

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA

**USO DE HABITATS ESTUARINOS E LÍMNICOS E
ASSIMILAÇÃO DE RECURSOS ALIMENTARES PELO
BAGRE GURI *Genidens genidens* (CUVIER, 1829)**

PAULA EVELYN RUBIRA PEREYRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Oceanografia Biológica.

Orientador: Dr. Alexandre Miranda Garcia

RIO GRANDE

Outubro de 2015

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Alexandre Miranda Garcia pela amizade ao longo desses anos. Obrigada pela compreensão e paciência. O senhor é um exemplo de profissional para mim.

Ao prof. Dr. João Paes Vieira por abrir as portas do Laboratório de Ictiologia, pelos ótimos conselhos e histórias para contar.

À banca examinadora Prof. Francisco Gerson Araújo, Dra. Ana C.G. Mai e Dra. Silvina Botta pelas valiosas contribuições ao meu trabalho.

A Capes e CNPQ pela bolsa concedida e apoio financeiro ao projeto.

A Verinha por me ajudar não só com assuntos pertinentes ao mestrado, mas por me ouvir e me dar apoio em vários momentos.

Ao administrador Paulo Votto pelas ótimas conversas e por estar sempre disposto a ajudar.

A galera do Laboratório de Ictiologia, incluindo o pessoal que já não faz mais parte da equipe, obrigado pelas ideias, sugestões, churrascos e pelo companheirismo ao longo desses anos!

Ao pessoal do Laboratório de Crustáceos Decápodes pelos momentos de descontração e alegria!

Ao Laboratório de Recursos Pesqueiros Pelágicos por ceder o espaço e material para corte dos otólitos.

Aos amigos recentes e aos de longa data que fazem parte da minha história!!

Aos meus pais pelo apoio, amor incondicional, carinho e força!!

Aos bagrinhos por me possibilitar aprender mais sobre eles!!

A Deus por me amar tanto e cuidar de mim em todos os momentos da minha vida!!!

ÍNDICE

RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUÇÃO.....	8
1.1. A importância de estudos ecológicos em peixes estuarinos.....	8
1.2. Isótopos estáveis e microquímica de otólitos: marcadores naturais em estudos ecológicos de peixes.....	8
1.3. Espécie alvo do estudo: o bagre Guri (<i>Genidens genidens</i>, Ariidae).....	12
1.4. Objetivos e hipóteses.....	13
1.5. Literatura Citada.....	14
Capítulo I: Uso de habitat e assimilação de recursos alimentares pelo bagre Guri (<i>Genidens genidens</i>) ao longo de um gradiente estuarino-límnetico revelado por isótopos estáveis.....	23
2. Síntese do Capítulo I.....	24
2.1. Introdução.....	24
2.2. Material & Métodos.....	24
2.3. Síntese dos Resultados.....	26
2.4. Conclusões.....	27
2.5. Literatura Citada.....	27
Capítulo II: Padrões de movimento e uso de habitat do bagre Guri (<i>Genidens</i>	

<i>genidens</i>) ao longo da maior laguna costeira da América do Sul revelados por microquímica de otólitos.....	30
3. Resumo.....	31
3.1. Introdução.....	31
3.2. Materiais & Métodos.....	34
3.3. Resultados.....	37
3.4. Discussão.....	39
3.5. Literatura Citada.....	44
4. Considerações Finais.....	56
Anexo 1. Habitat use and assimilation of food resources by the Guri catfish (<i>Genidens genidens</i>) along an estuarine to freshwater gradient revealed by stable isotopes.....	57

RESUMO

O objetivo geral dessa dissertação foi investigar o uso de habitats estuarinos e límnicos e a assimilação de recursos alimentares pelo bagre Guri *Genidens genidens*. A análise de isótopos estáveis foi utilizada como ferramenta para avaliar a assimilação de presas pelo bagre Guri desde a porção estuarina até a região límnicka da Lagoa dos Patos (Capítulo 1), enquanto a análise microquímica de otólitos (Sr e Ba) dos bagres foi empregada para verificar padrões de deslocamento da espécie ao longo do gradiente salino (Capítulo 2). Na região do estuário inferior, os indivíduos coletados foram menores (comprimento total, CT: $228,28 \pm 90,58$ mm) e com maiores valores isotópicos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$: $-18,3 \pm 1,7\text{\textperthousand}$) do que na região límnicka da laguna (CT: $332,83 \pm 26,97$ mm; $\delta^{13}\text{C}$: $-20,4 \pm 0,9\text{\textperthousand}$). Essas diferenças nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ parecem ter refletido diferenças isotópicas na base da cadeia alimentar entre as duas regiões. Modelos de mistura isotópicos também revelaram diferenças na assimilação das presas pelo bagre ao longo do gradiente salino, as quais coincidiram com diferenças na disponibilidade de presas entre o estuário e a região límnicka reportadas na literatura. Além disso, houve maior sobreposição entre os nichos isotópicos dos indivíduos capturados no estuário inferior e superior, do que comparada a região de água doce. Esses resultados corroboram a hipótese de que o bagre Guri está ligado troficamente as teias alimentares estuarinas e de água doce ao longo do seu desenvolvimento, com indivíduos menores mostrando maior dependência de recursos estuarinos e os maiores assimilando mais recursos oriundos do ambiente límnicko na medida em que migram para a região norte da laguna. Os valores médios das razões Sr:Ca e Ba:Ca na região do núcleo dos otólitos não apresentaram diferenças significativas entre as áreas de estudo, sugerindo que os indivíduos experimentaram um ambiente químico semelhante na fase inicial das suas vidas. Esse ambiente foi provavelmente oligohalino considerando que

os valores médios absolutos de Sr:Ca ($0,67 \pm 0,21$) do núcleo de todos os indivíduos foram semelhantes aos valores encontrados na borda dos indivíduos do estuário inferior ($0,67 \pm 0,20$). Esse resultado, conjuntamente com estudos anteriores sobre a abundância e distribuição da espécie na região, reforça a hipótese de que a área de desova e crescimento inicial da espécie nessa laguna seja uma região com influência da salinidade. Em contrapartida, as análises de borda dos otólitos revelaram diferenças para ambos os elementos (Sr e Ba) entre as regiões da laguna; com diminuição significativa ($p<0,05$) nos valores médios da razão Sr:Ca do estuário para a região límnicka e o inverso para a razão Ba:Ca. Os perfis individuais de Sr:Ca e Ba:Ca ao longo do transecto “núcleo-borda” revelaram variações intraespecíficas, principalmente nos indivíduos que foram coletados na região próximo a desembocadura do estuário, sugerindo a existência de migrações parciais na população.

Palavras-chave: variação espacial, gradiente salino, bagres arídeos, isótopos estáveis, microquímica de otólitos, Lagoa dos Patos

ABSTRACT

The main goal of this dissertation was to investigate the use of estuarine and freshwater habitats and assimilation of food resources by the catfish *Guri Genidens genidens*. Stable isotope analysis was used as a tool for assessing prey assimilation by the Guri catfish from the estuarine to the freshwater reaches of Patos Lagoon (Chapter 1), whereas microchemistry analysis of otoliths (Sr and Ba) of catfish individuals was employed to infer the species' movement patterns along the saline gradient (Chapter 2). In the lower estuary region, individuals were smaller (total length, TL: 228.28 ± 90.58 mm) and had higher carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$: $-18.3 \pm 1.7\text{\textperthousand}$) than in freshwater portion of the lagoon (TL: 332.83 ± 26.97 mm; $\delta^{13}\text{C}$ $-20.4 \pm 0.9\text{\textperthousand}$). These differences in $\delta^{13}\text{C}$ values seemed to reflect isotopic differences in the base of the food chain between both regions. Isotopic mixture models also revealed differences in prey assimilation by the Guri catfish along the saline gradient, which coincided with differences in prey availability between the estuary and the freshwater region reported in the literature. In addition, there was greater overlap between the isotopic niche of individuals caught in the lower and upper estuary, when compared to freshwater. These results corroborate the hypothesis that the Guri catfish is trophically connected to estuarine and freshwater food webs throughout its development, with smaller individuals showing greater dependence on estuarine food resources and larger ones on food resources from freshwater as they move to the northern reaches of the lagoon. Average values of Sr:Ca and Ba:Ca ratios in the core region of otoliths showed no significant differences between study areas, suggesting that these individuals experienced a similar chemical environment at an early stage of their lives. This environment was probably oligohaline considering that the absolute average values of Sr:Ca (0.67 ± 0.21) in the otolith's core of all specimens were similar to those found on the otolith's edges caught at the lower

estuary (0.67 ± 0.20). These findings, together with previous studies on abundance and distribution patterns of this species in this lagoon, reinforce the hypothesis that the area of spawning and early growth of the Guri catfish in this lagoon is a region with influence of salinity. In contrast, the analysis of otolith's edges revealed differences for both elements (Sr and Ba) between the regions of the lagoon; with a significant decrease ($p<0.05$) in the mean values of Sr:Ca ratios from the estuary to freshwater and an inverse pattern for Ba:Ca. Individual Sr:Ca and Ba:Ca profiles along the otolith section "core-edge" revealed intraspecific variation, especially in individuals that have been collected in the region near the mouth of the estuary, suggesting the existence of partial migration in the population.

Keywords: spatial variation, saline gradient, ariid catfish, stable isotopes, microchemistry of otoliths, Patos Lagoon

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. A importância de estudos ecológicos em peixes estuarinos

Os estuários são ambientes diversos e produtivos que fornecem serviços de elevado valor econômico (Costanza et al. 1997) como áreas de berçário para juvenis e habitats para adultos (Potter & Hyndes 1999, Potter et al. 2001). A elevada produção primária juntamente com o transporte de matéria orgânica, a partir de rios e mares adjacentes, suportam as teias alimentares no estuário (Choy et al. 2009). Uma das assembleias mais comuns no ambiente estuarino são os peixes que provavelmente são atraídos pela maior disponibilidade de alimento existente, quando comparados ao ambiente límnico e marinho adjacente (Whitfield & Marais 1999). Dentre as espécies dependentes do ambiente estuarino, estão muitas espécies de grande importância comercial, tais como os bagres, as corvinas e as tainhas (Lenanton & Potter 1987). Além da elevada produção de pescado que essas espécies podem gerar (Mann et al. 2000). Esses organismos podem atuar como exportadores de carbono entre habitats estuarinos, límnicos e regiões marinhas, fornecendo subsídios para diversas teias alimentares (Deegan 1993). Apesar da importância ecológica e pesqueira, várias etapas do ciclo de vida dessas espécies são pouco compreendidas como, por exemplo, o uso dos habitats e dos recursos alimentares.

1.2. Isótopos estáveis e microquímica de otólitos: marcadores naturais em estudos ecológicos de peixes

Uma forma de estudar a ecologia trófica, os padrões de uso de habitat e deslocamento de peixes é o emprego de marcadores naturais, como isótopos estáveis e microquímica de otólitos (Campana 1999, Fry 2006). A análise de isótopos estáveis (AIE) vem sendo utilizada para caracterizar a estrutura das cadeias alimentares e

determinar fontes de matéria e energia para os consumidores (Kelly 2000, Finlay et al. 2001).

Isótopos são átomos de um mesmo elemento que possuem diferente número de nêutrons, como exemplo o carbono (^{12}C , ^{13}C) e o nitrogênio (^{14}N , ^{15}N). As razões atômicas desses isótopos representam valores que podem ser utilizadas para identificar as fontes orgânicas de materiais para os produtores, e também conhecer os caminhos subsequentes da matéria a medida que transitam entre vários consumidores (Fry 2006). São chamados de estáveis por não alterarem a massa ao longo do tempo, ao contrário dos radioativos que decaem (Martinelli et al. 2009). Os isótopos estáveis mais utilizados em estudos ecológicos são: carbono, nitrogênio, enxofre, oxigênio e hidrogênio, podendo ser analisados juntos ou separadamente (Pereira & Benedito 2007).

A diferença entre a composição isotópica dos alimentos e do consumidor é denominado de fator de discriminação isotópica (Δ) (Fry & Sherr 1984, Fry 2006). O fracionamento isotópico da razão isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) varia pouco ao longo da cadeia alimentar (Δ : 0,5 – 1,0‰ a cada nível trófico; DeNiro & Epstein 1978) e, portanto, ele é normalmente utilizado como indicador da origem dos alimentos para os consumidores (Fry & Sherr 1984). Em contrapartida, o fracionamento isotópico do nitrogênio geralmente aumenta de 3 à 5 ‰ a cada nível trófico (Minagawa & Wada 1984, Owens 1987, Peterson & Fry 1987), sendo esse incremento utilizado para a estimar a posição trófica do consumidor (Post 2002).

Essa técnica é vantajosa por refletir que foi realmente assimilado e convertido em tecido do consumidor. Portanto, ao contrário da análise do conteúdo estomacal, a AIE integra processos de ingestão e assimilação de nutrientes e reflete uma janela temporal mais ampla, variando de dias, semanas a vários meses, de acordo com o

metabolismo do tecido sendo analisado (Peterson & Fry 1987, Hobson 1999, Reich et al. 2008). Como toda técnica analítica, a AIE apresenta algumas limitações como, por exemplo, baixa resolução taxonômica e dificuldade de distinguir a importância relativa de alimentos (e/ou habitats) que possuam composições isotópicas semelhantes (Layman et al. 2005). Apesar dessas limitações e da necessidade de mais estudos experimentais para corroborar seus pressupostos (Martínez del Rio et al. 2009), a AIE têm sido cada vez mais utilizada para explorar a ecologia trófica e padrões de uso de habitat de muitos vertebrados marinhos, incluindo teleósteos (Cucherousset et al. 2012), tubarões (Carlisle et al. 2012), aves marinhas (Muñoz- Gil et al. 2013), tartarugas (Arthur et al. 2008), cetáceos (Botta et al. 2012) e pinípedes (Elorriaga-Verplancken et al. 2013).

As teias alimentares no estuário geralmente dependem de um elevado nível de produção primária (Pasquaud et al. 2008). Os principais produtores primários incluem fitoplâncton, plantas de marisma ou manguezais, microalgas bentônicas, macroalgas e pradarias de gramíneas submersas (Kwak & Zedler 1997, Day et al. 2012). Estes produtores primários podem apresentar composição isotópica diferente, especialmente em relação ao isótopo estável do carbono ($\delta^{13}\text{C}$), as quais estão relacionadas com diferenças fisiológicas no aparato fotossintético desses organismos (Lajtha et al. 2007). As plantas que possuem fotossíntese do tipo C₃ possuem valores mais empobrecidos em ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$: -24‰ a -38‰) quando comparadas as plantas com fotossíntese do tipo C₄, que possuem valores mais enriquecidos em ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$: -11‰ a -15‰) (Martinelli et al. 2009). Essas diferenças isotópicas (C3 vs. C4), combinadas com variações espaciais no grau de dominância dessas plantas ao longo do gradiente salino, podem ser usadas como marcadores naturais na base da cadeia alimentar (Deegan 1993). Por exemplo, Garcia e colaboradores (2007) demonstraram que a composição isotópica dos peixes encontrados

nos ambientes estuarinos e de água doce da Lagoa dos Patos (32°S) apresentam diferenças ($\delta^{13}\text{C}$ médio aproximadamente de $-16\text{\textperthousand}$ e $-21\text{\textperthousand}$, respectivamente) e coincidem com as diferenças médias nos valores isotópicos da vegetação dominante no ambiente estuarino (plantas C3 e C4) e lítmico (apenas plantas C3) da Lagoa dos Patos ($\delta^{13}\text{C}$ aproximadamente $-22\text{\textperthousand}$ e $-28\text{\textperthousand}$, respectivamente). Portanto, na presença de gradientes isotópicos na base da cadeia alimentar entre habitats e/ou compartimentos de um sistema, a composição isotópica dos consumidores podem ser usadas como traçadores naturais do uso do habitat e padrões de movimento dos organismos (Peterson 1999, Rubenstein & Hobson 2004).

Outro método que vem sendo utilizado com sucesso nas últimas décadas para a determinação do uso de habitat e migração de peixes é a microquímica de otólitos (Gillanders 2005, Elsdon et al. 2008). Otólitos são estruturas calcárias no ouvido interno de peixes teleósteos que auxiliam na audição e no equilíbrio (Manley et al. 2004). A grande maioria dos peixes teleósteos possui três tipos de otólitos (*sagitta*, *lapillus* e *asteriscus*), sendo compostos de material metabolicamente inerte, onde a composição química é mantida permanentemente após sua incorporação a matriz calcária do otólito (Campana & Neilson 1985). Com o crescimento contínuo do indivíduo ocorre a incorporação de elementos traços do ambiente (Elsdon & Gillanders 2003), sendo possível obter um registro das condições experimentadas pelo indivíduo ao longo da sua vida, desde o nascimento até o momento da sua morte (Campana 1999). A análise microquímica é geralmente empregada no otólito *sagitta*, que atinge maior tamanho na maioria dos peixes. Porém, em alguns grupos de peixes (e.g., ostariofíssos, que incluem bagres, pacus, carpas, entre outros) o otólito mais desenvolvido não é o *sagitta* e, sim, o

lapillus (Assis 2005). A análise microquímica desse otólito também vem sendo realizada com sucesso (MacDonald et al. 2012, Avigliano et al. 2015).

As análises da composição química de otólitos têm sido aplicadas em estudos para verificar padrões de uso de habitat (Albuquerque et al. 2012, Wang 2014), identificação e separação de estoques (Campana et al. 2000, Tabouret et al. 2010, Avigliano & Volpedo 2013), determinação de locais de nascimento (Wells et al. 2012, Davoren et al. 2015), reconstrução de padrões de migração (Jessop et al. 2002) e conectividade entre sistemas estuarinos e costeiros (Gillanders 2005). A proporção dos elementos Sr:Ca é positivamente correlacionado com a salinidade da água (Kraus & Secor 2004), já a concentração de Ba:Ca está negativamente associada com essa variável ambiental (Miller 2011). A temperatura e a salinidade da água podem influenciar na incorporação dos elementos nos otólitos e essas influências podem ser diferentes entre as espécies (Elsdon & Gillanders 2004, Elsdon et al. 2008).

1.3. Espécie alvo do estudo: o bagre Guri (*Genidens genidens*, Ariidae)

Dentro da ordem Siluriformes, a família Ariidae apresenta 133 espécies distribuídas em 26 gêneros (Ferraris 2007). Os bagres pertencentes a essa família possuem principalmente hábitos estuarinos, podendo ocorrer em ambientes de água doce e marinhos (Marceunik 2007), principalmente em fundos lodosos e arenosos (Azevedo et al. 1999). Adaptações como a tolerância às variações na salinidade (espécies eurihalinas) e a presença do aparelho Weberiano que acentua a percepção auditiva (Cervignón 1985) estão entre os fatores que provavelmente favorecem a colonização desses ambientes pelos arídeos. Uma característica marcante desse grupo é o comportamento reprodutivo especializado onde os machos apresentam cuidado parental, realizando incubação oral dos ovos e larvas (Chaves 1994, Moyle & Cech Jr

1996). Algumas espécies dessa família apresentam importância para a pesca comercial (Barletta et al. 1998), como também para a pesca artesanal e de subsistência (Lima 2012).

O bagre *Genidens genidens* é um representante da família Ariidae de pequeno porte (CT máximo: 415mm) com distribuição entre Brasil e Argentina (Figueiredo & Menezes 1978, Marceniuk & Menezes 2007). Alguns aspectos da sua bio-ecologia já são conhecidos, como dieta (Mishima & Tanji 1982, Araújo 1984, Chaves & Vendel 1996, Rabitto & Abilhôa 1999, Valerín-Solano 1999, Pedra et al. 2006, Denadai et al 2012), reprodução (Barbieri et al. 1992, Gomes et al. 1999, Mazzoni et al. 2000), abundância (Araújo 1988) e pesca (Reis 1986). Por exemplo, na região sul do Brasil a ecologia alimentar de *G. genidens* foi avaliada pelo método de análise de conteúdo estomacal, sendo apontada como uma espécie com estratégia alimentar do tipo generalista-oportunista (Araújo 1984, Valerín-Solano 1999), consumindo principalmente pereíópodos de *Callinectes* sp., poliquetas, tanaidáceos, misidáceos, isópodes, anfípodes e gastrópodes (Araújo 1984). Embora estudos de alimentação e abundância apontem a importância do ambiente estuarino para *G. genidens* (Araújo 1984, Araújo 1988), permanecem incertezas sobre a efetiva assimilação dos alimentos de origem estuarina para a espécie. Isso porque algumas presas encontradas no conteúdo estomacal podem ser refratárias ao processo digestivo e não serem efetivamente assimiladas pelo consumidor (Winemiller et al. 2007).

1.4. Objetivos e hipóteses

A presente dissertação utilizou os marcadores naturais, isótopos estáveis e microquímica de otólitos, para (1) investigar a assimilação de recursos alimentares e uso de habitats estuarinos e límnicos pelo bagre *G. genidens* ao longo do seu

desenvolvimento (fase juvenil e adulta), (2) identificar e quantificar a assimilação de presas (invertebrados bentônicos e zooplâncticos) e fontes alimentares basais (macrófitas, seston e matéria orgânica no sedimento) para juvenis (<200 mm) e adultos (≥ 200 mm) de *G. genidens* desde o estuário inferior até a região límnicka da Lagoa dos Patos (LP) e (3) verificar os padrões de deslocamento de *G. genidens* ao longo do seu desenvolvimento ontogenético entre o ambiente estuarino e límnicko da LP.

Nossas principais hipóteses foram: 1) O bagre *G. genidens* assimila na sua fase juvenil principalmente os recursos alimentares estuarinos, mas quando a espécie atinge a fase adulta, ela se desloca para a região límnicka adjacente e passa a incorporar recursos alimentares produzidos no ambiente de água doce; 2) Embora esteja distribuída por toda a extensão da laguna, desde a região estuarina até a porção límnicka (> 300 km), a espécie é restrita à região mixohalina durante a fase inicial do seu desenvolvimento.

1.5. Literatura Citada:

Albuquerque CQ, Miekeley N, Muelbert JH, Walther BD, Jaureguizar AJ (2012) Estuarine dependency in a marine fish evaluated with otolith chemistry. Mar Biol 159 (10): 2229-2239. doi:10.1007/s00227-012-2007-5

Araújo FG (1984) Hábitos alimentares de três bagres marinhos (Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Atlântica 7: 43-67

Araújo FG (1988) Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Rev Bras Zool 5(4): 509-543

Arthur KE, Boyle MC, Limpus CJ (2008) Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (*Chelonia mydas*) life history. Mar Ecol Prog Ser 362: 303-311

Assis CA (2005) The utricular otoliths, lapilli, of teleosts: their morphology and relevance for species identification and systematics studies. Sci Mar 69(2): 259-273

- Avigliano E, Volpedo A (2013) Use of otolith strontium:calcium ratio as indicator of seasonal displacements of the silverside (*Odontesthes bonariensis*) in a freshwater–marine environment. Mar Freshwater Res 64(8): 746–751
- Avigliano E, Velasco G, Volpedo AV (2015) Assessing the use of two southwestern Atlantic estuaries by different life cycle stages of the anadromous catfish *Genidens barbus* (Lacépède, 1803) as revealed by Sr: Ca and Ba: Ca ratios in otoliths. J Appl Ichthyol 1-4. doi:10.1111/jai.12766
- Azevedo MCC, Araújo FG, Cruz-Filho AG, Gomes ID, Pessanha ALM (1999) Variação espacial e temporal de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) na baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. Rev Bras Biol 59(3): 443-454
- Barbieri LR, Santos RP, Andreata JV (1992) Reproductive biology of the marine catfish, *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae), in the Jacarepaguá lagoon system, Rio de Janeiro, Brasil. Environ Biol Fishes 35: 23-35
- Barletta M, Barletta-Bergan A, Saint-Paul U (1998) Description of the fishery structure in the mangrove dominated region of Bragança (State of Pará—north Brazil). Ekotropica 4: 41–53
- Botta S, Hohn AA, Macko SA, Secchi ER (2012) Isotopic variation in delphinids from the subtropical western South Atlantic. J Mar Biol Assoc UK. doi:10.1017/S0025315411000610
- Campana SE, Neilson JD (1985) Microstructure of fish otolith. Can J Fish Aquat Sci 42: 1014-1032
- Campana SE (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Mar Ecol Prog Ser 188: 263-297
- Campana SE, Chouinard GA, Hanson JM, Frechet A, Brattey J (2000) Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. Fish Res 46(1): 343–357
- Carlisle AB, Kim SL, Semmens BX, Madigan DJ, Jorgensen SJ, Perle CR, Anderson SD, Chapple TK, Kanive PE, Block BA (2012) Using Stable Isotope Analysis to Understand the Migration and Trophic Ecology of Northeastern Pacific White Sharks

(*Carcharodon carcharias*). Plos One 7(2): e30492.
doi:10.1371/journal.pone.0030492

Cervigón F (1985) La ictiofauna estuarina Delta Del Río Orinoco en la costa Atlántica occidental, Caribe. In: Yañez-Arancibia A (ed.) Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons: towards an ecosystem integration. DR (R) UNAM Press, México. pp: 57-78

Chaves PTC (1994) A incubação de ovos e larvas em *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriformes, Ariidae) da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Rev Bras Zool 11(4): 641-648

Chaves PTC, Vedel AL (1996) Aspectos da alimentação de *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriformes, Ariidae) na baía de Guaratuba, Paraná. Rev Bras Zool 13: 669- 675

Choy EJ, Richard P, Kim KR, Kang CK (2009) Quantifying the trophic base for benthic secondary production in the Nakdong river estuary of Korea using stable C and N isotopes. J Exp Mar Biol Ecol 382: 18-26

Costanza R, d'Arge R, de Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neil RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, Van Den Belt M (1997) The value of the world's ecosystem services and natural capital. Nature 387: 253-260

Cucherousset J, Boulêtreau S, Azémar F, Compin A, Guillaume M, Santoul F (2012) "Freshwater Killer Whales": Beaching Behavior of an Alien Fish to Hunt Land Birds. Plos One 7(12): e50840. doi:10.1371/journal.pone.0050840

Davoren GK, Woloschiniwsky CSA, Halden NM, Wang F (2015) Does otolith chemistry indicate the natal habitat of Newfoundland capelin *Mallotus villosus*? J Exp Mar Biol Ecol 464: 88–95

Day Jr JW, Yañez-Arancibia A, Kemp WM, Crump BC (2012) Introduction to Estuarine Ecology. In: Day Jr JW, Crump BC, Kemp WM, Yañez- Arancibia A (eds.) Estuarine Ecology. Wiley-Blackwell. pp: 1-18

Deegan LA (1993) Nutrient and energy transport between estuaries and coastal marine ecosystems by fish migration. Can J Fish Aquat Sci 50: 74-79

- Denadai MR, Bessa E, Santos FB, Fernandez WS, Santos FMC, Feijó MM, Arcuri ACD, Turra A (2012) Life history of three catfish species (Siluriformes: Ariidae) from southeastern Brazil. *Biota Neotrop* 12: 74-83
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 42: 495-506
- Elorriaga-Verplancken F, Auñóoles-Gamboa D, Newsome SD, Martínez-Díaz SF (2013) $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in dental collagen as a proxy for age- and sex-related variation in foraging strategies of California sea lions. *Mar Biol* 160: 641–652. doi: 10.1007/s00227-012-2119-y
- Elsdon TS, Gillanders BM (2003) Reconstructing migratory patterns of fish based on environmental influences on otolith chemistry. *Rev Fish Biol Fish* 13: 219-235
- Elsdon TS, Gillanders BM (2004) Fish otolith chemistry influenced by exposure to multiple environmental variables. *J Exp Mar Biol Ecol* 313: 269-284
- Elsdon TS, Wells BK, Campana SE, Gillanders BM, Jones CM, Limburg KE, Secor DH, Thorrold SR, Walther BD (2008) Otolith chemistry to describe movements and life-history parameters of fishes: Hypotheses, assumptions, limitations and inferences. *Oceanogr Mar Biol: Annu Rev* 46: 297-330
- Ferraris Jr CJ (2007) Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa* 1418: 628
- Figueiredo JL, Menezes NA (1978) Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. V. Teleostei (1). Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo
- Finlay JC (2001) Stable-carbon-isotope ratios of river biota: implications for energy flow in lotic food webs. *Ecology* 82: 1052-1064
- Fry B, Sherr EB (1984) $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contrib Mar Sci* 27: 13-47
- Fry B (2006) Stable Isotope Ecology. New York, Springer. 308p

- Garcia AM, Hoeinghaus DJ, Vieira JP, Winemiller KO (2007) Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuar Coast Shelf S* 73: 399-408
- Gillanders BM (2005) Using elemental chemistry of fish otoliths to determine connectivity between estuarine and coastal habitats. *Estuar Coast Shelf Sci* 64: 47-57
- Gomes ID, Araújo FG, Azevedo MCC, Pessanha ALM (1999) Biologia reprodutiva dos bagres marinhos *Genidens genidens* (Valenciennes) e *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Zool* 16(2): 171 -180
- Hobson KA (1999) Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120: 314–326
- Jessop BM, Shiao JC, Iizuka Y, Tzeng, WN (2002) Migratory behaviour and habitat use by American eels *Anguilla rostrata* as revealed by otolith microchemistry. *Mar Ecol Prog Ser* 233: 217-229
- Kelly JF (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can J Zool* 78: 1–27
- Kraus RT, Secor DH (2004) Incorporation of strontium into otoliths of an estuarine fish. *J Exp Mar Biol Ecol* 302: 85–106
- Kwak T, Zedler JB (1997) Food web analysis of southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes. *Oecologia* 110: 262-277
- Lajtha K, Brooks R, Marshall JD (2007) Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: Michener RH, Lajtha K (eds.) *Stable Isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell, Oxford. pp: 22-60
- Layman CA, Winemiller KO, Arrington DA (2005) Describing a Species-Rich River Food Web Using Stable Isotopes, Stomach Contents, and Functional Experiments. In: de Ruiter PC, Wolters JC (eds.) *Moore Dynamic Food Webs: Multispecies Assemblages, Ecosystem Development and Environmental Change*. Elsevier, Amsterdam. pp: 395-406

Lenanton R, Potter I (1987) Contribution of estuaries to commercial fisheries in temperate Western Australia and the concept of estuarine dependence. *Estuar Coast* 10(1): 28-35

Lima BB (2012) Estrutura atual da pesca artesanal e estimativa do autoconsumo de pescado entre pescadores artesanais do estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande

MacDonald JI, McNeil DG, Crook DA (2012) Asteriscus v. lapillus: comparing the chemistry of two otolith types and their ability to delineate riverine populations of common carp *Cyprinus carpio*. *Journ of Fish Biol* 81(5): 1715-1729

Manley GA, Popper AN, Fay RR (2004) Evolution of the vertebrate auditory system. New York, Springer-Verlag. 416p

Mann KH (2000) Ecology of Coastal Waters with Implications for Management. Malden, Blackwell. 406p

Marceniuk AP, Menezes NA (2007) Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), with a redefinition of the genera. *Zootaxa* 1416: 1-126

Martinelli LA, Ometto JPHB, Ferraz ES, Victoria RL, Camargo PB, Moreira MZ (2009) Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. Brasil, Oficina de textos. 144p

Martínez del Rio C, Wolf N, Carleton SA, Gannes LZ (2009) Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biol Rev* 84(1): 91-111

Mazzoni R, Petito J, Miranda C (2000) Reproductive biology of *Genidens genidens*, a catfish from the Maricá Lagoon, RJ. *Cien Cult* 52: 121-126

Miller J (2011) Effects of water temperature and barium concentration on otolith composition along a salinity gradient: Implications for migratory reconstructions. *J Exp Mar Biol Ecol* 405: 42-52

Minagawa M, Wada E (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between ^{15}N and animal age. *Geochim Cosmochim Acta* 48: 1135–1140

- Mishima M, Tanji S (1982) Nicho alimentar de bagres marinhos (Teleostei, Ariidae) no complexo estuarino lagunar de Cananéia (25°S , 48°W). Bol Inst Pesca 9 (único): 131-140
- Moyle PB, Cech Jr JJ (1996) Fishes: an introduction to ichthyology. Upper Saddle River, Prentice Hall. 590 p
- Muñoz-Gil J, Marín-Espinoza G, Vigo JA, Zavala R, Mata A (2013) Trophic position of the Neotropic Cormorant (*Phalacrocorax brasiliensis*): integrating diet and stable isotope analysis. J Ornithol 154: 13-18
- Owens NJP (1987) Natural variations in ^{15}N in the marine environment. Adv Mar Biol 24: 389–451
- Pasquaud S, Elie P, Jeantet C, Billy I, Martinez P, Girardin M (2008) A preliminary investigation of the fish food web in the Gironde estuary, France, using dietary and stable isotope analyses. Estuar Coast Shelf S 78: 267-279
- Pedra MR, Oliveira MA, Novelli R (2006) Biologia alimentar do bagre *Genidens genidens* (Valenciennes, 1839) na Barra da Lagoa do Açu, norte do estado do Rio de Janeiro. Acta Biol Leopond 28(1): 38-41
- Pereira AL, Benedito E (2007) Isótopos Estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. Biociências 13(1): 16-27
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. Annu Rev Ecol Syst 18: 293–320
- Peterson BJ (1999) Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. Acta Oecologica 20: 479-487
- Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods and assumptions. Ecology 83: 703–718
- Potter IC, Hyndes GA (1999) Characteristics of the ichthyofaunas of southwestern Australian estuaries, including comparisons with Holarctic estuaries and estuaries elsewhere in temperate Australia: a review. Austral Ecol 24(4): 395-421

- Potter IC, Bird DJ, Claridge PN, Clarke KR, Hyndes GA, Newton LC (2001) Fish fauna of the Severn Estuary. Are there long-term changes in abundance and species composition and are the recruitment patterns of the main marine species correlated? J Exp Mar Biol Ecol 258(1): 15-37
- Rabbito IS, Abilhôa V (1999) A alimentação do bagre *Genidens genidens* (Valenciennes 1839) em um banco arenoso-lodoso da ilha do Mel, Paraná, Brasil. Unipar 2: 2
- Reich KJ, Bjorndal KA, Martinez del Rio C (2008) Effects of growth and tissue type on the kinetics of ^{13}C and ^{15}N incorporation in a rapidly growing ectotherm. Oecologia 155(4): 651–663
- Reis EG (1986) A pesca artesanal de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Doc. Tec. FURG 5: 1–22
- Rubenstein DR, Hobson KA (2004) From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. Trends Ecol Evol 19: 256–63
- Tabouret H, Bareille G, Claverie F, Pecheyran C, Prouzet P, Donard OF (2010) Simultaneous use of strontium:calcium and barium:calcium ratios in otoliths as markers of habitat: application to the European eel (*Anguilla anguilla*) in the Adour basin, South West France. Mar Environ Res 70: 35-45
- Valerín-Solano GA (1999) Um estudo a longo prazo (1978 até 1998) de ecologia trófica (nicho trófico e hábitos alimentares) dos bagres (*Netuma barba* (Lacepède 1803) *Netuma planifrons* (Higuchi, Reis & Araújo 1982) e *Genidens genidens* (Valenciennes 1833) da família Ariidae (Siluriformes) no estuário da Lagoa dos Patos- Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande
- Wang CH (2014) Otolith elemental ratios of flathead mullet *Mugil cephalus* in Taiwanese waters reveal variable patterns of habitat use. Estuar Coast Shelf S 151: 124-130
- Wells RJD, Rooker JR, Itano DG (2012) Nursery origin of yellowfin tuna in the Hawaiian Islands. Mar Ecol Progr Ser 461: 187-196

- Whitfield A, Marais H (1999) The Ichthyofauna. In: Allanson BR, Baird D (eds.) Estuaries of South Africa. Cambridge University Press, Cambridge. pp: 289–320
- Winemiller KO, Akin S, Zeug SC (2007) Production sources and food web structure of a temperate tidal estuary: integration of dietary and stable isotope data. *Mar Ecol Progr Ser* 343: 63-76

CAPÍTULO I

**Uso do habitat e assimilação de recursos alimentares pelo bagre Guri
(*Genidens genidens*) ao longo de um gradiente estuarino-límnetico
revelado por isótopos estáveis.***

*Manuscrito submetido a revista *Environmental Biology of Fishes*. Vide ANEXO I para a versão integral do texto em inglês.

2. SÍNTSE DO CAPÍTULO I

2.1. Introdução

Os bagres da família Ariidae apresentam distribuição circumglobal, sendo encontrados em águas salobras, marinhas e em água doce (Marceunik 2005). Algumas espécies dessa família apresentam migrações sazonais ao longo desses ambientes durante o ciclo de vida (Araújo 1988). Um dos menores (CT máximo < 450 mm) representantes da família Ariidae é o bagre Guri *Genidens genidens* (Cuvier 1829) que ocorre das Guianas até o Rio da Prata na Argentina, principalmente em regiões estuarinas e lagunas (Marceunik & Menezes 2007).

Genidens genidens exibe um amplo nicho alimentar (Mishima & Tanji 1982) sendo considerada uma espécie com hábito alimentar generalista e oportunista (Araújo 1984). Entretanto, ainda não se conhece as possíveis mudanças na utilização dos recursos alimentares na medida em que ela se move ao longo do gradiente de salinidade durante seu ciclo de vida. Uma forma de investigar as relações tróficas e uso de habitat por espécies migratórias de vertebrados é a análise de isótopos estáveis (AIE) (Fry 2006). Nesse trabalho, utilizamos a AIE para estimar a assimilação de recursos alimentares ao longo de um gradiente de salinidade pelo bagre Guri. Nossa hipótese é que essa espécie assimila recursos estuarinos durante a fase juvenil e quando se torna adulta passa a incorporar recursos provenientes da água doce.

2.2. Material e Métodos

As amostras utilizadas para AIE foram obtidas durante um cruzeiro a bordo da Lancha Oceanográfica Larus em setembro de 2011, em 8 estações de coleta distribuídas ao longo do eixo longitudinal da Lagoa dos Patos, desde sua porção límnetica (próximo a

cidade de São Lourenço, RS) até o ambiente estuarino (cidade de Rio Grande, RS) (Fig. 1). Foram coletados indivíduos do bagre Guri *G. genidens*, suas potenciais presas (invertebrados) e produtores primários. As amostras foram lavadas com água destilada a fim de extrair qualquer elemento que estivesse aderido ao tecido de interesse. Após esse procedimento, as amostras (e.g., músculo de peixes, folhas das plantas, sedimento, matéria orgânica particulada) permaneceram na estufa a temperatura de 60°C por 48 horas. Depois disso foram pulverizadas com auxílio de pistilo e gral e sub-amostras foram pesadas, acondicionadas em cápsulas de estanho ultra-puras e enviadas para laboratório especializado, aonde foi realizada a determinação da razão isotópica de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Os resultados foram expressos em notação delta: $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N} = [(R\text{amostra}/R\text{padrão}) - 1] * 1000$, onde $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. O material padrão para o carbono foi *Vienna Pee Dee Belemnite* (VPDB) e o padrão de nitrogênio foi o ar atmosférico.

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) para testar possíveis diferenças estatísticas nos valores médios de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ e comprimento total (CT, mm) dos bagres entre as três regiões. Análises de regressão linear foram utilizadas para descrever quantitativamente a relação entre a variabilidade nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com variações nos tamanhos (CT, mm) dos bagres. Análises de componentes principais (PCA) foram realizadas com o intuito de mensurar quais variáveis influenciaram mais a variabilidade dos dados isotópicos. Além disso, para avaliar possíveis diferenças na área do nicho isotópico de *G. genidens* entre as três regiões da Lagoa dos Patos foi utilizado o método *Stable Isotope Bayesian Ellipses in R*- SIBER (Jackson et al. 2011) e calculada a elipse isotópica padrão (SEA_c). Já o modelo bayesiano de misturas isotópicas SIAR (*Stable Isotope Analysis in R*, Parnell et al. 2010) foi utilizado para

estimar a assimilação das presas no tecido muscular em cada uma das regiões da Lagoa dos Patos.

2.3. Síntese dos Resultados

Os resultados mostram que tanto as presas como os bagres apresentaram razões isotópicas de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) menores na água doce e maiores na região estuarina. Esse padrão pode ser explicado por diferenças isotópicas e nos padrões de ocorrência e dominância dos produtores primários, principalmente plantas aquáticas, que contribuem com nutrientes aos consumidores das cadeias alimentares nos ambientes estuarinos e de água doce da laguna. Esses resultados sugerem que os bagres analisados refletem o gradiente isotópico presente na base da cadeia alimentar entre o estuário e a região de água doce da laguna. Além disso, estes valores corroboram a hipótese de que os indivíduos menores estão conectados troficamente à região estuarina, enquanto os indivíduos maiores estão incorporando nutrientes produzidos na região de água doce da laguna. Esse padrão também foi corroborado ao se analisar o grau de sobreposição do nicho isotópico da espécie, que mostrou ser cerca de 10 vezes maior entre os indivíduos capturados no estuário inferior e superior quando comparados aos que foram capturados na região de água doce da laguna.

Não foram encontradas diferenças significativas nos valores médios das razões isotópicas do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) dos bagres entre as regiões e, tampouco, em relação ao incremento em tamanho. Esse padrão parece refletir o fato dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ na base da cadeia alimentar também não apresentarem diferenças significativas entre a região estuarina e límnica estudada. Já a ausência de correlação entre $\delta^{15}\text{N}$ e tamanho dos bagres poderia ser explicada porque as mudanças na assimilação de presas entre as

regiões não implicou na incorporação de presas com níveis tróficos muito distintos entre si. Além disso, existem diferenças nos itens assimilados pelo bagre entre as três regiões que parecem estar associadas pela variação na disponibilidade e abundância das presas ao longo do gradiente salino da laguna.

2.4. Conclusões

Podemos concluir que indivíduos menores de *G. genidens* estão conectados troficamente a região estuarina e quando atingem maiores tamanhos passam a incorporar nutrientes da região de água doce da Lagoa dos Patos. Os maiores valores de nicho isotópico foram encontrados na região estuarina, podendo ser atribuídos a maior diversidade de macrófitas com composição isotópica distintas (e.g., plantas com fotossíntese C₃ e C₄) e a maior produtividade no estuário. Além disso, existiram mudanças espaciais na assimilação dos alimentos que coincidiram com a variação na disponibilidade de presas ao longo do gradiente ambiental.

2.5. Literatura Citada:

Araújo FG (1984) Hábitos alimentares de três bagres marinhos (Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Atlântica 7: 43-67

Araújo FG (1988) Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Rev Bras Zool 5(4): 509-543

Fry B (2006) Stable Isotope Ecology. Springer, New York

Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. J Anim Ecol 80: 595–602

Marceunik AP (2005) Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriforme, Ariidae) da costa brasileira. Bol Inst Pesca 31: 89–101

Marceniuk AP, Menezes NA (2007) Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), with a redefinition of the genera. Zootaxa 1416:1-126

Mishima M, Tanji S (1982) Nicho alimentar de bagres marinhos (Teleostei, Ariidae) no complexo estuarino lagunar de Cananéia (25°S, 48°W). Bol Inst Pesca 9: 131-140

Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010) Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. Plos One 5e9672

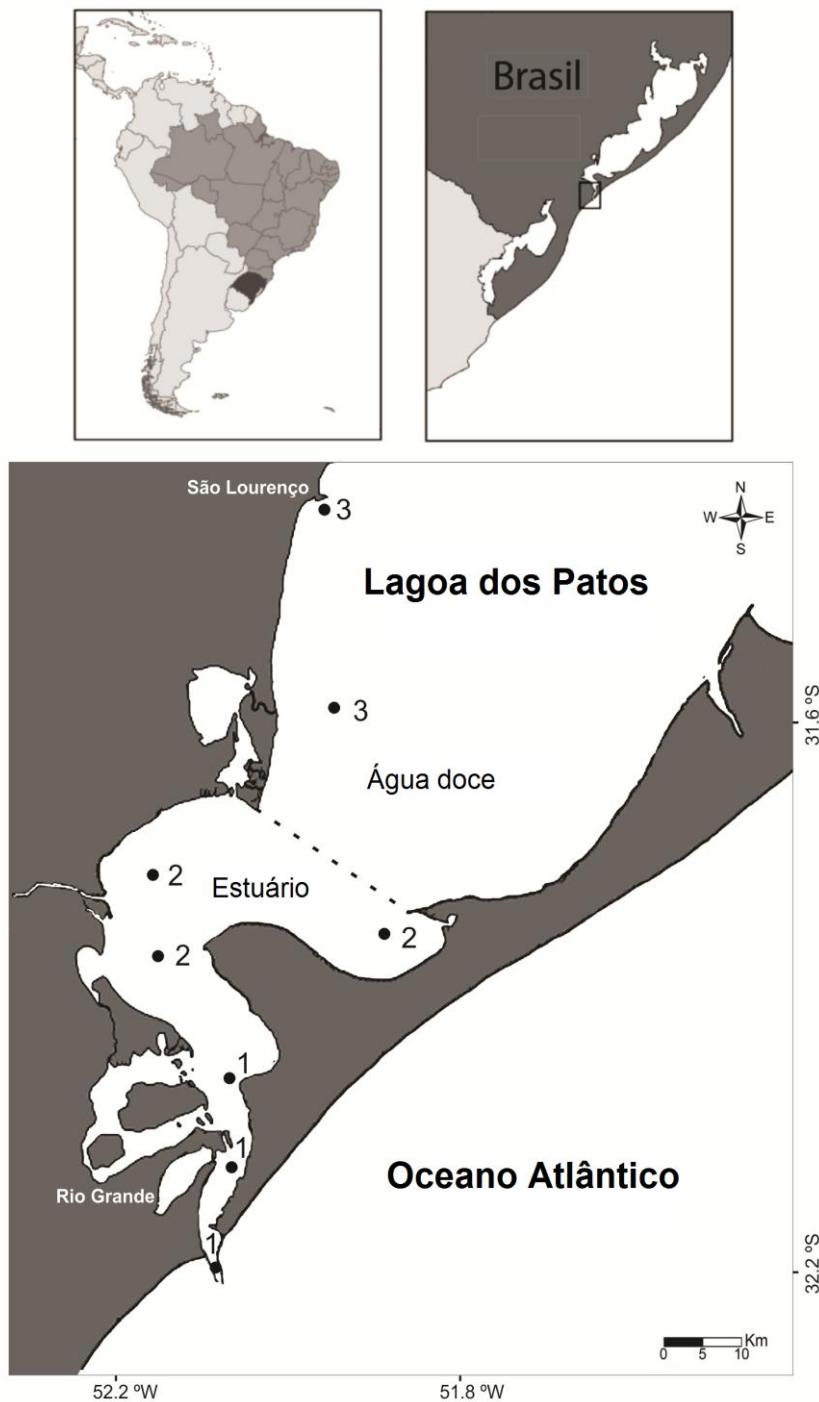


Figura 1: Mapa com estações de coleta na porção estuarina (1: inferior e 2: superior) e água doce (3) da Lagoa dos Patos. Os círculos indicam as locações onde foram coletados espécimes de *Genidens genidens*, fontes alimentares basais (POM e SOM) e presas (invertebrados bentônicos e zooplâncton).

CAPÍTULO II

Padrões de movimentos e uso de habitats do bagre Guri (*Genidens genidens*) ao longo da maior laguna costeira da América do Sul revelados por microquímica de otólitos.

3. Resumo

Considerando as poucas informações disponíveis sobre o uso de habitat de *Genidens genidens*, o objetivo do trabalho foi determinar os padrões de deslocamento desta espécie na maior lagoa costeira da América do Sul por meio de microquímica de otólitos. Foram analisadas as razões de Sr:Ca e Ba:Ca de 48 indivíduos de *G. genidens* ao longo do gradiente salino. Não encontramos diferenças significativas entre os valores de Sr:Ca e Ba:Ca nos núcleos dos otólitos entre as distintas áreas amostrais ($p > 0,68$ e $p > 0,31$, respectivamente). Entretanto, as análises de borda dos otólitos apresentaram diferenças para ambos os elementos ao longo do gradiente salino. Os valores médios da razão Sr:Ca mostraram uma marcada tendência de diminuição do estuário para a região límnica localizada ao norte da Lagoa dos Patos, enquanto os valores médios da razão Ba:Ca na borda dos otólitos mostraram padrão inverso (diminuição em direção ao estuário). As análises do núcleo a borda do otólito mostraram variações individuais nos padrões de concentrações de Sr:Ca e Ba:Ca ao longo da vida. Estes resultados sugerem que *G. genidens* utilizam a região do estuário para se reproduzirem, mas que existem variações individuais no uso do habitat estuarino. Ou seja, esta população realiza migração parcial, onde parte da população migra para água doce e outra parte se mantém como estuarina residente.

Palavras chave: Ariidae, LA-ICPMS, Sr:Ca, Ba:Ca, estuarinos residentes, Semi-catádromo, migrante parcial

3.1. Introdução

Os modos pelos quais espécies utilizam diferentes habitats, na medida em que se deslocam e ao longo do seu desenvolvimento, são informações imprescindíveis para desvendar o ciclo de vida (Rubenstein & Hobson 2004, Clément et al. 2014) e determinar áreas importantes (e.g., zonas de berçário para juvenis e áreas de reprodução) para a conservação (Chittaro et al. 2009, Hegg et al. 2015). O entendimento do uso do habitat por vertebrados aquáticos que percorrem grandes distâncias (dezenas a centenas de quilômetros) constitui um desafio em particular, devido às dificuldades metodológicas para identificar e rastrear os deslocamentos realizados por um determinado indivíduo (Burton & Koch 1999, Carlisle et al. 2012). Além de cruciais para o entendimento da dinâmica populacional e para a conservação das espécies, o entendimento dos padrões de movimento de espécies pode revelar o papel potencial que elas possuem como vetores biológicos transportando matéria e energia entre ecossistemas (Oliveira et al. 2014, McCauley et al. 2015).

Os peixes são usualmente utilizados como modelos para investigar o deslocamento entre diferentes habitats ao longo da vida (Rubenstein & Hobson 2004). Dentre estes, os bagres marinhos da família Ariidae são modelos propícios por incluírem espécies migradoras e serem amplamente distribuídos, principalmente entre as regiões tropicais e subtropicais (Barletta & Blaber 2007). Dependendo da espécie e da região, os bagres podem utilizar o ambiente marinho, estuarino e de água doce como áreas para crescimento, alimentação e reprodução (Chao et al. 1985, Gurgel et al. 2000, Marceunik & Menezes 2007). Na Lagoa dos Patos, maior laguna costeira da América do Sul ($\sim 10.000 \text{ Km}^2$), os bagres marinhos podem migrar por distâncias de até 300 km, desde a desembocadura do estuário até a porção límnetica, no norte da laguna (Milani & Fontoura 2007).

Uma das espécies de bagres marinhos que ocorre na Lagoa dos Patos é o bagre Guri *Genidens genidens* (Cuvier, 1829). Essa espécie ocorre na costa leste da América do Sul, distribuindo-se do nordeste do Brasil ao sul da Argentina (Marceniu & Menezes 2007), sendo comum em ambientes estuarinos, lagunas e eventualmente em regiões marinhas adjacentes aos sistemas lagunares costeiros (Figueiredo & Menezes 1978, Araújo 1996). Apresenta cuidado parental, onde os machos realizam a incubação oral de ovos e larvas (Chaves 1994, Garcia et al. 2006) durante um período de dois a três meses (Barbieri et al. 1992). Com base em amostragens de jovens e adultos, principalmente na porção estuarina da laguna (~10% da área total), estudos sugeriram que a espécie é estuarino-residente (Chao et al. 1985), com preferência pela região superior do estuário na interface com a região límnica (Araújo 1988). Estudos mais recentes mostram que a espécie pode ocorrer na porção de água doce da laguna, distante cerca de 225 km da desembocadura (Ceni 2015). Em outros estuários do Atlântico Sudoeste, onde foram realizados estudos de distribuição espacial da abundância de jovens e adultos também foi sugerido que *G. genidens* ocorre principalmente em regiões estuarinas (Mishima & Tanji 1981, Gomes & Araújo 2004, Schmidt et al. 2008, Denadai et al. 2012), porém os padrões de deslocamento entre os ambientes mixohalino e límnico dessas regiões ainda não foram suficientemente avaliados.

Uma forma de avaliar padrões de movimento de peixes migradores é o uso de marcadores naturais como a microquímica de otólitos (Campana 1999, Rooker et al. 2008). Essa técnica permite reconstruir as condições ambientais vivenciadas pelo organismo ao longo de sua vida a partir do estudo da incorporação de elementos químicos nos otólitos dos peixes teleósteos (Campana 1999, Elsdon et al. 2008), possibilitando determinar padrões de deslocamento de espécies migradoras (Thorrolld et al. 2001, Wells et al. 2012) e diferenciar estoques populacionais (Campana et al. 2000,

Volpedo & Cirelli 2006). Essa ferramenta tem sido cada vez mais utilizada nos últimos 20 anos (Secor et al. 1995, Patterson et al. 2005, Albuquerque et al. 2010, Hart et al. 2015) e se fundamenta na relação positiva e negativa das razões Sr:Ca e Ba:Ca nos otólitos com a salinidade da água, respectivamente (Elsdon & Gillanders 2002, Elsdon et al. 2008, Avigiano et al. 2014).

O presente estudo teve como objetivo caracterizar os padrões de movimento ao longo do gradiente salino da Lagoa dos Patos a partir da análise da microquímica de otólitos do bagre *G. genidens*. Nossa hipótese é que embora a espécie se distribua por toda a extensão da laguna, desde a região estuarina até a porção lúmica (> 300 km), a espécie é restrita à região mixohalina durante a fase inicial do seu desenvolvimento.

3.2. Materiais & Métodos

Área de estudo

A Lagoa dos Patos (LP) está localizada na planície costeira do sul do Brasil (Fig. 1), sendo a maior da América do Sul e uma das maiores do mundo (Kjerfve 1986). Possui uma área total de aproximadamente 10.360 km^2 e cerca de 80% de sua área é caracterizada por ambientes de água doce (Seeliger 2001). A LP recebe o aporte de água doce dos rios da parte norte da planície costeira do Rio Grande do Sul e dos rios afluentes da Lagoa Mirim, formando um escoadouro natural para o oceano (Möller & Fernandes 2010). A conexão com o oceano Atlântico ocorre através de um canal com cerca de 4,0 km de extensão e com largura variando de 1,5 km (na sua base) à 0,5 (na sua porção terminal), com uma extensa porção estuarina, de cerca de 1.000 km^2 de área (Seeliger 2001). Com base na distribuição e abundância das espécies de peixes na Lagoa

dos Patos, Vieira e colaboradores (2010) dividiram a laguna em três regiões: estuário inferior (próximo a desembocadura), estuário superior e região límnica (Fig. 1).

Amostragem e preparação de amostras

Foram amostrados 48 indivíduos de *G. genidens* entre os anos de 2012 e 2014. Destes, 23 foram coletados no estuário inferior, 6 no estuário superior e 10 na região límnica (Fig. 1). Os peixes da porção estuarina foram coletados através de arrastos de fundo a bordo da Lancha Oceanográfica Larus da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e com pescadores artesanais locais, enquanto que os peixes da região límnica foram obtidos com auxilio de pescadores artesanais locais. Dados de biometria, como comprimento total (CT – mm) e peso total (PT – g), foram mensurados em laboratório para todos os indivíduos.

O par de otólitos *lapillus* foi escolhido para análise química, pois esses são os mais desenvolvidos nos Ariideos (Acero & Betancur 2007). Após a extração, os otólitos foram limpos, secos, emblocados em resina de poliéster cristal e seccionados em espessura de 0,3 mm através de uma serra metalográfica (Buehler, Lake Bluff, IL). Os cortes foram fixados em uma lâmina histológica com cola de secagem rápida e foram polidos, lavados com água Mili-Q, enxaguados com água deionizada e armazenadas em capela de fluxo laminar até a análise química.

Foram utilizados dados históricos de salinidade obtidos sazonalmente entre 1987 e 1988 pelo projeto BELAP a bordo de cruzeiros de pesquisa desde a desembocadura até a porção límnica no extremo norte da LP (~225 Km da desembocadura). Adicionalmente, foram utilizados dados entre 2000 e 2001 obtidos mensalmente desde a desembocadura até uma região límnica da LP distante cerca de 180 Km da

desembocadura (Raseira 2003). Estes dados históricos foram utilizados para demonstrar a variação de salinidade ao longo do eixo longitudinal da LP, desde sua porção estuarina próxima a desembocadura, passando pela zona de transição até a região límnicka no extremo norte da laguna (Fig. 1 e 2).

Análise de composição elementar dos otólitos

No Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUCRJ) foram realizados transectos entre o núcleo e a borda do otólito, determinando a concentração de cálcio (^{43}Ca), estrôncio (^{86}Sr) e bário (^{138}Ba) através um sistema de ablação a laser Nd-YAG (CETAC, LSX 100) operando a 266 nm de comprimento de onda e potência de 0,4 – 0,6 mJ pulso-1, acoplado a um LA-ICPMS (Perkin Elmer Nex-Ion) operando com potência de 1200 watts. A precisão da análise foi avaliada através da estimativa do desvio-padrão relativo de 10 medições consecutivas do padrão NIST 1834, resultando em desvios padrões relativos (RSD) de 3,99, 6,91 e 12,43% para ^{43}Ca , ^{86}Sr e ^{138}Ba , respectivamente.

Análises estatísticas

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) de uma via para testar as diferenças dos tamanhos médios dos indivíduos entre os locais amostrados e as diferenças entre elementos:Ca por local (estuário inferior, estuário superior e região límnicka), tanto para a região do núcleo quanto para a borda do otólito. Quando necessário, foram realizadas comparações post-hoc pareadas pelo teste de Tukey para determinar as diferenças entre as médias.

As taxas de incorporação dos elementos químicos nos otólitos podem variar ao longo da ontogenia da espécie (Campana 1999). No intuito de minimizar esse efeito sobre a interpretação dos resultados, as comparações dos valores médios de Sr:Ca e Ba:Ca no núcleo e na borda do otólito para as três regiões da laguna foram realizadas com todos os indivíduos ($n=48$) e também com um subamostra ($n=15$) contendo apenas aqueles com tamanhos entre 290 e 340 mm CT. Embora esse procedimento provavelmente não tenha sido suficiente para controlar todos os possíveis efeitos da ontogenia, acreditamos que tenha auxiliado em minimizar em parte esses efeitos. Isso porque variações na taxa de assimilação devido ao incremento em tamanho são usualmente maiores no início da vida dos indivíduos (Campana 1999) e o procedimento adotado descartou especialmente os indivíduos de menor porte (<200 mm CT), fazendo com que a amplitude de variação diminuisse de 407 para 50 mm CT (i.e., de 58-465 para 290-340 mm CT).

A fim de avaliar a variabilidade no padrão de uso de habitat, as flutuações nas relações de Sr:Ca e Ba:Ca ao longo de todo o perfil núcleo-borda foram utilizadas como proxies para a movimentação dos indivíduos ao longo do gradiente de salinidade. Para auxiliar na visualização da flutuação das razões Sr:Ca e Ba:Ca ao longo do eixo de crescimento dos otólitos, os valores absolutos foram convertidos em médias móveis de ordem 4.

3.3. Resultados

Os valores de salinidade apresentaram um padrão decrescente desde a desembocadura, na porção sul da laguna próxima ao mar (estuário inferior), até a região límnica localizada na porção ao norte da laguna. Os valores médios próximos à desembocadura foram os mais elevados ($8,4 \pm 1,7$) do que na região superior do estuário

($1,8 \pm 1,0$), enquanto no ambiente límnetico o valor médio ficou próximo a zero ($0,4 \pm 0,3$) (Fig. 2A). A variação nos tamanhos médios dos indivíduos capturados teve uma tendência oposta em relação ao gradiente salino (Fig. 2B). Os indivíduos com tamanhos menores foram capturados próximos à desembocadura ($149,1 \pm 43,7$ mm CT) e apresentaram maiores na área do estuário superior ($334,3 \pm 9,7$ mm CT) e região límnetica ($371,4 \pm 31,3$ mm CT) da laguna (Tab. 1).

Os valores médios da razão Sr:Ca na região do núcleo dos 48 indivíduos analisados variaram entre 0,66 e 0,68 e não apresentaram diferenças significativas entre as áreas de estudo (ANOVA, $F = 0,375$, $p = 0,68$) (Fig. 3A). O mesmo padrão foi observado para os valores médios da razão Ba:Ca na região do núcleo dos otólitos (ANOVA: $F = 1,150$, $p > 0,31$) (Fig. 3B), os quais variaram entre 0,11 e 0,12. Por outro lado, as análises de borda dos otólitos apresentaram diferenças bem marcadas entre os locais para ambos os elementos (Sr e Ba). Os valores médios da razão Sr:Ca mostraram uma marcada tendência de diminuição do estuário para a região límnetica, havendo diferenças significativas (Tukey: $p < 0,01$) entre os locais (Fig. 3C). Em contrapartida, os valores médios da razão Ba:Ca na borda dos otólitos mostraram padrão inverso ao observado para a razão Sr:Ca, com uma marcada tendência de aumento em direção a região límnetica. Houve diferença significativa entre a região límnetica e o estuário superior (Tukey: $p < 0,01$) e inferior (Tukey: $p < 0,01$), no entanto, apesar da concentração de Ba:Ca ser maior no estuário superior, não houve diferença significativa (Tukey: $p = 0,70$) deste com o estuário inferior (Fig. 3D).

Considerando a concentração dos elementos na borda dos otólitos, houve correlação negativa estatisticamente significativa entre os tamanhos dos indivíduos analisados e a razão Sr:Ca ($r = -0,63$; $p < 0,001$; $r^2 = 0,40$), quanto para a razão Ba:Ca (r

$= 0,29$; $p < 0,043$; $r^2 = 0,08$) (Fig. 4). Visando minimizar o efeito dessa correlação na comparação entre regiões, foi realizada a comparação dos valores médios dos elementos na região da borda dos otólitos para indivíduos com tamanhos semelhantes (entre 290 e 340 mm CT; $n=15$), a qual revelou o mesmo padrão observado na figura 3C, D, onde foram analisados todos os indivíduos amostrados ($N=48$). Sendo assim, independentemente das diferenças de tamanho, as variações nos valores médios de razões Sr:Ca e Ba:Ca na borda dos otólitos ao longo do gradiente halino apresentou um padrão claro: diminuição nos valores médios da razão Sr:Ca em direção a região límnea (Fig. 3E) e diminuição da razão Ba:Ca em direção a região estuarina da laguna (Fig. 3F).

A análise dos transectos ‘núcleo-borda’ nos otólitos mostrou variações individuais, principalmente quando comparados indivíduos coletados no estuário inferior e superior com região de água doce. Os peixes coletados no estuário apresentaram um padrão mais similar, sendo considerados como estuarinos residentes. Já os peixes da região de água doce apresentaram um perfil semelhante ao observado na borda dos otólitos (i.e., diminuição do Sr:Ca do estuário inferior a água doce e o inverso para o Ba:Ca) sendo considerados semi-catádromos (Fig.5).

3.4. Discussão

Os valores de Sr:Ca e Ba:Ca encontrados na borda dos otólitos seguiram a tendência do gradiente de salinidade da laguna. A técnica conseguiu diferenciar os três ambientes devido às variações dos elementos entre as regiões, uma vez que há uma relação positiva do estrôncio com águas mais salgadas e o bário que é um forte indicador de águas doces (Elsdon & Gillanders 2006, Miller 2011, Sturrock et al. 2012). Além disso, os valores médios de Ba:Ca na borda dos otólitos detectados no presente

estudo (~ 0,12) podem ser utilizados como indicadores (*proxys*) aceitáveis para avaliação de movimento por serem próximos aos encontrados por Mai e colaboradores (2014) para a manjuba *Lycengraulis grossidens* (~0,17). Já os valores de Sr:Ca diferiram bastante entre os estudos, onde apresentaram valores mais baixos para a manjuba (~ 0,15) e para o bagre foram em média (~0,67) na região próxima a desembocadura. Os valores dos elementos encontrados nos otólitos refletem a exposição do indivíduo ao meio e a sua própria fisiologia, então é esperado que diferentes grupos de peixes apresentem diferenças na incorporação dos elementos (Campana 2005).

A similaridade na composição química do núcleo dos otólitos dos indivíduos de *G. genidens*, capturados desde a região estuarina próxima a desembocadura até uma região dulcícola distante 225 km do mar, sugere que eles experimentaram um ambiente químico semelhante na fase inicial das suas vidas. Uma dificuldade em usar a composição química dos otólitos na região do núcleo como indicador de origem do indivíduo é que a assimilação dos elementos químicos nos otólitos pode ocorrer durante a deriva dos ovos e larvas (Campana 1999). Esse intervalo de tempo (desde o início da formação do otólito até o recrutamento dos indivíduos ao habitat) pode causar incertezas na aferição do local de desova ou nascimento. Esse problema foi, em princípio, minimizado no presente estudo, pois o bagre *G. genidens* não é um desovante pelágico, mas uma espécie de hábitos bentônicos com cuidado parental, que incuba os ovos e os filhotes recém-nascidos (Chaves 1994, Garcia et al. 2006), garantindo um certo grau de fidelidade à área. Assim, é plausível inferir que a similaridade na composição química (Sr e Ba) observada nos otólitos de *G. genidens* seja indicativa de uma área de desova em um ambiente com características químicas semelhantes. Essa área provavelmente é um ambiente oligohalino considerando que os valores médios absolutos de Sr:Ca do

núcleo de todos os indivíduos ($0,67 \pm 0,21$) foram semelhantes aos valores encontrados na borda dos otolitos dos indivíduos do estuário inferior ($0,67 \pm 0,20$). Outras evidências obtidas em estudos anteriores reforçam a hipótese de que a área de crescimento inicial da espécie nessa laguna seja uma região com influência da salinidade (região mixohalina). Por exemplo, i) todos os indivíduos coletados na região do estuário superior durante o presente estudo foram classificados macroscopicamente como fêmeas maduras (P.E.R. Pereyra, observação pessoal); ii) Araújo (1988) analisou os padrões de distribuição da abundância de jovens e adultos da laguna e observou maior densidade de juvenis na região estuarina; iii) o registro publicado de indivíduos realizando incubação oral de ovos nessa laguna é oriundo de um local próximo ao limite norte do estuário (Garcia et al. 2006).

No entanto, os valores médios relativamente altos da razão Ba:Ca (~0,12) encontrados no núcleo de todos indivíduos analisados, parece contradizer a hipótese anterior de uma área de crescimento inicial na região estuarina, isso porque valores elevados de bário (Ba) são associados a ambientes de água doce (Miller 2011, Sturrock et al. 2012). Albuquerque et al. (2010) encontraram valores relativamente altos de Ba na região do núcleo dos otolitos da corvina (*Micropogonias furnieri*) na Lagoa dos Patos e atribuíram isso a possíveis variações na taxa de absorção de Ba que podem ocorrer ao longo da ontogenia da espécie, especialmente na fase inicial da vida. Esse enriquecimento de metais traço no núcleo pode ser encontrado para outras espécies de peixes (Campana 1999, Ruttenberg et al. 2005). Além disso, a grande maioria dos perfis mostraram uma queda acentuada do Ba no inicio da vida, demonstrando ser um indicio de variação ontogenética, principalmente por que essa queda não foi acompanhada pelo Sr. Indicando que depois que o animal amadureceu passou a expressar as variações ambientais. As mudanças ao longo da ontogenia podem resultar em alterações na

morfologia e fisiologia do indivíduo, as quais podem agir nos processos de deposição dos elementos e influenciar nas composições químicas elementares nos otólitos (Elsdon & Gillanders 2003). Embora levamos em consideração os possíveis efeitos associados a ontogenia ao analisarmos a composição química da borda dos otólitos dos indivíduos de tamanhos similares entre os três ambientes da laguna, a qual resultou num padrão igual ao encontrado na análise de todos os indivíduos coletados, não podemos descartar as influências ontogenéticas dos nossos resultados. Um outro fator que pode ser levado em consideração e que poderia aumentar a taxa de assimilação do Ba é a sinergia com outros elementos químicos presentes na água. Por exemplo, estudos experimentais demonstraram que a adição de estrôncio (Sr) em água salobra pode facilitar a incorporação de bário (Ba) nos otólitos de *Acanthopagrus butcheri* (de Vries et al. 2005), sendo que o inverso (i.e., adição de Ba facilitando assimilação de Sr) não foi observado. Futuros estudos experimentais seriam necessários para avaliar se esse mecanismo poderia estar aumentando a taxa de assimilação de Ba nos indivíduos de *G. genidens* que foram capturados na região estuarina.

Em contraste com a similaridade observada na região do núcleo, a composição química (Sr e Ba) da borda dos otólitos variou marcadamente entre as regiões estuarina e límnica da laguna; com valores médios de Sr:Ca maiores nos indivíduos coletados no estuário e menores naqueles coletados na região límnica e um padrão inverso para o Ba:Ca. Essa variação espacial na composição química dos otólitos também foi observada ao longo do transecto núcleo-borda dos otólitos da maioria dos indivíduos analisados. Os perfis encontrados demonstraram que *G. genidens* podem apresentar variações individuais no uso do habitat estuarino, podendo ser em sua grande maioria classificados como estuarinos residentes. Entretanto, alguns indivíduos maiores (>290

mm) se deslocam da região estuarina para a região límnica da laguna a medida que crescem, passando a apresentar em seus perfis um acréscimo nos valores de Ba:Ca. Esses indivíduos poderiam ser classificados como semi-catádromos. Essa variabilidade individual poderia ser explicada pela teoria da migração parcial, que prevê a ocorrência de indivíduos residentes na sua área natal e outros migrantes na população (Chapman et al. 2012a). Por exemplo, estudos aplicando a mesma técnica numa espécie congenérica de bagre marinho demonstraram que *G. barbus* do estuário do rio da Prata e do estuário da Lagoa dos Patos podem apresentar comportamentos complexos e altamente variáveis entre as regiões e entre os fenótipos estudados; com alguns realizando migrações entre o estuário e a plataforma, enquanto outros apresentando maior dependência do ambiente estuarino (Avigliano et al. 2015). Diferentes padrões no uso de habitat também foram observados em populações de outras famílias de peixes na região. Por exemplo, Mai e colaboradores (2014) encontraram um marcado grau de plasticidade no uso do habitat pela manjuba *Lycengraulis grossidens*. Como apontado por Chapman e colaboradores (2012b), condições ambientais como a disponibilidade de recursos ou pressão de predação podem influenciar na decisão de migrar ou permanecer em um mesmo habitat. Os primeiros estudos sobre a distribuição espacial de *G. genidens* na Lagoa dos Patos já levantavam a hipótese de que a migração de adultos para a região de água doce ao norte da laguna seria uma forma de minimizar a competição com espécies congenéricas de bagre (*G. barbus* e *G. planifrons*) que ocorrem em simpatria com *G. genidens* (e.g., Araujo 1988).

Em suma, nossos resultados sugerem que *G. genidens* apresenta um agrupamento durante o desenvolvimento inicial, provavelmente na região mixohalina. Ao longo do seu desenvolvimento, a espécie pode permanecer na região do estuário

inferior ou se deslocar para água doce. Entretanto, os perfis individuais de Sr: Ca e Ba: Ca ao longo do transecto “núcleo-borda” não apresentaram padrão semelhantes para todos os indivíduos, sugerindo que existam padrões de deslocamento distinto dentro da população. Para determinar efetivamente o ciclo de vida dessa espécie são necessários estudos futuros sobre a validação dos anéis de crescimento para correlacionar idade/tamanho de primeira maturação a migração, bem como testes laboratoriais para avaliar as taxas de deposição dos elementos em diferentes concentrações de salinidade.

3.5. Literatura Citada:

- Acero PA, Betancur RR (2007) Monophyly, affinities, and subfamilial clades of sea catfishes (Siluriformes: Ariidae). *Ichthyol Explor Fresh* 18(2): 133-143
- Albuquerque CQ, Miekeley N, Muelbert JH (2010) Whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri*, trapped in a freshwater coastal lagoon: a natural comparison of freshwater and marine influences on otolith chemistry. *Neotrop Ichthyol* 8(2): 311-320
- Araújo FG (1988) Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. *Rev Bras Zool* 5(4): 509-543
- Araújo FG (1996) Composição e estrutura da comunidade de peixes do médio e baixo Rio Paraíba do Sul, RJ. *Rev Bras Biol* 56(1): 111-126
- Avigliano E, Martinez CFR, Volpedo AV (2014) Combined use of otolith microchemistry and morphometry as indicators of the habitat of the silverside (*Odontesthes bonariensis*) in a freshwater-estuarine environment. *Fish Res* 149: 55–60
- Avigliano E, Velasco G, Volpedo AV (2015) Assessing the use of two southwestern Atlantic estuaries by different life cycle stages of the anadromous catfish *Genidens barbus* (Lacépède, 1803) as revealed by Sr: Ca and Ba: Ca ratios in otoliths. *J Appl Ichthyol* 1-4. doi:10.1111/jai.12766

- Barbieri LR, Santos RP, Andreata JV (1992) Reproductive biology of the marine catfish, *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae), in the Jacarepaguá lagoon system, Rio de Janeiro, Brasil. Environ Biol Fishes 35: 23-35
- Barletta M, Blaber SJM (2007) Comparison of fish assemblages and guilds in tropical habitats of the Embley (Indo-West Pacific and Caeté (Western Atlantic) estuaries. Bull Mar Sci 80: 647-680
- Burton RK, Koch PL (1999) Isotopic tracking of foraging and long-distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. Oecologia 119: 578-585
- Campana SE (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Mar Ecol Prog Ser 188: 263–297
- Campana SE, Chouinard GA, Hanson JM, Frechet A, Brattey J (2000) Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. Fish Res 46(1): 343–357
- Campana SE (2005) Otolith elemental composition as a natural marker of fish stocks. In: Cadrin SX, Friedland KD, Waldman JR (eds.) Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science. London, Elsevier Academic Press. pp: 227-245
- Carlisle AB, Kim SL, Semmens BX, Madigan DJ, Jorgensen SJ, Perle CR, Anderson SD, Chapple TK, Kanive PE, Block BA (2012) Using Stable Isotope Analysis to Understand the Migration and Trophic Ecology of Northeastern Pacific White Sharks (*Carcharodon carcharias*). PLoS ONE 7(2): e30492. doi:10.1371/journal.pone.0030492
- Ceni G (2015) Contribuições à gestão pesqueira da Laguna dos Patos, RS, Brasil. Tese de doutorado. PUCRS, Porto Alegre. 98p
- Chao LH, Pereira LE, Vieira JP (1985) Estuarine fish community of the dos Patos Lagoon, Brazil: a baseline study. In: Yáñez-Arancibia A (ed.) Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons: towards ecosystem integration. Mexico, UNAM Press. pp: 429-450
- Chapman BB, Skov C, Hulthén K, Brodersen J, Nilsson PA, Hansson LA, Brönmark C (2012a) Partial migration in fishes: definitions, methodologies and taxonomic distribution. J Fish Biol 81: 479-499

- Chapman BB, Skov C, Hulthén K, Brodersen J, Nilsson PA, Hansson LA, Brönmark C (2012b) Partial migration in fishes: causes and consequences. *J Fish Biol* 81: 456–478
- Chaves PTC (1994) A incubação de ovos e larvas em *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriforme, Ariidae) da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Rev Bras Zool* 11(4): 641-648
- Chittaro PM, Finley RJ, Levin PS (2009) Spatial and temporal patterns in the contribution of fish from their nursery habitats. *Oecologia* 160: 49–61. doi: 10.1007/s00442-009-1282-4
- Clément M, Chiasson AG, Veinott G, Cairns DK (2014) What otolith microchemistry and stable isotope analysis reveal and conceal about anguillid eel movements across salinity boundaries. *Oecologia* 175: 1143-1153. doi: 10.1007/s00442-014-2969-8
- Denadai MR, Bessa E, Santos FB, Fernandez WS, Santos FMC, Feijó MM, Arcuri ACD, Turra A (2012) Life history of three catfish species (Siluriformes: Ariidae) from southeastern Brazil. *Biota Neotrop* 12: 74-83
- Elsdon TS, Gillanders BM (2002) Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenges for determining environmental histories of fish. *Can J Fish Aquat Sci* 59: 1796-1808
- Elsdon TS, Gillanders BM (2003) Reconstructing migratory patterns of fish based on environmental influences on otolith chemistry. *Rev Fish Biol Fisher* 13: 219-235
- Elsdon TS, Gillanders BM (2006) Identifying migratory contingents of fish by combining otolith Sr:Ca with temporal collections of ambient Sr:Ca concentrations. *J Fish Biol* 69: 643–657
- Elsdon TS, Wells BK, Campana SE, Gillanders BM, Jones CM, Limburg KE, Secor DH, Thorrold SR, Walther BD (2008) Otolith chemistry to describe movements and life history parameters of fishes: hypotheses, assumptions, limitations and inferences. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 46: 297–330
- Figueiredo JL, Menezes NA (1978) Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. V. Teleostei (1). São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

- Garcia AM, Vieira JP, Burns MDM (2006) *Genidens genidens* (Cuvier) (Pisces, Ariidae), oral incubation of eggs. Panamjas 1(2): 87
- Gomes ID, Araújo FG (2004) Reproductive biology of marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba bay, Brazil. Rev Biol Trop 52(1): 143-156
- Gurgel HCB, Albuquerque CQ, Souza DSL, Barbieri G (2000) Aspectos da biologia pesqueira em fêmeas de *Cathorops spixii* do estuário do rio Potengi, Natal/RN, com ênfase nos índices biométricos. Acta Sci 22(2): 503-505
- Hart LM, Bond MH, May-McNally SL, Miller JA, Quinn TP (2015) Use of otolith microchemistry and stable isotopes to investigate the ecology and anadromous migrations of Northern Dolly Varden from the Egegik River, Bristol Bay, Alaska. Environ Biol Fish 98: 1633-1643
- Hegg JC, Giarrizzo T, Kennedy BP (2015) Diverse Early Life-History Strategies in Migratory Amazonian Catfish: Implications for Conservation and Management. Plos One 10(7): e0129697. doi:10.1371/journal.pone.0129697
- Holmlund CM, Hammer M (1999) Ecosystem services generated by fish populations. Ecol Econ 29: 253–268
- Kjerfve B (1986) Comparative oceanography of coastal lagoons. In: Wolfe DA (ed.) Estuarine Variability. New York, Academic Press. pp: 63-82
- Mai ACG, Condini MV, Albuquerque CQ, Loebmann D, SaintPierre TD, Miekeley N, Vieira JP (2014) High plasticity in habitat use of *Lycengraulis grossidens* (Clupeiformes, Engraulidae). Estuar Coast Shelf Sci 141: 17-25
- Marceniuk AP, Menezes NA (2007) Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), with a redefinition of the genera. Zootaxa 1416: 1-126.
- McCauley DJ, Dawson TE, Power ME, Finlay JC, Ogada M, Gower DB, Caylor K, Nyingi WD, Githaiga JM, Nyunja J, Joyce FH, Lewison RL, Brashares JS (2015) Carbon stable isotopes suggest that hippopotamus-vectored nutrients subsidize aquatic consumers in an East African river. Ecosphere 6(4): 52. doi:10.1890/ES14-00514.1

Milani PCC, Fontoura NF (2007) Diagnóstico da pesca artesanal na Lagoa do Casamento, sistema nordeste da Laguna dos Patos: uma proposta de manejo. Biociências 15: 82-125

Miller JA (2011) Effects of water temperature and barium concentration on otolith composition along a salinity gradient: Implications for migratory reconstructions. J Exp Mar Biol Ecol 405: 42-52

Mishima M, Tanji S (1981) Fatores ambientais relacionados à distribuição e abundância de bagres marinhos (Osteichthyes, Ariidae) no complexo estuarino lagunar de Cananéia (25°S, 48°W) Bol Inst Pesca 10: 17-27

Möller OO, Fernandes EH (2010) Hidrologia e hidrodinâmica. In: Seeliger U, Odebrecht C (eds.) O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações. Rio Grande, FURG. pp: 17–27

Oliveira MCLM, Bastos RF, Claudino MC, Assumpção CM, Garcia AM (2014) Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. Aquat Biol 20: 91–100. doi: 10.3354/ab00544

Patterson HM, Kingsford MJ, McCulloch MT (2005) Resolution of the early life history of a reef fish using otolith chemistry. Coral Reefs 24: 222-229

Raseira MB (2003) Análise espaço-temporal da associação de peixes das zonas rasas da Lagoa dos Patos e região costeira adjacente. Dissertação de mestrado, FURG. 113p

Rooker JR, Secor DH, De Metrio G, Kaufman JA, Belmonte Rios A, Ticina A (2008) Evidence of trans-Atlantic mixing and natal homing of bluefin tuna from stable isotopes in otoliths. Mar Ecol Prog Ser 368: 231–239

Rubenstein DR, Hobson KA (2004) From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. Trends Ecol Evol 19: 256–63

Ruttenberg BI, Hamilton SL, Hickford MJH, Paradis GL, Sheehy MS, Standish JD, Ben-Tzvi O, Warner RR (2005) Elevated levels of trace elements in cores of otoliths and their potential for use as natural tags. Mar Ecol Prog Ser 297: 273-281

- Secor DH, Henderson-Arzapalo A, Piccoli PM (1995) Can otolith microchemistry chart patterns of migration and habitat utilization in anadromous fishes? *J Exp Mar Biol Ecol* 192: 15-33
- Seeliger U (2001) The Patos Lagoon Estuary, Brazil. In: Seeliger U, Kjerfve B (eds.) *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. Berlin, Springer-Verlag Berlin. pp: 167-182
- Schmidt TCS, Martins IA, Reigada ALD, Dias JF (2008) Taxocenose de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da região estuarina de São Vicente, SP, Brasil. *Biota Neotrop* 8(4): 73-81
- Sturrock AM, Trueman CN, Darnaude AM, Hunter E (2012) Can otolith elemental chemistry retrospectively track migrations in fully marine fishes? *J Fish Biol* 81: 766-795
- Thorrold SR, Latkoczy C, Swart PK (2001) Natal homing in a marine fish metapopulation. *Science* 291: 297–299
- Vieira JP, Garcia A, Moraes L (2010) A assembléia de peixes. In: Seeliger U, Odebrecht C (eds.) *O estuário da Lagoa dos Patos: Um século de transformações*. Rio Grande, FURG. pp: 79-88
- Volpedo AV, Cirelli AF (2006) Otolith chemical composition as a useful tool for sciaenid stock discrimination in the south-western Atlantic. *Sci Mar* 70 (2): 325-334
- Vries MC, Gillanders BM, Elsdon T (2005) Facilitation of barium uptake into fish otoliths: influence of strontium concentration and salinity. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 69: 4061-4072
- Wells RJD, Rooker JR, Itano DG (2012) Nursery origin of yellowfin tuna in the Hawaiian Islands. *Mar Ecol Prog Ser* 461: 187-196

Tabela I - Média e desvio padrão do comprimento total dos peixes e das concentrações de estrôncio e bário nos otólitos coletados nas três regiões. n=48

Regiões	n	Comprimento Total (mm)		$^{86}\text{Sr}:\text{Ca}^{43}$		$^{138}\text{Ba}:\text{Ca}^{43}$	
		Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max
Estuário Inferior	23	184.82±98.68	58-343	0.66±0.21	0.06-1.51	0.09±0.06	<0.01-0.68
Estuário Superior	6	335.13±8.26	323-345	0.66±0.22	0.16-1.47	0.09±0.06	0.01-0.58
Água Doce	19	378.57±61.89	293-465	0.58±0.24	0.10-1.97	0.09±0.05	0.01-0.67

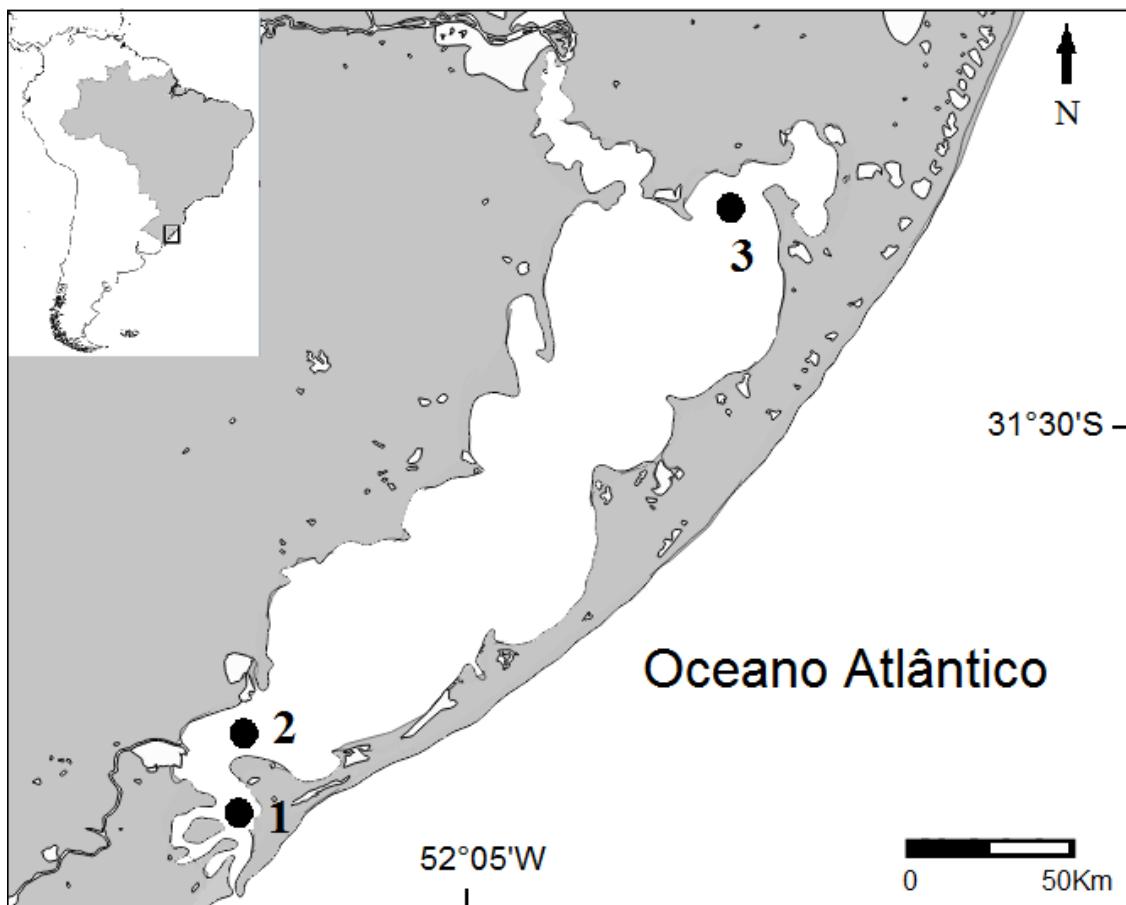


Figura 1: Lagoa dos Patos (10.360 km^2) no sul do Brasil, mostrando os locais de amostragem do bagre Guri *Genidens genidens*. 1) estuário inferior, 2) estuário superior e 3) região límnica da Lagoa dos Patos.

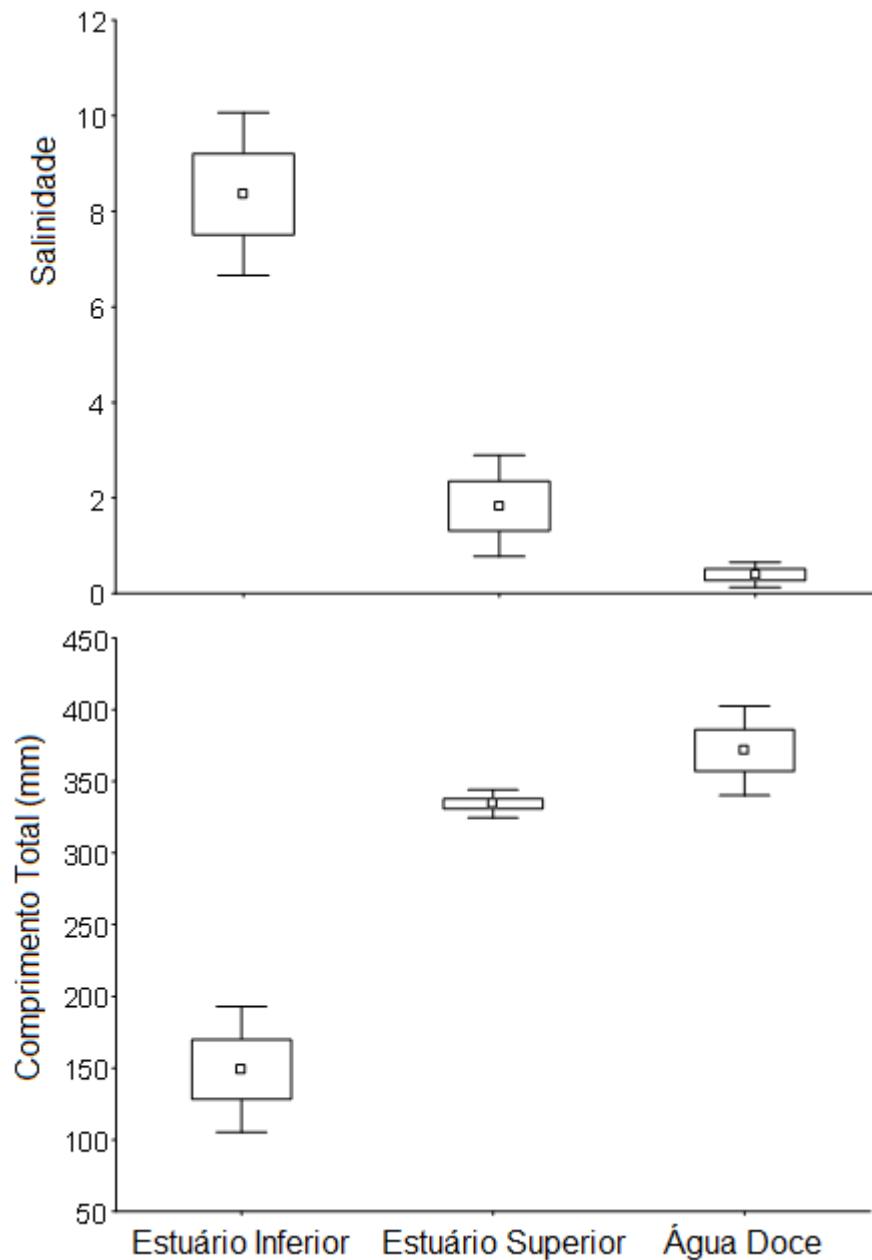


Figura 2: Valores médios (\pm IC-95%) de salinidade (A) e do comprimento total (CT, mm) do bagre *Guri Genidens genidens* (B) nas regiões do estuário inferior, estuário superior e límnica da Lagoa dos Patos

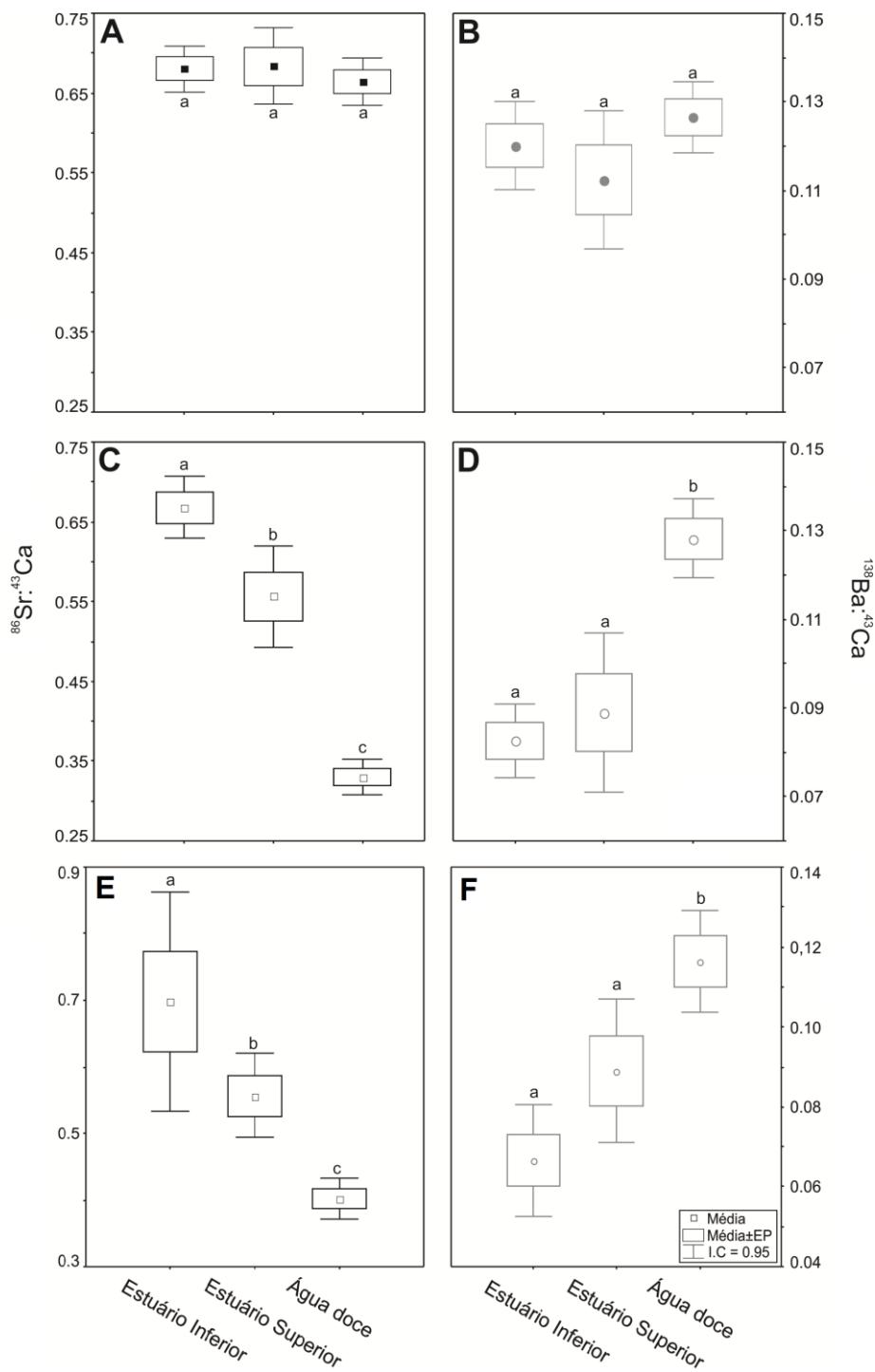


Figura 3: Valores médios ($\pm\text{IC-95\%}$) das razões entre Sr:Ca e Ba:Ca dos otólitos do bagre Guri *Genidens genidens* entre as regiões do estuário inferior, estuário superior e região límnica da Lagoa dos Patos. A e B: Referente a região do núcleo do otólito. C e D: Referente a borda do otólito. E e F: Borda do otólito para os indivíduos com comprimento total (CT) entre 290 e 350 mm CT. Letras diferentes acima dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as médias dos valores.

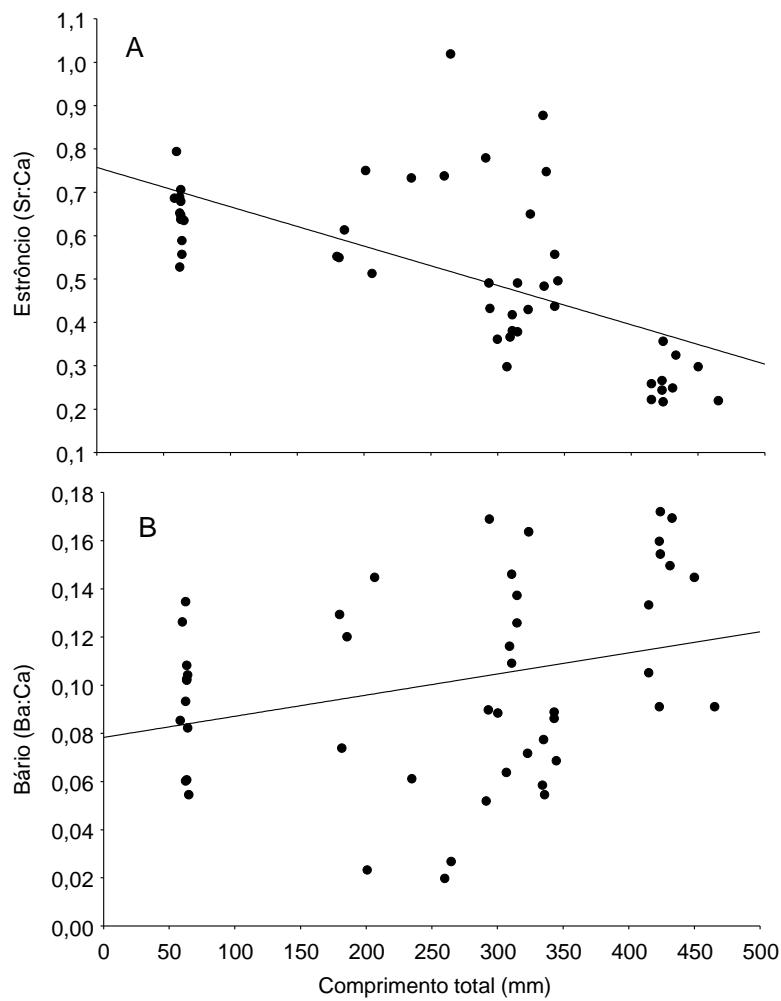


Figura 4: Regressão linear entre o comprimento total (CT, mm) dos indivíduos do bagre *Genidens genidens* e as razões Sr:Ca (A) e Ba:Ca (B) da região da borda dos otólitos.

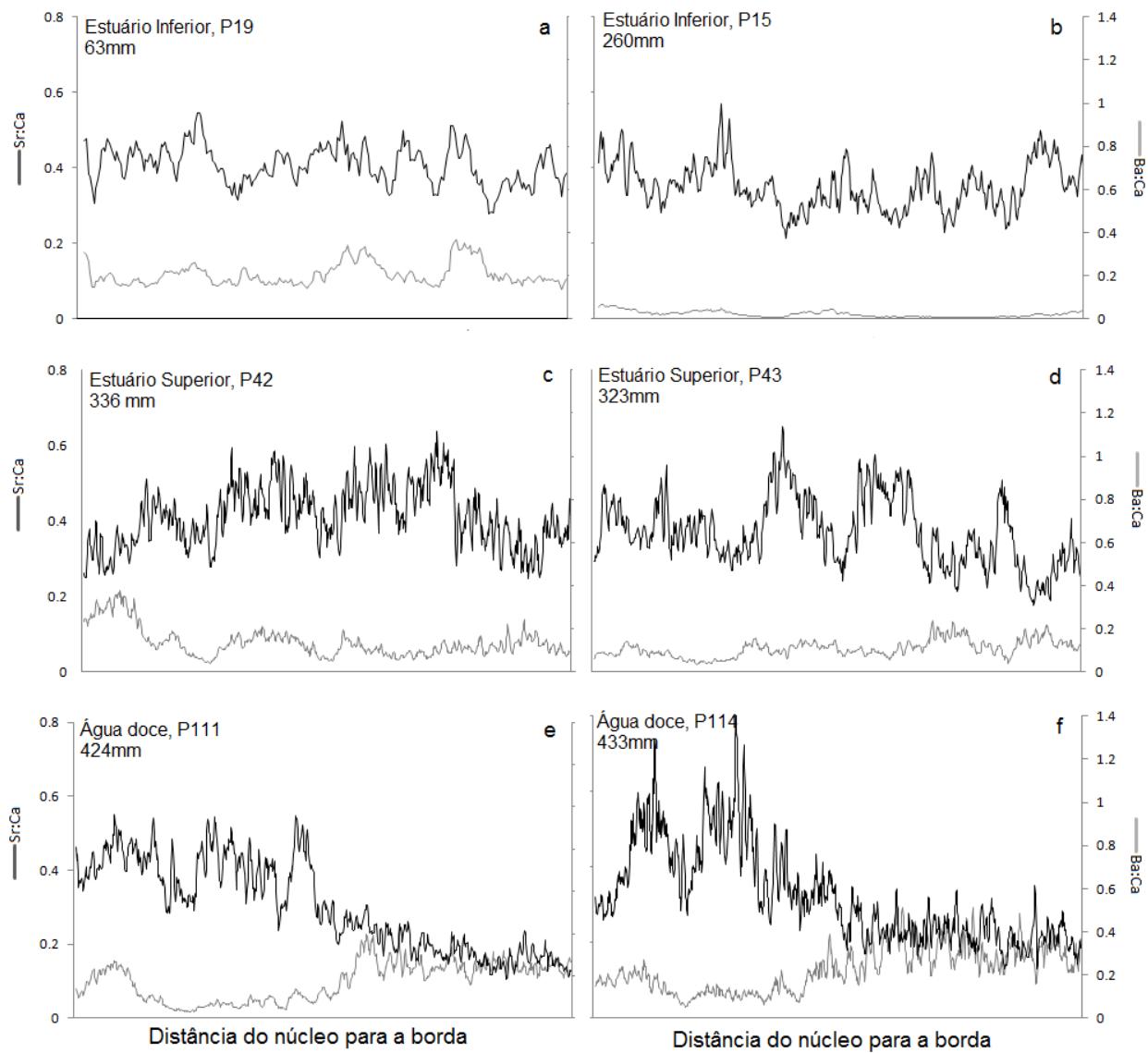


Figura 5: Transectos contínuos entre a região do núcleo e borda dos otólitos mostrando as variações nas concentrações de Sr:Ca (linha preta) e Ba:Ca (linha cinza) ao longo do incremento em tamanho de *Genidens genidens*. Para permitir a visualização estão representados apenas 6 indivíduos representativos da variabilidade dos perfis microquímicos nos extremos do gradiente de salinidade: estuário inferior (A-B), estuário superior (C-D) e região limnica (E-F) da Lagoa dos Patos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Indivíduos com tamanhos menores ($CT \sim <200$ mm) estão conectados troficamente a região inferior e superior do estuário, mas quando atingem tamanhos maiores ($CT \sim \geq 200$ mm) e se deslocam para o região límnicka no norte da laguna, esses indivíduos passam a assimilar nutrientes provenientes da região de água doce da Lagoa dos Patos.
- ✓ O nicho isotópico de *G. genidens* é maior na região estuarina quando comparado a região de água doce, possivelmente devido a maior diversidade e produtividade na base da cadeia alimentar estuarina.
- ✓ Ocorreram mudanças espaciais na assimilação de presas pelo bagre ao longo do gradiente salino que coincide com à variabilidade espacial na disponibilidade de presas ao longo do gradiente de salinidade.
- ✓ *Genidens genidens* apresenta um agrupamento populacional durante a fase inicial do seu desenvolvimento, provavelmente na região mixohalina da Lagoa dos Patos.
- ✓ Após o período de desenvolvimento inicial a espécie pode permanecer na região estuarina ou se deslocar para a região límnicka.
- ✓ Os perfis individuais de Sr:Ca e Ba:Ca ao longo do transecto “núcleo-borda” dos otólitos não apresentaram padrão semelhante para todos os indivíduos, sugerindo a ocorrência de migrações parciais na população.

ANEXO I

**Habitat use and food assimilation by the Guri sea catfish (*Genidens genidens*)
along an estuarine to freshwater gradient revealed by stable isotopes***

Manuscrito submetido a revista *Environmental Biology of Fishes

Habitat use and food assimilation by the Guri sea catfish (*Genidens genidens*) along an estuarine to freshwater gradient revealed by stable isotopes

P. E.R. Pereyra^{1#}, R. Mont' Alverne¹, A.M. Garcia¹

¹Laboratory of Ichthyology, Institute of Oceanography, Federal University of Rio Grande, Av. Itália Km 8, Carreiros, 96.203-900, Rio Grande, Brazil

#Corresponding author:

paulinharubira@hotmail.com

+ 55 53 32336539

Abstract

The catfish *Genidens genidens* is common along estuaries and coastal lagoons of the Southwestern Atlantic, but little is known about its movements and food assimilation patterns along salinity gradients. In this work, we used carbon and nitrogen stable isotopes to evaluate the hypothesis that this arid catfish assimilates mainly estuarine food resources during their juvenile stage, but shift to freshwater-derived food sources when they achieved adulthood and moves towards freshwater. Isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of the catfish and their main food sources were analyzed in three regions of a large subtropical lagoon (Patos Lagoon, 32°C, ~10,000km²). In the lower estuary, individuals had smaller body sizes (total length, TL: 228.28 ± 90.58 mm) and higher $\delta^{13}\text{C}$ values (-18.3 ‰ ± 1.7) than in freshwater (TL: 332.83 ± 26.97mm; $\delta^{13}\text{C}$: -20.4 ‰ ± 0.9), which coincided with the carbon isotope ratios gradient in the base of the food chain. Isotopic mixing models also revealed a marked spatial variation in prey assimilation by *G. genidens* from estuary to freshwater, which seems to be correlated with reported distributions of prey biomasses along the estuarine-freshwater gradient. Moreover, we observed a 10-fold higher overlap in isotopic niches among from individuals from lower and upper estuary, when compared to fishes obtained at freshwater. These patterns corroborated the hypothesis that Guri sea catfishes are trophically linked to estuarine and freshwater food webs along their development within the lagoon, with smaller individuals relying more on estuarine-derived food sources and larger ones shifting to freshwater-derived sources when they migrate up to the northern reaches of the lagoon.

Keywords: Prey assimilation, spatial diet shifts, isotopic mixing models, isotopic niche, Patos Lagoon

Introduction

Ariid sea catfishes have circumglobal distribution, being mainly found in brackish and marine waters, with some species occurring in freshwater (Marceunik 2005). In subtropical and tropical estuaries, ariid catfishes are one of the most important fishes in terms of density and biomass (Barletta and Blaber 2007; Jalal et al. 2012). Some species of this family undergone seasonal migration among marine, estuarine and freshwater environments along their life cycle (Araújo 1988). Such among-habitats displacements can promote nutrient exchanges between food webs of adjacent ecosystems with important implications for the structure and dynamics of biological communities (Polis et al. 2004), but little is known about marine catfishes movements along salinity gradients and its implication to food webs.

One of the smallest (TL maximum < 450 mm) ariid catfish is the Guri sea catfish *Genidens genidens* (Cuvier 1829) that occurs from Guianas to the Rio de la Plata in Argentina, especially in estuaries and lagoons (Marceunik and Menezes 2007). Its reproduction occurs in summer and is characterized by low fecundity (10-24 oocytes) and incubation of eggs in males' mouth for 2-3 months (Barbieri et al. 1992; Chaves 1994; Gomes et al. 1999). One of the major nursery grounds for this species in the Southwestern Atlantic is Patos Lagoon ($\sim 10,000 \text{ km}^2$), where the species occurs year round at the estuarine and freshwater reaches of the lagoon (Chao et al. 1985).

Genidens genidens exhibit a wide food niche (Mishima and Tanji 1982) and it is considered a generalist feeder exhibiting marked food plasticity (Pedra et al. 2006) and opportunism (Araújo 1984). Stomach contents analyses revealed that the species consumes mostly pereiopods of *Callinectes* sp., polychaete, tanaids, mysids, isopods, amphipods and gastropods (Araújo 1984), with little variation in diet composition

throughout its ontogeny (Mishima and Tanji 1982). However, these previous studies were based exclusively on stomach content analyses that do not evaluate the degree of prey assimilation by the consumer, because many of them may have rigid structures (e.g., carapace, shells) that are refractory to digestion (Jepsen and Winemiller 2002; Polito et al. 2011).

The life cycle of the Guri sea catfish is not well known and current evidences suggest latitudinal changes in their habitat use and migration patterns among estuaries. For example, based on studies of species' distribution and abundance, some authors classified the species as estuarine resident in subtropical estuaries (Chao et al. 1985). In these systems, juveniles (< 200 mm; Rocha and Freire 2009) are more common in the border between upper estuary and freshwater, moving into the lower estuary without a clearly defined seasonal pattern (Araújo 1988). In contrast, this species has been classified as anadromous, i.e., development in the sea until adulthood and entrance into freshwater to reproduce (Araújo 1996). It is unknown the potential changes in food resources experienced by this species as it moves along salinity gradients.

One way to investigate trophic relationships and habitat use by migratory species of vertebrates is stable isotope analysis (SIA). This technique is based on the similarity between ratios of lighter (e.g., ^{12}C , ^{14}N) and heavier (e.g., ^{13}C , ^{15}N) stable isotopes of consumer's tissues and their food and allow us to assess which food was indeed assimilated in the predator's tissues (Pasquaud et al. 2010; Maier et al. 2011; Davis et al. 2012). If a species moves between food webs with isotopic differences in the base of the food chain it is possible to use SIA also as a tool to evaluate habitat use (Schindler and Lubkin 2004; Arthur et al. 2008; Botta et al. 2012; Muñoz-Gil et al. 2013). Thus,

SIA provides information on food assimilation by consumers and also on habitats use as a species moves along environmental gradients (Fry 2006).

In this work, we used SIA to estimate the relative assimilation of estuarine and freshwater-derived food resources along a salinity gradient by the Guri sea catfish. Our hypothesis is that this arid catfish assimilates mainly estuarine food resources during their juvenile stage, but shift to freshwater-derived food sources when they achieved adulthood and moves towards freshwater reaches of the lagoon.

Materials and methods

Study area

Patos Lagoon (PL) is one of the largest (~10,000 km²) choked-type lagoons in the world (*sensu* Kjerfve 1986). It is connected with the ocean by a relatively narrow channel 800 m wide and 18 m deep, which is bordered by a pair of artificial rocky jetties 4 km long, which was built in the earlier 1900 to maintain a navigational channel to the Rio Grande's Harbor (Möller and Fernandes 2010). Hydrology in this lagoon is driven mainly by the interplay between river discharge and southern and northern winds, and not by tide that is minimum (~0.5 m) in this region (Kjerfve 1986). Higher salinity in the lagoon occur due to the southerly winds that promote penetration of sea water, whereas northern winds together with river discharge decrease salinity in the estuarine portion, which corresponds to approximately 10% of the total lagoon's area (Garcia 1997). Nearly 80% of the estuarine area is comprised by shallow waters less than 2 m deep that allows the establishment, usually in warmer months, of seagrasses beds dominated by the Widgeon grass (*Ruppia maritima*) and floating benthic macroalgae (Silva and Asmus 2001; Kennish and Paerl 2010). Phytoplankton communities are composed by marine species that are transported into the estuary

during seawater intrusion or by freshwater species carried out from the northern reaches of the lagoon during higher freshwater discharge (Abreu et al. 1995; Odebrecht et al. 2010). Several species of marine fishes use this estuary as nursery ground during their juvenile phase and are exploited by artisanal fisheries when they become adults, such as whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*, the mullet *Mugil liza* and ariid sea catfishes *Genidens barbus* and *Genidens planifrons* (Vieira and Castello 1997; Vieira et. 2008). In contrast with these larger fishes, the Guri sea catfish *G. genidens* is not a main target of artisanal fishermen probably due to its lower size (Maximum TL < 450 mm) (Reis et al. 1986). There are different definitions for the geographical limits of ecological zones at PL (Closs 1962; Closs and Medeiros 1965; Bemvenuti and Netto 1998). In this study, we adopted a classification based on the distribution and abundance of fish species in shallow and deep waters of the PL (Vieira et al. 2010) that divided the lagoon in three main zones: lower estuary, upper estuary and limnic region (henceforth referred to as ‘freshwater region’).

Sampling

Fish samplings were collected during a cruise on board of the Larus Oceanographic vessel (Federal University of Rio Grande) in September 2011. Samples were collected at 8 sampling stations distributed along the longitudinal axis of PL, from its freshwater reaches to the estuarine environment (Fig. 1). We also carried out two expeditions to collect macrophytes (representative species of salt marshes, seagrass, macroalgae) in shallower areas (<1.5 m) along the lagoon’s margins, both in its estuarine as freshwater regions. Fish and macrocrustaceans decapod were caught using bottom trawl hauls using a fishing net 9 m long and meshes of 15 mm and 6 mm at the central panel and in the bag, respectively. Each hauls last five minutes. Basal food

sources sampled included salt marsh, macroalgae, particulate organic matter particulate in suspension (POM) and in the sediment (SOM). Macroalgae were collected manually and marsh plants with the help of scissors. Salt marsh and macroalgae species were collected only in shallower areas, because they were absent in the deeper waters. POM and SOM were sampled in both shallow (<1.5 m) and deep (> 2.0 m) areas. POM was obtained by filtering 0.25 to 1.00 L of water collected in each location into glass fiber filters (0.75 um.) SOM samples were obtained by removing about 2 cm of the sediment surface using a plastic core (10 cm diameter) in shallow waters or a Van Veen grab in deeper waters. Zooplankton were collected only at deeper sites by oblique hauls using a conical net with 30 cm in mouth diameter and 200 μm mesh size. Benthic invertebrates from infauna and epifauna were also sampled using plastic cores and subsequently sieved in a net with mesh size of 500 μm . All biological material sampled was kept in plastic bags and stored on ice (Jardine et al. 2003; Garcia et al. 2007). In laboratory, each sampled specimen of *G. genidens* had its total length (TL-mm) and total weight (TW-g) measured using scale and analytical balance (0.0001g), respectively.

Stable isotope analyses

Samples were thawed and prepared for isotopic analysis in laboratory following Jardine et al. (2003) and Garcia et al. (2007). Anterior-dorsal muscle tissue of fishes, crustaceans and abdominal region adductor muscle of mollusks were removed with the aid of a sterile scalpel. It was not possible to isolate the tissue of interest (muscle) of infaunal organisms (e.g., polychaetes, tanaids) due to their small size (<1 mm), so they were processed whole. All samples were inspected and washed with distilled water to extract any element externally attached to the tissue of interest. Then, each sample was placed in a Petri dish, pre-sterilized with a HCl bath for 24 hours, and stayed at an oven

(60°) for 48 hours. Dried samples were pulverized with a mortar and pestle and subsamples (approximately 1 mg and 2-3 mg for animal and plant samples) were weighed using an analytical balance (precision 0.0001 g) and packed in ultra-pure tin capsules (*Costech Analytical*, Valencia, California). Isotopic ratio of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) were measured at the Institute of Ecology of the University of Georgia and results were expressed as delta notation: $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N} = [(Ramostra/Rpadrão) - 1] * 1000$, onde $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. The standard material for nitrogen and carbon stable isotope ratios was Vienna Pee Dee Belemnite (PDB) and atmospheric air, respectively.

Acidification is an important sample preparation step for removing inorganic carbon and to avoid inaccuracies in determination of the isotopic organic component of the sample, which is the fraction trophically important for the organisms (Vafeiadou et al. 2013). However, acidification treatments can remove some proteins affecting nitrogen values (Pinnegar and Polunin 1999; Jacob et al. 2005). Claudino et al. (2013) carried out acidification of POM and SOM samples obtained at PL and found no differences in $\delta^{13}\text{C}$ values of samples before and after acidification, but revealed significant effects of acidification on $\delta^{15}\text{N}$ values. As this study was conducted in the same region studied by these authors, we chose not acidify our samples. Another confounding effect that may distort the interpretation of $\delta^{13}\text{C}$ values is the amount of lipid content in the sample because lipids are less enriched in ^{13}C (DeNiro and Epstein 1978; Logan et al. 2008; Syväntä and Rautio 2010). Chemical extractions of lipids or mathematical corrections are usually employed to control such undesirable effects on samples with higher lipid content (Logan et al. 2008). The chemical extraction can be effective, but can lead to non-lipid material losses that, in turn, change $\delta^{15}\text{N}$ values (Pinnegar and Polunin 1999; Sotiropoulos et al. 2004). An alternative approach is

mathematical corrections based on empirical regressions (McConaughey and McRoy 1979; Post et al. 2007). In this study, we carried out mathematical corrections based on the equations proposed by Post et al. (2007) and found that differences between the uncorrected and corrected $\delta^{13}\text{C}$ values were small ($<2\text{‰}$), with only 3 samples showing differences greater than 4‰ after mathematical correction. As highlighted by Sotiropoulos et al. (2004), 1-2 ‰ changes in $\delta^{13}\text{C}$ may not be biologically significant when making inferences about the carbon sources for the consumer. In fact, we used lipid-normalized and no lipid-normalized $\delta^{13}\text{C}$ samples in our isotope mixing models and both resulted in similar patterns. Therefore, we reported here only the results based on no lipid-normalized samples.

Data analysis

Biplots of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope ratios of basal food sources, invertebrates and the studied consumer (*G. genidens*) were built in the PAST software (Hammer et al. 2001) and were used to show spatial patterns in isotopic composition in the three studied regions (lower estuary, upper estuary and freshwater). Analyses of variance (ANOVA) were used to test statistical differences in mean values of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and body size (Total Length, TL mm) of *G. genidens* among the lagoons' regions. Linear regressions were used to reveal relationships between variability in isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and consumers' body sizes (TL mm) (Chen and Jackson 2000).

A principal component analysis (PCA) was performed in the PAST software (Hammer et al. 2001) to unravel potential relationships among body size (TL mm), relative distance (in Km) of sampling sites to the mouth of the estuary, elemental carbon and nitrogen (C:N) ratios and observed variability in consumer's isotopic composition

($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). Variables were standardized (x-average/standard deviation) due their different scales of measurements. The distance in kilometers (KM) from sampling sites to the mouth of the estuary was calculated using the ruler tool at the Google Earth® software.

The isotopic niche can be defined as an area (δ -space) with isotopic values as axes (Newsome et al. 2007), which can provide information on two dimensions of the ecological niche (*sensu* Hutchinson 1978): the use of habitat and assimilation of food resources. If isotopic assumptions are valid (Newsome et al. 2007) and taking into account technical limitations (Hoeinghaus and Zeug 2008), species or individuals positions in isotopic space can be used to delineate the isotopic niche and infer aspects of the structure of trophic webs (Layman et al. 2012). We computed isotopic ellipses adjusted for small samples (SEA_c) using the Stable Isotope Bayesian method Ellipses in R-SIBER proposed by Jackson et al. (2011) to measure the amplitude the niche to be robust to changes in sample size (Jackson et al. 2011).

Relative contribution of prey to *G. genidens* in each region of lagoon was estimated by Bayesian isotopic mixing models (Stable Isotope Analysis in R, Parnell et al. 2010). In simple systems where consumers use only two basic food resources qualitative comparisons can be made. However, when the number of potential prey increases, it becomes difficult to identify the contributions of prey to the consumer (Layman et al. 2012). Considering that a priori decisions regarding the number and composition of end-members are crucial in isotopic modeling (Phillips et al. 2014), we employed the following criteria to choose which invertebrate preys would be included in the mixing models for each region: 1) those that did occur during our sampling, 2) that were representative in terms of relative abundance in each region (Bemvenuti 1997; Bemvenuti and Netto 1998) and 3) reported in the literature as important food items to

G. genidens (Araújo 1984; Denadai et al. 2012). We also followed the procedure suggested by Phillips et al. (2005) to carry out *a posteriori* pooling of food sources with similar isotopic composition at each region as a way to obtain higher resolution in our mixing models estimates. Thus, our mixing had different number of end-members (preys) in each region was: 1) at lower estuary: mollusk *Heleobia australis*, tanaid *Kalliaipseudes schubartii*, polychaete *Laeonereis acuta*, decapod crustaceans *Callinectes sapidus* and *Cyrtograpsus angulatus*, which were combined as one food source due to their isotopic similarity, and zooplankton; 2) at upper estuary: tanaid *K. schubartii*, polychaete *Nephtys fluviatilis* and shrimp *Palaemonetes argentinus* pooled as one food source, decapod crustaceans *C. angulatus* and *C. sapidus* also grouped together, and zooplankton; 3) at freshwater: tanaid *K. schubartii*, polychaete *L. acuta*, decapod crustacean *C. sapidus*, mollusks *Erodona mactroides* and *Limnoperna fortunei* grouped together into one food source, and zooplankton. Isotopic fractionations used for carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) were 0.47 ± 1.23 and 2.54 ± 0.11 , respectively (Vander Zanden and Rasmussen 2001; Vanderklift and Ponsard 2003).

Results

A total of 49 individuals of *G. genidens* and 220 and 86 samples of invertebrate preys and basal food sources, respectively, had their carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope ratios analyzed in the three lagoon's regions (Table 1). Overall, basal food sources had higher values in the lower estuary ($\delta^{13}\text{C}$: $-15.43\text{ ‰} \pm 4.68$) than at freshwater ($\delta^{13}\text{C}$: $-24.58\text{ ‰} \pm 3.48$) (Fig. 2). Preys also had higher average $\delta^{13}\text{C}$ values in the lower estuary and the lowest values at freshwater ($\delta^{13}\text{C}$: $-14.92\text{ ‰} \pm 3.08$ and $\delta^{13}\text{C}$: $-17.88\text{ ‰} \pm 2.23$, respectively). Some preys such as *K. schubartii* and *C. sapidus*

occurred in the three lagoon's regions, whereas others (e.g., *L. fortuneii*) occurred only at freshwater (Table 1). Regarding spatial variations in nitrogen isotope ratios, $\delta^{15}\text{N}$ values showed little variation across sites for both preys and basal food sources. Basal food sources and preys collected at the lower estuary had $\delta^{15}\text{N}$ values similar with those observed at freshwater (basal sources: $7.38\text{‰} \pm 2.52\text{‰} \pm 6.53\text{‰}$ and 2.25; preys: $10.22\text{‰} \pm 2.08$ and $10.27\text{‰} \pm 1.63\text{‰}$, respectively) (Fig. 2).

Average $\delta^{13}\text{C}$ values of *G. genidens* were statistically significant different among the three lagoon's regions ($F(2, 46) = 4.5596$, $p < 0.001$) (Fig. 3). $\delta^{13}\text{C}$ values of *G. genidens* had higher variation (-21.00 ‰ to -14.12 ‰) at the lower estuary when compared to upper estuary (-21.07 ‰ to -16.20 ‰) and freshwater (-21.25 to -18.86 ‰) (Fig. 2). In contrast, there were no statistically significant differences in average $\delta^{15}\text{N}$ values among regions ($p > 0.21$). Moreover, variability in $\delta^{15}\text{N}$ values of *G. genidens* was approximately 10-folders lower when compared with variation observed in $\delta^{13}\text{C}$ values.

Average body size of *G. genidens* individuals was statistically different among regions ($F(2, 16) = 1.0961$, $p < 0.00$) and showed a marked increase from estuary to freshwater (Fig. 3). There was a statistically significant positive correlation between body size (TL, mm) and $\delta^{13}\text{C}$ ($p < 0.001$) (Fig. 4), with smaller individuals showing higher $\delta^{13}\text{C}$ values ($-18.34\text{‰} \pm 1.70$) than larger ones ($-20.39\text{‰} \pm 0.93$). No statistically significant correlation was observed between *G. genidens'* body size and $\delta^{15}\text{N}$ values ($p < 0.12$).

The principal component analysis explained 73% of the variability in the consumer's isotopic composition, with the first and second components responsible for 50.62% and 20.78%, respectively (Fig. 5). Consumer's body size (TL mm), elemental

composition of consumer's muscle samples (C:N) and relative distance (Km) from sampling site to the lagoon's mouth were positively correlated and were the main factors explaining variation along the PCA first component (Fig. 5).

Isotopic ellipses (SAE_c) estimated for *G. genidens* individuals had different areas among lagoon's regions of the lagoon, with higher values at the lower and upper estuary (1.72 and 1.61, respectively) and lower areas at freshwater (0.85) (Fig. 6). However, Bayesian simulations ($n = 10.000$ repetitions) revealed marked overlap in the 95% credibility intervals of these areas among the three regions (lower estuary: 1.45 to 3.02, upper estuary: 1.17 to 3.37 and freshwater: 0.821 to 4.12). Regarding overlap among isotopic ellipses, they were much higher between lower and upper estuarine regions (1.01), when compared with the isotopic ellipses overlaps between freshwater with the upper and lower estuary (0.11 and 0.10, respectively).

Isotopic mixing models suggested a marked spatial variation in prey assimilation by the *G. genidens* from estuary to freshwater (Fig. 7). The most assimilated preys in the consumer's muscle tissue at the lower estuary was the tanaid *K. schubartii* (95% CI = 35-64%). Assimilation of this prey decreased at the upper estuary (95% CI = 14-24%), where it was observed an assimilation increase of the food source comprised by polychaete (*N. fluviatilis*) and shrimp (*P. argentinus*) (95% CI = 68-77%). At freshwater, the most assimilated prey was the polychaete *L. acuta* (95% CI = 65-84%) (Fig. 7).

Discussion

Both the Guri sea catfish and their invertebrate preys showed similar spatial trends in carbon isotope ratios, with increasing values from estuary to freshwater. This pattern can be explained by changes in dominance patterns and isotopic composition of

aquatic macrophytes occurring along the estuarine-freshwater environmental gradient of the lagoon (Garcia et al. 2007). At freshwater, there is the prevalence of plants with C₃ photosynthetic pathways (e.g., *Eichhornia*, *Salvinia*, *Polygonum*, *Pistia*, *Enhydra*, *Scirpus*) that are characterized by lower carbon isotope ratios (-25 ‰ to -19 ‰) (Lajtha et al. 2007). In contrast, in addition to C₃ aquatic plants, the estuarine region has also aquatic macrophytes with C₄ photosynthetic pathways (e.g., Widgeon seagrass *Ruppia maritima* and the dense-flowered cordgrass *Spartina densiflora*) that are characterized by higher carbon isotope values (Lajtha et al. 2007; Claudino et al. 2013). The combination of C₃ and C₄ plants results in higher average carbon isotopic ratios in the estuary (-18 to -12 ‰) (Garcia et al. 2007) and the Guri sea catfish and their preys seem to reflect these changes in isotopic composition of basal food sources between estuarine and freshwater regions.

Prior work on spatial abundance patterns of recruits and adults of *G. genidens* at Patos Lagoon estuary suggested that larger individuals seek for lower salinity portion of the lagoon for their reproduction, whereas smaller individuals use the estuary as nursery areas (Araújo 1988). Our study showed contrasting spatial differences in body sizes and isotopic composition between estuarine and freshwater portion of the lagoon that match the reported abundance distribution of Guri sea catfish. Smaller individuals caught at the estuary had lower body size and had higher carbon isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$: -18.34 ‰ ± 1.70) than larger ones sampled at freshwater (-20.39 ‰ ± 0.93), which coincided with the carbon isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$) gradient in the base of the food chain in this lagoon. In addition, we observed a 10-fold higher overlap in the isotopic niches from individuals caught at lower and upper estuary, when compared to fishes sampled at freshwater portion of the lagoon. These patterns corroborated the hypothesis that Guri sea catfishes are trophically linked to estuarine and freshwater food webs along their development

within the lagoon, with smaller individuals relying more on estuarine-derived food sources and larger ones shifting to freshwater-derived sources when they migrate up to the northern reaches of the lagoon.

Conversely, no significant differences were found in average nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) of Guri sea catfish between estuarine and freshwater regions. This pattern may reflect the fact that $\delta^{15}\text{N}$ values at the base of the food chain also did not show significant differences along the studied estuarine to freshwater gradient. Also, there were no changes in $\delta^{15}\text{N}$ with increasing catfish's body sizes despite the observed spatial changes in food assimilation. Usually, a positive relationship between $\delta^{15}\text{N}$ and body size occurs when size-related changes in food habits (e.g., planktivores to zooplanktivorous) increases consumer's trophic level (Pompeu 1999; Huckembeck et al. 2014). This occurs because differential absorption of lighter (^{14}N) and heavier (^{15}N) isotopes during food assimilation increase from 2 to 5 ‰ the $\delta^{15}\text{N}$ values of consumers at each trophic level (Post et al. 2002). The lack of positive correlation between nitrogen isotope ratios and body sizes of *G. genidens* suggest that, despite between-habitat changes in food assimilation, both juveniles and adults are consuming preys with similar trophic positions. This conclusion receives additional support from stomach content analyzes showing that the Guri sea catfish does not show significant changes in food habits along its ontogeny (Mishima and Tanji 1982; Araújo 1984).

Our observed differences in Guri sea catfish's isotopic niche along the estuary to freshwater gradient apparently agrees with the prediction that isotopic niche tends to be greater in ecosystems with higher diversity of primary producers (Layman et al. 2004; Alfaro 2006). We observed higher isotopic niches of *G. genidens* in the estuary, which indeed harbors more diverse and abundant communities of infaunal/epifaunal preys and

macrophytes than the freshwater portion of the lagoon (Bemvenuti 1997; Rosa and Bemvenuti 2006; Odebrecht et al. 2010). Accordingly, our mixing models revealed that a higher number of prey sources were assimilated by the catfish at the estuary (*K. schubartii*, *N. fluviatilis*, *L. acuta*, *H. australis*) than at freshwater (*L. acuta*). However, size differences in isotopic niche found in this study should be viewed with caution, because the relatively low sample size of catfishes analyzed in the upper estuary and freshwater hindered statistical discrimination.

We found between-regions differences in food assimilation by *G. genidens* that seem to be correlated with distributions of prey biomasses along the estuarine-freshwater environmental gradient. At the lower estuary, the most assimilated prey was the tanaid *K. schubartii*, distantly followed by the polychaete *L. acuta*, but there was a diet shift at the upper estuary, where the catfish assimilated mostly the food group comprised by the polychaete *N. fluviatilis* and shrimp *P. argentinus*, and at lesser extent the tanaid *K. schubartii*. In contrast, the polychaete *L. acuta* was nearly the only prey assimilated by the catfish at freshwater. These patterns could be partially explained by differences in prey availability between the estuarine and freshwater region of the lagoon. The tanaid is one of the most abundant invertebrates in the lower estuary (Bemvenuti and Netto 1998) with an average density of 12.808 ind. m² (Bemvenuti 1987). In contrast, the polychaete *N. fluviatilis* is one of the most abundant species at the upper estuary (Bemvenuti and Netto 1998). The polychaete *L. acuta* also reaches expressive biomass (28.26 g m²) and density (5127 ind. m²), being especially abundant in the estuary (Bemvenuti 1997). Hence, food assimilation by *G. genidens* seems to reflect prey availability along the estuarine-freshwater gradient.

Finally, it is also worth noting that despite being reported as feeding generalist and having a rich diet comprised by several different kinds of prey, we found that one or

a few prey were in fact assimilated by the Guri sea catfish at each location. This reinforces the idea that not all food consumed by this predator are indeed assimilated in their muscle tissues and contributes to its nutrition. For instance, a prior stomach content analyses of the Guri sea catfish at the lower estuary revealed that the tanaid *K. schubartii*, pereiopods of *Callinectes sp* and detritus (Araújo 1984). However, our isotope mixing model for this same region showed that only *K. schubartii* and not *Callinectes sp* were effectively assimilated in the muscle tissue of the Guri sea catfish. This discrepancy between diet composition revealed by stomach content and stable isotope techniques because some ingested prey (e.g., protected by carapaces, shells) may be refractory to digestion, consequently, more difficult to be assimilated (Chaves and Vendel 1996; Condini et al. 2014).

In summary, our study revealed that smaller individuals of the Guri sea catfish are trophically connected to the lower and upper estuary regions and when they achieve larger body sizes they move up the lagoon and start to incorporate freshwater-derived nutrients in their muscle tissue. Its isotopic niches were higher at the estuary than freshwater probably due to the greater diversity of prey and food basal sources in the estuary. There were clear spatial changes in food assimilation by the studied species, which seems to coincide with reported spatial changes in prey availability along the estuarine to freshwater environmental gradient. Future studies including artificial (e.g., telemetry) and natural tags (e.g., otolith microchemistry) are need to advance our current knowledge of habitat use and migration patterns of Guri sea catfishes, especially along salinity gradients.

Acknowledgments

We are thankful to F. G. Araújo, S. Botta and A. Mai for their comments on an early version of the manuscript; to colleagues in the Ichthyology Laboratory at FURG for their assistance in field collection and sampling processing. This study received financial support from the Ministry of Science and Technology (MCT/CNPq) through the Brazilian Long Term Ecological Research Program (BR-LTER) at Site 8: Patos Lagoon estuary. P.E.R.P. was the recipient of a CAPES fellowship. AMG acknowledges fellowship support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; 305888/2012-9). This is a contribution of the research group: “Grupo de Análises de Isótopos Estáveis em Ambientes Aquáticos” (GAIA/CNPq). All procedures were followed by the Ethics Committee of Animal Use (CEUA) of the Federal University of Rio Grande, which follows the guidelines of the Brazilian Law.

References

- Abreu PC, Hartmann C, Odebrecht C (1995) Nutrient rich salt-water and its influence on the phytoplankton of the Patos Lagoon estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* 40: 219-229
- Alfaro AC (2006) Benthic macro-invertebrate community composition within a mangrove/seagrass estuary in northern New Zealand. *Estuar Coast Shelf S* 66: 97-110
- Araújo FG (1984) Hábitos alimentares de três bagres marinhos (Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. *Atlântica* 7: 43-67
- Araújo FG (1988) Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. *Rev Bras Zool* 5(4): 509-543

- Araújo FG (1996) Composição e estrutura da comunidade de peixes do médio e baixo Rio Paraíba do Sul, RJ. Rev Bras Biol 56(1): 111-126
- Arthur KE, Boyle MC, Limpus CJ (2008) Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (*Chelonia mydas*) life history. Mar Ecol Prog Ser 362: 303-311
- Barbieri LR, Santos RP, Andreata JV (1992) Reproductive biology of the marine catfish, *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae), in the Jacarepaguá lagoon system, Rio de Janeiro, Brasil. Environ Biol Fishes 35: 23-35
- Barletta M, Blaber SJM (2007) Comparison of fish assemblages and guilds in tropical habitats of the Embley (Indo-West Pacific and Caeté (Western Atlantic) estuaries. Bull Mar Sci 80: 647-680
- Bemvenuti CE (1987) Predation effects on a benthic community in estuarine soft sediments. Atlântica 9(1): 5-32
- Bemvenuti CE (1997) Benthic Invertebrates. In: Seeliger U, Odebrecht C, Castello JP (eds) Subtropical Convergence Environment: The coast and sea in the southwestern Atlantic, 1edn. Springer, Berlin, pp 18-20
- Bemvenuti CE, Netto SA (1998) Distribution and seasonal patterns of the sublittoral benthic macrofauna of Patos Lagoon (South Bra). Rev Bras Biol 58(2): 211-221
- Botta S, Hohn AA, Macko SA, Secchi ER (2012) Isotopic variation in delphinids from the subtropical western South Atlantic. J Mar Biol Assoc UK. doi/10.1017/S0025315411000610
- Chao LH, Pereira LE, Vieira JP (1985) Estuarine fish community of the dos Patos Lagoon, Brazil: a baseline study. In: Yáñez-Arancibia A (ed) Fish community ecology in estuaries and coastal lagoons: towards ecosystem integration. UNAM Press, México, pp 429-450
- Chaves PTC (1994) A incubação de ovos e larvas em *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriforme, Ariidae) da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Rev Bras Zool 11(4): 641-648

- Chaves PTC, Vedel AL (1996) Aspectos da alimentação de *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriformes, Ariidae) na baía de Guaratuba, Paraná. Rev Bras Zool 13: 669- 675
- Chen Y, Jackson DA (2000) An empirical study on estimators for linear regression analyses in fisheries and ecology. Fish Res 49(2): 193-206
- Claudino MC, Abreu PC, Garcia AM (2013) Stable isotopes reveal temporal and between-habitat changes in trophic pathways in a southwestern Atlantic estuary. Mar Ecol Prog Ser 489: 29–42
- Closs D (1962) Foraminíferos e Tecamebas na Lagoa dos Patos. Esc Geol P Alegre Bo 11: 1-130
- Closs D, Medeiros VMF (1965) New observations on the ecological subdivision of the Patos Lagoon in southern Brasil. Bol ICN 24-35
- Condini MV, Hoeinghaus DJ, Garcia AM (2014) Trophic ecology of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Actinopterygii, Epinephelidae) in littoral and neritic habitats of southern Brazil as elucidated by stomach contents and stable isotope analyses. Hydrobiologia. doi:10.1007/s10750-014-2016-0
- Davis AM, Blanchette ML, Pusey BJ, Jardine TD, Pearson RG (2012) Gut content and stable isotope analyses provide complementary understanding of ontogenetic dietary shifts and trophic relationships among fishes in a tropical river. Freshwat Biol 57: 2156–2172
- Denadai MR, Bessa E, Santos FB, Fernandez WS, Santos FMC, Feijó MM, Arcuri ACD, Turra A (2012) Life history of three catfish species (Siluriformes: Ariidae) from southeastern Brazil. Biota Neotrop 12: 74-83
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochim Cosmochim Acta 42: 495–506
- Fry B (2006) Stable Isotope Ecology. Springer, New York

- Garcia AM, Hoeinghaus DJ, Vieira JP, Winemiller KO (2007) Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuar Coast Shelf S* 73: 399-408
- Garcia CAE (1997) Hydrographic Characteristics. In: Seeliger U, Odebrecht C, Castello JP (eds) Subtropical Convergence Environment: The coast and sea in the southwestern Atlantic, 1edn. Springer, Berlin, pp 18-20
- Gomes ID, Araújo FG, Azevedo MCC, Pessanha ALM (1999) Biologia reprodutiva dos bagres marinhos *Genidens genidens* (Valenciennes) e *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Zool* 16(2): 171 -180
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol Electron* 4(1): 9
- Hoeinghaus DJ, Zeug SC (2008) Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Comment Ecol* 89: 2353
- Huckembeck S, Loebmann D, Albertoni EF, Hefler SM, Oliveira MCLM, Garcia AM (2014) Feeding ecology and basal food sources that sustain the Paradoxal frog *Pseudis minuta*: a multiple approach combining stomach content, prey availability, and stable isotopes. *Hydrobiologia* 740(1): 253-264
- Hutchinson GE (1978) An introduction to population biology. CT: Yale University Press, New Haven
- Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *J Anim Ecol* 80: 595–602
- Jacob U, Mintenbeck K, Brey T, Knust R, Beyer K (2005) Stable isotope food web studies: a case for standardized sample treatment. *Mar Ecol Prog Ser* 287:251-253
- Jalal KCA, Ahmad Azfar M, Akbar John B, Kamaruzzaman YB, Shahbudin S (2012) Diversity and community composition of fishes in tropical estuary Pahang Malaysia. *Pak Zool* 44: 181-187

- Jardine TD, McGeachy SA, Paton CM, Savoie M, Cunjak RA (2003) Stable isotopes in aquatic systems: sample preparation, analysis, and interpretation. *Can Manusc Rep Fish Aquat Sci* No265
- Jepsen DB, Winemiller KO (2002) Structure of tropical river food webs revealed by stable isotope ratios. *Oikos* 96: 46-55
- Kjerfve B (1986) Comparative oceanography of coastal lagoons. In: Wolfe DA (ed) *Estuarine Variability*. Academic Press, New York, pp 63-82
- Kennish MJ, Paerl HW (2010) Coastal Lagoons: Critical Habitats of Environmental Change. In: Kennish MJ, Paerl HW (eds) *Coastal Lagoons: Critical Habitats of Environmental Change*. Marine science series, Boca Raton, pp: 1-16
- Lajtha K, Brooks R, Marshall JD (2007) Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: Michener RH, Lajtha K (eds) *Stable Isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell, Oxford, pp 22-60
- Layman CA, Arrington DA, Langerhans RB, Silliman BR (2004) Degree of Fragmentation Affects Fish Assemblage Structure in Andros Island (Bahamas) Estuaries. *Caribb J Sci* 40:(2) 232-244
- Layman CA, Araújo MS, Boucek R, Hammerschlag-Peyer CM, Harrison E, Jud ZR, Matich P, Rosenblatt AE, Vaudo J, Yeager LA, Post DM, Bearhop S (2012) Applying stable isotopes to examine food web structure: an overview of analytical tools. *Biol Rev* 87: 545-562
- Logan JM, Jardine TD, Miller TJ, Bunn SE, Cunjak RA, Lutcavage ME (2008) Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. *J Anim Ecol* 77(4): 838-846
- Maier GO, Toft JD, Simenstad CA (2011) Variability in isotopic ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{34}\text{S}$) composition of organic matter contributing to detritus-based food webs of the Columbia River Estuary. *Northwest Sci Assoc* 85: 41-54
- Marceunik AP (2005) Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriforme, Ariidae) da costa brasileira. *Bol Inst Pesca* 31: 89–101

- Marceniuk AP, Menezes NA (2007) Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), with a redefinition of the genera. Zootaxa 1416:1-126
- McConaughey T, McRoy CP (1979) Food-web structure and the fractionation of the carbon isotopes in the Bering Sea. Mar Biol 53: 257–262
- Mishima M, Tanji S (1982) Nicho alimentar de bagres marinhos (Teleostei, Ariidae) no complexo estuarino lagunar de Cananéia (25°S, 48°W). Bol Inst Pesca 9: 131-140
- Möller OO, Fernandes EH (2010) Hidrologia e hidrodinâmica. In: Seeliger U, Odebrecht C (eds) O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações. Universidade Federal de Rio Grande, Brasil, pp 17–27
- Muñoz-Gil J, Marín-Espinoza G, Vigo JA, Zavala R, Mata A (2013) Trophic position of the Neotropic Cormorant (*Phalacrocorax brasiliensis*): integrating diet and stable isotope analysis. J Ornithol 154: 13-18
- Newsome SD, Del Rio CM, Bearhop S, Phillips DL (2007) A niche for isotopic ecology. Front Ecol Environ 8: 429–436
- Odebrecht C, Abreu PC, Bemvenuti CE, Copertino M, Muelbert JH, Vieira JP, Seeliger U (2010) The Patos Lagoon estuary, Southern Brazil biotic responses to natural and anthropogenic impacts in the last decades (1979–2008). In: Kennish MJ, Paerl HW (eds) Coastal lagoons: critical habitats of environmental change. Marine science series, Boca Raton, pp 433- 455
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010) Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. Plos One 5e9672
- Pasquaud S, Pillet M, David V, Sautour B, Elie P (2010) Determination of fish trophic levels in an estuarine system. Estuar Coast S Sci 86: 237-246
- Pedra MR, Oliveira MA, Novelli R (2006) Biologia alimentar do bagre *Genidens genidens* (Valenciennes, 1839) na Barra da Lagoa do Açu, norte do estado do Rio de Janeiro. Acta Biol Leopond 28(1): 38-41
- Phillips DL, Newsome SD, Gregg JW (2005) Combining sources in stable isotope mixing models: alternative methods. Oecologia 144: 520-527

- Phillips DL, Inger R, Bearhop S, Jackson AL, Moore JW, Parnell AC, Semmens BX, Wardg EJ (2014) Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Can J Zool* 92: 823-835
- Pinnegar JK, Polunin NVC (1999) Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Funct Ecol* 13(2): 225-231
- Polis GA, Power ME, Huxel GR (2004) Food webs at the landscape level. The University of Chicago Press, Chicago
- Polito MJ, Trivelpiece WZ, Karnovsky NJ, Ng E, Patterson WP, Emslie SD (2011) Integrating stomach content and stable isotope analyses to quantify the diets of pygoscelid penguins. *Plos One* 6: e26642
- Pompeu PS (1999) Dieta da pirambeba *Serrasalmus brandtii* Reinhardt (Teleostei, Characidae) em quatro lagoas marginais do rio São Francisco, Brasil. *Rev Bras Zool* 16(2): 19 – 26
- Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703–718
- Post DM, Layman CA, Arrington DA, Takimoto G, Quattrochi J, Montaña CG (2007) Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152: 179–189
- Reis EG (1986) A pesca artesanal de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Documentos Técnicos. Oceanografia (5)
- Rocha GRA, Freire KMF (2009) Biology and dominance relationships of the main fish species in the Lake Encantada, Ilhéus, Brazil. *Acta Limnol Bras* 21(3): 309-316
- Rosa LC, Bemvenuti CE (2006) Temporal variability of the estuarine macrofauna of the Patos Lagoon. *Rev Biol Mar Ocean* 41: 1–9
- Schindler DE, Lubkin SC (2004) Using Stable Isotopes to Quantify Material Transport in Food Webs. In: Polis GA, Power ME, Huxel GR (eds) *Food Webs at the Landscape Level*, University Of Chicago Press, Chicago, pp 25-42

- Silva ET, Asmus ML (2001) A dynamic simulation model of the widgeon grass *Ruppia maritima* and its epiphytes in the estuary of the Patos Lagoon, RS, Brazil. Ecol Model 137: 161–179
- Sotiropoulos MA, Tonn WM, Wassenaar LI (2004) Effects of lipid extraction on stable carbon and nitrogen isotope analyses of fish tissues: potential consequences for food web studies. Ecol Fresh Fish 13: 155-160
- Syväraanta J, Rautio M (2010) Zooplankton, lipids and stable isotopes: importance of seasonal, latitudinal, and taxonomic differences. Can J Fish Aquat Sci 67(11): 1721-1729
- Vafeiadou AM, Adão H, Troch MD, Moens T (2013) Sample acidification effects on carbon and nitrogen stable isotope ratios of macrofauna from a *Zostera noltii* bed. Mar Freshwat Res 64(8): 741-745
- Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis. Oecologia 136: 169–182
- Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (2001) Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. Limnol Oceanogr 46(8): 2061-2066
- Vieira JP, Castello JP (1997) Fish fauna. In: Seeliger U, Odebrecht C, Castello JP (eds) Subtropical Convergence Environment: The coast and sea in the southwestern Atlantic, 1edn. Springer, Berlin, pp. 56–61
- Vieira JP, Garcia AM, Grimm AM (2008) Preliminary evidences of El Niño effects on the mullet fishery of Patos Lagoon estuary (Brazil). Braz Arch Biol Techn 51: 433–440
- Vieira JP, Garcia A, Moraes L (2010) A assembléia de peixes. In: Seeliger U, Odebrecht C (eds) O estuário da Lagoa dos Patos: Um século de transformações, Brasil, pp 79-88

Table 1: Mean and standard deviation (SD) carbon isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) of fish, primary producers and preys in three locations in the regions of the Lower Estuary, Upper Estuary and Freshwater. n = 355

Species	Lower estuary					Upper Estuary					Freshwater				
	n	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD	n	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD	n	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD
<i>Genidens genidens</i>	29	-18,34	1,70	13,72	0,31	14	-18,81	1,29	13,53	0,38	6	-20,39	0,93	13,73	0,34
Crustaceans															
<i>Callinectes sapidus</i>	34	-12,61	1,75	10,31	1,65	28	-14,63	2,65	10,63	1,01	44	-16,22	1,78	10,77	0,81
<i>Cyrtograpsus angulatus</i>	4	-12,72	0,91	11,35	0,96	7	-15,26	1,72	11,24	1,44					
<i>Kalliapseudes schubartii</i>	8	-18,41	0,95	7,99	0,40	4	-18,45	0,35	7,03	1,23	1	-25,05		4,99	
<i>Palaeomonetes argentinensis</i>	4	-16,82	1,27	10,15	0,67	7	-18,31	0,60	12,35	0,57	17	-18,86	1,33	11,80	1,32
<i>Neohelice granulata</i>											1	-18,98		8,01	
Molluses															
<i>Heleobia australis</i>	8	-17,42	0,48	10,58	0,64						1	-16,68		9,85	
<i>Erodona mactroides</i>											13	-19,11	0,57	8,38	0,48
<i>Limnoperna fortunei</i>											8	-19,70	0,49	8,58	0,33
Polychaete															
<i>Laeonereis acuta</i>	4	-14,46	1,69	13,42	3,60						3	-18,40	0,34	12,04	0,33
<i>Neanthes succinea</i>	1	-13,02		13,19											
<i>Poliquetas</i>	4	-15,65	0,56	11,53	1,29										
<i>Nephtys fluviatilis</i>						3	-18,39	0,23	12,76	0,10					
Zooplankton															
<i>Zooplâncton</i>	6	-20,38	1,35	7,99	2,70	3	-21,44	0,69	6,18	4,42	6	-20,81	0,50	8,99	1,64
Basal Food Sources															
POM	3	-22,09	0,80	3,26	1,15	9	-22,96	1,97	4,72	2,04	7	-22,89	0,67	4,68	0,54
SOM	8	-18,52	1,56	7,12	2,60	5	-21,91	2,37	3,39	2,06	10	-21,37	1,28	6,20	2,14
Macroalgae															
<i>Ulva sp.</i>	6	-10,28	0,73	8,64	0,66										
Marsh plants															
<i>Spartina densiflora</i>	4	-11,98	0,08	9,10	0,96						1	-11,99		11,49	
<i>Spartina alterniflora</i>						5	-12,13	0,83	8,05	1,50	3	-25,82	0,33	6,21	0,44
<i>Schoenoplectus californicus</i>															
Macrophytes															
<i>Pontederia subovata</i>						2	-24,69	0,05	8,19	0,69	3	-24,38	0,30	10,13	0,32
<i>Bacopa sp.</i>											6	-26,14	0,79	6,44	1,63
<i>Ludwigia peploides</i>											3	-27,79	0,64	8,01	0,64
Floating macrophytes															
<i>Salvinia sp.</i>						2	-29,45	0,63	6,98	1,96					
<i>Eichhornia azurea</i>											3	-27,31	0,32	4,47	2,87
<i>Eichhornia crassipes</i>											3	-28,46	0,32	8,46	0,20
<i>Salvinia minima</i>											3	-29,50	0,86	5,92	2,56

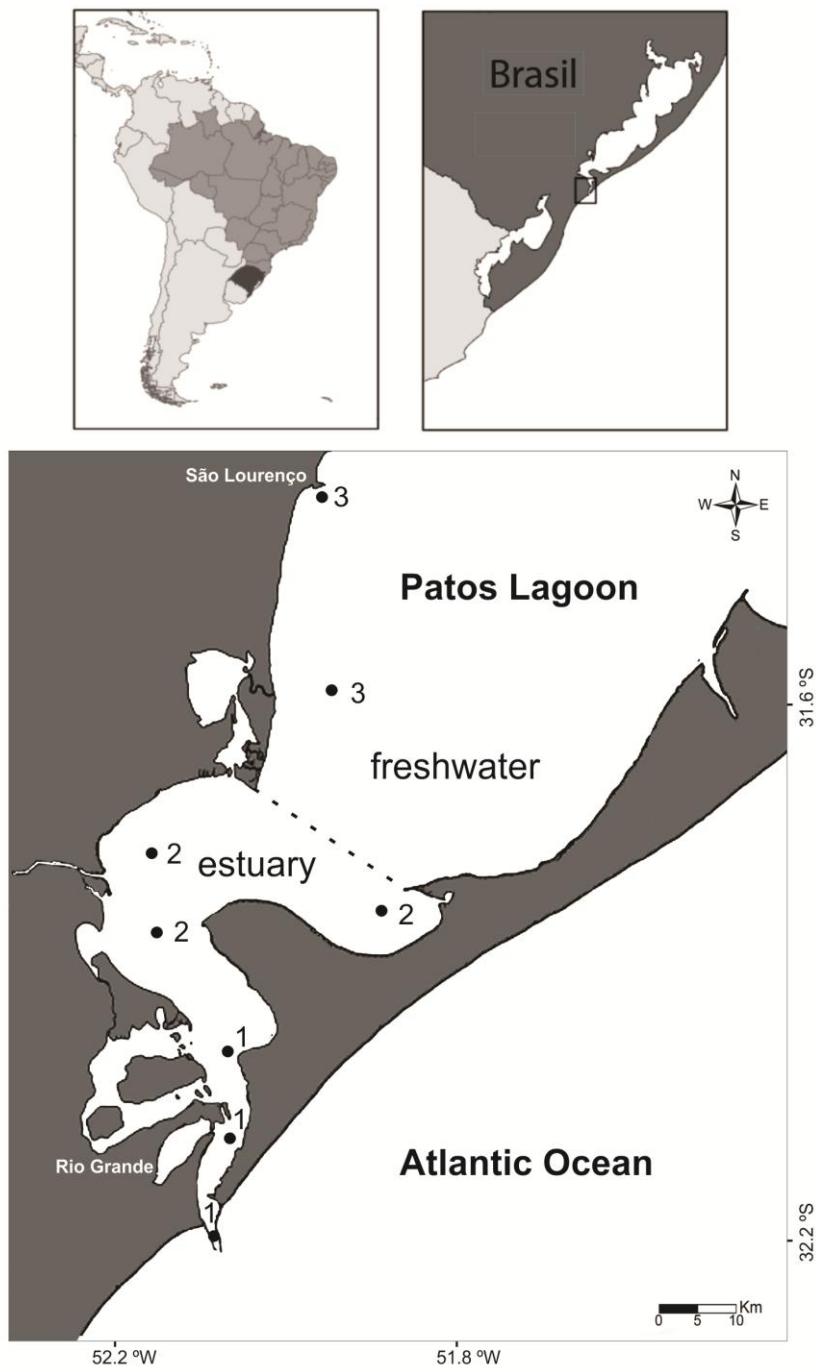


Figure 1: Map with sampling sites in the estuarine portion (1: lower and 2: upper) and freshwater (3) of the Patos Lagoon. The circles indicate the locations where they were collected specimens of *Genidens genidens*, baseline dietary sources (POM and SOM) and preys (benthic invertebrates and zooplankton).

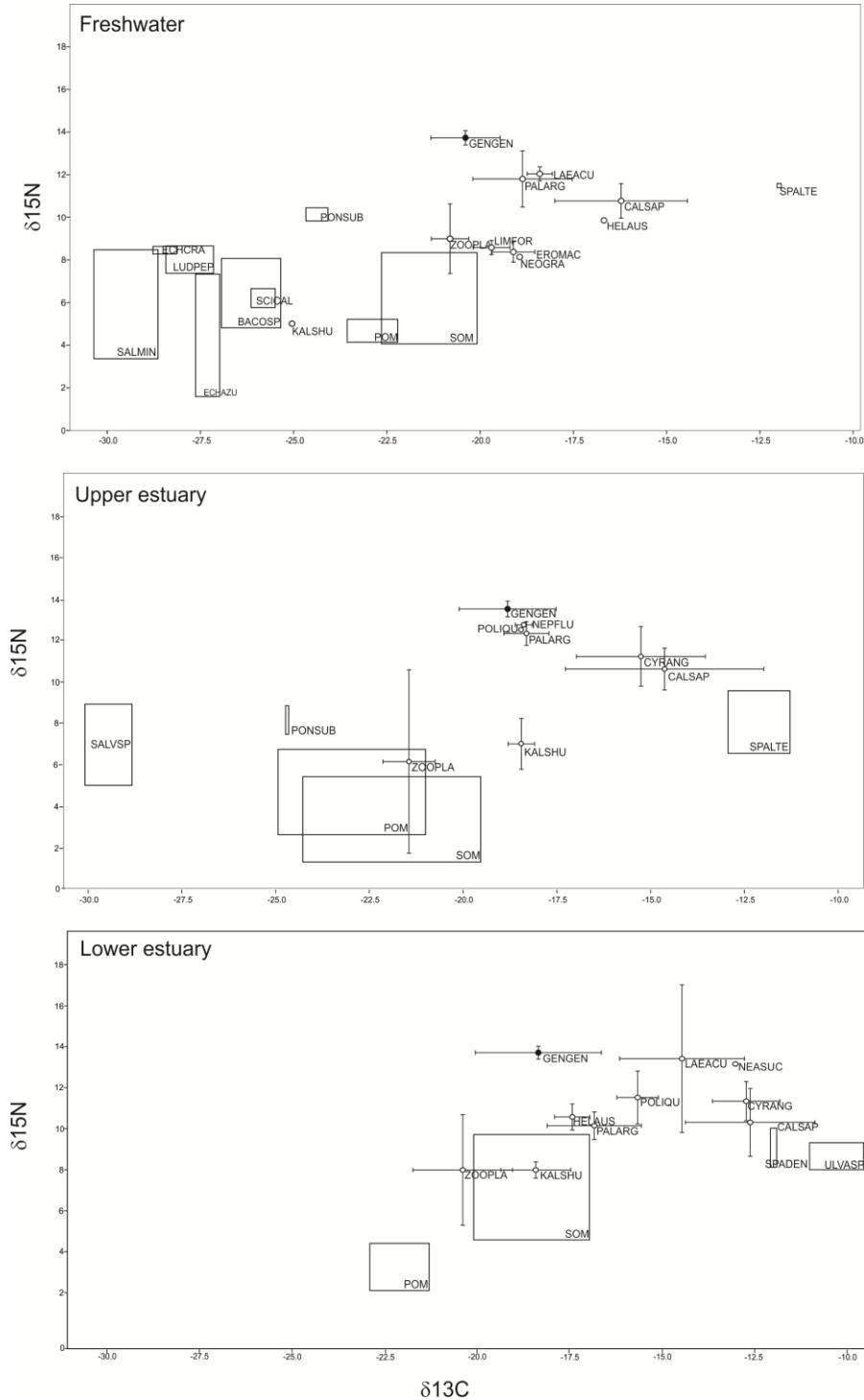


Figure 2: Mean values (\pm SD) of carbon isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) for baseline dietary sources (square), preys (open circles) and consumers (closed circles) collected in the lower estuary, the upper estuary and freshwater. Fish collected code: GENGEN: *Genidens genidens*. Code of collected crustaceans: CALSAP: *Callinectes sapidus*; CYRANG: *Cyrtograpsus angulatus*; KALSHU: *Kalliapseudes schubartii*,

PALARG: *Palaemonetes argentinus*, NEOGRA: *Neohelice granulata*. Code of collected molluscs: HELAUS: *Heleobia australis*, EROMAC: *Erodona mactroides*, LIMFOR: *Limnoperna fortunei*. Code of polychaete: LAEACU: *Laeonereis acuta*, NEASUC: *Neanthes succinea*, NEPFLU: *Nepthys fluviatilis*, POLIQU: Unidentified polychaete. Zooplankton collected: ZOOPLA: Unidentified Zooplankton. Primary producers: SPADEN: *Spartina densiflora*, ULVASP: *Ulva* sp. PONSUB: *Pontederia subovata*, SPALTE: *Spartina alterniflora*, SALVSP: *Salvinia* sp, SALMIN: *Salvinia minimum*, ECHCRA: *Echornea crassipes*, ECHAZU: *Echornea azurea*, LUDPEP: *Ludwigia peploides*, BACOSP: *Bacopa* sp, SCICAL: *Scirpus californicus*. POM: particulate matter in suspension. SOM: organic material in the sediment.

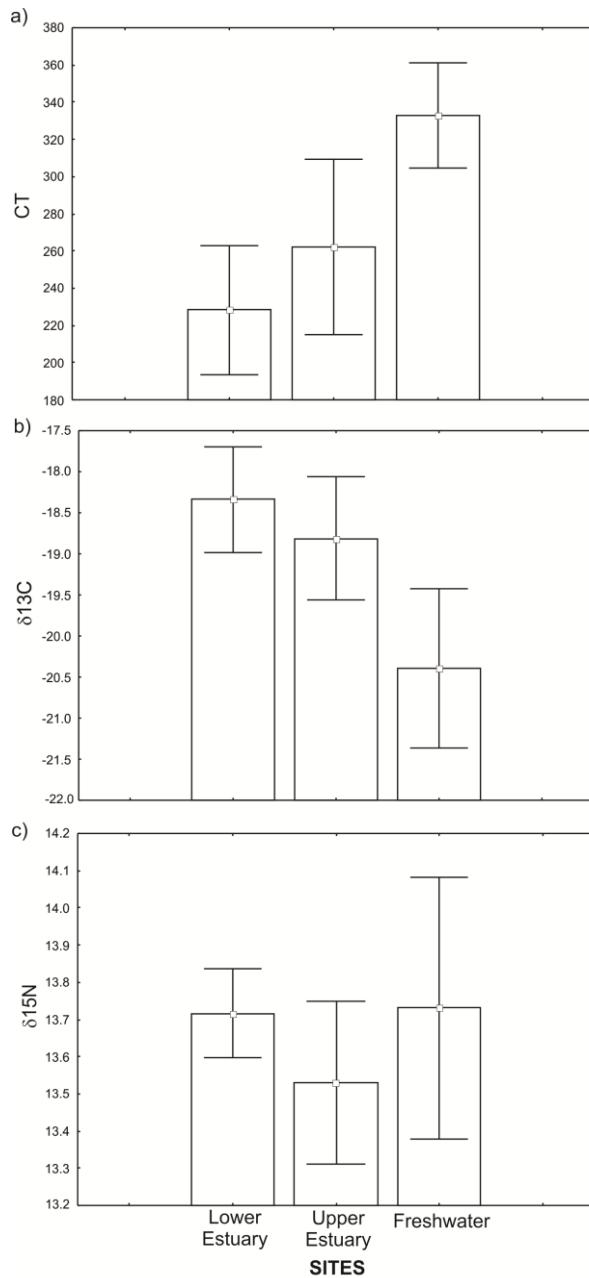


Figure 3: Average values (\pm standard deviation) in total length (a) of the carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) (b) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) (c) of the catfish *Genidens genidens* between the lower and upper regions estuarine and freshwater Patos Lagoon. Test values: (a) F (2, 16) = 1.0961; p = 0.0231. (b) F (2; 46) = 4.5596; p = 0.0156 (c) F (2; 46) = 1.5956; p = 0.2138.

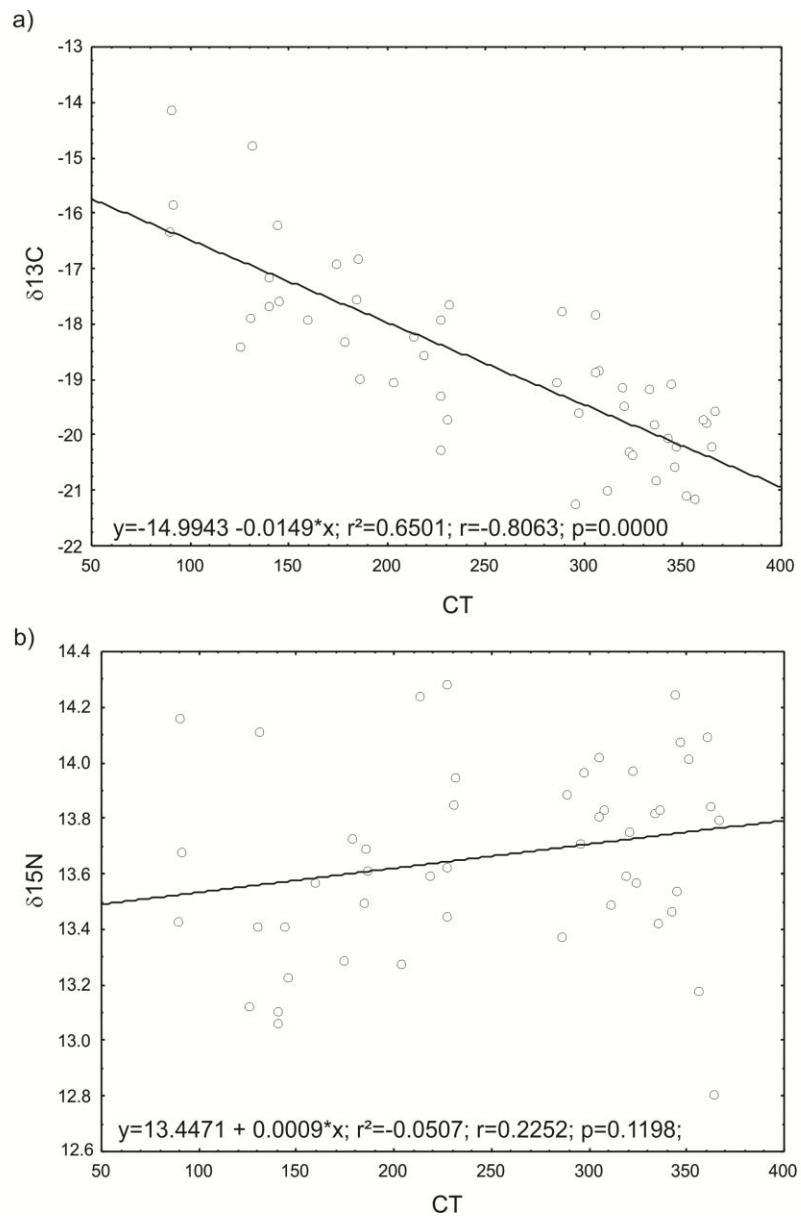


Figure 4: Correlation between carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) with the total length (TL) of the catfish *Genidens genidens* sampled in the Patos Lagoon.

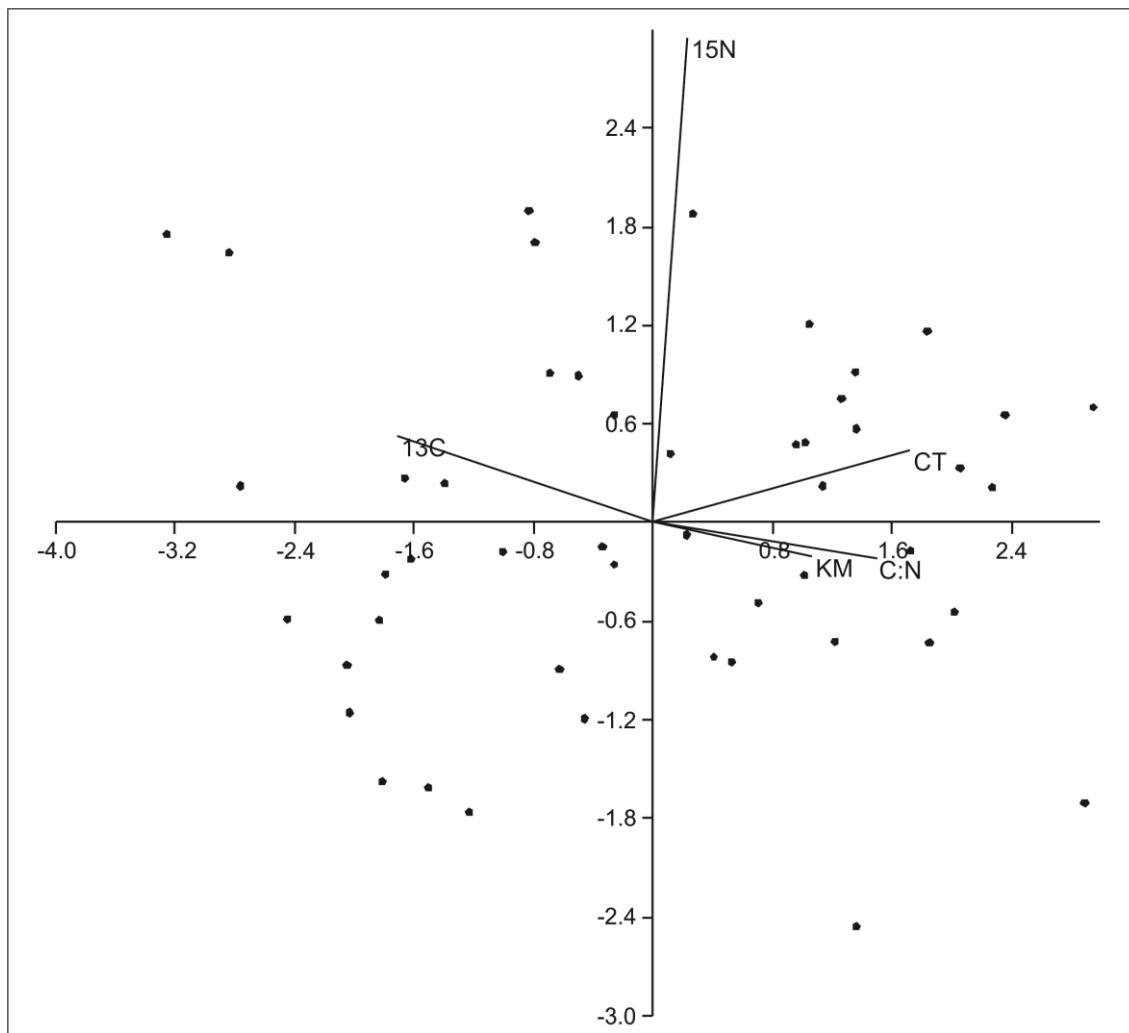


Figure 5: Principal component analysis (PCA) showing the factors that most influenced the variability of isotopic data. CT: Total length of individuals, KM: distance between points in kilometers, C: N: ratio of carbon and nitrogen, ^{13}C : values of carbon isotopes ^{15}N : values of nitrogen isotopes.

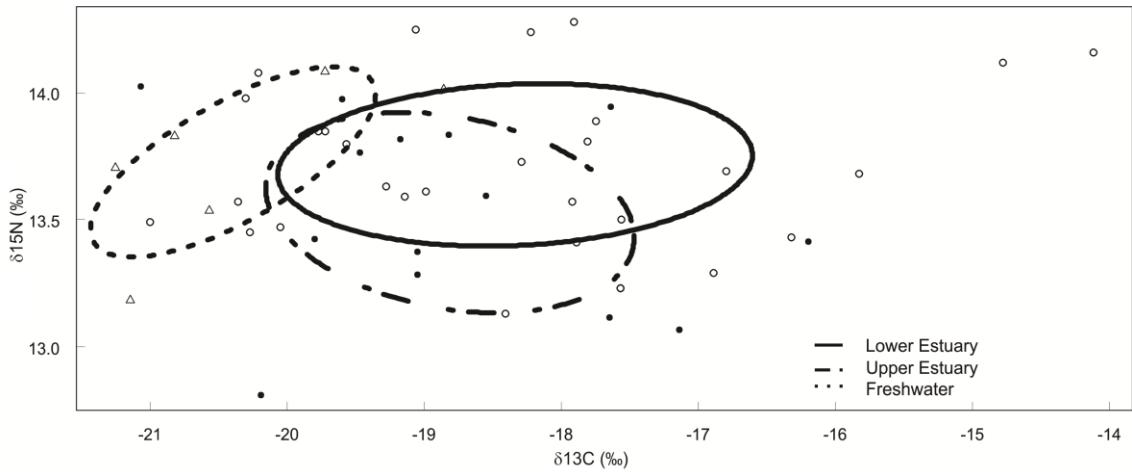


Figure 6: Biplot with carbon isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$), the catfish *Genidens genidens* and isotopic ellipses estimated for individuals collected in the lower estuary, the upper estuary and freshwater region of Patos Lagoon.

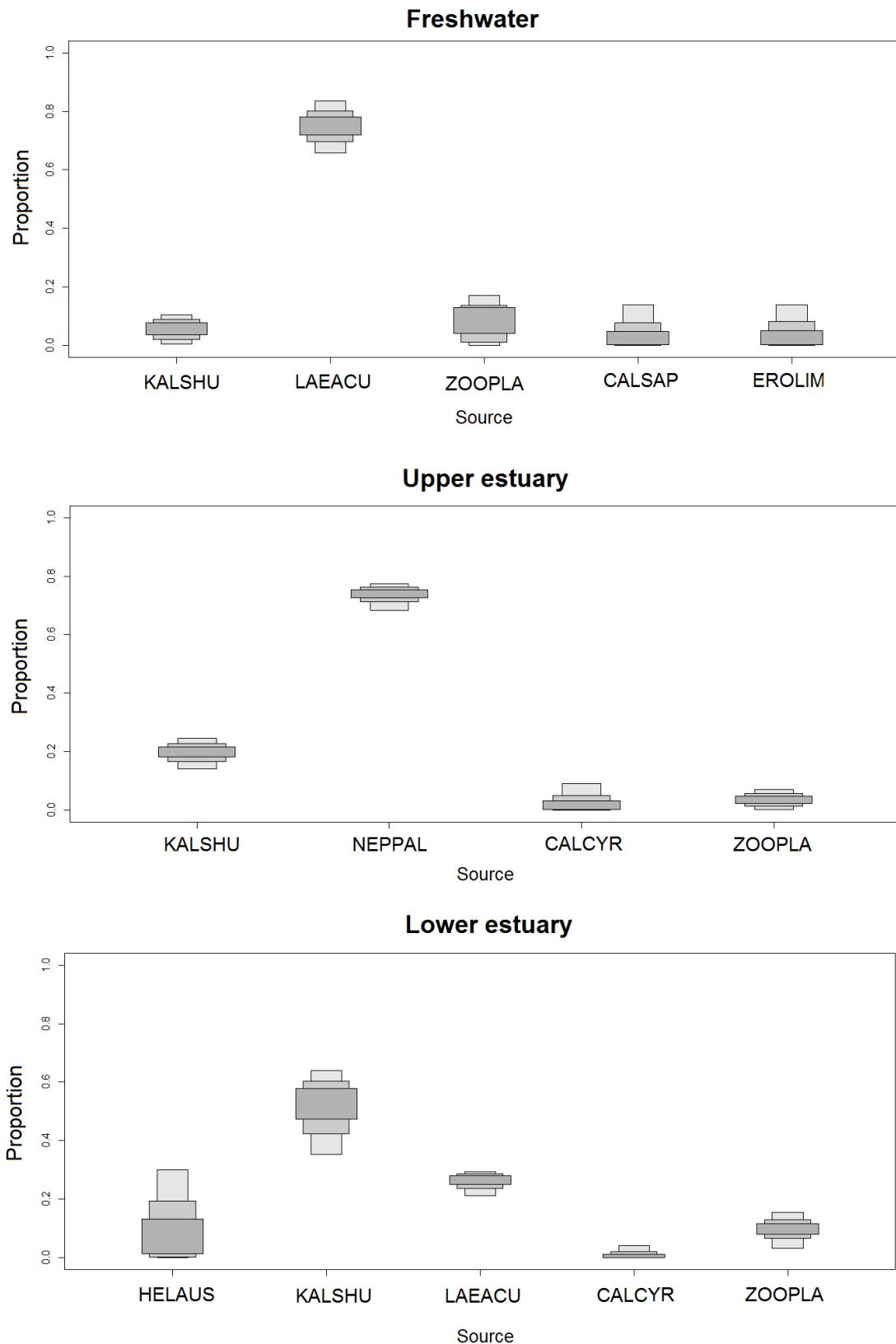


Figure 7: Relative contribution of representative preys in *Genidens genidens* diet estimated by SIAR mixture model and their credibility intervals of 95% (light gray), 75% (intermediate gray) and 50% (dark gray). Code of prey: HELAUS: *Heleobia australis*, KALSHU: *Kallipseudes schubartii*, LAEACU: *Laeonereis acuta*, CALCYR: *Callinectes sapidus* and *Cyrtograpsus angulatus*, ZOOPLA: Zooplankton, NEFPAL: *Nepthys fluviatilis* and *Palaemonetes argentinus*, EROLIM: *Erodona mactroides* and *Limnoperna fortuneii*.