wild or reared in captivity) and river basins in Brazil. Using 79 samples of the dorsal muscle of pirarucus of known origin and management and another 52 samples of pirarucus sold in the Federal District (DF), the aim was to differentiate and characterize the management and hydrographic basin of origin, as well as to characterize the pirarucus sold in the DF. The isotopic analysis of carbon and nitrogen distinguished the types of management and the river basins of origin. The most significant differences in element concentrations between fish from the Amazon and Tocantins-Araguaia river basins were found for the elements Cs and Sr. Principal Component Analysis (PCA), combining elemental and stable isotope profiles, was able to clearly separate the samples into two groups corresponding to the river basins of origin. Although it was not possible to categorize all the samples marketed in the Federal District, the preliminary results indicate that there was a predominance of pirarucus from the Amazon basin. The combined use of isotopic and elemental analyses has proved to be a valuable tool for the traceability and monitoring of pirarucu, identifying areas of origin and management practices employed in Brazil. These techniques are promising for combating illegal fishing and strengthening conservation efforts for pirarucu, contributing significantly to the sustainability and preservation of the species.

KEYWORDS: *Arapaima gigas*, chemical composition, geographical traceability, pirarucu, provenance, stable isotopes, trace elements.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Foto de um exemplar de pirarucu (*Arapaima gigas*). Fonte: arquivo do autor.

Figura 2. Frequência de comprimento total (cm) de 509 pirarucus desembarcados. A linha pontilhada indica o tamanho mínimo regulamentado para captura. Figura adaptada de Cavole, Arantes e Castello (2015).

Figura 3. Gráfico de barras mostrando a taxa de classificação correta quanto à origem geográfica e método de produção de salmões, camarões, pepinos do mar e carpas usando análises isotópicas, análises elementares e ambas as análises combinadas. O uso combinado dos dois métodos apresentou altas taxas de classificações corretas e só não melhorou a taxa de classificação do robalo quanto ao método de produção. Figura adaptada de HAN *et al.* (2022).

Figura 4. Foto do rótulo da ração utilizada para alimentação de pirarucus mantidos em uma das pisciculturas. Fonte: Arquivo do autor.

Figura 5. Mapa com os pontos de coleta de amostras de pirarucus cultivados e selvagens. O território do Distrito Federal (em laranja) representa o local das coletas de pirarucus adquiridos de 52 estabelecimentos comerciais.

Figura 6. Distribuição geográfica dos estabelecimentos comerciais onde foram coletadas as amostras de pirarucu no DF.

Figura 7. Representação gráfica da sequência de etapas de processamento das amostras até os resultados das análises isotópicas e elementares

Figura 8. Variações de $\delta^{13}\text{C}$ dos grupos de pirarucus de diferentes manejos (A) e bacias hidrográficas (B), destacando as tendências centrais ao longo das distribuições. Cada círculo pequeno representa a razão isotópica de um peixe. (A) A designação “Cultivados” representa o grupo de peixes adquiridos das pisciculturas e a designação “Selvagens” o grupo de peixes extraídos do ambiente natural das duas bacias hidrográficas. (B) O termo “Selvagem – AM” foi usado para designar os pirarucus selvagens oriundos da bacia hidrográfica do rio Amazonas. O termo “Selvagem – TO” foi usado para nomear o grupo de pirarucus oriundos da bacia hidrográfica do rio Tocantins – Araguaia.

Figura 9. Variações de $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus de diferentes manejos (A) e bacias hidrográficas (B), destacando as tendências centrais ao longo das distribuições. Cada círculo pequeno representa a razão isotópica de um peixe. (A) A designação “Cultivados” representa o grupo de peixes adquiridos das pisciculturas e a designação “Selvagens” o grupo de peixes extraídos do ambiente natural das duas bacias hidrográficas. (B) O termo “Selvagem – AM” foi usado para designar os pirarucus selvagens oriundos da bacia hidrográfica do rio Amazonas. O termo “Selvagem – TO” foi usado para nomear o grupo de pirarucus oriundos da bacia hidrográfica do rio Tocantins – Araguaia.

Figura 10. Distribuição dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus cultivados (cinza), selvagens da bacia do Tocantins-Araguaia (em verde musgo) e selvagens da bacia Amazônica (verde bandeira). Cada círculo pequeno representa as razões isotópicas de carbono e nitrogênio de um pirarucu. As variabilidades estão representadas graficamente por barras de erro

bidirecionais em torno das médias calculadas para cada grupo. O “X” no ponto de cruzamento entre as barras de erro caracteriza a média dos dois isótopos para cada grupo de pirarucus.

Figura 11. Distribuição dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus cultivados (cinza), selvagens da bacia do Tocantins-Araguaia (verde musgo), selvagens da bacia Amazônica (verde bandeira) e pirarucus adquiridos dos estabelecimentos comerciais do DF (laranja). Cada círculo pequeno representa as razões isotópicas de carbono e nitrogênio de uma amostra. As variabilidades estão representadas graficamente por barras de erro bidirecionais em torno das médias calculadas para cada grupo. O “X” no ponto de cruzamento entre as barras de erro caracteriza a média dos dois isótopos por grupo.

Figura 12. Comparações das concentrações (mg.kg^{-1} , peso seco) dos elementos Cr, Mn, Fe, Co, Sr e Cs em amostras de pirarucus coletados de diferentes tipos de manejos (cultivado e selvagem) e das bacias hidrográficas do Tocantins – Araguaia, (Selvagem – TO) e bacia Amazônica (Selvagem – AM). O símbolo * sobre a notação química do elemento analisado indica diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$)

Figura 13. Concentrações de Cs em amostras de pirarucus Comercializados (coletados em estabelecimentos comerciais do Distrito Federal), Cultivados (coletados de pisciculturas), Selvagens – AM (coletados em ambiente natural da bacia Amazônica) e Selvagens-TO (coletados em ambiente natural da bacia do Tocantins-Araguaia).

Figura 14. Distribuição dos valores de concentrações dos elementos Cs (mg kg^{-1}) e Sr (mg kg^{-1}) dos pirarucus dos grupos selvagens da Amazônia (Selvagem – AM) e selvagens da bacia do Tocantins – Araguaia (Selvagem – TO).

Figura 15. Distribuição dos valores de concentrações dos elementos Cs (mg kg^{-1}) e Sr (mg kg^{-1}) das amostras de pirarucus extraídos da bacia Amazônica (Selvagem – AM), extraídos da bacia do Tocantins – Araguaia e das amostras de pirarucus adquiridas de estabelecimentos comerciais do Distrito Federal (Comercializados).

Figura 16. Análise de componentes principais (PCA) considerando a contribuição das concentrações elementares para o agrupamento dos pirarucus das duas bacias hidrográficas. Os elementos incluídos são Césio (Cs), Estrôncio (Sr), Cobalto (Co), Manganês (Mn), Ferro (Fe) e Cromo (Cr). Foram analisados os pirarucus da bacia Amazônica (Selvagem – AM) e da bacia do Tocantins – Araguaia (Selvagem – TO). Os dois componentes principais utilizados na representação gráfica (PC1 e PC2) explicaram 67,3 % da variabilidade total.

Figura 17. Análise de componentes principais (PCA) considerando a contribuição das concentrações elementares e das razões isotópicas para o agrupamento dos pirarucus das duas bacias hidrográficas. As razões isotópicas de carbono (D13.C) e nitrogênio (D15.N), além dos elementos Césio (Cs), Estrôncio (Sr), Cobalto (Co), Manganês (Mn), Ferro (Fe) e Cromo (Cr) foram incluídos na análise. Amostras da bacia Amazônica (Selvagem – AM) foram simbolizadas pelos círculos verdes e as amostras da bacia do Tocantins – Araguaia (Selvagem – TO) foram simbolizadas pelos triângulos em verde musgo. Os dois componentes principais utilizados na representação gráfica (PC1 e PC2) explicaram 65,7 % da variabilidade total.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados sobre o local de coleta das amostras, o número de amostras coletadas (N), o tipo de manejo e o ambiente em que foram extraídas as amostras.

Tabela 2. Condições operacionais utilizadas no ICP-MS.

Tabela 3. Comparação das razões isotópicas entre os grupos de pirarucus provenientes de manejos (Cultivado e Selvagem) e de bacias hidrográficas diferentes. Os pirarucus descritos como Selvagem AM e Selvagem TO foram coletados no ambiente natural das bacias Amazônica e do Tocantins-Araguaia respectivamente. Os cultivados foram coletados de tanques de piscicultura. O número de amostras é representado pela letra N.

Tabela 4. Qualidade analítica avaliada a partir da taxa de recuperação e coeficiente de variância. Os limites de detecção estão representados como LD (mg.kg^{-1}). Fígado bovino (MRC NIST 1577c – Bovine Liver) foi utilizado como material de referência certificado (MRC).

Tabela 5. Resultados das concentrações elementares (peso seco) nas amostras de músculos de pirarucus categorizados em 4 grupos: Cultivados (coletados em pisciculturas), Selvagens (extraídos do ambiente natural das bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia), Selvagens-AM (extraídos da bacia Amazônica) e Selvagens-TO (extraídos da bacia do Tocantins-Araguaia). Os resultados são relatados como média \pm desvio padrão e valores de máximo, mínimo e mediana. Elementos detectados em menor concentração estão em $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e os em maior concentração estão em mg.kg^{-1} .

1. INTRODUÇÃO

A demanda global por proteína animal expandiu-se significativamente nas últimas décadas em virtude do crescimento populacional e aumento da renda. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), o consumo per capita de alimentos aquáticos mais do que dobrou entre os anos de 1960 e 2020, passando de cerca de 9 kg para mais de 20 kg por pessoa ao ano (FAO, 2022). Nesse contexto, apesar da produção aquícola atender parte dessa demanda, os peixes de alto valor, sujeitos à pesca de captura, continuam enfrentando uma intensa pressão (SAMEERA *et al.*, 2021).

A pesca extrativa intensificada e desordenada representa uma das principais causas da perda de biodiversidade aquática e do declínio nos estoques pesqueiros, bem como do aumento no número de espécies extintas e em risco de extinção (MIQUELEIZ *et al.*, 2022; ZHANG *et al.*, 2020). Nesse contexto de crescente demanda por produtos pesqueiros e de esgotamento das populações de peixes, acentua-se a necessidade de uma gestão sustentável dos recursos aquáticos (COOKE *et al.*, 2023), por meio de iniciativas de manejo sustentável e por medidas de fortalecimento da proteção da biodiversidade (CHUAYSI; KIATTISIN, 2020; PELICICE *et al.*, 2017).

O *Arapaima gigas* (pirarucu) é uma das espécies de peixes amazônicos mais importantes economicamente. Atualmente não há dados oficiais sobre a pesca extrativa do pirarucu, mas estudos de Garcia *et al.* (2009) indicam uma redução na quantidade de pirarucus desembarcados nos principais portos da Amazônia peruana nas últimas décadas. Nesse estudo, constatou-se uma queda na proporção de pirarucus desembarcados nos portos da Amazonia peruana, passando de 6% para menos de 2% do total de peixes desembarcados entre os anos de 1984 e 2006. Cavole, Arantes e Castelo (2015) também observaram uma tendência semelhante de redução nos desembarques de *Arapaimas* no estado do Pará, além de uma diminuição no tamanho médio dos exemplares capturados, indicando uma possível situação de sobrepesca (FROESE, 2004).

Além da destruição contínua de seus habitats naturais, a pesca ilegal, não declarada e não regulamentada (INN) representa uma ameaça à sobrevivência do pirarucu (CASTELLO; STEWART, 2010; CAVOLE; ARANTES; CASTELLO, 2015). Devido à pesca excessiva, o pirarucu foi considerado uma espécie em perigo. Em resposta a essa situação, a pesca do pirarucu sofreu restrições legais e o comércio internacional foi regulamentado, culminando com inclusão desse peixe no Apêndice II da Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas da Fauna e Flora Selvagens (CITES). Apesar das restrições relacionadas à pesca e

ao comércio, o pirarucu continua sendo uma das espécies mais apreendidas na América Central, América do Sul e no Caribe (CITES, 2022). Estudo de Chagas *et al.* (2015) ressaltou que o *Arapaima gigas* foi a espécie mais apreendida pelas polícias militares ambientais de 13 estados brasileiros. O total apreendido pelas polícias militares foi de 138 toneladas de peixes de diversas espécies entre os anos de 2013 e 2015. Desse total, 89 toneladas foram de *Arapaima gigas*, representando a grande maioria (64%) das apreensões em consequência da prática da pesca ilegal.

O comércio legal de peixes estabelece uma via de escoamento de produtos da pesca ilegal, não declarada e não regulamentada (INN), que, em muitos casos, têm aparência legal, mas origem ilícita (CURRÒ *et al.*, 2024). Essa conexão entre a pesca ilegal e o comércio legal fornece uma oportunidade para prática de fraudes na rotulagem, especialmente em alimentos aquáticos, que figuram entre as categorias de produtos mais suscetíveis a essa atividade (RAZALI *et al.*, 2022). As principais práticas fraudulentas envolvendo esses alimentos são a substituição de espécies e a rotulagem incorreta quanto a origem geográfica e aos métodos de produção (HAN *et al.*, 2022). As adulterações são facilitadas pelo processamento e comercialização dos recursos pesqueiros na forma de filé, pois a retirada das características morfológicas externas, dificulta a caracterização do produto pesqueiro comercializado (LUTZ *et al.*, 2023).

Em âmbito nacional, o Distrito Federal (DF) se destaca por ter um amplo mercado consumidor e uma produção reduzida de pescado, sendo que a produção local responde por apenas 24% do que é consumido nessa Unidade federativa (PEIXE BR, 2023). A maior parte dos peixes nativos vendidos no DF, incluindo o pirarucu, são provenientes da região norte, sendo o Pará e o Amazonas os dois principais estados de origem do pescado nacional comercializado no DF (BORGES, 2010). No entanto, não há muitas informações quanto ao tipo de manejo (cultivado ou selvagem) e a origem (bacia hidrográfica) do pescado comercializado no DF (BORGES, 2010). Dado que o DF é um importante centro comercial de pescados de várias origens, a caracterização do pirarucu comercializado pode reforçar as medidas de rastreamento e monitoramento dessa espécie, além de possibilitar uma escolha mais consciente por parte do consumidor.

O aperfeiçoamento dos métodos e processos de investigação é uma via importante para repressão da pesca INN. Ogden (2008) destaca a importância das ferramentas forenses para determinar as espécies, sistemas de produção e origem geográfica dos peixes comercializados, a fim de fortalecer o rastreamento do pescado e a aplicação regulatória contra a pesca INN,

desde a produção até a comercialização. Metodologias que utilizam marcadores químicos em amostras de tecidos animais vêm aumentando a capacidade de determinar a origem geográfica, verificar a autenticidade de produtos de origem animal e diferenciar animais oriundos de vida-livre e cativeiro.

A análise de isótopos estáveis tem sido considerada uma ferramenta fundamental para rastrear a proveniência geográfica e o método de produção de vários peixes como o salmão (MOLKENTIN *et al.*, 2015), o robalo europeu (TULLI *et al.*, 2020) e a cachara (SANT'ANA; DUCATTI; RAMIRES, 2010). As diferenças isotópicas de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) baseiam-se no fato de que a composição do filé de peixe é influenciada pela natureza do alimento ingerido. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos consumidores podem ser usados para inferir a fonte basal de carbono dos produtores primários (por exemplo, planta C_3 e C_4). Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ refletem a posição trófica relativa do organismo dentro da cadeia alimentar (POST, 2002). Os peixes cultivados são alimentados basicamente de ração e os peixes capturados nos ambientes naturais estão expostos às interações inerentes às cadeias alimentares do ambiente natural (CHAGURI *et al.*, 2017). Por outro lado, os peixes selvagens estão mais sujeitos aos gradientes naturais de cada habitat, à sazonalidade e ao estresse nutricional proporcionado pelo ambiente (SHIPLEY; MATICH, 2020). Portanto, considerando essas diferenças nas disponibilidades de recursos, as razões isotópicas têm grande potencial para rastrear o tipo de manejo (pescado ou cultivado) e a origem geográfica dos peixes (bacia hidrográfica de origem).

A análise multielementar vem sendo utilizada com frequência na determinação da origem geográfica e do manejo de vários alimentos aquáticos (DAVIS *et al.*, 2023). A viabilidade do método fundamenta-se no princípio de que o perfil de oligoelementos dos tecidos de animais aquáticos está associado ao perfil de elementos dos ambientes em que foram produzidos (HAN *et al.*, 2021a). Portanto, o perfil multielementar do tecido animal tende a refletir as concentrações elementares da água do local de produção e/ou captura e também da alimentação fornecida nesse ambiente (MARTINO *et al.*, 2022). Para a rastreabilidade de peixes e frutos do mar, o método baseado em espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, ICP-MS, vem sendo utilizado para detecção de concentrações muito baixas, em nível de elementos traços e ultratraços (VARRÀ *et al.*, 2021).

Embora possam ser usadas de forma independente, estudos relatam que a combinação destas duas metodologias, as análises isotópicas e elementares, permitiram a diferenciação quanto ao manejo e origem geográfica de vários peixes como o salmão (MOLKENTIN *et al.*, 2015), o robalo (GOPI *et al.*, 2019c) e a corvina (CHAGURI *et al.*, 2017).

2. OBJETIVOS E HIPÓTESES

O objetivo desse trabalho foi caracterizar e comparar as razões isotópicas e o perfil multielementar dos pirarucus provenientes de manejos diferentes (cultivado e selvagem), dos de bacias hidrográficas diferentes (bacia hidrográfica do Tocantins-Araguaia e do Amazonas) e dos pirarucus de proveniência desconhecida (estabelecimentos comerciais do DF).

2.1 Objetivos específicos

- (1) Analisar as razões isotópicas de carbono e nitrogênio dos músculos de pirarucus coletados de manejos diferentes (cultivado e selvagem), de bacias hidrográficas diferentes (bacia hidrográfica do Tocantins-Araguaia e do Amazonas) e dos pirarucus coletados de estabelecimentos comerciais do DF.
- (2) Realizar a análise multielementar dos pirarucus coletados de manejos diferentes (cultivado e selvagem), de bacias hidrográficas diferentes (bacia hidrográfica do Tocantins-Araguaia e do Amazonas) e dos coletados de estabelecimentos comerciais do DF.
- (3) Verificar a viabilidade da combinação dos resultados isotópicos e elementares na distinção relacionada ao tipo de manejo e à bacia hidrográfica de origem dos pirarucus.
- (4) Utilizar os perfis isotópicos e elementares das amostras de proveniência conhecida para tentar caracterizar a origem e tipo de manejo dos pirarucus coletados de estabelecimentos comerciais do DF.

2.2 Hipóteses

Hipótese 1: Os valores isotópicos, tanto de carbono como nitrogênio, assim como a composição elementar do tecido muscular de pirarucus serão diferentes dependendo do método de produção (cultivado *vs* selvagem) e origem geográfica (bacias hidrográficas diferentes).

Hipótese 2: Os valores isotópicos e a composição elementar dos pirarucus provenientes de diferentes manejos e bacias hidrográficas serão capazes de caracterizar os pirarucus comercializados no Distrito Federal.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O pirarucu no ambiente natural

O pirarucu (figura 1), também conhecido popularmente como piroasca ou paiche (na Amazônia Peruana) é o maior peixe de escamas do mundo, podendo atingir três metros de comprimento e pesar mais de 200 kg (SAINT-PAUL, 1986). Essa espécie pertence à família Arapaimidae, ordem dos Osteoglossiformes, um dos grupos mais primitivos de peixes teleósteos. A família Arapaimidae inclui apenas duas espécies, a espécie neotropical *Arapaima gigas* e a espécie africana *Heterotis niloticus* (FERRARIS JR, 2003). Com relação a sua taxonomia, por mais de um século o pirarucu foi descrito como uma única espécie, *Arapaima gigas*. Contudo, em duas publicações, Stewart (2013a e 2013b) ponderou sobre a existência de pelo menos seis espécies. Diferentemente, alguns estudos que analisaram a diversidade genética do pirarucu apontaram para um gênero monotípico para as duas bacias brasileiras (HRBEK; CROSSA; FARIAS, 2007; TORATI *et al.*, 2019). Enquanto se aguarda o aprofundamento das análises sobre essa questão, adotamos uma classificação mais conservadora nesse estudo, referenciando o pirarucu como *Arapaima gigas*.



Figura 4. Foto de um exemplar de pirarucu (*Arapaima gigas*). Fonte: Arquivo do autor.

O habitat natural do pirarucu são as planícies de inundação das regiões tropicais da América do Sul, sendo encontrados no Equador, Peru, Bolívia (espécie introduzida), Guiana e Brasil. No Brasil, são peixes nativos das bacias hidrográficas dos rios Amazonas e Tocantins-Araguaia, caracterizados como sedentários (de baixa atividade migratória) por não realizarem grandes migrações longitudinais ao longo das calhas dos rios (CASTELLO, 2008). Além dos movimentos longitudinais limitados o pirarucu realiza migrações laterais acompanhando as flutuações dos níveis das águas. Quando as águas sobem, os pirarucus migram para habitats mais elevados, em direção à floresta inundada, onde os adultos e os filhotes permanecem e se alimentam por aproximadamente 3 meses (CASTELLO, 2008). À medida que o nível das águas

recua, os pirarucus migram para as áreas permanentemente úmidas como os lagos, canais e calhas dos rios de correntezas lentas. Nesses locais permanece durante a estação seca, quando realiza atividades reprodutivas como o acasalamento e a construção de ninhos. Em um estudo realizado na bacia do Tocantins-Araguaia observou-se que a maturidade sexual dos machos foi a partir da classe de tamanho entre 115 e 124 centímetros de comprimento total. Para a fêmea a maturidade sexual observada foi a partir de 145 centímetros, que é o tamanho mínimo de captura preconizado pela legislação brasileira (GODINHO *et al.*, 2005).

Em seu ambiente natural o pirarucu jovem tem hábito alimentar amplo, alimentando-se tanto de peixes quanto de invertebrados como insetos, caranguejos e camarões (JACOBI *et al.*, 2020a). Esse padrão alimentar está relacionado ao hábito de permanecer em leitos com densas macrófitas aquáticas durante a fase juvenil (tamanho menor do que 50 cm de comprimento total). À medida que atinge a fase adulta, o pirarucu seleciona águas mais profundas e turvas nas quais pode ter mais sucesso na predação (RICHARD *et al.*, 2018). Dentre os principais itens que compõem a dieta, os peixes das famílias Curimatidae e Pimelodidae foram as presas encontradas em maior frequência nos estômagos de pirarucus adultos coletados na região do médio Juruá (JACOBI *et al.*, 2020a) e os das famílias Loricaridae, Pimelodidae e Callichthyidae foram os mais consumidos pelos pirarucus do rio Essequibo (WATSON; STEWART; TEECE, 2013). Essas famílias de presas identificadas no estômago dos pirarucus habitam principalmente ambientes lênticos, sugerindo a preferência por forrageamento nesse tipo de ambiente. Jacobi *et al.* (2020a), uniram o conhecimento ecológico de moradores locais e as análises de conteúdo estomacal para classificar o pirarucu como um “piscívoro oportunista”, capaz de alimentar-se de uma ampla variedade de espécies de peixes, podendo consumir presas maiores à medida que cresce em tamanho. Algumas pesquisas baseadas em análises de conteúdo estomacal e isótopos estáveis apresentaram perspectivas divergentes quanto a posição trófica do pirarucu na cadeia alimentar. Segundo Carvalho *et al.* (2018), os pirarucus são predadores com inclinações piscívoras, ocupando posições relativamente altas na cadeia. Por outro lado, estudos como os de Rejas *et al.* (2023) e Watson, Stewart e Teece (2013) os descrevem como consumidores secundários, ocupando níveis intermediários na cadeia alimentar. Uma característica comum nas análises de conteúdos estomacais de pirarucus é a presença de fibras vegetais. Materiais vegetais como folhas, sementes e brotos foram encontrados em estômagos de pirarucus do rio Purús (Carvalho *et al.*, 2018), Juruá (Jacobi *et al.*, 2020a) e Essequibo (WATSON; STEWART; TEECE, 2013), contudo, não há consenso entre os pesquisadores se a ingestão foi acidental ou deliberada.

3.2 O pirarucu no ambiente de cultivo

O pirarucu é uma espécie que possui características zootécnicas desejáveis para a criação em cativeiro, como rusticidade, rápido crescimento (até 10 kg no primeiro ano de produção), bom rendimento de filé e alto valor comercial (BARD; IMBIRIBA, 1986; DOS SANTOS FOGAÇA *et al.*, 2011). A criação dessa espécie em cativeiro é relativamente recente e foi motivada pelo potencial zootécnico, bem como pelo declínio dos estoques naturais devido à sobrepesca (CASTELLO *et al.*, 2014; VALENTI *et al.*, 2021). No Brasil, a produção de pirarucus se concentra predominantemente em Rondônia, estado responsável por 94 % da produção de pirarucus de cultivo do país (PEDROZA-FILHO *et al.*, 2016).

O pirarucu de cativeiro é criado em uma variedade de sistemas de produção, que se distinguem pela intensidade dos cuidados dispensados aos animais, resultando em três sistemas principais: extensivo, semi-intensivo e intensivo (PEREIRA-FILHO *et al.*, 2020). No sistema extensivo, os peixes são criados em grandes reservatórios, onde não recebem ração, sendo sua nutrição baseada nos recursos naturais disponíveis nesses ambientes (PEREIRA-FILHO *et al.*, 2020). O sistema semi-intensivo é o mais utilizado na produção de pirarucus. Neste sistema, a alimentação é composta por ração e peixes forrageiros, que podem ser fornecidos diretamente ou processados e misturados à ração antes de serem ofertados aos pirarucus (REBELATTO JUNIOR *et al.*, 2015). Devido à sua rusticidade e tolerância a baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água, o pirarucu é uma espécie que se adaptou bem ao sistema de criação intensivo. Nesse sistema a densidade de estocagem de animais é maior e há uma dependência quase completa de ração como alimento (PEREIRA-FILHO *et al.*, 2020).

A alimentação no ambiente de cultivo é um aspecto crucial a ser considerado na criação de peixes e no seu rastreamento. Nos últimos anos houve uma mudança nas formulações de rações comerciais a nível mundial. Anteriormente as rações para peixe continham poucos ingredientes, como a farinha de peixe e o óleo de peixe. Atualmente as rações são compostas por uma variedade de ingredientes de diversas fontes e que contribuem para o teor total de proteínas e lipídeos, o que dificulta a caracterização do pescado cultivado (GATLIN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2018). Existem poucos dados publicados sobre as práticas ideais de alimentação, taxa de ingestão e necessidades nutricionais específicas do pirarucu (CRESCÊNCIO *et al.*, 2005). Isso constitui uma das razões para a utilização de rações generalistas, formuladas de acordo com o hábito alimentar, sem considerar as necessidades fisiológicas específicas da espécie (VALENTI *et al.*, 2021). Como resultado, o pirarucu de cultivo é alimentado com dietas

inespecíficas para peixes carnívoros, que contêm uma variedade de ingredientes proteicos, energéticos e minerais utilizados na formulação das rações.

Buscando identificar os melhores ingredientes para a formulação de rações específicas para pirarucu, Rodrigues *et al.* (2019) utilizou nove ingredientes, frequentemente empregados na produção de rações para peixes, para avaliar a digestibilidade dos componentes proteicos em dietas extrusadas. Foram testados os seguintes ingredientes: farinha de resíduo de peixe nacional, farinha de resíduo de salmão, farinha de vísceras de frango, farinha de penas hidrolisadas, farinha de carne e ossos, farinha de sangue, farelo de soja, glúten de milho e farelo de glúten de milho. Enquanto a farinha de sangue, a farinha de carne e ossos e o farelo de glúten de milho apresentaram baixo aproveitamento pela espécie, o glúten de milho, a farinha de vísceras de frango e o farelo de soja foram bem digeridos pelo pirarucu. Os resultados demonstraram o potencial e a importância de ingredientes à base de proteínas vegetais (algumas de plantas C₄) na formulação de rações para o pirarucu de cultivo. Como ingrediente energético o uso de matéria prima vegetal em rações para peixes também é uma tendência devido a sua abundância, baixo preço e boa aceitação pelo mercado (RAMOS *et al.*, 2022). O estudo de Ramos *et al.*, (2022) determinou a capacidade do pirarucu utilizar fontes energéticas contendo diferentes níveis de amido, com destaque para o milho e a quirera de arroz que forneceram os maiores valores de amido digestível e energia ao longo dos estudos.

A estrutura física mais utilizada para criação de pirarucus no Brasil é o tanque escavado (REBELATTO JUNIOR *et al.*, 2015). Embora a alimentação no ambiente de cultivo seja predominantemente feita com ração, a pesquisa de LIMA; TAVARES FILHO e MORO (2018), observou que os pirarucus juvenis criados nesse ambiente complementaram a alimentação com organismos planctônicos disponíveis na água dos tanques submetidos à prática de fertilização. Nessa mesma linha de pesquisa, foi constatado e quantificado os efeitos positivos da prática de fertilização dos tanques na melhoria da taxa de crescimento e conversão alimentar de pirarucus juvenis criados nesse sistema (REZENDE *et al.*, 2022).

No ambiente de cultivo, são adotadas algumas práticas de manejo para assegurar a uniformidade dos lotes, buscando mitigar a competição por alimentos e outros fatores comportamentais que possam influenciar o ganho de peso e o crescimento desigual (LIMA, 2020). A densidade de estocagem adequada (CAVERO *et al.*, 2003) e a seleção dos lotes de pirarucus com base no tamanho (LIMA, 2020) são práticas de manejo que podem ser empregadas para atenuar as variações no ganho de peso e garantir a produção de exemplares

mais homogêneos e que atendam aos padrões de tamanho comercial exigidos pelo mercado consumidor.

3.3 Histórico de exploração e as restrições à pesca do pirarucu

A pesca INN (pesca ilegal, não declarada e não regulamentada) engloba atividades que infringem as leis e regulamentos de conservação e gestão das pescas. Isso inclui práticas como a pesca durante períodos de defeso, em áreas proibidas, utilizando métodos de pesca que visam espécies protegidas e sem declaração formal das capturas (LIDDICK, 2014). As estimativas atuais sugerem que, a nível mundial, cerca de um quinto das capturas de pesca se enquadram em práticas INN (AGNEW *et al.*, 2009). Nesse contexto o Brasil é vulnerável à pesca INN devido às regulamentações pouco claras, limitações tecnológicas e reduzida capacidade de monitoramento dos estoques pesqueiros (SEMINARA *et al.*, 2023).

O pirarucu é uma espécie vulnerável à pesca ilegal e descontrolada devido ao seu tamanho, alto valor de mercado e à necessidade de respiração aérea obrigatória, o que o torna facilmente detectável no ambiente natural. Por essas características, ainda no século XVIII, a pesca predatória causou redução significativa nas populações naturais, principalmente nas proximidades dos grandes centros urbanos (VERÍSSIMO, 1895), sendo a primeira espécie de peixe amazônico a apresentar sinais de sobrepesca (RUFFINO, 2014). Diante desse histórico de exploração descontrolada do pirarucu, o Brasil adotou normas de proteção voltadas para essa espécie. Por meio dessas normas, a pesca do pirarucu é controlada em grande parte do Brasil por meio de um período de defeso (1º de dezembro a 31 de maio) e um limite mínimo de tamanho de captura (150 cm de comprimento total). Além dessas limitações à pesca, nos estados do Acre e Amazonas, a pesca do pirarucu foi completamente proibida, exceto para pesca manejada (CASTELLO; STEWART, 2010).

Respeitar as restrições de tamanho do pirarucu, período de defeso e cotas de pesca é essencial para garantir a sustentabilidade, uma vez que a captura de indivíduos jovens ou durante o período reprodutivo compromete a estabilidade da população (CASTELLO; STEWART; ARANTES, 2011). Contudo, alguns estudos demonstraram que o limite mínimo de tamanho de captura e o período de defeso, implementados para evitar o esgotamento das populações de pirarucu, estão sendo descumpridos. Cavole, Arantes e Castello (2015) constataram que a maior parte dos pirarucus desembarcados no porto de Santarém em 2010 foi de peixes capturados abaixo da medida mínima (150 cm) estipulada em norma de controle, como pode ser observado na figura 2. Devido à pesca predatória direcionada ao pirarucu, essa

espécie passou a figurar no apêndice II da CITES, o que significa que podem ficar ameaçados de extinção caso o comércio e as capturas associadas não forem regulamentadas (CASTELLO; STEWART, 2010). Isso torna o combate à sobrepesca do pirarucu um grande desafio ambiental.

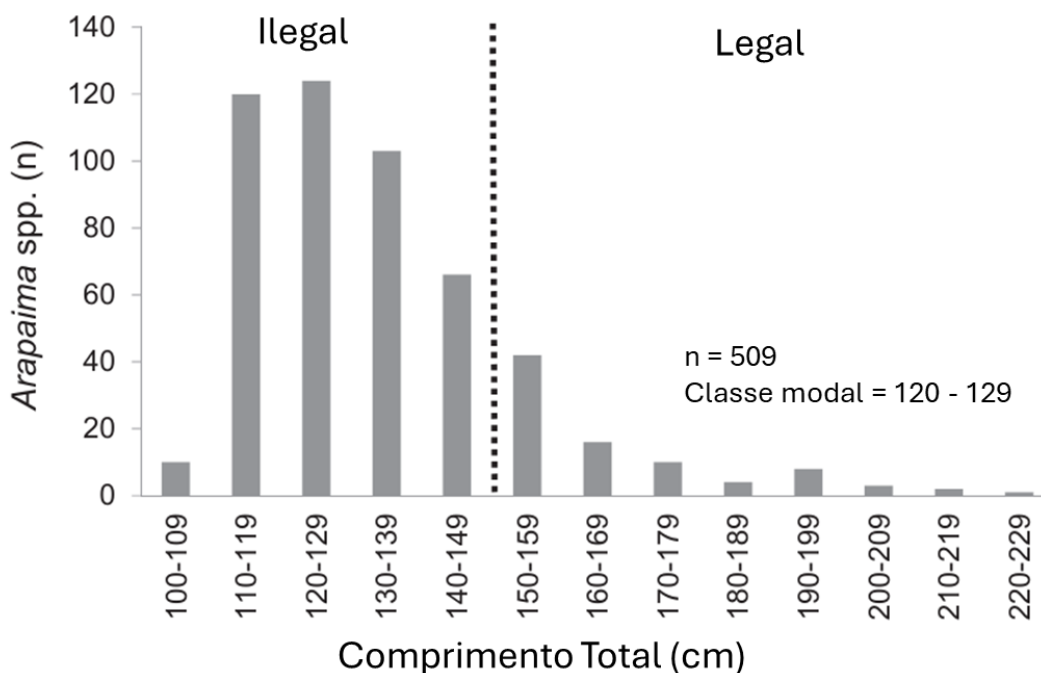


Figura 5. Frequência de comprimento total (cm) de 509 pirarucus desembarcados. A linha pontilhada indica o tamanho mínimo regulamentado para captura. Figura adaptada de Cavole, Arantes e Castello (2015).

3.4 Rastreabilidade do pescado

As normas gerais da legislação europeia definem a rastreabilidade de alimentos como a capacidade de seguir um alimento, ração, animal ou substância em todos os estágios da produção, processamento e distribuição (MCCALLUM *et al.*, 2022). O termo exprime boa parte da preocupação de várias autoridades governamentais com os requisitos de segurança e autenticidade dos alimentos. No âmbito do comércio de produtos pesqueiros, as ferramentas de rastreabilidade permitem investigar a história do pescado, desde sua origem, seja coleta ou produção aquícola, até o consumo final. Esses mecanismos facilitam a aplicação da legislação de proteção de peixes ameaçados e vulneráveis, alvos frequente de práticas ilegais como a pesca INN, pois viabilizam o monitoramento, investigação e identificação de transações fraudulentas (SAMEERA *et al.*, 2021).

Uma forma comum de fraude relacionada à comercialização de pescados são as falsificações das informações presentes nos rótulos. No Brasil vários trabalhos foram realizados

para avaliar a autenticidade e conformidade dos rótulos em relação às espécies comercializadas. Boa parte desses estudos se utilizou de análises do perfil de DNA (DNA Barcode) e foram exitosos em identificar as ilegalidades envolvendo substituições de espécies rotuladas incorretamente como bacalhau (CALEGARI *et al.*, 2020), surubim (CARVALHO *et al.*, 2011), linguado (SOUZA *et al.*, 2021) e espécies amazônicas (ARDURA *et al.*, 2010). Contudo, as contravenções envolvendo comércio ilegal de pescado não se limitam à substituição de espécies. Numerosos outros casos de fraude envolvendo peixes marinhos e frutos do mar, relacionados com a origem geográfica e processos de produção, mostram que este sistema é muito vulnerável a outras formas de falsificação. Lavilla, Costas-Rodrigues e Bendicho (2013) relatam um caso em que o salmão do Atlântico cultivado em fazendas de aquicultura foi rotulado como originário do Pacífico (origem divergente do constatado) e proveniente da pesca extrativa (manejo divergente do constatado). Quando ocorrem fraudes que envolvem o sistema de produção e a origem geográfica do pescado, o dano ambiental resultante é igualmente devastador para a conservação da espécie. Essa prática enganosa não apenas compromete a sustentabilidade dos recursos pesqueiros, mas também mina os esforços de conservação.

A identificação desse ilícito envolvendo o tipo de manejo e a origem geográfica pode ser difícil com base apenas na inspeção visual das características morfológicas externas do pescado ou por meio da análise de perfil de DNA (LEAL *et al.*, 2015). É necessário utilizar abordagens complementares para distinguir entre os pescados de origens e manejos diferentes (LAVILLA; COSTAS-RODRÍGUEZ; BENDICHO, 2013). A autenticação dos métodos de produção e das origens geográficas dos alimentos aquáticos tem sido realizada utilizando técnicas como: perfis elementares (HAN *et al.*, 2021a; ZHAO *et al.*, 2024), análises de isótopos estáveis (KIM; SURESH KUMAR; SHIN, 2015; THOMATOU *et al.*, 2022), análises da composição de ácidos graxos (HAN *et al.*, 2021b) e técnicas espectroscópicas (LIU *et al.*, 2015).

Nesse contexto, tanto a análise multielementar quanto a de isótopos estáveis oferecem oportunidades promissoras para a rastreabilidade dos produtos pesqueiros e aquícolas (LI; BOYD; SUN, 2016). Essas duas tecnologias, embora possam ser usadas separadamente, combinadas fornecem informações valiosas sobre a origem geográfica e os métodos de cultivo de peixes. Várias pesquisas já utilizaram essas duas técnicas combinadas para melhorar a classificação correta quanto ao método de produção e origem geográfica do camarão (GOPI *et al.*, 2019a), do robalo (GOPI *et al.*, 2019c) e da carpa (LIU *et al.*, 2020). Ortea e Gallardo (2015), buscando diferenciar camarões de espécies, manejos e origens geográficas distintas,

combinaram análises elementares e isotópicas com métodos quimiométricos e obtiveram taxa de classificação correta de 100% (para a origem dos camarões), 100% (para o tipo de manejo) e 93,5 % (para as espécies). Han *et al.* (2022) observou uma melhoria na taxa de classificação correta utilizando isótopos estáveis e análises elementares combinadas para rastrear a origem e o método de produção de salmões, camarões, pepinos do mar e carpas, conforme ilustrado na figura 3.

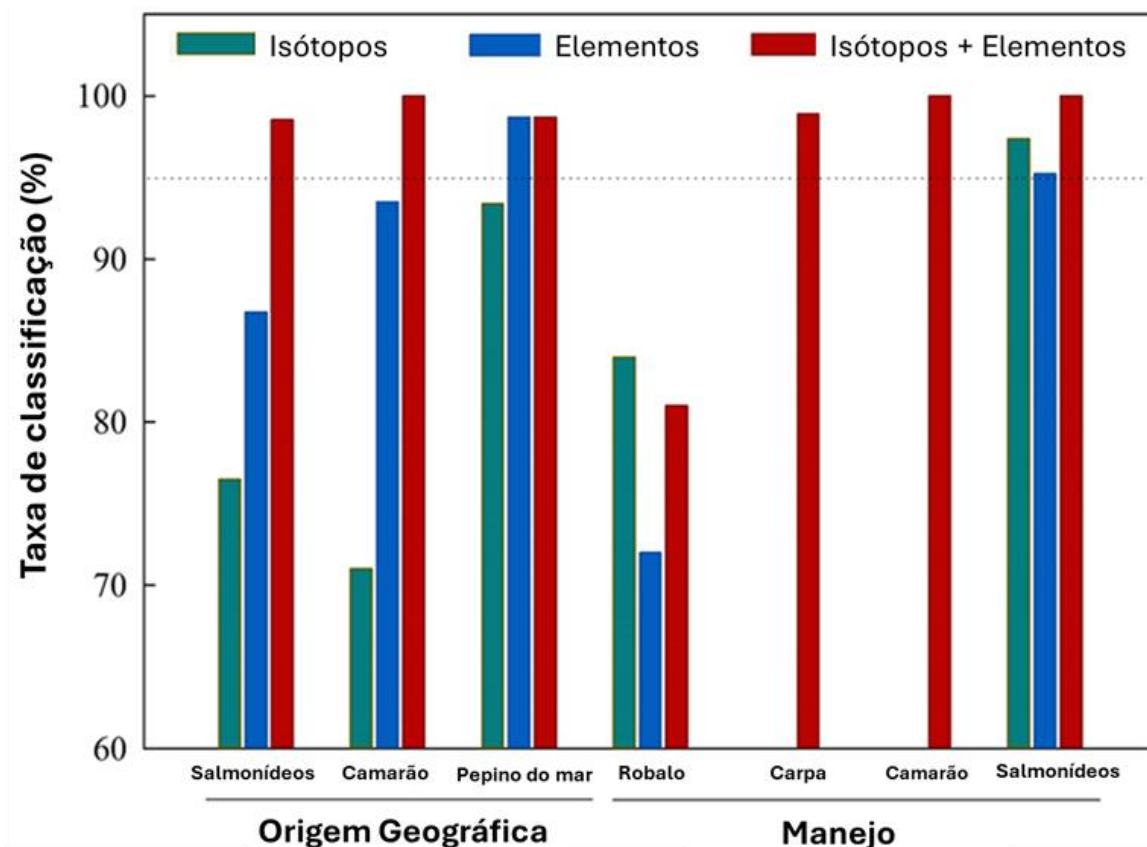


Figura 6. Gráfico de barras mostrando a taxa de classificação correta quanto à origem geográfica e método de produção de salmões, camarões, pepinos do mar e carpas usando análises isotópicas, análises elementares e ambas as análises combinadas. O uso combinado dos dois métodos apresentou altas taxas de classificações corretas e só não melhorou a taxa de classificação do robalo quanto ao método de produção. Figura adaptada de HAN *et al.* (2022).

3.4.1 Metodologia isotópica como ferramenta de rastreamento de peixes

Os isótopos estáveis são espécies atômicas de um mesmo elemento químico com massas distintas pois apresentam diferentes números de nêutrons. Esses isótopos são considerados “estáveis” pois as suas massas atômicas não sofrem decaimento ao longo do tempo. Geralmente, os isótopos estáveis com menor massa atômica são mais abundantes em relação aos de maior massa. Cada elemento químico é caracterizado por um isótopo estável abundante e leve, como o carbono-12 (^{12}C) e o nitrogênio-14 (^{14}N), e um ou dois isótopos pesados mais

raros, como o carbono-13 (^{13}C) e o nitrogênio-15 (^{15}N). Para definir a razão isotópica (R) de uma amostra, utiliza-se a relação entre o isótopo mais raro (^{13}C e ^{15}N) e o isótopo abundante (^{12}C e ^{14}N). A composição isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) é representada pelo desvio da razão R da amostra em relação a razão R de um padrão.

Conforme os animais absorvem e metabolizam os recursos disponíveis, seus tecidos integram e manifestam a variação das proporções de isótopos estáveis do ambiente. Dessa forma, cada tecido pode apresentar uma memória isotópica própria em função do conteúdo da alimentação (DUCATTI, 2007). A composição isotópica da dieta e dos tecidos animais estão relacionadas e podem ser influenciadas por processos fisiológicos que levam a alterações no sinal isotópico em comparação com a dieta (fracionamento trófico) e entre diferentes tecidos (fracionamento tecido-tecido). Nesse contexto, o tecido animal não reflete imediatamente a composição isotópica de sua dieta, mas o integra ao longo do tempo, podendo ser influenciado, por exemplo, pelo acúmulo de nova biomassa (crescimento) e pela taxa de renovação tecidual (VANDER ZANDEN *et al.*, 2015). O tecido muscular dos peixes tende a ter uma taxa de renovação menor do que outros tecidos como sangue, brânquias e hepatopâncreas. Como consequência, o músculo retém por mais tempo o sinal isotópico da dieta consumida no ambiente de origem (BARTON *et al.*, 2019). Além dessa característica isotópica benéfica para a rastreabilidade, o tecido muscular é valioso como material de referência, pois é o principal produto comercializado do pirarucu e nem sempre está acompanhado de outros órgãos e tecidos como as escamas, cabeça e nadadeiras.

Pesquisas que utilizam a análise combinada de razões isotópicas de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) fornecem informações valiosas sobre o habitat de origem da espécie avaliada, especialmente em relação às fontes alimentares basais e ao nível trófico dos itens alimentares consumidos. Os isótopos de carbono em plantas são controlados pela via fotossintética para fixação do carbono e isso causa grande diferença entre plantas C_3 e C_4 . As plantas C_3 apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -29‰ e -25‰, enquanto as plantas C_4 variam entre -15‰ e -11‰ (FARQUHAR *et al.*, 1989). Devido essa diferença, os isótopos estáveis de carbono podem ser utilizados para diferenciar dietas cujas fontes primárias são plantas com sistema fotossintético C_3 e C_4 . Por outro lado, nas relações presa-predador e herbívoro-planta, o $\delta^{15}\text{N}$ pode revelar padrões alimentares e o nível trófico dos consumidores. Isso deve-se ao fato de que o $\delta^{15}\text{N}$ aumenta em aproximadamente 3‰ ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar. Nesse caso, durante a assimilação dietética, o nitrogênio é mais fortemente fracionado que o carbono, cujo aumento trófico médio é de 1‰ (KIM; SURESH KUMAR; SHIN, 2015;

VANDER ZANDEN; RASMUSSEN, 1999). Portanto, é esperado que predadores de topo de cadeia tenham valores de $\delta^{15}\text{N}$ mais elevados em comparação aos consumidores primários, tornando-o um marcador adequado para inferir diferenças na dieta. Essas variações na proporção de isótopos estáveis de nitrogênio não se limitam às diferenças nos níveis tróficos das espécies presas, mas também mostram variações nos níveis basais de nitrogênio das teias alimentares do habitat de origem.

A análise isotópica usando os elementos carbono e nitrogênio tem sido largamente utilizada para diferenciar manejos e origens geográficas para algumas das principais espécies mundialmente comercializadas, como salmão, *Salmo salar* (MOLKENTIN *et al.*, 2015) e robalo asiático, *Lates calcarifer* (GOPI *et al.*, 2019c). No Brasil, foram realizadas análises isotópicas de carbono e nitrogênio em tecido muscular de cacharas (*Pseudoplatystoma fasciatum*) (SANT'ANA; DUCATTI; RAMIRES, 2010) e tucunarés amarelos (*Cichla monoculus*) (SILVA; BERENCHTEIN; FERREIRA, 2016) para diferenciar o tipo de manejo da cachara e avaliar os hábitos alimentares dos tucunarés. Pereira *et al.* (2019), trabalhando com otólitos de pirarucus, demonstraram o potencial das análises isotópicas de carbono e estrôncio para o rastreamento, embora apontassem para a necessidade de aprimoramentos.

3.4.2 Análise multielementar como ferramenta de rastreamento de peixes

A análise elementar refere-se à determinação da composição química de uma matriz, incluindo quais elementos químicos estão presentes e em que proporções. A análise elementar por espectrometria de massas é fundamentada na separação de íons de acordo com a razão massa/carga. A espectrometria de massas com fonte de plasma acoplada indutivamente (ICP-MS) é uma técnica analítica amplamente utilizada para a quantificação de elementos presentes em baixas concentrações, denominados elementos traço (concentração inferior a 100 partes por milhão). Sua importância reside em várias vantagens, como capacidade multielementar (determinar mais de um elemento simultaneamente) e alta sensibilidade (capacidade de quantificar elementos que estão em baixas concentrações) (BROWN; MILTON, 2005). A capacidade do ICP-MS em quantificar uma ampla gama de elementos simultaneamente, mesmo em concentrações traço, torna essa técnica também uma boa opção para a rastreabilidade (YOKOYAMA; TOKUDA; YAMAZAKI, 2021). Por meio da análise multielementar, uma ampla variedade de elementos presentes nos tecidos animais pode ser utilizada para autenticar alimentos aquáticos, incluindo até 31 elementos, que podem ser estruturais como fósforo (P) e enxofre (S); macronutrientes como cálcio (Ca), cloro (Cl), potássio (K), sódio (Na) e magnésio

(Mg) e elementos traço como cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) (GOPI *et al.*, 2019b; HAN *et al.*, 2022).

Os organismos aquáticos absorvem elementos minerais da dieta e da água circundante e os depositam em seus tecidos (ALASALVAR *et al.*, 2002). A assimilação dos elementos se dá pela ingestão de material particulado suspenso na água, ingestão de alimentos e troca iônica através das brânquias. Dessa forma, semelhante ao que ocorre com os isótopos estáveis, os perfis elementares dos tecidos dos animais refletem os perfis elementares dos ambientes em que vivem (HAN *et al.*, 2022), sendo que os tecidos metabolicamente ativos como o fígado e os rins são os principais acumuladores de metais e oligoelementos essenciais (ADHIKARI *et al.*, 2009). Já elementos não essenciais como Césio e Rubídio (elementos tóxicos) tendem a se acumular em maior concentração no músculo (MATHEWS; FISHER, 2008). Contudo, pesquisas anteriores indicaram que a composição elementar do músculo dos peixes está sujeita à influência de diversos fatores, incluindo a espécie, tamanho, idade, história de vida, maturidade sexual, dieta, qualidade da água, salinidade, clima, presença de contaminantes, métodos de amostragem e técnicas analíticas (ADHIKARI *et al.*, 2009). Essa diversidade de influências pode resultar na ausência de uma correlação direta entre as concentrações dos elementos no ambiente e as concentrações nos músculos dos peixes (LI *et al.*, 2013). Portanto, esses fatores devem ser considerados ao utilizar o perfil elementar para caracterizar e rastrear as diferentes práticas de manejo e origens geográficas.

Oligoelementos essenciais estão envolvidos em diversos processos fisiológicos e podem ser cofatores de enzimas importantes. Os elementos metais como o zinco, ferro e manganês são incorporados às rações de peixes para satisfazer a necessidade de oligoelementos essenciais (BURRIDGE *et al.*, 2010). Embora adicionados para atender às necessidades dietéticas, já foram observados níveis excessivos desses elementos em rações destinadas à criação de salmões do Atlântico (LORENTZEN; MAAGE, 1995) e bluegill sunfish (IKEM; EGILLA, 2008). Essa prática pode representar um dos fatores que contribuem para as diferenças nas concentrações de oligoelementos muscular entre peixes cultivados e selvagens.

A composição multielementar dos tecidos animais reflete ainda a composição da vegetação que constituem sua dieta. Essa vegetação, por sua vez, é influenciada pela composição dos nutrientes biodisponíveis presentes nos solos onde crescem. Metais alcalinos, como o Rubídio (Rb) e o Césio (Cs), que são facilmente mobilizados no solo e absorvidos pelas plantas, podem servir como indicadores confiáveis da origem geográfica (KELLY; HEATON; HOOGEWERFF, 2005).

Em termos de rastreabilidade de alimentos aquáticos, a análise elementar tem sido aplicada com alto grau de sucesso para diferenciar manejos. As diferentes condições de alimentação e habitats dos animais aquáticos, selvagens ou criados em cativeiro, influenciam as variações em seus perfis elementares. Nessa perspectiva, as concentrações de As, Ca, Cu, Mg, Na, P e Zn foram mais elevadas no salmão selvagem do que no salmão cultivado e contribuíram para diferenciá-los (ANDERSON; HOBBIE; SMITH, 2010). Para trutas arco-íris, foram encontrados níveis mais elevados de Ba, Cr, Fe, Mn e Zn e níveis mais baixos de Cu e Sr nos tecidos de trutas selvagens no comparativo com trutas cultivadas. Essas diferenças nas concentrações de elementos contribuíram para diferenciar o manejo dessa espécie (FALLAH *et al.*, 2011). Análises multielementares também já foram usadas para diferenciar origens geográficas. Por exemplo, salmonídeos cultivados em água doce apresentaram maior abundância de K e Sr, enquanto os salmonídeos cultivados em água do mar apresentaram maior abundância de Ga, K, Mg, Na, Ni e Sr. A partir dessas diferenças elementares, métodos de discriminação foram exitosos em diferenciar as origens geográficas dos cultivos. (HAN *et al.*, 2020).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de amostragem

4.1.1 Bacia do Tocantins-Araguaia

O rio Araguaia tem três trechos principais: alto, médio e baixo. O alto Araguaia possui aproximadamente 450 km de extensão e drena rochas sedimentares paleozóicas, mesozóicas e paisagens montanhosas de rochas pré-cambrianas do escudo brasileiro. O médio Araguaia se distribui por uma longa área plana formada por sedimentos pleistocênicos (planície do Bananal). O curso inferior flui sobre o leito rochoso até a confluência com o rio Tocantins. Grande parte do rio Araguaia está inserido no bioma cerrado, o qual vem sofrendo enormes taxas de desmatamento e mudanças no uso da terra devido à expansão das fronteiras agrícolas. Esse desmatamento desencadeou processos erosivos em toda a bacia que vem causando aumento no transporte de sedimentos para o leito do rio (LATRUBESSE *et al.*, 2009). As mudanças no uso da terra e a utilização de produtos agrícolas como fertilizantes e pesticidas são importantes fontes antrópicas de elementos traço como Cd, Cr, Mo, Pb, U, Hg e Mn (FARIA *et al.*, 2010).

Os pirarucus coletados nessa área foram adquiridos na sede da colônia de pescadores Z-39 (10°48'59,04 S; 49°37'19,56" O), município de Lagoa da Confusão, bacia hidrográfica

Tocantins-Araguaia, região centro-oeste do Brasil. Os pirarucus foram adquiridos nos meses de março, setembro e dezembro de 2023. Os peixes foram capturados por pescadores em diversos locais dos rios Formoso e Javaés, incluindo lagos marginais, lagoas e leito principal. Esses rios estão situados na região do médio Araguaia, na margem direita da ilha do bananal, onde uma extensa planície aluvial caracteriza o ambiente (LATRUBESSE; STEVAUX, 2002). Não há informações disponíveis sobre o tamanho dos peixes capturados e os pontos dos rios em que foram feitas as coletas.

Quanto à vegetação da área de coleta, a bacia Tocantins-Araguaia possui uma variedade de paisagens, englobando as savanas do cerrado, áreas florestais de várzea e ambientes de transição entre os biomas cerrado e de floresta amazônica (LATRUBESSE; STEVAUX, 2002). Por ser uma área de transição, é possível observar espécies da ictiofauna (DAGOSTA; PINNA, 2019; FERREIRA *et al.*, 2011) e flora (MARTINS *et al.*, 2008) originárias dos dois biomas adjacentes. Nesse contexto, a região destaca-se pela riqueza da biodiversidade e suscetibilidade a mudanças ambientais, como as provocadas pelo avanço das fronteiras agrícolas ocorridas nos últimos anos. Isso é evidenciado principalmente pelas alterações no uso do solo em áreas de cerrado da bacia, onde o relevo plano favorece a mecanização agrícola e a bovinocultura (PELICICE *et al.*, 2021).

Em relação ao clima, ocorrem duas estações distintas, uma marcada pelo período chuvoso e a outra pelo período seco. Enquanto a estação seca ocorre de maio a setembro, a estação chuvosa predomina de outubro a abril (AQUINO; LATRUBESSE; DE SOUZA FILHO, 2008). Essa periodicidade da precipitação se reflete na amplitude hídrica dos cursos d'água, com picos de inundação durante a estação chuvosa e diminuição do fluxo na estação seca. O aumento nos níveis da água são responsáveis por conectar os lagos por um período curto, diferentemente do que ocorre na bacia amazônica, onde os períodos de cheia e vazante são mais duradouros e contribuem para o fenômeno da floresta inundada (JUNK *et al.*, 2011).

4.1.2 Bacia Amazônica

O rio Amazonas e seus tributários formam o maior complexo hídrico do mundo. Os cinco principais afluentes do rio Amazonas são os rios Solimões e Madeira, que drenam os Andes, e os rios Negro, Xingu e Tapajós que drenam o Escudo das Guianas ao norte e o Escudo brasileiro ao sul. A composição química dos principais tributários do Amazonas permitiu a discriminação das fontes litológicas da carga dissolvida (MOQUET *et al.*, 2016) sendo que 90% do sedimento levado pelo rio Amazonas é proveniente das bacias sedimentares dos Andes

(HOPPNER *et al.*, 2018), havendo variações de acordo com a bacia de cada tributário. Os sedimentos suspensos do rio Negro são influenciados principalmente pela matéria orgânica e pela cobertura laterítica da bacia desse rio, enquanto no rio Solimões a composição dos sedimentos reflete a composição dos sedimentos ricos em silicato intemperizados derivados dos Andes (MOQUET *et al.*, 2016). Essas águas que procedem dos Andes são quimicamente mais ricas em material dissolvido do que as oriundas do Brasil central.

As amostras de pirarucu coletadas nessa bacia são provenientes da pesca manejada na região da Reserva de Desenvolvimento Sustentável de Mamirauá (RDSM). Um coletivo de pescadores realizou as extrações dos pirarucus no conjunto de lagos próximos da margem direita do rio Japurá. A pesca dos peixes foi feita nos meses de novembro e dezembro de 2022. As capturas foram realizadas em três pontos, nas áreas dos acordos de pesca de Jutai-Cleto (2°12'38,91" S, 65°19'08,48" O), Caruara (1°58'11,73" S, 65°19'32,20" O) e Colônia Z-32 (2°01'39,43" S, 65°30'50,07" O), próximas ao município de Maraã (1°51'37,77" S, 65°35'28,07" O), estado do Amazonas, Brasil. Desse habitat natural foram coletadas 37 amostras de pirarucus com, em média, 1,83 metro ($\pm 0,19$) de comprimento total. Apenas uma amostra de pirarucu dessa bacia foi coletada fora da RDSM, sendo de um pirarucu proveniente do rio Tapajós, próximo à confluência com o rio Amazonas, região do baixo Amazonas, próxima ao município de Santarém. Essa amostra foi adquirida diretamente de um pescador local.

A RDSM está situada na região do médio rio Solimões, 600 km a oeste de Manaus. Seu território abrange parte dos municípios de Fonte Boa, Uarini e Maraã. Nessa área há extensa área de floresta inundada onde são encontrados sistemas aquáticos formados por vários lagos que servem de habitats naturais para os pirarucus. As águas brancas dos rios Solimões e Japurá delimitam a reserva, conectam-se e carregam sedimentos para a planície durante a cheia. Na reserva, a interferência humana é limitada e o desmatamento é quase inexistente (AFFONSO; QUEIROZ; NOVO, 2011).

O ecossistema predominante na área é caracterizado por florestas sazonalmente inundadas devido ao período de cheia que se estende de janeiro a junho, quando a precipitação nessa região é maior. A amplitude de variação do nível d'água chega a ultrapassar 10 metros, o que leva ao transbordamento dos rios principais e conseqüente formação de um complexo mosaico de florestas, lagos e canais que se conectam e isolam periodicamente. Esse pulso de inundação influencia os padrões limnológicos, a composição, riqueza e abundância da fauna

associada ao ecossistema de várzea (AFFONSO; QUEIROZ; NOVO, 2011; HERCOS *et al.*, 2021; JUNK *et al.*, 2011; RAMALHO *et al.*, 2009).

4.1.3 Pisciculturas

As duas pisciculturas selecionadas para coleta de amostras estão localizadas em propriedades rurais dos municípios de Lagoa da Confusão, estado do Tocantins (10°35'0,96" S, 49°55'29,28" O) e distrito de Bezerra, município de Formosa, estado de Goiás (15°35'21,79" S, 46°56'48,27" O). Os pirarucus foram transferidos para esses criadouros ainda juvenis, com comprimento total variando entre 12 e 20 cm. O processo de produção nas duas pisciculturas ocorre de maneira contínua, em uma única fase, desde a fase juvenil até a etapa final de engorda na mesma estrutura de cultivo. Na data da coleta os peixes estavam na fase de engorda nos dois criatórios.

As duas propriedades praticam o cultivo dos pirarucus em viveiros escavados, adotando o sistema de produção intensiva no qual a alimentação é predominantemente composta por ração. Complementa-se a alimentação dos peixes cultivados nas duas pisciculturas com peixes forrageiros, perfazendo por volta de 5% da alimentação ofertada em cada uma das duas pisciculturas, segundo informação dos tratadores. Os peixes forrageiros utilizados na alimentação dos pirarucus da piscicultura de Lagoa da Confusão são coletados do rio Formoso. No criatório do município de Formosa são utilizadas tilápias como peixe forrageiro empregado na complementação da alimentação. A renovação de água dos tanques é feita apenas para repor as perdas por evaporação e/ou infiltração. Foi feito o procedimento de fertilização e calagem para preparar os dois tanques antes do recebimento dos peixes. As fazendas dedicam-se simultaneamente à produção agrícola e pecuária além da piscicultura.

No criatório localizado no município de Formosa (Fazenda Paraíso dos peixes) há 21 tanques escavados para criação de diversas espécies de peixes. O viveiro utilizado apenas para criação de pirarucu possui 400 m² de área e 1,2 metro de profundidade média, onde são mantidos aproximadamente 400 exemplares de pirarucus entre 3,5 a 4 anos de idade. A base da alimentação dos pirarucus é feita com ração extrusada para peixes carnívoros de água doce (40% de proteína, 9-11mm de tamanho). Na figura 4 tem-se uma foto do rótulo dessa ração. A fonte de água do tanque é proveniente do rio bonito (afluente do rio Urucuia o qual desemboca no rio São Francisco). Dessa piscicultura coletamos 11 amostras de pirarucus com, em média, 1,45 metro de comprimento total ($\pm 0,07$) e 26,9 kg de peso ($\pm 5,19$).

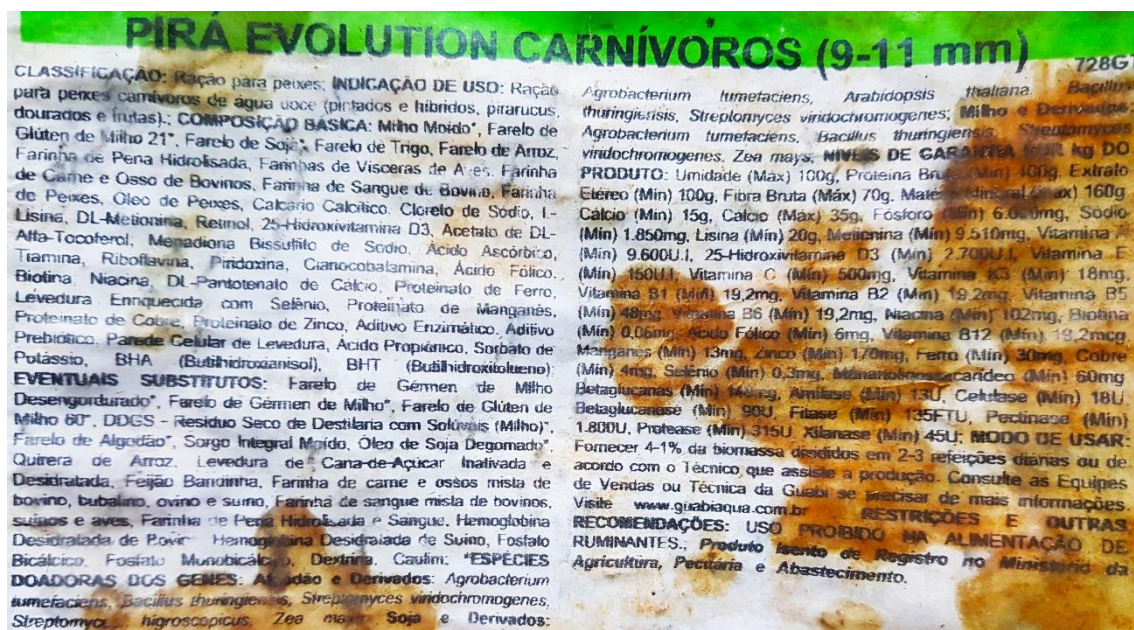


Figura 4. Foto do rótulo da ração utilizada para alimentação de pirarucus mantidos em uma das pisciculturas. Fonte: Arquivo do autor.

O outro criatório amostrado localiza-se no município de Lagoa da Confusão (Fazenda Canaã). A propriedade fica às margens do rio Formoso, afluente da margem direita do rio Araguaia, próximo à ilha do bananal, maior ilha fluvial do mundo. Nessa piscicultura há um tanque escavado também de 400 m², onde são mantidos 700 pirarucus de aproximadamente 3 anos de idade. A fonte alimentar principal é a ração extrusada desenvolvida para peixes carnívoros de água doce (40% de proteína, 14 mm de tamanho). O tanque é abastecido com água do rio Formoso. Desse criatório coletamos 5 amostras de pirarucus com, em média, 1,35 metro de comprimento total ($\pm 0,08$) e 18,3 kg ($\pm 2,8$) de peso.

O tipo de manejo (alguns autores descrevem como método de produção) representa basicamente o ambiente em que viviam os pirarucus coletados. Os pirarucus provenientes das duas pisciculturas são referenciados ao longo do texto como “cultivados”. Os pirarucus nomeados como “selvagens” representam os pirarucus que foram capturados nas bacias Amazônica e Tocantins – Araguaia. As amostras de pirarucus capturados no ambiente natural da bacia Amazônica estão referenciadas ao longo do texto como “Selvagem – AM”. As amostras de pirarucus capturados no ambiente natural da Bacia do Tocantins – Araguaia foram referenciadas ao longo do texto como “Selvagem – TO”. Todos os pontos de coletas dessas amostras de referência dos pirarucus selvagens e cultivados estão representados na figura 5.

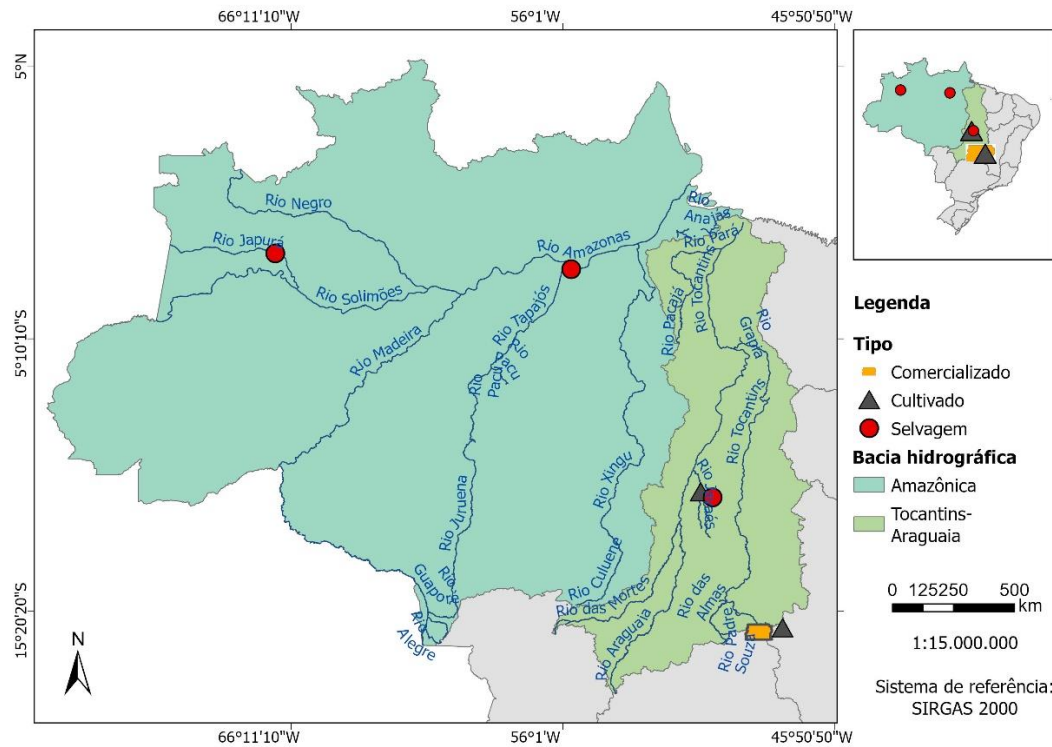


Figura 5. Mapa com os pontos de coleta de amostras de pirarucus cultivados e selvagens. O território do Distrito Federal (em laranja) representa o local das coletas de pirarucus adquiridos de 52 estabelecimentos comerciais.

4.1.4 Estabelecimentos Comerciais

Foram coletadas amostras de pirarucus de estabelecimentos comerciais atacadistas e varejistas ao longo de todo o território do Distrito Federal (DF). Os estabelecimentos atacadistas e entrepostos dedicados ao processamento, armazenamento e comércio de pescados vendem grandes volumes desses produtos para restaurantes, supermercados e hotéis. Os estabelecimentos atacadistas inspecionados e com registro ativo junto à Secretaria de Agricultura do Distrito Federal (SEAGRI-DF) foram identificados por meio de uma consulta formal feita a esse órgão. Entre esses estabelecimentos atacadistas identificados, foram selecionados para coleta de amostras aqueles que incluíam o pirarucu no seu catálogo de produtos comercializados.

Foram feitas incursões nos centros comerciais e feiras de todas as Regiões Administrativas do DF, procurando identificar e coletar amostras de pirarucus dos estabelecimentos varejistas, incluindo peixarias, supermercados e bancas de feiras. Paralelamente, foram feitas pesquisas em sites de busca para identificar o maior número de estabelecimentos comerciais que vendiam pirarucu. Para aquisição dessas amostras de origem comercial, foram realizadas visitas presenciais em todos os estabelecimentos. Apenas uma

amostra foi adquirida de cada estabelecimento. As amostras foram adquiridas entre outubro de 2022 e abril de 2023. Do total, seis amostras foram adquiridas de Entrepósitos e estabelecimentos atacadistas com registros ativos na SEAGRI-DF, uma adquirida de Distribuidora Atacadista, 12 de Supermercados e 33 de peixarias e bancas de feiras. A coleta de amostras ocorreu em diferentes pontos do DF e estão distribuídas em 22 Regiões Administrativas (RAs) do Distrito Federal (figura 6).

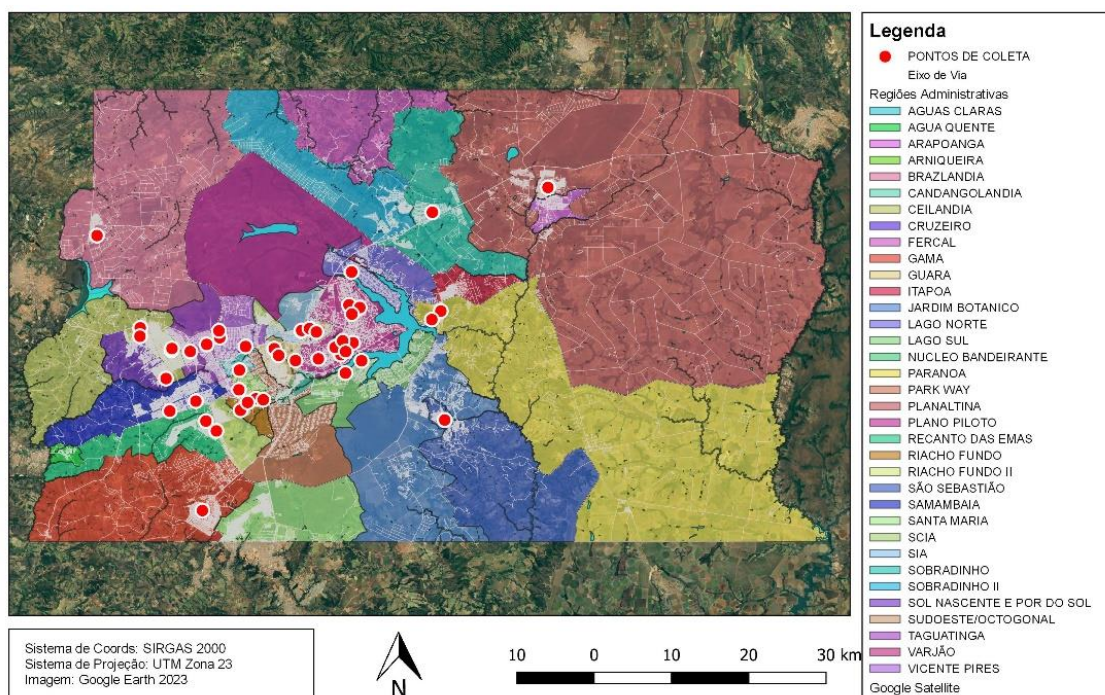


Figura 6. Distribuição geográfica dos estabelecimentos comerciais onde foram coletadas as amostras de pirarucu no DF.

As amostras foram obtidas de estabelecimentos comerciais presentes em 22 das atuais 35 RAs, representando 62,8% das RAs. Brasília e Ceilândia foram as duas Regiões Administrativas com maior número de estabelecimentos dedicados ao comércio de pirarucu. Segundo a Pesquisa Distrital por Amostra de Domicílios esses dois locais são as duas RAs mais procuradas pelos brasileiros para compra de artigos de alimentação dentro do DF (CODEPLAN, 2021).

4.2 Coleta de amostras

Para o presente estudo foram coletadas 131 amostras de tecido muscular de *Arapaima gigas*. Esses fragmentos de músculo foram extraídos de pirarucus provenientes de diferentes manejos, sendo 16 amostras de pirarucus de piscicultura e 63 amostras de pirarucus capturados

nas bacias Amazônica e Tocantins – Araguaia (tabela 1). Outras 52 amostras foram adquiridas de estabelecimentos comerciais de diversas regiões administrativas do Distrito Federal, DF. Nessas amostras comercializadas no DF não havia informações no rótulo quanto ao local de extração ou produção, por isso foram consideradas amostras “desconhecidas”.

Os fragmentos de músculo coletados foram retirados preferencialmente da região dorsal de cada peixe (aproximadamente 10 gramas), posteriormente foram embalados individualmente em sacos de polietileno transparente com fecho hermético, identificados, acondicionados em caixas térmicas com gelo e enviados ao laboratório do departamento de ecologia da Universidade de Brasília, UnB. No laboratório foram mantidas em um freezer a -20°C até o seu processamento e análise.

As amostras de piscicultura foram coletadas após a insensibilização e abate dos peixes. Nenhum espécime selvagem ou cultivado foi sacrificado especificamente para os fins desse estudo. A atividade extrativista de coleta de pirarucus selvagens desenvolveu-se a partir das licenças de captura dos pescadores envolvidos. As amostras foram transportadas até o Laboratório da Universidade de Brasília acompanhadas da permissão emitida pelo Instituto Chico Mendes para a Conservação da Biodiversidade ICMBIO-SISBIO, licença número 84395-2/2022.

Tabela 1. Dados sobre o local de coleta das amostras, o número de amostras coletadas (N), o tipo de manejo e o ambiente em que foram extraídas as amostras.

Local da coleta	Ambiente de cultivo/bacia hidrográfica	N	Tipo de manejo
Piscicultura - Município de Formosa - GO	Tanque escavado	11	Cultivados em sistema intensivo
Piscicultura - Município de Lagoa da Confusão - TO	Tanque escavado	5	Cultivados em sistema intensivo
Reserva de desenvolvimento sustentável de Mamirauá - RDSM - AM	Rio Solimões, bacia amazônica	36	Capturados em ambiente natural
Santarém - PA	Rio Tapajós, bacia Amazônica	1	Capturado em ambiente natural
Colônia de pescadores de Lagoa da Confusão – TO	Rio Javaés e Formoso, bacia Tocantins - Araguaia	26	Capturados em ambiente natural

Peixarias - DF		33	
Supermercados - DF		12	
Distribuidora - DF	Desconhecido	1	Desconhecido
Entrepósitos - DF		6	

4.3 Preparação das amostras, análises de isótopos estáveis e multielementar

Para as análises de isótopos estáveis e multielementar, cada amostra de aproximadamente 1,5 g tecido muscular foi descongelada, colocada em microtubos tipo eppendorf de 3 ml e lavadas com água destilada. Em seguida as amostras foram desengorduradas utilizando solução de clorofórmio + metanol (v/v 2:1). Retirado o sobrenadante, foi feita nova lavagem com água destilada. Posteriormente as amostras foram colocadas em estufa para secagem a temperatura constante de 50 ° C por 48 horas. Em seguida foram pulverizadas em moinho vibratório de bancada MM 400 Retsch® (frequência de 30/s por 1.5 min) até formar um pó fino, homogêneo, semelhante a talco. Nas amostras em que o material não alcançou granulometria adequada o procedimento de pulverização foi refeito até se tornar um pó fino. As câmaras do equipamento foram limpas a cada nova amostra colocada no moinho. Cada amostra foi subdividida em duas partes para serem destinadas à análise isotópica e análise multielementar. Um fluxograma geral das etapas de preparação das amostras até os resultados das análises isotópicas e elementares está representado pela figura 7.

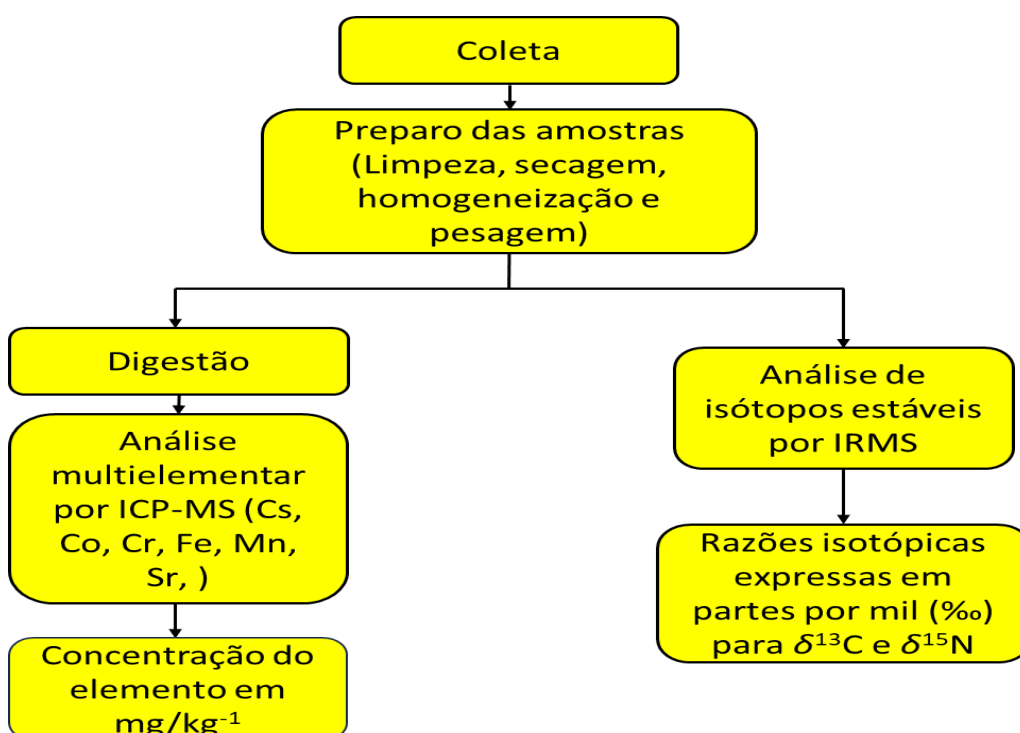


Figura 7. Representação gráfica da sequência de etapas de processamento das amostras até os resultados das análises isotópicas e elementares.

4.4 Espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS)

Para a análise isotópica pesou-se entre 0,40 e 0,50 mg de tecido muscular seco, moído e homogêneo. Após pesagem o material foi embalado em cápsulas cilíndricas de estanho. As cápsulas foram colocadas em um analisador elementar que, por combustão, é purificado em uma coluna de cromatografia gasosa e introduzida no espectrômetro de massa que especifica as razões isotópicas de carbono e nitrogênio. Esses procedimentos foram realizados no Laboratório Nacional de Isótopos Forenses (LANIF) do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal (INC-PF).

Análises de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio foram feitas utilizando o IRMS Delta V Advantage da Thermo Scientific® acoplado ao analisador elementar Flash IRMS EA IsoLink CN através da interface de fluxo contínuo ConFlo IV, instrumentação disponível no LANIF. Essa técnica mede a proporção de isótopos pesados e leves ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) nas amostras em relação a um padrão internacional de Pee Dee Belamite (Viena PDB; relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0,01118$) para o carbono e ar atmosférico para nitrogênio (relação $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N} = 0,0036765$).

As relações isotópicas são expressas em partes por mil (‰), e a notação delta (δ) é empregada para descrever a razão isotópica de uma amostra, conforme a equação $\delta X = [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000$. Nessa equação, δX representa a razão isotópica, enquanto R amostra e R padrão são as razões isotópicas da amostra e do padrão, respectivamente. Os padrões internacionais, terminologia USGS61 ($\delta^{13}\text{C} = -35,05$ ‰ e $\delta^{15}\text{N} = -2,87$ ‰) e USGS62 ($\delta^{13}\text{C} = -14,79$ ‰ e $\delta^{15}\text{N} = +20,17$ ‰), foram empregados como materiais de referência certificados, utilizados intercalados em cada análise para monitorar possíveis desvios instrumentais. A precisão das análises, medida como o desvio padrão das medidas repetidas dos materiais de referência, resultou em $\delta^{13}\text{C}$ de $\pm 0,2$ ‰ (n=25) para ambos os materiais de referência, enquanto a do $\delta^{15}\text{N}$ foi $\pm 0,2$ ‰ e $\pm 0,3$ ‰ (n=26) para USGS61 e USGS62 respectivamente.

4.5 Determinação elementar por espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)

Alíquotas de aproximadamente 20 mg das amostras de tecido muscular de pirarucu seco e moído foram analisadas por meio do ICP-MS para determinar a concentração dos elementos Ag, Al, As, Be, Ba, Ca, Cd, Ce, Cs, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Gd, Hg, Ho, In, K, La, Li, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Ni, Pb, Pr, Rb, Sb, Se, Sm, Sr, Tb, Ti, Tl, Tm, V, Yb, Zn. Todos os experimentos foram preparados utilizando peróxido de hidrogênio 30% m v⁻¹ (Merck, Alemanha), ácido nítrico 65% m m⁻¹ (Merck, Diadema, SP, Brasil) e água ultrapura (resistividade maior que 18,2 MΩ cm) obtida a partir de um sistema Milli-Q® Plus Total Water System (Millipore, Billerica, MA, EUA). O ácido nítrico foi purificado previamente em um sistema de subdestilação (Duopr, Milestone, Itália). As soluções analíticas de calibração foram preparadas a partir de diluições de alíquotas de soluções de referência monoelementares contendo 1000 mg L⁻¹ de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Se, Sr e Zn (Fluka, São Paulo, Brasil) em HNO₃ 0,14 mol L⁻¹, bem como para ítrio (Y), utilizado como padrão interno. Todos os materiais e vidrarias utilizados foram descontaminados em banho ácido (HNO₃ 10% v v⁻¹) por, no mínimo, 24 horas, e em seguida enxaguados com água ultrapura antes do uso.

O início do processo de digestão foi feito adicionando 200 µL de HNO₃ 65% m m⁻¹ em microtubos contendo cerca de 20 mg das amostras de tecido muscular. Essa solução foi aquecida em banho maria, sobre chapa de aquecimento a 80 °C por 30 minutos. Após resfriamento, foram adicionados aos microtubos 100 µL de peróxido de oxigênio 30% v v⁻¹, seguido por novo aquecimento a 80 °C por 10 minutos. As amostras digeridas foram então completadas com água ultrapura até o volume de 2,5 mL. Para adequação da acidez residual e adição do padrão interno, as amostras foram diluídas adicionando-se 1,0 mL de amostra, 125 µL da solução de Y 2 mg L⁻¹ e completando com água ultrapura para 2,5 mL em tubos de polipropileno calibrados. As amostras dos brancos analíticos e do material de referência certificado foram submetidas aos mesmos procedimentos.

A determinação dos elementos foi realizada utilizando espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS 7700, Agilent Technology, Tóquio, Japão) operado em modo cela de colisão utilizando gás hélio (99,995%) A tabela 2 apresenta a descrição dos parâmetros operacionais utilizados no ICP-MS. A quantificação foi realizada utilizando curvas de calibração com um R² > 0,99 para todos os elementos, sugerindo uma boa linearidade das curvas analíticas nos intervalos de trabalho definidos.

Tabela 2. Condições operacionais utilizadas no ICP-MS.

Parâmetro instrumental	ICP-MS
Potência de radiofrequência (kW)	1,55
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,00
Vazão de nebulização (L min ⁻¹)	1,05
Profundidade de amostragem (mm)	8,0
Vazão de He na célula de colisão (mL min ⁻¹)	4,5
Tempo de integração (s)	3,0
Nebulizador	Micro-Mist
Câmara de nebulização	Scott type – double pass
Isótopos	¹⁰⁷ Ag, ²⁷ Al, ⁷⁵ As, ⁹ Be, ¹³⁷ Ba, ⁴⁰ Ca, ¹¹¹ Cd, ¹⁴⁰ Ce, ¹³³ Cs, ⁵⁹ Co, ⁵² Cr, ⁶³ Cu, ¹⁶³ Dy, ¹⁶⁶ Er, ¹⁵³ Eu, ⁵⁶ Fe, ¹⁵⁷ Gd, ²⁰¹ Hg, ¹⁶⁵ Ho, ¹¹⁵ In, ³⁹ K, ¹³⁹ La, ⁷ Li, ¹⁷⁵ Lu, ²⁴ Mg, ⁵⁵ Mn, ⁹⁵ Mo, ²³ Na ¹⁴⁶ Nd, ⁶⁰ Ni, ²⁰⁸ Pb, ¹⁴¹ Pr, ⁸⁵ Rb, ¹²¹ Sb, ⁷⁸ Se, ¹⁴⁷ Sm, ⁸⁸ Sr, ¹⁵⁹ Tb, ⁴⁷ Ti, ²⁰⁵ Tl, ¹⁶⁹ Tm, ⁵¹ V, ¹⁷² Yb, ⁶⁶ Zn

O material de referência certificado (MRC) NIST 1577c - Bovine Liver, foi utilizado na avaliação do desempenho analítico da metodologia aplicada, para verificação da precisão e exatidão. Adicionalmente realizou-se estudos de adição e recuperação nas amostras de pirarucu analisadas, uma vez que alguns analitos não eram certificados no MRC utilizado ou estavam em concentrações muito diferentes das amostras analisadas. As amostras de fígado bovino (MRC) foram analisadas em quadruplicata. Para o estudo de adição e recuperação, as amostras foram fortificadas com Cr e Sr (5 µg L⁻¹); Ba, Pb e Hg (2 µg L⁻¹) e Cu (50 µg L⁻¹), em quadruplicata.

A precisão do método foi calculada em termos de coeficiente de variação (% CV) usando o desvio padrão dos resultados obtido para as replicatas do MRC e das amostras fortificadas. A

exatidão foi avaliada em termos de porcentagem de recuperação. Para o MRC utilizou-se a equação: Recuperação (%) = (valor observado/valor certificado)*100. Para as amostras fortificadas, a porcentagem de recuperação foi calculada por: Recuperação (%) = ((Concentração amostra fortificada – Concentração amostra sem fortificar/Concentração adicionada)*100 conforme apresentado na equação Recuperação (%) = (valor observado/valor esperado)*100. O limite de detecção (LD) foi calculado como 3 vezes o desvio padrão da concentração dos brancos analíticos. O Limite de Quantificação (LQ), foi estimado como 3,3 vezes o LD. Os brancos analíticos foram utilizados para a estimativa de LD e LQ e para o controle de possíveis contaminações durante o processo de análise, sendo a média dos valores obtidos subtraída das concentrações encontradas para as amostras. As análises multielementares foram feitas no laboratório de química analítica da Universidade Federal de Minas Gerais UFMG.

4.6 Análises estatísticas

Antes de iniciar as análises comparativas entre os manejos (cultivados e selvagens) e entre as bacias hidrográficas, foram avaliados os pressupostos de normalidade para todas as variáveis utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Os valores isotópicos e de concentração dos elementos não seguiram distribuição normal para nenhum dos grupos de pirarucus comparados. Desta forma, utilizamos o teste não paramétrico Mann-Whitney para determinação em pares das diferenças, uma vez que os grupos de pirarucus comparados são independentes e os valores quantificados estão em escala ordinal. Todas as análises estatísticas foram realizadas em R (RStudio 2022.02.2+485) e todos os gráficos foram produzidos utilizando o pacote “ggplot2”. Para as análises estatísticas foi utilizado um nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

Para comparar os tipos de manejos dos pirarucus, utilizamos testes de Mann-Whitney para avaliar as diferenças nos valores isotópicos de carbono e nitrogênio entre os grupos cultivados e selvagens. Também utilizamos esse mesmo teste não paramétrico para comparar os valores de concentração dos elementos inorgânicos Cs, Co, Cr, Sr, Fe e Mn entre os grupos de pirarucus selvagens e cultivados. As concentrações de cada elemento e as razões isotópicas de carbono e nitrogênio foram comparadas separadamente para verificar as diferenças entre os dois tipos de manejos.

O teste de Mann-Whitney também foi aplicado para comparar as amostras dos dois grupos de pirarucus selvagens, selvagens da bacia hidrográfica do Amazonas e selvagens da bacia do Tocantins – Araguaia (“Selvagem – AM” e “Selvagem – TO”). Para esses dois grupos

de pirarucus foram comparados os valores isotópicos de carbono e nitrogênio e os valores de concentração dos elementos Cs, Co, Cr, Sr, Fe e Mn, sendo que cada variável foi comparada separadamente.

Em uma análise exploratória para visualizar as relações das variáveis elementares e isotópicas entre os pirarucus das duas bacias hidrográficas, foram realizadas análises de componentes principais ou *Principal Component Analysis* (PCA). As PCAs foram executadas utilizando a função estatística *prcomp* em R. Os primeiros dois componentes principais de cada PCA foram usados para desenhar um gráfico de dispersão bidimensional. Inicialmente a PCA foi realizada utilizando as concentrações dos seis elementos inorgânicos para revelar os possíveis agrupamentos das amostras das duas bacias hidrográficas. Em uma segunda análise de PCA foi acrescentado também as variáveis isotópicas para avaliar o potencial uso das duas técnicas analíticas para agrupar as amostras das duas bacias hidrográficas.

5. RESULTADOS

5.1. Variações isotópicas entre os pirarucus de manejos e bacias hidrográficas diferentes

As razões isotópicas de carbono dos pirarucus provenientes dos manejos cultivado e selvagem diferiram significativamente ($p < 0,05$). Também houve diferença significativa entre as razões isotópicas de carbono dos pirarucus provenientes das duas bacias hidrográficas analisadas (bacia Amazônica e bacia do Tocantins-Araguaia) conforme representado na tabela 3. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos peixes de cultivo foram maiores, exibindo uma diferença média de 14,3 ‰ em comparação com os peixes selvagens. O $\delta^{13}\text{C}$ dos pirarucus selvagens variou entre -37,2 e -27,8 ‰, enquanto as amostras de peixes cultivados tiveram valores mais enriquecidos e agrupados em um intervalo mais estreito, situado entre -19,5 e -16,5 ‰ (figura 8A).

As razões isotópicas de nitrogênio diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os tipos de manejo e entre as bacias hidrográficas, conforme representado na tabela 3. Os peixes capturados no ambiente natural exibiram, em média, valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente maiores (8,9 ‰) do que os dos pirarucus criados em cativeiro (7,9 ‰) (figura 9A). O $\delta^{15}\text{N}$ dos peixes selvagens amazônicos teve maior amplitude de variação do que o $\delta^{15}\text{N}$ dos peixes selvagens da bacia do Tocantins-Araguaia (figura 9B).

Tabela 3. Comparação das razões isotópicas entre os grupos de pirarucus provenientes de manejos (Cultivado e Selvagem) e de bacias hidrográficas diferentes. Os pirarucus descritos como Selvagem AM e Selvagem TO foram coletados no ambiente natural das bacias

Amazônica e do Tocantins-Araguaia respectivamente. Os cultivados foram coletados de tanques de piscicultura. O número de amostras é representado pela letra N.

		N	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Manejos	Selvagem	63	$-31,6 \pm 2,4$	$8,9 \pm 0,9$
	Cultivado	16	$-17,3 \pm 0,8$	$7,9 \pm 1,0$
	Valor de <i>p</i>		$p < 0,05$	$p < 0,05$
Bacias hidrográficas	Selvagem AM	37	$-33,3 \pm 1,5$	$9,4 \pm 0,9$
	Selvagem TO	26	$-29,1 \pm 0,9$	$8,1 \pm 1,0$
	Valor <i>p</i>		$p < 0,05$	$p < 0,05$

Quanto à origem geográfica, foram encontradas diferenças significativas entre as razões isotópicas das amostras de pirarucus das duas bacias analisadas. As amostras de pirarucus da bacia hidrográfica do Tocantins-Araguaia tiveram, em média, razões isotópicas de carbono menos negativas do que as amostras da bacia amazônica. Os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ são $-29,1$ ‰ para os peixes da bacia do Tocantins-Araguaia e $-33,3$ ‰ para os da bacia Amazônica. A faixa de variação das razões isotópicas de carbono dos peixes amazônicos foi mais ampla do que a observada para os peixes da bacia do Tocantins-Araguaia (figura 8B).

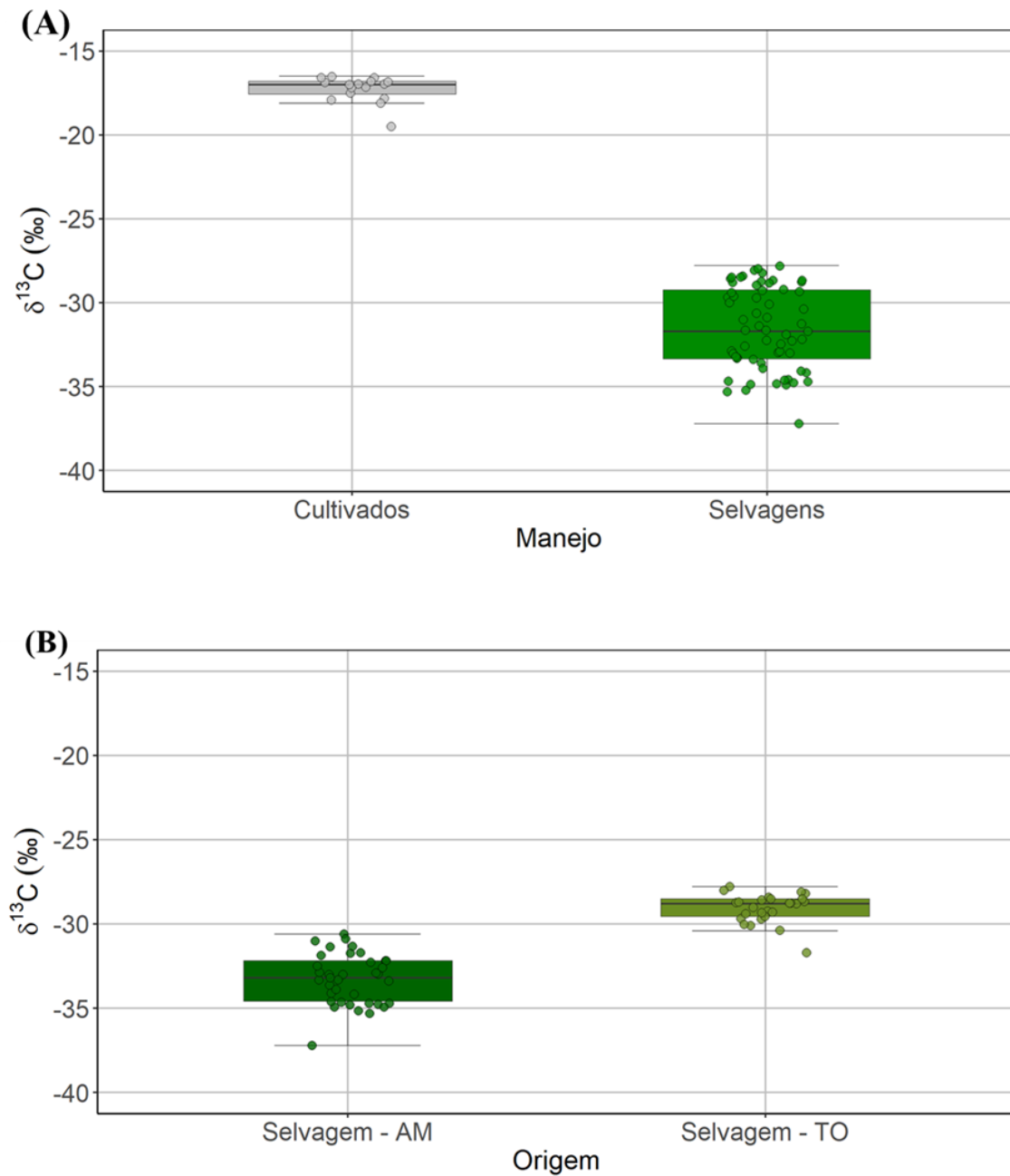


Figura 8. Variações de $\delta^{13}\text{C}$ dos grupos de pirarucus de diferentes manejos (A) e bacias hidrográficas (B), destacando as tendências centrais ao longo das distribuições. Cada círculo pequeno representa a razão isotópica de um peixe. (A) A designação “Cultivados” representa o grupo de peixes adquiridos das pisciculturas e a designação “Selvagens” o grupo de peixes extraídos do ambiente natural das duas bacias hidrográficas. (B) O termo “Selvagem – AM” foi usado para designar os pirarucus selvagens oriundos da bacia hidrográfica do rio Amazonas. O termo “Selvagem – TO” foi usado para nomear o grupo de pirarucus oriundos da bacia hidrográfica do rio Tocantins – Araguaia.

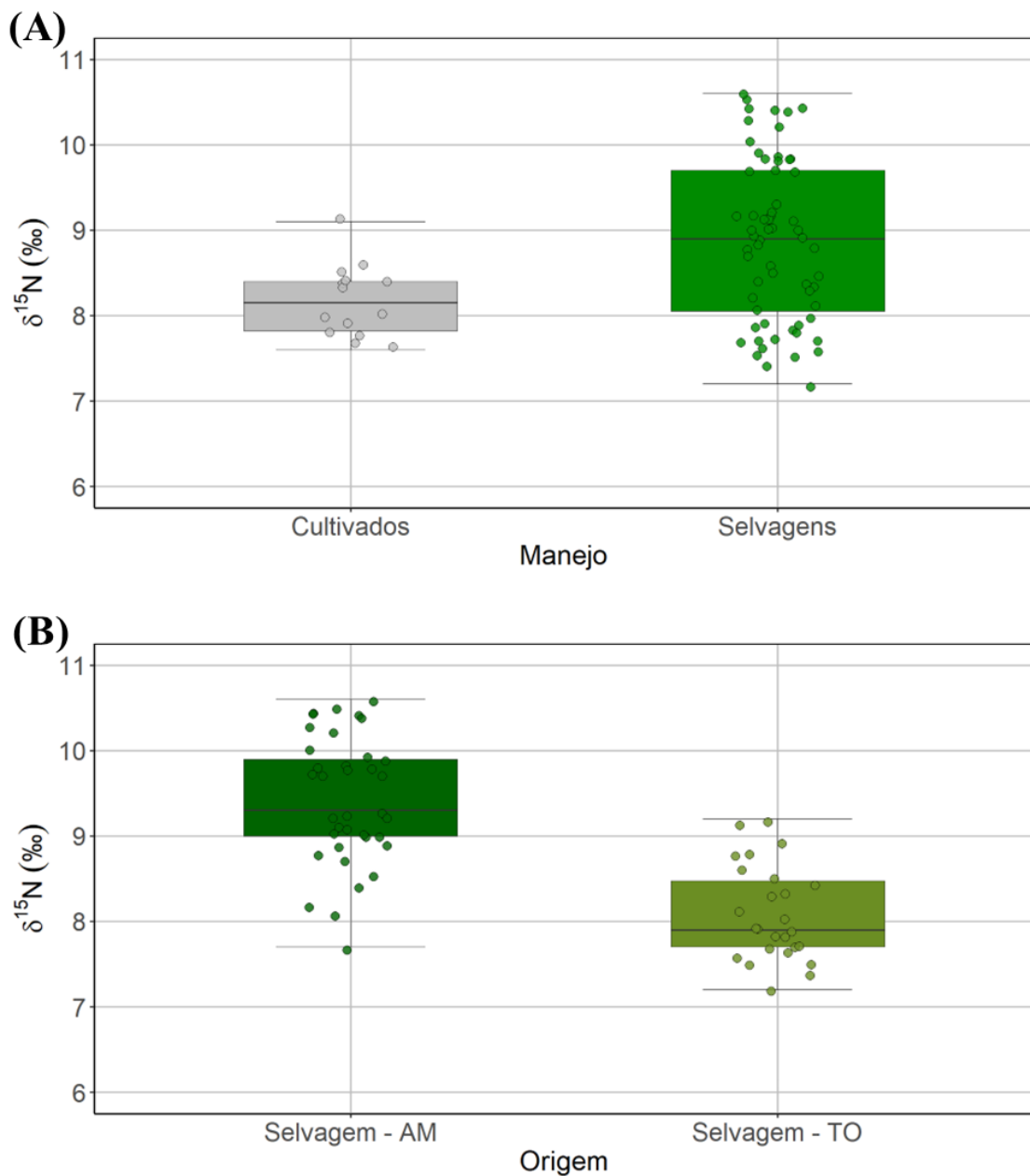


Figura 9. Variações de $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus de diferentes manejos (A) e bacias hidrográficas (B), destacando as tendências centrais ao longo das distribuições. Cada círculo pequeno representa a razão isotópica de um peixe. (A) A designação “Cultivados” representa o grupo de peixes adquiridos das pisciculturas e a designação “Selvagens” o grupo de peixes extraídos do ambiente natural das duas bacias hidrográficas. (B) O termo “Selvagem – AM” foi usado para designar os pirarucus selvagens oriundos da bacia hidrográfica do rio Amazonas. O termo “Selvagem – TO” foi usado para nomear o grupo de pirarucus oriundos da bacia hidrográfica do rio Tocantins – Araguaia.

O gráfico de dispersão bivariado de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ revelou uma distinção espacial entre os três grupos de pirarucus (Cultivado, Selvagem – AM e Selvagem – TO) (figura 10). Os peixes cultivados apresentaram assinaturas isotópicas com valores de $\delta^{13}\text{C}$ menos negativos que os demais. Essa diferença foi mais pronunciada entre os grupos de pirarucus cultivados e os

pirarucus selvagens coletados na bacia Amazônica, enquanto a menor diferença foi entre os dois grupos de peixes selvagens, “Selvagem – AM” e “Selvagem – TO”, os quais ocuparam áreas adjacentes, embora distintas (sem sobreposição).

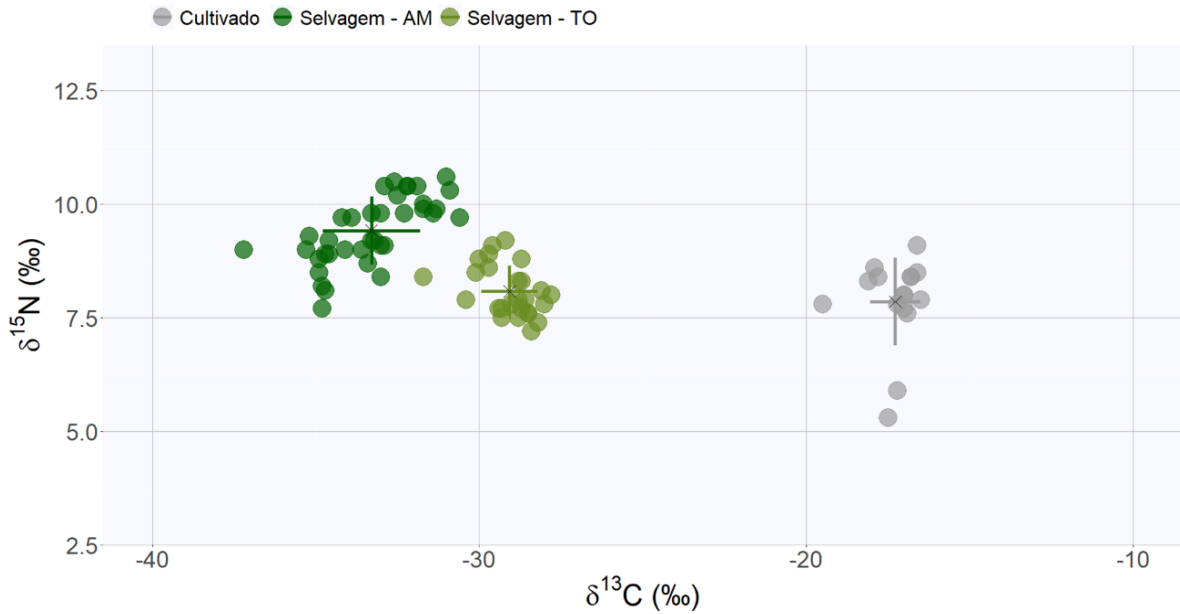


Figura 10. Distribuição dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus cultivados (cinza), selvagens da bacia do Tocantins-Araguaia (em verde musgo) e selvagens da bacia Amazônica (verde bandeira). Cada círculo pequeno representa as razões isotópicas de carbono e nitrogênio de um pirarucu. As variabilidades estão representadas graficamente por barras de erro bidirecionais em torno das médias calculadas para cada grupo. O “X” no ponto de cruzamento entre as barras de erro caracteriza a média dos dois isótopos para cada grupo de pirarucus.

Em relação às amostras adquiridas de estabelecimentos comerciais do DF, cuja bacia hidrográfica e manejo são desconhecidos, observou-se que 98% das amostras apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ dentro dos limites de variação isotópica dos peixes de manejo conhecido (cultivados e selvagens).

As razões isotópicas de nitrogênio dos pirarucus provenientes desses estabelecimentos comerciais do DF apresentaram, no geral, valores mais elevados, acima dos limites de variação dos peixes de origem conhecida (figura 11). As médias foram 10,3 ‰, 7,8 ‰ e 8,8 ‰ para o $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus comercializados, cultivados e selvagens, respectivamente.

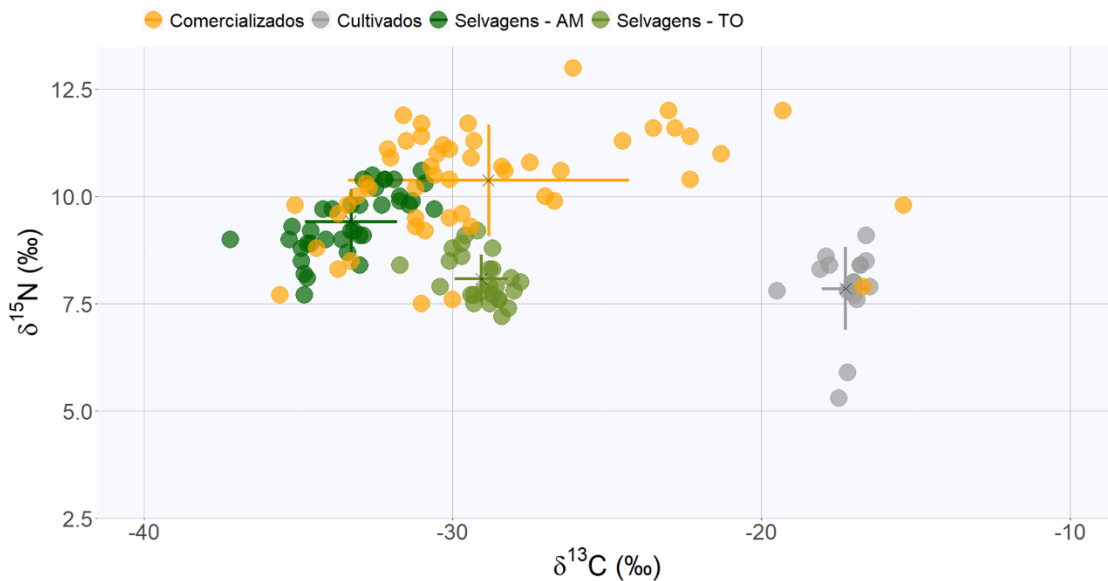


Figura 11. Distribuição dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos grupos de pirarucus cultivados (cinza), selvagens da bacia do Tocantins-Araguaia (verde musgo), selvagens da bacia Amazônica (verde bandeira) e pirarucus adquiridos dos estabelecimentos comerciais do DF (laranja). Cada círculo pequeno representa as razões isotópicas de carbono e nitrogênio de uma amostra. As variabilidades estão representadas graficamente por barras de erro bidirecionais em torno das médias calculadas para cada grupo. O “X” no ponto de cruzamento entre as barras de erro caracteriza a média dos dois isótopos por grupo.

5.2 Perfis elementares dos grupos de pirarucus

Nas análises estatísticas envolvendo as concentrações dos elementos, os valores abaixo do limite de detecção (LD) foram definidos como $0,5 * \text{LD}$. Isso foi feito para os elementos que apresentaram mais de 50% das amostras analisadas com concentrações maiores que o LD; de outra forma, esses analitos foram excluídos da análise, por serem considerados não relevantes para a separação. Seguindo esse parâmetro, os elementos Li, Be, Ti, V, As, Se, Ag, In, Sb, Cu, Mo e todos os elementos classificados como “terras raras” (ETR), encontrados em concentrações abaixo do limite de detecção na maioria das amostras, foram excluídos da análise subsequente.

Os primeiros resultados das concentrações dos macroelementos Na, Ca, Mg e K indicaram que eles estavam em proporções muito acima da faixa de trabalho linear da curva de calibração, a qual foi utilizada para determinar a concentração de toda a variedade de elementos. Esses constituintes foram retirados dos testes, pois idealmente a concentração esperada do elemento analisado na amostra deve situar-se em torno do centro da curva de calibração (MAPA, 2011). Uma alternativa para superar esse obstáculo seria fazer maiores diluições para esses macroelementos em todas as amostras. Devido às restrições de tempo e equipamento, essa medida não foi implementada em nossas análises.

A qualidade dos resultados analíticos foi avaliada utilizando o Material de Referência Certificado (MRC), a partir da taxa de recuperação e do coeficiente de variação (CV, %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR). Seis elementos - Cr, Mn, Fe, Sr, Cs e Co - consistentemente registraram teores acima dos limites de detecção e parâmetros apropriados de precisão e exatidão. Conforme apresentado na tabela 4, as recuperações obtidas para esses elementos foram satisfatórias e dentro da faixa de aceitação de 80 a 110 %. Também todos os valores de desvio padrão relativo foram inferiores a 10%, com exceção do Cs, que teve coeficiente de variação de 15%, ainda dentro dos critérios válidos para precisão, pois são menores que 20% (MAPA, 2011).

Tabela 4. Qualidade analítica avaliada a partir da taxa de recuperação e coeficiente de variância. Os limites de detecção estão representados como LD (mg.kg^{-1}). Fígado bovino (MRC NIST 1577c – Bovine Liver) foi utilizado como material de referência certificado (MRC).

Elementos	Coeficiente de Variância	LD (mg.kg^{-1})	Taxa de Recuperação	MRC NIST 1577c – Bovine Liver	
				Valor Certificado (mg.kg^{-1})	Valor medido (mg.kg^{-1})
<i>Mn</i>	4,19 %	0,15	91 %	10,46 ± 0,47	9,51
<i>Fe</i>	5,92 %	4,62	101 %	197,94 ± 0,65	200,53
<i>Co</i>	9,04 %	0,006	106 %	0,30 ± 0,018	0,32
<i>Cs</i>	15,03%	0,003	81 %	0,021 ± 0,0014	0,017
<i>Sr</i> *	6,45 %	0,14	103 %	-	-
<i>Cr</i> *	4,71 %	0,07	108 %	-	-

* A avaliação da exatidão e precisão do método para os elementos Sr e Cr foi realizada empregando o procedimento de adição e recuperação, sem recorrer aos valores certificados desses elementos.

As análises realizadas para medir as concentrações desses seis elementos nas amostras do grupo selvagem e do grupo cultivado não evidenciaram diferenças significativas entre esses dois tipos de manejo (Figura 12). Foi observada diferença significativa entre as amostras das bacias hidrográficas do Tocantins – Araguaia e Amazônica em relação às concentrações de Cr, Fe, Sr, Cs e Co. O manganês foi o único composto químico que não apresentou diferença significativa entre as amostras das duas bacias hidrográficas.

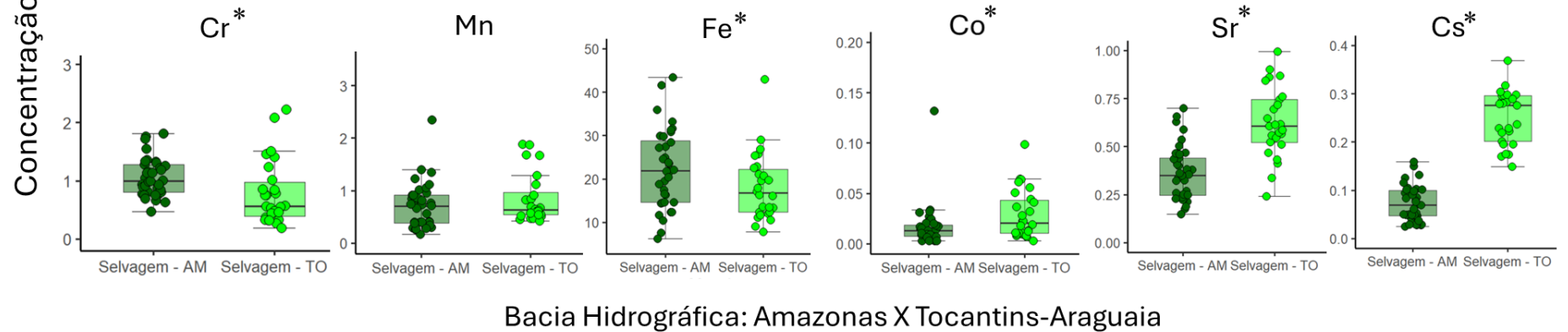
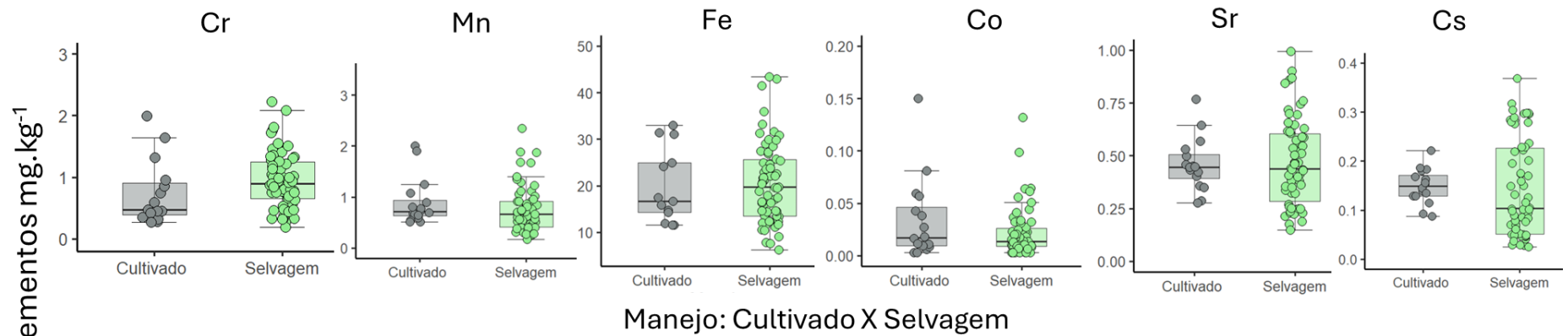


Figura 12. Comparações das concentrações (mg.kg^{-1} , peso seco) dos elementos Cr, Mn, Fe, Co, Sr e Cs em amostras de pirarucus coletados de diferentes tipos de manejos (cultivado e selvagem) e das bacias hidrográficas do Tocantins – Araguaia, (Selvagem – TO) e bacia Amazônica (Selvagem – AM). O símbolo * sobre a notação química do elemento analisado indica diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

O grupo dos pirarucus cultivados exibiu amplas variações nas concentrações de Co, Cr e Fe, conforme evidenciado pelos desvios padrão acima ou muito próximo das médias das concentrações desses elementos (tabela 5). Entre os constituintes inorgânicos avaliados, os mais abundantes nos peixes da bacia amazônica foram Cr e Fe, enquanto nos peixes da bacia Tocantins-Araguaia, o Co, Sr e Cs apresentaram concentrações mais elevadas. A concentração média de Cs no músculo foi 72 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para peixes amazônicos ao passo que para os peixes do Tocantins-Araguaia foi 256 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Similarmente, a concentração média de Sr foi 360 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e 640 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para peixes amazônicos e do Tocantins-Araguaia, respectivamente (tabela 5).

Tabela 5. Resultados das concentrações elementares (peso seco) nas amostras de músculos de pirarucus categorizados em 4 grupos: Cultivados (coletados em pisciculturas), Selvagens (extraídos do ambiente natural das bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia), Selvagens-AM (extraídos da bacia Amazônica) e Selvagens-TO (extraídos da bacia do Tocantins-Araguaia). Os resultados são relatados como média \pm desvio padrão e valores de máximo, mínimo e mediana. Elementos detectados em menor concentração estão em $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e os em maior concentração estão em mg.kg^{-1} .

	<i>Manejo</i>		<i>Bacia Hidrog.</i>	
	Cultivados	Selvagens	Selvagem-AM	Selvagem-TO
Cr (mg.kg^{-1})				
Média \pm DP	1,52 \pm 3,18	0,98 \pm 0,54	1,12 \pm 0,51	0,79 \pm 0,55
Mediana	0,53	0,89	0,99	0,56
Máximo	13,28	3,48	3,48	2,22
Mínimo	0,26	0,19	0,47	0,19
Co ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)				
Média \pm DP	33 \pm 38	21 \pm 23	16 \pm 21	29 \pm 24
Mediana	17,26	13,47	12,8	20,7
Máximo	150	131	131	98
Mínimo	<LD*	<LD*	3,04	<LD*
Cs ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)				
Média \pm DP	149 \pm 35	148 \pm 103	72 \pm 36	256 \pm 62
Mediana	149	104	68,87	277
Máximo	221	402	158	402
Mínimo	87,02	24,84	24,84	149
Fe (mg.kg^{-1})				
Média \pm DP	31 \pm 31	21 \pm 9	23 \pm 10	18 \pm 7

Mediana	20,82	19,74	22,05	16,74
Máximo	137	51	51	43
Mínimo	11,50	6,18	6,18	7,82
Mn(mg.kg⁻¹)				
Média ± DP	0,89 ± 0,46	0,89 ± 0,88	0,70 ± 0,43	1,17 ± 1,24
Mediana	0,71	0,67	0,70	0,65
Máximo	2	5,83	2,34	5,83
Mínimo	0,50	0,16	0,16	0,41
Sr (µg.kg⁻¹)				
Média ± DP	458 ± 126	476 ± 215	360 ± 141	640 ± 190
Mediana	446	439	350	611
Máximo	768	1030	700	1030
Mínimo	276	147	147	241

<LD*: Valores abaixo do Limite de detecção.

Entre os pirarucus das duas bacias hidrográficas, considerando a concentração dos elementos inorgânicos, o Cs foi o elemento que teve a menor faixa de sobreposição de valores de concentração. As amostras de pirarucus comercializados no DF exibiram, em média, menores concentrações de Cs (média = 107 µg.kg⁻¹) do que as amostras do Tocantins-Araguaia (média = 256 µg.kg⁻¹). A dispersão dos valores de concentração de Cs assemelha-se mais às concentrações desse elemento nos peixes selvagens amazônicos (média = 70 µg.kg⁻¹) conforme pode ser observado na figura 13.

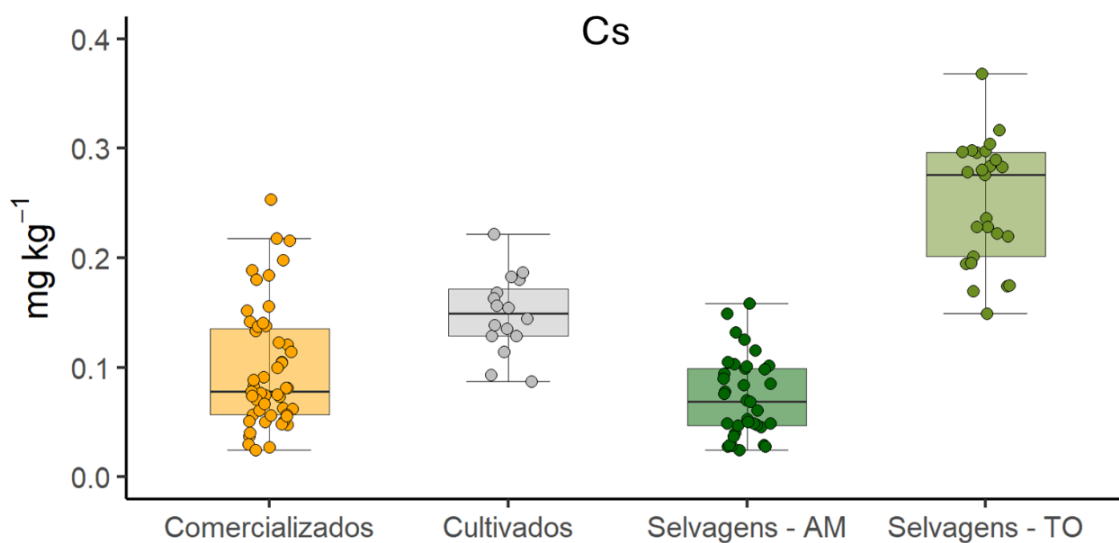


Figura 13. Concentrações de Cs em amostras de pirarucus Comercializados (coletados em estabelecimentos comerciais do Distrito Federal), Cultivados (coletados de pisciculturas), Selvagens – AM (coletados em ambiente natural da bacia Amazônica) e Selvagens-TO (coletados em ambiente natural da bacia do Tocantins-Araguaia).

A análise dos níveis de Cs e Sr entre as amostras de peixes selvagens (figura 14), revela que os peixes das duas bacias têm proporções diferentes para esses constituintes e, por consequência, tendem a se localizar em regiões distintas do gráfico que representa as variações de concentração desses elementos. Os pirarucus vendidos no DF apresentaram concentrações mais semelhantes às amostras de pirarucus selvagens da Amazônia (figura 15).

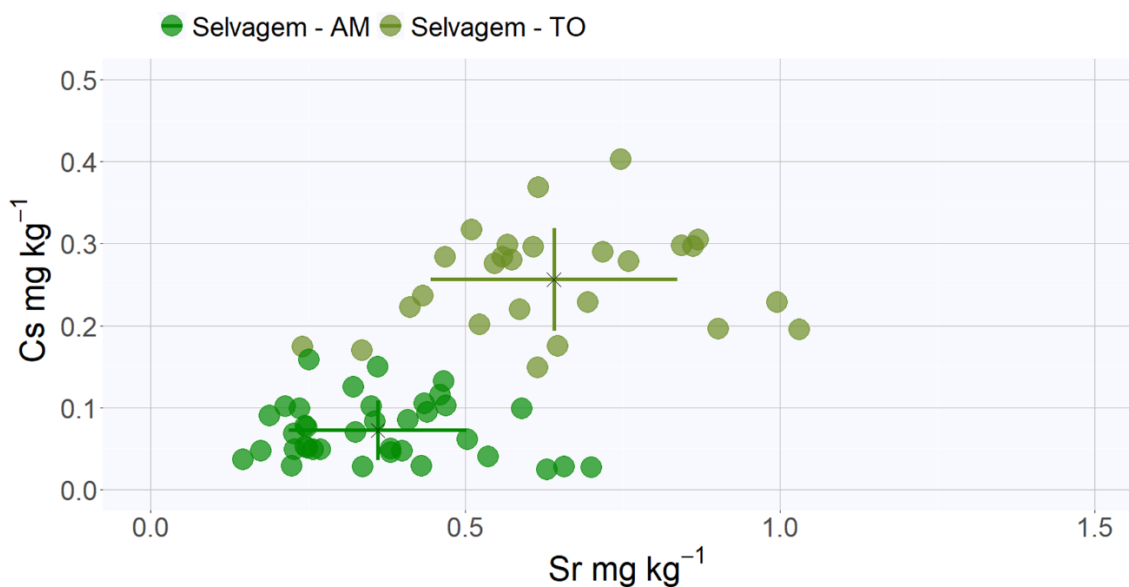


Figura 14. Distribuição dos valores de concentrações dos elementos Cs (mg kg^{-1}) e Sr (mg kg^{-1}) dos pirarucus dos grupos selvagens da Amazônia (Selvagem – AM) e selvagens da bacia do Tocantins – Araguaia (Selvagem – TO).

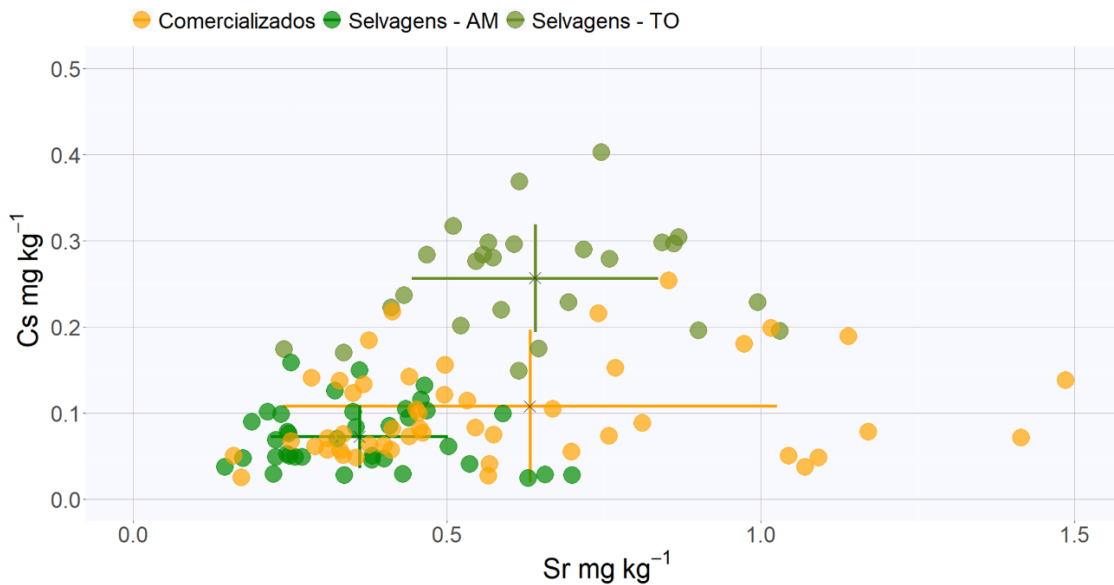


Figura 15. Distribuição dos valores de concentrações dos elementos Cs (mg kg^{-1}) e Sr (mg kg^{-1}) das amostras de pirarucus extraídos da bacia Amazônica (Selvagem – AM), extraídos da bacia do Tocantins – Araguaia e das amostras de pirarucus adquiridas de estabelecimentos comerciais do Distrito Federal (Comercializados).

Foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) com os teores dos seis elementos das amostras do conjunto de dados dos peixes das duas bacias hidrográficas para identificar tendências ou agrupamentos, além de verificar as possíveis relações entre as variáveis (figura 16).

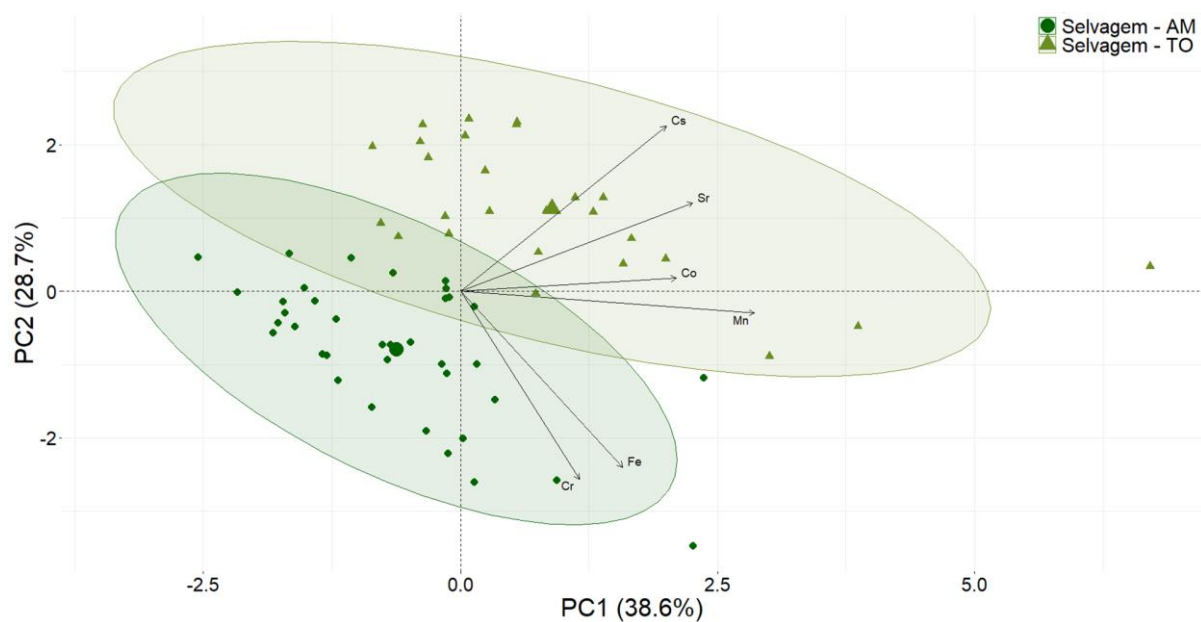


Figura 16. Análise de componentes principais (PCA) considerando a contribuição das concentrações elementares para o agrupamento dos pirarucus das duas bacias hidrográficas. Os elementos incluídos são Césio (Cs), Estrôncio (Sr), Cobalto (Co), Manganês (Mn), Ferro (Fe) e Cromo (Cr). Foram analisados os pirarucus da bacia Amazônica (Selvagem – AM) e da bacia

do Tocantins – Araguaia (Selvagem – TO). Os dois componentes principais utilizados na representação gráfica (PC1 e PC2) explicaram 67,3 % da variabilidade total.

A PCA com os resultados dos perfis elementares dos grupos de peixes selvagens resumiu 67,3 % da variabilidade total nos dois primeiros componentes (PC1: 38,6 e PC2: 28,7%). O grupo de peixes selvagens do Tocantins-Araguaia ficou mais agrupado no lado positivo do PC1, enquanto o grupo dos peixes selvagens da Amazônia ficaram mais agrupados no lado negativo. Houve uma tendência de separação entre o grupo formado por amostras de peixes selvagens da bacia do Tocantins - Araguaia (predominantemente com pontuações positivas, elipse acima e à direita) e o grupo dos peixes selvagens da bacia Amazônica (pontuações predominantemente negativas).

Uma segunda PCA foi feita integrando também as variáveis isotópicas. Os dois primeiros eixos dessa nova PCA, explicaram aproximadamente 65,7 % da variação dos perfis elementares e das razões isotópicas. O primeiro componente principal (PC1) explicou 39,6 % da variação com maiores contribuições dos perfis elementares de Cs, Sr e razões isotópicas de carbono e nitrogênio (identificadas no gráfico como D13.C e D15.N). O segundo componente resumiu 26,1 % da variação, com maiores contribuições dos elementos Fe e Cr. A discriminação entre os dois grupos de peixes selvagens ficou mais nítida e evidente como pode ser observada na figura 17.

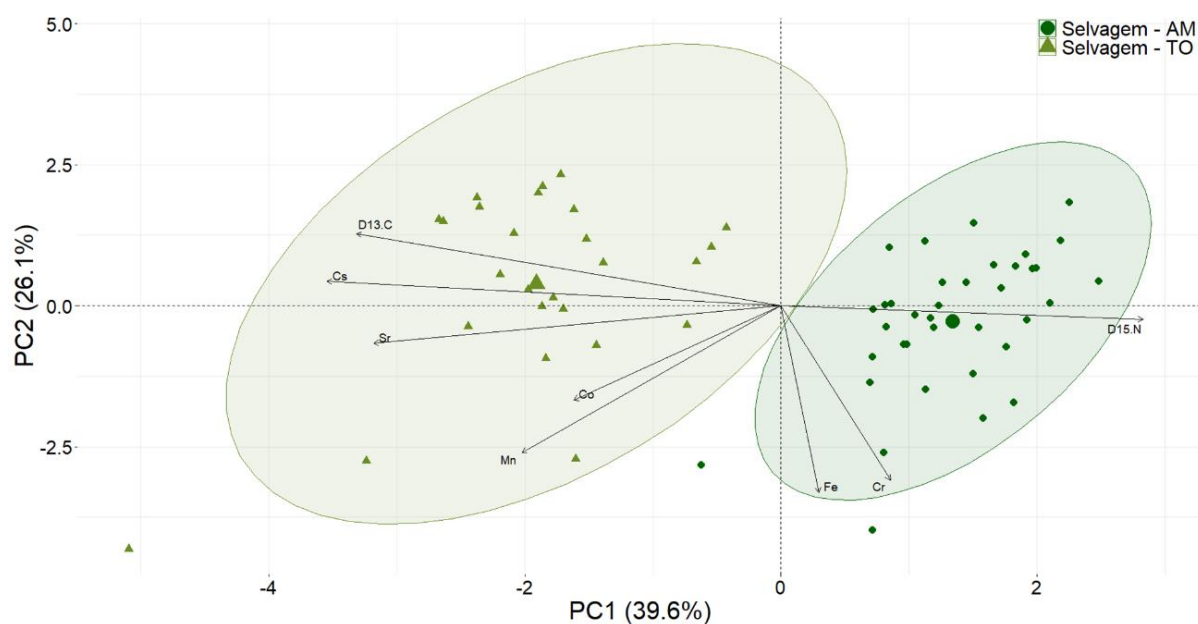


Figura 17. Análise de componentes principais (PCA) considerando a contribuição das concentrações elementares e das razões isotópicas para o agrupamento dos pirarucus das duas bacias hidrográficas. As razões isotópicas de carbono (D13.C) e nitrogênio (D15.N), além dos

elementos Césio (Cs), Estrôncio (Sr), Cobalto (Co), Manganês (Mn), Ferro (Fe) e Cromo (Cr) foram incluídos na análise. Amostras da bacia Amazônica (Selvagem – AM) foram simbolizadas pelos círculos verdes e as amostras da bacia do Tocantins – Araguaia (Selvagem – TO) foram simbolizadas pelos triângulos em verde musgo. Os dois componentes principais utilizados na representação gráfica (PC1 e PC2) explicaram 65,7 % da variabilidade total.

6. DISCUSSÃO

Várias técnicas analíticas foram desenvolvidas para diferenciar e rastrear a origem geográfica e os métodos de produção de organismos marinhos (FARABEGOLI *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2024). No entanto, poucos estudos foram aplicados na diferenciação e rastreamento de espécies de água doce (LIU *et al.*, 2020). O presente estudo é o primeiro que se destina a utilizar a combinação das análises isotópicas e elementares do tecido muscular de *Arapaima gigas* para discriminar o tipo de manejo e o local em que foi extraído. Embora as metodologias de rastreamento possam ser empregadas de forma independente, o uso de técnicas analíticas em conjunto, sobre a mesma matriz, pode contribuir para o desenvolvimento de um sistema de rastreamento e autenticação mais robusto e abrangente para caracterizar o produto pesqueiro (GOPI *et al.*, 2019b). Uma pesquisa que combinou análises isotópicas e elementares para rastrear espécies de polvos identificou corretamente as origens geográficas das espécies com uma taxa de aproximadamente 95% de acerto, com 54 das 57 amostras classificadas corretamente (MARTINO *et al.*, 2022). Essa mesma combinação de técnicas também foi utilizada para determinar a origem geográfica e o método de produção do robalo, *Lates calcarifer* (GOPI *et al.*, 2019c). Nesse caso, a análise de componentes principais (PCA) combinando os valores de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ e a abundância elementar distinguiu claramente a proveniência geográfica do robalo, mas, a análise isotópica utilizada separadamente foi mais eficaz em distinguir o método de produção.

A análise elementar foi usada com sucesso para separar os pirarucus das duas bacias hidrográficas analisadas. Mesmo havendo uma sobreposição limitada entre as elipses formadas, o resultado da PCA baseado na concentração de Cr, Mn, Sr, Cs, Fe e Co, revelou boa distinção entre os pirarucus extraídos das bacias hidrográficas do Tocantins-Araguaia e do Amazonas. Embora o modelo baseado apenas nas análises elementares tenha sido eficaz para visualização dos agrupamentos de origem, a inclusão dos dados isotópicos na análise de PCA mostrou a viabilidade da combinação de metodologias. A partir da inclusão dos dados isotópicos, os dois grupos de pirarucus selvagens ficaram em áreas diferentes do gráfico de dispersão bidimensional gerado usando a pontuação dos dois primeiros PCs. A integração dos resultados dessas técnicas melhorou a discriminação dos dois grupos de pirarucus selvagens extraídos em

diferentes bacias hidrográficas. Esses resultados sugerem que tanto as variáveis isotópicas quanto as elementares fornecem informações ecossistêmicas essenciais para distinguir entre pirarucus pescados na bacia Amazônica e os pirarucus pescados na bacia do Tocantins – Araguaia. Também por meio de combinações dos resultados das metodologias isotópicas e elementares, juntamente com métodos quimiométricos, Luo *et al.*, (2019), trabalhando com caranguejos da China, otimizaram o método de classificação preditiva para determinar a origem geográfica da espécie *Eriocheir sinensis*. Os pesquisadores alcançaram uma elevada capacidade de discriminação, obtendo uma precisão de 99,4 % na identificação da origem geográfica dos caranguejos.

Os resultados das análises elementares revelaram que o constituinte inorgânico mais prevalente encontrado nos músculos de pirarucus, de ambos os manejos e bacias hidrográficas, foi o ferro (Fe), seguido por outros metais em ordem decrescente de concentração: Fe > Cr > Mn > Sr > Cs > Co. Com exceção do cobalto (Co), os oligoelementos essenciais ferro (Fe), cromo (Cr) e manganês (Mn) foram geralmente mais abundantes que os elementos não essenciais estrôncio (Sr) e céscio (Cs). Waichman *et al.* (2024) analisaram a concentração de oligoelementos em peixes amazônicos coletados em mercados de áreas urbanas próximas à bacia Amazônica. Análogo ao nosso estudo, verificaram que o elemento Fe, seguido por Cr e Mn, também foram os mais abundantes nos músculos de pirarucus analisados. Nessa pesquisa conduzida por Waichman *et al.* (2024), as concentrações médias de Fe, Cr e Mn foram 15,48 mg.kg⁻¹, 1,8 mg.kg⁻¹ e 0,82 mg.kg⁻¹ respectivamente. Foram observados níveis de concentração relativamente semelhantes nas amostras de pirarucus selvagens coletadas na bacia Amazônica, com médias de 23 mg.kg⁻¹, 1,12 mg.kg⁻¹ e 0,70 mg.kg⁻¹ para Fe, Cr e Mn respectivamente. Para possibilitar essa comparação, um fator 4 foi usado para conversão de peso úmido para peso seco, conforme relatado por Onsanit *et al.* (2010).

Os elementos classificados como “oligoelementos essenciais” são importantes constituintes das enzimas que estão envolvidas nos processos metabólicos e bioquímicos nos organismos, sendo necessário em pequenas concentrações. Por serem considerados fundamentais na homeostase, os peixes de cultivo são suplementados com esses constituintes, os quais são adicionados às rações para melhorar o desempenho zootécnico (LALL; KAUSHIK, 2021). Isso pode explicar por que, embora a diferença não tenha sido significativa, os resultados mostraram concentrações de Cr, Co, Fe, em média maiores nos pirarucus de cultivo quando comparado com os pirarucus selvagens. Resultado semelhante foi encontrado no estudo de Hamzaçebi1 S., Öztürk F (2024), os quais observaram maiores concentrações de

Fe, Co, e Cr em corvinas (*Argyrosomus regius*) cultivadas em tanque rede e tanque escavado, em comparação com corvinas selvagens. Essa capacidade de bioacumular metais traço em relação ao ambiente, especialmente elementos essenciais, também foi observada em tambaquis criados em pisciculturas (PORTO *et al.*, 2024).

As maiores diferenças nas concentrações de elementos entre os peixes das bacias hidrográficas amazônica e do Tocantins-Araguaia foram encontradas para Cs e Sr ($p < 0,001$). Pressupõe-se que a concentração desses elementos no músculo dos peixes esteja em equilíbrio com a concentração na água (KONOVALENKO *et al.*, 2016) e isso pode ter contribuído para diferenciar os pirarucus dessas duas bacias hidrográficas cujas origens geomorfológicas são distintas. Esses elementos apresentaram a menor sobreposição das faixas de variações entre os peixes das duas bacias e uma forte correlação, conforme observado na PCA que utilizou os dados das concentrações elementares. Os peixes amazônicos apresentaram menores concentrações de Cs e Sr quando comparados com os peixes da bacia do Tocantins-Araguaia. Pesquisas anteriores indicaram que os gráficos de distribuição elementar apresentam boa capacidade preditiva na categorização da origem geográfica de produtos animais (DEHELEAN *et al.*, 2023; SQUADRONE *et al.*, 2020). Nesse sentido, ao comparar as amostras comercializadas no DF com as amostras de pirarucus selvagens das duas bacias analisadas, utilizando as concentrações de Cs e Sr, observou-se que as amostras vendidas no DF apresentaram abundâncias de Cs e Sr que se sobrepuseram mais sobre a faixa de variação dos pirarucus selvagens da Amazônia, sugerindo que essa bacia tem maior relevância no fornecimento de pirarucus para o DF.

Ao comparar os conjuntos de valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das amostras adquiridas de estabelecimentos comerciais com as assinaturas isotópicas das amostras de manejos e bacias hidrográficas conhecidas, verificou-se que as amostras comerciais exibiram grande dispersão das razões isotópicas, com poucas amostras sobrepondo-se à faixa de variação dos peixes cultivados. Nesse aspecto, as amostras comercializadas assemelharam-se mais aos peixes selvagens, tanto em relação às razões isotópicas de carbono quanto em relação às de nitrogênio. Os resultados isotópicos indicaram também que os estabelecimentos atacadistas e varejistas do DF vendem principalmente pirarucus provenientes do ambiente selvagem amazônico, grupo sob o qual houve maior sobreposição de valores isotópicos das amostras comercializadas. Os resultados isotópicos e elementares são convergentes no sentido de sugerir que a bacia Amazônica tem um papel mais significativo no fornecimento desse pescado para os estabelecimentos comerciais do Distrito Federal. Essa inferência é consistente com o estudo de

Borges (2010), o qual destaca o papel dos estados do Pará e Amazonas como principais provedores de pescados nativos para o DF.

A atual escassez de dados estatísticos sobre o setor pesqueiro brasileiro dificulta a estimativa dos impactos dessa atividade sobre a conservação das espécies aquáticas (SANTOS *et al.*, 2023). Nesse cenário, a caracterização isotópica e elementar do pirarucu vendido no DF ajuda a gerar informações para subsidiar ações de fiscalização e controle das atividades de pesca, abrangendo não apenas o local de extração ou criação do pirarucu, mas abrangendo também a cadeia de comercialização.

O grupo dos pirarucus cultivados apresentou grandes variações elementares no tecido muscular, especialmente para Cr, Co e Fe. O desvio padrão relativo (DPR) das concentrações dos elementos Cr e Fe foram maiores do que os relatados para os músculos de tambaquis cultivados em pisciculturas semi-intensivas utilizando viveiros escavados (PORTO *et al.*, 2024) e dos relatados para carpas cultivadas em tanques escavados e em tanques redes (QIN *et al.*, 2015). Considerando que as concentrações elementares são, dentre outros fatores, um reflexo da exposição ambiental (DAVIS *et al.*, 2023; VARRÀ *et al.*, 2021), era esperado menores amplitudes de variações dos teores elementares nos peixes de criatórios, pois estavam expostos à mesma fonte de água, sedimentos e alimento nos tanques. Os resultados sugerem que a concentração de oligoelementos pode estar associada a alguns fatores intrínsecos como sexo, idade, condição corpórea, tamanho e comprimento total, que também podem afetar as composições elementares (JIA *et al.*, 2017; QIN *et al.*, 2015).

Essa falta de padrão de concentração de alguns elementos nos peixes de cultivo, impactou a comparação entre os grupos de peixes de cativeiro e selvagens e pode ter comprometido a diferenciação do tipo de manejo. A não diferenciação entre cultivados e selvagens usando as abundâncias elementares é consistente com o estudo de Custódio *et al.* (2011) que não encontrou diferenças quando compararam a composição elementar do músculo de peixes selvagens e cultivados. Porém, divergiu de outro estudo, onde a composição elementar foi mais importante do que as razões isotópicas para diferenciar o tipo de manejo (GOPI *et al.*, 2019b). A identificação das fontes de variações dos elementos analisados não foi o foco principal deste estudo. Porém, para melhor fundamentar a aplicação do perfil elementar como método de proveniência dos peixes, recomenda-se que novas pesquisas sejam conduzidas para aprimorar o entendimento sobre mecanismo de absorção, discriminação e incorporação desses compostos químicos nos tecidos dos peixes.

As assinaturas isotópicas dos pirarucus pescados nos rios e os cultivados nos tanques de pisciculturas foram significativamente diferentes ($p < 0,05$). Essa discrepância está associada às distintas razões isotópicas dos componentes alimentares assimilados nesses ambientes. Parte dessa diferença pode ser atribuída ao contraste entre as fontes basais de carbono dos alimentos, o que levou à separação completa entre os grupos selvagens e cultivados com base nos valores de $\delta^{13}\text{C}$. Destacadamente, no ambiente de cultivo as rações comerciais para nutrição dos peixes contêm grãos de cereais C_4 , como o milho, cujo $\delta^{13}\text{C}$ é aproximadamente $-14,3\text{‰}$. Esses grãos são fonte de energia e proteína digestível de baixo custo, compondo grande parte da matéria-prima utilizada na fabricação de rações comerciais destinadas ao cultivo de pirarucus (DOS SANTOS-CIPRIANO *et al.*, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2019). Considerando que os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos tecidos do consumidor são geralmente semelhantes aos de suas dietas (DENIRO; EPSTEIN, 1981), podemos inferir que a dieta comercial contribuiu, predominantemente, para as assinaturas isotópicas dos peixes cativos. Isso explica os valores menos negativos de $\delta^{13}\text{C}$ nos músculos dos pirarucus cultivados, cuja média foi $-17,3\text{‰}$, contrastando com os pirarucus selvagens, média de $-31,6\text{‰}$. Quanto às razões isotópicas de nitrogênio, as diferenças relacionadas ao manejo, demonstraram que os peixes de cativeiro também podem ter sido afetados pela proporção e pelo tipo de ingredientes presentes na ração fornecida. Atualmente as rações estão incorporando ingredientes alternativos à base de plantas, em substituição à farinha de peixe que já foi largamente empregada, mas atualmente teve seu uso diminuído devido à limitação na oferta desse recurso (LALL; KAUSHIK, 2021). Nesse contexto, as rações comerciais destinadas à criação de peixes carnívoros no Brasil incluíram o amido de milho e o farelo de soja entre os principais componentes proteicos. Isso se deve, em parte, à grande oferta desses subprodutos agrícolas e, no caso do pirarucu, à boa digestibilidade desses ingredientes (RODRIGUES *et al.*, 2019). As diferenças nos valores isotópicos das fontes proteicas que compõem a dieta de peixes foram evidenciadas em um estudo realizado com truta arco-íris em cativeiro. Nesse estudo ficou demonstrado que as trutas alimentadas com proteína vegetal à base de glúten de trigo ($\delta^{15}\text{N} = 1,8\text{‰}$) e concentrado de ervilha ($\delta^{15}\text{N} = 0,6\text{‰}$) apresentaram menores valores de $\delta^{15}\text{N}$ muscular ($\delta^{15}\text{N} = 7,1\text{‰}$) em comparação com aquelas trutas alimentadas com farinha de peixe ($\delta^{15}\text{N} = 10,6\text{‰}$) e tiveram as razões isotópicas maiores ($\delta^{15}\text{N} = 12,3\text{‰}$) (MORENO-ROJAS *et al.*, 2008). Em nosso estudo, o amido de milho e o farelo de soja estão listados no rótulo da ração ofertada em uma das pisciculturas amostradas. A assimilação metabólica do nitrogênio oriundo das proteínas vegetais encontradas na ração possivelmente refletiu nos menores valores de $\delta^{15}\text{N}$ muscular dos pirarucus de cultivo.

Os pirarucus do ambiente natural alimentam-se de uma grande variedade de presas. Durante a fase juvenil, eles se alimentam de insetos, crustáceos, moluscos e peixes dos lagos, rios e áreas alagadas e, durante a fase adulta, consomem principalmente peixes (CARVALHO *et al.*, 2018). A análise do conteúdo estomacal e a análise isotópica das presas consumidas indicaram que o pirarucu no ambiente natural não se alimenta predominantemente de presas piscívoras, mas de uma variedade de presas de baixo nível trófico (presas onívoras, algívoras e detritívoras) (WATSON; STEWART; TEECE, 2013). Essa heterogeneidade de presas também foi relatada por Jacobi *et al.* (2020a) que detectaram nos estômagos dos pirarucus principalmente peixes onívoros (44% dos estômagos analisados), carnívoros (33% dos estômagos analisados) e detritívoros (19% dos estômagos analisados). No ambiente natural, essa combinação de alimentos, de níveis tróficos possivelmente superiores aos ingredientes encontrados nas rações, pode ter elevado o $\delta^{15}\text{N}$ muscular dos pirarucus selvagens, considerando que a abundância de ^{15}N dos consumidores reflete o $\delta^{15}\text{N}$ de suas presas e é enriquecida em aproximadamente 3,4 ‰ a cada nível trófico (HUSSEY *et al.*, 2014; POST, 2002).

A incorporação por *Arapaimas* selvagens dessa dieta diversificada, baseada no consumo de alimentos com variados níveis tróficos, também tem reflexos na amplitude de variação isotópica. Isso pode ter contribuído para uma maior faixa de variação das assinaturas isotópicas de carbono e nitrogênio dos pirarucus selvagens.

Essa alimentação heterogênea do ambiente natural, contrasta com a fornecida no ambiente de cultivo, onde geralmente os peixes recebem uma alimentação constante em termos de quantidade e composição, visando garantir a uniformidade do plantel e promover um aumento na taxa de crescimento (LIMA, 2020). A tendência é que os peixes cativos analisados tenham recebido uma dieta mais homogênea, o que explica a variação mais estreita dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$.

Em um trabalho anterior envolvendo a espécie *Pseudoplatystoma fasciatum*, peixe popularmente conhecido como “cachara”, também foi empregada análises isotópicas para diferenciar os tipos de manejo. Esse estudo encontrou diferenças significativas nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ entre indivíduos cultivados e selvagens (SANT’ANA; DUCATTI; RAMIRES, 2010). No caso dessa espécie, o estudo demonstrou que os peixes cultivados exibiram maiores razões isotópicas de carbono e menores razões isotópicas de nitrogênio. Conseqüentemente, os peixes selvagens apresentaram menores razões isotópicas de carbono e maiores razões

isotópicas de nitrogênio. Esse padrão assemelha-se ao observado na comparação dos pirarucus selvagens e cultivados analisados em nossa pesquisa.

Alguns trabalhos descritos na literatura utilizaram análises isotópicas do tecido muscular de pirarucus selvagens da bacia Amazônica em investigações sobre a ecologia trófica dessa espécie (CARVALHO *et al.*, 2018; JACOBI *et al.*, 2020b; WATSON; STEWART; TEECE, 2013). Mas, nenhum estudo descrevendo as razões isotópicas de pirarucus de cultivo ou de pirarucus da bacia do Tocantins-Araguaia foi relatado até o momento. Em nosso estudo, as médias das razões isotópicas de carbono ($-33,3 \pm 1,5 \text{ ‰}$) e nitrogênio ($+9,4 \pm 0,9 \text{ ‰}$) dos pirarucus selvagens da Amazônia foram similares às registradas por Carvalho *et al.* (2018), que encontraram $-32,4 \pm 1,1 \text{ ‰}$ e $+9,7 \pm 0,56 \text{ ‰}$ respectivamente. Esses valores também se equipararam aos obtidos por (JACOBI *et al.*, 2020b), que relataram uma média de $9,6 \pm 0,7 \text{ ‰}$ para as razões isotópicas de nitrogênio também em músculo de pirarucus amazônicos.

Os resultados das análises isotópicas de carbono e nitrogênio, avaliadas em conjunto, foram capazes de segregar as amostras dos dois grupos de pirarucus selvagens do Amazonas e do Tocantins-Araguaia. A separação deveu-se principalmente pelas razões isotópicas de carbono, que exibiram maiores diferenças e pouca sobreposição entre as faixas de variações. Nesse contexto, os peixes coletados na bacia hidrográfica do Tocantins Araguaia apresentaram, em média, valores ligeiramente mais positivos para as razões isotópicas de carbono, ao passo que exibiram menores valores isotópicos de nitrogênio. Essas diferenças sugerem que os peixes das duas regiões exploram recursos alimentares diversos, mas, possivelmente, de mesmas fontes basais de carbono.

As amostras adquiridas de estabelecimentos comerciais apresentaram valores isotópicos que não se sobrepuseram às variações dos pirarucus selvagens e dos pirarucus cultivados utilizados como referência no nosso estudo. Sob essa perspectiva, o grupo de amostras de pirarucus coletados em estabelecimentos comerciais apresentou em média maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ e alguns valores de $\delta^{13}\text{C}$ intermediários, entre os valores isotópicos dos pirarucus selvagens e cultivados. Isso torna a classificação desses peixes desafiadora. É importante destacar que as amostras utilizadas como referência para compararmos os tipos de bacias englobaram poucos locais da área de distribuição natural da espécie. Ademais, no atual estudo, as amostras de peixes cativos são provenientes apenas de sistemas intensivos de criação. Nesse sentido, valores isotópicos intermediários, superiores ou inferiores podem estar relacionados a outros sistemas de produção ou origens geográficas não amostradas. Novas amostras podem ser coletadas de diferentes sistemas de produção de pirarucus de cultivo. Além disso, pontos

adicionais nas duas bacias hidrográficas podem amostrados. Essas medidas podem ser incorporadas em estudos futuros para aperfeiçoar a estruturação de perfis isotópicos e elementares de pirarucus selvagens e cultivados. Adicionalmente, os perfis isotópicos e elementares das amostras do presente trabalho poderão ser úteis para construção de um banco de dados mais robusto. Por meio de um conjunto de dados isotópicos e elementares mais abrangente, é possível desenvolver um modelo de classificação preditiva para estabelecer a proveniência dessa espécie em diferentes contextos.

7. CONCLUSÃO

Com base nas razões isotópicas de carbono e nitrogênio, juntamente com os valores das concentrações elementares, foi possível diferenciar entre os pirarucus de cultivo e os selvagens, assim como entre e os pirarucus das bacias hidrográficas Amazônica e Tocantins-Araguaia. Essa distinção decorreu das diferentes condições ambientais a que esses pirarucus estão expostos e às diferenças nos recursos alimentares consumidos por esses peixes, tanto no ambiente de cultivo quanto no habitat das duas bacias hidrográficas.

As análises isotópicas de carbono e nitrogênio separaram os grupos de peixes dos dois tipos de manejos e os pirarucus das duas bacias. Comparando as duas metodologias analíticas utilizadas para diferenciar o manejo, a análise isotópica foi mais eficiente para diferenciar os pirarucus cultivados dos pirarucus selvagens. Essas diferenças refletem os hábitos alimentares dos pirarucus selvagens, que se alimentam de outros peixes de diferentes níveis tróficos, e o manejo alimentar no cativeiro, que tem uma influência marcante das rações comerciais que utilizam ingredientes vegetais com valores menos negativos de $\delta^{13}\text{C}$ e menores valores de $\delta^{15}\text{N}$. Observou-se uma menor variação nas razões isotópicas nos pirarucus cultivados, refletindo um tipo de manejo caracterizado por uma alimentação regular e uniforme, em contraste com uma disponibilidade e diversidade alimentar heterogênea dos habitats naturais amostrados.

As concentrações elementares dos músculos de pirarucus cultivados variaram consideravelmente, o que contribuiu para a não diferenciação entre os grupos de pirarucus cultivados e selvagens. As maiores concentrações elementares encontradas em ambos manejos e origens foram de oligoelementos essenciais. Comparando os pirarucus das duas bacias, a proporção dos minerais Fe, Cr, Cs, Sr e Co foram significativamente diferentes, com destaque para o Cs e o Sr que tiveram maiores diferenças e menores sobreposições das variações, contribuindo de maneira relevante para distinção das origens. A análise de componentes principais utilizando apenas as concentrações multielementares dos pirarucus, discriminou de

forma eficaz os pirarucus das duas bacias. A PCA englobando os resultados das análises elementares e os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ampliou essa capacidade de separar os grupos de pirarucus das bacias hidrográficas, demonstrando o sinergismo entre as duas ferramentas analíticas para diferenciar as amostras das duas bacias hidrográficas em que essa espécie está distribuída.

Embora as análises tenham sido eficazes na distinção dos manejos e bacias hidrográficas, a metodologia precisa ser tratada com cautela, especialmente devido às grandes variações isotópicas e elementares encontradas nas amostras adquiridas de estabelecimentos comerciais do DF. Essas amostras tiveram pouca sobreposição sobre as assinaturas isotópicas e os perfis elementares dos grupos de pirarucus cultivados e selvagens de referência conhecida, o que tornou desafiador determinar a origem e o manejo dessas amostras desconhecidas. Mesmo diante dessa dificuldade, tanto as análises combinadas de carbono e nitrogênio quanto as análises de concentração de Cs e Sr indicaram uma maior sobreposição das amostras do DF com as amostras de pirarucus selvagens da Amazônia, revelando uma possível predominância desse tipo de origem e manejo para as amostras de pirarucus comercializados no DF.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dadas as dificuldades em se combater a pesca e o comércio ilegal do pirarucu, os esforços para controlar essas atividades ilícitas perpassam pelas ações de desenvolvimento e aprimoramento de métodos eficazes para identificar e rastrear a proveniência desses produtos. Nesse processo de desenvolvimento e aprimoramento de ferramentas para esse fim, a análise isotópica e a análise elementar por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado foram eficientes para diferenciar o manejo e a bacia hidrográfica das amostras de pirarucus, demonstrando a viabilidade do uso dos perfis elementares e assinaturas isotópicas como marcadores de origem e de manejo dos pirarucus. Os resultados das duas análises combinados revelaram o potencial dessas ferramentas para determinar a proveniência dessa espécie.

Os valores isotópicos e elementares intermediários, que não se sobrepuseram às variações dos conjuntos amostrais de origens e manejos conhecidos, possivelmente seriam de pirarucus criados em sistemas de manejo alimentar misto, uso combinando de alimentação com ração e suplementação com peixes de diferentes níveis tróficos, o que contrasta com os peixes amostrados, alimentados exclusivamente com rações comerciais ou baseada apenas em presas dos ambientes naturais. Peixes provenientes de outros rios e cultivados em áreas não amostradas

também podem ser representantes desse conjunto de pirarucus com valores intermediários, uma vez que não foram coletados pirarucus de referência cultivados na região amazônica ou pirarucus selvagens originários de outros tributários das duas bacias que apresentam características geomorfológicas distintas. Para melhorar a caracterização dos pirarucus comercializados no DF, amostras coletadas ao longo de outros rios deverão ser analisadas, assim como mais amostras suficientemente dispersas da bacia hidrográfica do Tocantins- Araguaia e da bacia Amazônica, bem como amostras de outros métodos de produção, incluindo sistemas semi-intensivos e extensivos. Com o aumento do número de amostras de pirarucu espacialmente dispersas, provavelmente os testes de atribuição geográfica usando análises quimiométricas poderão ser feitos, melhorando assim o potencial de rastreabilidade do pirarucu. Essa aplicação das análises isotópicas e elementares combinadas com um método quimiométrico adequado para classificar as amostras do DF será objeto de uma publicação futura.

Independentemente deste potencial aumento do esforço amostral, o uso combinado da análise elementar e isotópica mostrou-se uma ferramenta capaz de auxiliar no combate da pesca ilegal assim como ser uma aliada no fortalecimento de ações de conservação do pirarucu, contribuindo significativamente para a sustentabilidade e preservação da espécie. Considerando a importância do pirarucu no comércio internacional e a necessidade de promover práticas sustentáveis na exploração dos recursos pesqueiros, iniciativas conjuntas entre o Serviço Florestal dos Estados Unidos e a Universidade de Brasília estão em curso para caracterizar os pirarucus de comunidades ribeirinhas que praticam pesca de manejo sustentável na bacia Amazônica. O objetivo é aplicar as metodologias analíticas desenvolvidas neste estudo para prever com precisão a origem dos pirarucus comercializados, diferenciando os provenientes do manejo sustentável dos demais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADHIKARI, S. *et al.* Metal concentrations in water, sediment, and fish from sewage-fed aquaculture ponds of Kolkata, Índia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 159, n. 1–4, p. 217–230, 2009.
- AFFONSO, A. G.; QUEIROZ, H. L.; NOVO, E. M. L. de M. Limnological characterization of floodplain lakes in Mamirauá Sustainable Development Reserve, Central Amazon (Amazonas State, Brazil). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 23, n. 1, p. 95–108, 2011.
- AGNEW, D. J. *et al.* Estimating the worldwide extent of illegal fishing. **PLoS ONE**, v. 4, n. 2, e4570, 2009.
- ALASALVAR, C. *et al.* Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. **Food Chemistry**, v. 79, n. 2, p. 145–150, 2002.
- ANDERSON, K. A.; HOBBIE, K. A.; SMITH, B. W. Chemical profiling with modeling differentiates wild and farm-raised salmon. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 22, p. 11768–11774, 2010.
- AQUINO, S.; LATRUBESSE, E. M.; DE SOUZA FILHO, E. E. Relationship between hydrology and aquatic ecosystems in the Araguaia river floodplain. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 30, n. 4, p. 361–369, 2008.
- ARDURA, A. *et al.* Application of barcoding to Amazonian commercial fish labelling. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1549–1552, 2010.
- BARD, J.; IMBIRIBA, E. P. **A Piscicultura do pirarucu, *Arapaima gigas***. Embrapa - CPATU, p. 1-17, 1986.
- BARTON, M. B. *et al.* Experimental determination of tissue turnover rates and trophic discrimination factors for stable carbon and nitrogen isotopes of Arctic Sculpin (*Myoxocephalus scorpioides*): A common Arctic nearshore fish. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 511, p. 60–67, 2019.
- BORGES, A. M, 2010. **O mercado do pescado em Brasília**. Proyecto Mejoramiento del acceso a los mercados de productos pesqueros y acuícolas de la Amazonia. Infopesca, 2010. p. 111.
- BROWN, R. J. C.; MILTON, M. J. T. Analytical techniques for trace element analysis: An overview. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 3, p. 266–274, 2005.
- BURRIDGE, L. *et al.* Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306, p. 7–23, 2010.

- CALEGARI, B. B. *et al.* DNA barcode authentication reveals highly fraudulent Cod commerce in Porto Alegre, Brazil. **Forensic Science International: Reports**, v. 2, p. e100072, 2020.
- CARVALHO, D. C. *et al.* DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. **Mitochondrial DNA Part A: Mapping, Sequencing, and Analysis**, v. 22, p. 97–105, 2011.
- CARVALHO, F. *et al.* Trophic Ecology of *Arapaima* sp. in a ria lake—river—floodplain transition zone of the Amazon. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 27, n. 1, p. 237–246, 2018.
- CASTELLO, L. Lateral migration of *Arapaima gigas* in floodplains of the Amazon. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 17, n. 1, p. 38–46, 2008.
- CASTELLO, L. *et al.* Understanding fishing-induced extinctions in the Amazon. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 25, p. 587–598, 2014.
- CASTELLO, L.; STEWART, D. J. Assessing CITES non-detriment findings procedures for *Arapaima* in Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 1, p. 49–56, 2010.
- CASTELLO, L.; STEWART, D. J.; ARANTES, C. C. Modeling population dynamics and conservation of *Arapaima* in the Amazon. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 21, n. 3, p. 623–640, 2011.
- CAVERO, B. A. S. *et al.* Stocking density effect on growth homogeneity of juvenile pirarucu in confined environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 103–107, 2003.
- CAVOLE, L. M.; ARANTES, C. C.; CASTELLO, L. How illegal are tropical small-scale fisheries? An estimate for *Arapaima* in the Amazon. **Fisheries Research**, v. 168, p. 1–5, 2015.
- CITES. **World Wildlife Trade Report 2022**. Geneva: Secretariat of the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), 2022.
- CHAGAS, A. T. A. *et al.* Illegal hunting and fishing in Brazil: A study based on data provided by environmental military police. **Natureza e Conservacao**, v. 13, n. 2, p. 183–189, 2015.
- CHAGURI, M. P. *et al.* Chemometrics tools to distinguish wild and farmed meagre (*Argyrosomus regius*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, p. e13312, 2017.
- CHUAYSI, B.; KIATTISIN, S. Fishing Vessels Behavior Identification for Combating IUU Fishing: Enable Traceability at Sea. **Wireless Personal Communications**, v. 115, n. 4, p. 2971–2993, 2020.
- COOKE, S. J. *et al.* Towards vibrant fish populations and sustainable fisheries that benefit all: learning from the last 30 years to inform the next 30 years. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 33, p. 317–347, 2023.

- CODEPLAN. Companhia de Planejamento do Distrito Federal. **Pesquisa Distrital por Amostra de Domicílios (PDAD) - 2021**. Relatório CODEPLAN. Brasília: CODEPLAN, 2021. Disponível em: <https://www.codeplan.df.gov.br/pdad/>. Acesso em 30 de janeiro de 2024.
- CRESCÊNCIO, R. *et al.* Influência do período de alimentação no consumo e ganho de peso do pirarucu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 12, p. 1217–1222, 2005.
- CURRÒ, S. *et al.* The globalized fish Industry: Employing DNA-barcoding and NIRS technology to combat counterfeiting and safeguard traditional agro-food products. **Food Control**, v. 158, p. 110246, 2024.
- CUSTÓDIO, P. *et al.* Comparative study of elemental content in farmed and wild life Sea Bass and Gilthead Bream from four different sites by FAAS and EDXRF. **Food Chemistry**, v. 124, p. 367–372, 2011.
- DAGOSTA, F. C. P.; PINNA, M. De. The Fishes of the Amazon: Distribution and Biogeographical Patterns, with a Comprehensive List of Species. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 431, p. 1–163, 2019.
- DAVIS, R. *et al.* The role of species and geography in the elemental profiles of farm-raised shrimp from Indonesia. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 6, p. 15830–15841, 2023.
- DEHELEAN, A. *et al.* Influence of Geographical Origin on Isotopic and Elemental Compositions of Pork Meat. **Foods**, v. 12, n. 23, p. 4271, 2023.
- DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 45, n. 3, p. 341–351, 1981.
- DOS SANTOS-CIPRIANO, F. *et al.* Apparent digestibility of energetic ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 43, n. 4, p. 786–791, 2015.
- DOS SANTOS FOGAÇA, F. H. *et al.* Rendimento e composição do filé de pirarucu em diferentes classes de peso. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 95–99, 2011.
- DUCATTI, C. Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1–10, 2007.
- FALLAH, A. A. *et al.* Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. **Microchemical Journal**, v. 98, n. 2, p. 275–279, 2011.
- FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v. 40. p. 503-537, 1989.

- FAO. Food And Agriculture Organization of The United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. 2022.
- FARABEGOLI, F. *et al.* Toward the Authentication of European Sea Bass Origin through a Combination of Biometric Measurements and Multiple Analytical Techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 26, p. 6822–6831, 2018.
- FERRARIS JR., C.J. Arapaimidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JR, C.J. (Eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. EDIPUCRS, Porto Alegre, 2003, p. 31.
- FERREIRA, E. *et al.* A ictiofauna do Parque Estadual do Cantão, Estado do Tocantins, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 2, p. 277–284, 2011.
- FROESE, R. Keep it simple: Three indicators to deal with overfishing. **Fish and Fisheries**, v. 5, n. 1, p. 86–91, 2004.
- GARCIA, A. *et al.* Patterns of commercial fish landings in the Loreto region (Peruvian Amazon) between 1984 and 2006. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 53–67, 2009.
- GATLIN, D. M. *et al.* Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 551–579, 2007.
- GODINHO, H. P. *et al.* Gonadal morphology and reproductive traits of the Amazonian fish *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Acta Zoologica**, v. 86, n. 4, p. 289–294, 2005.
- GOPI, K. *et al.* Combined use of stable isotope analysis and elemental profiling to determine provenance of black tiger prawns (*Penaeus monodon*). **Food Control**, v. 95, p. 242–248, 2019a.
- GOPI, K. *et al.* Determining the provenance and authenticity of seafood: A review of current methodologies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 91, p. 294–304, 2019b.
- GOPI, K. *et al.* Isotopic and elemental profiling to trace the geographic origins of farmed and wild-caught Asian seabass (*Lates calcarifer*). **Aquaculture**, v. 502, p. 56–62, 2019c.
- HAMZAÇEBI, S.; ÖZTÜRK, F. Do the nutrient compositions and mineral matter contents of meagre (*Argyrosomus regius*) vary depending on the rearing environment. **International journal of oceanography and hydrobiology**, v. 53, n. 1, p. 1–6, 2024.
- HAN, C. *et al.* Assessment of elemental profiling combined with chemometrics for authenticating the geographical origins of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Food Control**, v. 130, p. 108231, 2021a.
- HAN, C. *et al.* Assessment of phospholipid fatty acid profiles for discrimination of salmonids cultured in freshwater and seawater. **Food Control**, v. 120, p. 107493, 2021b.

- HAN, C. *et al.* Current progress in the authentication of fishery and aquatic products using multi-element and stable isotope analyses combined with chemometrics. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 4, p. 2023-2037, 2022.
- HAN, C. *et al.* The effect of the seasons on geographical traceability of salmonid based on multi-element analysis. **Food Control**, v. 109, p. 106893, 2020.
- HERCOS, A. P. *et al.* Checklist of the ichthyofauna of Mamirauá Sustainable Development Reserve, Middle Solimões, Amazonas, Brazil: high richness in a large protected area of Western-Central Amazonia. **Biota Neotropica**, v. 21, n. 4, 2021.
- HRBEK, T.; CROSSA, M.; FARIAS, I. P. Conservation strategies for *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) and the Amazonian várzea ecosystem. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, p. 909–917, 2007.
- HUSSEY, N. E. *et al.* Rescaling the trophic structure of marine food webs. **Ecology Letters**, v. 17, n. 2, p. 239–250, 2014.
- IKEM, A.; EGILLA, J. Trace element content of fish feed and bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) from aquaculture and wild source in Missouri. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 301–309, 2008.
- JACOBI, C. *et al.* Feeding of *Arapaima* sp.: integrating stomach contents and local ecological knowledge. **Journal of Fish Biology**, v. 97, n. 1, p. 265–272, 2020a.
- JACOBI, C. *et al.* Uncertainties associated with trophic discrimination factor and body size complicate calculation of $\delta^{15}\text{N}$ -derived trophic positions in *Arapaima* sp. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 29, n. 4, p. 779–789, 2020b.
- JIA, Y. *et al.* Effects on heavy metal accumulation in freshwater fishes: species, tissues, and sizes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 10, p. 9379–9386, 2017.
- JUNK, W. J. *et al.* A classification of major naturally-occurring amazonian lowland wetlands. **Wetlands**, v. 31, n. 4, p. 623–640, 2011.
- KELLY, S.; HEATON, K.; HOOGEWERFF, J. Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, n. 12, p. 555–567, 2005.
- KIM, H.; SURESH KUMAR, K.; SHIN, K. H. Applicability of stable C and N isotope analysis in inferring the geographical origin and authentication of commercial fish (Mackerel, Yellow Croaker and Pollock). **Food Chemistry**, v. 172, p. 523–527, 2015.
- LALL, S. P.; KAUSHIK, S. J. Nutrition and metabolism of minerals in fish. **Animals**, v. 11, n. 9, p. 2711, 2021.
- LATRUBESSE, E. M.; STEVAUX, J. C. Geomorphology and environmental aspects of the Araguaia fluvial basin, Brazil. **Zeitschrift für Geomorphologie**, Supplementband, v. 129, p. 109–127, 2002.

- LAVILLA, I.; COSTAS-RODRÍGUEZ, M.; BENDICHO, C. Authentication of fishery products. In: G. Miguel de la & G Ana (Eds) **Comprehensive Analytical Chemistry** [S.l.]: Elsevier, 2013. v. 60, p. 657–717.
- LEAL, M. C. *et al.* Seafood traceability: Current needs, available tools, and biotechnological challenges for origin certification. **Trends in Biotechnology**, v. 33, n. 6, p. 331–336, 2015.
- LI, L. *et al.* Identification of Ictalurid Catfish Fillets to Rearing Location Using Elemental Profiling. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 44, n. 3, p. 405–414, 2013.
- LI, L.; BOYD, C. E.; SUN, Z. Authentication of fishery and aquaculture products by multi-element and stable isotope analysis. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1238–1244, 2016.
- LIDDICK, D. The dimensions of a transnational crime problem: the case of IUU fishing. **Trends in Organized Crime**, v. 17, n. 4, p. 290–312, 2014.
- LIMA, A. F. Effect of size grading on the growth of pirarucu *Arapaima gigas* reared in earthen ponds. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 48, n. 1, p. 38–46, 2020.
- LIMA, A. F.; TAVARES-FILHO, A.; MORO, G. V. Natural food intake by juvenile *Arapaima gigas* during the grow-out phase in earthen ponds. **Aquaculture Research**, v. 49, p. 2051–2058, 2018.
- LIU, Z. *et al.* Differentiating wild, lake-farmed and pond-farmed carp using stable isotope and multi-element analysis of fish scales with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 328, p. 127115, 2020.
- LIU, Y. *et al.* Prediction of chemical composition and geographical origin traceability of Chinese export tilapia fillets products by near infrared reflectance spectroscopy. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 1214–1218, 2015.
- LUO, R. *et al.* Determination of geographic origin of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) using integrated stable isotope and multi-element analyses. **Food Chemistry**, v. 274, p. 1–7, 2019.
- LUTZ, Í. *et al.* A multiplex PCR forensic protocol for the molecular certification of sea catfishes (Ariidae – Siluriformes) from coastal Amazon, Brazil. **Microchemical Journal**, v. 195, p. 109417, 2023.
- LORENTZEN, M.; MAAGE, A. Trace element status of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L fed a fish-meal based diet with or without supplementation of zinc, iron, manganese and copper from first feeding. **Aquaculture Nutrition**, v. 5, p. 163-171, 1995.
- MAPA. Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários, Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA), Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, Mapa/ACS, 2011, 72 p.

- MARTINO, J. C. *et al.* Tracking the provenance of octopus using isotopic and multi-elemental analysis. **Food Chemistry**, v. 371, p. 131133, 2022.
- MARTINS, V. S. *et al.* Floristic Composition of Two Wetland Forests in Araguaian Plain, State of Tocantins, Brazil. **Revista Árvore**, v. 32, n. 1, p. 129–141, 2008.
- MATHEWS, T.; FISHER, N. S. Trophic transfer of seven trace metals in a four-step marine food chain. **Marine Ecology Progress Series**, v. 367, p. 23–33, 2008.
- MCCALLUM, C. S. *et al.* Consumers' responses to food fraud risks: An economic experiment. **European Review of Agricultural Economics**, v. 49, n. 4, p. 942–969, 2022.
- MIQUELEIZ, I. *et al.* Conservation-status gaps for marine top-fished commercial species. **Fishes**, v. 7, n. 1, p. e103390, 2022.
- MOLKENTIN, J. *et al.* Traceability of organic fish - Authenticating the production origin of salmonids by chemical and isotopic analyses. **Food Control**, v. 53, p. 55–66, 2015.
- MORENO-ROJAS, J. M. *et al.* Stable isotope ratio analysis as a tool to discriminate between rainbow trout (*O. mykiss*) fed diets based on plant or fish-meal proteins. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 22, n. 23, p. 3706–3710, 2008.
- ONSANIT, S. *et al.* Trace elements in two marine fish cultured in fish cages in Fujian province, China. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1334–1342, 2010.
- ORTEA, I.; GALLARDO, J. M. Investigation of production method, geographical origin and species authentication in commercially relevant shrimps using stable isotope ratio and/or multi-element analyses combined with chemometrics: An exploratory analysis. **Food Chemistry**, v. 170, p. 145–153, 2015.
- PEDROZA-FILHO, M. X. *et al.* **Panorama da cadeia produtiva do pirarucu**. CNA - Ativos da Aquicultura, Ano 2, n. 8, 2016. p. 4.
- PEIXE BR. **Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixe BR 2023**. Associação Brasileira de Piscicultura. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario/>. Acesso em 23 de novembro de 2023.
- PELICICE, F. M. *et al.* Large-scale Degradation of the Tocantins-Araguaia River Basin. **Environmental Management**, v. 68, n. 4, p. 445–452, 2021.
- PELICICE, F. M. *et al.* Neotropical freshwater fishes imperilled by unsustainable policies. **Fish and Fisheries**, v. 18, n. 6, p. 1119–1133, 2017.
- PEREIRA-FILHO, M. *et al.* PIRARUCU (*Arapaima gigas*). In: BALDISSEROTTO, B.(org). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 3ª edição. Santa Maria: UFSM, 2020, p. 17-48. *e-book*.
- PEREIRA, L. A. *et al.* Commercial traceability of *Arapaima* spp. fisheries in the Amazon basin: Can biogeochemical tags be useful. **Biogeosciences**, v. 16, n. 8, p. 1781–1797, 2019.

- PORTO, E. *et al.* Trace metal biomonitoring in the farming of tambaqui (*Colossoma macropomum*), an Amazonian neotropical fish. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, p. 7664-7679, 2024.
- POST, D. M. Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. **Ecology**, v. 83, n. 3, p. 703–718, 2002.
- QIN, D. *et al.* Determination of 28 trace elements in three farmed cyprinid fish species from Northeast China. **Food Control**, v. 50, p. 1–8, 2015.
- RAMALHO, E. E. *et al.* Ciclo Hidrológico Nos Ambientes De Várzea Da Reserva De Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – Médio Rio Solimões, Período De 1990 a 2008. **Uakari**, v. 5, n. 1, p. 61–87, 2009.
- RAMOS, A. M. J. *et al.* Starchy plant ingredients in pirarucu (*Arapaima gigas*) feeds: Utilization potential based on apparent digestibility and starch microstructure. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 11, p. 4128–4140, 2022.
- RAZALI, N. S. *et al.* Mislabeled frozen fish fillets in the Klang Valley in Malaysia and its potential impact on consumers. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v. 17, n. 2, p. 145–154, 2022.
- REBELATTO JUNIOR, I. A. *et al.* **Reprodução e engorda do pirarucu**: levantamento de processos produtivos e tecnologias. 1ª edição. Brasília: Embrapa, 2015, 102 p.
- REJAS, D. *et al.* The introduced *Arapaima gigas* in the Bolivian Amazon: Trophic position and isotopic niche overlap with native species. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 32, n. 4, p. 926–937, 2023.
- RICHARD, J. C. *et al.* Size-structured habitat selection by arapaima in floodplain lakes of the Lower Amazon. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 28, p. 1403–1413, 2018.
- REZENDE, F. P. *et al.* Effect of pond fertilization on growth performance of pirarucu (*Arapaima gigas*) during grow-out phase. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 50, n. 1, p. 22–30, 2022.
- RODRIGUES, A. P. O. *et al.* Apparent digestibility coefficients of selected protein ingredients for pirarucu *Arapaima gigas* (Teleostei: Osteoglossidae). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 47, n. 2, p. 310–317, 2019.
- RUFFINO, M. L. Status and trends of the fishery resources of the Amazon Basin in Brazil. **Inland fisheries evolution and management - Case studies from four continents**. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, p. 1–20, 2014.
- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, v. 54, p. 205–240, 1986.

- SAMEERA, S. *et al.* Species substitutions revealed through genotyping: Implications of traceability limitations and unregulated fishing. **Food Control**, v. 123, p. 107779, 2021.
- SANT'ANA, L. S.; DUCATTI, C.; RAMIRES, D. G. Seasonal variations in chemical composition and stable isotopes of farmed and wild Brazilian freshwater fish. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 74–77, 2010.
- SANTOS, J. P. *et al.* Fisheries monitoring in Brazil: How can the 2030 agenda be met without fisheries statistics? **Biota Neotropica**, v. 23, n. 2, p. e20221439, 2023
- SEMINARA, C. I. *et al.* Artisanal fisher knowledge on the impacts of destructive and illegal practices on the Southern Coast of Bahia, Brazil. **Marine Policy**, v. 158, p. 105862, 2023.
- SHIPLEY, O. N.; MATICH, P. Studying animal niches using bulk stable isotope ratios: an updated synthesis. **Oecologia**, v. 193, n. 1, p. 27–51, 2020.
- SILVA, R. D. J.; BERENCHTEIN, B.; FERREIRA, M. L. Isotopic ecology ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of fish farming species: possible consequences of diet change and habitat variation consequências da mudança de dieta e variação de habitat. **Ciência e Natura**, v. 38, n. 1, p. 24–31, 2016.
- SOUZA, D. S. *et al.* From fish-markets to restaurants: Substitution prevalence along the flatfish commercialization chain in Brazil. **Fisheries Research**, v. 243, p. 106095, 2021.
- SQUADRONE, S. *et al.* Trace elements and rare earth elements in honeys from the Balkans, Kazakhstan, Italy, South America, and Tanzania. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 11, p. 12646–12657, 2020.
- STEWART, D. J. A new species of *Arapaima* (Osteoglossomorpha: Osteoglossidae) from the solimões river, Amazonas state, Brazil. **Copeia**, v. 2013, n. 3, p. 470–476, 2013a.
- STEWART, D. J. Re-description of *Arapaima agassizii* (Valenciennes), a rare fish from Brazil (Osteoglossomorpha: Osteoglossidae). **Copeia**, v. 2013, n. 1, p. 38–51, 2013b.
- TORATI, L. S. *et al.* Genetic diversity and structure in *Arapaima gigas* populations from Amazon and Araguaia-Tocantins river basins. **BMC Genetics**, v. 20, n. 1, p. 1–13, 2019.
- THOMATOU, A. A. *et al.* Análise de isótopos estáveis para a discriminação da origem geográfica da Bottarga grega “*Avgotaracho Messolongiou*”: uma pesquisa preliminar. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 2960, 2022.
- TULLI, F. *et al.* The Use of Stable Isotope Ratio Analysis to Trace European Sea Bass (*D. labrax*) Originating from Different Farming Systems. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 2042, 2020.
- VALENTI, W. C. *et al.* Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. e100611, 2021.

- VANDER ZANDEN, M. J.; RASMUSSEN, J. B. Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. **Ecological Society of América**, v. 80, n. 4, p. 1395–1404, 1999.
- VANDER ZANDEN, M. J. *et al.* Stable isotope turnover and half-life in animal tissues: A literature synthesis. **PLoS ONE**, v. 10, n. 1, p. e0116182, 2015.
- VARRÀ, M. O. *et al.* Advances in troubleshooting fish and seafood authentication by inorganic elemental composition. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 270, 2021.
- VERÍSSIMO, J. A. **A Pesca na Amazônia**. Rio de Janeiro: Livraria Clássica, de Alves & C., 1895. p. 130.
- WAICHMAN, A. V *et al.* Human health risks associated to trace elements and metals in commercial fish from the Brazilian. **Journal of Environmental Science**, v. 148, p. 230–242, 2024.
- WANG, Y. V. *et al.* Know your fish: A novel compound-specific isotope approach for tracing wild and farmed salmon. **Food Chemistry**, v. 256, p. 380–389, 2018.
- WATSON, L. C.; STEWART, D. J.; TEECE, M. A. Trophic ecology of *Arapaima* in Guyana: Giant omnivores in Neotropical floodplains. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 2, p. 341–349, 2013.
- YANG, H. *et al.* Navigating the depths of seafood authentication: Technologies, regulations, and future prospects. **Measurement: Food**, v. 14, p. 100165, 2024.
- YOKOYAMA, T.; TOKUDA, M.; YAMAZAKI, T. Possibility of geographical traceability of *Lucensosergia lucens* shrimp based on element content measured through inductively coupled plasma mass spectrometry. **Fisheries Science**, v. 87, n. 6, p. 893–903, 2021.
- ZHAO, Y. *et al.* Elemental profiling of red seaweed *Neopyropia yezoensis* used in fast authenticating the geographical origin and food safety assessment. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 125, p. 105839, 2024.