

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA**

**O USO DE RIACHOS LITORÂNEOS POR  
JUVENIS DE TAINHA (*Mugil liza*) E SEU  
PAPEL NA CONECTIVIDADE TRÓFICA DO  
AMBIENTE MARINHO E CONTINENTAL**

**MAURO CÉSAR LAMIM MARTINS DE OLIVEIRA**

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Oceanografia  
Biológica da Universidade Federal do  
Rio Grande, como requisito parcial à  
obtenção do título de DOUTOR.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Miranda Garcia

**RIO GRANDE  
Agosto, 2015**

“Que os vossos esforços  
desafiem as impossibilidades,  
lembrai-vos de que as  
grandes coisas do homem  
foram conquistadas do que  
parecia impossível”

Charles Chaplin

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Alexandre Miranda Garcia meus sinceros agradecimentos, não apenas pela orientação firme e segura demonstrada na elaboração deste trabalho, mas também pelo incentivo, confiança, conhecimentos e amizade nesses anos de convivência. Sua experiência e conhecimento em ecologia são fatores de motivação para se buscar o auto aperfeiçoamento ininterrupto. O senhor é um grande exemplo de pesquisador e mestre.

Aos inúmeros alunos de graduação e colegas de mestrado e doutorado que ajudaram nas coletas de campo e na manipulação dos animais capturados. Sem a ajuda dessas pessoas o trabalho se tornaria impossível, devo a eles o sucesso desta empreitada.

Aos órgãos financiadores CNPq e Capes pelo apoio financeiro na realização deste trabalho e pela bolsa de doutorado.

Aos meus pais que sempre foram um exemplo de perseverança. Em especial ao meu pai, Augusto César, pelo apoio incondicional e paciência.

À minha companheira e amor eterno. Cibele, sem você ao meu lado este trabalho não seria o mesmo.

## Sumário

RESUMO .....	5
Palavras chave.....	7
ABSTRACT.....	9
Key words .....	9
INTRODUÇÃO GERAL.....	10
OBJETIVOS.....	21
HIPÓTESES.....	22
SÍNTESE DOS RESULTADOS.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
CAPÍTULO 1 .....	33
Transporte de nutrientes de origem marinha para teias alimentares límnicas subtropicais por juvenis de tainha: um estudo de caso no sul do Brasil	
CAPÍTULO 2 .....	36
Avaliando o papel ecológico dos riachos litorâneos para os juvenis de tainha: sumidouros ou habitats temporários?	
CAPÍTULO 3 .....	39
Assimilação de material alóctone continental e relações tróficas na zona de arrebenção de uma praia marinha subtropical	
CAPÍTULO 4 .....	81
Taxa de renovação e fracionamento isotópico da tainha, <i>Mugil liza</i> , criadas com ração experimental em laboratório	
CONCLUSÕES GERAIS DA TESE .....	101
Anexo I.....	103
Anexo II.....	114

## RESUMO

A entrada de material alóctone pode influenciar a dinâmica da energia, do carbono e o balanço dos nutrientes de muitos habitats, sendo essa troca de materiais e energia entre os ecossistemas um dos principais temas de estudo da ecologia. Uma característica marcante da costa do Rio Grande do Sul é a presença de riachos litorâneos que interconectam o ambiente marinho com os sistemas límnicos dos banhados. Esses riachos apresentam abundantes cardumes de tainha (*Mugil liza*), entretanto, nada se conhece sobre a importância na cadeia trófica da penetração em grandes quantidades das tainhas nos riachos litorâneos e o papel desses corpos d'água no recrutamento da espécie. Nesta tese foi investigada a importância da tainha na transferência de nutrientes de origem marinha para a teia alimentar dos riachos litorâneos por meio de análise de isótopos estáveis e análise de conteúdo estomacal de consumidores piscívoros. Também foram realizadas análises microquímicas dos otólitos para determinar o papel dos riachos litorâneos no ciclo de vida da tainha e determinada a taxa de renovação da composição isotópica nos tecidos da tainha, com experimentos em laboratório, para se conhecer o tempo médio que os tecidos levam para refletir a troca do ambiente marinho para o de água doce. Quanto ao fluxo de energia entre os ambientes estudados, foi avaliada a importância do material alóctone de origem terrígena para a zona de arrebenção, descrevendo ainda as variações sazonais na estrutura trófica e a importância relativa das vias pelágicas e bentônicas para seus consumidores. Nossos resultados revelaram uma incorporação de nutrientes de origem marinha nos riachos litorâneos, com os juvenis de tainha agindo como vetores biológicos. Quanto ao papel dos riachos no ciclo de vida da tainha, os padrões

da razão Sr.:Ca observados nos otólitos dos juvenis mostraram que apesar de entrarem nos riachos, eles conseguem sair, corroborando com a hipótese de que esses ambientes estariam funcionando como habitats temporários durante o início da vida da tainha (*Mugil liza*). Ao analisar os principais componentes da teia alimentar da zona de arrebentação, foi possível observar que os valores médios do  $\delta^{13}\text{C}$  do POM e de alguns consumidores tiveram uma amplitude de variação cerca de duas vezes maior no inverno do que nas demais estações do ano ( $\Delta$ : 12,8‰ vs. 6,4‰). A diminuição nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  durante o inverno pode ser explicada pela exportação do POM de ambientes aquáticos continentais adjacentes, especialmente dos riachos litorâneos, que desaguam na zona de arrebentação, porém a assimilação de material alóctone parece não ocorrer de forma uniforme entre todos consumidores, sendo restrita principalmente à organismos bentônicos filtradores situados na base da teia e por alguns peixes ocupando os níveis tróficos superiores. O experimento demonstrou que os juvenis de tainha apresentaram uma rápida taxa de renovação isotópica, com uma meia-vida ( $T_{50}$ ) de apenas 15 e 12 dias para o  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  e uma renovação quase total ( $T_{95}$ ) de 67 e 52 dias para o  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , respectivamente. O fator de discriminação isotópica ( $\Delta$ ) foi de  $2,8 \pm 0,5$  ‰ para o  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $4,3 \pm 0,4$  ‰ para o  $\delta^{15}\text{N}$ . Esses resultados são os primeiros obtidos experimentalmente para peixes marinhos nativos da América do Sul e, portanto, contribuirão na precisão e no refinamento dos estudos que empregam isótopos estáveis para desvendar a dinâmica trófica nas regiões costeiras neotropicais.

**Palavras chave:** Isótopos estáveis, Mugilidae, microquímica de otólitos, recrutamento, subsídio lateral em teias alimentares.

**ABSTRACT**

The input of allochthonous material can influence the dynamics of energy, carbon and nutrient balance of many habitats, and the exchange of materials and energy between ecosystems one of the major themes in ecology. A remarkable feature of the RS coast is the presence of coastal streams that interconnect the marine environment with the limnic-wetlands systems. These streams show abundant shoals of mullet (*Mugil liza*), however, nothing is known about the importance of the penetration of large amounts of mullet in the food web from these streams and the role of these bodies of water in the species life cycle. This thesis investigated the importance of mullet in the transfer of marine origin nutrients to the food web of coastal streams through analysis of stable isotopes and stomach content analysis of piscivores consumers. Were also carried out otolith microchemistry analysis to determine the role of coastal streams in the life cycle of mullets and determined the isotopic turnover rate composition of mullet's tissues with laboratory experiments, in order to know the average time that the tissues lead to reflect the change from the marine environment to the freshwater. As to the flow of energy between the studied environments, was evaluated the importance of terrigenous origin allochthonous materials for the surf zone, we also described the seasonal variations in the trophic structure and the relative importance of pelagic and benthic routes for ther consumers. Our results showed an incorporation of marine-derived nutrients into coastal streams, with juvenile mullets acting as biological vectors. As for the role of these coastal streams in the mullet lifecycle, the Sr:Ca ratio profiles observed in juvenile otolith showed that despite entering the streams, they can go out, confirming the hypothesis that these environments were

working as temporary habitats for the early life of the mullet (*Mugil liza*). When analyzing the main components of the surf zone food web, it was possible to observe that the average values of  $\delta^{13}\text{C}$  from the POM and from some consumers had a variation range about two times higher in winter than in other seasons ( $\Delta$  : 12.8 ‰ versus 6.4 ‰). The decrease in  $\delta^{13}\text{C}$  values during the winter can be explained by the exportation of adjacent freshwater ecosystems POM, especially coastal streams, which flow into the surf zone, but the assimilation of allochthonous material seems to occur uniformly among all consumers and is mainly restricted to the filter feeding benthic organisms at the base of the web and some fish occupying higher trophic levels. The experiment demonstrated that mullet juveniles exhibited a rapid isotopic turnover rate with a half-life (T50) of only 15 and 12 days for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  and a nearly complete isotopic turnover rate (T95) of 67 and 52 days for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  respectively. These results are the first experimentally obtained for native marine fish from South America and thus contribute on the accuracy and refinement of studies employing stable isotopes to unravel the neotropical coastal regions trophic dynamics.

**Key words:** Stable isotopes, Mugilidae, otolith microchemistry, recruitment, lateral subsidy in food webs.

## INTRODUÇÃO GERAL

### **Relações tróficas e o papel dos peixes como vetor biológico promovendo o fluxo de matéria e energia entre ambientes aquáticos**

O entendimento das interações tróficas entre as espécies e determinar sua influência sobre os padrões e propriedades dinâmicas das comunidades biológicas compreende um dos principais temas de estudo na ecologia (Hall & Raffaelli 1993). De acordo com Pimm *et al.* (1991), estas interações podem ser representadas na forma de ligações ou elos entre espécies de uma rede, análoga a um mapa rodoviário. Com isso, fica evidenciada a importância dos estudos de teias alimentares no entendimento da complexidade ecológica. Como definido por Pimm *et al.* (1991), as teias alimentares podem ser consideradas um mapa que descreve, em uma comunidade, “quem come quem”. Definições semelhantes são abundantes na bibliografia, onde, de maneira geral, as teias alimentares são definidas como uma rede de ligações entre consumidores e recursos, entre um grupo de organismos, populações ou agregados de unidades tróficas (Winemiller & Polis 1996, Woodward & Hidrew 2002).

Uma das grandes dificuldades relativas ao estudo das teias alimentares e o fluxo de energia em ecossistemas consiste no fato de que estudos teóricos terem se desenvolvido muito mais rapidamente do que os estudos empíricos, de modo que há uma necessidade de um grande investimento em estudos descritivos e experimentais, bem como em novas abordagens, para o preenchimento dessa lacuna no conhecimento (Winemiller & Layman 2005).

Os organismos que compõem as teias alimentares vivem em um mundo espacialmente e temporalmente heterogêneo, onde os habitats variam quanto à produtividade, abundância de recursos, comportamento dos consumidores e demografia. Os componentes básicos de teias alimentares (nutrientes, detritos e organismos) atravessam as fronteiras espaciais dos ecossistemas (Polis *et al.* 1996) e a entrada desses componentes pode fornecer nutrientes e energia importantes para o ecossistema receptor, moldando a dinâmica dos consumidores e recursos (Polis *et al.* 1997). A magnitude e a frequência com que ocorrem esses fluxos de matéria e energia entre os ecossistemas dependem de um conjunto de fatores como: 1) área e geometria do habitat, 2) similaridade, distância e produtividade relativa dos habitats que estão interagindo, 3) permeabilidade das fronteiras e 4) mobilidade dos organismos (Hansen & Castri 1992; Wiens 1992).

A entrada de material alóctone (i.e., produzido fora do sistema aonde ele será utilizado) pode influenciar a dinâmica da energia, do Carbono e o balanço dos nutrientes de muitos habitats (Savage *et al.* 2012). Em geral, a entrada de nutrientes (Nitrogênio, Fósforo e elementos traços), detritos e presas aumenta a produtividade primária e altera o comportamento dos consumidores. O transporte de matéria e nutrientes através de fronteiras ocorre tanto por meio de vetores físicos, quanto por bióticos. Entre os vetores físicos, os principais são a água e o vento, transportando por advecção e difusão (DeAngelis 1992). Com relação aos vetores biológicos, os principais são os consumidores que se movimentam entre ecossistemas (Vanni 2002, Koshino *et al.* 2013, McCauley *et al.* 2015 ). Um dos exemplos mais expressivos de como os animais podem

transportar nutrientes por longas distâncias é o dos salmonídeos (Naiman *et al.* 2002). Devido ao seu deslocamento do ambiente marinho, onde crescem, até as cabeceiras dos rios, aonde se reproduzem e usualmente morrem, os nutrientes liberados pelo salmão podem ser responsáveis por até 100% da produção alóctone em rios do Alaska (Kline *et al.* 1990). De fato, como demonstrado por Macvoy *et al.* (2000), peixes anádromos são carreadores de nutrientes do oceano para corpos de água doce adjacentes, aonde podem representar subsídio energético para a teia alimentar de forma direta (compondo a dieta de piscívoros) ou indireta (fezes e carcaças).

### **Isótopos estáveis como ferramentas no estudo das relações tróficas e fluxo de matéria e energia entre ecossistemas.**

Tradicionalmente, estudos empíricos sobre as teias alimentares e o fluxo de matéria e energia entre os ecossistemas são realizados por meio de análises de conteúdo estomacal (ACE) (Hyslop 1980, Amezaga-Herran 1988, Amundsen *et al.* 1996) e observações de campo da seleção do alimento pelo predador (Longo *et al.* 2012, Longo & Floeter 2012). Esse tipo de metodologia permite revelar apenas o item alimentar que está sendo ingerido pelo consumidor em determinado local e período de tempo (Beaudoin *et al.* 1999, Post 2002, Winemiller *et al.* 2007). Uma das limitações da ACE é a impossibilidade de determinar as fontes primárias de matéria orgânica que sustentam consumidores em níveis tróficos intermediários (secundário ou superior) da cadeia alimentar (Winemiller *et al.* 2007). Outra limitação se deve ao fato de que parte dos itens alimentares no trato digestório pode representar

material refratário ao processo digestivo que não é efetivamente assimilado pelo consumidor (Winemiller *et al.* 2007).

Outro modo de investigar relações tróficas entre organismos e as trocas de materiais e energia entre ecossistemas, que vem se tornando a metodologia mais aplicada nessa área da ecologia, é a análise da ocorrência natural de isótopos estáveis, especialmente aquelas de carbono ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) (Fry 2006, Latja & Mitchener 2007). Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico (mesmo número de prótons), mas que diferem em número de nêutrons, apresentando diferentes massas. Os elementos ocorrem naturalmente em várias formas isotópicas, sendo que algumas (e.g.,  $^{14}\text{C}$ ) são instáveis e por isso sua radioatividade decai com o tempo. Outros isótopos não apresentam diminuição radioativa sendo considerados isótopos estáveis (Fry 2006).

Os isótopos estáveis do carbono ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) ocorrem naturalmente no ambiente físico e representam elementos fundamentais na composição dos tecidos vivos, na forma de carboidratos, lipídeos, proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos (Fry 2006). A abundância da forma isotópica mais pesada e mais rara ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ), em relação à forma isotópica mais leve e mais comum na natureza ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ) é calculada com base nos valores das amostras e de padrões de referência obtidos no ambiente natural (Dawson & Brooks 2001). As mensurações dos valores isotópicos são efetuadas no espectrômetro de massa de razões isotópicas (IRMS), sendo que a composição isotópica de uma amostra é normalmente expressa pela notação delta ( $\delta$ ):

$$\delta^{XX}E = (R_{\text{substância}} : R_{\text{referência}} - 1) \times 1000 \text{ ‰},$$

onde XX é a massa atômica do isótopo pesado (e.g.,  $^{13}\text{C}$ ) do elemento químico E, R é a razão entre os isótopos pesados (e.g.,  $^{13}\text{C}$ ) e leves (e.g.,  $^{12}\text{C}$ ) numa amostra e no padrão de referência. Os padrões de referência internacional para o carbono é a rocha do fóssil *Belemnitella americana* da formação PeeDee (PDB) da Carolina do Sul, EUA, com o valor de  $\delta^{13}\text{C} = -7,7\text{‰}$  e o padrão para o nitrogênio é o gás  $\text{N}_2$  atmosférico, com o valor de  $\delta^{15}\text{N} = 0\text{‰}$  (Fry 2006). A unidade de medida da notação delta ( $\delta$ ) é dita permil (‰).

Após mais de 30 anos da aplicação de análise de isótopos estáveis (AIE) (Fry 2006) como ferramenta em trabalhos de ecologia, já existe um considerável consenso da comunidade científica quanto à sua eficiência e aplicabilidade na investigação das teias alimentares e trocas entre ecossistemas (Michener & Shell 1994, Garcia *et al.* 2007, Martinez del Rio *et al.* 2009, Walters *et al.* 2009, Winemiller *et al.* 2011). Os primeiros trabalhos utilizando a composição isotópica do carbono presente no tecido dos animais para o estudo de dieta e fluxo de energia foram desenvolvidos por Haines (1976), DeNiro & Epstein (1978), Fry *et al.* (1978), Haines & Montague (1979), Teeri & Schoeller (1979), Rau (1980), Rau & Andersen (1981), Fry & Arnold (1982), Tieszen *et al.* (1983), Checkley & Entzeroth (1985), Peterson & Fry (1987), onde foi verificado que ocorre, em média, um enriquecimento de 1‰ em carbono com relação a fonte alimentar basal. Já os primeiros estudos desenvolvidos com os isótopos de nitrogênio (Gaebler *et al.* 1966, Steele & Daniel 1978, Rau 1981, DeNiro & Epstein 1981, Checkley & Entzeroth 1985, Peterson & Fry 1987) observaram a ocorrência de um enriquecimento entre 2‰

a 3,5‰ permil a cada nível trófico, possibilitando a sua utilização no estudo das posições tróficas dos consumidores.

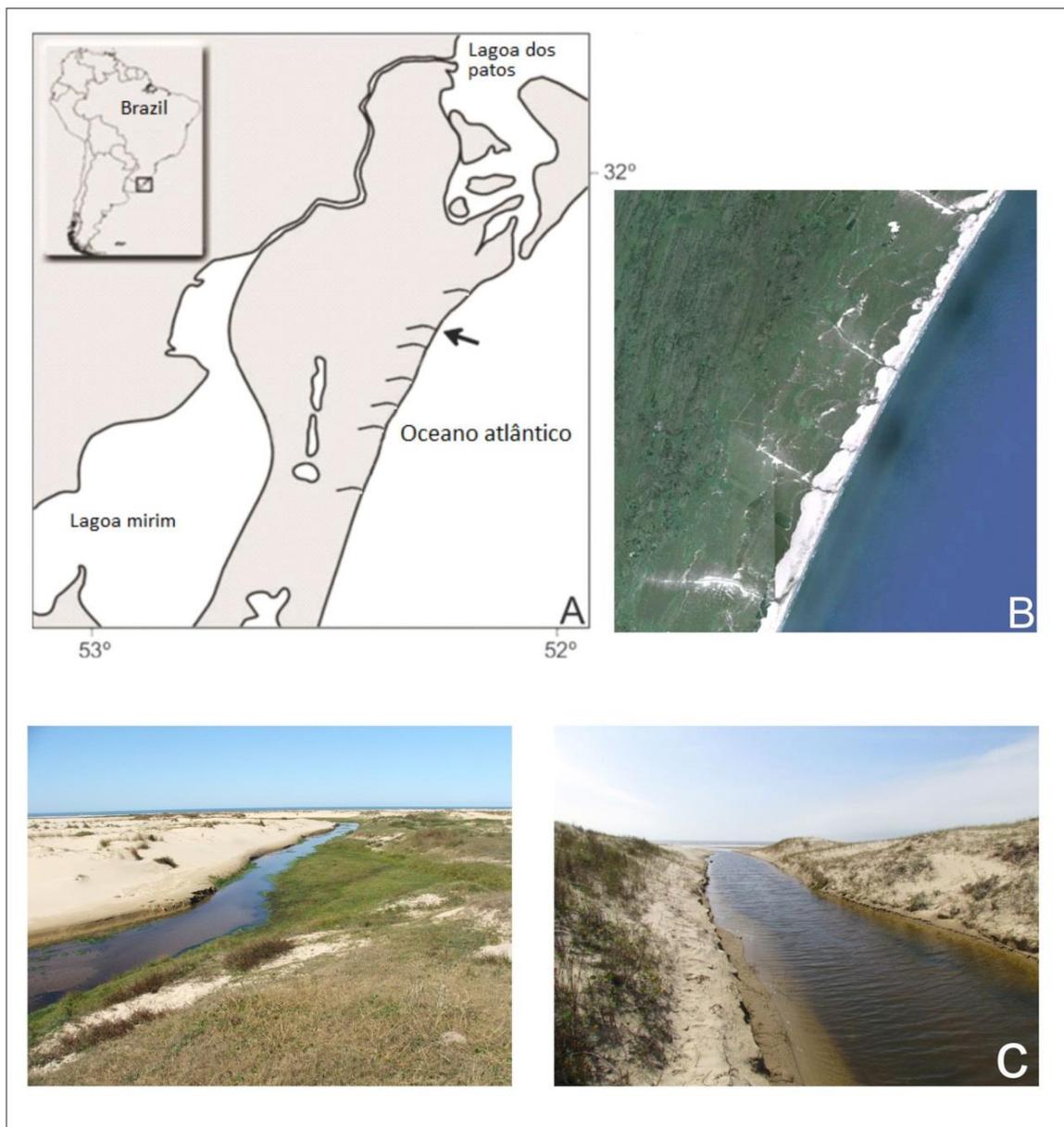
A AIE também possui suas limitações técnicas. Por exemplo, em comparação com o método da ACE, a AIE não permite um conhecimento detalhado, em termos taxonômicos, da composição da dieta de um organismo, já que muitas fontes alimentares basais e presas possuem composição isotópica semelhantes e, muitas vezes, não podem ser distinguidas com apenas dois isótopos estáveis (Phillips *et al.* 2014). Com isso, a conjunção de ambas as técnicas, ACE e AIE, pode fornecer uma visão ampla e eficaz do fluxo de energia em teias alimentares complexas, como verificado em ambientes tropicais (Post 2002, Winemiller *et al.* 2007, Martinelli *et al.* 2009). Contudo, um aspecto fundamental em estudos de ecologia trófica que utilizam a técnica de AIE, que muitas vezes é negligenciado, é a validação experimental de pressupostos. Por exemplo, a relação entre a dieta e as razões isotópicas em tecidos de consumidores nem sempre é direta e pode estar sujeita a variabilidade por diferenças de assimilação de nutrientes, fracionamento isotópico e taxas de renovação de tecidos, levando a uma interpretação errônea dos dados (Tieszen *et al.* 1983, Pinnegar & Polunin *et al.* 1999, Gaye-Siessegger *et al.* 2003, Dalerum & Angerbjorn 2005).

### **O uso de riachos litorâneos por juvenis de tainha e seu papel na conectividade trófica do ambiente marinho e continental.**

A presença de riachos litorâneos, conhecidos localmente como sangradouros é uma característica marcante do litoral do Rio Grande do Sul (RS) (Figura 1). Esses riachos se formam devido a drenagem da planície

costeira, dando assim escoamento às águas pluviais coletadas nas depressões e banhados localizados entre cordões litorâneos, servindo de conexão entre o ambiente marinho costeiro e as áreas de banhado localizadas atrás das dunas frontais (Figueiredo & Calliari 2006). O número e a distribuição desses riachos variam ao longo do ano, sendo muito mais frequentes no inverno do que no verão (Pereira da Silva, 1998). Apesar dessa variação sazonal, alguns riachos possuem uma conexão permanente com o mar (Figueiredo & Calliari 2006), o que propicia a entrada de espécies marinhas nesses ambientes (Bastos *et al.* 2014).

Nestes riachos, um dos peixes mais abundantes (cerca de 50% de toda a ictiofauna) são formas juvenis (~25 mm) da tainha *Mugil liza* (Figura 2) (Bastos *et al.* 2013, Bastos *et al.* 2014). Essa espécie é de origem marinha e possui ampla distribuição ao longo da costa da América do Sul, desde o Caribe até a Argentina (Menezes *et al.* 2010), sendo um importante recurso pesqueiro no Brasil. Nos últimos anos essa espécie vem sofrendo um forte aumento na sua captura, principalmente pela valorização da sua 'ova' (ICMBIO/Ibama/Cepsul, 2007), situação que levou a espécie a ser declarada sobreexplorada em 2004 (Anexo II IN MMA nº 05 21/05/2004).



**Figura 1.** Mapa da costa sul do Rio Grande do Sul, mostrando em detalhe (seta) os inúmeros riachos litorâneos (A), em (B) imagem de satélite dos riachos litorâneos e em (C) duas fotos dos riachos litorâneos cortando os cordões de dunas em direção ao mar.

A entrada de tainhas em ambientes costeiros, como o estuário da Lagoa dos Patos, está documentada e sabe-se que é fundamental na sustentação dos

estoques adultos da espécie (Vieira 1991), mas pouco se conhece sobre a importância ecológica da penetração em grandes quantidades das tainhas nos riachos litorâneos. Devido à elevada abundância desses juvenis de tainha nesses ambientes, é plausível supor que esses juvenis possam transferir nutrientes marinhos para a teia trófica dos riachos, tanto de forma direta, como presa na dieta de predadores piscívoros como indiretamente, por meio de suas fezes e carcaças, os quais podem ser utilizados pelos produtores primários.



**Figura 2** – Foto de um indivíduo adulto da Tainha *Mugil liza*.

Animais que se movimentam entre ambientes com marcadas diferenças isotópicas podem reter informações do alimento consumido no ambiente de origem (e.g., marinho) ao chegarem ao novo local (e.g., estuários e banhados). Por exemplo, Hoeinghaus *et al.* (2011) demonstraram que peixes estuarino-dependentes, como a tainha, apresentam valores isotópicos do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) significativamente maiores quando comparados com os peixes de água doce nos principais estuários do RS (Tramandaí, Lagoa dos Patos e Chuí). Evidências preliminares sugerem que esses valores de  $\delta^{13}\text{C}$  aumentam quando

peixes estuarino-dependentes oriundos do ambiente estuarino permanecem, durante parte do seu ciclo de vida, na porção límnic da Lagoa dos Patos (Garcia *et al.* 2007). Isso provavelmente ocorre porque os peixes se movimentam entre cadeias alimentares com diferenças isotópicas no decorrer da sua vida. No caso de isótopos estáveis (C, N) o período de substituição da ‘assinatura’ isotópica do ambiente antigo para o novo pode variar de semanas a meses entre as espécies de peixes, variando de acordo com a taxa de renovação metabólica do tecido animal das diferentes espécies de peixes. Por exemplo, o fígado possui uma taxa de renovação mais rápida do que músculo (entre 1-4 semanas e entre 3-12 meses, respectivamente) (Hesslein *et al.* 1993, Herzka & Holtz 2000), Portanto, para uma avaliação mais precisa da transferência de nutrientes marinhos incorporado aos tecidos (e.g., fígado, músculo) da tainha é imprescindível determinar, por meio de experimentos, a taxa de renovação isotópica nos tecidos dessa espécie.

### **A importância dos riachos litorâneos como habitats no ciclo de vida da tainha.**

Como mencionado anteriormente, cardumes de juvenis da tainha são comumente encontrados dentro dos riachos costeiros. Esses riachos, os quais são numerosos (média de 3 a cada 10 km) no extenso litoral do RS (~600 Km) (Figueiredo & Calliari 2006), poderiam representar ‘sumidouros populacionais’ para os juvenis da espécie (*sensu source-sink metapopulation model*; Dias 1996), já que eles não parecem atingir a idade adulta nesses ambientes como o fazem no estuário da Lagoa dos Patos. Uma hipótese alternativa é que esses riachos possam atuar como habitats temporários ou intermediários aos recrutas

da espécie antes dos mesmos conseguirem alcançar os estuários do RS (e.g., Lagoa dos Patos, Tramandaí), aonde usualmente crescem até a fase adulta.

Uma maneira de investigar como os juvenis de tainha usam os riachos litorâneos é a análise da microquímica dos otólitos como dos ambientes experimentados por esses juvenis. Os otólitos são estruturas situadas no ouvido interno dos peixes ósseos e estão relacionados com o equilíbrio, orientação espacial e audição (Panella 1971, Lombarte 1992, Campana 1999, Popper *et al.* 2003). Essas estruturas crescem durante toda a vida do animal por meio da deposição de anéis concêntricos, possibilitando seu uso na determinação de idade e taxas de crescimento (Mosher & Eckles 1954, Panella 1971, Barnes *et al.* 1992). De maneira geral, o primeiro anel se forma logo depois da eclosão e o último anel corresponde ao fim da vida do peixe (Panella 1971, Brothers *et al.* 1976, Campana & Neilson 1985).

Uma característica que possibilita a utilização dos otólitos como marcadores temporais das atividades e dos ambientes experimentados é o fato de serem metabolicamente inertes (Degens *et al.* 1969, Campana 1999). Os otólitos são compostos por uma proteína fibrosa de alto peso molecular com uma constituição similar ao colágeno (otolina) e por carbonato de cálcio em forma de cristais de aragonita (Pannella 1971, Campana 1999). Os otólitos também contém quantidades pequenas ou vestigiais de outros 40 elementos (Campana *et al.* 1997), os quais são depositados em taxas relacionadas com a concentração destes na água (Radtke 1989).

Dos elementos químicos já encontrados em otólitos de teleósteos, o estrôncio (Sr) e o bário (Ba) constituem os mais comumente utilizados como

marcadores ambientais. Nos oceanos, o Sr apresenta uma concentração média aproximadamente 100 vezes maior do que em água doce (Campana 1999), fazendo com que o Sr seja amplamente aplicado para analisar o comportamento migratório de peixes entre água doce e água salgada e para inferir o uso e o tempo de residência (e.g., Rooker 2001, Secor 2002, Albuquerque *et al.* 2010).

Ao contrário do que ocorre com o Sr, a presença de uma alta concentração de Ba nos otólitos remete a uma relação negativa com a salinidade do ambiente (Begg *et al.* 2005), o que o torna um indicador de água doce. A incorporação desses elementos (Sr e Ba) nos otólitos torna a análise elementar dessas estruturas uma importante ferramenta na determinação das condições ambientais que os indivíduos experimentam ao longo da vida (Campana 1999, Veinott & Porter 2005, Albuquerque *et al.* 2010).

## **OBJETIVOS**

Esta tese teve como principais objetivos:

- i) Investigar o papel trófico dos juvenis de tainha, *Mugil liza*, para as teias alimentares dos ambientes límnicos continentais
- ii) Investigar o papel ecológico dos riachos litorâneos no ciclo de vida da tainha *Mugil liza* ;
- iii) Avaliar a importância do aporte de material alóctone de origem continental para consumidores marinhos na zona de arrebentação.
- iv) Determinar o fracionamento isotópico e a taxa de renovação (*turnover*) da composição isotópica no tecido muscular da tainha, a fim de conhecer o

tempo médio que esses tecidos levam para refletir a troca do ambiente marinho para o de água doce.

## **HIPÓTESES**

Considerando o contexto e as informações acima expostas, as hipóteses de trabalho foram:

**Hipótese 1:** A tainha, *Mugil liza*, age como um vetor biológico, transferindo nutrientes de origem marinha para a teia alimentar dos riachos litorâneos.

**Hipótese 2:** Os riachos litorâneos funcionam como habitats temporários ou alternativos para os juvenis de tainha (*Mugil liza*).

**Hipótese 3:** A matéria orgânica dos ambientes límnicos é exportada para a costa pela descarga continental é assimilada por consumidores (macroinvertebrados bentônicos e peixes) na zona de arrebentação marinha.

## **ESTRUTURA DA TESE**

Os resultados serão apresentados na forma de capítulos. Sendo que os dois primeiros capítulos são apresentados de forma sintética no corpo principal, enquanto suas versões na íntegra estão redigidas em inglês e disponibilizadas na forma de anexos. Já o terceiro e o quarto capítulo estão na versão integral e em português no corpo principal da tese.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque CQ, Miekeley N and Muelbert JH. 2010. Whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri*, trapped in a freshwater coastal lagoon: a natural comparison of freshwater and marine influences on otolith chemistry. *Neotropical Ichthyology* 8(2): 311-320.
- Amezaga-Herran R. 1988. Analisis de contenidos estomacales en peces. revision bibliografica de los objetos y la metodologia. Instituto Espanol de Oceanografia Informes Tecnicos 63: 1-74.
- Amudsen PA, Gabler HM and Staldvik FJ. 1996. A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data – modification of the Costello (1990) method. *Journal of Fish Biology* 48: 607-614.
- Barnes T, McCall A, Jacobson L and Wolf P. 1992. Recent population trends and abundance estimates for the Pacific sardine (*Sardinops sagax*). *CalCOFI Rep* 33: 60-75.
- Bastos RF, Calliari LJ and Garcia AM. 2014. Marine intrusion and freshwater discharge as opposite forces driving fish guilds distribution along coastal plain streams. *Hydrobiologia* 726(1): 245-258.
- Bastos RF, Condini MV and Garcia AM. 2013. Fish species list of coastal streams in southern Brazil: with notes on austral distribution limits of marine and freshwater endangered species. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 8: 347-351.

- Beaudoin CP, William MT, Ellie EP and Leonard IW. 1999. Individual specialization and trophic adaptability of norther pike (*Esox lucius*): an isotope and dietary analysis. *Oecologia* 120: 386-396.
- Begg GA, Campana SE, Fowler AJ and Suthers IM. 2005. Otolith research and application: current directions in innovation and implementation. *Marine and Freshwater Research* 56: 477- 483.
- Brothers EB, Mathews CP and Lasker R. 1976. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fishery Bulletin* 74: 1 - 8.
- Calliari LJ, Speranski N, Torronteguy M and Oliveira MB. 2001. The mud banks of Cassino Beach, southern Brazil: characteristics, processes and effects. *Journal of Coastal Research* 34: 318-325.
- Campana SE and Neilson JD. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42: 1014-1032.
- Campana SE. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* 188: 263-297.
- Checkley DM and Entzeroth LC. 1985. Elemental and Isotopic Fractionation of Carbon and Nitrogen by Marine, Planktonic Copepods and Implications to the Marine Nitrogen-Cycle. *Journal of Plankton Research* 7(4): 553-568.
- Dawson TE and Brooks PD. 2001. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. *In*: Unkovich M. et al. (Ed.). *Stable isotope techniques*

in the study of biological processes and functioning of ecosystems.  
Dordrecht: Kluwer Academic Publisher: 1-18p.

DeAngelis DL. 1992. Dynamics of Nutrient Cycling and Food Webs. London:  
Chapman & Hall. 288p.

Degens ET, Deuser WG and Haedrich RL. 1969. Molecular structure and  
composition of fish otoliths. *Marine Biology* 2(2): 105-113.

Deniro MJ and Epstein S. 1978. Influence of Diet on Distribution of Carbon  
Isotopes in Animals. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 42(5): 495-506.

Deniro MJ and Epstein S. 1981. Influence of Diet on the Distribution of  
Nitrogen Isotopes in Animals. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 45(3):  
341-351.

Figueiredo SA and Calliari LJ. 2006. Washouts in the central and northern littoral  
of Rio grande do Sul State, Brazil: distribution and implications. *Journal of  
Coastal Research*, SI 39: 366-370.

Fry B and Arnold C. 1982. Rapid C-13/C-12 Turnover During Growth of Brown  
Shrimp (*Penaeus Aztecus*). *Oecologia* 54(2): 200-204.

Fry B, Joern A and Parker PL. 1978. Grasshopper Food Web Analysis - Use of  
Carbon Isotope Ratios to Examine Feeding Relationships among  
Terrestrial Herbivores. *Ecology* 59(3): 498-506.

Gaebler OH, Vitti TG and Vukmirov R. 1966. Isotope Effects in Metabolism of  $^{14}\text{N}$   
and  $^{15}\text{N}$  from Unlabeled Dietary Proteins. *Canadian Journal of Biochemistry*  
44(9): 1249-1251.

Garcia AM, Hoeninghaus DJ, Vieira JP and Winemiller KO. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73: 399-408.

Garcia AM, Hoeninghaus DJ, Vieira JP and Winemiller KO. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73: 399-408.

Haines EB and Montague CL. 1979. Food Sources of Estuarine Invertebrates Analyzed Using C-13-C-12 Ratios. *Ecology* 60(1): 48-56.

Haines EB. 1976. Relation between Stable Carbon Isotope Composition of Fiddler Crabs, Plants, and Soils in a Salt- Marsh. *Limnology and Oceanography* 21(6): 880-883.

Hall SJ and Raffaelli DG. 1993. Food webs: theory and reality. *Advances in Ecological Research* 24:187-239.

Hansen AJ and di Castri F. 1992. *Landscape Boundaries: Consequences for Biotic Diversity and Ecological Flows*. New York: Springer Verlag. 452p.

Herzka SZ and Holt GJ. 2000. Changes in isotopic composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57: 137-147.

Hesslein RH, Hallard KA and Ramlal P. 1993. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response

to a change in diet traced by  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , and  $\delta^{15}\text{N}$ . *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50: 2071-2076.

Hoeninghaus, DJ, JP Vieira, CS Costa, CE Bemvenuti, KO Winemiller and AM Garcia. 2011. Estuary hydrogeomorphology affects carbon sources supporting aquatic consumers within and among ecological guilds. *Hydrobiologia*, 673: 79–92.

Hyslop EJ. 1980. Stomach content analysis: a review of methods and their applications. *Journal of Fish Biology* 17(4): 411-429.

ICMBIO/Ibama/Cepsul. 2007. I Relatório de reunião técnica para o ordenamento da pesca da tainha (*Mugil platanus*, *M. liza*) na região sudeste/sul do Brasil. Itajaí, Santa Catarina, Brazil. URL [http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/relatorio\\_deordenamento/tainha/rel2007abrtainha.pdf](http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/relatorio_deordenamento/tainha/rel2007abrtainha.pdf)

Kline TC, Goering Jr. JJ, Mathisen OA, Poe PH and Parker PL. 1990. Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific salmon:  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  evidence in Sashin Creek, southeastern Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 136-144.

Koshino YH, Kudo and Kaeriyama M. 2013. Stable isotope evidence indicates the incorporation into Japanese catchments of marine-derived nutrients transported by spawning Pacific Salmon. *Freshwater Biology* 58: 1864-1877.

Lombarte A. 1992. Changes in otolith area: sensory area ratio with body size and depth. *Environmental Biology of Fishes* 33: 405 - 410.

- Longo GO, Krajewski JP, Segal B and Floeter SR. 2012. First record of predation on reproductive *Palythoa caribaeorum* (Anthozoa: Sphenopidae): insights on the trade-off between chemical defences and nutritional value. *Marine Biodiversity Records* 5: e29.
- Longo GO and Floeter SR. 2012. Comparison of remote video and diver's direct observations to quantify reef fishes feeding on benthos in coral and rocky reefs. *Journal of Fish Biology* 81: 1773-1780.
- Macvoy SE, Macko SA, McInnich SP and Garman GC. 2000. Marine nutrient contributions of freshwater apex predators. *Oecologia*, 122: 568-573.
- Martinelli LA, Ometto JPHB, Ferraz ES, Victoria RL, Camargo PB and Moreira MZ. 2009. *Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis*. São Paulo, Brasil: Oficina de Textos, 2009. 144p.
- McCauley DJ, Dawson TE, Power ME, Finlay JC, Ogada M, Gower DB, Caylor K, Nyingi WD, Githaiga JM, Nyunja J and Joyce FH, Lewison RL and Brashares JS. 2015. Carbon stable isotopes suggest that hippopotamus-vectorred nutrients subsidize aquatic consumers in an East African river. *Ecosphere* 6(4): Article 52.
- Menezes NA, Oliveira C and Nirchio M. 2010. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). *Zootaxa* 2519: 59-68.
- Mosher KH and Eckles HH. 1954. Age determination of Pacific sardines from otoliths. *Records of the U.S. Fish And Wildlife Service* . 37: 1 – 40.

- Naiman RJ, Bilby RE, Schindler DE and Helfield JM. 2002. Pacific salmon, nutrients, and the dynamics of freshwater and riparian ecosystems. *Ecosystems* 5: 399-417.
- Pannela G. 1971. Fish otoliths, growth layers and periodical patterns, *Science* 173: 1124-1127.
- Pereira da Silva R. 1998. Ocorrência, distribuição e características morfodinâmicas dos sangradouros na zona costeira do Rio grande do Sul: trecho Rio Grande - Chuí, RS. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 144p.
- Peterson BJ, Fry B. 1987. Stable Isotopes in Ecosystem Studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 293-320.
- Pimm SL, Lawton JH, Cohen JE. 1991. Food web patterns and their consequences. *Nature* 350: 669-674.
- Polis GA, Holt RD, Menge BA and Winemiller KO. 1996. Time, space and life history: influences on food webs. *In*: GA Polis, KO Winemiller, eds. 1996. *Food Webs: Integration of Patterns and Dynamics*. London: Chapman & Hall. 435-460p.
- Polis GA, Anderson WB and Holt RD. 1997. Toward an integration of landscape ecology and food web ecology: the dynamics of spatially subsidized food webs. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 289-316.
- Pooper AN, Fay RR, Platt C, Sand O. 2003. Sound detection mechanisms and capabilities of teleost fishes. *In*: "Sensory Processing in Aquatic

Environments. S.P. Collin y N.J. Marshall Eds. Springer-Verlag: New York. 3 - 38p.

Post DM. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods and assumptions. *Ecology* 83(3): 703-718.

Radtke RL. 1989. Strontium-calcium concentration ratios in fish otoliths as environmental indicators. *Comparative Biochemistry and Physiology* 92: 189-193.

Rau GH and Anderson NH. 1981. Use of C-13-C-12 to Trace Dissolved and Particulate Organic-Matter Utilization by Populations of an Aquatic Invertebrate. *Oecologia* 48(1): 19-21.

Rau GH. 1981. Low N-15-N-14 in Hydrothermal Vent Animals - Ecological Implications. *Nature* 289: 484-485.

Rooker JR, Secor DH, Zdanowicz VS and Itoh T. 2001. Discrimination of northern bluefin tuna from nursery areas in the Pacific Ocean using otolith chemistry. *Marine Ecology Progress Series* 218: 275-282.

Savage C, Thrush SF, Lohrer AM and Hewitt JE. 2012. Ecosystem services transcend boundaries: Estuaries provide resource subsidies and influence functional diversity in coastal benthic communities. *PLoS ONE* 7(8): 1-8.

Secor DH, Campana SE, Zdanowicz VS, Lam JWH, McLaren JW and Rooker JR. 2002. Inter-laboratory comparison of Atlantic and Mediterranean bluefin tuna otolith microconstituents. *Journal of Marine Science* 59:1294-1304.

- Steele KW and Daniel RM. 1978. Fractionation of Nitrogen Isotopes by Animals - a Further Complication to Use of Variations in Natural Abundance of N-15 for Tracer Studies. *Journal of Agricultural Science* 90: 7-9.
- Teeri JA and Schoeller DA. 1979. Delta-C-13 Values of an Herbivore and the Ratio of C-3 to C-4 Plant Carbon in Its Diet. *Oecologia* 39(2): 197-200.
- Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG and Slade NA. 1983. Fractionation and Turnover of Stable Carbon Isotopes in Animal-Tissues - Implications for Delta-C-13 Analysis of Diet. *Oecologia* 57(1-2): 32-37.
- Vanni MJ. 2002. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 33: 341-370.
- Veinott G and Porter R. 2005. Using otolith microchemistry to distinguish Atlantic salmon (*Salmo salar*) from different natal streams. *Fish. Res.*, 71: 349-355.
- Vieira JP. 1991. Juvenile mullets (Pisces: Mugilidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, RS, Brazil. *Copeia* 1991(2): 409-418.
- Walters AW, Barnes RT and Post DM. 2009 Anadromous alewife contribute marine-derived nutrients to coastal stream food webs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 66: 439-448.
- Wiens JA. 1992. Ecological flows across landscape boundaries: a conceptual overview. *In* AJ Hansen, F di Castri, eds .1992. *Landscape Boundaries: Consequences for Biotic Diversity and Ecological Flows*. New York: Springer Verlag. 217-235p.

Winemiller KO, Hoetinghaus JD, Pease AA, Esselman PC, Honeycutt RL, Gbanaador D, Carrera E and Payne J. 2011. Stable isotope analysis reveals food web structure and watershed impacts along the fluvial gradient of a Mesoamerican coastal river. *River Research and Applications* 27(6): 791-803.

Winemiller KO and Polis GA. 1996. Food webs: what can they tell us about the world? Pages 1–22 in G. A. Polis and K. O. Winemiller, eds. *Food webs: integration of patterns and dynamics*. Chapman & Hall, New York

Winemiller KO, Akin S, Zeus SC. 2007. Production sources and food web structure of a temperate tidal estuary: integration of dietary and stable isotope data. *Marine Ecology Progress Series* (343): 63-76.

Winemiller KO and Layman CA. 2005. Food web science: moving on the path from abstraction to prediction. Pages 10-23 *in* *Dynamic Food Webs: Multispecies Assemblages, Ecosystem Development and Environmental Change*, P.C. de Ruiter, V. Wolters, and J.C. Moore, editors. Elsevier, Amsterdam

Woodward G and Hildrew. 2002. Food web structure in riverine landscapes. *Freshwater Biology* 47: 777-798.

## CAPÍTULO 1

### **Transporte de nutrientes de origem marinha para teias alimentares líminicas subtropicais por juvenis de tainha: um estudo de caso no sul do Brasil.**

Oliveira MCLM, Bastos RF, Claudino MC, Assumpção CM and Garcia AM.  
2014. Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs  
by juvenile mullets: a case study in southern Brazil.

Trabalho publicado na *Aquatic Biology* 20: 91-100 (**Anexo I**)

#### **Resumo**

Devido à elevada abundância dos juvenis de tainha (*Mugil liza*) no interior dos riachos litorâneos da costa sul do Rio Grande do Sul, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o papel desses juvenis como vetores biológicos do material de origem marinha para os ambientes límnicos continentais. Esse aporte de material poderia estar ocorrendo de forma direta, com a predação direta dos juvenis de tainha por predadores piscívoros ou de forma indireta, por meio de suas fezes e carcaças, as quais depois de remineralizadas pelo ambiente podem ser utilizadas pelos produtores primários.

Para a realização de tal objetivo, foi realizada a análise de isótopos estáveis dos principais componentes da teia alimentar ao longo do curso de um riacho litorâneo, contemplando os principais produtores primários e fontes

orgânicas de carbono (e.g., macrófitas e material em suspensão) e os principais consumidores (e.g., macroinvertebrados e peixes). Concomitantemente, também foi realizada a análise de conteúdo estomacal dos peixes piscívoros (traíra *Hoplias malabaricus*, joaninha *Crenicichla lepidota* e dentuço *Oligosarcus jenynsii*) presentes no riacho litorâneo estudado.

Para a análise de isótopos estáveis, foi obtida uma porção de tecido muscular (< 5 g) de cada espécime analisado. Essas amostras foram secas a 60°C durante 48 h, posteriormente, pulverizadas. Subamostras desse material foram pesadas (0,0010 a 0,0030 g) e enviadas para o *Analytical Chemistry Laboratory, University of Georgia*, EUA, aonde a composição isotópica das amostras ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) foi determinada com a utilização de espectrômetro de massa de razões isotópicas (IRMS). Já com relação à ACE, os itens alimentares encontrados nos estômagos foram identificados ao menor nível taxonômico possível e, em seguida, mensurados sua abundância numérica, seu peso e o comprimento total dos itens alimentares (mm). Em seguida foi realizada a análise quantitativa dos itens alimentares, onde foi mensurado a frequência de ocorrência (FO), percentagem numérica (PN) e a percentagem de peso (PP). A partir desses parâmetros foi calculado o índice de importância relativa (IIR) seguindo a seguinte equação:  $\text{IIR} = (\text{FO}) \times (\text{PP} + \text{PN})$ .

Os nossos resultados revelaram um gradiente isotópico do mar em direção aos pontos mais distantes dentro do riacho litorâneo. Mostrando valores mais enriquecidos em  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  próximo ao mar, sugerindo uma importação e incorporação de nutrientes de origem marinha para esse

ambiente. Esse fato é reforçado pelos resultados dos modelos de mistura isotópicos, que mostraram uma maior incorporação de material de origem marinha nos consumidores no ponto coletado mais próximo ao mar.

Com relação ao papel dos juvenis de tainha nessa incorporação de material marinho, os modelos de mistura sugerem uma permanência desses juvenis nos riachos litorâneos, o que aumentaria a possibilidade de contribuição de forma indireta, por meio de excreção de urina e fezes. Futuros trabalhos precisam investigar o papel dessa via indireta como fonte de nutrientes para os produtores primários de água doce. Já a ACE dos peixes piscívoros confirmou a hipótese de incorporação direta pelos predadores, já que os juvenis de tainha apresentaram uma frequência de ocorrência maior que 25% nos estômagos dos peixes piscívoros.

Em conclusão, este trabalho fornece evidências de que os juvenis de tainha podem transportar nutrientes de origem marinha, os quais são incorporados tanto em níveis tróficos intermediários quanto em mais altos da teia alimentar de ambientes límnicos continentais.

## CAPÍTULO 2

### **Avaliando o papel ecológico dos riachos litorâneos para os juvenis de tainha: sumidouros ou habitats temporários?**

Oliveira MCLM, Condini MV, Albuquerque CQ, Vieira JP, Castello JP, Garbin T, Bastos RF, Garcia AM. Evaluating the ecological role of coastal streams for juvenile mullets: dead ends or temporary habitats? Submetido para Journal of Fish Biology.

Trabalho submetido para *Journal of Fish Biology* (**Anexo II**)

#### **Resumo**

A tainha *Mugil liza* é uma espécie marinha costeira e de acordo com os modelos correntes sobre o seu ciclo de vida, os juvenis se aproximam da região costeira e penetram nos estuários da região sudeste-sul do Brasil, Uruguai e Argentina, acompanhado a intrusão da cunha salina, onde eles permanecem até atingir a primeira maturação gonadal. No entanto, como mencionado anteriormente, cardumes de juvenis de tainha são encontrados o ano inteiro dentro dos riachos litorâneos da costa sul do RS e o papel desses habitats na fase inicial do ciclo de vida da espécie ainda não é conhecido.

Considerando um modelo de metapopulação fonte-sumidouro, esses riachos litorâneos poderiam representar 'sumidouros' para os juvenis da espécie, já que eles aparentemente não atingem a idade adulta nesses ambientes, como o fazem nos grandes estuários do sul do Brasil. Uma hipótese alternativa é que esses riachos possam atuar como habitats temporários ou intermediários aos juvenis da espécie, antes dos mesmos conseguirem alcançar os grandes estuários, aonde a espécie usualmente cresce até a fase adulta.

Para testar essas hipóteses, foram analisadas as relação de estrôncio (Sr) (um indicador do ambiente marinho) na composição química dos otólitos de juvenis de tainha capturadas dentro dos sangradouros e na zona de arrebentação. Para a análise dos microelementos depositados no carbonato de cálcio dos otólitos dos juvenis de tainha, o par de otólitos *sagittae* de cada indivíduo foi extraído, limpo, seco e armazenado em envelope de papel. Preferencialmente, o otólito direito foi emblocado em resina de poliéster cristal e, posteriormente, seccionado com auxílio de uma serra metalográfica. Foram feitos de três a cinco cortes de cada otólito, cada um com aproximadamente 0,3 mm de espessura. Esses cortes foram fixados e analisados no Laboratório de Espectrometria Atômica no departamento de química da PUC-RJ. Como a relação de Sr:Ca aumenta com a salinidade do ambiente, transectos da relação Sr:Ca de toda a vida dos juvenis foram utilizadas para separar períodos em que o peixe esteve em ambientes límnicos (como os riachos litorâneos) e no mar.

A maioria dos peixes capturados na zona de arrebentação apresentaram um padrão constante de Sr:Ca, demonstrando uma permanência por toda sua

vida até o momento da captura nesse ambiente com alta salinidade. Contudo, alguns indivíduos apresentaram um padrão de decréscimo do Sr:Ca em direção à borda, mostrando que eles se encontravam em ambientes de baixa salinidade antes de estarem novamente na zona de arrebentação. Esses resultados mostraram que os juvenis que entram nos riachos conseguem sair, corroborando com a hipótese de que esses ambientes estariam funcionando como habitats temporários durante o início da vida da tainha (*Mugil liza*).

### **CAPÍTULO 3**

#### **Assimilação de material alóctone continental e relações tróficas na zona de arrebentação de uma praia marinha subtropical.**

M. C. L. M. Oliveira<sup>1</sup>, C. Odebrecht<sup>2</sup>, L. A. Colling<sup>3</sup>, J. P. Vieira<sup>1</sup>, F. L. Rodrigues<sup>1</sup>, A. M. Garcia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Ictiologia, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório de Ecologia de Invertebrados Bentônico, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brasil.

## Resumo

A entrada de material alóctone pode influenciar a dinâmica da energia, do carbono e o balanço dos nutrientes de muitos habitats, sendo essa troca de materiais e energia entre os ecossistemas um dos principais temas de estudo da ecologia. No presente trabalho, estimamos a importância do material alóctone continental (origem terrígena) para a zona de arrebentação de uma praia arenosa subtropical, bem como a posição trófica dos consumidores (peixes e macroinvertebrados), e a importância relativa das vias pelágicas e bentônicas como elo trófico de sustentação dos consumidores. Ao longo de um ano foram realizadas coletas sazonais dos principais macroconsumidores e fontes alimentares autotróficas da base da teia alimentar (matéria orgânica particulada em suspensão-POM e no sedimento-SOM) para a análise das razões isotópicas do Carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e Nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ). A posição trófica média dos consumidores variou entre 0,5 e 4,5, ocorrendo pouca variação entre as estações do ano. A via pelágica (representada pela assimilação de POM) foi o elo trófico predominante conectando a maioria dos consumidores a fontes autotróficas e de matéria orgânica na base da teia alimentar. Os valores médios do  $\delta^{13}\text{C}$  do POM e de alguns consumidores tiveram uma amplitude de variação cerca de duas vezes maior no inverno do que nas demais estações do ano ( $\Delta$ : 12,8‰ vs. 6,4‰). A diminuição nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  durante o inverno pode ser explicada pelo carreamento de POM de ambientes aquáticos continentais adjacentes, especialmente dos riachos litorâneos (sangradouros), que desaguam na zona de arrebentação. Na zona de arrebentação, a assimilação de material alóctone não ocorre de forma uniforme entre todos

consumidores da teia alimentar, sendo restrita principalmente à organismos bentônicos filtradores situados na base da teia e por peixes ocupando os níveis tróficos superiores.

## **Introdução**

O estudo da conectividade entre os ecossistemas é um dos desafios da ecologia moderna, sendo ainda pouco compreendidos os mecanismos que influenciam essas ligações. Um componente importante dessas interações é o fluxo de matéria que ocorre por meio dos organismos que cruzam as fronteiras entre ecossistemas (Naiman *et al.* 2002). A entrada de organismos pode providenciar um importante aporte de energia para o ecossistema receptor e moldar a dinâmica populacional dos organismos produtores e consumidores (Seifert & Scheu 2012, Mellbrand *et al.* 2011, Oliveira *et al.* 2014). Nos limites entre sistemas aquáticos distintos e entre ambientes aquáticos e terrestres (e.g., entre estuários e região marinha adjacente; entre uma pequena ilha e a zona marinha adjacente), essa transferência pode ocorrer por meio de "subsídio trófico espacial", com a transferência de matéria de um ecossistema doador para outro receptor, aonde ela é assimilada por organismos da teia alimentar (Polis *et al.* 1997). A energia assimilada pode servir como uma importante, ou até mesmo predominante, fonte de nutrientes e energia para as teias alimentares do ecossistema receptor (Polis & Hurd 1995, Savage *et al.* 2012, Bergamino *et al.* 2012).

As trocas de matéria e energia entre ambientes estuarinos e marinhos estão entre os exemplos de conectividade trófica que tem recebido mais atenção no ambiente costeiro (Day *et al.* 2012). Embora a hipótese de que a

matéria orgânica de ambientes estuarinos seja exportada e assimilada por organismos marinhos tenha sido proposta há várias décadas (*'outwelling hypothesis'* proposta por Odum e colaboradores em 1979), as evidências empíricas suportando essa hipótese são restritas e, em muitos casos, ambíguas (Day *et al.* 2012). Savage *et al.* (2012) demonstraram que a produção primária estuarina é exportada para a região costeira marinha adjacente, contribuindo para a produção secundária até uma distância de 4 km da desembocadura do estuário. Esses trabalhos têm como modelo de estudo a matéria orgânica exportada em grande volume pela pluma estuarina, mas não incluem fontes de material terrígeno oriundas de ambientes aquáticos de menor porte (e.g., córregos, estuários intermitentes, pequenas lagoas), os quais podem ser numerosos ao longo de partes da região costeira de várias partes do mundo (Figueiredo & Calliari 2006, Bird 2010, Kennish & Pearl 2010).

Isótopos estáveis de Carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e Nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) são ferramentas úteis para traçar e quantificar a assimilação de subsídios tróficos por organismos residentes de ecossistemas receptores quando esses valores isotópicos são diferentes entre si (Polis *et al.* 1997, Fry 2006). Por exemplo, a matéria orgânica oriunda dos ecossistemas terrestres é usualmente empobrecida em  $^{13}\text{C}$  quando comparado com o ecossistema marinho (Peterson e Fry, 1987). As diferenças na razão isotópica do Carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , expressa como  $\delta^{13}\text{C}$ ) de fontes alimentares na base da teia alimentar têm sido utilizadas para evidenciar e quantificar a assimilação de carbono de origem terrestre por consumidores em teias alimentares marinhas (Abrantes & Sheaves 2008, Vinagre *et al.* 2011, Goncharov *et al.* 2011, Seifert & Scheu 2012, Savage *et al.*

2012), mostrando ser um método robusto na compreensão da troca de energia entre os ecossistemas.

Neste estudo, avaliamos a hipótese de que a matéria orgânica de origem terrígena exportada para a costa da porção sul do litoral do Rio Grande do Sul, pela descarga continental de um estuário de grande porte (Estuário da Lagoa dos Patos) e pequenos riachos litorâneos é assimilada por consumidores (macroinvertebrados bentônicos e peixes) na zona de arrebentação das praias arenosas marinhas adjacentes. Para isso, analisamos a composição de isótopos estáveis de diversos organismos aquáticos (incluindo produtores, consumidores primários e secundários) coletados sazonalmente na zona de arrebentação da costa sul do extremo sul do Brasil (32°S). Essa região subtropical recebe, especialmente após o período das chuvas, um marcado aporte de águas continentais associada à pluma do estuário da Lagoa dos Patos (~1,000 km<sup>2</sup>) (Seeliger 2004) e de muitos riachos litorâneos, média de 0,9 riachos por km, que deságuam ao longo de uma extensa faixa costeira (~600 km) (Pereira da Silva 1998).

As relações tróficas na zona de arrebentação desta região foram estudadas por métodos tradicionais (e.g., observações de campo e análise de conteúdo estomacal) e recentemente, sumarizadas por Pinotti *et al.* (2014). Esses autores sugerem uma importância trófica equivalente dos detritos orgânicos e diatomáceas depositadas no sedimento (via bentônica) e do material em suspensão, como fitoplâncton e detritos orgânicos (via pelágica), como fonte primária de carbono para os consumidores da zona de arrebentação desta região. No modelo conceitual proposto, os organismos

bentônicos e insetos realizariam o elo entre as fontes autotróficas e a matéria orgânica na base da cadeia e os demais consumidores, como os peixes, em níveis tróficos superiores. Porém, muitos dos elos tróficos propostos ainda carecem de evidências empíricas.

A Análise de Isótopos Estáveis (AIE) tem se tornado uma das ferramentas mais utilizadas no estudo de relações tróficas (Fry 2006), isso porque, ao contrário dos métodos tradicionais, a AIE permite avaliar os alimentos assimilados nos tecidos, e não apenas encontrados nos tratos digestórios dos consumidores. Além disso, a AIE possibilita um maior tempo de integração da dieta (cerca de 1-3 meses para o tecido muscular) (Peterson & Fry 1987, Hesslein *et al.* 1993), quando comparado a análise do conteúdo alimentar que é digerido/excretado, em horas.

Desta forma, temos como objetivos, i) avaliar a importância do material alóctone de origem terrígena, ii) investigar variações sazonais na posição trófica dos macroconsumidores, e iii) estimar a importância relativa das vias pelágicas e bentônicas, para os consumidores da zona de arrebentação.

## **Material e Métodos**

### *Área de estudo*

A área de estudo está inserida na planície costeira do extremo sul brasileiro, compreendendo uma faixa arenosa de aproximadamente 220 km de extensão. A região é fortemente influenciada pela ação de ondas e possui o sedimento variando de muito fino a médio (Siegle & Calliari 2008). Com relação

à morfologia, a porção submersa apresenta múltiplos bancos arenosos paralelos à linha de praia (Pereira *et al.* 2011), o que possibilita a quebra de ondas com diferentes alturas e energia. Os estágios morfodinâmicos são influenciados sazonalmente pela ação principalmente de fortes ventos NE, ocorrendo o predomínio de praias dissipativas (Pereira *et al.* 2010).

A porção sul da região costeira sofre grande influência da descarga continental do Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) e dos ventos dominantes de NE, que são responsáveis por espalhar a pluma estuarina para o sul, formando um bolsão de águas salobras ao longo das áreas rasas da praia (Calliari *et al.* 2001). Outra característica marcante ao longo dessa região é a presença de riachos litorâneos que interconectam os sistemas límnicos lagunares e de banhados localizados atrás dos campos de dunas, com o ambiente marinho. Estes riachos rompem o cordão de dunas frontais em direção à zona de arrebentação e podem ser encontrados ao longo de todo litoral do Rio Grande do Sul (Figueiredo & Calliari 2006), contribuindo assim, para o aporte de águas de origem terrígena para a zona de arrebentação adjacente.

#### *Coleta de organismos*

Os dados foram obtidos por meio de amostragens sazonais realizadas de julho de 2012 a março de 2013, em quatro pontos localizados na zona de arrebentação da porção sul do Rio Grande do Sul (Figura 1). Em cada ponto, as fontes alimentares basais e os principais consumidores foram coletados utilizando vários artefatos de coleta e apropriados para cada grupo.

As fontes alimentares basais coletadas foram a matéria orgânica particulada em suspensão (POM: fitoplâncton e detritos) e no sedimento (SOM). As amostras de POM foram obtidas passando 1 L de água coletada na superfície marinha, primeiramente numa malha de 200  $\mu\text{m}$  para remover o zooplâncton e outras partículas maiores e, em seguida, num filtro Whatman GF/F (porosidade de 0,5  $\mu\text{m}$ ) pré-queimado (500 °C por 4 h). O SOM foi obtido por meio da retirada da porção superior do sedimento (cerca de 2 cm) situado no limite inferior da zona de varrido. No laboratório o sedimento foi centrifugando com água destilada e o líquido sobrenadante obtido foi filtrado com bomba automática, em um filtro Whatman GF/F pré-queimado (500 °C por 4 h). Esse procedimento de centrifugação e filtragem do sobrenadante foi realizado com o objetivo de concentrar material orgânico no filtro para que houvesse material suficiente para a determinação isotópica. Esse procedimento foi adotado porque as amostras obtidas com o procedimento usual (sem centrifugação) não puderam ter sua composição isotópica determinada por insuficiência de matéria orgânica.

No intuito de avaliar a possível incorporação de matéria orgânica particulada do ambiente aquático continental por organismos da zona de arrebentação, foram obtidas amostras de POM provenientes de dois sistemas aquáticos adjacentes e que deságuam na região marinha estudada: a Lagoa dos Patos e os riachos litorâneos. Assim, foram utilizadas amostras de POM coletadas no inverno de 2012 nas zonas rasas do ELP e em três riachos litorâneos que deságuam na zona de arrebentação (Figura 1). Foi escolhido o período de inverno, pois nessa estação do ano a descarga continental da

Lagoa dos Patos e dos riachos litorâneos e, por conseguinte, do carreamento de matéria orgânica de origem terrígena para as zona de arrebentação tende a ser maior devido a maior pluviosidade e aumento da vazão destes sistemas (Ciotti *et al.* 1995, Bastos *et al.* 2013).

Dentre os consumidores, foram coletadas amostras de macrofauna bentônica e peixes mais representativos da zona de arrebentação (Monteiro-Neto *et al.* 2003, Neves *et al.* 2007, Rodrigues *et al.* 2013, Pinotti *et al.* 2014). As amostras de organismos da macrofauna bentônica foram obtidas com a lavagem de amostras de sedimento em uma malha 0,5 mm, as quais foram obtidas por meio da remoção da camada superficial (~40 cm) do sedimento com o auxílio de um cano de PVC (27 cm de diâmetro) (Pinto & Bemvenuti 2003). Já os peixes foram coletados com redes de arrasto (Rodrigues *et al.* 2015). Todo o material biológico coletado foi acondicionado em sacos plásticos e preservado em gelo até serem transferidos ao laboratório, aonde foram armazenados em freezer até o seu processamento (Garcia *et al.* 2007, Hoeinghaus *et al.* 2011).

#### *Processamento das amostras*

O processamento das amostras para a análise de isótopos estáveis seguiram o protocolo descrito por Garcia *et al.* (2007). As amostras dos peixes e invertebrados foram obtidas com uma porção aproximada de 5g de tecido muscular antero-dorsal e abdominal. Os demais componentes da macrofauna foram processados inteiros, com exceção dos moluscos que tiveram suas conchas removidas. Cada amostra foi lavada em água destilada e colocada individualmente em uma placa *Petri* e levada a estufa (60°C) por 48h, o mesmo

procedimento foi realizado com os filtros das amostras de POM e SOM. Após serem secas, as amostras foram maceradas (pistilo e grau) e as sub-amostras foram pesadas em cápsulas de estanho (Costech, Valencia, CA) e enviadas ao *Stable Isotope/Soil Biology Laboratory, University of Geórgia*, EUA, para determinação da razão isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ). 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 carbono foi Pee Dee Belemnite (PDB) e o padrão de nitrogênio foi o nitrogênio atmosférico.

#### *Análise de dados*

As variações sazonais nas razões isotópicas dos componentes da trama trófica (fontes alimentares basais e consumidores) foram primeiramente examinadas por meio de representações gráficas (*biplots* C-N) (Fry 2006). As diferenças entre as razões isotópicas entre locais de coleta e estações do ano, bem como possíveis relações entre a composição isotópica dos consumidores e suas variações em tamanho foram testadas com testes paramétricos (ANOVA) de duas vias, respeitando os pressupostos de normalidade e homocedasticidade, os quais foram avaliados pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Cochran, respectivamente (Zar 2010). Nos casos em que os pressupostos da ANOVA não foram atendidos, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Sokal & Rohlf 1995).

Como mencionado anteriormente (vide 'Área de estudo'), a região costeira estudada está sujeita à influência da descarga continental (pluma estuarina), especialmente durante os meses de inverno. No intuito de quantificar a importância relativa do aporte alóctone de carbono (material de

origem terrígena) no período do inverno para os consumidores na zona de arrebentação, foram utilizados modelos de mistura isotópica Bayesianos do pacote SIAR na plataforma R (Parnell *et al.* 2010, Phillips *et al.* 2014), com três fontes basais (*end-members*): uma de origem autóctone e duas de origem alóctone. Para as duas fontes alóctones usamos valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  da matéria orgânica particulada em suspensão (POM) do ELP e dos riachos litorâneos, consideradas como indicadores (*proxies*) de material terrígeno para a zona de arrebentação (Bergamino *et al.* 2012). Já para a fonte autóctone, foram considerados os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  do POM na zona de arrebentação, obtidos em todas as estações do ano, com exceção do inverno. Os consumidores utilizados nos modelos de mistura foram o molusco filtrador (*Donax hanleyanus*), o poliqueta suspensívoro (*Spio gaucha*) (Santos 1991) e o peixe bentófago (*Odontesthes argentinensis*) (Bemvenuti 1990). Esses consumidores foram escolhidos para testar a hipótese de assimilação de material terrígeno (vide 'outwelling hypothesis' na Introdução), visto que foram as únicas a apresentarem marcada variação nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no período do inverno (diminuição de cerca de até quatro vezes no desvio padrão em relação às demais estações do ano). Devido ao baixo número amostral ( $n = 3$ ), não foi possível obter uma boa resolução do modelo para os indivíduos de *Emerita brasiliensis*.

Os modelos de mistura isotópica também foram utilizados para quantificar a importância relativa das vias pelágicas e bentônicas para os consumidores da zona de arrebentação. Como indicadores (*proxies*) de fontes alimentares basais associadas à via pelágica e bentônica foram utilizados os

valores médios do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  do POM e o SOM, respectivamente (Mayer *et al.* 1995, Wetzel *et al.* 2000). O período do inverno foi excluído dessa análise devido à influência alóctone.

As posições tróficas dos consumidores foram estimadas a partir das razões isotópicas do nitrogênio e conforme a equação:  $PT = \lambda + (\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{POM}})/F$ , onde  $\lambda$  é o nível trófico (neste caso,  $\lambda = 1$ , pois foi utilizado POM como um indicador para a base da cadeia alimentar),  $\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}}$  é a razão isotópica de nitrogênio do consumidor sendo avaliado, e  $F$  é o fracionamento ou discriminação isotópica do nitrogênio por nível trófico (Post 2002). O fracionamento isotópico utilizado para o  $\delta^{15}\text{N}$  foi  $2,54 \pm 0,11$  (Vanderklift & Ponsard 2003).

## Resultados

### *Variabilidade sazonal e assimilação de material terrígeno*

Foram analisadas 248 amostras de peixes, 195 de invertebrados e 43 de duas fontes alimentares basais (POM e SOM) (Tabela 1). Tanto para as fontes alimentares basais quanto para os consumidores, foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas médias das razões isotópicas do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ). De modo geral, foram observados os menores valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  (-18,0‰) no inverno, quando comparado às demais estações do ano (outono: -15,9‰, primavera: -16,8‰, verão: -16,7‰). No inverno também foram observadas as maiores amplitudes de variação nos valores de

$\delta^{13}\text{C}$  (entre  $-26,3\text{‰}$  e  $-12,6\text{‰}$ ), sendo que nas demais estações essa variação foi menos acentuada ( $-23,5\text{‰}$  a  $-9,4\text{‰}$ ).

Durante o inverno, foi observada uma maior variação nos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  do POM ( $-26,1\text{‰}$  a  $-13,3\text{‰}$ ), diferente do registrado nas demais estações, onde o valor do POM foi de  $-20,8\text{‰}$  a  $-14,4\text{‰}$ . Essa maior amplitude na razão isotópica do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) do POM no inverno ( $\Delta$ :  $12,8\text{‰}$ ), cerca de duas vezes maior do que nas demais estações ( $\Delta$ :  $6,4\text{‰}$ ), também foi observada em alguns dos consumidores, como o bivalve *Donax hanleyanus* ( $-26,7\text{‰}$  a  $-15,6\text{‰}$ ), o poliqueta *Spio gaucha* ( $-26,3\text{‰}$  a  $12,7\text{‰}$ ), a tatuíra *Emerita brasiliensis* ( $24,7\text{‰}$  a  $13,9\text{‰}$ ) e o peixe-rei *Odontesthes argentinensis* ( $-25,8\text{‰}$  a  $-14,2\text{‰}$ ) (Figura 2). Em contraste, os demais consumidores apresentaram pequenas mudanças ( $\Delta < 2,7\text{‰}$ ) nos seus valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  entre as estações do ano (Figura 2).

O modelo de mistura usado para quantificar a importância relativa do aporte alóctone aos consumidores que apresentaram as maiores variações do  $\delta^{13}\text{C}$  mostrou que, quando analisados individualmente, vários consumidores apresentaram assimilação significativa de POM oriundo dos riachos litorâneos e não do Estuário da Lagoa dos Patos (ELP). Por exemplo, cinco dos sete indivíduos de *D. hanleyanus* apresentaram uma maior assimilação (60 a 100%; intervalo de credibilidade de 95%) nos seus tecidos (músculo) de nutrientes alóctones originados nos riachos (Figura 3a), quando comparado ao ELP (0 a 30%), mostrando a boa resolução do modelo quanto à distinção entre essas duas fontes. Para os outros dois indivíduos dessa espécie, a maior contribuição (20 a 80%) foi de origem autóctone (zona de arrebenção), seguida da

contribuição alóctone do ELP (0 a 50%). Também foi possível observar a contribuição de origem alóctone nos indivíduos de *S. gaucha*, onde para dois dos seis indivíduos analisados a contribuição dos riachos litorâneos foi a dominante (60 a 100%). Para os quatro indivíduos restantes, a maior contribuição foi da zona de arrebentação (10 a 100%) (Figura 3b). Em contrapartida, o modelo de mistura isotópico não revelou uma clara distinção entre a contribuição de origem alóctone (ELP) ou autóctone (zona de arrebentação) para a maioria (18 de 21) dos indivíduos do peixe-rei *O. argentinensis*, pois ambas apresentaram contribuições semelhantes (entre 0 a 90%). Apenas em três indivíduos foi observada uma elevada contribuição (60 a 100%) de material alóctone proveniente dos riachos litorâneos (Figura 3c).

#### *Vias pelágicas, bentônicas e posição trófica dos consumidores.*

O POM e o SOM foram as duas fontes alimentares basais analisadas na zona de arrebentação e a importância relativa dessas fontes de matéria orgânica para os consumidores foram investigadas tendo como base os dados do outono, primavera e verão, por não sofrerem influência do aporte de material alóctone. A diferença nos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  do POM foi estatisticamente significativa entre as estações do ano ( $p < 0,05$ ), sendo que o outono apresentou valores maiores (Média:  $-16,5\text{‰} \pm \text{D.P.: } 2,4$ ), seguidos do verão ( $-18,1\text{‰} \pm 0,4$ ) e primavera ( $-20,1\text{‰} \pm 4,4$ ). Assim como os valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  do POM também apresentaram diferenças significativas entre as estações do ano ( $p < 0,05$ ), sendo os valores da primavera maiores ( $12,7\text{‰} \pm 2,1$ ) do que no outono ( $8,0\text{‰} \pm 1,0$ ) e verão ( $6,0\text{‰} \pm 2,0$ ). Em relação ao

SOM, não foi possível avaliar sua variação sazonal, pois apenas as amostras coletadas na primavera puderam ter sua composição isotópica determinada no espectrômetro de massa de razões isotópicas (IRMS). Nas demais estações não foi possível concentrar material orgânico suficiente no filtro. Apesar das amostras de SOM obtidas na primavera terem apresentado valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (-16,6‰  $\pm$ 0,6) próximos ao do POM, os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  foram extremamente baixos (0,4‰  $\pm$ 0,1) e muito abaixo dos valores dos demais componentes da trama trófica da zona de arrebentação (Figura 2).

A contribuição relativa das duas fontes autóctones (POM e SOM) para os consumidores pode ser observada na Tabela 2. A contribuição do POM foi maior do que do SOM para cada um dos consumidores analisados; A contribuição do SOM foi próxima à zero, inclusive para os animais com hábitos bentônicos que vivem na superfície do sedimento ou enterrados no mesmo, como o poliqueta suspensívoro *S. gaucha*, os siris *Callinectes sapidus* e *Arenaeus cribarius*, o peixe *Oncopterus darwini* e o gastrópoda *Olivancillaria auricularia*. Para algumas espécies, o baixo número amostral não permitiu uma boa resolução do modelo, causando uma grande sobreposição na contribuição das duas fontes, como no caso do gastrópoda *Buccinanops duartei*, do camarão *Farfantepenaeus paulensis* e dos peixes *Paralichthys orbignyanus* e *Pomatomus saltatrix*.

A posição trófica dos consumidores na zona de arrebentação estudada não variou sazonalmente ( $p < 0,05$ ), sendo caracterizada por cerca de quatro níveis tróficos, com os peixes *Pomatomus saltatrix*, *O. argentinensis*, *Trachinotus carolinus* e *T. marginatus* ocupando os níveis tróficos mais

elevados, enquanto que os níveis mais baixos foram ocupados pelo peixe *Mugil liza*, o camarão *Farfantepenaeus paulensis*, bivalvo *Mesodesma mactroides* e pelo siri *Callinectes sapidus*. Os demais consumidores estudados ocuparam os níveis tróficos intermediários (Figura 4).

## **Discussão**

Nossos resultados suportam a hipótese de 'outwelling' proposta por Odum *et al.* (1979), demonstrando que o excedente da produção primária continental fornece subsídio energético para alguns componentes da trama trófica do ecossistema costeiro. Mostrando ainda que a magnitude com que ocorre esse fluxo de energia varia sazonalmente, evidenciando uma relação direta e positiva com o regime hidrológico sazonal e a taxa de vazão dos sistemas límnicos adjacentes.

### *Variabilidade sazonal e assimilação de material terrígeno.*

A ocorrência de uma grande amplitude nos valores das razões isotópicas do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) nos consumidores e na matéria orgânica particulada em suspensão (POM) do inverno, quando comparado com as demais estações, sugere a presença de matéria orgânica alóctone de origem continental na zona de arrebentação. Essa afirmação é possível devido à marcada distinção nos valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  entre produtores primários no ambiente marinho e continental (Peterson & Fry 1987). O principal produtor primário na zona de arrebentação é o fitoplâncton marinho (Odebreth *et al.* 2014) que é caracterizado por ser mais enriquecido em  $^{13}\text{C}$  (Gearing *et al.* 1984, Hamerlin-

vivien *et al.* 2008) do que a matéria orgânica particulada em suspensão (POM) que tem origem em ambientes continentais. Isso resulta em diferenças significativas nas razões isotópicas de carbono entre essas duas fontes primárias de matéria orgânica, como observada no presente estudo entre o POM de origem marinha ( $\delta^{13}\text{C}$ : -18‰) e o continental ( $\delta^{13}\text{C}$ : -25,6‰). De maneira geral, nos ambientes límnicos continentais ocorre um predomínio de macrofitas aquáticas (Wetzel, 1983), as quais, em sua grande maioria, possuem sistema fotossintético  $\text{C}_3$  e são as principais fontes de matéria orgânica particulada desses ambientes, tanto por extrusão de compostos metabólicos celulares, quanto por decomposição dos tecidos mortos (Wetzel & Manny 1972, Otsuki & Wetzel 1974). Dessa maneira, o POM exportado por esses ambientes usualmente possuem valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -29 e -23‰ (Deegan & Garritt 1997, Garcia *et al.* 2007, Marshall *et al.* 2007).

Como esperado, a maior incorporação de material alóctone nos tecidos dos consumidores ocorreu no inverno, provavelmente devido ao aumento da vazão e do deságue no mar, de água proveniente dos ambientes aquáticos continentais. Esse aumento da vazão é uma consequência direta da alta precipitação e baixa evaporação que são característicos dessa estação do ano, nessa região subtropical (Maluf 2000). Essa hipótese é reforçada pelo fato de existir uma conhecida relação linear e positiva entre a quantidade de carbono exportado pelos ambientes límnicos e os valores de vazão (Schlesinger & Melack 1981), com diversos estudos demonstrando que a maior exportação ocorre em períodos de maior descarga continental, tanto em uma escala global de grandes rios (Mulholland & Watts 1982, Meybeck 1993, Hope *et al.* 1994),

quanto em uma escala regional de rios de menor tamanho (Claire *et al.* 1994, Hope *et al.* 1997, Mulholland 1997).

Dentre os possíveis sistemas aquáticos continentais, aportando material alóctone na zona de arrebentação no inverno, o modelo Bayesiano de mistura isotópica demonstrou uma maior incorporação do material orgânico oriundo dos riachos litorâneos, aparecendo como secundária a importância do Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) como fonte de nutrientes para os consumidores da zona de arrebentação do local estudado. Apesar da grande vazão média apresentada pelo ELP ( $2.000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ ) (Burrage *et al.* 2008) e da formação da pluma estuarina, que altera inclusive a produção primária de fitoplâncton na plataforma continental adjacente (Abreu *et al.* 1995), nossos dados mostram que essa grande descarga de material terrígeno provavelmente está sendo “aproveitada” na zona pelágica-nerítica e apenas incorporada de forma limitada na trama trófica da zona de arrebentação do sistema litorâneo estudado. Uma possível explicação para esse fato seria a baixa disponibilidade de material orgânico oriundo do ELP na zona de arrebentação devido à distância (~20 km) entre a região amostrada e os molhes da Barra do ELP. Segundo Calliari e colaboradores (2009), o sedimento exportado pelo ELP não se aproxima da zona de arrebentação, mas tende a se depositar e acumular em uma profundidade de 10 a 12 metros. Fatores meteorológicos e hidrológicos, como direção dos ventos e correntes, provavelmente impedem que a pluma alcance a região próxima da zona de arrebentação estudada (Marques *et al.* 2008) ou que chegue na profundidade (< 2m) aonde os consumidores foram coletados. O monitoramento da pluma estuarina por imagens de satélite durante o período

quando os organismos foram coletados no presente trabalho (2012 e 2013) sugere que a área ocupada pela pluma estuarina oscila sazonalmente, mas em nenhuma ocasião atinge a zona de arrebentação estudada (Glauber G., comunicação pessoal).

Por outro lado, observa-se, nos modelos de mistura, que o POM oriundo dos riachos litorâneos é a principal fonte de material orgânico alóctone para alguns consumidores típicos da zona de arrebentação, mesmo que esses ambientes possuam uma vazão média muito menor ( $\approx 200\text{m}^3/\text{s}$ ) quando comparada com a do ELP (Bastos *et al.* dados não publicados). A maior importância do POM oriundo dos riachos litorâneos poderia ser explicada pela proximidade desses riachos, os quais deságuam diretamente ou muito próximos aos locais amostrados ( $\sim 0,5$  a  $1$  km). Isso tornaria o material orgânico particulado, exportado por esses riachos, imediatamente disponível para os componentes da trama trófica da zona de arrebentação. Aliado a essa questão espacial, temos o fato de que esses riachos litorâneos desempenham um papel importante na drenagem das áreas alagadas e banhados situados após o cordão de dunas (Figueiredo & Calliari 2006, Figueiredo *et al.* 2007), o que aumentaria sua capacidade de exportação de carbono para ambientes adjacentes. Isso porque os banhados, que são ambientes que possuem as maiores taxas de produtividade primária líquida do planeta (Moore 2006), geralmente apresentam solos com altos valores da relação C/N (Reddy & DeLaune 2008). Segundo Aitkenhead & McDowell (2000), quanto maior a relação C/N no solo do ambiente doador, maior será o fluxo de carbono exportado para o ambiente receptor.

Apesar desse grande potencial exportador dos riachos litorâneos, a incorporação desse material alóctone não ocorre ao longo de toda a trama trófica, mas apenas em algumas espécies. Assim como Savage *et al.* (2012), que registrou a incorporação de material orgânico de origem continental, em bivalves filtradores coletados na região costeira da Península de Coromandel (Nova Zelândia), registramos uma maior incidência de assimilação de material orgânico alóctone entre as espécies bentônicas filtradoras e suspensívoras mais abundantes (*D. hanleyanus*, *S. gaúcha* e *E. brasiliensis*). Porém, em contraste ao observado por Savage *et al.* (2012), o material alóctone não foi restrito aos componentes na base da cadeia alimentar, mas também foi registrado em níveis tróficos intermediários, como em indivíduos do peixe-rei, *O. argentinensis*. A incorporação do material terrígeno alóctone, nos tecidos de um consumidor secundário com alta mobilidade, como o peixe-rei, é uma evidência do efeito prolongado do 'input' desse material na zona costeira (Vinagre *et al.* 2011). Essa espécie possui hábito alimentar bentófago (Bemvenuti 1990) demonstrando, assim, uma relação direta entre a predação dos organismos bentônicos filtradores e suspensívoros e a ascensão do material alóctone até níveis mais elevados da trama trófica da zona de arrebenção.

Além de ocorrer em apenas algumas espécies, os modelos de mistura isotópica mostraram uma variação intraespecífica na incorporação do material alóctone. Uma hipótese para explicar essa incorporação por apenas alguns indivíduos das espécies bentônicas e do peixe-rei é que o material exportado pelos riachos litorâneos tem um alcance restrito às áreas próximas a

desembocadura dos mesmos, evitando assim, que ocorra um efeito equilibrado em toda a trama trófica. Isto está de acordo com o observado em trabalho anteriores, em que a entrada de material alóctone terrestre transportado pela pluma de pequenos riachos para a zona de arrebentação possui uma zona limitada de influência (Gaston *et al.* 2006, Connolly *et al.* 2009, Bergamino *et al.* 2012). Além do exposto acima, um efeito análogo também ocorre com o subsídio marinho para as comunidades costeiras de invertebrados, onde o efeito da incorporação desse subsídio não alcança distâncias maiores do que algumas dezenas de metros da linha de costa (Paetzold *et al.* 2008, Korobushkin *et al.* 2011, Colombini *et al.* 2011 e Korobushkin 2014). De qualquer forma, apesar do efeito restrito a áreas próximas de sua desembocadura, a importância dos riachos litorâneos é potencializada pelo grande número desses corpos d'água ao longo do litoral do RS durante o inverno, os quais ocorrem na média de 9 a cada 10 km (Pereira da Silva 1998, Figueiredo & Calliari 2006).

#### *Vias pelágicas, bentônicas e posição trófica dos consumidores.*

Teias alimentares das zonas de arrebentação de praias arenosas são baseadas principalmente em produtores primários marinhos, como o fitoplâncton, algas e gramíneas marinhas (McLachlan & Brown 2006). Estes sistemas podem suportar até três tipos de teias alimentares: (1) uma rede discreta de alimentação constituída por organismos intersticiais (bactérias, protozoários e meiofauna); (2) a alça microbiana da zona de arrebentação (fitoplâncton, bactérias e protozoários); e (3) uma teia alimentar macroscópica e composta por macrofauna bentônica, zooplâncton, peixes e aves (Heymans &

McLachlan 1996, McLachlan & Brown 2006). O foco deste trabalho foi na teia alimentar macroscópica da zona de arrebentação, a qual apresentou uma grande variedade de organismos e que os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mostraram ser composta por cerca de quatro níveis tróficos, o que corrobora com os modelos teóricos já propostos para a região (Pinotti *et al.* 2014) e com os dados apresentados por Bergamino *et al.* (2011) na costa do Uruguai.

Dentre as duas fontes autóctones primárias analisadas na área do estudo (SOM e POM), os modelos de mistura sugerem que o POM é o principal responsável pela sustentação de toda a teia alimentar macroscópica da zona de arrebentação, com o SOM apresentando importância inferior a 40% na maioria dos casos. Resultados semelhantes foram observados por Bergamino *et al.* (2011), onde o POM também constituiu a principal fonte de matéria orgânica para os consumidores. Portanto, esses resultados não corroboram o modelo conceitual proposto por Pinotti *et al.* (2014) para a região, no qual as vias pelágicas e bentônicas teriam papel semelhante na estruturação trófica da zona de arrebentação. Essa discrepância pode estar associada ao fato de que os modelos conceituais prévios foram baseados principalmente em observações de campo e na análise de conteúdo estomacal, a qual tende a superestimar a importância dos alimentos encontrados nos tratos digestórios dos consumidores, em detrimento do que foi realmente assimilado nos tecidos dos consumidores (Winemiller *et al.* 2011, Conдини *et al.* 2015).

O POM é formado pelos restos das plantas e animais, fezes e fitoplâncton, sendo considerado uma das principais fontes basais de energia para os consumidores na zona de arrebentação (McLachlan & Bate 1984,

Heymarms & McLachlan 1996, McLachlan & Brown 2006, Alan *et al.* 2010). Além disso, o fato da praia investigada ser exposta e do tipo dissipativa (Pereira *et al.* 2010) possibilita a existência de uma zona de arrebentação ampla e capaz de ser auto suficiente (McLachlan & Brown 2006), o que é confirmado pelos altos valores de produção fitoplanctônica encontrados na região (Odebrecht *et al.* 2010). Portanto, a geomorfologia da praia parece reforçar os resultados apontados pelos modelos de mistura isotópicos, de que o POM seja a principal fonte basal de energia para a teia alimentar nessa praia subtropical.

Por outro lado, uma hipótese para explicar a menor contribuição do SOM seria uma baixa concentração de matéria orgânica no sedimento que ocorreria como resultado da elevada hidrodinâmica (e.g. formação de ondas, presença de correntes litorâneas), que impossibilitaria a deposição da matéria orgânica no sedimento. De fato, não foi possível a detecção de matéria orgânica nas amostras de SOM em três das quatro estações do ano analisadas, corroborando assim, com os trabalhos de Incera *et al.* (2003) e Rodil *et al.* (2007) que também encontraram uma baixa retenção de matéria orgânica no sedimento em praias expostas da península Ibérica.

## **Conclusão**

Ambientes aquáticos continentais fornecem subsídios energéticos para o ecossistema costeiro na região subtropical, sendo que a ocorrência e a magnitude da incorporação desses subsídios pelo ecossistema receptor variam sazonalmente. A origem do material alóctone continental incorporado a teia alimentar marinha estudada está majoritariamente associada à drenagem de

banhados pelos inúmeros riachos litorâneos espalhados ao longo da costa do RS. Essa incorporação não ocorre de forma difusa em todos os componentes da teia alimentar, sendo restrita principalmente à organismos bentônicos filtradores e podendo ser incorporados por níveis tróficos superiores (e.g., peixes), por meio da predação direta desses organismos.

### **Referências Bibliográficas**

- Abrantes K and Sheaves M. 2008. Incorporation of terrestrial wetland material into aquatic food webs in a tropical estuarine wetland. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80: 401-412.
- Abreu PC, Graneli W and Odebrecht C. 1995. Produção fitoplanctônica e bacteriana na região da pluma estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Atlântica* 17: 35-54.
- Aitkenhead JA and McDowell WH. 2000. Soil C:N ratio as a predictor of annual DOC flux at local and global scales. *Global Biogeochemical Cycles* 14: 127-138.
- Allan EL, Ambrosea ST, Richoux NB and Fronemana PW. 2010. Determining spatial changes in the diet of nearshore suspension-feeders along the South African coastline: stable isotope and fatty acid signatures. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 30: 463-471.
- Bastos RF, Condini MV and Garcia AM. 2013. Fish species list of coastal streams in southern Brazil: with notes on austral distribution limits of

marine and freshwater endangered species. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 8: 347-351.

Bemvenuti MA. 1990. Hábitos alimentares de peixes-rei (Atherinidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Atlântica* 12(1): 79–102.

Bergamino L, Lercari D and Defeo O. 2011. Food web structure of sandy beaches: Temporal and spatial variation using stable isotope analysis. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 91: 536-543.

Bergamino L, Lercari D and Defeo O. 2012. Terrestrial trophic subsidy in sandy beaches: evidence from stable isotope analysis in organic matter sources and isopod *Excirrolana armata*. *Aquatic Biology* 14(2): 129-134

Bird ECF. 2010. *Encyclopedia of the World's Coastal Landforms*. Springer Science & Business Media, London. 1516pp.

Burrage D, Wesson J, Martinez C, Pérez T, Möller OO and Piola A. 2008. Patos Lagoon Outflow within the Rio de la Plata Plume Using an Airborne Salinity Mapper: Observing an Embedded Plume. *Continental Shelf Research* 28(13): 1625-1638.

Calliari LJ, Speranski N, Torronteguy M and Oliveira MB. 2001. The mud banks of Cassino Beach, southern Brazil: characteristics, processes and effects. *Journal of Coastal Research* 34: 318-325.

Calliari LJ, Winterwerp JC, Fernandes EH, Cuchiara DC, Vinzon SB, Sperle M and Holland KT. 2009. Fine grain sediment transport and deposition in

the Patos Lagoon-Cassino beach sedimentary system. *Continental Shelf Research*.29(03): 515-529.

Ciotti AM, Odebrecht C, Fillmann G and Möller OO. 1995. Freshwater outflow and Subtropical Convergence influence on phytoplankton biomass on the southern Brazilian continental shelf. *Continental Shelf Research* 15: 1737-1756.

Claire TA, Pollock TL and Ehrman JM. 1994. Exports of carbon and nitrogen from river basins in Canada's Atlantic Provinces. *Global Biogeochemical Cycles* 8:441-450.

Condini, MV, Hoeninghaus, DJ and Garcia, AM. 2015. 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* 743: 109-125.

Connolly RM, Schlacher TA and Gaston TF. 2009. Stable isotope evidence for trophic subsidy of coastal benthic fisheries by river discharge plumes off small estuaries. *Marine Biology Research* 5: 164-171.

Day JW, Crump BC, Kemp WM and Yáñez-Arancibia A. 2012. *Estuarine ecology*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, New Jersey, 550p.

Deegan LA and Garritt RH. 1997. Evidence for spatial variability in estuarine food webs. *Marine Ecology Progress Series* 147: 31-47.

- Figueiredo SA and Calliari LJ. 2006. Washouts in the central and northern littoral of Rio Grande do Sul State, Brazil: distribution and implications. *Journal of Coastal Research* SI 39: 366-370.
- Figueiredo SA, Cowell PJ and Short AD. 2007. Intermittent beach discharge to the surf zone: modes and geomorphological implications. *Journal of Coastal Research* 50: 610-614.
- Fry B. 2006. *Stable isotope ecology*. Springer, New York, NY
- Garcia AM, Hoeninghaus DJ, Vieira JP and Winemiller KO. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73: 399-408.
- Gaston TF, Schlacher TA, Connolly RM. 2006. Flood discharges of a small river into open coastal waters: plume traits and material fate. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 69: 4-9.
- Gearing JN, Gearing PJ, Rudnick DT, Requejo AG and Hutchins MJ. 1984. Isotopic variability of organic carbon in a phytoplankton-based temperate estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48: 1089-1098.
- Goncharov AA, Kuznetsov AI, D'yakov LM and Tiunov AV. 2011. Trophic connections of soil arthropods with aquatic ecosystems in the Oka Nature Reserve according to data of isotope analysis. *Izv. Penz. Gos. Ped. Univ. im. V.G. Belinskogo* 25: 337-344.
- Harmelin-Vivien M, Loizeau V and Mellon C. 2008. Comparison of C and N stable isotope ratios between surface particulate organic matter and

microphytoplankton in the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Continental Shelf Research* 28: 1911-1919.

Hesslein RH, Hallard KA and Ramlal P. 1993. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , and  $\delta^{15}\text{N}$ . *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50: 2071-2076.

Heymans JJ and McLachlan A. 1996. Carbon budget and network analysis of a high-energy beach/surf-zone ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 43: 485-505.

Heymarms JJ and McLachlan A. 1996. Carbon budget and network analysis of a high-energy beach/surf-zone ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 43: 485-505.

Hoeinghaus DJ, Vieira JP, Costa CS, Bemvenuti CE, Winemiller KO and Garcia AM. 2011. Estuary hydrogeomorphology affects carbon sources supporting aquatic consumers within and among ecological guilds. *Hydrobiologia* 673: 79-92

Hope D, Billett MF and Cresser MS. 1994. A review of the export of carbon in river water: Fluxes and processes. *Environmental Pollution* 84: 301-324.

Hope D, Billett MF, Milne R and Brown TAW. 1997. Exports of organic carbon in British rivers. *Hydrological Processes* 11: 325-344.

Incera M, Cividanes SP, Lastra M and López J. 2003. Temporal and spatial variability of sedimentary organic matter in sandy beaches on the

Northwest coast of the Iberian Peninsula. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 58: 55-61.

Kennish MJ and Paerl HW. 2010. *Coastal Lagoons: Critical Habitats of Environmental Change*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton. 555p.

Korobushkin DI, Gongalsky KB and Tiunov AT. 2011. Structure of terrestrial and riparian invertebrate communities in the taiga zone of the Kola Peninsula according to data of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis. *Izv. Penz. Gos. Ped. Univ. im. V.G. Belinskogo* 25: 353-357.

Maluf JRT. 2000. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrometeorologia* 8(1): 141-150.

Marques WC, Fernandes EH, Monteiro IO and Möller OO. 2008. Numerical modeling of the Patos Lagoon coastal plume, Brazil. *Continental Shelf Research* 29: 556-571.

Marshall JD, Brooks JR, Lajtha K. 2007. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants In: Mitchener R, Lajtha K (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific, Oxford, p 22–60.

Mayer LM, Schick LL, Sawyer T, Plante CJ, Jumars PA, Self RL. 1995. Bioavailable amino acids in sediments: a biomimetic, kinetics-based approach. *Limnology Oceanography* 40: 511–520.

- McLachlan A and Bate GC. 1984. Carbon budget for a high energy surf zone. *Vie Milieu* 34: 67-77.
- McLachlan A and Brown AC. 2006. *The Ecology of Sandy Shores*. Academic Press, Burlington, MA, USA, 373 pp.
- Mellbrand K, Lavery PS, Hyndes G and Hambäck PA. 2011. Linking Land and Sea: Different Pathways for Marine Subsidies. *Ecosystems* 14: 732-744.
- Meybeck M. 1993. Riverine transport of atmospheric carbon: sources, global typology and budget. *Water, Air, and Soil Pollution* 70: 443-463.
- Monteiro-Neto C, Cunha LPR and Musick JA. 2003. Community structure of surf-zone fishes at Cassino Beach, Rio Grande do Sul, Brazil. *Journal of Coastal Research* 35: 492-501.
- Moore PD. 2006. *Wetlands (Biomes of the Earth)*. Chelsea House Publications 220pp.
- Mulholland PJ and Watts JA. 1982. Transport of organic carbon to the oceans by rivers of North America: a synthesis of existing data. *Tellus* 34: 176-186.
- Mulholland PJ. 1997. Dissolved organic matter concentration and flux in streams. *Journal of the North American Benthological Society* 16: 131-141.
- Naiman RJ, Bilby RE, Schindler DE and Helfield JM. 2002. Pacific salmon, nutrients, and the dynamics of freshwater and riparian ecosystems. *Ecosystems* 5: 399-417.

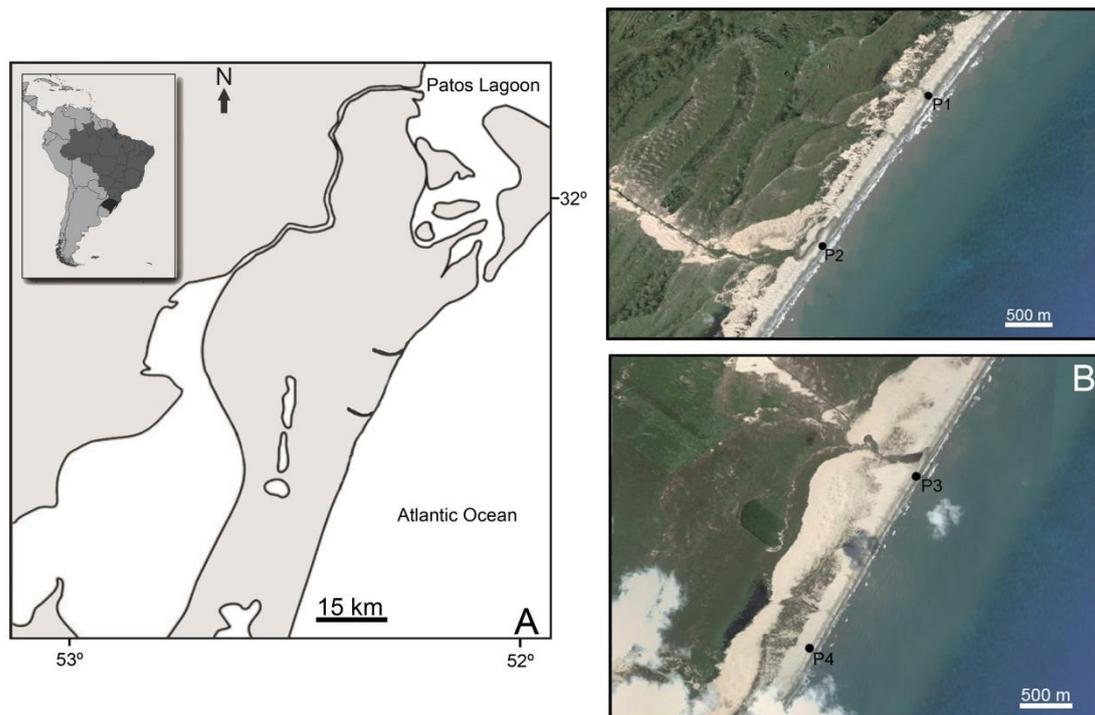
- Neves LP, Silva PSR and Bemvenuti CE. 2007. Zonation of benthic macrofauna on Cassino Beach, Southernmost Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography* 55(4): 293-307.
- Odebrecht C, Du Preez DR, Abreu PC and Campbell EE. 2014. Surf zone diatoms: a review of the drivers, patterns and role in sandy beaches food chains. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 150: 24-35.
- Odebrecht C, Bergesch M, Rörig LR and Abreu PC. 2010. Phytoplankton Interannual Variability at Cassino Beach, Southern Brazil (1992-2007), with Emphasis on the Surf Zone Diatom *Asterionellopsis glacialis*. *Estuaries and Coasts* 33: 570-583.
- Odum WE, Fisher JS and Pickral JC. 1979. Factors controlling the flux of particulate organic carbon from estuarine wetlands. *In*: Livingstone RJ, editor. *Ecological processes in coastal and marine systems*. New York: Plenum Press. 69-80p.
- Oliveira MCLM, Bastos RF, Claudino MC, Assumpção CM and Garcia AM. 2014. Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. *Aquatic Biology* 20: 91-100.
- Paetzold A, Lee M and Post DM. 2008. Marine resource flows to terrestrial arthropod predators on a temperate island: The role of subsidies between systems of similar productivity. *Oecologia* 157: 653-659.

- Parnell AC, Inger R, Bearhop S and Jackson AL. 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS ONE* 5: e9672,
- Pereira da Silva R. 1998. Ocorrência, distribuição e características morfodinâmicas dos sangradouros na zona costeira do Rio grande do Sul: trecho Rio Grande - Chuí, RS. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 144p.
- Pereira PS, Calliari LJ and Barletta RC. 2010. Heterogeneity and homogeneity of Southern Brazilian beaches: A morphodynamic and statistical approach. *Continental Shelf Research* 30: 270-280.
- Pereira PS, Calliari LJ, Holman R, Holland KT, Guedes RMC, Amorim CK and Cavalcanti PG. 2011. Video and field observations of wave attenuation in a muddy surf zone. *Marine Geology* 279: 210-221.
- Peterson BJ and Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 18: 293-320.
- Phillips DL, Inger R, Bearhop S, Jackson AL, Moore JW, Parnell AC, Semmens BX and Ward EJ. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology* 92: 823-835.
- Pinotti RM, Minasi DM, Colling LA and Bemvenuti CE. 2014. A review on macrobenthic trophic relationships along subtropical sandy shores in southernmost Brazil. *Biota Neotropica* 14 (3): 1-12.

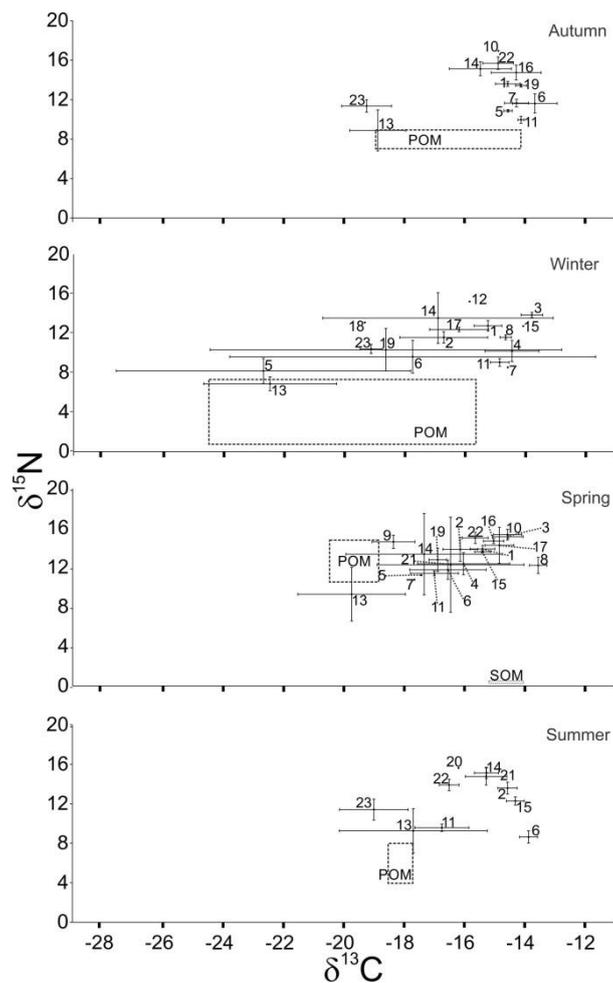
- Pinto TK and Bemvenuti CE. 2003. Effects os burrowing macrofauna on meiofauna community structure. *Acta Limnologica Brasiliensis* 15(3):41-51.
- Polis GA and Hurd SD. 1995. Extraordinary high spider densities on islands: Flow of energy from marine to terrestrial food webs and the absence of predation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 4382-4386.
- Polis GA, Anderson WB and Holt RD.1997. Toward an integration of landscape ecology and food web ecology: The dynamics of spatially subsidized food webs. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 28: 289-316.
- Post DM. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703-718
- Reddy KR and DeLaune RD. 2008. *Biogeochemistry of Wetlands: Science and Applications*. Boca Raton: CRC Press. 819 pp.
- Rodil IF, Lastra M and López J. 2007. Macroinfauna community structure and biochemical composition of sedimentary organic matter along a gradient of wave exposure in sandy beaches (NW Spain). *Hydrobiologia* 579: 301-316.
- Rodrigues FL and Vieira JP. 2013. Surf zone fish abundance and diversity at two sandy beaches separated by long rocky jetties. *Journal of the Marine Biological Association of the UK (Online)* 93: 867-875.

- Rodrigues FL, Cabral HN and Vieira JP. 2015. Assessing surf-zone fish assemblage variability in southern Brazil. *Marine and Freshwater Research*. *Marine and Freshwater Research* 66(2): 106-119.
- Santos PJP. 1991. Morphodynamical influence of a temporary freshwater stream on the population dynamics of *Scoelepis gaucha* (Polychaeta:Spionidae) on a sandy beach in Southern Brazil. *Bulletin of Marine Science* 48(3): 657-664.
- Savage C, Thrush SF, Lohrer AM, Hewitt JE. 2012. Ecosystem services transcend boundaries: Estuaries provide resource subsidies and influence functional diversity in coastal benthic communities. *PLoS ONE* 7(8): 1-8.
- Schlesinger WH and Melack JM. 1981. Transport of organic carbon in the world's rivers. *Tellus* 33: 172-187.
- Seeliger U. 2004. Carchment-lagoon-estuary-coast interactions of the Patos-Mirim system, South Brazil. *In*: Lacerda LD, Santelli RE, Duurma EK, Abrão JJ (eds) *Environmental Geochemistry in Tropical and Sub-tropical Environments*, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 19-27.
- Seifert LI and Scheu S. 2012. Linking aquatic and terrestrial food webs - Odonata in boreal systems. *Freshwater Biology* 57: 1449-1457.
- Siegle E and Calliari LJ. 2008. High-energy events and short-term changes in superficial beach sediments. *Brazilian Journal of Oceanography* 56 (2): 149-152.

- Sokal RR and Rohlf FJ. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3<sup>o</sup>ed. San Francisco, Freeman, 887p.
- Vanderklift MA and Ponsard S. 2003. Sources of variation in consumer-diet d<sup>15</sup>N enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136:169-182
- Vinagre C, Máguas C, Cabral HN and Costa MJ. 2011. Spatial variation in river runoff into a coastal area - An ecological approach. *Journal of Sea Research* 65: 362-367.
- Wetzel RG and Manny BA. 1972. Secretion of dissolved organic carbon and nitrogen by aquatic macrophytes. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 18: 162-170.
- Wetzel RG. 1983. *Limnology*. 2nd ed. Saunders College, Philadelphia, 860 p.
- Wetzel RG. 2000. Dissolved Organic Carbon: Detrital Energetics, Metabolic Regulators, and Drivers of Ecosystem Stability of Aquatic Ecosystems. *In* : *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Ed: Stuart E. G. Findlay and Robert L. Sinsabaugh Academic Press. 512 p.
- Winemiller KO, Zeug SC, Robertson CR, Winemiller BK and Honeycutt RL. 2011. Food-web structure of coastal streams in Costa Rica revealed by dietary and stable isotope analyses. *Journal of Tropical Ecology* 27: 463-476.
- Zar JH. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5th edn. (Pearson Prentice-Hall: Upper Saddle River).

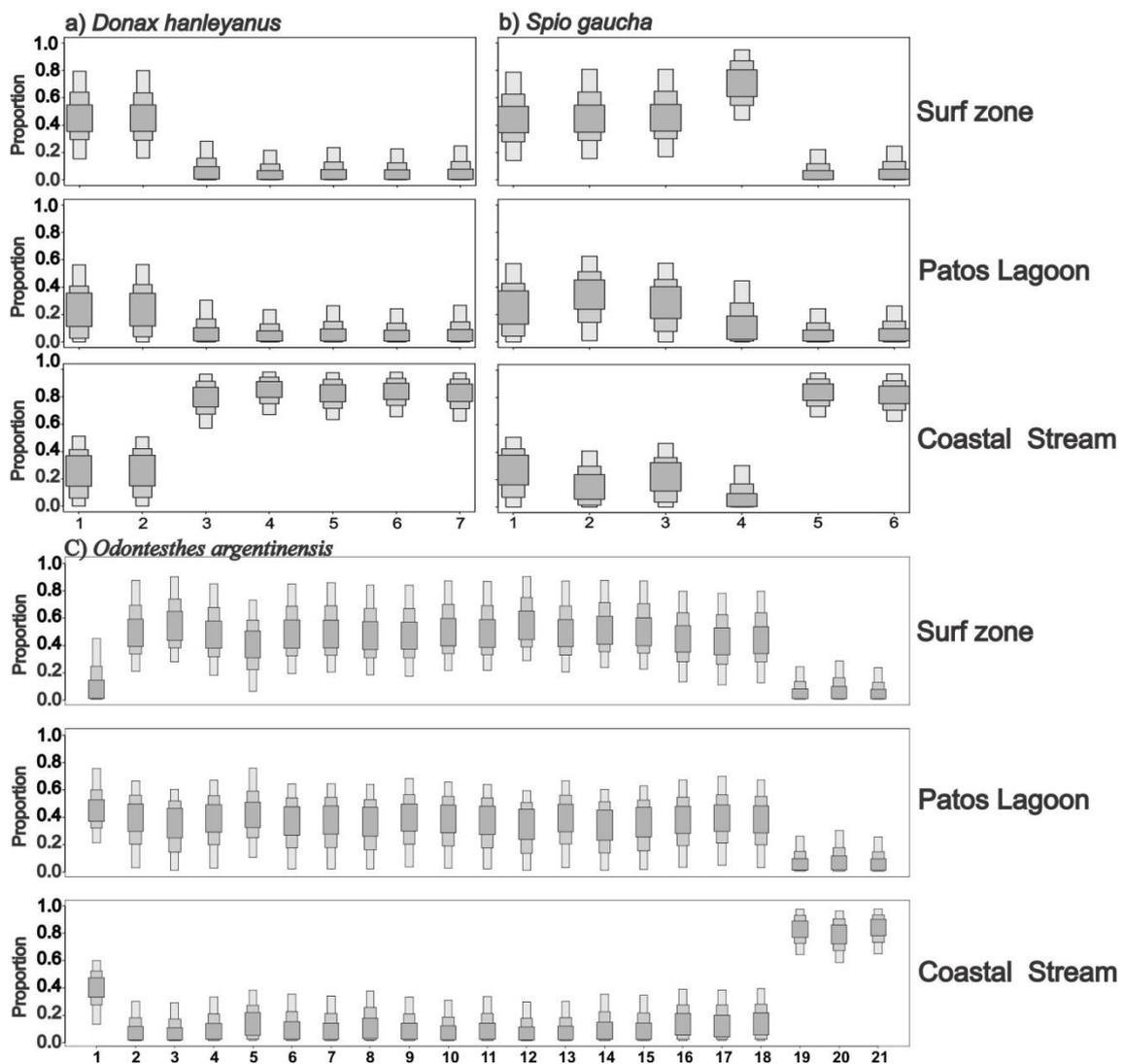


**Figura 1.** Mapa da área de estudo mostrando em detalhe o Estuário da Lagoa dos Patos, com os locais onde foram realizadas as coletas de POM (A) e a área costeira, com a zona de arrebentação e os riachos litorâneos (P1, P2, P3 e P4) aonde foram feitas as amostragens.

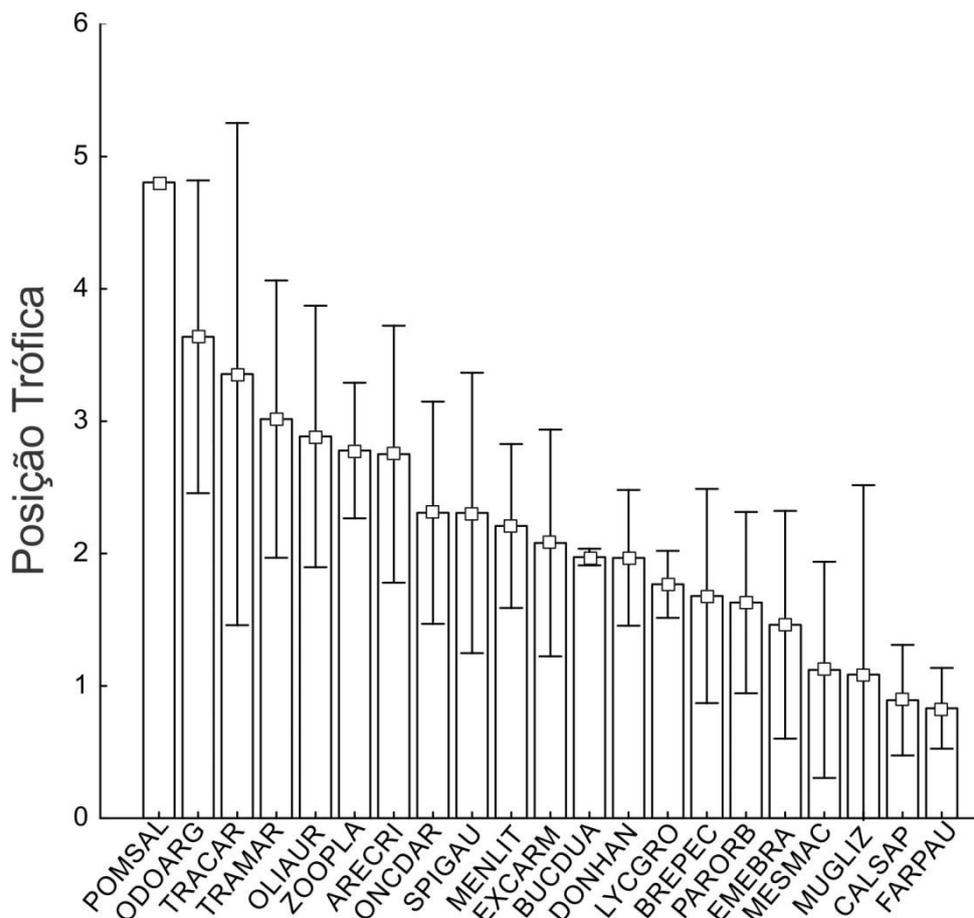


**Figura 2.** *Bi-plots* dos valores médios ( $\pm$ DP) dos isótopos de carbono e nitrogênio dos consumidores e fontes alimentares basais da zona de arrebenção, em cada estação do ano. A caixa pontilhada representa as fontes alimentares basais: POM, matéria orgânica particulada em suspensão; SOM, matéria orgânica particulada no sedimento. Código das espécies: 1, *Arenaeus cribarius*; 2, *Brevoortia pectinata*; 3, *Buccinanops duartei*; 4, *Callinectes sapidus*; 5, *Donax hanleyanus*; 6, *Emerita brasiliensis*; 7, *Excirrolana armata*; 8, *Farfantepenaeus paulensis*; 9, *Lycengraulis grossidens*; 10, *Menticirrhus littoralis*; 11, *Mesodesma mactroides*; 12, *Micropogonias furnieri*; 13, *Mugil liza*; 14, *Odonthestis argentinensis*; 15, *Olivancillaria auricularia*; 16, *Oncopterus darwinii*; 17, *Paralichthys orbignyanus*; 18,

*Platanichthys platana*; 19, *Spio gaucha*; 20, *Pomatomus saltatrix*; 21,  
*Trachinotus carolinus*; 22, *Trachinotus marginatus*; 23, Zooplâncton.



**Figura 3.** Contribuição relativa da matéria orgânica particulada em suspensão (POM) oriunda da zona de arrebenção, da Lagoa dos Patos e dos riachos litorâneos para cada indivíduo dos consumidores (números), no período do inverno: (a) *Spio gaucha*, (b) *Donax hanleyanus* and (c) *Odontheistes argentinensis*. Intervalo Baesiano de credibilidade da proporção de contribuição de cada fonte alimentar basal para as espécies analisadas: 50% (cinza escuro), 75% (cinza) e 95% (cinza claro). Os números indicam os indivíduos.



**Figura 4.** Valores médios ( $\pm$ DP) da posição trófica dos consumidores presentes na zona de arrebenção. Código das espécies: POMSAL, *Pomatomus saltatrix*; ODOARG, *Odonthestis argentinensis*; TRACAR, *Trachinotus carolinus*; TRAMAR, *Trachinotus marginatus*; OLIAUR, *Olivancillaria auricularia*; ZOOPLA, Zooplâncton; ARECRI, *Arenaeus cribarius*; ONCDAR, *Oncopterus darwinii*; SPIGAU, *Spio gaucha*; MENLIT, *Menticirrhus littoralis*, EXCARM, *Excirrolana armata*; BUCDUA, *Buccinanops duartei*; DONHAN, *Donax hanleyanus*; LYCGRO, *Lycengraulis grossidens*; BREPEC, *Brevoortia pectinata*; PARORB, *Paralichthys orbignyana*; EMEBRA, *Emerita brasiliensis*; MESMAC, *Mesodesma mactroides*; MUGLIZ, *Mugil liza*; CALSAP, *Callinectes sapidus*; FARPAU, *Farfantepenaeus paulensis*.

**Tabela 1.** Comprimento total (TL, mm) e valores médios ( $\pm$ DP) da razão isotópica do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e do nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) das fontes alimentares basais (POM, SOM) e dos consumidores coletados na zona de arrebentação, nas quatro estações do ano (Outono, Inverno, Primavera e Verão). POM: matéria orgânica particulada em suspensão e SOM: matéria orgânica particulada no sedimento.

	OUTONO				INVERNO				PRIMAVERA				VERÃO			
	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N} \pm 1 \text{ SD}$	$\delta^{13}\text{C} \pm 1 \text{ SD}$	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N} \pm 1 \text{ SD}$	$\delta^{13}\text{C} \pm 1 \text{ SD}$	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N} \pm 1 \text{ SD}$	$\delta^{13}\text{C} \pm 1 \text{ SD}$	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N} \pm 1 \text{ SD}$	$\delta^{13}\text{C} \pm 1 \text{ SD}$
<b>PEIXES</b>				□				□				□				
<i>Menticirrhus littoralis</i>	1	326	16.9	-14,9					15	26-287	15,3 $\pm$ 0,5	-14,6 $\pm$ 0,5				
<i>Pomatomus saltatrix</i>													1	85	15,6 $\pm$ 0	-16,2 $\pm$ 0
<i>Brevoortia pectinata</i>					2	91-110	11,6 $\pm$ 0,6	-16,7 $\pm$ 1,5	22	18-152	13,8 $\pm$ 1,2	-16,1 $\pm$ 0,6	2	64-65	13,6 $\pm$ 0,6	-14,5 $\pm$ 0,3
<i>Micropogonias furnieri</i>					1	305	15,2	-15,8								
<i>Platanichthys platana</i>					1	98	13,1	-19,3								
<i>Paralichthys orbignyanus</i>					2	130-180	12,4 $\pm$ 0,2	-16,1 $\pm$ 1	2	188-286	14,2 $\pm$ 1,8	-14,8 $\pm$ 0,5				
<i>Odontesthes argentinensis</i>	15	82-325	15,1 $\pm$ 0,7	-15,4 $\pm$ 1	21	69-173	13,5 $\pm$ 2,6	-16,9 $\pm$ 3,8	4	41-136	13,3 $\pm$ 4,1	-17,3 $\pm$ 2,6	7	73-87	15,1 $\pm$ 0,6	-15,2 $\pm$ 0,4
<i>Lycengraulis grossidens</i>									13	103-212	14,6 $\pm$ 0,7	-18,3 $\pm$ 0,7				
<i>Oncopterus darwini</i>	3	84-98	14,7 $\pm$ 0,8	-14,3 $\pm$ 0,8					8	33-109	14,7 $\pm$ 0,3	-15 $\pm$ 0,3				
<i>Trachinotus marginatus</i>	17	40-125	15,7 $\pm$ 0,6	-14,9 $\pm$ 0,5					19	36-198	15 $\pm$ 0,6	-15,6 $\pm$ 0,4	3	42-68	13,9 $\pm$ 0,6	-16,5 $\pm$ 0,3
<i>Trachinotus carolinus</i>									4	30-94	12,3 $\pm$ 4,8	-16,4 $\pm$ 2,4	9	44-123	14,8 $\pm$ 0,9	-15,3 $\pm$ 0,7
<i>Mugil liza</i>	13	25-50	8,9 $\pm$ 2,1	-18,8 $\pm$ 0,9	14	23-30	6,9 $\pm$ 0,7	-22,5 $\pm$ 2,2	24	20-75	9,3 $\pm$ 2,7	-19,7 $\pm$ 1,8	25	20-127	9,3 $\pm$ 2,2	-17,7 $\pm$ 2,5
<b>INVERTEBRADOS</b>																
<i>Arenaeus cribarius</i>	8	38-65	13,60 $\pm$ 0,26	-14,54 $\pm$ 0,41	15	39-87	12,7 $\pm$ 0,5	-15,2 $\pm$ 0,5	10	59-100	13,9 $\pm$ 0,4	-15,4 $\pm$ 0,4	9	43-93	13 $\pm$ 0,3	-15,4 $\pm$ 0,6
<i>Callinectes sapidus</i>					5	61-88	10,2 $\pm$ 1,1	-14,4 $\pm$ 0,9	5	61-82	12,4 $\pm$ 1,1	-16 $\pm$ 1,5				
<i>Emerita brasiliensis</i>	7	26-45	11,6 $\pm$ 1	-13,6 $\pm$ 0,7	3	13-23	9,6 $\pm$ 1,7	-17,7 $\pm$ 6,1	12	mai/35	11,8 $\pm$ 1	-16,5 $\pm$ 1,3	5		8,7 $\pm$ 0,6	-13,8 $\pm$ 0,3
<i>Excrolana armata</i>	5		11,7 $\pm$ 0,4	-14,3 $\pm$ 0,4	1		8,5	-14,6	1		10,8	-17,6				
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>					2	87-98	11,6 $\pm$ 0,3	-14,6 $\pm$ 0,2	2	100-110	12,2 $\pm$ 0,8	-13,5 $\pm$ 0,3				
<i>Donax hanleyanus</i>	9	13-22	10,9 $\pm$ 0,1	-14,5 $\pm$ 0,1	7	out/17	8,2 $\pm$ 1,3	-22,7 $\pm$ 4,9	1		11,2	-17,4				
<i>Mesodesma mactroides</i>	3	20-57	10 $\pm$ 0,4	-14,2 $\pm$ 0,1	5	08/dez	9 $\pm$ 0,4	-14,8 $\pm$ 0,3	16	18-30	11,4 $\pm$ 0,3	-17 $\pm$ 0,8	6		9,6 $\pm$ 0,4	-16,7 $\pm$ 0,9
<i>Buccinanops duartei</i>					3		13,9 $\pm$ 0,3	-13,8 $\pm$ 0,4	2	22-30	15,1 $\pm$ 0,2	-14,5 $\pm$ 0,5				
<i>Olivancillaria auricularia</i>					1		12,7	-14,1	2	20-21	13,6 $\pm$ 0,1	-15,4 $\pm$ 0,3	5	30-64	12,3 $\pm$ 0,4	-14,3 $\pm$ 0,3
<i>Scolecopsis gaucha</i>	6		13,4 $\pm$ 0,2	-14,1 $\pm$ 0,2	6		10,3 $\pm$ 2,2	-18,6 $\pm$ 5,8	4		12,8 $\pm$ 1,2	-16,9 $\pm$ 0,3				
Zooplâncton	8		11,4 $\pm$ 0,6	-19,2 $\pm$ 0,8	5		10,4 $\pm$ 0,5	-19,1 $\pm$ 0,4					16		11,4 $\pm$ 1,1	-19 $\pm$ 1,1
<b>FONTES ALIMENTARES BASAIS</b>																
POM	12		8 $\pm$ 1	-16,5 $\pm$ 2,4	8		4 $\pm$ 3,3	-20,1 $\pm$ 4,4	10		12,7 $\pm$ 2,1	-19,7 $\pm$ 0,8	3		6 $\pm$ 2	-18,1 $\pm$ 0,4
SOM									10		0,4 $\pm$ 0,1	-16,6 $\pm$ 0,6				

**Tabela 2.** Contribuição relativa da matéria orgânica particulada em suspensão (POM) e da matéria orgânica particulada no sedimento (SOM), nos consumidores da zona de arrebentação. Valores representam o intervalo *Baeyiano* de credibilidade da proporção de contribuição de 95% de cada fonte basal para as espécies analisadas.

PEIXES	Contribuição Relativa (95%)	
	POM	SOM
<i>Pomatomus saltatrix</i>	0.1 - 1	0 - 0.9
<i>Odontesthes argentinensis</i>	0.9 - 1	0 - 0.1
<i>Trachinotus carolinus</i>	0.9 - 1	0 - 0.1
<i>Trachinotus marginatus</i>	1-1	0 - 0
<i>Oncopterus darwini</i>	0.8 - 1	0 - 0.2
<i>Menticirrhus littoralis</i>	0.8 - 1	0 - 0.2
<i>Lycengraulis grossidens</i>	0.9 - 1	0 - 0.1
<i>Brevoortia pectinata</i>	0.9 - 1	0 - 0.1
<i>Paralichthys orbignyanus</i>	0.2 - 1	0 - 0.8
<i>Mugil liza</i>	0.6 - 0.8	0.2 - 0.4
<b>INVERTEBRADOS</b>		
<i>Arenaeus cribarius</i>	0.9 - 1	0 - 0.1
<i>Pollychaeta</i>	0.8 - 1	0 - 0.2
<i>Zooplâncton</i>	0.8 - 1	0 - 0.2
<i>Olivancillaria auricularia</i>	0.7 - 1	0 - 0.3
<i>Callinectes sapidus</i>	0.7 - 1	0 - 0.3
<i>Excirolana armata</i>	0.7 - 1	0 - 0.4
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	0.1 - 1	0 - 0.9
<i>Emerita brasiliensis</i>	0.7 - 0.9	0.1 - 0.3
<i>Mesodesma mactroides</i>	0.7 - 0.9	0.1 - 0.3
<i>Donax hanleyanus</i>	0.6 - 0.9	0.1 - 0.4
<i>Buccinanops duartei</i>	0.4 - 0.7	0 - 0.9

## CAPÍTULO 4

### **Taxa de renovação e fracionamento isotópico da tainha, *Mugil liza*, criadas com ração experimental em laboratório.**

M. C. L. M. Oliveira<sup>1</sup>, R. Mont'Alverne<sup>1</sup>, L. A. Sampaio<sup>2</sup>, M. B. Tesser<sup>3</sup>, L. R. V. Ramos<sup>3</sup>, A. M. Garcia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Ictiologia, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Piscicultura Marinha e Estuarina, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brazil.

<sup>3</sup>Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brazil.

## Resumo

Um aspecto fundamental na utilização da análise de isótopos estáveis em estudos de ecologia trófica é o conhecimento das taxas de assimilação, fracionamento e renovação isotópica nos tecidos dos consumidores. As validações experimentais desses parâmetros muitas vezes são negligenciadas, porém são cruciais para o desenvolvimento de estudos com a análise de isótopos estáveis. O objetivo desse trabalho foi definir a taxa de renovação isotópica (TRI) e o fator de discriminação isotópica ( $\Delta$ ) no músculo da tainha (*Mugil liza*) em condições controladas e com uma dieta experimental com valor isotópico conhecido ( $\delta^{13}\text{C}=-27,1\text{‰}$ ;  $\delta^{15}\text{N}=1\text{‰}$ ). Os juvenis de tainha apresentaram uma rápida TRI, com uma meia-vida ( $T_{50}$ ) de apenas 15 e 12 dias para o  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  respectivamente e uma renovação quase total ( $T_{95}$ ) de 67 e 52 dias para o  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ . O crescimento (anabolismo) contribui mais para a TRI do que o catabolismo. O fator de discriminação isotópica ( $\Delta$ ) foi de  $2,8\pm 0,5\text{‰}$  para o  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $4,3\pm 0,4\text{‰}$  para o  $\delta^{15}\text{N}$ . Esses resultados são os primeiros obtidos experimentalmente para peixes marinhos nativos da América do Sul e, portanto, deverão contribuir na precisão e no refinamento dos estudos que empregam isótopos estáveis no estudo da dinâmica trófica nas regiões costeiras neotropicais.

**Palavras chave:** discriminação isotópica, isótopos estáveis, ração C3, tanques experimentais.

## Introdução

Isótopos estáveis de carbono ( $^{13}\text{C}$  e  $^{12}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $^{15}\text{N}$  e  $^{14}\text{N}$ ) atuam como marcadores naturais que são amplamente utilizados para estudar teias alimentares, padrões de movimento e troca de energia entre ambientes (Peterson & Fry 1987, Hobson 1999, Mellbrand *et al.* 2011). Contudo, um aspecto fundamental em estudos de ecologia trófica que utilizam a técnica de análise de isótopos estáveis (AIE), que muitas vezes é negligenciado, é a validação experimental de pressupostos. A relação entre a dieta e as razões isotópicas em tecidos de consumidores nem sempre é direta e pode estar sujeita a variabilidade por diferenças de assimilação de nutrientes, fracionamento isotópico e taxas de renovação de tecidos, levando a uma interpretação errônea dos dados (Tieszen *et al.* 1983, Pinnegar & Polunin *et al.* 1999, Gaye-Siessegger *et al.* 2003, Dalerum & Angerbjorn 2005). Por exemplo, o fracionamento isotópico é a diferença na composição isotópica entre o consumidor e o seu alimento que resulta de reações químicas que favorecem usualmente o composto com o elemento mais leve (e.g.,  $^{12}\text{C}$ ) em detrimento do mais pesado (e.g.,  $^{13}\text{C}$ ) durante a síntese de tecidos do consumidor (Fry 2006). O fracionamento isotópico ou fator de discriminação isotópica ( $\Delta$ ) é influenciado por vários fatores, como tipo de alimento (e.g., vegetal ou animal), temperatura e taxa de consumo (Caut *et al.* 2009), podendo ser bastante variável (e.g., 0,04-1,2 ‰ para carbono e 1,5-5 ‰ para nitrogênio) (Vander Zanden & Rasmussen 2001, Post 2002, Caut *et al.* 2009, Prado *et al.* 2012,). O  $\Delta$  é o parâmetro primordial nas equações matemáticas que estimam a posição trófica dos consumidores (Post 2002). Porém, o desconhecimento de valores do  $\Delta$

para a grande maioria dos organismos associada a sua variabilidade inerente (Gannes *et al.* 1997, 1998), pode levar a estimativas imprecisas ou errôneas, não apenas da posição trófica de um consumidor, mas de cadeias alimentares inteiras (Hussley *et al.* 2014). Além disso, o conhecimento de valores do  $\Delta$  espécie-específicos, ao invés de valores médios estimados em trabalhos de meta-análises, é fundamental para aumentar a precisão dos modelos de isotópicos usados para estimar a assimilação dos alimentos pelos consumidores (Phillips *et al.* 2014).

Outro fator crucial em estudos ecológicos com isótopos estáveis é a taxa de renovação isotópica (TRI), que é o tempo médio que um consumidor leva para refletir isotopicamente uma nova dieta ou a mudança para um habitat que possua diferenças isotópicas na base da sua cadeia alimentar (Tieszen & Boutton 1988, Hobson & Clark 1992). A TRI é crucial em estudos que utilizam a AIE para determinar migração, tempo de residência e mudanças na dieta, porém essa taxa pode variar entre tecidos (e.g., músculo, esqueleto e fígado) de um mesmo animal e em um mesmo tecido entre diferentes tipos de animais (Hobson & Clark 1992, Hesslein *et al.* 1993). Gannes *et al.* (1997, 1998) já reconhecia que a aplicação bem sucedida da AIE na ecologia trófica depende do conhecimento de quão rápido e com qual fidelidade os animais incorporam a composição isotópica dos recursos alimentares utilizados. Esses autores ainda identificaram quatro grandes áreas que necessitavam de trabalhos experimentais para o avanço desse conhecimento: 1) taxa de renovação isotópica, 2) fator de discriminação isotópico, 3) rota isotópica e 4) modelos de mistura. Porém, após mais de 15 anos dessa constatação, a necessidade de

trabalhos experimentais continua, já que o número de trabalhos de campo que aplicam AIE para elucidar questões ecológicas ultrapassa, de longe, o número de estudos experimentais que visam esclarecer os mecanismos e os padrões encontrados por esses trabalhos de campo (Martinez del Rio *et al.* 2009). Portanto, Devido a sua grande variabilidade e sua importância para estudos que empregam AIE, os parâmetros  $\Delta$  e TRI deveriam ser validados em laboratório, por meio de experimentos com dieta controlados (Gannes *et al.* 1998).

O objetivo desse estudo foi utilizar a tainha (*Mugil liza*), uma espécie marinha costeira com ampla distribuição ao longo da costa da América do Sul, desde o Caribe até a Argentina (Menezes *et al.* 2010), para investigar a TRI e o  $\Delta$  dos isótopos de carbono e nitrogênio no músculo de peixes neotropicais. Para o nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho com abordagem experimental para caracterização do fator de discriminação e taxa de renovação isotópica realizado com peixes marinhos nativos na América do Sul.

## **Material e Métodos**

Os exemplares de juvenis de tainha (*Mugil liza*) foram coletas com redes de arrasto (Rodrigues *et al.* 2015) na zona de arrebentação da planície costeira do sul do Rio Grande do Sul (32°12'22,31" S; 52°10'24,31" O). Durante a coleta as tainhas foram mantidas numa caixa de transporte para peixes com volume 1000 l, preenchida com água do próprio ambiente e aerada com o auxílio de tanques de oxigênio. No término da coleta as tainhas foram levadas para a

Estação Marinha de Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande (EMA-FURG).

Inicialmente as tainhas foram acondicionados em um tanque de 1.000 L com salinidade e temperatura semelhantes ao local de coleta, com renovações da água e aeração constantes. Os peixes permaneceram por 48 horas nesse tanque com o intuito de aclimatá-los às condições experimentais, ou seja, temperatura de 28 °C e salinidade de 5‰. Para a realização do experimento, foram selecionados juvenis de tainha com tamanho inicial próximo a 25 mm e peso inicial de 0,1 g, os quais foram transferidos para um tanque experimental de 500L. Os peixes foram estocados com uma densidade máxima de 3 tainhas por litro (Sampaio *et al.* 2001), mantidos com um fotoperíodo 12C:12E. A temperatura, salinidade, pH, alcalinidade, amônia total e nitrito foram monitorados diariamente. Esses parâmetros foram mantidos dentro dos limites aceitáveis para a maioria dos peixes teleósteos (Wootton 1990).

Os peixes foram alimentados até a saciedade, quatro vezes por dia, com uma ração formulada para atender as suas necessidades nutricionais (NRC 1993) (Tabela 1). A ração teve como base grãos de plantas com sistema fotossintético C<sub>3</sub> (arroz e soja), apresentando assim um valor isotópico suficientemente diferente ( $\delta^{13}\text{C}$  -27,1‰ e  $\delta^{15}\text{N}$  1,0‰) do apresentado pelas tainhas capturadas da zona de arrebentação ( $\delta^{13}\text{C}$  -17,7‰ e  $\delta^{15}\text{N}$  8,6‰; Oliveira *et al.* 2014). Essa diferença maior que 8‰, tanto nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  quanto nos de  $\delta^{15}\text{N}$ , é necessária para a caracterização adequada da taxa de renovação e do fracionamento isotópico (Seminoff *et al.* 2007). A análise proximal dos componentes da ração foi realizada por um laboratório

especializado do Departamento de Tecnologia e Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

O manejo dos peixes e obtenção do material biológico foi acompanhado pela Comissão de Ética em Uso Animal da FURG (Proc: 23116.004233/2013-11), seguindo as orientações da lei federal Brasileira nº 11.794. O experimento durou 42 dias e uma vez por semana um mínimo de três indivíduos foram coletados e eutanasiados para obtenção de amostras de músculo.

Para a determinação isotópica, as amostras de músculo foram processadas seguindo o protocolo descrito por Garcia *et al.* (2007). Resumidamente, as amostras foram obtidas com uma porção tecido muscular antero-dorsal e abdominal de cada tainha coletada, lavadas em água destilada, colocadas individualmente em placas *Petri* e levadas a estufa (60°C) por 48h. Após serem secas, as amostras foram maceradas (pistilo e grau) e as sub-amostras foram pesadas em cápsulas de estanho (Costech, Valencia, CA) e enviadas ao *Stable Isotope/Soil Biology Laboratory, University of Geórgia*, EUA, para determinação da razão isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ). 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 carbono foi Pee Dee Belemnite (PDB) e o padrão para o nitrogênio foi o nitrogênio atmosférico.

Com o objetivo de modelar a mudança isotópica nos tecidos após a troca de dieta, foi utilizado um modelo exponencial de três parâmetros (3P) baseado na variável tempo. Esse modelo ajustou os dados isotópicos ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) seguindo o proposto por Hesslein *et al.* (1993) e Suzuki *et al.* (2005):

$$\delta X_t = \delta X_{eq} + (\delta X_i - \delta X_{eq}) * e^{(\lambda * t)}$$

Onde  $\delta X_t$  é o valor isotópico do músculo  $t$  dias após o início do experimento,  $\delta X_i$  e  $\delta X_{eq}$  são os valores isotópicos iniciais e assintóticos respectivamente e  $\lambda$  a taxa fracional da incorporação isotópica. Esse modelo leva em consideração tanto a adição de novos tecidos quanto reposição dos antigos, isso ocorre porque o parâmetro  $\lambda$  é a soma do crescimento ( $k$ ) e do catabolismo ( $c$ ) (Warne *et al.* 2010). Os valores de  $\lambda$  e  $\delta X_{eq}$  com seus respectivos erros padrões foram estimados utilizando o *software* JMP versão 11. A constante da taxa de crescimento ( $k$ ) foi determinada pelo ajuste de um modelo exponencial de crescimento aos dados disponíveis ( $W_t = W_i e^{k \cdot t}$ ), onde  $W_i$  é o peso inicial e  $W_t$  o peso final coletado no dia  $t$ .

Para estimar o tempo necessário para que ocorra a renovação isotópica de 50% (meia-vida) e 95% (quase total) do tecido, foi resolvida a equação proposta por Tieszen *et al.* (1983):

$$T = \ln [1 - (\alpha/100)] / \lambda$$

Onde  $T$  é o tempo em dias,  $\alpha$  é a porcentagem renovada e  $\lambda$  a taxa de renovação do tecido. Já o fracionamento isotópico ( $\Delta$ ) do músculo da tainha foi calculado pela diferença nos valores médios do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  no equilíbrio e os valores da ração utilizada no experimento.

## Resultados

Os modelos foram bem ajustados, sendo que para o carbono foi obtida a equação  $\delta^{13}\text{C} = -25,48 + 7,08 \exp(-0,31t)$  (Figura 1-A), com uma meia-vida de 15,65 dias e o equilíbrio com a ração alcançado após 42 dias. Para o nitrogênio

a equação obtida foi  $\delta^{15}\text{N} = 4,74 + 4,35\exp(-0,40t)$  (Figura 1-B), com uma meia-vida de 12,03 dias e com o equilíbrio também alcançado após 42 dias.

Tanto o catabolismo quanto o anabolismo contribuíram para a troca isotópica dos músculos das tainhas. De maneira geral, a taxa de renovação do carbono ( $\lambda$ ) foi impulsionada principalmente pelo anabolismo (crescimento), já que os valores do parâmetro  $c$  foram menores que  $k$  (Tabela 2). Para a taxa de renovação do nitrogênio, o crescimento também foi o principal fator ( $c < k$ ) (Tabela 2). O fator de discriminação isotópica ( $\Delta$ ) variou entre os isótopos, sendo de  $2,8 \pm 0,5$  ‰ para o  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $4,3 \pm 0,4$  ‰ para o  $\delta^{15}\text{N}$  (Tabela 2).

## Discussão

O modelo proposto por Hesslein *et al.* (1993) e Suzuki *et al.* (2005) foi adequado para juvenis de tainha, já que a TRI calculada pelo modelo ( $\lambda$ ) integrou o efeito de adição de novos tecidos (crescimento;  $k$ ) e da renovação catabólica ( $c$ ). O crescimento foi o fator preponderante na TRI dos juvenis de tainha, corroborando com resultados semelhantes encontrados por Furuya *et al.* (2002) que estudou juvenis de bagre (*Pseudoplatystoma corruscans*) e Zuanon *et al.* (2006) com juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Os juvenis de tainha apresentaram uma meia-vida de apenas 15 e 12 dias para o  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  e uma renovação quase total ( $T_{95}$ ) de 67 e 52 para o  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , respectivamente. Essa rápida TRI é comum em peixes na fase juvenil que possuem altas taxas metabólicas devido ao seu rápido crescimento (Herzka *et al.* 2001).

O  $\Delta \delta^{15}\text{N}$  estimado para o músculo dos juvenis de tainha ( $4,3\text{‰} \pm 0,4$ ) foi superior ao valor de discriminação isotópica geral de  $3,0\text{‰}$  proposto por

Minagawa & Wada (1984), porém semelhante aos valores encontrado para outros peixes herbívoros (4,3 a 5,6‰) (Mills *et al.* 2007). Essa diferença reforça a hipótese de que animais herbívoros apresentam um  $\Delta \delta^{15}\text{N}$  maior do que os carnívoros (Caut *et al.* 2009). Já o  $\Delta \delta^{13}\text{C}$  ( $2,8 \pm 0,5$  ‰) foi cerca de quatro vezes maior que o proposto pela meta-análise de Caut *et al.* (2009) ( $0,75 \pm 0,1$  ‰), inclusive maior que os valores relatados por Prado *et al.* (2012) de 1,8 ‰ para o ouriço-do-mar herbívoro *Lytechinus variegatus*. O alto valor do  $\Delta \delta^{13}\text{C}$  observado para os juvenis de tainha poderia estar relacionado ao hábito peculiar da espécie (iliófaga e/ou detritívora (Vieira 1991). O consumo de microflora (diatomáceas) associado ao substrato poderia acarretar maior fracionamento isotópico, mas futuros estudos sobre a dieta e a fisiologia da espécie seriam necessários para avaliar essa hipótese

Além de contribuir com o conhecimento sobre a incorporação isotópica nos tecidos dos animais, os dados aqui obtidos ainda possuem uma aplicabilidade mais específica, podendo auxiliar no futuro refinamento dos modelos de mistura isotópica já empregados para avaliar a posição trófica e as vias trófica que sustentam a espécie (Claudino *et al.* 2012, Oliveira *et al.* 2014). Outra questão ainda pouco compreendida sobre a espécie é o papel ecológico desses juvenis nos diversos ambientes costeiros (e.g., estuários e riachos litorâneos). Como demonstrado por Oliveira *et al.* (2014), a tainha funciona como um vetor biológico, carreando nutrientes marinhos para a teia alimentar dos riachos litorâneos, porém a intensidade dessa transferência ainda é especulativa. Contudo, com o conhecimento dos valores da TRI e  $\Delta$

dos tecidos desses juvenis, existe a possibilidade de conhecer o tempo de residência da espécie nesses ambientes em futuros estudos por meio da AIE.

Apesar da falta de diferentes tratamentos e diferentes tecidos analisados, os resultados aqui obtidos são inéditos para as espécies nativas de peixes da América do Sul, apresentando um avanço para o uso da AIE no estudo de teias alimentares neotropicais. Isso porque os pesquisadores nessa região que estudam a ecologia trófica de peixes estuarinos e marinhos com AIE usam em seus modelos e na interpretação de seus dados (Garcia *et al.* 2007, Giarrizzo *et al.* 2011, Claudino *et al.* 2012) valores obtidos para espécies de outras regiões biogeográficas (principalmente neoártica e paleártica) (Vander Zanden & Rasmussen 2001, Post 2002, Caut *et al.* 2009, Vander Zanden *et al.* 2015). Estudos futuros são necessários tanto para o conhecimento da TRI e do  $\Delta$  de um número maior de espécies neotropicais, bem como para testar como diferentes salinidades podem alterar essas taxas, principalmente em espécies eurialinas, como a tainha, que transitam entre ambientes com diferentes salinidades durante seu ciclo de vida (Whitfield *et al.* 2012).

### **Referências Bibliográficas**

- Caut S, Angulo E and Courchamp F.2009.Variation in discrimination factors ( $\Delta^{15}\text{N}$  and  $\Delta^{13}\text{C}$ ): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology* 46(2): 443-453.
- Claudino MC, Abreu PC, Garcia AM.2013. Stable isotopes reveal temporal and between-habitat changes in trophic pathways in a southwestern Atlantic estuary. *Marine Ecology Progress Series* 489: 29-42.

- Dalerum F and Angerbjorn A. 2005. Resolving temporal variation in vertebrate diets using naturally occurring stable isotopes. *Oecologia* 144: 647–658.
- Furuya VRB, Hayashi C, Furuya WM and Sakaguti ES. 2002. Replacement rates of carbon stable isotope ( $^{13}\text{C}$ ) in muscle tissue of pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). *Zootecnia Tropical* 20: 461-472.
- Gannes LZ, O' Brien D, Martinez del Rio C. 1997. Stable isotopes in animal ecology: Assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology* 78: 1271-1276.
- Gannes LZ., Martinez del Rio C and Koch P. 1998. Natural abundance variation in stable isotopes and their uses in animal physiological ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology* 119: 725-737.
- Garcia AM, Hoeninghaus DJ, Vieira JP and Winemiller KO. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73: 399-408.
- Garcia AM, Hoeninghaus DJ, Vieira JP and Winemiller KO. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73: 399-408.
- Gaye-Siessegger J, Focken U, Muetzel S, Abel H and Becker K. 2003. Feeding level and individual metabolic rate affect  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values in carp: Implications for food web studies. *Oecologia* 138: 175-183.
- Giarrizzo T, Schwamborn R and Saint-Paul U. 2011. Utilization of carbon sources in a northern Brazilian mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 95: 447-457.

- Herzka SZ, Holt SA and Holt GJ. 2001. Documenting the settlement history of individual fish larvae using stable isotope ratios: model development and validation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 265: 49-74.
- Hesslein RH, Hallard KA and Ramlal P. 1993. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , and  $\delta^{15}\text{N}$ . *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50: 2071-2076.
- Hobson K and Clark R. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. *Condor* 94: 181-188.
- Hobson KA and Clark RW. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes. Turnover of carbon-13. *Condor, Lawrence* 94: 181-188.
- Hobson KA. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120: 314-326.
- Hussey NE, MacNeil MA, Bailey CM, Olin JA, Dudley SFJ, Cliff G, Wintner SP, Fennessy ST and Fisk AT. 2014. Rescaling the trophic structure of marine food webs. *Ecology Letters* 17: 239-250.
- Martinez del Rio C, Wolf N, Carleton SA and Gannes LZ. 2009. Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews* 84: 91-111.
- Mellbrand K, Lavery PS, Hyndes G and Hambäck PA. 2011. Linking Land and Sea: Different Pathways for Marine Subsidies. *Ecosystems* 14: 732-744.

- Menezes NA, Oliveira C and Nirchio M. 2010. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). *Zootaxa* 2519: 59-68.
- Mill AC, Pinnegar JK and Polunin NVC. 2007. Explaining isotope trophic-step fractionation: why herbivorous fish are different. *Functional Ecology* 21(6): 1137-1145.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington. 114 pp.
- Oliveira MCLM, Bastos RF, Claudino MC, Assumpção CM and Garcia AM. 2014. Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. *Aquatic Biology* 20: 91-100.
- Oliveira MCLM, Bastos RF, Claudino MC, Assumpção CM and Garcia AM. 2014. Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. *Aquatic Biology* 20: 91-100.
- Peterson BJ and Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 18: 293-320.
- Phillips DL, Inger R, Bearhop S, Jackson AL, Moore JW, Parnell AC, Semmens BX and Ward EJ. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*. 92: 823-835.
- Pinnegar J and Polunin N. 1999. Differential fractionation of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology* 13: 225-231.

- Post DM. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703–718.
- Prado P, Carmichael RH, Watts SA, Cebrian J and Heck Jr. KL. 2012. Diet-dependent  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  fractionation among sea urchin *Lytechinus variegatus* tissues: implications for food web models. *Marine Ecology Progress Series* 462: 175–190.
- Reis EG, D’Incao F. 2000. The present status of artisanal fisheries of extreme southern Brazil: an effort towards community based management. *Ocean & Coastal Management* 43: 585–595.
- Rodrigues FL, Cabral HN and Vieira JP. 2015. Assessing surf-zone fish assemblage variability in southern Brazil. *Marine and Freshwater Research*. *Marine and Freshwater Research* 66(2): 106-119.
- Sampaio LA, Ferreira AH and Tesser MB. 2001. Effect of stocking density on laboratory rearing of mullet fingerlings, *Mugil platanus* (Günther, 1880). *Acta Scientiarum, Maringá* 23( 2): 471-475.
- Seminoff JA, Bjorndal KA and Bolten AB. 2007. Stable carbon and nitrogen isotope discrimination and turnover in Pond Sliders *Trachemys scripta*: insights for trophic study of freshwater turtles. *Copeia* 3: 534-542.
- Suzuki KW, Kasai A, Nakayama K. and Tanaka M. (2005). Differential isotopic enrichment and half-life among tissues in Japanese temperate bass (*Lateolabrax japonicus*) juveniles: implications for analyzing migration. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62: 671-678.

- Tieszen LL and Boutton TW. 1988. Stable isotopes in terrestrial ecosystem research. In: RUNDEL, P. W. et al. (Ed.). Stable isotopes in ecological research. New York: Springer, 167-195.
- Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG and Slade NA. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia* 57: 32-37.
- Vander Zanden MJ and Rasmussen JB. 2001. Variation in delta N-15 and delta C-13 trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* 46: 2061–2066.
- Vander Zanden MK, Clayton MK, Moody EK, Solomon CT, Weidel BC. 2015. Weidel5Stable Isotope Turnover and Half-Life in Animal Tissues: A Literature Synthesis. *PLOS ONE*: DOI:10.1371/journal.pone.0116182.
- Vieira JP and Scalabrin C. 1991. Migração reprodutiva da ‘tainha’ (*Mugil platanus* Gunther, 1980) no sul do Brasil. *Atlântica* 13, 131-141.
- Vieira JP. 1991. Juvenile mullets (Pisces: Mugilidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, RS, Brazil. *Copeia* 2: 409-418.
- Warne RW, Gilman CA and Wolf BO. 2010. Tissue-Carbon Incorporation Rates in Lizards: Implications for Ecological Studies Using Stable Isotopes in Terrestrial Ectotherms. *Physiological and Biochemical Zoology* 83(4): 608-617.
- Whitfield AK, Panfili J and Durand JD. 2012. A global review of the cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758 (Teleostei: Mugilidae), with emphasis on the biology, genetics, ecology and fisheries

aspects of this apparent species complex. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 22: 641-681.

Wootton RJ. 1990. *Ecology of teleost fishes*. Ed. Chapman & Hall, London, 404p.

Zuanon JAS, Pezzato AC, Pezzato LE, Passos JRS, Barros MM and Ducatti C. 2006. Muscle  $\delta^{13}\text{C}$  change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects of growth and carbon turnover. *Comparative Biochemistry and Physiology* 145: 101-107.

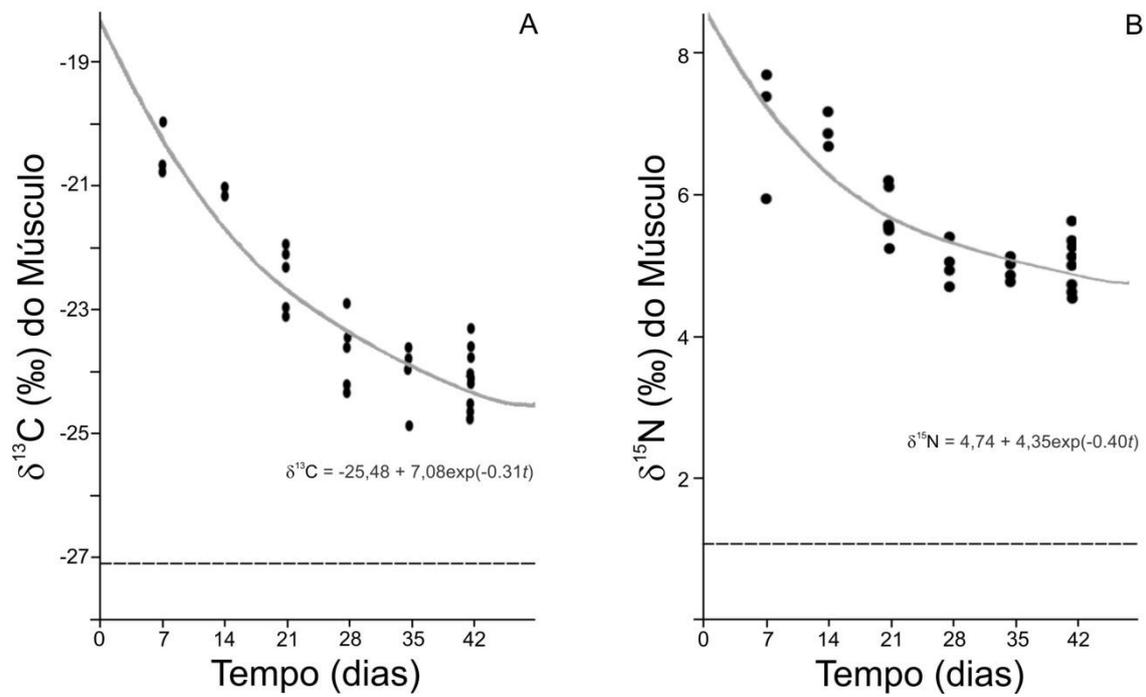
**Tabela 1.** Composição percentual dos ingredientes utilizados na confecção, composição proximal e valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  da ração experimental.

<i>Ingredientes (%)</i>	<i>Ração experimental</i>	
Farelo de soja	66,00	
Farelo de arroz	29,00	
Óleo de soja	1,00	
Óleo de peixe	2,00	
Premix*	2,00	
Total	100,00	
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-27,1±0,2	
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	1±0,2	
<i>Composição proximal</i>		
<i>(na massa seca g %)</i>		
	Farelo de soja	Farelo de arroz
Proteína Bruta	52,02	14,38
Fibra Bruta	6,02	9,66
Cinzas	6,4	8,91
Extrato Etéreo	2,25	22,15
Extrativos Não Nitrogenados	33,31	44,89
Cálcio	0,27	0,07
Fósforo	0,6	1,44

\*Premix - Vit. A (500 000 UI kg<sup>-1</sup>), Vit. D3 (250 000 UI kg<sup>-1</sup>), Vit. E (5000 mg kg<sup>-1</sup>), Vit. K3 (500 mg kg<sup>-1</sup>), Vit. B1 (1000 mg kg<sup>-1</sup>), Vit. B2 (1000 mg kg<sup>-1</sup>), Vit. B6 (1000 mg kg<sup>-1</sup>) Vit. B12 (2000 lg kg<sup>-1</sup>), Niacina (2500 mg kg<sup>-1</sup>), Pantotenato de cálcio (4000 mg kg<sup>-1</sup>), Ácido fólico (500 mg kg<sup>-1</sup>), Biotina (10 mg kg<sup>-1</sup>), vit. C (10 000 mg kg<sup>-1</sup>), Colin (100 000 mg kg<sup>-1</sup>), Inositol (1000 mg kg<sup>-1</sup>). Elementos traços: Selênio (30 mg kg<sup>-1</sup>), Ferro (5000 mg kg<sup>-1</sup>), Cobre (5000 mg kg<sup>-1</sup>), Manganês (5000 mg kg<sup>-1</sup>), Zinco (9000 mg kg<sup>-1</sup>), Cobalto (50 mg kg<sup>-1</sup>), Iodo (200 mg kg<sup>-1</sup>).

**Tabela 2.** Parâmetros estimados (95% intervalo de confiança) para o modelo exponencial baseado no tempo, ajustado para os isótopos de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , meia-vida ( $T_{50}$ ), quase total ( $T_{95}$ ) e fracionamento isotópico ( $\Delta$ ) da tainha (*Mugil liza*) alimentadas com ração experimental.

	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
$\alpha$	-25,48 (-27,01; -23,94)	4,74 (3,86; 5,63)
$\beta$	7,07 (6,03; 8,12)	4,35 (3,28; 5,43)
$\lambda$	-0,31 (-0,51; -0,11)	-0,39 (-0,71; -0,09)
$k$	0,23	0,23
$r^2$	0,86	0,74
$c$	0,08	0,17
$T_{50}$ (dias)	15,65	12,13
$T_{95}$ (dias)	67,65	52,43
$\Delta$	2,8‰ $\pm$ 0,5	4,3‰ $\pm$ 0,4



**Figura 1.** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (A) e  $\delta^{15}\text{N}$  (B) do músculo de tainhas (*Mugil liza*) durante o experimento com a ração experimental. A curva cinza e as equações representam o modelo melhor ajustado. A linha pontilhada representa o valor médio do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  da ração experimental.

## CONCLUSÕES GERAIS DA TESE

- As teias alimentares da zona de arrebentação e dos riachos litorâneos da costa sul do Brasil são conectadas pelo movimento de abundantes cardumes de juvenis da tainha, *Mugil liza*, uma espécie marinha que disponibiliza nutrientes de origem marinha para os riachos litorâneos, confirmando assim a primeira hipótese da tese, mostrando que esses juvenis desempenham um papel de vetor biológico.
- Os padrões da razão Sr.:Ca observados nos otólitos dos juvenis mostraram que apesar de entrarem nos riachos, eles conseguem sair, validando a hipótese 2 da tese, a de que esses ambientes estariam funcionando como habitats temporários durante o início da vida da tainha (*Mugil liza*). Esse uso de hábitat possivelmente esteja relacionado a uma estratégia de aumento do tamanho e sobrevivência até que estejam aptas a recrutarem em grandes estuários, completando assim seu ciclo de vida.
- A região marinha na costa sul do Rio Grande do Sul recebe subsídio energético de ambientes aquáticos continentais, sendo que a ocorrência e a magnitude da incorporação desses subsídios variam sazonalmente. Esse subsídio alóctone continental é incorporado por organismos bentônicos filtradores e peixes da zona de arrebentação marinha, validando assim a hipótese 3 da tese. O material incorporado à teia alimentar marinha tem sua origem principalmente nos riachos litorâneos espalhados ao longo da costa.

- Um aspecto fundamental em estudos de ecologia trófica que utilizam a técnica de análise de isótopos estáveis (AIE) é a validação experimental de seus pressupostos, como o fator de discriminação isotópica ( $\Delta$ ) e a taxa de renovação isotópica (TRI). Os valores de  $\Delta$  ( $\Delta \delta^{13}\text{C}=2,8\pm 0,5\text{‰}$  e  $\Delta \delta^{15}\text{N}=4,3\pm 0,4\text{‰}$ ) e TRI (meia-vida do  $\delta^{13}\text{C}=15$  dias e  $\delta^{15}\text{N}=12$  dias) obtidos para os juvenis de tainha (*Mugil liza*), uma espécie presente em diversas teias alimentares da região costeira, apresentou valores bem distintos dos valores médios gerais ( $\Delta \delta^{13}\text{C}=0,5\pm 1,2\text{‰}$  e  $\Delta \delta^{15}\text{N}=2,4\pm 0,1\text{‰}$ ) amplamente utilizados por pesquisadores, demonstrando assim a necessidade de trabalhos experimentais para a correta interpretação de modelos e dados da AIE em trabalhos de ecologia trófica.

- Como exemplo da aplicabilidade dos valores obtidos no experimento, os modelos de mistura isotópica criados para os juvenis de tainha do primeiro capítulo foram refeitos com os esses valores de  $\Delta$ . A tendência geral dos modelos continuou a mesma, porém houve uma diferença nos valores, mostrando, por exemplo, que os indivíduos da zona de arrebenção já apresentam incorporação de material de origem líminica de 0.19 a 0.5 (intervalo de credibilidade de 95%). Esses novos resultados poderiam ser utilizados para reforçar os resultados e obtidos no capítulo três, em que é demonstrado a incorporação de material de origem líminica em componentes da teia alimentar da zona de arrebenção.

**Anexo I**

**Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. Aquatic Biology**

Oliveira MCLM, Bastos RF, Claudino MC, Assumpção CM & Garcia AM.

Publicado: Aquatic Biology



# Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil

Mauro César Lamim Martins de Oliveira<sup>1,\*</sup>, Rodrigo Ferreira Bastos<sup>2</sup>,  
Marlucy Coelho Claudino<sup>1</sup>, Cindy Marques Assumpção<sup>1</sup>, Alexandre Miranda Garcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ictiologia, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brazil

<sup>2</sup>Laboratório de Ecologia Aquática, Faculdade de Biociências (FABIO), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 249, Porto Alegre, Rio Grande do Sul 90619-900, Brazil

**ABSTRACT:** In higher latitudes of the northern hemisphere, anadromous fishes can act as biological vectors, moving marine-derived nutrients into freshwater ecosystems during their reproductive migration. Much less information is available on the potential role of marine and estuarine-related fishes as biological vectors in subtropical latitudes. Here, we investigated whether mullet juveniles might transport marine nutrients into the freshwater food webs of coastal streams in southern Brazil (32°17'S, 52°15'W). To test this hypothesis, we analyzed the stable isotope ratios of carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) in 10 basal production sources and 10 consumer species, including juvenile mullets, at 3 sites (surf zone, lower stream reach, headwater reach) along a marine–freshwater gradient. Our results revealed a significant decreasing trend in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values from the sea to the freshwater sites, suggesting an importation and incorporation of marine-derived nutrients into the coastal stream. A mixing model showed a marked shift in assimilation from marine to freshwater production sources by mullet *Mugil liza* juveniles as they moved from the surf zone into the coastal stream (lower stream and headwater reaches). Our mixing model also indicated that material of marine origin is assimilated by freshwater predators, particularly those found at the lower stream reach. Further experimental and field work is needed to evaluate the implications of marine-derived carbon and nitrogen transport by juvenile mullets for the structure and dynamics of food webs in coastal streams.

**KEY WORDS:** Brazil · Food web spatial subsidies · Freshwater piscivore · *Mugil liza* · Sea–land connectivity · SIAR mixing models

## INTRODUCTION

Understanding the factors that influence the exchange of matter and energy between ecosystems is one of the central themes in landscape ecology (Risser et al. 1983, Polis et al. 2004). The magnitude and frequency of energy flows between ecosystems depend on a number of factors (Turner 1989, Dunning et al. 1992), but the dynamics of many ecosys-

tems are known to be strongly influenced by the inflow of organisms and matter (nutrients and detritus) from outside their boundaries (Carpenter et al. 1998). In this context, animals that move between ecosystems, located adjacent to each other or far apart, may play key roles in the transport of nutrients (Vanni 2002). One of the most well-known examples of how animals can carry nutrients for long distances involves the upstream reproductive migration of

\*Corresponding author: mclmdeo@yahoo.com.br

© The authors 2014. Open Access under Creative Commons by Attribution Licence. Use, distribution and reproduction are unrestricted. Authors and original publication must be credited.

anadromous fish (Naiman et al. 2002, Walters et al. 2009). As demonstrated by Kline et al. (1990), nutrients released as a result of the movement of Pacific salmon from the marine environment where they grow, to the river headwaters where they reproduce and usually die, may be responsible for up to 100% of the allochthonous production in Alaskan rivers. Anadromous fishes (e.g. alewife or Atlantic salmon) that do not die immediately after spawning also contribute substantial amounts of marine-derived nutrients (e.g. nitrogen) into freshwater ecosystems via excretion (Post & Walters 2009). Much less evidence, however, is available on the potential role of marine estuarine-dependent fish (Elliott et al. 2007) as biological vectors in subtropical latitudes. These fish enter into estuarine shallow water habitats at high abundances, most likely seeking protection against predators or feeding grounds (Garcia et al. 2012).

One technique for investigating the exchange of materials and energy between ecosystems and food webs involves the use of stable isotopes (Schindler & Lubetkin 2004). The ratios between heavier and lighter isotopes (e.g.  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$  or  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ ) of elements can be used to identify sources of organic matter for primary producers and to provide information on how matter passes through consumers in the food web (Peterson & Fry 1987). This technique has been successfully used in investigations of nutrient exchanges between ecosystems, particularly between marine, estuarine and freshwater environments (e.g. Garcia et al. 2007, Walters et al. 2009, Winemiller et al. 2011).

A remarkable ecological feature of the southernmost state of Brazil is the presence of coastal streams or washouts (locally known as 'sangradouros') that physically interconnect the marine environment with freshwater wetlands located behind the foredune ridge. These streams pass through the coastal foredunes towards the marine surf zone and serve as an important drainage system for the wetlands located behind the dune fields (Figueiredo & Calliari 2006). The number and distribution of coastal streams along the Rio Grande do Sul (RS) coastline (~600 km long) vary throughout the year, being much more common in the winter, when it is possible to observe 9 streams for each 10 km of coastline, compared to ~3 streams in 10 km during summer months (Pereira da Silva 1998). This pattern is associated with the higher precipitation and low evaporation rate (Krusche et al. 2003) that increase water levels in the wetlands during the winter. Water accumulation in these freshwater systems favors the appearance of coastal streams with ephemeral and intermittent connections with the sea (Figueiredo & Calliari 2006). Despite this variability, some coastal

streams along the RS coastline have permanent connections with the sea (Figueiredo & Calliari 2006).

Mulletts *Mugil liza* are highly prized in southern Brazil by artisanal and industrial fisheries (Reis & D'Incao 2000), and the entrance of large numbers of juvenile mullets into the estuarine regions of southern Brazil has been well documented (e.g. Ramos & Vieira 2001, Hoeinghaus et al. 2011). This species spawns offshore along the southern Brazilian coast, and their recruits (<50 mm) use net upstream circulation at the bottom of the water column of the estuary's mouth for transport into estuaries. At Patos Lagoon estuary (32°S), one of the largest estuarine regions in southern Brazil (971 km<sup>2</sup>), mullet recruits remain in the shallow waters of the estuary until reaching maturity, after which (April to May) they join the adult mullet population and start a reproductive migration towards offshore spawning grounds (Vieira 1991, Vieira & Scalabrin 1991). *Mugil liza* juveniles are common year-round both inside Patos Lagoon estuary and along the surf zone in the marine coastal adjacent area (Vieira 1991, Garcia et al. 2001).

In addition to entering major estuaries, large schools of juvenile mullets are found along the entire course of permanent coastal streams, where they constitute one of the dominant species in the fish assemblages of these systems (Bastos et al. in press). However, no information is available about the ecological importance of the large numbers of mullets entering into these coastal streams. Due to the high abundance of marine estuarine-dependent fish in these environments, we hypothesized that they promote the transport of marine-derived nutrients from the surf zone to freshwater wetland ecosystems. To evaluate this hypothesis, we investigated the stable isotope ratios of carbon and nitrogen in basal production sources and macroconsumers along one of these coastal streams, extending from the marine surf zone adjacent to its mouth towards its upstream reaches.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area

This study was conducted in the southern coastal plain of RS in southern Brazil (Fig. 1A), which primarily consists of extensive sandy beaches and dune fields. We established 3 sampling sites along a coastal stream (32° 17' S, 52° 15' W) with a permanent connection with the sea: (1) the surf zone adjacent to the stream, hereafter referred to as the surf zone; (2)

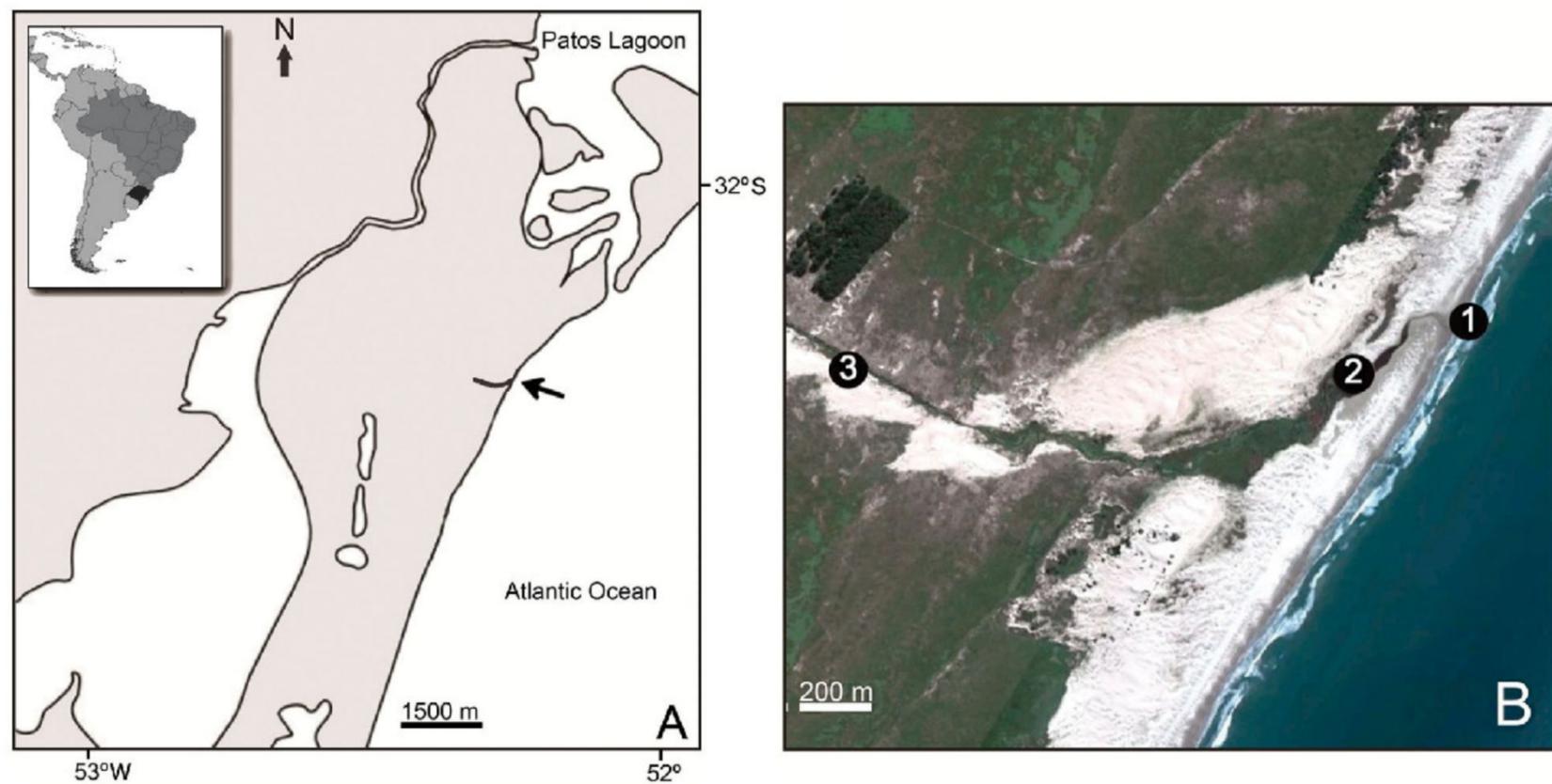


Fig. 1. (A) The coastal stream (arrow) in southern Brazil, and (B) the 3 sampling sites along the marine–freshwater gradient: (1) surf zone, (2) lower stream reach and (3) headwater reach. White areas: dunes

a location near the stream mouth where the stream creates a pool that receives the direct influence of marine spray and occasional saline water intrusion during storm surges, hereafter referred to as the lower stream reach; and (3) an upstream location near the freshwater wetlands behind the dune fields, hereafter referred to as headwater reach (Fig. 1B).

### Food web sampling

Food web components were sampled in the austral fall between 22 March and 08 April 2011. At each sampling site, we collected the most abundant and representative components of the food web. Macrophytes were collected by hand and scissors. Suspended particulate organic matter (POM) samples were obtained by filtering water from each sampling site into a pre-combusted glass-fiber filter (porosity: 1.2  $\mu\text{m}$ ). Samples of particulate organic matter in the sediment (SOM) were obtained by removing the top 2 cm surface of the sediment using a plastic core and a knife. Fish and decapod crustaceans were sampled with beach seine hauls, dip nets and gill nets. All field samples were placed in labeled Ziplock plastic bags, immediately placed on ice and then frozen upon arrival in the laboratory.

### Stable isotope sample processing

Stable isotope samples were processed following Garcia et al. (2007). Briefly, all plant and animal muscle samples were dried in an oven at 60°C for at least 48 h. Dried samples were ground to a fine powder with a mortar and pestle, stored in clean vials and sent to the Analytical Chemistry Laboratory of the Institute of Ecology, University of Georgia, for analysis of carbon and nitrogen stable isotope ratios. The results were expressed in delta notation (parts per thousand deviation from a standard material):  $\delta^{13}\text{C}$  or  $\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$ , where  $R = {}^{13}\text{C}:{}^{12}\text{C}$  or  ${}^{15}\text{N}:{}^{14}\text{N}$  ratios. Both carbon and nitrogen stable isotope ratios were analyzed for each sample, and their values were determined relative to standards of PeeDee Belemnite and atmospheric nitrogen, respectively.

### Stomach contents analyses

In order to investigate potential aquatic predators inside the studied coastal stream who might have been feeding on juvenile mullets, we analyzed the stomach content of 3 carnivorous fish inhabiting the lower and headwater stream reaches: the thraira

*Hoplias malabaricus*, the pike characin *Oligosarcus jenynsii*, and the pike cichlid *Crenicichla lepidota*. We chose these species based on studies carried out in other ecosystems where they were shown to be usually carnivorous, feeding upon insects and crustaceans (Gurgel et al. 1998, Silveira et al. 2011), and in some cases, with tendency to piscivory (Winemiller 1989, Hartz et al. 1996, Corrêa et al. 2012). These species were caught monthly from December 2010 to March 2011 at the lower and headwater reaches of the studied coastal streams using multiple fishing gears: beach seine (9 × 2.4 m long and high, mesh size: 13 mm wings, 5 mm center and bag), beam trawl (mouth of 1 × 1 m, size mesh: 5 mm) and dip net (diameter: 39 cm, mesh size: 5 mm). The monthly sampling effort was comprised of 3 beach seine hauls, 3 beam trawl hauls and dip net fishing for 30 min (Bastos et al. in press).

In laboratory, each individual was weighed ( $W$ , in g) and measured (total length, TL, in mm) and, after being surgically dissected, had their stomach contents analyzed. Food items found in the stomachs were identified to the lowest possible taxonomic level using a stereoscopic microscope. Food resources found in non-empty stomachs had their frequency of occurrence (% $F$ ) calculated as the percentage of the total number of stomachs in which a particular food item was found (Hyslop 1980).

### Data analysis

Spatial patterns in the carbon and nitrogen stable isotope ratios of basal production sources and consumers at the surf zone, lower stream reach and headwater reach sites were primarily investigated using biplots (Fry 2006). Sources of organic carbon assimilated by consumers were indicated by the relative positions of taxa on the x-axis ( $\delta^{13}\text{C}$  values), whereas trophic level was indicated by the relative position on the y-axis ( $\delta^{15}\text{N}$ ) (Fry 2006). Possible spatial differences in the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of SOM, macrophytes and fish between the lower stream reach and headwater reach sites were evaluated using the non-parametric Mann-Whitney  $U$  test. In the case of POM, the analysis was done using the non-parametric Kruskal-Wallis test (Zar 1999); For both statistical tests, we used a 5% level of significance.

To estimate the relative contributions of marine and freshwater basal production sources to the consumers occurring within the coastal stream, we employed the Bayesian stable isotope mixing model in R (SIAR, version 3.0.1) (Parnell et al. 2010, R

Development Core Team 2012). Based on the protocol proposed by Phillips et al. (2005), suggesting a *posteriori* pooling of basal production sources with similar isotopic composition as a measure to achieve higher resolution in mixing models, we considered the average value of POM collected in the surf zone as the marine basal production source and the average values of POM, SOM and macrophytes collected at each site of the coastal stream as the freshwater basal production source. We also employed the mixing model to analyze the relative contributions of basal production sources to representative fish found in the coastal stream, which were pooled into 3 groups: (1) migratory prey fish, represented by juvenile mullet *Mugil liza*; (2) non-migratory prey fish, represented by characid *Astyanax eigenmanniorum*, cichlid *Australoheros facetus* and cyprinodontiforms *Cnesterodon decemmaculatus* and *Jenynsia multidentata* species; and (3) predatory fish, represented by thraira *Hoplias malabaricus*, pike characin *Oligosarcus jenynsii* and pike cichlid *Crenicichla lepidota*, which are among the main top predators in the studied coastal stream (Bastos et al. in press). In order to correct for the trophic enrichment factors of consumers in the mixing models, we calculated their trophic position (TP) using the following equation:  $\text{TP} = \lambda + (\delta^{15}\text{N}_{\text{predator}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{producers}})/F$ , where  $\lambda$  is the trophic level in the food web,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{predator}}$  is the average  $\delta$  nitrogen value of the consumer being evaluated,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{producers}}$  is the average  $\delta$  nitrogen value of the producers and  $F$  is the per-trophic-level fractionation of nitrogen. We used the  $F$  value ( $2.54 \pm 0.11$ ) as suggested by Vanderklift & Ponsard (2003), and in this case,  $\lambda = 1$  because producers are the first trophic level.

### RESULTS

A total of 28 samples of 10 basal production sources (POM = 5, SOM = 4, macrophytes = 19) and 50 samples of 10 consumer species (crab = 1, fish = 9) were collected at 3 sampling sites (surf zone, lower stream reach and headwater reach), and their  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  were analyzed (Table 1). Stable isotope ratios could not be measured for SOM samples collected at the surf zone due to the low content of organic material in the sediment. Macrophyte  $\delta^{13}\text{C}$  values ranged from  $-19.33$  to  $-32.02\text{‰}$ , with no significant differences between samples collected at the lower stream reach and headwater reach sites ( $U = 17.0$ ,  $p = 0.63$ ). In contrast, the macrophyte  $\delta^{15}\text{N}$  values were significantly higher ( $U = 5.0$ ,  $p = 0.02$ ) at the lower stream reach

Table 1. Sample number (n), total length range (TL), mean values ( $\pm 1$  SD) of carbon and nitrogen isotope ratios and C:N ratios of consumers and basal sources collected at each sample site along the coastal stream gradient. POM: particulate organic matter; SOM: sediment organic matter

	Surf zone			Lower stream reach			Headwater reach								
	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	C:N	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	C:N	n	TL (mm)	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	C:N
<b>CONSUMERS</b>															
<b>Migratory prey fish</b>															
<i>Mugil liza</i>	3	23–36	8.6 $\pm$ 0.3	-17.7 $\pm$ 1.3	3.4	2	25–82	8.2 $\pm$ 0.9	-20.3 $\pm$ 1.8	3.3	1	122	0.1	-23	3.1
<b>Non-migratory prey fish</b>															
<i>Astyanax eigenmanniorum</i>	3	41–45	9.4 $\pm$ 0.5	-26.2 $\pm$ 0.7	3.3										
<i>Australoheros facetus</i>	1	26	7.4	-19.7	3.4										
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	3	47–68	9.8 $\pm$ 0.5	-22.3 $\pm$ 2.5	3.4										
<i>Jenynsia multidentata</i>						1	33	5.2	-27.4						
<i>Jenynsia multidentata</i>						5	21–41	6.8 $\pm$ 0.3	-22.7 $\pm$ 1.1						
<b>Predatory fish</b>															
<i>Hoplias malabaricus</i>	1	260	10.2	-23.7	3.1	9	78–128	7.7 $\pm$ 1.3	-22.7 $\pm$ 1.1						
<i>Crenicicla lepidota</i>	1	40	7.7	-26	3.4	5	52–173	5.3 $\pm$ 1.5	-23.9 $\pm$ 0.8						
<i>Characidium rachovii</i>	3	30–39	8.3 $\pm$ 0.4	-25.8 $\pm$ 0.8	3.5										
<i>Oligosarcus jenynsii</i>	4	113–176	11.1 $\pm$ 0.4	-23 $\pm$ 1.5	3.1	6	91–135	6.6 $\pm$ 1.1	-22.5 $\pm$ 1						
<b>Crabs</b>															
<i>Callinectes sapidus</i>	2	31–101	8.2 $\pm$ 0.0	-22.9	3.2										
<b>BASAL FOOD SOURCES</b>															
<b>POM</b>															
POM	2		7.3 $\pm$ 3.7	-18.4 $\pm$ 0.2	11.9	1		1.1	-25.7	13.2	2		-1.2 $\pm$ 3.1	-27.9 $\pm$ 0.5	11.5
SOM						2		5.2 $\pm$ 0.3	-23.6 $\pm$ 0.3	8.1	2		0.3 $\pm$ 2.0	-25.6 $\pm$ 2	9.3
<b>Macrophytes</b>															
<i>Schoenoplectus californicus</i>	2					2		2 $\pm$ 1.6	-26.8 $\pm$ 0.3	37.1	1		-1	-27.2	40.4
<i>Androtrichum trigynum</i>	1					1		4.2	-32	12	2		1.5 $\pm$ 0.4	-27.1 $\pm$ 0.3	45.7
<i>Myriophyllum aquaticum</i>	1					1		6.5	-27.9	9.5	2		2.2	-31.7	8.1
<i>Ceratophyllum</i> sp.	1					2					4		-6.3 $\pm$ 2.3	-31.3 $\pm$ 0.8	8.6
<i>Limnium laevigatum</i>	2					2		11 $\pm$ 0.2	-26.3 $\pm$ 0.1	15.1	2		2.2 $\pm$ 1	-26.7 $\pm$ 0.5	10.1
<i>Lemna</i> sp.											2		4.7 $\pm$ 0.3	-26.5 $\pm$ 0.0	12.2
<i>Wolffia</i> sp.											1		4.6	-19.3	9.5
<i>Azolla filiculoides</i>											1		-0.4	-27.4	8

(median = 5.31) relative to the headwater reach site (median = -0.36) (Fig. 2). POM samples showed differences in  $\delta^{13}\text{C}$  ( $H_2 = 6.1$ ,  $p = 0.01$ ) and  $\delta^{15}\text{N}$  ( $H_2 = 6.0$ ,  $p = 0.01$ ) values across the 3 sampling sites, with higher values at the surf zone ( $\delta^{13}\text{C}$ : -18.29 to -18.52‰;  $\delta^{15}\text{N}$ : 9.90 to 4.72‰), intermediate values at the lower stream reach ( $\delta^{13}\text{C}$ : -25.66‰;  $\delta^{15}\text{N}$ : 1.05‰) and lower values at headwater reach ( $\delta^{13}\text{C}$ : -28.82 to -27.62‰;  $\delta^{15}\text{N}$ : -1.09 to -7.42‰). SOM  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values ranged from -23.41 to -27.31‰ and 5.43 to 0.81‰, respectively, with no significant differences in  $\delta^{13}\text{C}$  ( $U = 0.0$ ,  $p = 0.20$ ) or  $\delta^{15}\text{N}$  ( $U = 1.0$ ,  $p = 0.40$ ) values between the headwater reach and lower stream reach sites (Fig. 2).

Although the low sample size precluded statistical test, it was possible to observe that migratory fish (*Mugil liza*), showed an apparent upstream depletion in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values. *Mugil liza* had higher values at the surf zone ( $\delta^{13}\text{C}$ : -16.19 to -8.50‰;  $\delta^{15}\text{N}$ : 8.87 to 8.30‰), intermediate values at the lower stream reach ( $\delta^{13}\text{C}$ : -18.52 to -22.01‰;  $\delta^{15}\text{N}$ : 9.07 to 7.30‰) and a lower value at the headwater reach ( $\delta^{13}\text{C}$ : -22.01‰;  $\delta^{15}\text{N}$ : 0.09‰) (Fig. 2).  $\delta^{13}\text{C}$  values of non-migratory prey fish ranged from -19.68 to -27.35‰, with no significant differences between the lower stream reach and headwater reach sites ( $U = 22.0$ ,  $p = 0.55$ ). In contrast, their  $\delta^{15}\text{N}$  values were significantly higher ( $U = 60.0$ ,  $p = 0.001$ ) at the lower stream reach (median = 8.94) relative to the headwater reach site (mean = 6.65) (Fig. 2). Similar to most basal production sources and consumers, predatory fishes showed significant differences in  $\delta^{15}\text{N}$  ( $U = 4.0$ ,  $p < 0.001$ ), with higher values at the lower stream reach ( $\delta^{15}\text{N}$ : 11.54 to 7.70‰) and lower values at the headwater reach (9.17 to 3.51‰). On the other hand, predatory fish  $\delta^{13}\text{C}$  values ranged from -20.69 to -24.79‰, with no significant differences between the lower stream reach and headwater reach ( $U = 76.0$ ,  $p = 0.35$ ). Crabs were sampled

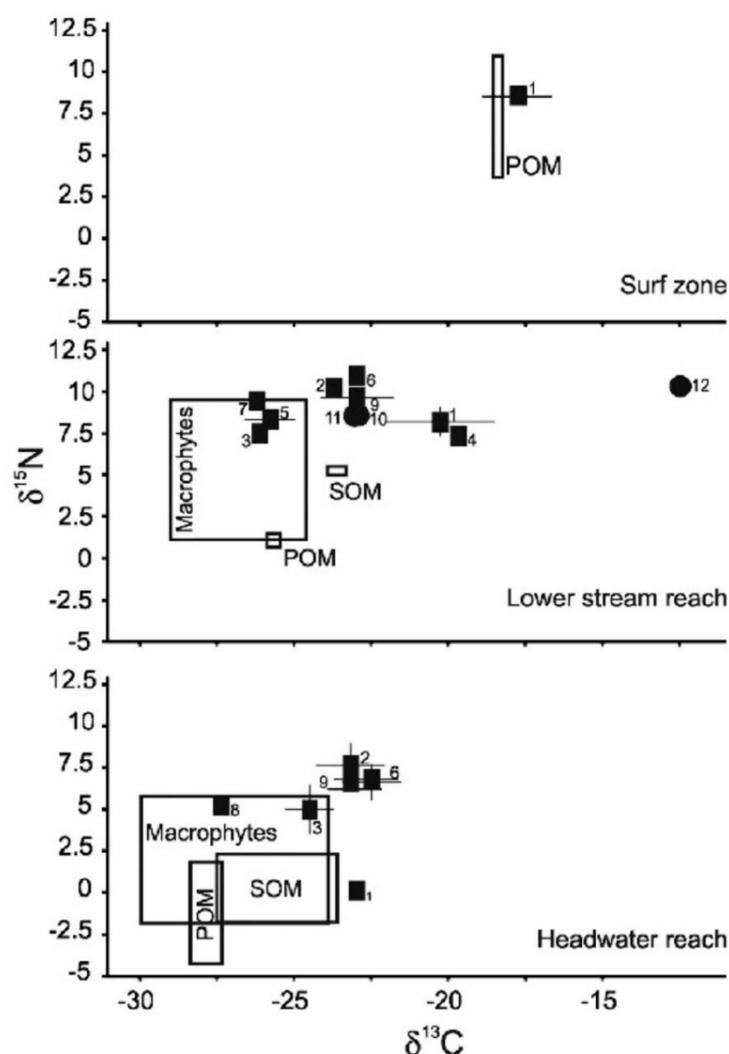


Fig. 2. Mean ( $\pm$ SD) carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) stable isotope values of consumers and basal resources at 3 locations along the coastal stream gradient (surf zone, lower stream reach and headwater reach). Basal resources (open boxes): particulate (POM) and sediment (SOM) organic matter and macrophytes. Consumer species: fish (■) and crabs (●). Species codes: 1: *Mugil liza*, 2: *Hoplias malabaricus*, 3: *Crenicichla lepidota*, 4: *Australoheros facetus*, 5: *Characidium rachovii*, 6: *Oligosarcus jenynsii*, 7: *Astyanax eigenmanniorum*, 8: *Cnesterodon decemmaculatus*, 9: *Jenynsia multidentata*, and 10, 11, 12: *Callinectes sapidus*

only at the lower stream reach site, precluding any statistical test due to the lack of spatial replication, with 2 individuals showing similar low values of  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-22.7$  and  $-23.0\text{‰}$ ) and  $\delta^{15}\text{N}$  ( $8.2$  and  $8.2\text{‰}$ ), and one individual with higher values of  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-12.5\text{‰}$ ) and  $\delta^{15}\text{N}$  ( $10.1\text{‰}$ ) (Fig. 2).

The mixing model suggested a steadily decreasing trend in the contribution of marine production sources to juvenile mullets from the sea to the coastal stream: 0.83 to 1 (95% credible interval) at the surf zone, 0.43 to 0.83 at the lower stream reach and 0 to 0.46 at the headwater reach site (Fig. 3A). The contribution of freshwater production sources to juvenile mullets showed the opposite trend, with a marked increase from the lower stream reach (0.17 to 0.57) to the headwater reach (0.54 to 1). Although to a lesser extent, marine production sources also contributed

nutrients to freshwater non-migrant prey fish at the lower stream reach (0.11 to 0.50) and headwater reach (0.38 to 0.65) (Fig. 3B). The same contribution of marine production sources was observed for the predatory fish, particularly in the lower stream reach (0.19 to 0.50) relative to the headwater reach (0.11 to 0.36) (Fig. 3C)

The stomach content analyses of 94 freshwater carnivorous fish in the coastal stream (thraira: 22, pike characin: 36 and pike cichlid: 50) revealed a diet comprised of 21 food items of both animal and plant origins. As predicted, juvenile mullets constituted a conspicuous food item in the diet of these predators at both sites inside the coastal stream, particularly in the lower stream reach ( $\%F = 31.58$ ) (Fig. 4). The average size (TL) of the juvenile mullets found within the stomach contents, which were not too digested and could be measured, was 26.4 (SD =  $\pm 11.1$ ,  $n = 18$ ) and 25.8 mm ( $\pm 3.8$ , 6) at the lower stream and headwater reaches, respectively.

## DISCUSSION

The  $\delta^{13}\text{C}$  values of the basal production sources at the 3 sampling sites showed a gradual decrease from the surf zone towards the freshwater sites in the coastal stream. These findings could be explained by differences in the isotopic composition of marine phytoplankton, which usually have average  $\delta^{13}\text{C}$  values of  $-20\text{‰}$ , in contrast to the organic matter derived from sources with lower  $\delta^{13}\text{C}$  values, such as plants that use the  $\text{C}_3$  photosynthetic pathway, which exhibit values from  $-29.38$  to  $-23.91\text{‰}$  (Deegan & Garritt 1997, Garcia et al. 2007, Marshall et al. 2007). Accordingly, the main basal production source in the surf zone is marine phytoplankton (Brown & McLachlan 1990, Odebrecht et al. 2010), which seems to explain the average  $\delta^{13}\text{C}$  value of  $-18.40\text{‰}$  we found for POM collected in this area. In contrast, all primary producers and basal production sources collected within the stream had lower average  $\delta^{13}\text{C}$  values (macrophytes:  $-27.11\text{‰}$ , POM:  $-28.45\text{‰}$ , SOM:  $-25.56\text{‰}$ ). Therefore, the differences in the availability of primary producers at the marine versus freshwater sites, associated with the contrasting isotopic composition of marine phytoplankton and freshwater macrophytes, may explain the differences we observed between the  $\delta^{13}\text{C}$  values of organisms collected in the surf zone and the coastal stream.

However, the mechanisms described above cannot explain the significant differences found in the average isotopic values of many components of the food

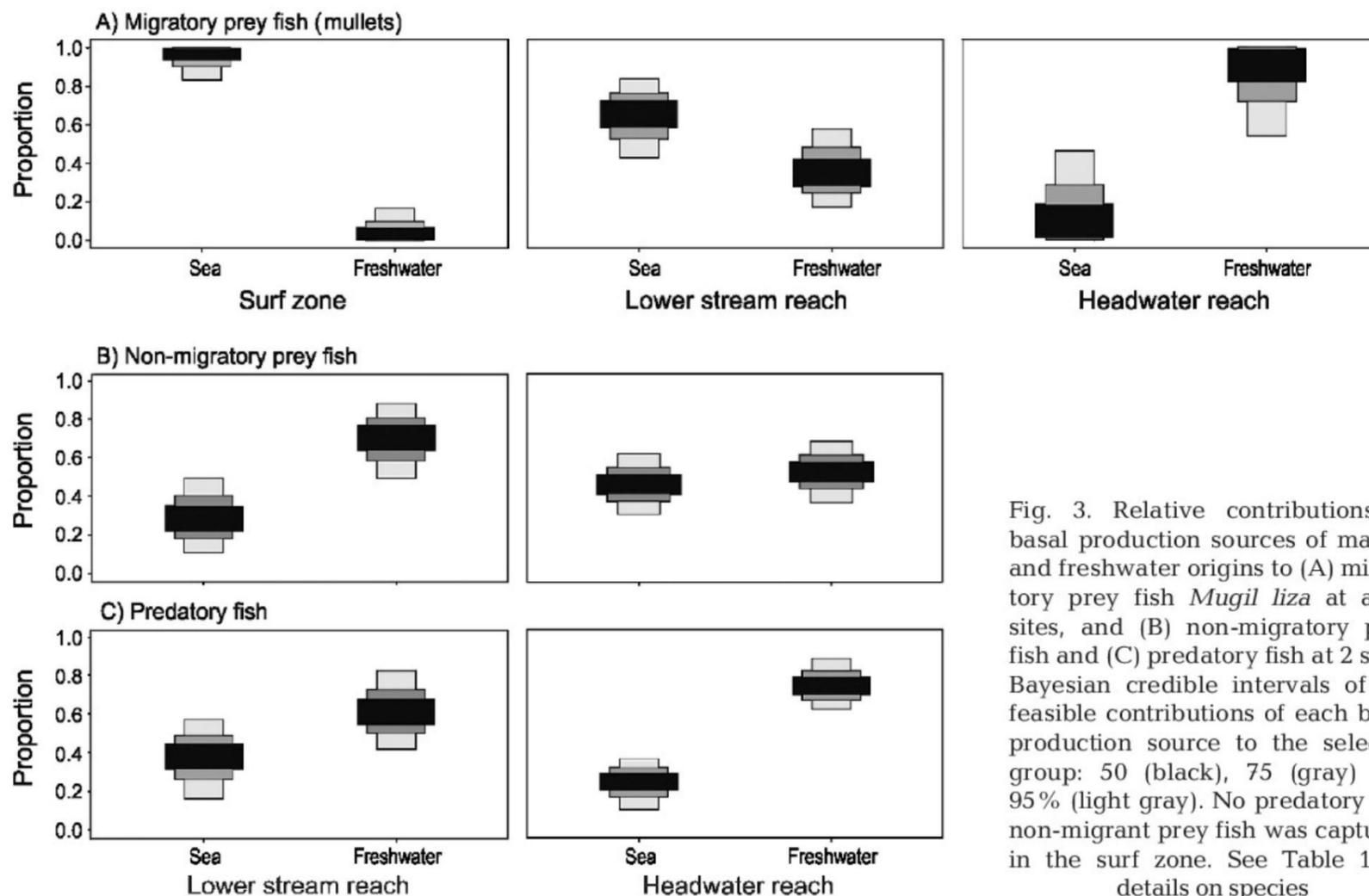


Fig. 3. Relative contributions of basal production sources of marine and freshwater origins to (A) migratory prey fish *Mugil liza* at all 3 sites, and (B) non-migratory prey fish and (C) predatory fish at 2 sites. Bayesian credible intervals of the feasible contributions of each basal production source to the selected group: 50 (black), 75 (gray) and 95% (light gray). No predatory and non-migrant prey fish was captured in the surf zone. See Table 1 for details on species

web at the 2 freshwater stream sites. The downstream and upstream sites of the studied coastal stream had similar compositions of primary producers (i.e.  $C_3$  macrophytes were dominant at both sites), and both experienced low salinity (near zero) throughout the year (Bastos et al. in press), which possibly excludes the presence of marine phytoplankton. However, they showed significant differences in

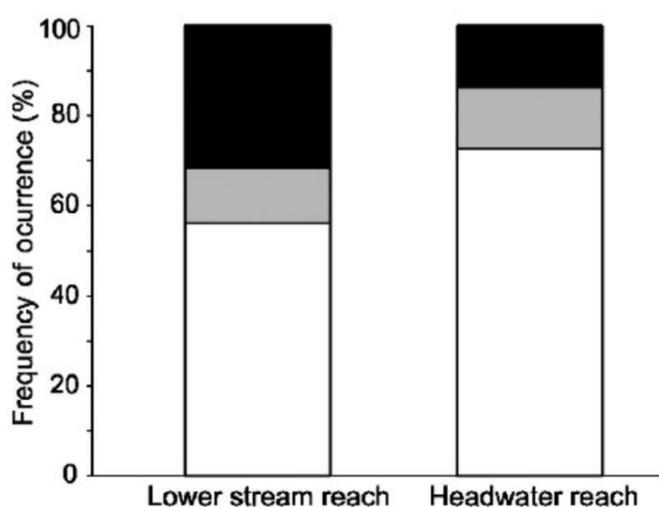


Fig. 4. Frequency of occurrence of juvenile mullets (black), insects (gray) and others (white) in the stomach contents of predatory fish

average  $\delta^{13}C$  values for most components of the food web. A possible explanation for this finding could be related to the effects of water velocity and the boundary layer phenomenon on the fractionation of the  $^{13}C:^{12}C$  ratio during their uptake by primary producers (Fry 2006). The lower stream reach is approximately two-fold larger and has lower current velocities than the headwater reach (3200 versus 1800  $m^2$ ) (Bastos et al. in press). Slower waters can create a thicker diffusive layer around the primary producers (e.g. algae and submerged macrophytes) and thereby inhibit the diffusion of  $CO_2$ , causing a greater build-up of  $^{13}CO_2$  (Michener & Lajtha 2007). This effect results in higher  $\delta^{13}C$  values in primary producers and consumers (Finlay et al. 2002). This mechanism could therefore explain the higher  $\delta^{13}C$  values found for consumers and submerged macrophytes (*Ceratophyllum* sp.) at the lower stream reach.

The studied coastal stream also revealed a downstream enrichment in  $\delta^{15}N$  values. In some cases, spatial differences in nitrogen ratios in continental systems can be attributed to anthropogenic nitrogen sources (e.g. domestic wastewater), which can lead to the  $\delta^{15}N$  enrichment of the biota (McClelland et al. 1997, McClelland & Valiela 1998, Steffy & Kilham

2004). However, we believe it is unlikely that anthropogenic loading of enriched  $\delta^{15}\text{N}$  is driving the among-sites differences in  $\delta^{15}\text{N}$  in our studied coastal stream because it is located in a relatively well-preserved and uninhabited area. In fact, this coastal stream has significantly lower values of total nitrogen ( $0.63 \text{ mg l}^{-1}$ ) compared with other coastal streams in the same coastal plain that receive domestic sewage loads from resort beaches like Hermenegildo ( $1.18 \text{ mg l}^{-1}$ ) and Cassino ( $4.06 \text{ mg l}^{-1}$ ) (R. F. Bastos unpubl. data).

A more feasible hypothesis to explain the downstream enrichment in  $\delta^{15}\text{N}$  values is that the food web of the coastal stream is incorporating marine-derived nitrogen, as marine organic matter and marine organisms often have higher  $\delta^{15}\text{N}$  values than freshwater ecosystems (Bilby et al. 1996, Hicks et al. 2005). Anadromous fish are effective transporters of nutrients from the ocean to adjacent freshwater bodies, where they may provide energy subsidies to the freshwater food web both directly (compounding the diet of piscivores) or indirectly (via excretions and carcasses) (Browder & Garman 1994, Walters et al. 2009). For instance, experimental work conducted by Post & Walters (2009) revealed that the anadromous alewife *Alosa pseudoharengus* excreted an average of  $24.71 \mu\text{g N g}^{-1}$  of wet fish mass per hour during their spring spawning. The authors concluded that migrating fish that aggregate in high densities within small streams can have substantial effects on local food webs. A similar role seems to be played by juvenile mullets, which actively move in high numbers from the surf zone into estuaries and coastal streams. Our findings suggest that juvenile mullets at the lower stream reach partially conserve their marine carbon and nitrogen stable isotope signatures, but the fish captured further upstream switched their stable isotope composition to a more freshwater profile. This shift from marine-derived to freshwater-derived material incorporated into muscle tissues of juvenile mullets strongly suggests that this species might act as a biotic vector, carrying marine-derived nutrients into freshwater areas of coastal streams.

This hypothesis is supported by the fact that these marine estuarine-dependent mullets are abundant and frequent year-round in the adjacent marine area (Rodrigues & Vieira 2012) and are the only marine-related fish species entering these coastal streams at high abundances (Bastos et al. in press). Other evidence supporting this biotic vector hypothesis was the result of our mixing model showing a steadily decreasing trend in the contribution of marine production sources to juvenile mullets from the sea to

the coastal stream, and the opposite trend in the contribution of freshwater production sources, which had a marked increase from the lower stream reach to the headwater reach. These trends strongly suggest that marine-born juvenile mullets enter and stay inside the coastal stream for a sufficiently long time to reflect a new diet based on freshwater production sources. This suggests that juvenile mullets had enough time to feed and grow inside the coastal stream in order to effectively transfer the marine-derived material in their tissues into the freshwater food web of the coastal stream, either by direct predation or indirectly by carcass deposition or excretion. This hypothesis seems to be corroborated by 2 factors—the isotope turnover time in fish muscle tissues needed in order to reflect a new diet varies from a few weeks to several months (Hesslein et al. 1993, Herzka & Holt 2000), and juvenile mullets are significantly larger (average TL: 33.3 mm) inside these coastal streams than in the adjacent surf zone (28.7 mm) (Bastos et al. in press).

The stomach contents analyses demonstrated the direct predation on juvenile mullets with average size of 26.3 mm by large body-size (TL > 150 mm) freshwater predatory fish like thraira, pike characin and pike cichlid, especially in the stream site closest to the sea. This finding seems to corroborate the mixing model results showing higher contribution of marine production sources to the predatory fish in the lower stream reach. The mixing model also showed that marine-derived material was also incorporated into muscle tissues of small body-size (TL < 50 mm) non-migratory freshwater fish like characins, cichlids and cyprinodontiforms. Considering these small prey fish are not big enough to feed upon juvenile mullets like the larger freshwater predatory fish, we hypothesized these non-migratory freshwater fish assimilated marine sources through an indirect transport of marine-derived nutrients via carcass deposition or excretion by juvenile mullets that entered the coastal stream. Therefore, marine-derived nutrients transported by juvenile mullets could be incorporated both into intermediate (small prey fish) and high trophic levels (large predatory fish) of the freshwater food web of the coastal stream.

Alternatively, it could be argued that such transport of marine-derived nutrients into the coastal stream could result not from animal movements, but rather from salinity intrusions into the coastal stream during storm surge events, which could carry marine nutrients and phytoplankton into this system. Previous work in a large nearby estuary (Patos Lagoon) has shown, for instance, that salinity intrusions can

carry nutrient-rich waters that influence estuarine phytoplankton (Abreu et al. 1995). However, we believe this mechanism plays a minor role in small coastal streams, because saltwater inflow into these streams during storm surge events produces ephemeral salinity gradients. For instance, Bastos et al. (in press) conducted monthly samplings for 1 yr at lower stream reach and headwater reach sites of 3 coastal streams (including the stream studied herein) but did not find salinity levels higher than 2. Moreover, an investigation of one storm surge event at the coastal stream studied here revealed that the salinity gradient formed due to the salinity intrusion disappeared soon after the event, and the stream rapidly reverted to freshwater conditions (M. C. L. M. Oliveira unpubl. data).

In summary, despite the lower number of samples and lack of spatial replication of some food web components, our study reveals that the marine surf zone and coastal streams are not independent ecosystems along the coastline of southern Brazil. Food webs of these habitats are connected through the movement of abundant marine-born juvenile mullets, which enter these coastal streams from the adjacent surf zone. Our study provides evidence that juvenile mullets may transport marine-derived nutrients that incorporate into intermediate and high trophic levels of the freshwater food web. Further studies are needed to (1) produce a more detailed description of the freshwater food webs of coastal streams, including analyses of stomach contents and stable isotope ratios of major components; (2) investigate movement patterns and residence time of mullets along this marine–freshwater gradient using, for instance, otolith microchemical analysis and/or mark-recapture techniques; (3) investigate additional coastal streams, including some with ephemeral and intermittent connections to the sea (Figueiredo & Calliari 2006); (4) to evaluate experimentally how excretions and carcasses of mullets affect the POM (e.g. in the sediment) within the coastal stream; and (5) experimental studies including stable isotopic field surveys in several coastal streams where the passage of marine juvenile mullets would be allowed in some streams and blocked in others, coupled with a concomitant monitoring of limnological parameters (e.g. water quality and nutrient profiles).

*Acknowledgements.* We are thankful to Dr. K. O. Winemiller, Dr. A. M. Tozetti, Dr. L. Bugoni, Dr. J. P. Vieira and Dr. P. C. Abreu for their comments on the manuscript. M.C.L.M.O. thanks a fellowship provided by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## LITERATURE CITED

- Abreu PCOV, Hartmann C, Odebrecht C (1995) Nutrient-rich saltwater and its influence on the phytoplankton of the Patos Lagoon estuary, southern Brazil. *Estuar Coast Shelf Sci* 40:219–229
- Bastos RF, Calliari LJ, Garcia A M (in press) Marine intrusion and freshwater discharge as opposite forces driving fish guilds distribution along coastal plain streams. *Hydrobiologia*, doi:10.1007/s10750-013-1771-7
- Bilby RE, Fransen BR, Bisson PA (1996) Incorporation of nitrogen and carbon from spawning salmon into the trophic system of small streams: evidence from stable isotopes. *Can J Fish Aquat Sci* 53:164–173
- Browder RG, Garman GC (1994) Increased ammonium concentrations in a tidal freshwater stream during residence of migratory clupeid fishes. *Trans Am Fish Soc* 123: 993–996
- Brown AC, McLachlan A (1990) *Ecology of sandy shores*. Elsevier, Amsterdam
- Carpenter SR, Cole JJ, Kitchell JF, Pace ML (1998) Impact of dissolved organic carbon, phosphorus, and grazing on phytoplankton biomass and production in experimental lakes. *Limnol Oceanogr* 43:73–80
- Corrêa F, Claudino MC, Bastos RF, Huckembeck S, Garcia AM (2012) Feeding ecology and prey preferences of a piscivorous fish in the Lagoa do Peixe National Park, a biosphere reserve in southern Brazil. *Environ Biol Fish* 93:1–12
- Deegan LA, Garritt RH (1997) Evidence for spatial variability in estuarine food webs. *Mar Ecol Prog Ser* 147:31–47
- Dunning JB, Danielson BJ, Pulliam HR (1992) Ecological processes that affect populations in complex landscapes. *Oikos* 65:169–175
- Elliott M, Whitfield AK, Potter IC, Blaber SJM, Cyrus DP, Nordlie FG, Harrison TD (2007) The guild approach to categorizing estuarine fish assemblages: a global review. *Fish Fish* 8:241–268
- Figueiredo SA, Calliari LJ (2006) Washouts in the central and northern littoral of Rio Grande do Sul state, Brazil: distribution and implications. *J Coast Res* SI39:366–370
- Finlay JC, Khandwala S, Power ME (2002) Spatial scales of carbon flow in a river food web. *Ecology* 83:1845–1859
- Fry B (2006) *Stable isotope ecology*. Springer, New York, NY
- Garcia AM, Vieira JP, Winemiller KO (2001) Dynamics of the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil) during cold and warm ENSO episodes. *J Fish Biol* 59:1218–1238
- Garcia AM, Hoenighaus DJ, Vieira JP, Winemiller KO (2007) Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuar Coast Shelf Sci* 73:399–408
- Garcia AM, Vieira JP, Winemiller KO, Moraes LE, Paes ET (2012) Factoring scales of spatial and temporal variation in fish abundance in a subtropical estuary. *Mar Ecol Prog Ser* 461:121–135
- Gurgel HCB, de Almeida RG, Barbieri G, Vieira JLS (1998) Dieta de *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Perciformes, Cichlidae) da lagoa Redonda, Nísia Floresta/RN. *Acta Sci Biol Sci* 20:191–194
- Hartz SM, Martins A, Barbieri G (1996) Dinâmica da alimentação e dieta de *Oligosarcus jenynsii* (Gunther, 1864) na Lagoa Caconde, Rio Grande do Sul, Brasil (Teleostei, Characidae). *Bol Inst Pesca* 23:21–29
- Herzka SZ, Holt GJ (2000) Changes in isotopic composition

- of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies. *Can J Fish Aquat Sci* 57:137–147
- Hesslein RH, Hallard KA, Ramlal P (1993) Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , and  $\delta^{15}\text{N}$ . *Can J Fish Aquat Sci* 50:2071–2076
  - Hicks BJ, Wipfli MS, Lang DW, Lang ME (2005) Marine-derived nitrogen and carbon in freshwater riparian food webs of the Copper River Delta, southcentral Alaska. *Oecologia* 144:558–569
  - Hoenighaus DJ, Garcia AM, Vieira JP, Costa CS, Bemvenuti CE, Winemiller KO (2011) Estuary hydrogeomorphic characteristics affect carbon sources supporting aquatic consumers within and among ecological guilds. *Hydrobiologia* 673:79–92
  - Hyslop EJ (1980) Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *J Fish Biol* 17:411–429
  - Kline TC Jr, Goering JJ Jr, Mathisen OA, Poe PH, Parker PL (1990) Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific salmon:  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  evidence in Sashin Creek, southeastern Alaska. *Can J Fish Aquat Sci* 47:136–144
- Krusche N, Saraiva JMB, Reboita MS (2003) Normais climatológicas provisórias de 1991 a 2000 para Rio Grande, RS. Imprensa Universitária Rio Grande, Rio Grande do Sul
- Marshall JD, Brooks JR, Lajtha K (2007) Sources of variation in the stable isotopic composition of plants In: Mitchener R, Lajtha K (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific, Oxford, p 22–60
- McClelland JW, Valiela I (1998) Changes in food web structure under the influence of increased anthropogenic nitrogen inputs to estuaries. *Mar Ecol Prog Ser* 168:259–271
  - McClelland JW, Valiela I, Michener RH (1997) Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: a record of increasing urbanization in coastal watersheds. *Limnol Oceanogr* 42:930–937
- Michener R, Lajtha K (2007) *Stable isotopes in ecology and environmental science*, 2nd edn. Ecological methods and concepts series. Wiley/Blackwell, Malden, MA
- Naiman RJ, Bilby RE, Schindler DE, Helfield JM (2002) Pacific salmon, nutrients, and the dynamics of freshwater and riparian ecosystems. *Ecosystems* 5:399–417
  - Odebrecht C, Bergesch M, Rubi RL, Abreu PC (2010) Phytoplankton interannual variability at Cassino Beach, southern Brazil (1992–2007), with emphasis on the surf zone diatom *Asterionellopsis glacialis*. *Estuaries Coasts* 33:570–583
  - Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010) Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS ONE* 5:e9672
- Pereira da Silva R (1998) Ocorrência, distribuição e características morfodinâmicas dos sangradouros na zona costeira do Rio Grande do Sul: trecho Rio Grande, Chuí, RS. MSc thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Syst* 18:293–320
  - Phillips DL, Newsome SD, Gregg JW (2005) Combining sources in stable isotope mixing models: alternative methods. *Oecologia* 144:520–527
- Polis GA, Power ME, Huxel GR (2004) *Food webs at the landscape level*. University of Chicago Press, Chicago, IL
- Post DM, Walters AW (2009) Nutrient excretion rates of anadromous alewives during their spawning migration. *Trans Am Fish Soc* 138:264–268
- R Development Core Team (2012) *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna
- Ramos L, Vieira JP (2001) Composição específica e abundância de peixes de zonas rasas dos cinco estuários do Rio Grande do Sul, Brasil. *Bol Inst Pesca* 27:109–121
- Reis EG, D'Incao F (2000) The present status of artisanal fisheries of extreme southern Brazil: an effort towards community based management. *Ocean Coast Manage* 43:585–595
- Risser PG, Karr JR, Forman RTT (1983) *Landscape ecology: directions and approaches*. Illinois Natural History Survey, Spec Publ 2, Champaign, IL
- Rodrigues FL, Vieira JP (2012) Surf zone fish abundance and diversity at two sandy beaches separated by long rocky jetties. *Annu Rep Mar Biol Assoc UK* 93:1–9
- Schindler DE, Lubetkin 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, p 25–42
- Silveira MR, Bemvenuti MA, Moresco A (2011) Hábito alimentar de *Oligosarcus robustus* Menezes, 1969 e de *Oligosarcus jenynsii* (Günther, 1864), no sul do estado do Rio Grande do Sul. *Atlantica* 33:73–86
  - Steffy LY, Kilham S (2004) Elevated  $\delta^{15}\text{N}$  in stream biota in areas with septic tank systems in an urban watershed. *Ecol Appl* 14:637–641
  - Turner MG (1989) Landscape ecology: the effect of pattern on processes. *Annu Rev Ecol Syst* 20:171–197
  - Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet  $\delta^{15}\text{N}$  enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136:169–182
  - Vanni MJ (2002) Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. *Annu Rev Ecol Syst* 33:341–370
  - Vieira JP (1991) Juvenile mullets (Pisces: Mugilidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, RS, Brazil. *Copeia* 2:409–418
- Vieira JP, Scalabrin C (1991) Migração reprodutiva da 'tainha' (*Mugil platanus* Gunther, 1980) no sul do Brasil. *Atlantica* 13:131–141
- Walters AW, Barnes RT, Post DM (2009) Anadromous alewife (*Alosa pseudoharengus*) contribute marine-derived nutrients to coastal stream food webs. *Can J Fish Aquat Sci* 66:439–448
  - Winemiller KO (1989) Ontogenetic diet shifts and resource partitioning among piscivorous fishes in the Venezuelan llanos. *Environ Biol Fishes* 26:177–199
  - Winemiller KO, Hoenighaus JD, Pease AA, Esselman PC and others (2011) Stable isotope analysis reveals food web structure and watershed impacts along the fluvial gradient of a Mesoamerican coastal river. *River Res Appl* 27:791–803
- Zar JH (1999) *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ

**Anexo II****Avaliando o papel ecológico dos riachos litorâneos os juvenis de tainha:  
sumidouros ou habitats temporários?**

Oliveira MCLM, Condini MV, Albuquerque CQ, Vieira JP, Castello JP, Garbin T,  
Bastos RF & Garcia AM.

Submetido: Journal of Fish Biology

Running headline: Coastal streams ecological role for mullets

Title: Evaluating the ecological role of coastal streams for juvenile mullets: dead ends or temporary habitats?

Autores: M. C. L. M. Oliveira<sup>1</sup>, M. V. Condini<sup>1</sup>, C. Q. Albuquerque<sup>2</sup>, J. P. Vieira<sup>1</sup>, J. P. Castello<sup>3</sup>, T. Garbin<sup>3</sup>, R. F. Bastos<sup>4</sup>, A. M. Garcia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Ictiologia, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brazil.

<sup>2</sup>Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte 59078-970, Brazil.

<sup>3</sup> Laboratório de Recursos Pesqueiros Pelágicos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, Rio Grande, Rio Grande do Sul 96203-900, Brazil.

<sup>4</sup>Laboratório de Ecologia Aquática, Faculdade de Biociências (FABIO), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 249, Porto Alegre, Rio Grande do Sul 90619-900, Brazil

Author to whom correspondence should be addressed. Tel.: +55 53 3233 6539;  
email: mclmdeo@yahoo.com.br

### **Abstract**

Here, we investigated if coastal streams are temporary habitats for juvenile mullets before their recruitment into estuaries. Distinct otolith Sr:Ca ratio profiles were observed for juvenile mullets sampled in both sampled habitats (coastal streams and marine surf zone). Most fish caught in the marine surf-zone (83%) showed an approximately flat pattern of Sr:Ca ( $\approx 0.4$ ) along the otolith cross-section. However, some individuals (17%) sampled in the surf-zone had Sr:Ca profiles decreasing towards the otolith edge. These findings revealed that fish that moved into freshwater streams were able to get out of these habitats, which corroborated our hypothesis that coastal streams may be considered temporary habitats for *M. liza* during its early life, until their later recruitment in estuaries.

**Key Words:** Mugilidae, fish recruitment, otolith chemistry, otolith daily rings, surf-zone

## Introduction

The highly euryhaline mullets (Mugilidae) constitute the dominant species in estuarine fish assemblages from tropic to temperate zones (Blaber 2000). Mulletts generally spawn offshore, drift with currents as larvae, and enter estuaries as juveniles to feed, find shelter and growth until reach sexual maturity and return to sea to spawn (De-Silva 1980). As mullets appear to require estuarine habitats to complete their life cycle, they are considered an estuarine-dependent fish family (Lenanton & Potter 1987).

The mullet *Mugil liza* Valenciennes, 1836 is a pelagic fish found in the western Atlantic Ocean from Argentina to Venezuela (Menezes *et al.* 2010, Whitfield *et al.* 2012). Like other Mugilids, this species spawns offshore along the southern Brazilian coast and their larvae use currents to enter estuaries (Vieira 1991). Patos Lagoon (Fig. 1) is one of the most important nursery grounds for this species in the Southwestern Atlantic coast (Vieira 1991, Vieira & Scalabrin 1991), and juveniles are usually found year-round along adjacent coastal areas and inside its estuarine area (Vieira 1991; Garcia *et al.* 2001). More recently, it has been observed juvenile mullets year-round along the entire course of coastal streams, where they constitute one of the dominant species (Bastos *et al.* 2013; Bastos *et al.* 2014).

The lack of studies across all habitats inhabited by its juveniles is a major source of error when trying to understand a species' life cycle (Gillanders *et al.* 2003). Such incomplete or erroneous understanding of the life cycle hampers fisheries management and leads to reduction in population densities and hinders conservation plans (Hunting & Reynolds 2004). This could be the case

for the mullet *M. Liza*, which is a highly prized resource for artisanal and industrial fisheries in southern Brazil (Reis & D’Incao 2000; Mai *et al.* 2014; Lemos *et al.*; 2014). In the last ten years, it has been observed a marked increase in the exploitation of this species due to commercialization of their caviar (ICMBIO/Ibama/Cepsul, 2007; Lemos *et al.* 2014). Such increase in fishing pressure combined with lack of information on population’s structure and dynamic led to its classification as overexploited in 2004 by the Brazilian Environmental Agency (MMA 2004). This critical scenario reinforce the need to understand the ecological role of all habitats used by their juveniles along their life cycle, including those so far neglected, as coastal streams.

The occurrence of coastal streams is a remarkable ecological feature along the southern Brazilian coastline. Locally known as *sangradouros*, these streams physically interconnect the marine environment with freshwater wetlands located behind the dune fields (Figueiredo & Calliari 2006; Oliveira *et al.* 2014). Their number and distribution along this coastal plain vary throughout the year, being much more common in winter than in summer. Despite seasonal variability, many coastal streams remain year-round with a permanent connection with the sea (Figueiredo & Calliari 2006). Prior work already showed that coastal streams allow marine-spawning fish as mullets to move from marine surf-zone into freshwater habitats (Bastos *et al.* 2014), where they are preyed upon by piscivore fish (Oliveira *et al.* 2014). However, the role of coastal streams in the life cycle of mullets is not yet understood.

Life history strategies and habitat use patterns in fish may be inferred with a variety of analytical tools, such as spatiotemporal analysis of abundance

(Garcia *et al.* 2003; Garcia *et al.* 2012), mark-recapture, telemetry and hydroacoustic techniques (Morton *et al.* 1993; Courtney *et al.* 2000; Sibert & Nielson 2001) analyzes. Inferences obtained with these tools can be strengthened by examining the entire fish migratory life history recorded in their otoliths (Campana 2001, Campana & Neilson 1985). These structures are distinct from other calcified structures because they are continually accreted, grow proportionately to somatic length, and become chemically inert on formation (Degens *et al.* 1969; Pannella 1971; Campanha 1999). A coordinated examination of both chronological structures (checks and annuli) and elemental components (strontium to calcium ratios) in otoliths allow reconstruction of migratory history of an individual fish along a salinity gradient (Campana 1999). In this study, we combined fish age determination (daily rings), size-specific abundance, otolith microstructure and otolith chemistry analyses to evaluate the hypothesis that coastal streams play an ecological role as temporary habitats for juvenile mullets of *M. liza*.

## **Materials and methods**

### **STUDY AREA**

This study was conducted in the southern coastal plain of Brazil (Fig. 1a), which predominantly consists of extensive sandy beaches and dune fields. Field samplings were conducted at three coastal streams, hereafter named CS1 (32°17'S 52°15'W), CS2 (32°21'S 52°18'W) and CS3 (32°23'S 52°19'W) and also at the adjacent surf zones (Fig. 1b). These streams were selected because

they are permanently connected to the sea and they have a well-known fish assemblage (Bastos *et al.* 2014)

#### SIZE-SPECIFIC ABUNDANCE

Juvenile mullets were collected monthly from April 2010 to March 2011 inside the streams (CS1, CS2 and CS3) and at the adjacent surf zone. At each sampling site, three beach seine hauls (6 m long; with a 13 mm stretched mesh in the wings and a 5 mm stretched mesh in the center 3 m section) were performed. Each haul covered an area of approximately 40 m<sup>2</sup>. Differences in average total length (mm) of individuals captured inside coastal streams and in the surf-zone were evaluated by one-way Kruskal-Wallis test for two separately size classes groups: individuals lower than and greater than 25 mm (Zar 2010). This size class was chose based on prior work on size distribution of mullets recruits (Vieira 1991) and in our current data (see results).

#### MICROSTRUCTURAL AGEING

##### *Daily rings investigation*

In order to investigate the deposition rate of growth increments in otoliths, we conducted a small experiment in laboratory. Juvenile mullets (n = 20) were collected in the surf-zone and maintained in a 250 L tank with a recirculating water system under controlled photoperiod (12L:12D), temperature (28°C) and salinity (5‰) for acclimatization during one week. After this period, juveniles (30 individuals) were randomly transferred to four 30 L aquariums (2 treatments and 2 controls). A solution of alizarin (Synth, C.I. 58000, 5ppm; [www.lojasynth.com](http://www.lojasynth.com))

was added to the water of the treatments aquariums where juvenile mullets were kept there for 24 hours. Fish were fed *ad libitum* with a common commercial ration.

After 15 days of exposure to alizarin, 12 juvenile mullets from the treatment aquariums were sacrificed with a lethal dose of benzocaine (ethyl 4-aminobenzoate). Fish were then measured (Total Length - TL, mm) and had their left otolith *sagittae* removed, cleaned and prepared for ageing analysis as described below. Individuals who died ( $n = 8$ ) before the end of the experiments were not used. To examine the increment periodicity, the numbers of growth increments from the alizarin marks to the edge of the otoliths were counted.

#### *Age structure*

Juvenile mullets were sampled between 2011 and 2013 inside and outside the coastal streams and their otoliths were extracted and stored dry. Otoliths were embedded in polyester resin, and thin sections (0,5 mm) were cut through the nucleus using a low-speed diamond blade saw. Otoliths sections were mounted onto glass slides using fast drying glue and were manually polished following a series of silicon-carbide sanding wet papers (N<sup>o</sup> 2000 to 12000) and alumina (0,5  $\mu$ ). Otoliths sections were evaluated by two experienced persons using a stereomicroscope under transmitted light. Precision of the age readings was evaluated through the analysis of average percent error (APE), following Campana (2001).

## OTOLITH CHEMISTRY

Otoliths of 24 juveniles (12 from CS1 and 12 from the adjacent coastal area) collected from March to November 2012 and stored frozen were prepared for chemical analysis. Otoliths were then prepared following the same procedure described previously for age structure analysis, except for the use of alumina powder, and were stored dry. Prior to analysis by the laser ablation inductively coupled plasma spectrometry (LA-ICPMS), otolith surfaces were polished with silicon carbide paper (n<sup>o</sup> 8000), washed and sonicated for 3 min with ultrapure water (Milli-Q, Millipore, Bedford, USA), and then rinsed three times with ultrapure water. The slides were then dried in a laminar flow cabinet before analysis.

Otolith transects (n = 1) were ablated from edge to edge, passing through the core. Analytical measurements were performed with a Q-switched pulsed 266 nm Nd:YAG laser (LSX 100, CETAC Technologies Inc., Omaha, NE, USA) coupled to an Nexlon 350X inductively coupled plasma mass spectrometer (PerkinElmer–SCIEX, Waltham, MA, USA). The laser was operated at a pulse frequency of 20 Hz, a scan speed ranging from 15 to 20  $\mu\text{m/s}$ , and an energy output of 0.4–0.6 mJ per pulse. The ablated material was conducted through a Teflon coated tube into the ICP-MS using Argon as a carrier gas (0.85  $\text{dm}^3 \text{min}^{-1}$ ). The ICP was operated at 1200 W RF power, with an outer and intermediate gas flow of 15 and 1.1  $\text{dm}^3 \text{min}^{-1}$ , respectively. Elements were determined measuring the following isotopes (m/z):  $^{43}\text{Ca}$  and  $^{86}\text{Sr}$ . After every tenth otolith ablation, the background intensity was measured for fifty seconds. Strontium and calcium counts per second (cps) were subtracted from the background level, and Sr:Ca ratios were then calculated for all otoliths.

### *Data analysis*

Given that otolith Sr:Ca ratios increase with salinity along the sampling area (Albuquerque *et al.* 2010; Albuquerque *et al.* 2012), lifetime Sr:Ca transects in otoliths were used to distinguish periods when the fish was in freshwater or marine water, and then allowed to describe patterns of habitat use (Fig. 2). To evaluate the significance of Sr:Ca differences between otolith core and edge, 10 Sr:Ca values were randomly sampled from otolith core and 10 from the edge. These two sets of Sr:Ca values were compared using the non-parametric Mann-Whitney *U* test (Zar 2010). We also evaluate the influenced of fish size in the otolith composition using the Spearman correlation (Zar 2010).

### **Results**

During the monthly sampling from April 2010 to March 2011, a total of 15,136 juvenile mullets were collected from all three coastal streams (CS1, CS2 e CS3) and their adjacent surf zone. Size distributions were unimodal (mode = 25 mm Total Length -TL) in both systems, but with larger size amplitude inside the streams (15 to 133 mm) than at the surf-zone (15 to 81mm). Smallest individuals (< 25 mm TL) were more abundant in the surf-zones than inside coastal streams (KW-H (1;214) = 13.9748;  $p < 0.00$ ). In contrast, larger juveniles ( $\geq 25$  TL, mm) were more abundant inside coastal streams than at the surf-zone (KW-H(1;214) = 11.6007;  $p < 0.00$ ).

The growth increments were clearly visible from the alizarin mark to the otolith edge for 6 individuals, which yield a mean (mean  $\pm$  s.d.) reading of  $12.2 \pm$

1.7 rings (Fig. 3). It indicates that growth increments were deposited approximately daily.

Age structure was evaluated from 62 individuals subsampled from streams and adjacent coastal region. Daily increments in otoliths of these individuals were reasonably discernible, resulting in a good level of precision during the process of otolith ageing (APE = 5.8%,  $n = 62$ ). No significant difference between habitats ( $U = 289$ ,  $p > 0.16$ ) between the mean number of daily growth increments in juvenile mullets caught at the surf-zone ( $114.5 \pm 24.4$ ) and inside the coastal stream ( $101.8 \pm 22.8$ ) was observed.

Distinct otolith Sr:Ca ratio profiles were observed for juvenile mullets sampled in both habitats (Fig. 4 and Fig. 5). Ten out of twelve individuals (83%) sampled at the surf-zone showed Sr:Ca profiles with an approximately linear pattern and consistently high Sr:Ca values (about 0.4 or higher) across the whole otolith section (Fig. 4, *a* to *k* graphs). In contrast, 17% of individuals caught at surf-zone showed a shift to lower Sr:Ca values (around 0.2 or below) toward the otolith edges (Fig. 4, *l* and *m* graphs).

No significant correlations were detected between the Sr:Ca ratio and fish sizes in the otolith edges (representative of recent deposition) of individuals sampled at coastal streams and surf zones ( $r = 0.1228$ ,  $p > 0.05$  and  $r = 0.5003$ ,  $p > 0.05$  respectively). Otolith-edge Sr:Ca ratios from fish living in the surf-zones ( $0.371 \pm 0.126$ ) were significantly higher than those from the streams ( $0.165 \pm 0.095$ ;  $U = 14104$ ,  $p = < 0.001$ ). The observed difference allowed distinguishing between individuals who experienced marine or freshwater conditions during their lifespan.

Juvenile mullets caught inside the coastal streams also showed the inverse pattern of Sr:Ca ratios (Fig. 5). Most individuals (nine out of twelve) showed high Sr:Ca ratios in the otolith nucleus and then displayed a shift to lower Sr:Ca ratios (below 0.2) (Fig. 5, *a* to *j* graphs). The last three individuals showed consistently high Sr:Ca ratios (around 0.4 or above) along the whole otolith surface suggesting these individuals recently moved from surf-zones to freshwater (Fig. 5, *k* to *m* graphs).

## Discussion

Due to the wide range of habitats they use during their life cycle, anadromous fish can be important biological vectors linking marine and freshwater ecosystems (Post & Walters 2009). Much less information is available on the potential similar role play by marine estuarine-dependent fish as vectors connecting marine and continental aquatic systems. Mulletts are among the most abundant marine estuarine-dependent fish using estuaries along the Southwestern Atlantic coast (Vieira 1991; Barletta *et al.* 2010) and recent work showed that juvenile mullets moving in highly abundant shoals from marine surf-zone to coastal streams can transport marine-derived nutrients into freshwater food webs (Oliveira *et al.* 2014). However, detailed movement patterns of juvenile mullets between surf-zone and coastal streams and the ecological role of these streams to the species were unknown. Our integrative approach combining size-structure and otolith-based analyses revealed new insights on the functional role play by coastal streams as habitats to juveniles of *M. liza*.

Our size structure analysis revealed a unimodal, skewed distribution with a mode of 25 mm both inside the coastal stream and at the surf zone. A similar pattern has been previously reported by Garcia *et al.* (2001) for the adjacent Patos Lagoon estuary. However, in contrast with the estuary, where the species reaches sexual maturity ( $L_{50}$ ) at size of 408.3 mm (Lemos *et al.* 2014), we did not find individuals larger than 140 mm inside the coastal streams, despite of intensive multiple-gear fish sampling and visual observation (Bastos *et al.* 2013; Bastos *et al.* 2014). This finding corroborates the idea that mullet individuals colonizing these coastal streams are composed only by immature juveniles.

The absence of adults inside coastal streams suggests that the species cannot achieve fully growth inside these environments, leading to two alternative hypotheses to explain the role of coastal streams in their life cycle: I) once inside coastal streams, immature individuals would not return to the sea and these habitats will constitute a populational sink for this species (*sensu* source-sink metapopulation model; Dias 1996); or II) The species moves in, spend some time inside, and move out of these coastal streams. In this scenario, coastal streams would be temporary nursery habitats until these juvenile mullets colonize a truly estuarine habitat (e.g., the adjacent large Patos Lagoon estuary), where they will grow until sexual maturation.

Although we caught higher abundance of larger juvenile mullets (TL > 25 mm) inside coastal streams, this finding should be interpreted with caution because fish catches might have been affected by differences in habitat structure and in total area between surf-zones and coastal streams. The smaller size of coastal streams (0.5m to 30m wide) and their lower depth (0.05m to 0.4

m) (Bastos *et al.* 2014) facilitated beach seine catch, probably increasing seine haul speed and, consequently, fish catchability (Rozas & Minello 1997). On the other hand, beach seining efficiency and fish catchability in open habitats with moderate-to-high wave energy, as the sampled surf-zone, tended to be lower due to the comparatively lower seine haul velocity (Lombardi *et al.* 2014). Therefore, the apparently higher abundance of larger juvenile mullets inside streams could simply be a sampling artifact resulting from the fact that juvenile shoals are more concentrated and achieved higher densities within coastal streams compared to the open surf zone.

One way to understand the habitat use of migratory fish is the analysis of Sr:Ca in otoliths. The strontium (Sr) concentration in seawater is approximately 100-fold higher than in freshwater (Campana 1999), and a good relationship exists between otolith Sr:Ca ratios and water salinity along Southern Brazilian aquatic habitats (Albuquerque *et al.* 2010; Albuquerque *et al.* 2012). A low Sr:Ca ratio indicates the fish was exposed to low salinity to freshwater habitats, whereas a high ratio indicates time spent in moderate-high salinity to truly seawater environments (Gillanders 2005). This technique has been successfully applied to unravel the sometimes complex movement patterns of fishes between freshwater and seawater habitats along the southeastern American coast (e.g. Albuquerque *et al.* 2012; Mai *et al.* 2014).

The analysis of Sr:Ca in otoliths of juvenile mullets indicated the existence of two different patterns. The first is related to those fish sampled at the marine surf-zones who presented (83%) an approximately flat pattern of Sr:Ca ( $\approx 0.4$ ) along the otolith section. Fish classified under this pattern are suggested to

have inhabited marine habitats with no significant movement to freshwater (Fig. 2a). The second pattern was predominantly observed (75%) in those fish sampled inside the freshwater streams that showed Sr:Ca ratios close to 0.4 in the otolith core followed by a subtle decrease towards the edge (Sr:Ca ratios  $\approx$  0.15). This pattern indicates fish that spent their early life in marine habitats and migrated to freshwater for a given significant amount of time. Exceptions were two marine-sampled fish who showed the second pattern (Sr:Ca decreases towards the otolith edge) and three freshwater-sampled individuals who showed the first pattern (marine-indicative flat Sr:Ca profile). These exceptions may represent fish that have migrated shortly before they were caught. Even more important, these exceptions shows that fish who entered the freshwater streams are also capable of getting out of these habitats, which refutes the hypothesis that coastal streams are acting as populational sink habitats. Therefore, our results support the hypothesis that the studied coastal streams constitute temporary or alternative habitats for *M. liza* during its early life. After entering these streams, juvenile mullets can return to the surf-zone and, from there, seek true estuarine zones, such as the adjacent Patos Lagoon estuary. The temporary use of these streams is further supported by the fact that daily growth increments in juvenile mullet otoliths caught inside the coastal stream suggested that mean residence time between 3 to 4 months. A similar residence time inside these coastal streams can be inferred from stable isotopic turnover time took by juvenile mullets, which move from surf-zone into these streams, to reflect a freshwater-derived diet (Oliveira *et al.* 2014).

At this point, however, we cannot precise whether entering coastal streams may translate into ecological advantages for juveniles of *M. liza* (e.g., predation avoidance or higher food availability). Also, we are not able to find out if these juvenile mullets leave coastal streams towards the surf-zone in an active (i.e., by active migration) or passive (i.e., flushed out during high stream discharges triggered by heavy rainfall) ways. Future field studies combining telemetry and monitoring of streams' discharge intensity and duration along the year would be necessary to disentangle these possibilities.

In conclusion, our study shows that juvenile mullets do not achieve fully growth inside coastal streams, but instead, they use them as temporary habitats, possibly as a strategy to increase their growth and survival until their recruitment into estuaries. Further studies are needed to (1) reveal the growth rate of these juvenile mullets inside coastal streams and adjacent marine surf-zones; (2) investigate movement patterns and residence time of mullets along coastal streams, surf zones and estuarine gradients using otolith microchemical analysis and/or mark-recapture techniques; (3) conduct microchemical analysis in otoliths from mature individuals to evaluate the proportion of adults who used coastal streams during their early life and further understand the ecological importance of coastal freshwater habitats for mullet populations.

### **Acknowledgements**

We are thankful to help in field collections and sample processing by colleagues from the Ichthyology Lab. We are also thankful to Alexandro M. Tozetti and Paulo C. Abreu for their comments on an earlier draft of the

manuscript. The study received financial support from the SISBIOTA project (FAPERGS, 11/2262-7). MCLMO and AMG acknowledge fellowship support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 482236/2011-6 and 305888/2012-9, respectively).

### Literature Cited

- Albuquerque, C. Q., Miekeley, N. & Muelbert, J. H. (2010). Whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri*, trapped in a freshwater coastal lagoon: a natural comparison of freshwater and marine influences on otolith chemistry. *Neotropical Ichthyology* **8**, 311-320.
- Albuquerque, C. Q., Miekeley, N., Muelbert, J. H., Walther, B. D. & Jaureguizar, A. J. (2012). Estuarine dependency in a marine fish evaluated with otolith chemistry. *Marine Biology* **159**, 2229-2239.
- Barletta, M., Jaureguizar, A., Baigun, C., Fontoura, N., Agostinho, A., Almeida-val, V., Torres, J., Jimenes, L., Giarrizo, T., Fabre, N., Batista, V., Taphorn, D., Costa, F., Chaves, P. T., Vieira, J. P., & Corrêa, F. (2010). Fish and aquatic habitat conservation in South America: a continental overview with emphasis on neotropical systems. *Journal of Fish Biology* **77**, 1-59.
- Bastos, R. F., Condini, M. V. & Garcia, A. M. (2013). Fish species list of coastal streams in southern Brazil: with notes on austral distribution limits of marine and freshwater endangered species. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* **8**, 347-351.

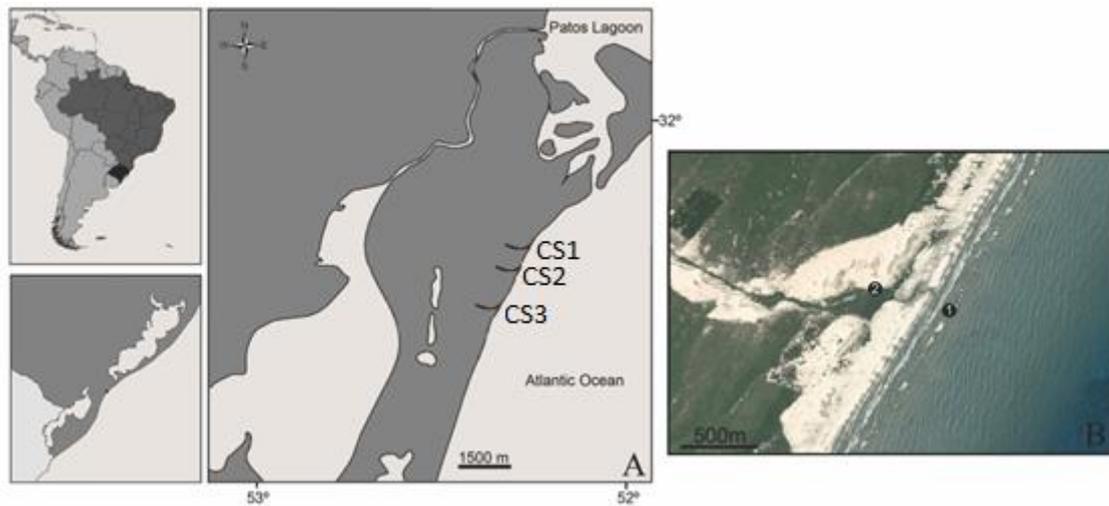
- Bastos, R. F., Calliari, L. J. & Garcia, A. M. (2014). Marine intrusion and freshwater discharge as opposite forces driving fish guilds distribution along coastal plain streams. *Hydrobiologia* **726**, 245-258.
- Blaber, S. J. M. (2000). 'Tropical Estuarine Fishes: Ecology, Exploitation and Conservation'. (Blackwell Science: Oxford.)
- Campana, S. E. & Neilson, J. D. (1985). Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **42**, 1014-1032.
- Campana, S. E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* **188**, 263-297.
- Campana, S. E. (2001). Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* **59**, 197-242.
- Courtney, D. L., Mortensen, D. G., Orsi, J. A. & Munk, K. M. (2000). Origin of juvenile Pacific salmon recovered from coastal southeastern Alaska identified by otolith thermal marks and coded wire tags. *Fisheries Research* **46**, 267-278.
- Degens, E. T., Deuser, W. G. & Haedrich, R. L. (1969). Molecular structure and composition of fish otoliths. *Marine Biology* **2**, 105-113.
- De-Silva, S. S. (1980). Biology of juvenile grey mullet: a short review. *Aquaculture* **19**, 21-36.
- Dias, P. C. (1996). Sources and sinks in population biology. *Trends in Ecology & Evolution* **11**, 326-330.

- Figueiredo, S.A. & Calliari, L. J. (2006) Washouts in the central and northern littoral of Rio Grande do Sul state, Brazil: distribution and implications. *Journal of Coastal Research* **SI39**, 366-370.
- Garcia, A. M., Vieira, J. P. & Winemiller, K. O. (2001). Dynamics of the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil) during cold and warm ENSO episodes. *Journal of Fish Biology* **59**, 1218-1238.
- Garcia, A. M., Raseira, M. B., Vieira, J. P., Winemiller, K. & Grimm, A. M. (2003). Spatiotemporal variation in shallow-water freshwater fish distribution and abundance in a large subtropical coastal lagoon. *Environmental Biology of Fishes* **68**, 215-228.
- Garcia, A. M., Vieira, J. P., Winemiller, K. O., Moraes, L. E. & Paes, E. T. (2012). Factoring scales of spatial and temporal variation in fish abundance in a subtropical estuary. *Marine Ecology Progress Series* **461**, 121-135.
- Gillanders, B. M., (2005). Using elemental chemistry of fish otoliths to determine connectivity between estuarine and coastal habitats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **64**, 47-57.
- Gillanders, B. M., Able, K. W., Brown, J. A., Eggleston, D. B. & Sheridan, P. F. (2003). Evidence of connectivity between juvenile and adult habitats for mobile marine fauna: an important component of nurseries. *Marine Ecology Progress Series* **247**, 281-295.
- Hutchings, J. A., and Reynolds, J. D. (2004). Marine Fish Population Collapses: Consequences for Recovery and Extinction Risk. *BioScience* **54**, 297-309.

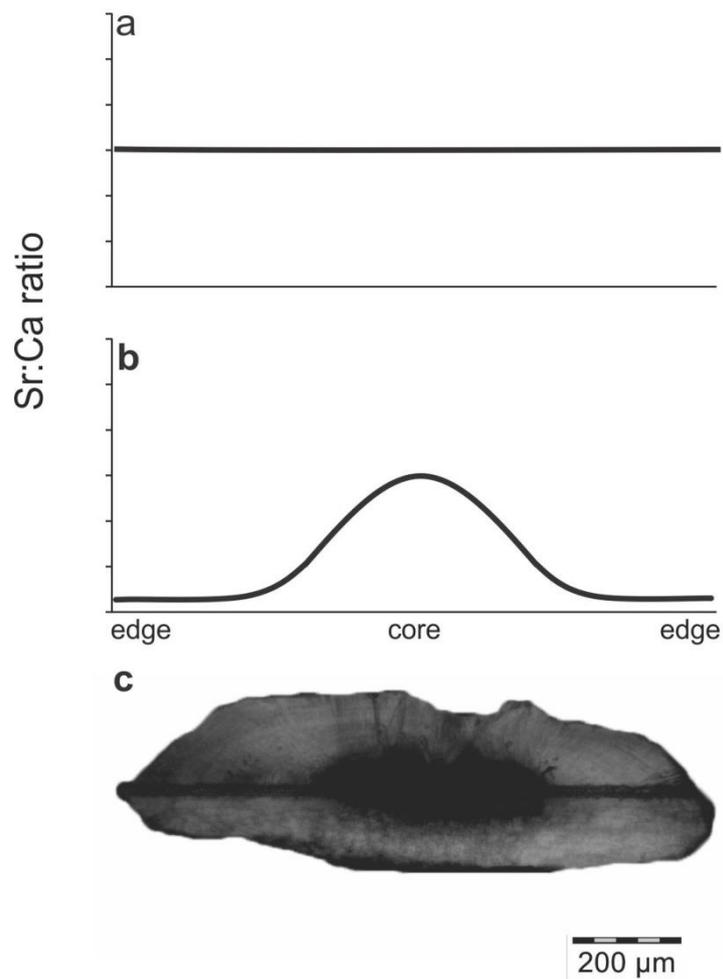
- ICMBIO/Ibama/Cepsul. (2007). I Relatório de reunião técnica para o ordenamento da pesca da tainha (*Mugil platanus*, M. liza) na região sudeste/sul do Brasil. Itajaí, Santa Catarina, Brazil. URL [http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/relatorio de ordenamento/tainha/rel 2007 abr tainha.pdf](http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/relatorio_de_ordenamento/tainha/rel_2007_abr_tainha.pdf)
- Lenanton, R. C. J. & Potter, I. C. (1987). Contribution of estuaries to commercial fisheries in temperate western Australia and the concept of estuarine dependence. *Estuaries* **10**, 28-35.
- Lombardi, P. M., Rodrigues, F. L. & Vieira, J. P. (2014). Longer is not always better: The influence of beach seine net haul distance on fish catchability. *Zoologia* **31**, 35-41.
- Lemos, V. M., Varela, A. S., Schwingel, P. R., Muelbert, J. H & Vieira, J. P. (2014). Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. *Journal of Fish Biology* **85**, 671-687.
- Mai, A. C. G., Condini, M. V. Albuquerque, C. Q. Loebmann, D., Saint'Pierre, T. D., Miekeley, N. & Vieira, J. P. (2014). High plasticity in habitat use of *Lycengraulis grossidens* (Clupeiformes, Engraulidae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **141**, 17-25.
- Menezes, N. A., de Oliveira, C. & Nirchio, M. (2010). An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic Lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). *Zootaxa* **2519**, 59-68.

- Morton, R. M., Halliday I. & Cameron, D. (1993). Movement of tagged juvenile tailor (*Pomatomus saltatrix*) in Moreton Bay, Queensland. *Australian Journal of Marine & Freshwater Research* **44**, 811-816.
- Oliveira, M. C. L. M, Bastos, R.F., Claudino, M. C., Assumpção, C. M. & Garcia, A. M. (2014). Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. *Aquatic Biology* **20**, 91-100.
- Pannella, G. (1971). Fish otolith: Daily growth layers and periodical patterns. *Science* **173**, 1124-1127.
- Post, D. M. & Walters, A. W. (2009). Nutrient excretion rates of anadromous alewives during their spawning migration. *Transactions of the American Fisheries Society* **138**, 264-268.
- Reis, E. G. & D'Incao, F. (2000). The present status of artisanal fisheries of extreme southern Brazil: an effort towards community based management. *Ocean Coast Manage* **43**, 585-595.
- Rozas, L. P. & Minello, T. J. (1997). Estimating densities of small fishes and decapod crustaceans in shallow estuarine habitats: a review of sampling design with focus on gear selection. *Estuaries* **20**, 199-213.
- Sibert, J. R. & Nielson, J. L. (2001). 'Electronic tagging and tracking in marine fisheries'. (Kluwer Academic Publishers: Dordrecht)
- Vieira, J. P. (1991). Juvenile mullets (Pisces: Mugilidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, RS, Brazil. *Copeia* **2**, 409-418.

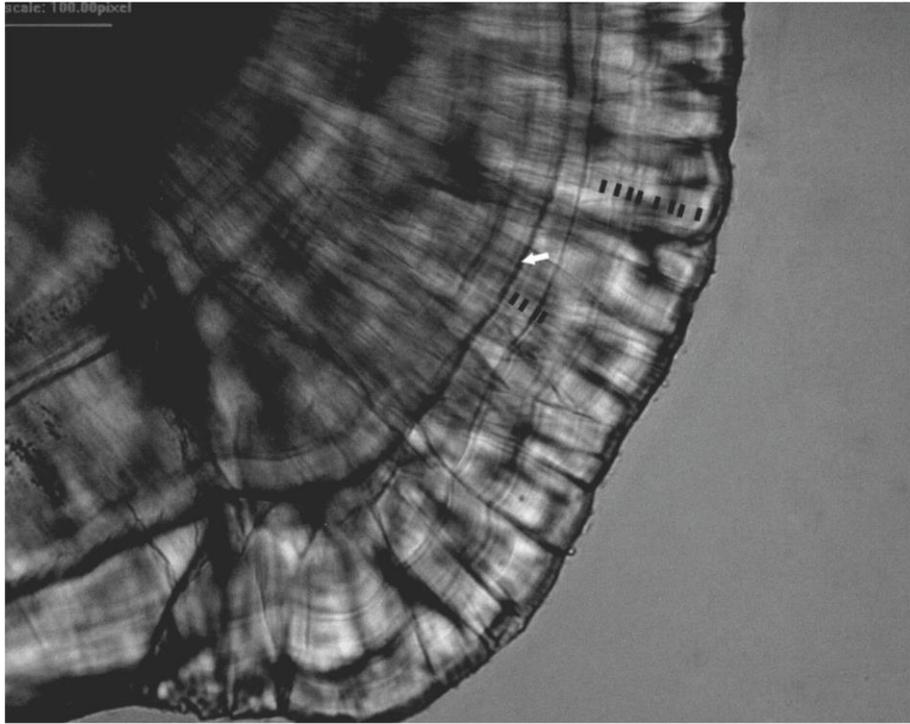
- Vieira, J. P. & Scalabrin, C. (1991). Migração reprodutiva da 'tainha' (*Mugil platanus* Gunther, 1980) no sul do Brasil. *Atlântica* **13**, 131-141.
- Whitfield, A. K., Panfili, J. & Durand, J. D. (2012). A global review of the cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758 (Teleostei: Mugilidae), with emphasis on the biology, genetics, ecology and fisheries aspects of this apparent species complex. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **22**, 641-681.
- Zar, J. H. (2010). 'Biostatistical Analysis'. 5th Edn. (Pearson Prentice-Hall: Upper Saddle River).



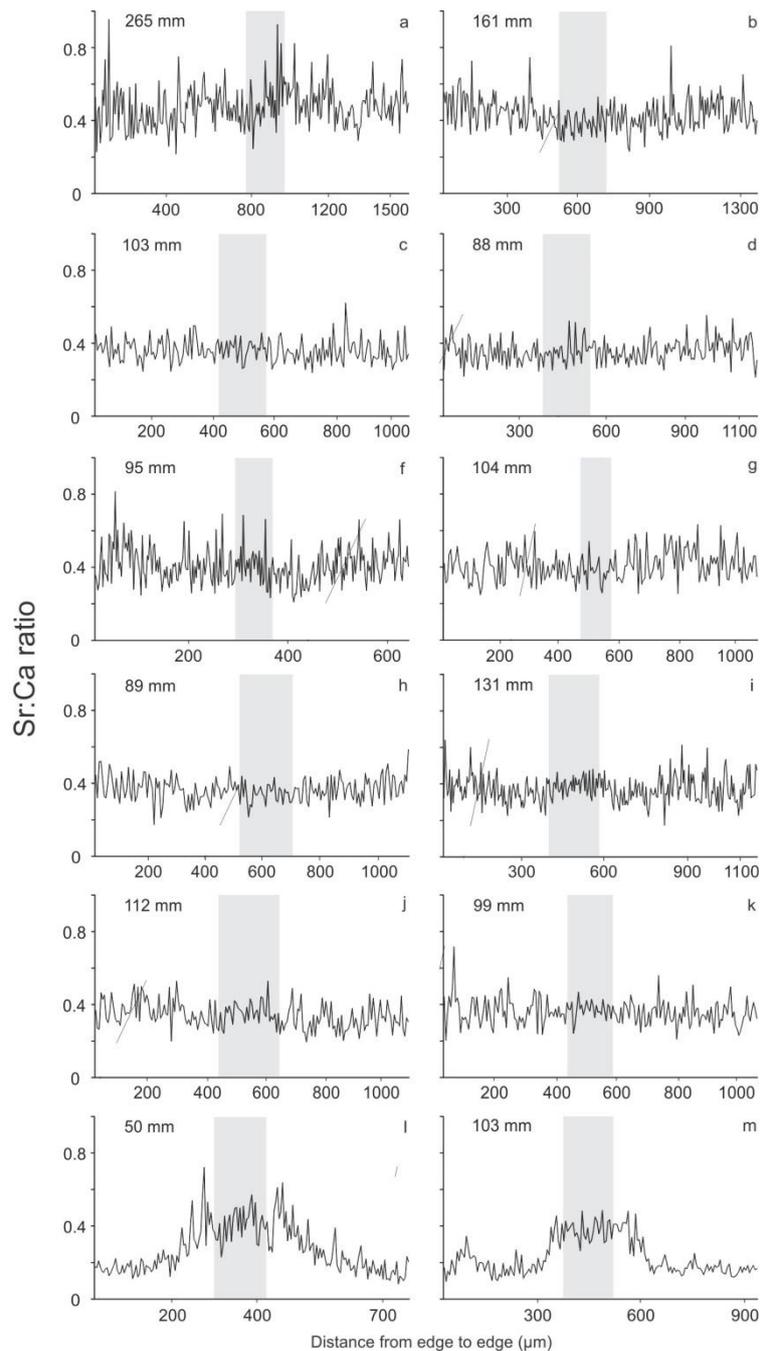
**Fig. 1** - Map showing the location of the 3 studied coastal stream (CS1, CS2 and CS3) in southern Brazil (A) and the two sampling sites on each coastal stream (B): (1) at the surf-zone and (2) inside the coastal stream.



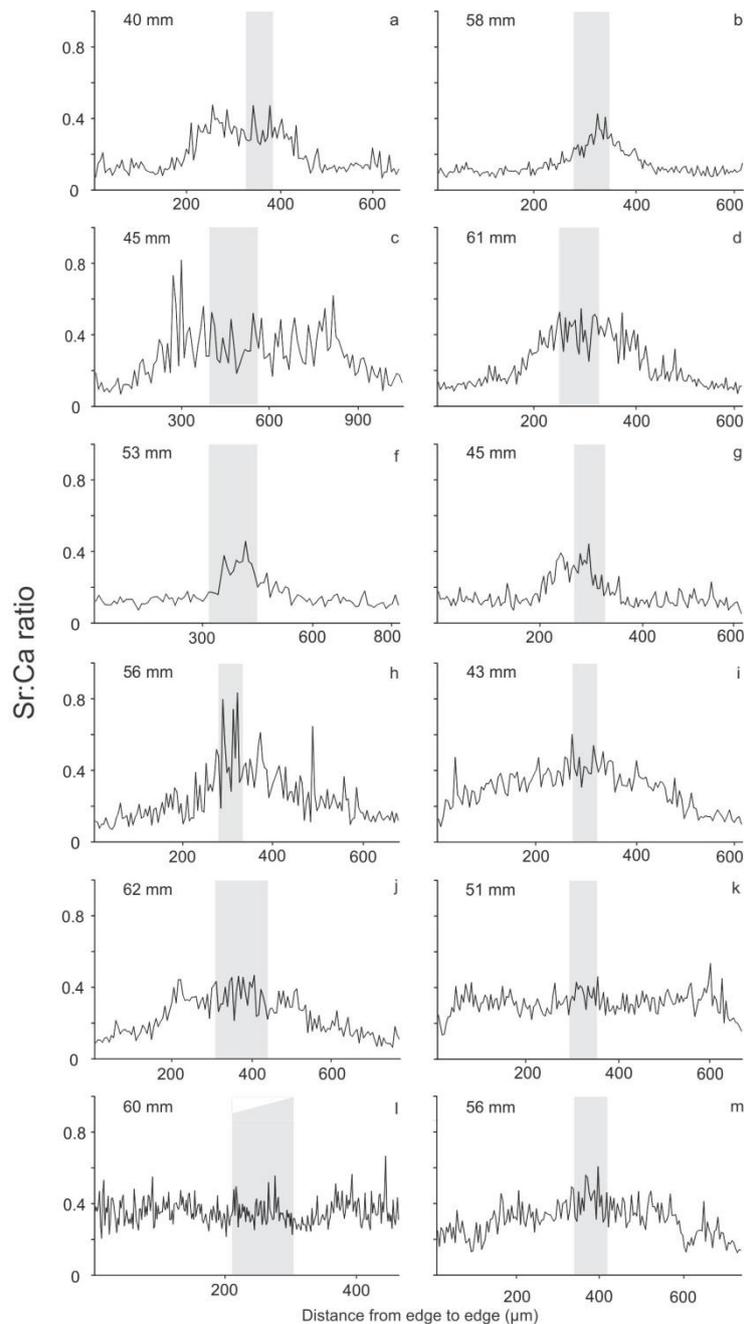
**Fig. 2** - Conceptual expected profiles of Sr:Ca ratio for marine mullet juveniles (*Mugil liza*) (a) occurring in surf-zone and never experienced freshwater and (b) for those who entered and remained in freshwater streams. (c) Photograph of a prepared otolith of *M. liza* individual (TL: 45 mm) displaying the transversal edge-core-edge pathway sampled by laser ablation and subsequently analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry.



**Fig. 3** - Photograph of a prepared otolith from the daily ring experiment. The white arrow show the alizarin mark and the daily increments are highlighted by the thick black lines.



**Fig. 4** - Sr:Ca ratio profiles for marine mullet juveniles (*Mugil liza*) caught at the surf-zone in southern Brazil. Each profile results from sampling a transversal transect of one otolith by laser ablation from edge to edge and crossing its core (see Figure 2C). The core region is denoted by the light gray box and the total length of each sampled individual are provided in millimeters (mm).



**Fig. 5** - Sr:Ca ratio profiles for marine mullet juveniles (*Mugil liza*) caught inside freshwater stream in southern Brazil. Each profile results from sampling a transversal transect of one otolith by laser ablation from edge to edge and crossing its core (see Fig. 2C). The core region is denoted by the light gray box and the total length of each sampled individual are provided in millimeters (mm).