

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

TESE

**PADRÕES DE MOVIMENTOS E USO DE DIFERENTES SISTEMAS COSTEIROS
POR *Micropogonias furnieri* NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Taynara Pontes Franco
Orientador: Francisco Gerson Araújo
Coorientador: Cristiano Queiroz de Albuquerque

Julho/2017

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Padrões de movimentos e uso de diferentes sistemas costeiros por *Micropogonias furnieri* no Estado do Rio de Janeiro

Taynara Pontes Franco
Sob a orientação do professor
Francisco Gerson Araújo
Coorientação de Cristiano Queiroz de Albuquerque

Tese submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Biologia Animal. Área de concentração: biodiversidade animal.

Seropédica, RJ

Julho/2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

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

p Franco, Taynara Pontes, 1986-
PADRÕES DE MOVIMENTOS E USO DE DIFERENTES SISTEMAS
COSTEIROS POR Micropogonias furnieri NO ESTADO DO RIO
DE JANEIRO / Taynara Pontes Franco. - 2017.
113 f.

Orientador: Francisco Gerson Araújo.
Coorientador: Cristiano Queiroz de Albuquerque.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, PPGEA/Ciências Biológicas, 2017.

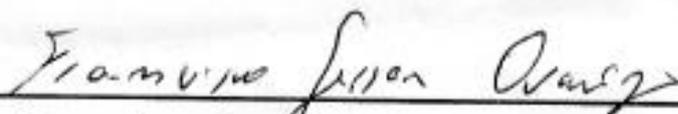
1. Química de otólitos. 2. Conectividade. 3. Padrões
de migração de peixes. I. Araújo, Francisco Gerson ,
1954-, orient. II. Albuquerque, Cristiano Queiroz de
, 1975-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. PPGEA/Ciências Biológicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

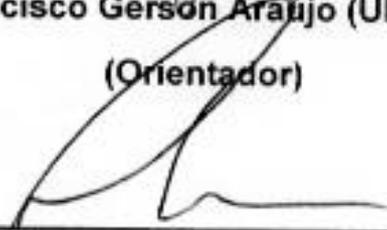
TAYNARA PONTES FRANCO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Biologia Animal, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

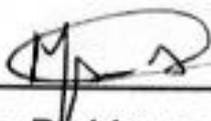
TESE APROVADA EM 08/08/2017.



Francisco Gerson Araújo (UFRRJ)
(Orientador)



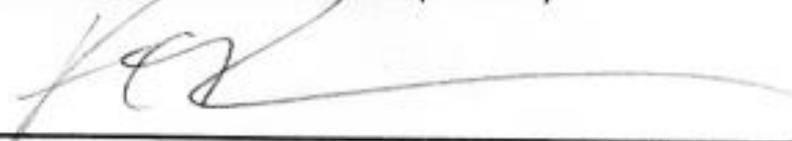
Prof. Marcelo Vianna (UFRJ)



Prof. Marcus Rodrigues da Costa (UFF)



Prof. Leonardo Mitrano Neves (UFRRJ)



Prof. Felipe Alexandre Lisboa de Miranda Daros (UNIVALI)

Agradecimentos

Primeiramente...

Agradeço ao meu orientador Dr. Francisco Gerson Araújo, por tantos anos de dedicação aos estudos científicos e formação de pessoas, que assim como eu, chegam sem nenhum conhecimento ao laboratório. Professor que me deu oportunidade de trabalhar com o que eu queria em todos os momentos, que apoiou e segurou as barras, fossem elas financeiras, estatísticas ou em momentos de bloqueio de produtividade.

Agradeço imensamente aos meus pais.

Minha mãe sempre por perto, sabendo de todos os meus passos e tropeços, me dando apoio em todas as decisões e abrindo meus olhos em momentos onde não enxergar pode parecer mais fácil.

Meu pai, o homem mais especial desse mundo, peço desculpas pela ausência, mas sempre estivemos conectados. O melhor estagiário que tive em tantos anos de laboratório, abre peixe, tira otólito, mede, fotografa e ainda faz uma peixada no final.

A todos da minha família peço desculpas pela ausência nas festas e encontros, todos fizeram falta, é uma pena que nem todos tenham conseguido me esperar.

Ao meu coorientador Cristiano Queiroz de Albuquerque que chegou no meio do caminho (meio torto) que eu já havia percorrido e abraçou a causa.

A professora Denise Monerat, por se dedicar por tanto tempo a algo totalmente novo e sem garantias. Foi um excelente aprendizado.

Ao professor Anderson Vilasboa Vasconcellos por abraçar a causa na prorrogação do último tempo, de forma sempre bem-humorada e paciente.

Ao professor Alberto Teodorico Correia, por abrir seu laboratório para trabalharmos juntos, pelas dicas e ensinamentos.

Aos amigos ruralinos, que deixam Seropédica com mais cara de Lar. Que em alguns momentos afaçam nossas angústias por estarmos distantes de tudo e de todos. Da rural para a vida.

Aos amigos que ajudaram em qualquer fase deste trabalho, seja coletando água, abrindo peixe, cortando otólito, trocando ideias. Em especial Victor Mosqueira, Tailan Moretti, José Paulo e Raíssa Moara.

Ao Victor Mosqueira pela ajuda em muitos momentos, seja na coleta dos peixes, na triagem do material, no companheirismo, nas injeções de auto estima e por ter ido ao Porto comigo. Você está fazendo falta aqui! Agradeço também a sua família, que foi um presente.

A família que ganhei em Portugal, que me recebeu de braços abertos, com muito carinho. Fizeram de tudo para que eu me sentisse a vontade e me indicaram todos os caminhos.

Aos amigos do LEP, pelo companheirismo, pela troca, pelos momentos de descontração.

Aos grandes amigos da vida, aqueles que devo uma visita há pelo menos dois anos. A agenda está aberta!

Muito obrigada!

Resumo: Franco, Taynara Pontes. Padrões de movimentos e uso de diferentes sistemas costeiros pela corvina *Micropogonias furnieri* no Estado do Rio de Janeiro. 2017. 113p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

O conhecimento dos padrões de movimentos de peixes marinhos entre as áreas de berçário de ambientes estuarinos e as áreas da plataforma continental, onde se concentram os estoques pesqueiros, é um aspecto fundamental para a conservação e uso sustentável desses recursos. Os principais objetivos deste estudo foram: (1) determinar padrões de movimentos e uso dos diferentes sistemas estuarinos e costeiros adjacentes pela corvina *Micropogonias furnieri* através de concentrações elementares em otólitos *Sagittae*; (2) identificar assinaturas de *M. furnieri* em ambientes estuarinos semifechados como ferramenta de identificação da origem de peixes da costa; (3) identificar uma possível nova unidade populacional de *Micropogonias furnieri* ao Norte de Cabo Frio. Indivíduos de *M. furnieri* foram capturados através da pesca artesanal nos principais sistemas estuarinos e zona costeira adjacente do Estado do Rio de Janeiro. Os otólitos sagitais foram avaliados por meio de análises químicas de estrôncio (^{86}Sr), bário (^{143}Ba), manganês (^{55}Mn) e magnésio (^{24}Mg) no perfil núcleo-borda dos otólitos através de um espectrômetro de massas por plasma acoplado indutivamente com ablação a laser (LA-ICPMS). Foram identificados dois principais padrões de movimentos de entrada e saída dos indivíduos dos sistemas costeiros, um caracterizado como Marinho Migrante (indivíduos que fazem uma única migração definitiva de sistemas costeiros estuarinos para a plataforma adjacente) e o outro caracterizado como Misto (indivíduos que após a migração dos sistemas estuarinos para a plataforma costeira adjacente realizam visitas aos sistemas estuarinos). As assinaturas elementares específicas de cada sistema estuarino estudado foram identificadas, com as maiores razões de Ba:Ca e Sr:Ca sendo características para peixes da Laguna de Araruama, e de Mg:Ca e Mn:Ca sendo características de peixes da Baía de Sepetiba. Através destas assinaturas, foram identificadas a contribuição relativa dos sistemas estuarinos para os estoques pesqueiros da

costa, com as baías sendo as principais fontes de recrutamento ao estoque adulto disponível na plataforma costeira. Além disso, análises isotópicas e elementares foram realizadas através de espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e análises com marcadores nucleares de microssatélites em amostras de indivíduos dos extremos Sul e Norte da costa, onde foi identificada uma nova unidade populacional ao Norte de Cabo Frio. O uso da química de otólitos mostrou-se eficiente para a determinação da participação relativa dos sistemas estuarinos, principalmente das baías na contribuição dos estoques de *M. furnieri* da zona costeira. Os marcadores nucleares indicaram diferentes unidades populacionais na costa do Estado. Através das ferramentas utilizadas pudemos identificar informações relevantes sobre a determinação de movimentos da espécie que devem ser levadas em consideração nos programas de conservação deste importante recurso pesqueiro.

Palavras chave: Química de otólitos; assinaturas elementares; conectividade; padrões de migração

Abstract: Franco, Taynara Pontes. Patterns of movements and use of different coastal systems by the Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* in the State of Rio de Janeiro. 2017. 113 p. Thesis (Doctorate in Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Abstract: Knowledge on the patterns of marine fish movements between nursery areas in estuarine environments and the areas of the adjacent platform where fish stocks are concentrated is a fundamental aspect for the conservation and sustainable use of these resources. The main aims of this study were: (1) to determine patterns of movement and use of the different estuarine and the adjacent coastal systems by the Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*, identifying profiles delineated by elemental concentration rates in the *Sagitta* otoliths; (2) to assessment of signatures of semi-enclosed estuarine systems as a tool to identify the origin of the coastal fish; (3) identify a likely new stock of *M. furnieri* in the North of Cabo Frio that should differ from the population in the Center-South of the State. Individuals of *M. furnieri* were collected through artisanal fisheries in the main estuarine systems and in the coastal adjacent zone of Rio de Janeiro State. The sagittal otoliths were analyzed by chemical analyzes of strontium (^{86}Sr), barium (^{143}Ba), manganese (^{55}Mn) and magnesium (^{24}Mg) along the core-edge profile of the otoliths through an inductively coupled plasma mass spectrometer with laser ablation (LA-ICPMS). Two specific patterns were identified, for the movements between the estuarine and the adjacent coastal system, one named Marine Migrant (individuals who make a single definite migration from the estuarine to the adjacent platform) and, the other named Mixed (individuals that after migrating to the platform make visits to the estuarine systems). The specific elemental signatures of each studied estuarine system were identified, with the highest ratios of Ba:Ca and Sr:Ca being characteristics of individuals from the Araruama Lagoon, whereas those with the highest Mg: Ca and Mn: Ca were typical of the Sepetiba Bay. Based on these signatures, the relative contribution of the estuarine systems to the fish stocks of the coast was identified, with the bays being the main sources of export of this individuals to the coast of the State. In addition, isotopic and elemental analyzes were performed through an inductively coupled plasma atomic emission

spectrometry (ICP-OES) and analyzes with nuclear microsatellite markers in samples from the North and the South of the coast, where a possible new stock was identified in the North of Cabo Frio. The use of otolith chemistry proved to be efficient for determining the relative contribution of estuarine systems, mainly from the bays in the contribution of *M. furnieri* stocks from the coastal zone. Nuclear markers suggest different stocks on the coast of the State. Through the tools used, we could identify relevant information on the determination of species movements that should be taken into account in the conservation programs of this important fishing resource.

Key words: Otolith microchemistry; Elementary fingerprints; Connectivity; Migration patterns.

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela I 1. Média e desvio padrão últimos cinco valores de Sr:Ca da borda dos otólitos de cada sistema estuarino; valores mínimo e máximo de salinidade da água também indicada.	30
Tabela I 2. Número de indivíduos de cada local (n), comprimento mínimo e máximo em cm (CT), média e desvio padrão do comprimento total (CT), Idade mínima e máxima em anos, média e desvio padrão da idade e média e desvio padrão das taxas de Sr:Ca e Ba:Ca nos otólitos de cada local. As letras sobrescritas representam diferenças das razões elementares ($p < 0,05$) entre as localidades.	33

Capítulo II

Tabela II 1. Número de indivíduos de cada localidade (n), média e desvio padrão do comprimento total em cm (CT), comprimento mínimo e máximo, média e desvio padrão das taxas de Sr:Ca e Ba:Ca.	53
Tabela II 2. ANOVA bifatorial das taxas elementares presentes na água com valores de F, nível de significância (p) e teste a posteriori de Tukey, com valores iguais separados por vírgula.	58
Tabela II 3. Diferenças significativas nas proporções dos elementos no perfil núcleo dos otólitos entre os sistemas semifechados: ARA, Laguna de Araruama; BS, Baía de Sepetiba; BG, Baía de Guanabara.	59
Tabela II 4. Resultado da função discriminante linear dos estuários baseado nas razões elemento:Ca dos indivíduos capturados no interior sistemas BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; ARA- Laguna de Araruama.	59
Tabela II 5. Média \pm Desvio Padrão (DP) das razões de Sr:Ca e Ba:Ca dos otólitos por localidade.	61
Tabela II 6. ANOVA monofatorial de cada razão elementar entre os sistemas Estuarinos (E) e Costeiros da plataforma continental (C).	64

Capítulo III

Tabela III 1. Sequências dos iniciadores, motivos repetitivos e composição dos painéis. Todos os iniciadores forward (F) foram sintetizados com uma cauda na extremidade 5' do iniciador. Os números de tombo no Genbank das sequências dos clones usados para desenhar os iniciadores estão indicados abaixo do marcador.	82
Tabela III 2. Re-classificação de Jackknife a partir das razões isotópicas de carbono e oxigênio em Ilha Grande (sul) e Macaé (norte) com 69,8% dos casos agrupados corretamente.	87
Tabela III 3. Resultados de ANOVA para comparações das razões elementares de otólitos de <i>M. furnieri</i> entre os locais estudados. Resultados do pos-hoc teste Tukey também informado.	88
Tabela III 4. Re-classificação de Jackknife usando assinaturas químicas elementares:Ca na Ilha Grande e em Macaé com 93,3% dos casos corretamente agrupados.	89

Tabela III 5. Re-classificação de Jackknife usando apenas as assinaturas químicas elementares e isotópicas que apresentaram diferenças entre Ilha Grande e Macaé com 88,4% dos casos corretamente agrupados no global.	90
Tabela III 6. Excesso de homozigotos detectados na análise com o programa Micro-Checker. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; # suspeita	92
Tabela III 7. Valores de FST entre as populações das três diferentes localidades para os 12 loci de microssatélites. Os valores em negrito indicam comparações significativas ($p < 0,05$).....	92

Lista de Figuras

Introdução Geral

Figura 1. Mapa da área de estudos com as localidades de coleta indicadas.	8
Figura 2. Vista parcial das Baías de Ilha Grande, Sepetiba e Guanabara. Barra de Guaratiba e Itaipu. Google Earth em 19/04/2017.	10
Figura 3. Vista parcial das Lagunas de Saquarema e Araruama, Zona costeira de Saquarema e área de Ressurgência de Arraial do Cabo, Cabo Frio e Rio das Ostras.	11
Figura 4. Vista parcial do cabo do Farol de São Tomé, Estuário do Rio Paraíba do Sul e litoral de Campos dos Goytacazes.	12
Figura 5. Fotos do desembarque da pesca artesanal de Cabo Frio (A) e Arraial do Cabo (B).	13
Figura 6. Fotos de parte das etapas da metodologia. Corvinas transportadas no gelo (A); Remoção dos otólitos <i>Sagittae</i> (B); Emblocamento em resina (C); Corte em serra metalográfica (D).	14
Figura 7. Equipamento de LA-ICPMS da PUC-RJ utilizado no estudo.	15
Figura 8. Foto de uma secção de otólito após o procedimento em LA-ICPMS.	15

Capítulo I

Figura I 1. Mapa do Rio de Janeiro com pontos de coleta identificados. Círculos representam sistemas estuarinos (BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; ARA- Laguna de Araruama) e triângulos representam áreas costeiras da plataforma interna (IG- Ilha Grande; BRG- Barra de Guaratiba; IT- Itaipu; SQ- Saquarema; AC- Arraial do Cabo; CTZ- Campos dos Goytacazes).	27
Figura I 2. Faixas de razões de Sr:Ca por gradiente salino para <i>Micropogonias furnieri</i> . Indivíduo utilizado no exemplo capturado em Arraial do Cabo medindo 47 cm de CT.	31
Figura I 3. Razões Sr:Ca ao longo do eixo núcleo-borda de indivíduos da Baía de Sepetiba. J – jovens; S – subadultos; A – adultos.	35
Figura I 4. Razões Sr:Ca ao longo do eixo núcleo-borda de indivíduos subadultos da Baía de Guanabara.	36
Figura I 5. Razões Sr:Ca ao longo do eixo núcleo-borda de indivíduos da laguna de Araruama. J – jovens; S – subadultos.	37
Figura I 6. Exemplos de perfis de Sr:Ca encontrados nos otólitos adultos de Arraial do Cabo. A. perfil mais comum de aumento de Sr:Ca com exemplos de variação. B. perfil menos comum de estagnação de Sr:Ca com exemplos de variação. As setas indicam a posição aproximada dos anéis anuais de crescimento.	38
Figura I 7. Exemplos de perfis de Ba:Ca encontrados nos otólitos adultos. A. Exemplo de perfil mais comum, indivíduo de AC. B. perfil menos comum, indivíduo de IT. As setas indicam a contagem de anéis anuais.	39
Figura I 8. Padrões de perfil de movimentação encontrados nos peixes da zona costeira. AC – Arraial do Cabo; BRG – Barra de Guaratiba.	40

Capítulo II

Figura II 1. Mapa da área de estudos com as localidades de coleta indicadas.	52
---	----

Figura II 2. Valores médios e erro padrão das taxas elementares no inverno (barras pretas) e verão (barras cinza) para cada local.	57
Figura II 3. Diagrama dos dois primeiros eixos da função canônica discriminante das razões elementares no núcleo dos otólitos dos indivíduos nos sistemas estuarinos semifechados.	60
Figura II 4. Média das razões Ba:Ca no eixo núcleo-borda dos otólitos em cada localidade.....	61
Figura II 5. Média das razões de Sr:Ca no eixo núcleo-borda dos otólitos em cada localidade.....	62
Figura II 6. Média das razões Sr:Ca da porção inicial dos otólitos de corvinas de sistemas estuarinos e costeiros. BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; IT- Itaipu; ARA – Araruama; AC – Arraial do Cabo.	63
Figura II 7. Média das razões Br:Ca da porção inicial dos otólitos de corvinas de sistemas estuarinos e costeiros. BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; IT- Itaipu; ARA – Araruama; AC – Arraial do Cabo.	63
Figura II 8. Área de amostragem ao longo da costa do Rio de Janeiro com as assinaturas químicas dos sistemas semifechados classificados por cor e a origem natal de indivíduos coletados na zona costeira do Estado.	65

Capítulo III

Figura III 1. Mapa do Rio de Janeiro com os pontos de coleta indicados.	78
Figura III 2. Temperatura da água nas estações de verão e inverno. Dados de 26.01.2015 e 01.07.2015. Fonte: CATSAT (disponibilizado por Dr. Lauro Antonio Saint Pastous Madureira, FURG).	79
Figura III 3. Relação $\delta^{18}\text{O}$ (A) e $\delta^{13}\text{C}$ (B) dos otólitos de <i>M. furnieri</i> do sul (triângulo preto) e norte (círculo azul) e o peso dos otólitos (μg).	86
Figura III 4. Coordenadas principais da análise canônica (CAP) de assinaturas isotópicas $\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^{13}\text{C}$ dos otólitos de <i>M. furnieri</i> da Ilha Grande (triângulo cinza) e Macaé (triângulo de contorno preto).	87
Figura III 5. Coordenadas principais da análise canônica de razões elementares de Sr, Ba, Mn, Mg, Zn e Cu dos otólitos de <i>M. furnieri</i> da Ilha Grande (triângulo cinza) e Macaé (triângulo de contorno preto).	89
Figura III 6. Coordenadas principais da análise canônica de assinaturas isotópicas e elementares dos otólitos de <i>M. furnieri</i> da Ilha Grande (triângulo cinza) e Macaé (triângulo de contorno preto).	90
Figura III 7. Média dos valores de verossimilhança (LnP(D)) por número de partições (K) mais provável, segundo o programa STRUCTURE, a partir dos dados, considerando as três localidades.	93
Figura III 8. Gráfico de barras do coeficiente Q para cada população considerando o cenário K=2.	94
Figura III 9. Relação dos três primeiros eixos (espaço tridimensional) da análise fatorial de correspondência por indivíduo de acordo com os marcadores de microssatélites.	95

Sumário

1. Introdução Geral	1
1.1 Espécie em estudo	1
1.2 Importância Econômica.....	3
1.3 Estrutura populacional	3
1.4 Otólitos e suas aplicações	4
2. Metodologia Geral	7
2.1 Área de Estudo	7
2.2 Tratamento das amostras	12
2.3 Análise microquímica	14
3. Referências bibliográficas	17
Capítulo I	23
1. Introdução.....	25
2. Material e Métodos.....	26
2.1 Área de estudos	26
2.3 Leitura de anéis	28
2.4 Análise de dados	29
3. Resultados	31
3.1 Sistemas estuarinos.....	34
3.2 Sistemas costeiros/plataforma interna.....	38
4. Discussão	41
5. Conclusões.....	44
6. Referências bibliográficas	44
Capítulo II	48
1. Introdução.....	50
2. Materiais e Métodos	52
2.1 Área de Estudos.....	52
2.2 Coleta dos peixes.....	53
2.3 Coleta de Água	53
2.4 Análise química dos otólitos	54
2.5 Análise de Dados.....	55
2.5.1 Água.....	55
2.5.2 Otólitos	55
3. Resultados	56

3.1	Água.....	56
3.2	Otólitos dos sistemas estuarinos	58
3.3	Sistemas estuarinos e zona costeira	60
4	Discussão.....	65
4.1	Variações sazonais na água.....	66
4.2	Comparação dentro e entre os sistemas estuarinos.....	67
4.3	Comparação entre locais da zona costeira	68
4.4	Contribuição dos sistemas estuarinos para os estoques na zona costeira.....	68
5	Conclusões.....	70
6	Referências bibliográficas	70
Capítulo III		73
1.	Introdução.....	75
2.	Material e Métodos.....	77
2.1	Área de estudo	77
2.2	Coleta do material.....	79
2.3	Razões isotópicas de Carbono e oxigênio.....	80
2.4	Assinaturas Químicas Elementares (Elemento:Ca)	80
2.5	Microssatélites	81
2.6	Tratamento de dados.....	83
2.6.1	Assinaturas químicas e elementares de otólitos.....	83
2.6.2	Microssatélites	83
3	Resultados	85
3.1	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{18}\text{O}$	85
3.2	Elemento:Ca	88
3.3	Razões isotópicas e elementares	89
3.4	Microssatélites	91
4	Discussão.....	95
5	Conclusões.....	98
6	Referências bibliográficas	99
Considerações finais.....		105

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Espécie em estudo

A corvina, *Micropogonias furnieri* (Desmarest 1823) é uma espécie demersal da Família Sciaenidae (Perciformes) que ocorre desde as Antilhas (25°S) até o golfo de San Matías, na Argentina (44°S) (Chao, 1978). Por suportar grandes variações de salinidade, a corvina habita águas doces, estuarinas e costeiras até 100 metros de profundidade (Castello, 1986; Haimovici *et al.*, 1996; Nelson, 2006) e tem preferência por substratos arenosos e lodosos (Vazzoler, 1975). É um peixe de vida longa, podendo alcançar mais de 40 anos de idade e 80 cm de comprimento total (Shcwingel & Castello, 1990; Haimovici & Miranda, 2005; Santos, *et al.* 2017). Os hábitos alimentares variam de acordo com a fase de desenvolvimento, com as larvas sendo planctófagas, juvenis se alimentando principalmente de macro-invertebrados bentônicos (Gonçalves, 1997; Figueiredo & Vieira, 2005, Guedes *et al.*, 2015) e na fase adulta podem incorporar peixes na dieta (Isaac, 1988).

Os períodos de reprodução e desova variam ao longo da área de distribuição e essas diferenças podem ser atribuídas às condições bióticas e abióticas em cada região (Vazzoler, 1991). A reprodução costuma ocorrer principalmente nos períodos mais quentes do ano, entre a primavera e o verão. A desova é do tipo parcelada, sendo possível uma única fêmea de porte médio desovar de três a sete milhões de ovócitos ao longo de uma única estação reprodutiva (Macchi *et al.*, 2003). A desova ocorre geralmente na zona interna da plataforma continental, nas proximidades de estuários ou até mesmo no interior destes (Macchi & Christiansen, 1992). Ovos e larvas são transportados para o interior dos estuários onde se alimentam e se desenvolvem (Vazzoler, 1991). Quando subadultos, migram para águas mais profundas e atingem a maturação sexual na plataforma continental adjacente (Vazzoler, 1991).

Na lagoa dos Patos, RS, ovos e larvas são transportados para o interior do estuário no final da primavera e início do verão, esse transporte é favorecido pela ocorrência de ventos do quadrante sul que promovem a entrada de água salgada no estuário (Möller *et al.*, 1991). Quando ganham maior capacidade de

natação, os juvenis procuram áreas de baixio, onde encontram melhores condições de abrigo e alimentação (Gonçalves, 1997). À medida que crescem, ainda dentro dos estuários, vão buscando águas mais profundas e, em torno de 18 a 35 cm de comprimento total atingem a maturação sexual, preferencialmente fora dos estuários (Vazzoler, 1991). O retorno para águas mais profundas se dá aparentemente no inverno (Castello, 1986). No entanto, alguns indivíduos permanecem dentro de estuários e tendem a amadurecer sexualmente mais cedo (Castello, 1986; D'Anatro *et al.*, 2011). Embora o local natural de desova da corvina seja em áreas de plataforma interna próximas a entrada de zonas estuarinas, a desova dentro do estuário não está totalmente descartada. Para pescadores locais a corvina está presente em tamanhos correspondentes a idade adulta na lagoa (Altmayer, 1999).

Em Santa Catarina e Rio de Janeiro a desova parece ocorrer durante todo o ano com picos em abril, setembro e novembro (Isaac, 1988; Vazzoler 1991). Na Baía de Guaratuba, Paraná o mesmo padrão de distribuição que o encontrado na Lagoa dos Patos foi observado por Robert e Chaves (2001), onde os indivíduos juvenis utilizam a área mais interna da baía, subadultos e adultos utilizam profundidades até 15 m e desovam acima de 30 m de profundidade. Costa e Araújo (2003), através de um estudo de estrutura de tamanho, descreveram o ciclo de vida da corvina na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. Segundo os autores as corvinas desovam na primavera, início do verão e outono na plataforma continental próxima à entrada da baía. As larvas são carregadas para a baía e recrutam na parte mais interna, à medida que crescem ocupam área mais fundas e aos 20 cm de CT, aproximadamente, os subadultos procuraram a plataforma continental. Mas parecem manter o fluxo de entrada e saída na baía durante a fase adulta. Na região das Guianas foi reportado que a desova ocorre durante todo ano, porém o recrutamento não é feito em estuários, e sim nas praias (Lowe-McConnel, 1966).

O tamanho de primeira maturação para os peixes do Sul é de 35 e 33 cm (Vazzoler, 1971), no Sudeste 27,5 e 25 cm (Vazzoler, 1971) e nas Guianas 26 e 21 cm (Lowe-McConnel, 1966) para fêmeas e machos respectivamente. Em trabalho mais recente realizado no sudeste Santos *et al.* (2015) calculou valores de C_{50} de 34,1 cm para fêmeas e 32,9 cm para machos.

1.2 Importância Econômica

A corvina *Micropogonias furnieri* é um dos recursos pesqueiros demersais de maior importância na costa sul e sudeste do país (Vasconcellos & Haimovici, 2006). A pesca desta espécie atingiu seu auge ao final da década de 70 com uma produção de 80 mil toneladas, em 2011 a produção já tinha caído para 43 mil toneladas (MPA, 2012). Considerada recurso em sobrepesca desde 1960 (Haimovici & Ignácio, 2005), vem exibindo mudanças no comprimento total dos indivíduos capturados, com diminuição do C_{50} que tem grandes chances de estarem sendo causadas pela pressão da pesca (Haimovici & Ignácio, 2005).

O Rio de Janeiro foi o terceiro maior produtor pesqueiro nacional em 2011 com 79 mil toneladas de pescado, sendo dessas, 1.369 toneladas de corvina (FIPERJ, 2013). Esse tipo de produção extrativa vem aumentando desde 2003 no Estado e a pesca da corvina acompanha esse aumento (FIPERJ, 2013). A exploração da pesca em conjunto com as alterações antrópicas, que acarretam na redução da qualidade do habitat em ambientes importantes para o recrutamento de espécies estuarino-dependentes, podem atuar de forma sinérgica para a diminuição da produção local (Schroeder & Castello, 2010).

1.3 Estrutura populacional

Nas últimas décadas, estudos com variadas metodologias buscaram delimitar a quantidade e os limites de populações de corvina ao longo da costa brasileira. Alguns trabalhos utilizaram caracteres merísticos, morfométricos, crescimento, reprodução e métodos genéticos que mostraram diferentes resultados na divisão das populações.

A primeira hipótese testada foi de que a costa sudeste-sul do Brasil teria duas populações de corvina: população I que se distribuiria desde Cabo Frio (23°S) até o Cabo de Santa Marta (29°S), e a população II entre o Cabo de Santa Marta e o Chuí (33°S). Além disso, duas outras populações existiriam fora do Brasil, entre Uruguai e Argentina (Vazzoler, 1971). Esse estudo levou em consideração os dados da biologia da pesca, bem como o período reprodutivo nas duas regiões (Sul e Sudeste) (Vazzoler, 1971, 1988; Isaac, 1988). Posteriormente essa hipótese foi um pouco alterada por estudos com análises

bioquímicas de proteínas totais de cristalino, que indicaram a existência de uma população homogênea na região Sudeste, e de uma população heterogênea na região Sul, que receberia contribuição gênica de outras populações da costa Uruguia e Argentina (Vazzoler & Phan, 1981, 1989). Algumas décadas mais tarde, em diferentes trabalhos, apenas uma população foi considerada para a região Sudeste e Sul com base em análises bioquímicas musculares (Suzuki *et al.* 1983), de eletroforese de aloenzimas (Maggioni *et al.*, 1994) e padrões de restrição de DNA mitocondrial (Levy *et al.*, 1998; Puchnick & Levy, 2006).

Em 2005, Haimovici & Inácio, com análises morfométricas do corpo e de determinação de idade encontraram três padrões distintos: população I entre o Chuí-RS (33°S) e Santa Marta-SC (28°S), população II entre Santa Marta e Cabo Frio (23°S) e população III ao norte de Cabo Frio. Lima (2005) também observou três estoques no sul/sudeste do país com análise de polimorfismo de tamanho de íntrons (EPIC-PCR), tendo encontrado uma população no Rio de Janeiro (23°S), uma entre Santos-SP (24°S) e Torres-RS (29°S) e outra de Torres ao Chuí-RS (33°S). Em um estudo mais recente, Vasconcellos *et al.* (2015), ao empregarem análises com marcadores mitocondriais (sequenciamento da região controle) e nucleares (polimorfismo do tamanho de íntrons e microssatélites) encontraram uma população de corvina no Sudeste (entre Espírito Santo e Santa Catarina) e outra população no sul do Brasil (Rio Grande do Sul).

1.4 Otólitos e suas aplicações

Otólitos são estruturas policristalinas compostas por carbonato de cálcio e proteína que se desenvolvem na cápsula auditiva dos ouvidos internos de peixes teleósteos, com função de equilíbrio e/ou audição (Campana, 1999; Volpedo & Vaz-dos-Santos, 2015). Os otólitos crescem pela incorporação de novas camadas concêntricas de carbonato de cálcio (Campana, 1999). Esse crescimento em forma de camadas induz a formação de anéis que podem ser vistos em escalas diárias e anuais (Secor, 1999), através da formação de bandas opacas e translúcidas (ou hialinas) que se formam de acordo com diferenças de temperatura, períodos de reprodução e/ou migração (Reibish, 1899; Schwingel & Castello, 1990). A diferenciação entre os aspectos das bandas se dá de acordo

com fases de maior (opaca) ou menor (translúcida) deposição de carbonato de cálcio, matéria orgânica e outros elementos constituintes dos otólitos (Morales-Nin, 2000). Logo, a banda opaca em luz transmitida corresponde ao crescimento rápido e a banda translúcida ao crescimento lento (Volpedo & Vaz-dos-Santos, 2015).

Diversos estudos têm sido realizados com as estruturas otolíticas dos peixes desde 1899, quando Reibish começou a observar a presença de anéis em periodicidade sazonal nos otólitos. Em 1971, Pannella reportou, pela primeira vez, a formação de anéis diários o que facilitou a interpretação dos micro-incrementos presentes nesta estrutura. Os incrementos diários se formam de acordo com o ritmo diário do metabolismo do cálcio, de acordo com o ciclo circadiano, que afeta o pH da endolinfa presente na mácula (que são agrupamentos de células receptoras dentro da cápsula auditiva) (Campana & Neilson, 1985, Morales-Nin, 2000). A deposição continua a ocorrer ao longo de todo ciclo, mas a diferença de deposição é visível na largura da banda que é formada. A formação de anéis anuais está relacionada a fatores exógenos como as diferenças sazonais, mudança de habitat, e fatores endógenos como período reprodutivo, e mudança de hábito alimentar (Panfili, *et al.* 2001). Essa formação de bandas é espécie-específica, porém, todos os fatores mencionados acima podem influenciar na formação de falsos anéis ou “*checks*” que dificultam a leitura, mas de maneira geral são mais finas do que as originais (Campana & Neilson, 1985; Morales-Nin 2000).

Além do carbonato de cálcio, que representa 96,2% do otólito e da matriz proteica (otolina) que representa 3,1%, o restante do otólito é composto de elementos traço (0,7%), oriundos do ambiente circundante e da alimentação do indivíduo (Campana, 1999). Esses elementos são incorporados na corrente sanguínea através das brânquias e/ou intestino e ao alcançarem a endolinfa podem ser cristalizados no otólito de forma direta, por substituição do cálcio ou preenchendo espaços intersticiais da matriz proteica (Campana, 1999). Por ser uma estrutura metabolicamente inerte, o material que a compõe não pode ser reabsorvido ou alterado, e o otólito preserva a cronologia da variação química refletida por parâmetros do ambiente, incluindo salinidade, temperatura e química da água (Campana, 1999). Logo alguns aspectos da história ambiental

do peixe podem ser inferidos a partir da impressão química deixada pela incorporação de elementos. Essas informações têm sido obtidas através da análise de microquímica de otólitos, para estudos de migração e uso do habitat, identificação de estoques e áreas de origem (Campana, 1999; Walther *et al.*, 2011; Reis *et al.*, 2012). Dentre os principais elementos traços encontrados estão o sódio (Na), estrôncio (Sr), potássio (K), enxofre (S), cloro (Cl), fósforo (P), magnésio (Mg), manganês (Mn), zinco (Zn) e bário (Ba) e os mais estudados são o Sr e o Ba (Elsdon & Gillanders, 2005; Wang *et al.*, 2010; Avigliano *et al.*, 2015). A variabilidade na concentração desses elementos nos otólitos tem uma relação positiva com a disponibilidade dos mesmos na água e já foi constatada uma relação positiva do Sr e negativa do Ba com a salinidade (Campana, 1999; Jacquet *et al.*, 2005; Albuquerque *et al.* 2011). O Sr é cerca de 100 vezes mais abundante na água do mar e o Ba está presente em rochas e no solo, sendo mais abundante em águas de rios que carregam partículas provenientes de assoreamento. Portanto, para uma dada espécie, maiores concentrações de estrôncio devem ser depositadas em otólitos de peixes que vivem em águas de maior salinidade, e maiores concentrações de bário em otólitos de peixes que vivem em ambientes de água doce (Campana, 1999).

Os otólitos funcionam como marcadores naturais e têm sido utilizados em diversos sistemas ao redor do mundo para resgatar informações de rastreamento sem que sejam necessárias técnicas mais complexas de marcação artificial. O principal alvo de estudos de microquímica é a reconstrução do histórico migratório de espécies que utilizam diferentes ambientes ao longo da vida. Através da microquímica de otólitos, por exemplo, Cook *et al.* (2014) avaliou a eficiência de uma área marinha protegida pela dispersão e conectividade de larvas de peixes em San Diego, CA; Avigliano *et al.* (2015) identificou a presença de duas populações de *Mugil curema* no sudeste do mar do Caribe e Vasconcelos *et al.* (2008) identificou a origem natal de diversas espécies comercialmente importantes na costa de Portugal. E no Brasil, o primeiro trabalho de química de otólitos foi desenvolvido por Albuquerque *et al.* 2010 que identificou a influência do gradiente salino em sistemas costeiros nos otólitos de *M. furnieri*. O desenvolvimento de pesquisas como essas são importantes para

o entendimento do homem quanto a importância das espécies, dos sistemas e principalmente do gerenciamento de recursos naturais.

2. METODOLOGIA GERAL

2.1 Área de Estudo

A costa do Estado do Rio de Janeiro possui 635 km de extensão e apresenta ecossistemas marinhos de alta relevância ecológica. Dentre eles destacam-se três grandes baías (Baía de Ilha Grande, Baía de Sepetiba e Baía de Guanabara), estuários (rios Paraíba do Sul, Itabapoana, Macaé), diversas lagunas (Araruama, Saquarema, Maricá), praias arenosas desprotegidas, mangues, restingas, ilhas e costões rochosos. Nestes tipos de habitats se concentram os principais vetores de pressão antrópica através da exploração dos recursos naturais e exploração econômica.

A principal corrente oceanográfica que influencia a costa do Rio de Janeiro é a Corrente do Brasil (CB) que corre em direção sul, entre a área mais externa da plataforma continental e talude da costa brasileira (Castro, 1996). A CB transporta a Água Tropical (AT) entre 0 – 200 m de profundidade e a Água Central do Atlântico Sul (ACAS) entre 200 – 400 m de profundidade. São formados vórtices em locais como Cabo Frio e Cabo de São Tomé onde ocorre um estreitamento da plataforma continental, que com a intensificação de ventos noroeste em parte do ano, dão origem ao fenômeno de ressurgência (Calado, 2006). Este fenômeno, que traz águas frias e ricas em nutrientes do fundo para a superfície, aumenta a produtividade primária e a biomassa por determinado período de tempo (Gonzalez *et al.* 1992)

Para o presente estudo, escolhemos alguns destes sistemas costeiros, considerados importantes áreas de recrutamento para a corvina: as três baías mencionadas acima (Ilha Grande, Sepetiba e Guanabara), duas lagunas (Araruama e Saquarema), áreas com influência do fenômeno de ressurgência (Arraial do Cabo, Cabo Frio, Rio das Ostras e Macaé), proximidades do estuário

do Rio Paraíba do Sul (Campos dos Goytacazes e Farol de São Tomé) e praias oceânicas (Barra de Guaratiba, Itaipu e Saquarema) (Figura 1).

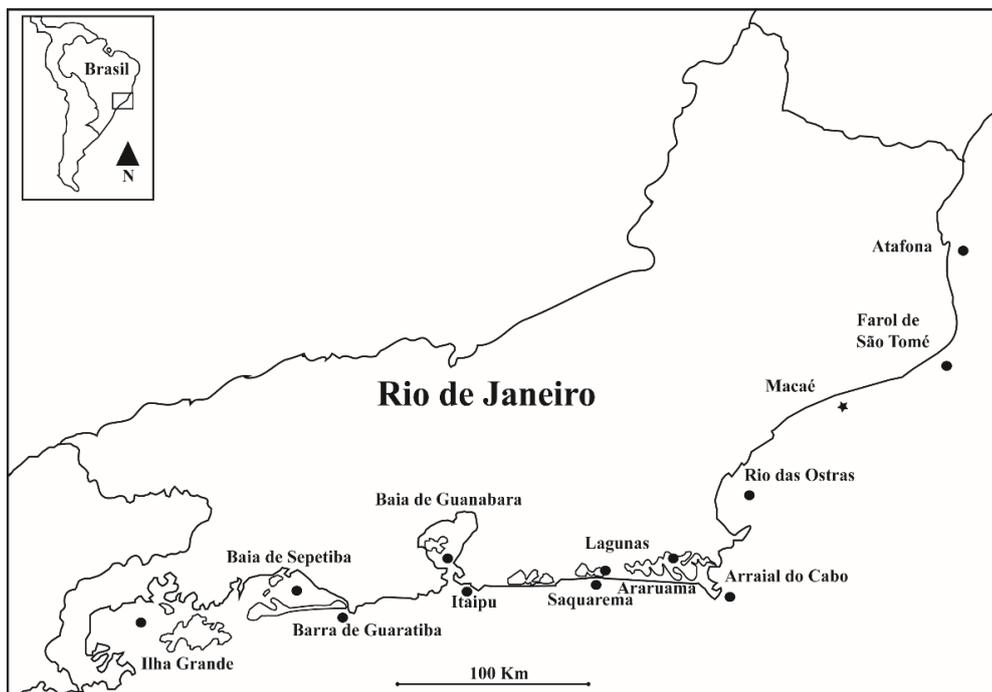


Figura 1. Mapa da área de estudos com as localidades de coleta indicadas.

Ilha Grande: Possui 800 km² e localiza-se na extremidade sul do Estado, entre o extremo oeste da restinga da Marambaia (23°04'36"S; 44°01'18"O) e a ponta da Joatinga (23°17'36"S; 44°30'06"O) (Teixeira, 2009). Apresenta um complexo de ilhas e consiste de dois corpos d'água separados por uma constrição formada entre o continente e a Ilha Grande (Signorini, 1980). A circulação da água tem sentido horário e é quase estacionária e independente de ventos e marés, com as águas das plataformas mais frias e salgadas penetrando a oeste da ilha fluindo para leste (Signorini, 1980; Ikeda *et al.*, 1989). A salinidade é bem homogênea ao longo da baía por possuir pouco aporte de águas continentais (composta apenas de pequenos rios e riachos), com média de aproximadamente 35. A baía não foi tratada como sistema estuarino neste trabalho por não apresentar características de ambientes semifechados, com um gradiente de salinidade e não terem sido capturados juvenis da espécie alvo (por motivo metodológico). A bacia hidrográfica contribuinte à baía possui uma superfície de 1.740 km² (SEMADS, 2001) (Figura 2).

Baía de Sepetiba: A leste da Ilha Grande está situada a baía de Sepetiba (23°03' – 23°01'S e 43°01' – 43°36'O), uma baía semifechada com aproximadamente 450 km². Dividida em duas zonas principais: uma zona mais interna que sofre influência do rio Guandu e uma zona mais externa com maior influência de águas marinhas vindas da baía da Ilha Grande e do mar (pelo canal que se forma entre a Ilha Grande e a porção oeste da restinga da Marambaia). Possui média de salinidade em torno de 30, sendo aproximadamente 33 na zona mais externa e 28 na zona mais interna (Pessanha & Araújo, 2003). A bacia hidrográfica contribuinte à baía possui uma superfície de 2.654 km² (SEMADS, 2001). Apresenta grande influência antrópica composta de um pólo industrial no entorno da baía e um porto onde são transportados minério de ferro e carvão principalmente (Figura 2).

Baía da Guanabara: A baía de Guanabara está situada na região mais central da costa do Estado (22°41' - 22°03'S; 43°16' - 43°01'O) possui 384 km² (destes, 56 km² são ilhas). A salinidade varia de 21 na parte mais interna a 34 no canal principal (Kjerfve, 1997). Devido às diversas atividades antrópicas que ocorrem dentro e no entorno o sistema é considerado impactado e eutrofizado, porém ainda funciona como área de berçário para muitas espécies de peixes. Ao fundo da baía existe uma área de proteção ambiental onde se encontra a maior extensão de mangues da costa do Estado. A bacia de drenagem tem uma área de 4080 km², constituída por 32 sub-bacias hidrográficas separadas com 91 rios e canais (Kjerfve *et al.*, 1997) (Figura 2).

Zona costeira/plataforma interna: Barra de Guaratiba, Itaipu e Saquarema. As áreas costeiras citadas foram escolhidas por serem áreas abertas da plataforma continental adjacente a algum sistema estuarino. Guaratiba é mais próxima da Baía de Sepetiba, Itaipu (Figura 2) é mais próxima da Baía de Guanabara (Figura 2) e Saquarema é mais próxima da Laguna de Saquarema e Araruama (Figura 3). Em todos esses pontos a pesca realizada é do tipo artesanal, próximas a pequenas ilhas oceânicas.



Figura 2. Vista parcial das Baías de Ilha Grande, Sepetiba e Guanabara. Barra de Guaratiba e Itaipu. Google Earth em 19/04/2017.

Laguna de Saquarema: O complexo lagunar de Saquarema está localizado na porção norte-fluminense do Estado ($22^{\circ}54' - 22^{\circ}55'S$ e $42^{\circ}35' - 42^{\circ}28'O$) possui uma área de $21,2 \text{ km}^2$ e uma profundidade média de $1,15 \text{ m}$. A laguna é formada por quatro compartimentos interligados e apresenta uma salinidade média de 35, próxima a salinidade do mar (Azevedo, 2005), podendo variar de 22 na porção mais interna e 40 na porção mais externa (Franco, 2011). Knoppers *et al.* (1991), calculou o tempo de renovação de 50% da água da Zona Interna (Mombaça) e Zona Externa (Fora) em 23 e 6 dias respectivamente. A bacia hidrográfica contribuinte à baía possui uma superfície de 215 km^2 (SEMADS, 2001) (Figura 3).

Laguna de Araruama: A laguna de Araruama situada à 10 km a norte da Laguna de Saquarema ($22^{\circ}54' - 22^{\circ}52'S$ e $42^{\circ}23' - 42^{\circ}00'O$) é considerada uma das maiores lagunas costeiras permanentemente hipersalinas do mundo e a maior do Brasil (Kjerfve, 1986). A laguna juntamente com o canal de entrada (canal de Itajurú) possui uma área de 210 km^2 , com média de profundidade de 3 m e profundidade máxima de 17 m . Possui uma média de salinidade 46 (Kjerfve *et al.*, 1996), resultado de condições climáticas semiáridas, pouco aporte de água doce e estreita conexão com o mar. Há um fluxo de pequenos riachos intermitentes que deságuam na laguna de Araruama que são as únicas fontes de escoamento notável (Kjerfve *et al.*, 1996). A renovação de 50% da água de toda laguna leva em torno de 84 dias (Kjerfve, 1994). As margens da laguna são tomadas em sua maior parte por moradias e produtoras de sal (salinas). A bacia

hidrográfica contribuinte à baía possui uma superfície de 440 km² (SEMADS, 2001) (Figura 3).

Áreas de ressurgência: Arraial do Cabo, Cabo Frio e Rio das Ostras estão situadas em local que sofre influência de uma corrente de ressurgência, mais acentuada durante o verão (entre setembro e abril) (Valentin, 1984), a corrente traz águas mais frias (18°C) e nutritivas que aumentam a produtividade primária favorecendo o aumento de biomassa e consequente disponibilidade de alimento para de muitas espécies (Gonzalez *et al.*, 1992). A região possui pouco aporte de águas continentais, compostas de pequenos rios e lagunas abastecidas por poucos riachos (Figura 3).



Figura 3. Vista parcial das Lagunas de Saquarema e Araruama, Zona costeira de Saquarema e área de Ressurgência de Arraial do Cabo, Cabo Frio e Rio das Ostras.

Proximidades do estuário do rio Paraíba do Sul: O Estuário do rio Paraíba do Sul (21°37'S e 41°0'O) é o maior rio na zona litoral da região sudeste do Brasil, com uma área de drenagem de aproximadamente 55.500 km², e uma zona de mangue de aproximadamente 8 km². A salinidade dentro do estuário do Rio Paraíba do Sul é regulada pela entrada fluvial, marés e correntes costeiras. A Praia do Farol de São Tomé, onde foram capturadas corvinas jovens, está situada a aproximadamente 40 km ao sul da boca do estuário e recebe influência

do mesmo através das correntes costeiras que descem em direção ao sul. O local também recebe influência da Lagoa Feia, lagoa de água doce com 170 km² de área e canal de conexão com o mar com aproximadamente 15 km de extensão e 170 m de largura. A região costeira onde foram capturadas as corvinas adultas situa-se em Campos dos Goytacazes e a pesca foi realizada a aproximadamente 100 km de distância da boca do estuário (Figura 4).



Figura 4. Vista parcial do cabo do Farol de São Tomé, Estuário do Rio Paraíba do Sul e litoral de Campos dos Goytacazes.

2.2 Tratamento das amostras

Os indivíduos utilizados neste estudo foram capturados ou adquiridos por meio da pesca artesanal no interior do que consideramos como sistemas estuarinos (Baía de Sepetiba, Baía de Guanabara, Laguna de Saquarema, Laguna de Araruama e praia de Farol de São Tomé) e na zona costeira adjacente a cada sistema estuarino (Ilha Grande, Barra de Guaratiba, Itaipu, Saquarema, Arraial do Cabo, Macaé e Campos dos Goytacazes). Dos 353 indivíduos 73 foram capturados no ano de 2010 em cada um dos locais: Ilha Grande (19), Baía de Sepetiba (11), Barra de Guaratiba (10), Arraial do Cabo (12), Farol de São Tomé (13) e Campos dos Goytacazes (8). Em 2015 foram capturados indivíduos de Arraial do Cabo (25), Baía de Sepetiba (22), Baía de Guanabara (33), Itaipu (28), Saquarema (27) e Araruama (25). Em 2016 foram capturados peixes de Ilha Grande (60) e Macaé (60). Juvenis e jovens subadultos foram capturados no interior dos sistemas estuarinos e jovens subadultos e adultos nos sistemas

costeiros adjacentes, classificados de acordo com Vazzoler (1991): recrutas <7 cm; juvenis entre 7 e 15 cm; subadultos entre 15 e 27,5 cm e adultos acima de 27,5 cm.

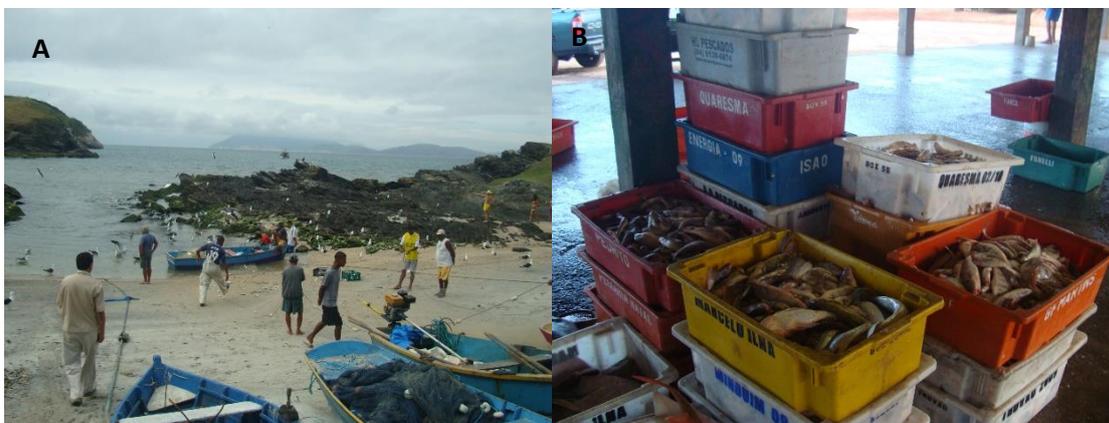


Figura 5. Fotos do desembarque da pesca artesanal de Cabo Frio (A) e Arraial do Cabo (B).

Os peixes foram transportados em gelo (Figura 6.A) e em laboratório foram registrados dados referentes ao comprimento total (cm), peso (g) e sexo (Figura 6.B), tiveram seus otólitos removidos com o auxílio de pinças, lavados em água destilada, medidos nas faces de largura e espessura com paquímetro digital, pesados em balança de precisão e fotografados em um estereomicroscópio Leica M205c com câmera digital acoplada. O otólito *Sagittae* esquerdo foi emblocado em resina acrílica (Figura 6.C) e cortado em seções transversais de 0,5 mm em serra metalográfica de baixa rotação (IsoMet-Buehler) até alcançar o núcleo (Figura 6.D). Os cortes foram colados em lâminas de vidro com cola de secagem rápida e lixados com lixas Micro Mesh abrasivas de granulometria 6000, 8000 e 12000.



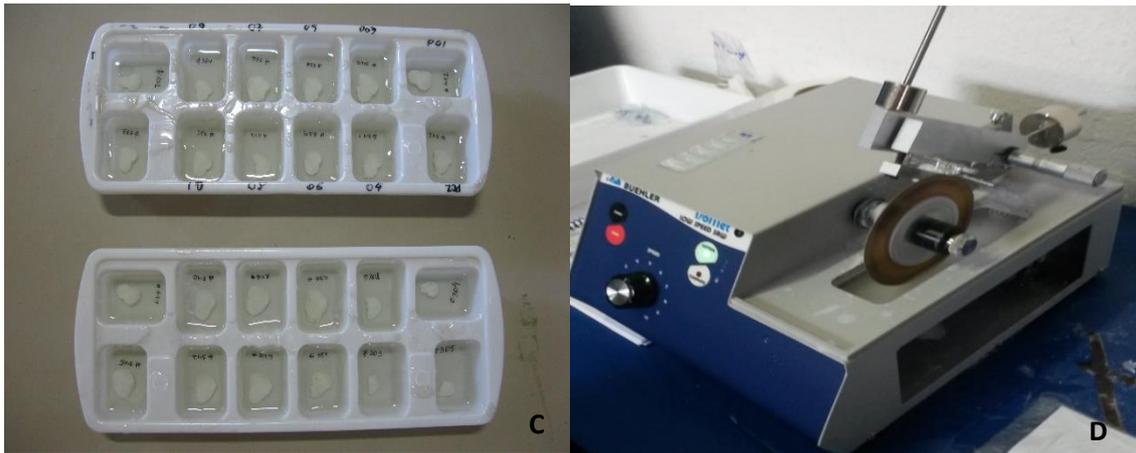


Figura 6. Fotos de parte das etapas da metodologia. Corvinas transportadas no gelo (A); Remoção dos otólitos *Sagittae* (B); Emblocamento em resina (C); Corte em serra metalográfica (D).

2.3 Análise microquímica

A quantificação das concentrações de Ca^{43} , Sr^{86} , Sr^{87} , Ba^{138} , Mg^{24} e Mn^{55} os otólitos foi realizada no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da PUC-RJ. Os equipamentos utilizados foram um sistema de ablação a laser 255 nm CETAC LSX-100 e o espectrômetro de massas (ICPMS) (Perkin Elmer Nexion 300x) (Figura 7). ICPMS foi previamente calibrado utilizando o método “performance diária” para otimização de sinal e redução de interferências usando óxidos e íons de dupla carga. Após cada 10 varreduras era realizada uma varredura de branco, ou seja, sem o funcionamento do laser. A precisão do sinal foi determinada através do desvio padrão relativo calculado sobre 10 medições consecutivas do padrão de referência NIST 611, utilizando a mesma configuração de laser e do ICPMS e resultando em desvios de (4,10 (Ba^{138}); 4,84 (Mn^{55}); 3,36 (Mg^{24}); 3,30 (Ca^{43}); 3,59 (Sr^{86}); 4,55 (Sr^{87})). Os perfis foram realizados do núcleo até a borda de cada otólito e cada lâmina foi fotografada com escala após o procedimento com o laser (Figura 8).



Figura 7. Equipamento de LA-ICPMS da PUC-RJ utilizado no estudo.

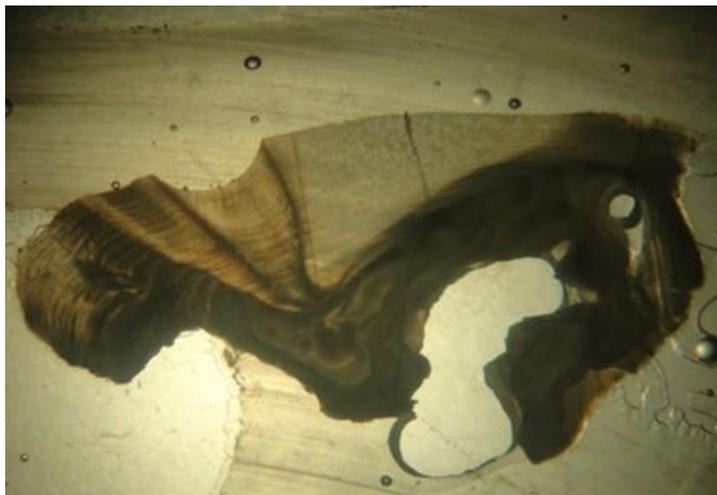


Figura 8. Foto de uma secção de otólito após o procedimento em LA-ICPMS.

Esta tese é apresentada em 3 capítulos:

No primeiro capítulo são apresentados padrões de movimentos e de uso dos sistemas semifechados e da zona costeira aberta. Partindo da premissa de que corvinas utilizam sistemas estuarinos durante a fase inicial do seu ciclo de vida e migram para a plataforma quando adultos, testamos a hipótese de que exista uma diferenciação individual de uso, onde alguns indivíduos retornam para o ambiente estuarino após a fase adulta e alguns indivíduos não precisam utilizar sistemas estuarinos para completar seu ciclo de vida. Para isso são avaliados os perfis elementares de estrôncio e bário das corvinas capturadas no interior dos principais sistemas estuarinos e alguns locais da zona costeira.

No segundo capítulo avaliamos a contribuição dos sistemas estuarinos para a composição do estoque de corvinas da região costeira do Estado. Partindo da premissa de que sistemas semifechados atuam como áreas de berçários para corvinas testamos a hipótese de que os sistemas semifechados do Rio de Janeiro são os principais responsáveis para composição dos estoques de corvinas adultas da costa do Estado. Para isso identificamos padrões de concentrações elementares presentes em otólitos de peixes do interior de cada um dos sistemas estuarinos para compará-los com as concentrações dos peixes capturados na zona costeira.

No terceiro capítulo testamos a existência de dois diferentes estoques populacionais de corvina entre costa sul e norte do Estado. Partindo da premissa de que as correntes possam atuar como barreira para a dispersão de algumas espécies, testamos a hipótese de que a corrente presente na porção norte do Estado funcione, pelo menos em parte, como barreira para a conectividade das corvinas dos extremos do Estado. Para isso testamos as concentrações elementares, isótopos de carbono e oxigênio e alterações na composição genética de amostras dos extremos sul e norte do Estado.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTMAYER, F.L. 1999. Pescadores artesanais no estuário da Lagoa dos Patos, RS: uma análise de sua percepção do meio natural como subsídio para um projeto de educação ambiental. Dissertação de Mestrado em Educação Ambiental, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- AVIGLIANO, E., VELASCO, G., VOLPEDO, A.V. 2015. Assessing the use of two southwestern Atlantic estuaries by different life cycle stages of the anadromous catfish *Genidens barbatus* (Lacépède, 1803) as revealed by Sr: Ca and Ba: Ca ratios in otoliths. *J Appl Ichthyol* 31, 740-743
- AZEVEDO, F.B.B. 2005. Modelagem da capacidade de suporte da laguna de Saquarema - RJ após uma abertura de conexão permanente com o mar. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- CALADO, L. 2006. Dinâmica da interação da atividade de meso-escala da Corrente do Brasil com o fenômeno da ressurgência costeira ao largo de Cabo Frio e Cabo de São Tomé, RJ. Tese de Doutorado, Instituto Oceanográfico, USP, São Paulo. 184 pg.
- CAMPANA, S. E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, 188, 263-297.
- CAMPANA, S.E AND NEILSON, J.D. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Can J Fish Aquat Sci* 39, 937-942
- CASTELLO, J. P. 1986. Distribución, crecimiento y maduración sexual de la corvina juvenil (*Micropogonias furnieri*) en el estuario de la "Lagoa dos Patos", Brasil. *Physis* 44, 21-36
- COOK, G. S., PARNELL, P.E. & LEVIN, L. A. 2014. Population connectivity shifts at high frequency within an open-coast marine protected area network. *Plos One*, vol 9 (7),103654.
- COSTA, M. R., & ARAUJO, F. G. 2003. Use of a tropical bay in southeastern Brazil by juvenile and subadult *Micropogonias furnieri* (Perciformes, Sciaenidae), *ICES J of Mar Science* (02), 268-277.
- D'ANATRO, A., PEREIRA, A. N., & LESSA, E. P. 2011. Genetic structure of the white croaker, *Micropogonias furnieri* Desmarest 1823 (Perciformes: Sciaenidae) along Uruguayan coasts: contrasting marine, estuarine, and lacustrine populations. *Environmental Biology of Fishes*, 91(4), 407-420.

ELSDON T.S., GILLANDERS, B.M., 2005. Consistency of patterns between laboratory experiments and field collected fish in otolith chemistry: an example and applications for salinity reconstructions. *Mar. Fresh. Res.* 56, 609-617.

FIGUEIREDO, G.M., VIEIRA, J.P., 2005. Diel feeding, daily food consumption and the predatory impact of Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) in an estuarine environment. *Marine Ecology* 26, 130-139.

FAO, 2012. Estado da Pesca Mundial. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

GONÇALVES, A. A., 1997. Ontogenia trófica e morfológica da corvina *Micropogonias furnieri* (Sciaenidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos RS, Brasil. Dissertação de Mestrado. Rio Grande. 132p.

GONZALES-RODRIGUEZ, E., VALENTIN, J. L., ANDRÉ, D.L., JACOB, S.A. 1992. Upwelling and downwelling at Cabo Frio (Brazil): comparison of biomass and primary production responses. *Journal of Plankton Research*, 14(2), 289-306.

INSTITUTO FEDERAL DE PESCA DO RIO DE JANEIRO (FIPERJ), 2013. Diagnóstico da Pesca do Estado do Rio de Janeiro Diagnóstico da Pesca no Estado do Rio de Janeiro.

HAIMOVICI, M., MARTINS, A.S., VIEIRA, P.C. 1996 Distribuições abundância de peixes teleosteos demersais sobre a plataforma continental do Sul do Brasil. *Rev Bras Biol* 56, 27-50

HAIMOVICI, M., IGNACIO, J.M. 2005. *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). In: Rossi CLW, Cergole MC, Ávila-da-Silva AO (eds) *Análise das Principais Pescarias Comerciais da Região Sudeste-Sul do Brasil: Dinâmica Populacional das Espécies em Exploração..Série Documentos Revizee-Score Sul*, São Paulo, pp 101-107.

ISAAC, V. J. 1988. Synopsis of biological data on the Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). *FAO Fisheries Synopsis N.* 150, 35p.

IKEDA, Y., FURTADO, V.V., TESSLER, M.G., CACCIARI, P.L., GODOI, S.S., PAVIGLIONE, A.M., MAHIQUES, M.M. & SOUZA, C.R.G. 1989. "Cruzeiro oceanográfico realizado na Baía da Ilha Grande (RJ), região oceânica adjacente e plataforma continental dos estados de São Paulo e Paraná (set-out 1984)". *Bolm. Instituto Oceanográfico*, São Paulo, (7) pp. 1-27.

KJERFVE, B., 1986. Comparative oceanography of coastal lagoons. In Wolfe, D. (ed.), *Estuarine Variability*. Academic Press, New York, USA, 509, 63-81.

KJERFVE, B. 1994. Coastal Lagoon Processes ed B. Kjerfve, Elsevier Oceanography Series, 60 Amsterdam.

KJERFVE, B., SCHETTINI, C.A.F., KNOPPERS, B., LESSA, G. & FERREIRA, H.O. 1996. Hydrology and Salt Balance in a Large, Hypersaline Coastal Lagoon: Lagoa de Araruama, Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 42, 701-725.

KJERFVE B., RIBEIRO C.H.A., DIAS G.T.M., FILIPPO A.M., QUARESMA V.S. 1997. Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. *Continental Shelf Research*, 17, 1-13.

LEVY, J.A., MAGGIONI, R., CONCEIÇÃO, M.B., 1998. Close genetic similarity among populations of the white croaker (*Micropogonias furnieri*) in the south and south-eastern Brazilian Coast. I. Allozyme studies *Fish Res.* 39, 87-94.

LIMA D. 2005. Genética de populações da corvina *Micropogonias furnieri* e sistemática molecular da maria-da-toca *Bathygobius soporator*. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 116 pg.

LOWE-MCCONNELL. R.H. 1966. The sciaenid fishes of British Guiana. *Bull. Mar. Sci.* 16(1), 20-57.

MACCHI, G.J., & CHRISTIANSEN, H.E. 1992. Estudio histológico del ciclo reproductivo en hembras de la corvina rubia (*Micropogonias furnieri*). Análisis de la estructura madurativa en distintas localidades del área bonaerense. *Frente Marítimo* 11, 47-56.

MACCHI, G. J., ACHA, E. M., & MILITELLI, M. I. 2003. Seasonal egg production of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) in the Río de la Plata estuary , Argentina-Uruguay *America*, 332–342.

MAGGIONI, R., PEREIRA, A., JEREZ, B., MARINS, L., CONCEIÇÃO, M., LEVY, J.A., 1994. Estudio preliminar de la estructura genética de la corvina *Micropogonias furnieri*, entre Rio grande (Brasil) y el Rincon (Argentina). *Frente Maritmo* 15, 127-131.

MPA, 2012. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil, 60p.

MOLLER, O.O.J., P. CASTING, J.-C. SALOMON & P. LAZURE. 2001. The influence of local and non-local forcing effects on the subtidal circulation of Patos Lagoon. *Estuaries* 24, 297- 311.

MORALES-NIN, B. 2000. Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fisheries Research* 46, 53-67.

NELSON, J. S. 2006. *Fishes of the World*, 4th edn. New York, NY: John Wiley and Sons Inc. Njoku, D. C. & Ezeibekwe, I. O. Age composition and growth of the

large-scaled mullet, *Liza grandisquamis* (Pisces: Mugilidae), Valenciennes, 1836 on the New Calabar estuary, off the Nigerian coast. *Fisheries Research* 26, 67-73.

PANNELLA, G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science (Wash., D.C.)*.

PESSANHA A.L.M. AND ARAÚJO F.G. 2003. Spatial, temporal and diel variations of fish assemblages at two sandy beaches in the Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 57, 817-828.

PUCHNICK-LEGAT, A., LEVY, J.A., 2006. Genetic structure of brazilian populations of white mouth croaker *Micropogonias furnieri* (Perciformes: Sciaenidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 49, 429-439.

REIBISCH, J.. 1899. Ber die Eizahl be *Pleuronectes platessa* in die Altersbestimmung dieser Form aus den otolithen. *Wissenschaftliche Meeresuntersuchen (Abteilung Kiel)*, 4, 231-248.

REIS-SANTOS, P., GILLANDERS, B. M., TANNER, S. E., VASCONCELOS, R. P., ELSDON, T. S., & Cabral, H. N. 2012. Temporal variability in estuarine fish otolith elemental fingerprints: Implications for connectivity assessments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 112, 216-224.

ROBERT, M. D. C., & CHAVES, P. D. C. 2001. Observações sobre o ciclo de vida da corvina, *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (teleostei , Sciaenidae), no litoral do Estado do Paraná , *Brasil* 1, 18(2), 421-428.

SANTOS, R. S. ; SILVA, J. P. C. ; COSTA, M. R.; ARAÚJO, F. G. 2015. O tamanho de primeira maturação como parâmetro para estabelecimento de tamanho mínimo de captura para corvina no sudeste do Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 41, 507-518.

SCHROEDER, F.A., CASTELLO, J.P., 2010. An essay on the potential effects of climate change on fisheries in Patos Lagoon, Brazil. *PANAMJAS* 5 (2), 320-330.

SCHWINGEL, P.R., CASTELLO, J.P., 1990. Validación de la edad y crecimiento de la corvina (*Micropogonias furnieri*) en el sur de Brasil. *Frente Maritmo* 7, 19-24.

SECOR, D. 1999. Specifying divergent migrations in the concept of stock: the contingent hypothesis. *Fisheries Research*, 43(1-3), 13-34.

SEMADS 2001. Ambiente das Águas no Estado do Rio de Janeiro. Cooperação Técnica Brasil-Alemanha, Projeto PLANÁGUA-SEMADS/GTZ, Rio de Janeiro.

SIGNORINI, S.R. 1980. A study of the circulation in Bay of Ilha Grande and bay of Sepetiba. Parte I. A survey of the circulation based on experimental field data. Boletim do instituto oceanográfico, São Paulo, 29(1), 41:55.

SUZUKI, H., A.E.A. DE M. VAZZOLER AND V.N. PHAN. 1983. Estudo electroforético de proteínas de músculo esquelético de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) da costa SE-S do Brasil. 1, Considerações técnicas. Bol.Inst.Oceanogr., São Paulo, 32(2), 153-65

TEIXEIRA, T. P. 2009. Avaliação do impacto do sistema de resfriamento da Usina Nuclear de Angra dos Reis na comunidade de peixes de costões rochosos e na estrutura do habitat. INSTITUTO DE BIOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL DISSERTAÇÃO 73p.

WALTHER, B. D., DEMPSTER, T., LETNIC, M., & MCCULLOCH, M. T. 2011. Movements of Diadromous Fish in Large Unregulated Tropical Rivers Inferred from Geochemical Tracers, 6(4).

WANG, C., C. HSU, C. CHANG, C. YOU, AND W. TZENG. 2010. The Migratory Environmental History of Freshwater Resident Flathead Mullet *Mugil cephalus* L. in the Tanshui River, Northern Taiwan. Zoological Studies 49: 504-514.

VALENTIN, J.L. 1984. Analyse des parametres hydrobiologiques dans la remontee de Cabo Frio (Brésil).Mar. Biol. 82: 259-276.

VASCONCELOS, M., HAIMOVICI, M. 2006. Status of white croaker *Micropogonias furnieri* exploited in southern Brazil according to alternative hypotheses of stock discreteness. Fisheries Research 80, 196-202.

VASCONCELLOS, A. V. DE, LIMA, D., BONHOMME, F., VIANNA, M., & SOLÉ-CAVA, A. M. 2015. Genetic population structure of the commercially most important demersal fish in the Southwest Atlantic: The whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*). Fisheries Research, 167, 333-337.

VASCONCELOS, R.P., REIS-SANTOS, P., TANNER, S., FONSECA, V., LATKOCZY, C., GÜNTHER, D., COSTA, M.J., CABRAL, H., 2007. Discriminating estuarine nurseries for five fish species through otolith elemental fingerprints. Marine Ecology Progress Series 350, 117-126.

VAZZOLER, A.E.A.M. 1971 Diversificação fisiológica e morfológica de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) ao sul de Cabo Frio, Brasil. Boletim do Instituto Oceanográfico, 20, 1-70.

VAZZOLER, G. 1975. Distribuição da fauna de peixes demersais e ecologia dos Sciaenidae da plataforma continental brasileira, entre as latitudes 29° 21' S (Torres) e 33° 41' S (Chuí). Boletim do Instituto Oceanográfico 24, 85-169.

VAZZOLER, G. & PHAN, V. N. 1981. Ocorrência da catarata em *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1822), na área entre Cabo Frio e Torres (23°S - 29°21'5), Brasil: investigação de causas e estudo eletroforético das proteínas totais dos cristalinos. Bolm Inst. oceanogr., 5 Paulo, 30(1), 65-76.

VAZZOLER, A.E.A. DE M. AND V.N. PHAN. 1989. Padrões electroforéticos de proteínas gerais de cristalino de *Micropogonias furnieri* (Demarest, 1823), da costa sudeste-sul do Brasil: estudo populacional. Bolm. Inst. Oceanogr. São Paulo, 37, 21-28.

VOLPEDO, A. V.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M. 2015. Métodos de estudios con otolitos: principios y aplicaciones. Métodos de estudos com otólitos: princípios e aplicações. 1a ed. edición bilingue. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 224 pg.

CAPÍTULO I

Título: Padrões de movimento da corvina *Micropogonias furnieri* entre ambientes estuarinos e a plataforma interna do Estado do Rio de Janeiro

Autores: Franco, T. P.¹, Albuquerque, C. Q., Santos, R. S., Silva, J. P. do C. e Araújo², F. G¹.

Resumo: A corvina *Micropogonias furnieri* apresenta ciclo de vida complexo, passando fases em diferentes tipos de habitats. Geralmente os juvenis recrutam em ambientes estuarinos e migram, quando adultos, para a plataforma continental. Essa migração entre ambientes parece ser importante para que se complete o ciclo de vida. Estudos anteriores observaram movimentos realizados pelas corvinas através da estrutura de tamanho de populações em sistemas estuarinos. O objetivo deste trabalho foi determinar padrões de movimentos e uso dos diferentes sistemas estuarinos e costeiros adjacentes no estado do Rio de Janeiro através da identificação de perfis delineados pelas concentrações elementares nos otólitos. Perfis de Sr⁸⁶ e Ba¹³⁸ em otólitos de corvinas de três sistemas estuarinos (Baías de Sepetiba e Guanabara e Laguna de Araruama) e cinco de áreas costeiras adjacentes aos sistemas estuarinos foram analisados através de concentração elementar em relação ao Ca⁴³. Faixas de uso dos sistemas foram definidas de acordo com a concentração de Sr:Ca na borda dos otólitos e a salinidade do ambiente em que foram capturadas. Razões entre 0 – 0,2 Sr:Ca foram consideradas provenientes de ambiente de água doce, de 0,2 – 0,6 estuarinas e a partir de 0,6 marinhas. Para os peixes adultos capturados na costa, dois perfis principais foram encontrados: (1) Marinho Migrante (86%) que compreende os peixes que passam a fase inicial da vida dentro de sistemas estuarinos e realizam uma migração definitiva para plataforma continental, e (2) Misto (13%) que compreende os peixes que além de passarem a fase inicial dentro de sistemas estuarinos realizam visitas de volta aos estuários após a fase adulta. A maior parte dos indivíduos possui sinais químicos referentes ao uso de ambientes estuarinos ao longo do ciclo de vida, porém não parece ser uma regra, já que alguns indivíduos não apresentaram esses sinais. O tipo de perfil encontrado nas corvinas pode estar relacionado ao estuário onde a mesma recrutou; sistemas maiores e com maior conexão com o mar parecem facilitar os movimentos de entrada e saída de indivíduos adultos favorecendo a ocorrência do tipo Misto.

Palavras-chave: microquímica de otólitos, migração, ciclo de vida.

Title: Patterns of movement of the Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* between the estuarine systems and the adjacent platform of the Rio de Janeiro State

Autores: Franco, T. P.¹, Albuquerque², C. Q., Santos¹, R. S., R. S., Silva, J. P. do C. e Araújo, F. G¹.

Abstract: The whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* spend different phases of life cycle in different habitats. Overall spawning occurs in the inner platform near to estuarine systems (e.g. bays, coastal lagoons and estuaries) that are rearing grounds for juveniles and subadults, then migrating to inner shelf when adults. Such movements between the estuarine habitats and the adjacent coastal areas may be important to fulfill the life cycle, and have been assessed in some studies through studies based on population size structure. Our main aim was to assess movement patterns and the use of different estuarine and coastal systems along the Rio de Janeiro coast through the identification of profiles of elemental concentration rates in otoliths. Sr⁸⁶:Ca⁴³ and Ba¹³⁸:Ca⁴³ ratios in otoliths by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICPMS). Individuals in three estuarine systems (Sepetiba and Guanabara Bays and Araruama Lagoon) and five areas of the inner platform near to the estuarine systems were analyzed. Ranges of standard use of the systems were defined according to the Sr:Ca ratio at the otolith edge and water salinity in three groups: 0 – 0.2 Sr:Ca for freshwater; 0.2 – 0.6 for estuarine areas; and > 0.6 for marine areas. Two profiles were found for adult fish from the inner platform: (1) Migrant marine (86% of the individuals) that spend their early life in estuarine systems and perform a single migration to the sea; and (2) Mixed (13%) that spend their early life in estuarine systems, and perform several movements between the estuary and the adjacent inner platform, with such movements being performed during adulthood. Most individuals had chemical signals associated with the use of estuarine systems along life cycle, but it is not necessarily a rule, since for some individuals did not have such signals. The type of profile seems to be associated to the estuarine systems where *M. furnieri* spent their early life. Large systems with wide sea connection may facilitate such incoming and outgoing movements in the estuarine environment favoring the type Mixed profile.

Key words: otolith microchemistry, migration, life cycle.

1. INTRODUÇÃO

A corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) é uma espécie de peixe eurihalina, que passa por diferentes ambientes durante seu desenvolvimento. Os juvenis recrutam em ambientes estuarinos de onde tiram proveito das condições favoráveis à alimentação e proteção. Ainda dentro dos sistemas migram para áreas mais profundas de acordo com o crescimento até a migração definitiva, geralmente quando adulto, para desovar na plataforma continental (Vazzoler, 1991; Haimovici *et al.*, 1996; Costa & Araújo, 2003; Albuquerque *et al.*, 2012). Alguns indivíduos podem permanecer dentro de estuários e tenderem a um amadurecimento precoce (Castello, 1986; D'Anatro *et al.*, 2011). Embora o local natural de desova da corvina seja em áreas de plataforma interna próximas a entrada de zonas estuarinas, a desova dentro do estuário não está totalmente descartada.

A maior parte dos estudos de migração e utilização de áreas de berçário utiliza a estrutura de tamanho dos indivíduos para explicar padrões de movimentação entre ambientes estuarinos e a plataforma continental adjacente. O período de tempo em que a espécie passa dentro dos sistemas semifechados ainda não é muito claro, e geralmente a informação está mais bem construída em sistemas específicos onde existem estudos direcionados para determinação destes movimentos, ex., Robert & Chaves na Baía de Guaratuba (2001), Costa & Araújo (2003) na Baía de Sepetiba, Albuquerque *et al.* (2012) e Cavole & Haimovici (2015) na Lagoa dos Patos.

A utilização da microquímica de otólitos em corvinas só foi utilizada, até o presente momento, para a região sul do país, mais precisamente na Lagoa dos Patos-RS por Albuquerque *et al.* (2012) que observaram a dependência estuarina na fase inicial do ciclo de vida e migração para a plataforma adjacente entre 2 e 4 anos. As concentrações de estrôncio e bário foram e têm sido intensamente testadas em sistemas de água doce, estuarina e marinha com a finalidade de demonstrar eventos de dependência e mudança de habitat, entre outras, para diversas espécies (Albuquerque *et al.* 2012; Avigliano *et al.*, 2015; Conдини *et al.*, 2016; Daros *et al.*, 2016; Fortunato *et al.*, 2017).

Estima-se que a corvina dependa dos deslocamentos entre ambientes marinho e estuarino para completar seu ciclo de vida (Menezes e Figueiredo, 1980; Vieira et al, 1998; Robert e Chaves, 2001). Isto é um fator agravante para a conservação da espécie já que sistemas estuarinos são fortemente impactados por atividades antrópicas. Para que se entenda melhor essa dependência e sugerir medidas de manejo do recurso, o objetivo deste estudo foi determinar padrões de movimentos e uso dos diferentes sistemas estuarinos e costeiros adjacentes no estado do Rio de Janeiro através da identificação de perfis delineados pelas taxas de concentração elementares.

Testaremos a hipótese de que existe uma diferenciação individual de uso dos sistemas estuarinos, onde alguns indivíduos retornam para o ambiente estuarino após a fase adulta e alguns indivíduos não precisam utilizar sistemas estuarinos para completar seu ciclo de vida. Para isto foram postuladas as seguintes perguntas: existe uma variação individual no padrão de movimentação das corvinas? Todos os indivíduos possuem uma assinatura com características de ambientes estuarinos na fase inicial do ciclo de vida? Na fase adulta existem indivíduos com características elementares de ambientes estuarinos?

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudos

Para esta etapa do estudo foram utilizadas corvinas provenientes de três sistemas estuarinos semifechados (Baía de Sepetiba- BS, Baía de Guanabara - BG e Laguna de Araruama - ARA). Todos os sistemas considerados como estuarinos possuem um gradiente de salinidade de área mais interna (mais distante da conexão com o mar) para a área mais externa. A variação de salinidade é estuarino específica sendo entre 28 – 33 na BS, 21 – 34 na BG e 32 – 61 na laguna de ARA.

Os locais da costa onde foram capturadas corvinas adultas são próximos a conexões com sistemas estuarinos ao longo da costa. Ilha Grande – IG, onde foram capturados

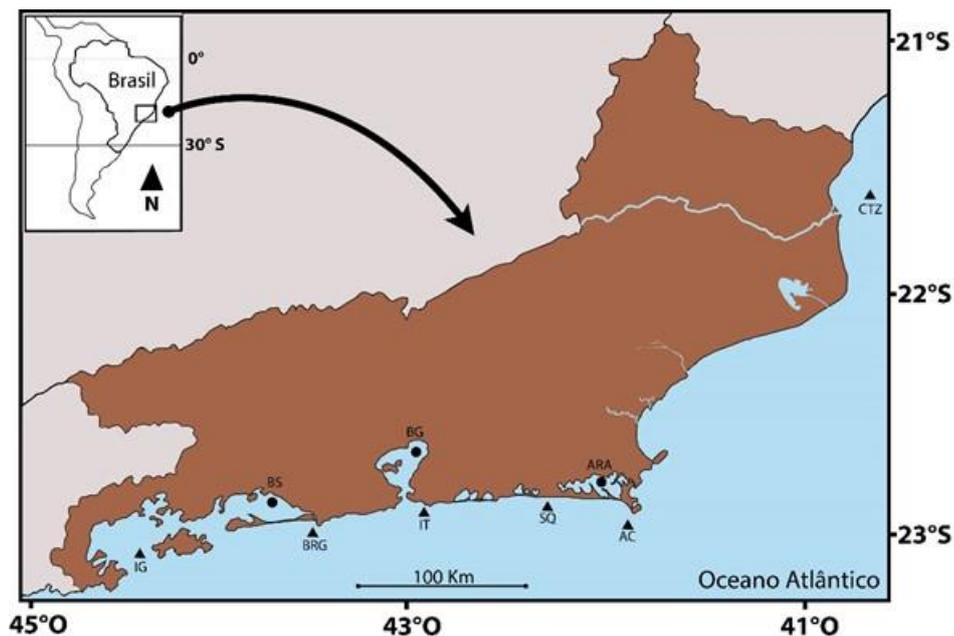


Figura I 1. Mapa do Rio de Janeiro com pontos de coleta identificados. Círculos representam sistemas estuarinos (BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; ARA- Laguna de Araruama) e triângulos representam áreas costeiras da plataforma interna (IG- Ilha Grande; BRG- Barra de Guaratiba; IT- Itaipu; SQ- Saquarema; AC- Arraial do Cabo; CTZ- Campos dos Goytacazes).

2.2 Tratamento das amostras

Foram utilizadas neste estudo 226 indivíduos provenientes da pesca artesanal. Destes, 97 foram capturados em três sistemas semifechados chamados de *estuarinos*: Baía de Sepetiba (36), Baía de Guanabara (37) e Laguna de Araruama (24), e 129 indivíduos adultos capturados na plataforma adjacente até aproximadamente 100 km da linha da costa chamado de sistemas *costeiros*: Ilha Grande (19), Barra de Guaratiba (10), Itaipu (31), Saquarema (28), Arraial do Cabo (33) e Campos dos Goytacazes (8) (Figura 1). Os indivíduos deste trabalho foram classificados por faixa etária de acordo com Vazzoler 1991: recrutas <7 cm; juvenis entre 7 e 15 cm; subadultos entre 15 e 27,5 cm e adultos acima de 27,5 cm.

Os peixes foram transportados em gelo, medidos em comprimento total (CT), pesados (g) e tiveram seus otólitos *Saggitae* removidos, lavados em água

destilada e secos, emblocados em resina acrílica e cortado em secções transversais de 0,5 mm em serra metalográfica de baixa rotação (IsoMet-Buehler) até alcançar o núcleo. Os cortes foram colados em lâminas de vidro com cola de secagem rápida e lixados com lixas Micro Mesh abrasivas de granulometria 6000, 8000 e 12000.

2.3 Leitura de anéis

As secções dos otólitos foram fotografadas em lupa estereoscópica com uma câmera sony DSC-W570 acoplada. Anéis de crescimento foram lidos para auxiliar na interpretação das fases de vida em que os indivíduos poderiam estar se movimentando. As leituras foram realizadas com auxílio do software “Fiji is just Image J” onde também foram medidas as distâncias (mm) entre cada anel e toda a extensão da marca feita pela ablação a laser (do núcleo a borda). Foram considerados como um anel completo a combinação de uma banda opaca e uma banda translúcida de acordo com Morales-Nin (1992). Considerou-se também a formação de um anel por ano de acordo com Schwingel e Castello (1990) e Santos et al (2017). As leituras foram realizadas por três leitores experientes, sendo descontados três anéis de cada leitura referentes aos falsos anéis formados por transições no desenvolvimento durante a fase juvenil (Panfili et al, 2001). Foram calculadas a porcentagem média de erro (EPM) proposto por Beamish, Fournier, 1981 e o coeficiente de variação (CV) proposto por Chang (1982) para avaliar a precisão das leituras.

$$EPM_j = \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|NA_i - NA_j|}{NA_j} \times 100\%$$

$$CV_j = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^R \frac{(NA_i - NA_j)^2}{R-1}}}{NA_j} \times 100\%$$

onde, para as duas equações, R é o número de leituras realizadas, NA_i é o número de anéis lidos e NA_j é o número médio de anéis.

Os valores encontrados para o CV e APE foram de 6,93% e 5,27%, respectivamente, o que indica um baixo desvio em relação as médias das leituras.

2.4 Análise de dados

As medidas de concentrações de cálcio (Ca^{43}), estrôncio (Sr^{86}) e bário (Ba^{138}) dos otólitos foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da PUC-RJ. Utilizou-se um sistema de ablação a laser 255 nm CETAC LSX-100 e o ICPMS (Perkin Elmer Nexion 300x). O ICPMS foi previamente calibrado utilizando o método “performance diária” para otimização de sinal e redução de interferências usando óxidos e íons de dupla carga. Após cada 10 varreduras foi realizada uma varredura de branco, ou seja, sem o funcionamento do laser. A precisão do sinal foi determinada através do desvio padrão relativo calculado sobre 10 medições consecutivas do padrão de referência NIST 611, utilizando a mesma configuração de laser e do ICPMS e resultando em desvios de (4,10 (Ba^{138}); 3,30 (Ca^{43}); 3,59 (Sr^{86})). Os perfis foram realizados do núcleo até a borda de cada otólito.

Os resultados das leituras de cada elemento foram divididos pelo Ca ao longo do perfil núcleo-borda de cada otólito e foi ajustada uma média móvel de nível 5 para atenuar as flutuações de sinal características da técnica e permitir uma melhor visualização dos padrões (adaptado de Conдини *et al.*, 2016). Assinaturas químicas para cada salinidade foram definidas em faixas para comparação das variações elementares encontradas e foram delimitadas de acordo com a observação da média dos últimos 5 valores e valores mínimos e máximos da concentração elementar de cada indivíduo capturado em cada ambiente (água doce, estuarino e oceânico). Os últimos 5 valores são referentes a borda do otólito, que representa material mais recentemente depositado. Foi realizada uma análise variância com teste *a posteriori* de Tukey para comparar

os locais entre os sistemas estuarinos e um teste para comparar os locais entre os sistemas costeiros das médias de Sr:Ca e Ba:Ca.

Para a caracterização de assinaturas químicas em otólitos de peixes provenientes de água doce, foram utilizados indivíduos capturados na Lagoa Mirim (RS) (detalhes em Albuquerque et al, 2010). Para áreas estuarinas foram utilizados indivíduos capturados no estuário da Lagoa dos Patos (salinidade variando entre 5 – 20) e indivíduos de áreas estuarinas na costa do Rio de Janeiro com salinidades variando entre 21 – 35. Para contemplar a faixa marinha foram utilizados indivíduos capturados em Arraial do Cabo (zona costeira sem influência de aporte de água continental) (Tabela 1). Razões Sr:Ca até 0,2 foram consideradas água doce, entre 0,2 e 0,6 estuarinas e salina a partir de 0,6 (Figura 2).

Tabela I 1. Média e desvio padrão últimos cinco valores de Sr:Ca da borda dos otólitos de cada sistema estuarino; valores mínimo e máximo de salinidade da água também indicada.

Local	Salinidade	Sr:Ca	Sr:Ca
	Mín-Máx	Média±DP	Mín-Máx
Lagoa Mirim	0 – 0,5	0,15±0,01	0,04 – 0,19
Estuário da Lagoa dos Patos	5 - 20	0,32±0,02	0,23 – 0,40
Baía de Guanabara	21 - 35	0,49±0,08	0,35 – 0,60
Baía de Sepetiba	28 - 35	0,53±0,18	0,28 – 0,73
Laguna de Araruama	32 - 62	0,55±0,13	0,38 – 0,72
Arraial do Cabo	36	0,65±0,19	0,62 – 0,98

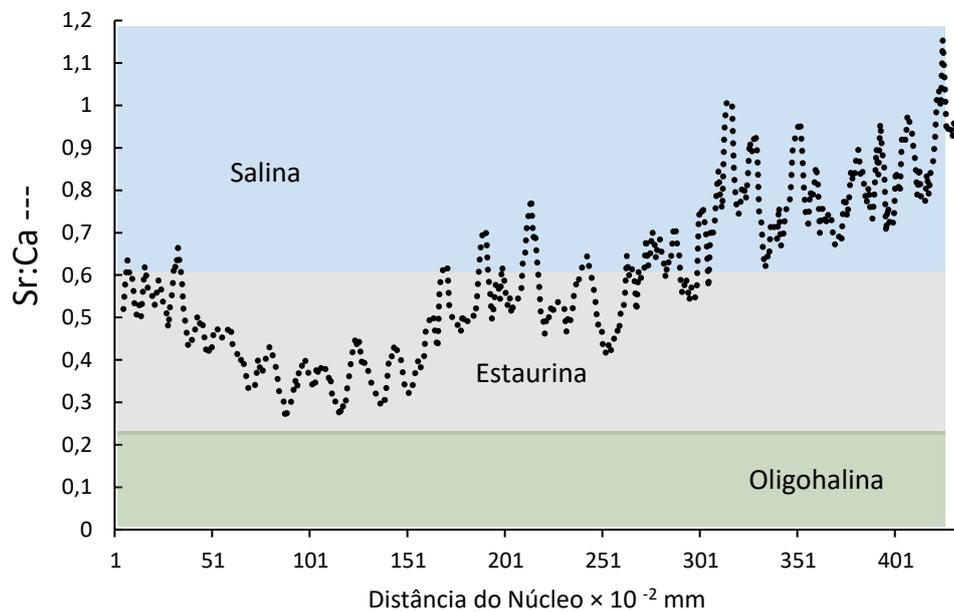


Figura I 2. Faixas de razões de Sr:Ca por gradiente salino para *Micropogonias furnieri*. Indivíduo utilizado no exemplo capturado em Arraial do Cabo medindo 47 cm de CT.

3 RESULTADOS

Os peixes capturados nos sistemas estuarinos mediram de 7,3 a 32 cm de comprimento total, tiveram em média 2,5 anéis anuais e foram classificados como juvenis, subadultos e adultos. A Baía de Guanabara e a Laguna de Araruama apresentaram juvenis e subadultos, enquanto a Baía de Sepetiba apresentou, também, oito indivíduos adultos que foram mantidos nas análises com o objetivo de observar seus perfis já que foram capturados dentro do sistema estuarino. Os peixes da região costeira mediram de 28,5 a 66 cm de comprimento total, tiveram em média seis anéis anuais e todos os indivíduos pertenceram à classe adulta (Tabela 2).

Otólitos da Laguna de Araruama e Baía de Sepetiba tiveram as maiores taxas de Sr:Ca, enquanto o Ba:Ca foi maior somente na Laguna de Araruama (Tabela 2). Otólitos de peixes da costa de Ilha Grande e Arraial do Cabo apresentaram as maiores razões de Sr:Ca e otólitos de Arraial do Cabo e Itaipu tiveram as maiores razões de Ba:Ca (Tabela 2).

Tabela I 2. Número de indivíduos de cada local (n), comprimento mínimo e máximo em cm (CT), média e desvio padrão do comprimento total (CT), Idade mínima e máxima em anos, média e desvio padrão da idade e média e desvio padrão das taxas de Sr:Ca e Ba:Ca nos otólitos de cada local. As letras sobrescritas representam diferenças das razões elementares ($p < 0,05$) entre as localidades.

Locais	n	CT		Idade		Sr:Ca	Ba:Ca ($\times 10^{-3}$)
		Mín-Máx	Média \pm DP	Mín- Máx	Média \pm DP	Média \pm DP	Média \pm DP
Sistemas Estuarinos							
Baía de Sepetiba	36	12,5 – 32,0	23,6 \pm 5,8	0 – 8	2,8 \pm 2,4	0,47 \pm 0,07 ^a	8,0 \pm 2,5 ^a
Baía de Guanabara	39	18,5 – 26,8	21,3 \pm 1,7	0 – 9	3,8 \pm 2,4	0,42 \pm 0,03 ^b	6,6 \pm 1,4 ^a
Laguna de Araruama	22	7,3 – 23,0	14,1 \pm 4,6	0 – 1	0,2 \pm 0,3	0,51 \pm 0,04 ^a	26,2 \pm 12,3 ^b
Sistemas Costeiros							
Ilha Grande	19	28,5 – 58,5	41,6 \pm 9,7	4 – 17	8,4 \pm 2,9	0,55 \pm 0,05 ^a	7,9 \pm 2,8 ^{a,b}
Barra de Guaratiba	10	29,0 – 54,0	36,4 \pm 7,9	3 – 8	4,2 \pm 1,9	0,51 \pm 0,04 ^c	8,9 \pm 2,0 ^{a,b}
Itaipu	31	33,0 – 40,0	37,1 \pm 2,1	2 – 11	4,4 \pm 2,2	0,47 \pm 0,05 ^b	6,4 \pm 1,6 ^a
Saquarema	28	28,0 – 47,0	34,2 \pm 4,8	2 – 9	4,5 \pm 2,5	0,46 \pm 0,04 ^b	6,9 \pm 2,9 ^{a,b}
Arraial do Cabo	33	27,2 – 66,0	45,4 \pm 8,9	2 – 22	7,0 \pm 4,5	0,52 \pm 0,10 ^a	10,2 \pm 8,0 ^b
Campos dos Goytacazes	8	43,1 – 61	52,3 \pm 6,6	4 – 13	8,5 \pm 2,9	0,48 \pm 0,04 ^{a, b, c}	8,7 \pm 3,8 ^{a, b}

3.1 Sistemas estuarinos

Indivíduos dos sistemas estuarinos foram analisados separadamente para que eventuais diferenças nos perfis de movimentação fossem observadas. Em uma análise geral, os juvenis parecem se manter dentro da faixa estuarina, principalmente nas baías (0,2 – 0,6) (Figuras 3 e 4), enquanto os peixes da Laguna de Araruama (Figura 5) se mantêm bem próximos ao limite da faixa e muitas vezes acima da mesma. Os subadultos começam a apresentar um perfil de oscilação entre as faixas marinha e estuarina a partir da formação do primeiro anel anual aproximadamente. Os peixes da Baía de Sepetiba (Figura 3) possuem esse perfil de oscilação em maior número de indivíduos, embora a visita à faixa marinha ocorra de forma mais precoce nos peixes da Baía de Guanabara (Figura 4). Os adultos capturados na Baía de Sepetiba apresentaram um perfil oscilatório entre as faixas estuarina e marinha em todos os casos.

Baía de Sepetiba

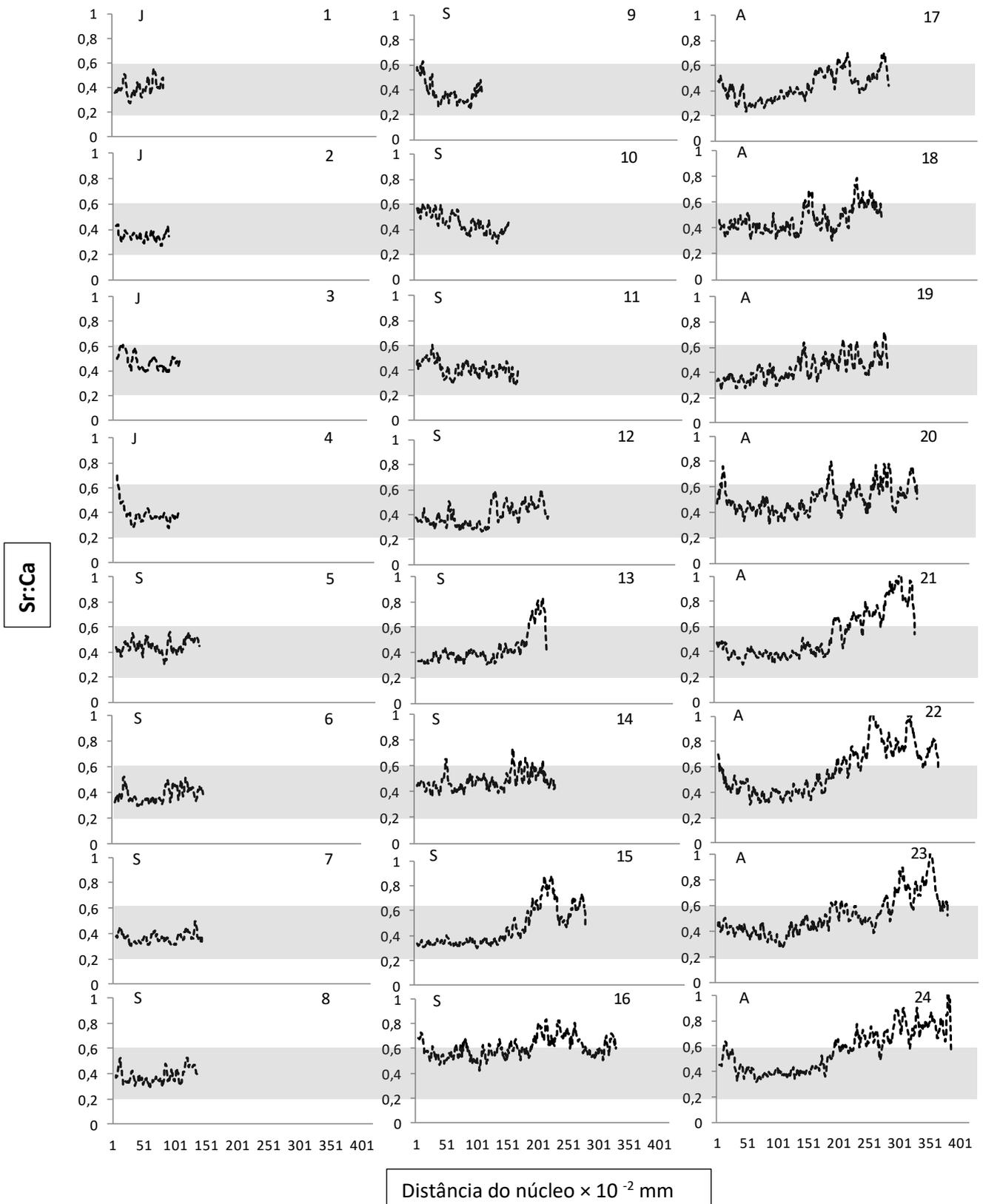


Figura I 3. Razões Sr:Ca ao longo do eixo núcleo-borda de indivíduos da Baía de Sepetiba. J – juvenes; S – subadultos; A – adultos.

Baía da Guanabara

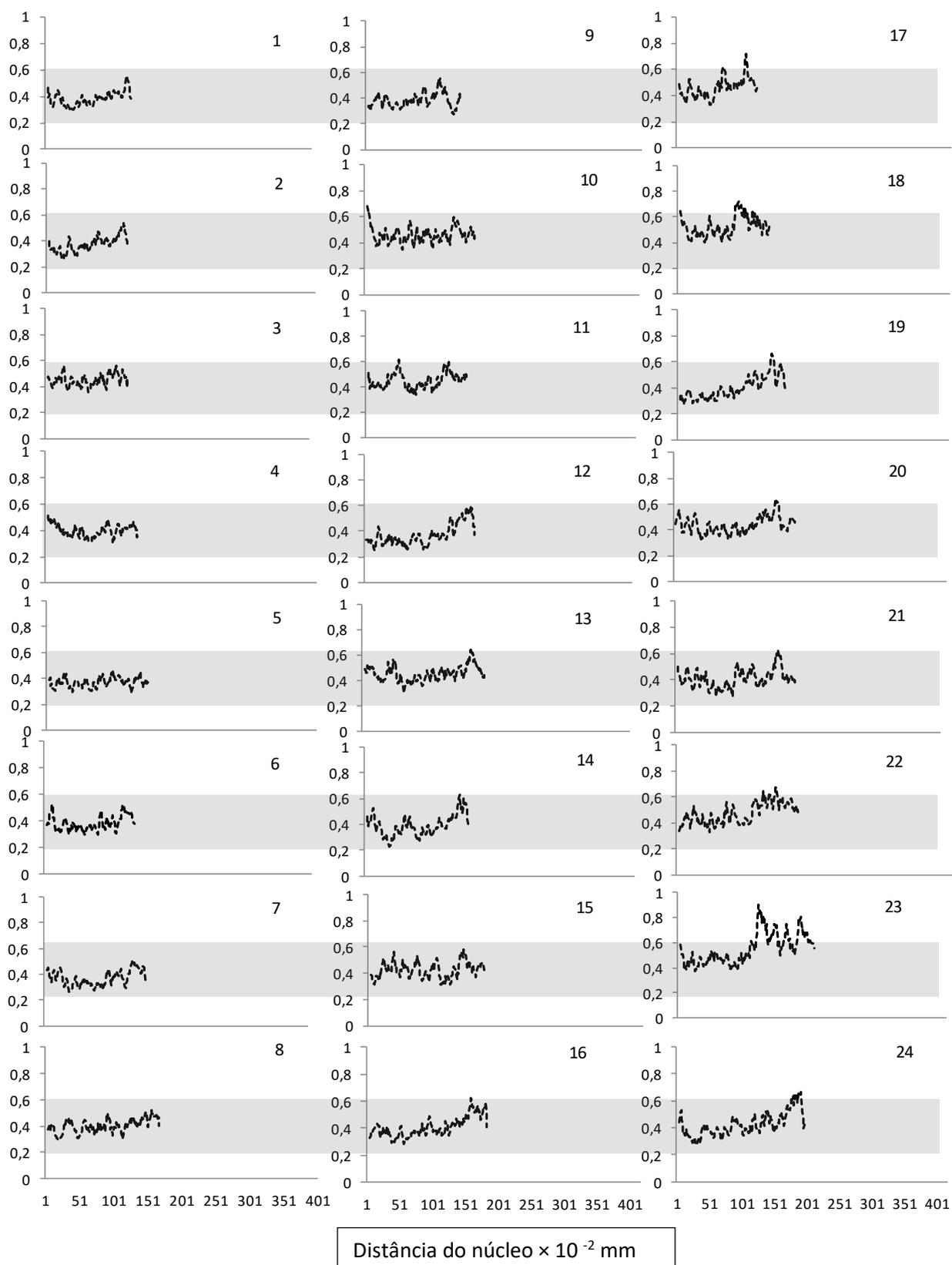


Figura I 4. Razões Sr:Ca ao longo do eixo núcleo-borda de indivíduos subadultos da Baía de Guanabara.

Laguna de Araruama

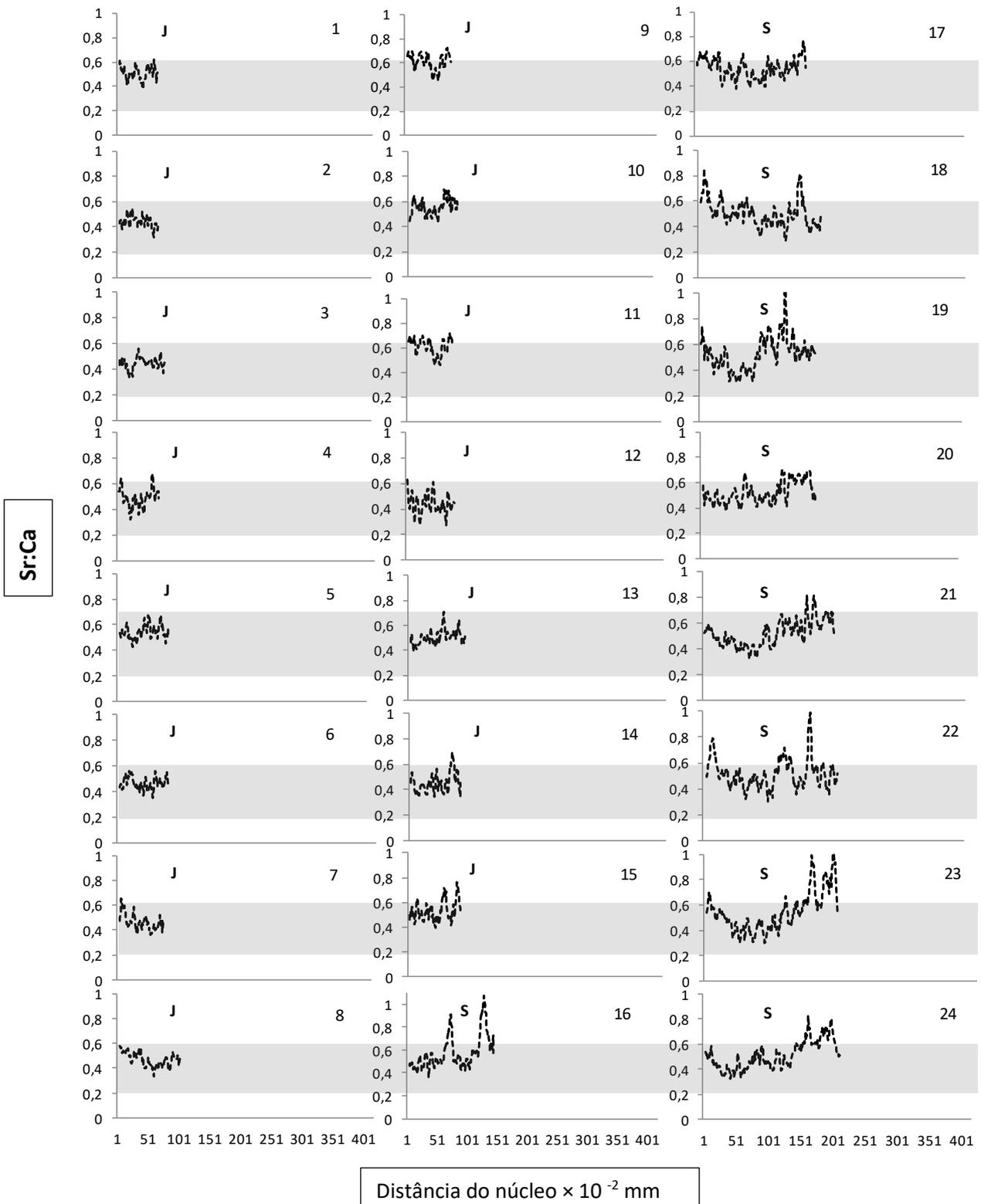


Figura I 5. Razões Sr:Ca ao longo do eixo núcleo-borda de indivíduos da laguna de Araruama. J – jovens; S – subadultos.

3.2 Sistemas costeiros/plataforma interna

Ao analisar as razões de Sr:Ca ao longo do perfil núcleo-borda dos otólitos capturados na região costeira adjacente aos sistemas estuarinos, observa-se um aumento diretamente relacionado ao afastamento do núcleo em 84% dos casos (Figura 6A), onde as concentrações de Sr:Ca aumentaram de forma mais consistente a partir da formação do primeiro anel anual do peixe. Enquanto em 16% dos indivíduos a taxa de concentração desse elemento flutua em torno da média (Figura 6B). Os indivíduos do segundo padrão (B) foram mais comuns em Arraial do Cabo (25% dos indivíduos de Arraial do Cabo) e Saquarema (18% dos indivíduos de Saquarema).

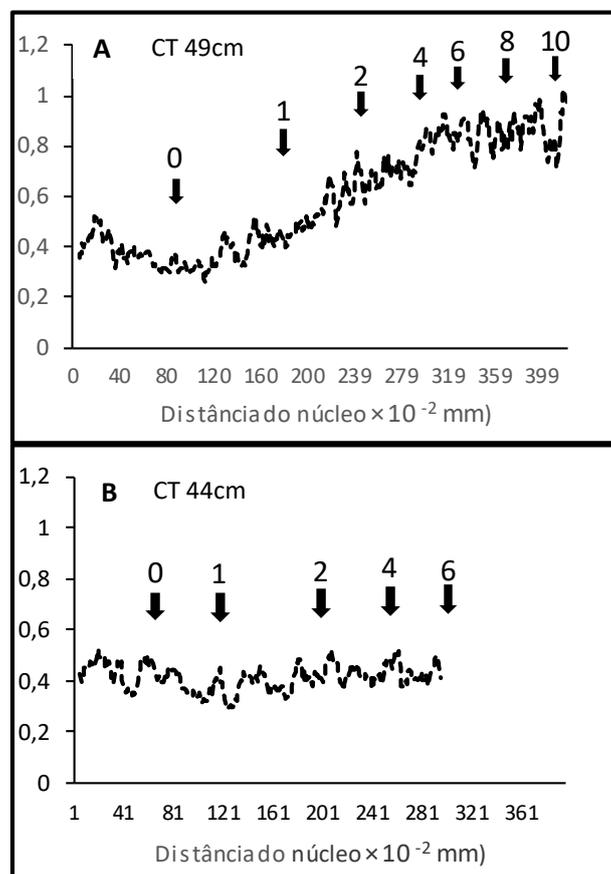


Figura I 6. Exemplos de perfis de Sr:Ca encontrados nos otólitos adultos de Arraial do Cabo. A. perfil mais comum de aumento de Sr:Ca com exemplos de variação. B. perfil menos comum de estagnação de Sr:Ca com exemplos de variação. As setas indicam a posição aproximada dos anéis anuais de crescimento.

As razões de Ba:Ca apresentaram dois padrões principais, em 92% dos indivíduos houve uma tendência a diminuição nos valores do elemento em direção à borda dos otólitos (Figura 7^a), e outros 8% flutuaram em torno da média (Figura 7B). A área da plataforma interna onde ocorreu mais indivíduos do segundo padrão foi Itaipu (23% dos indivíduos) e Saquarema (10,7% dos indivíduos). As razões Ba:Ca apresentaram maior oscilação e formação de picos ao longo de todo perfil do que o Sr:Ca e não foi possível detectar um valor na escala de proximidade ao núcleo que estivesse relacionado a mudanças de concentração.

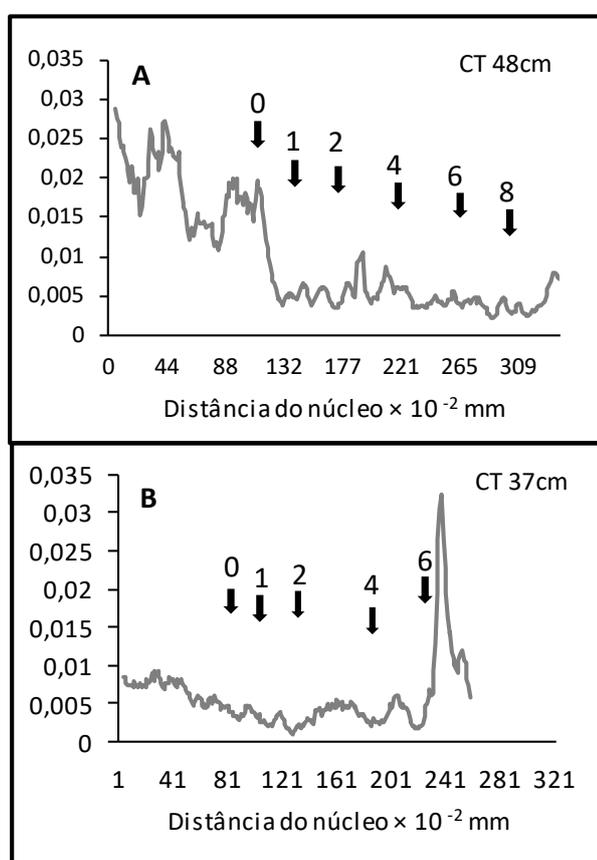


Figura I 7. Exemplos de perfis de Ba:Ca encontrados nos otólitos adultos. A. Exemplo de perfil mais comum, indivíduo de AC. B. perfil menos comum, indivíduo de IT. As setas indicam a contagem de anéis anuais.

Analisando as razões de Sr:Ca e Ba:Ca em conjunto, encontramos dois padrões que foram representados nos gráficos a seguir (Figura 8). O perfil mais comum foi o chamado Marinho Migrante (MM), onde o Sr:Ca tende a aumentar

e o Ba:Ca tende a diminuir conforme o crescimento do peixe. Esse perfil pode representar a estada do indivíduo em ambientes estuarinos durante as primeiras fases do seu ciclo de vida e uma migração aparentemente definitiva para o ambiente marinho. Cerca de 86% de todos os indivíduos capturados na costa apresentaram este padrão. O outro perfil encontrado, denominado Misto (MX), além de apresentar tendência a ascensão de Sr:Ca e descensão de Ba:Ca ao longo do crescimento apresentou padrões opostos de Sr:Ca e Ba:Ca com picos ao longo do perfil núcleo-borda dos indivíduos, o que pode representar a conexão com o ambiente estuarino mesmo após a fase adulta. Cerca de 13% dos indivíduos apresentaram esse padrão. O local de maior porcentagem de MM foi em Saquarema e Arraial do Cabo com 96,4% e 93,8% respectivamente. Por outro lado, a maior porcentagem de visitantes ocorreu em Campos dos Goytacazes (37,5%) e na Barra de Guaratiba (20%). Dentro do perfil de MM encontramos também indivíduos com picos de Sr ou Ba ao longo do crescimento individual, ou seja, somente um dos elementos parece ter uma resposta ambiental.

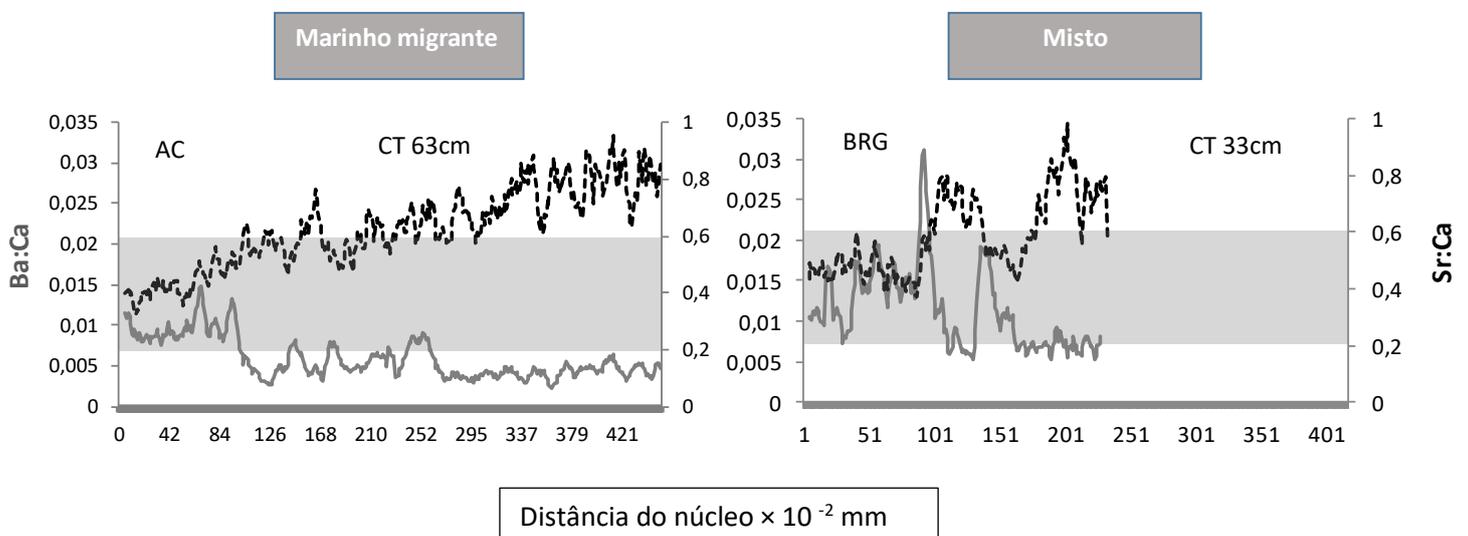


Figura I 8. Padrões de perfil de movimentação encontrados nos peixes da zona costeira. AC – Arraial do Cabo; BRG – Barra de Guaratiba.

4. DISCUSSÃO

Dois padrões principais de variação elementar de Sr:Ca e Ba:Ca foram encontrados em otólitos de corvinas *Micropogonias furnieri*. O primeiro e mais comum foi o Marinho Migrante, onde os indivíduos passam o início da vida em ambientes estuarinos e, após aproximadamente um ano, realizam uma única migração para águas da plataforma continental. Esse movimento para águas mais salinas é o padrão mais encontrado e conhecido para corvinas e representa um movimento importante para que a espécie complete seu ciclo de vida (Menezes e Figueiredo, 1980; Vieira *et al.*, 1998; Robert & Chaves, 2001). Diversos estudos de estrutura de tamanho realizados na costa brasileira citam o movimento das corvinas em direção a plataforma adjacente após sua fase inicial de vida, como reportado no Sul e Sudeste do Brasil por Vazzoler (1991); na lagoa dos Patos - RS (Haimovici *et al.*, 1996; Cavole & Haimovici, 2015); na baía de Guaratuba - PR (Robert & Chaves, 2001); e na Baía de Sepetiba - RJ (Costa & Araújo, 2003). O principal motivo seria a maior estabilidade salina que possibilitaria menor gasto energético com osmorregulação, permitindo dessa forma, maior investimento em crescimento e busca por alimentos em ambientes de maior profundidade (Haimovici *et al.*, 1996; Cavole & Haimovici, 2015).

O segundo padrão encontrado, classificado como Misto (MX), compreende indivíduos que retornam periodicamente aos estuários após sua migração inicial para a plataforma continental. Nesse perfil, pudemos observar as razões Sr:Ca e Ba:Ca variando de formas opostas ao longo do eixo de crescimento dos otólitos, ou seja, enquanto o estrôncio diminui, o bário aumenta, e vice-versa, alcançando as faixas estuarina e marinha mais de uma vez ao longo do eixo. Esse perfil pode representar a conexão do indivíduo com o sistema estuarino após a fase adulta, onde ele poderia entrar no estuário em busca de alimento e como visto por outros trabalhos, poderia ocasionalmente desovar ainda no interior dos mesmos (Vieira, 1998; Mulato *et al.*, 2014). Além disto, o perfil pode ser uma representação não da entrada no sistema, mas da aproximação de indivíduos adultos às áreas da plataforma interna com influência de águas estuarinas, visto que a concentração elementar de estrôncio em áreas mais próximas da costa é menor do que em mar aberto (Chang *et al.*, 2004).

Nesse caso, os adultos se aproximariam da entrada de estuários para a desova e se manteriam tempo suficiente de incorporarem concentrações elementares perceptíveis nestas áreas.

Os dois perfis de variação elementar foram encontrados em todos os locais de coleta da zona costeira. O perfil Marinho Migrante foi o mais comum em todos os locais, principalmente em Araruama e Saquarema, onde a conexão com o estuário é mais estreita e rasa. O ingresso das corvinas na fase inicial de vida nos sistemas estuarinos geralmente se dá de forma passiva, através do carreamento de ovos e larvas através de correntes de marés e ventos (Vieira *et al.*, 1998; Costa *et al.*, 2013). Para indivíduos adultos e de grande porte essa estreita conexão pode funcionar como uma barreira no ingresso ao sistema estuarino mais próximo. Ao mesmo tempo, uma lagoa com conexão estreita provavelmente não influencia as massas de água da zona costeira adjacente da mesma forma que baías e estuários de grande porte. Portanto, indivíduos que se aproximem desses sistemas não seriam suficientemente expostos às características químicas diferentes a ponto de serem detectadas nos otólitos.

Um possível terceiro padrão poderia ser adicionado ao considerarmos somente as razões de Sr:Ca, como visto no item 3.2 dos resultados. Esse padrão pode ser caracterizado por indivíduos que possuem concentrações estuarinas constantes de estrôncio ao longo de toda a vida, embora tenham sido coletados na região costeira. Esses indivíduos representam cerca de 16% daqueles capturados na costa. Esta característica química pode ser explicada por indivíduos que viveram em ambiente estuarino e que saíram recentemente para regiões costeiras, portanto, tiveram pouco tempo para depositar uma nova assinatura química em seus otólitos. Estudos de padrões de movimentos utilizando a microquímica de otólitos foram realizados com outras espécies estuarino dependentes (Wang *et al.*, 2010; Conдини *et al.*, 2016; Daros *et al.*, 2016; Fortunato *et al.*, 2017), onde são encontrados entre dois e quatro perfis migratórios. Fortunato *et al.* (2017) encontrou três padrões de variação de Sr:Ca para *Mugil liza* que chamou de ecotipos: estuarino residente (que consiste de indivíduos que migram de estuários para a plataforma), misto (possuem comportamento flutuante entre águas estuarinas e marinhas) e marinho residente (utilizam águas marinhas em todo período de vida). O presente estudo

apresentou padrões parecidos, porém com a utilização simultânea do Ba:Ca, não foi possível detectar um terceiro padrão e sim perfis em que um dos elementos não apresentaram o comportamento esperado de aumento ou diminuição ao longo do eixo de idade dos otólitos. Ambientes estuarinos são alvo de uma gama de impactos antropogênicos, como a redução e modificação de suas margens, liberação de dejetos domésticos e industriais, entre outros. A diversidade de perfis de movimentos encontrados em uma espécie pode indicar maior resiliência em caso de distúrbio ambiental (Walther *et al.*, 2011). Sendo assim, ao apresentar diferentes estratégias de ciclo de vida, a corvina teria mais chances de recuperar-se de um possível evento estocástico.

Indivíduos coletados no interior das baías de Sepetiba e Guanabara, e da Laguna de Araruama apresentaram pequenas variações entre si, dependendo do sistema estudado. De forma geral, todos apresentaram um padrão de aumento de estrôncio ao longo do perfil núcleo-borda e a maior parte dos indivíduos se manteve dentro dos valores esperados para ambientes estuarinos até a formação do primeiro ou segundo anel anual. Esse aumento do Sr:Ca pode estar relacionado aos movimentos a partir de áreas mais rasas e internas das zonas estuarinas (onde passam mais tempo quando juvenis), para áreas mais profundas ou áreas mais externas e próximas da conexão com o mar, porém ainda no interior do sistema estuarino (González-Sansón *et al.*, 1996). Esses movimentos internos foram observados no estuário do Rio da Prata (Uruguai) através de estudos de distribuição por classes de idade, onde os maiores indivíduos eram encontrados, preferencialmente, em locais de maior profundidade e salinidade (Jaureguizar *et al.*, 2003; 2008). Na Baía de Sepetiba, peixes em idades diferenciadas foram analisados, o que nos permitiu a visualização do padrão Misto em corvinas adultas, esses indivíduos apresentaram razões Sr:Ca e Ba:Ca entre os valores esperados para as áreas estuarinas e marinhas. Esses movimentos também foram identificados em estudo de estrutura de tamanho realizado por Costa & Araújo (2003) na Baía de Sepetiba. Eles associaram esses movimentos a busca por alimentos mais energeticamente lucrativos no ambiente marinho e ao menor risco de sofrer predação já que atingiram a fase adulta. Os peixes da Laguna de Araruama estiveram muito mais próximos do limite entre faixas estuarina e marinha,

passando para a faixa marinha ainda bem jovens, que parece ser resultado da condição hipersalina em partes da lagoa e não a saídas para o ambiente marinho.

5. CONCLUSÕES

A maior parte das corvinas apresentam otólitos com perfil elementar correspondente ao uso de estuários, indicando uma forte dependência de ambientes estuarinos no ciclo de vida. Dois padrões de movimentação entre sistemas estuarinos e a plataforma costeira foram encontrados para as corvinas na costa do Rio de Janeiro e a existência de um terceiro padrão mais fraco, por ser consistente em apenas um dos elementos analisados, foi indicada. O padrão migratório mais comum foi o Marinho Migrante, onde o indivíduo utiliza o ambiente estuarino na fase inicial de vida e migra definitivamente para a plataforma costeira. O segundo padrão encontrado foi o Misto, onde o indivíduo após a fase adulta retorna ao estuário outras vezes. O terceiro perfil, considerando somente o estrôncio (Estuarino Residente), correspondeu aos indivíduos com concentrações constantes de estrôncio ao longo de toda a vida.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C.Q., MIEKELEY, N., MUELBERT, J.H., 2010. Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*, trapped in a freshwater lagoon: a natural comparison of freshwater and marine influences on otolith chemistry. *Neotrop. Ichthyol.* 8 (2), 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. *Mar. Biol.* 159 (10), 2229-2239.

ALTMAYER, F.L. 1999. Pescadores artesanais no estuário da Lagoa dos Patos, RS: uma análise de sua percepção do meio natural como subsídio para um projeto de educação ambiental. Dissertação de Mestrado em Educação Ambiental, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

AVIGLIANO, E., & VELASCO, G. 2015. Use of lapillus otolith microchemistry as an indicator of the habitat of *Genidens barbatus* from different estuarine environments in the southwestern Atlantic Ocean, 1623-1632.

BEAMISH RJ, FOURNIER DA. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Can J Fish Aquat Sci.* 38(8), 982-83.

CASTELLO, J.P. 1986. Distribución, crecimiento y maduración sexual de la corvina juvenil (*Micropogonias furnieri*) en el estuario de la “Lagoa dos Patos”, Brasil. *Physis* 44, 21-36

CAVOLE, L. M., & HAIMOVICI, M. 2015. The use of otolith microstructure in resolving issues of ageing and growth of young *Micropogonias furnieri* from southern Brazil. *Marine Biology Research*, 11(9), 933-943.

CONDINI, M., TANNER, S., REIS-SANTOS, P., ALBUQUERQUE, C., SAINT'PIERRE, T., VIEIRA, J., GARCIA, A. 2016. Prolonged estuarine habitat use by dusky grouper *Epinephelus marginatus* at subtropical latitudes revealed by otolith microchemistry. *Endangered Species Research*, 29(3), 271-277.

COSTA M.D.P., MUELBERT, J.H., MORAES, L.E., VIEIRA, J.P., CASTELLO, J.P. 2013. Estuarine early life stage habitat occupancy patterns of white-mouth croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1830) from the Patos Lagoon, Brazil. *Fisheries Research* 160, 77-84.

CHANG, W.Y.B. 1982. A statistical method for evaluating the reproducibility of age determination. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39, 1208-10.

CHANG, C. W., IIZUKA, Y. & TZENG, W. N. 2004. Migratory environmental history of the grey mullet *Mugil cephalus* as revealed by otolith Sr:Ca ratios. *Marine Ecology Progress Series* 269, 277-288.

COSTA, M. R., & ARAUJO, F. G. 2003. Use of a tropical bay in southeastern Brazil by juvenile and subadult *Micropogonias furnieri* (Perciformes, Sciaenidae), 3139 (2), 268-277.

D'ANATRO, A., PEREIRA, A. N., & LESSA, E. P. 2011. Genetic structure of the white croaker, *Micropogonias furnieri* Desmarest 1823 (Perciformes: Sciaenidae) along Uruguayan coasts: contrasting marine, estuarine, and lacustrine populations. *Environmental Biology of Fishes*, 91(4), 407-420.

DAROS, F. A., H. L. SPACH, AND A. T. CORREIA. 2016. Habitat residency and movement patterns of *Centropomus parallelus* juveniles in a subtropical estuarine complex. *Journal of Fish Biology* 88, 1796-1810.

GONZÁLEZ-SANSÓN, G., BOSCH MÉNDEZ, A., GUEVARA CARRIÓ, E., AND AGUILAR, C. B. 1996. Composición por tallas de las capturas de la corvina

Micropogonias furnieri (Desmarest, 1823) (Osteichthyes: Sciaenidae) en la Bahía de Cienfuegos, Cuba. *Revista de Investigaciones Marinas*, 17, 189-195.

HAIMOVICI, M., MARTINS, A.S., VIEIRA, P.C. 1996. Distribuições abundância de peixes teleosteos demersais sobre a plataforma continental do Sul do Brasil. *Rev Bras Biol* 56:27–50.

JAUREGUIZAR A.J., BAVA, J., CAROZZA, C.R., LASTA, C.A. 2003. Distribution of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* in relation to environmental factors at the Río de la Plata estuary, South America. *Marine Ecology Progress Series* 255, 271-82.

JAUREGUIZAR, A. J., M. I. MILITELLI & R. A. GUERRERO. 2008. Environmental influence on maturity stage spatial distribution of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) along an estuarine gradient. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 88, 175-181.

MENEZES, N. A; FIGUEIREDO, J. L. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil IV. Teleostei (3). São Paulo: MZUSP, 1980. 90 p.

MORALES-NIN, B. 1992. Determination of growth in bony fishes from otolith microstructure. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 322. Rome, FAO. 51 p.

MORALES-NIN B. 2000. Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fisheries Research* 46, 53-67.

MULATO, I. P.; CORRÊA, B., VIANNA, M. Distribuição espaço-temporal de *Micropogonias furnieri* (Perciformes, Sciaenidae) em um estuário tropical no sudeste do Brasil. *Bol Inst Pesc.* 2015; 47(1),1-18.

PANFILI, PONTUAL H., TROADEC H., WRIGHT P.J. (eds), 2001. *Manual of fish sclerochronology*. Brest, France: Ifremer-IRD coedition, 464 p.

ROBERT, M.C. e CHAVES, P.T. 2001 Observações sobre o ciclo de vida da corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Teleostei, Sciaenidae), no litoral do estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(2), 421-428.

SANTOS, R. S., COSTA, M. R., & ARAÚJO, F. G. 2017. Age and growth of the white croaker *Micropogonias furnieri* (Perciformes: Sciaenidae) in a coastal area of Southeastern Brazilian Bight, 15, 1-12.

SCHWINGEL, P.R., CASTELLO, J.P., 1990. Validación de la edad y crecimiento de la corvina (*Micropogonias furnieri*) en el sur de Brasil. *Frente Maritmo* 7, 19-24.

WALTHER, B. D., DEMPSTER, T., LETNIC, M., & MCCULLOCH, M. T. 2011. Movements of Diadromous Fish in Large Unregulated Tropical Rivers Inferred from Geochemical Tracers, 6(4).

WANG, C., C. HSU, C. CHANG, C. YOU, AND W. TZENG. 2010. The Migratory Environmental History of Freshwater Resident Flathead Mullet *L.* in the Tanshui River, Northern Taiwan. Zoological Studies 49, 504-514.

VAZZOLER, A.E.A. De M. – 1991. Síntese de conhecimentos sobre a biología da corvina, *Micropogonias furnieri* (Demarest, 1823), da costa do Brasil. Atlântica, Rio Grande, 13, 55-74.

VIEIRA, J.P., CASTELLO, J.P. & PEREIRA, L.E. 1998. A Ictiofauna. In: SEELIGER, U., ODEBRECHT, C. & CASTELLO, J.P. (eds). Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande, Ed. Ecoscientia 60-68.

CAPÍTULO II

Título: Contribuição relativa dos sistemas costeiros semifechados para o estoque de corvina *Micropogonias furnieri* na costa do Estado do Rio de Janeiro através da análise química de otólitos

Autores: Franco, T. P., Albuquerque, C. Q. e Araújo, F. G.

Resumo: Assinaturas elementares de otólitos têm sido utilizadas como marcadores naturais para resgatar informações que permitam maior compreensão do ciclo de vida das espécies e da manutenção dos estoques pesqueiros. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes sistemas estuarinos na composição química de otólitos de corvina *Micropogonias furnieri* afim de identificar assinaturas específicas de cada local e utilizá-las como ferramenta de identificação das áreas de origem de indivíduos da plataforma continental. Utilizou-se a razão elementar de $^{86}\text{Sr}:^{43}\text{Ca}$, $^{138}\text{Ba}:^{43}\text{Ca}$, $^{24}\text{Mg}:^{43}\text{Ca}$ e $^{55}\text{Mn}:^{43}\text{Ca}$ de indivíduos de sistemas estuarinos (duas baías, uma laguna hipersalina e uma praia com influência estuarina) e de locais da plataforma costeira adjacente. As razões foram quantificadas através de um espectrômetro de massas por plasma acoplado indutivamente com ablação a laser (LA-ICPMS) ao longo de perfis núcleo-borda de otólitos de 107 indivíduos capturados em sistemas estuarinos e 129 indivíduos da área costeira adjacente às áreas estuarinas. Foram encontradas maiores razões de $^{138}\text{Ba}:^{43}\text{Ca}$ e $^{86}\text{Sr}:^{43}\text{Ca}$ em peixes da laguna e de $^{24}\text{Mg}:^{86}\text{Ca}$ em uma das baías. Com 77,1% dos casos corretamente classificados pela análise discriminante linear, a diferenciação química destes sistemas foi considerada aceitável para a identificação de áreas de origem. Aproximadamente 40% dos indivíduos da zona costeira foram relacionados a algum sistema estuarino semifechado analisado, com a indicação de maior contribuição das baías para o estoque da plataforma. Indicando, portanto, que sistemas de maior conexão com o mar seriam os contribuintes mais representativos para a composição do estoque.

Palavras-chave: Conectividade, assinaturas elementares, composição do otólito.

Title: Relative contribution of the semi-closed estuarine systems to the stock of croaker *Micropogonias furnieri* from the coast of the State of Rio de Janeiro through the chemistry otoliths analysis

Authors: Franco, T. P., Albuquerque, C. Q. e Araújo, F. G.

Abstract: Elementary signatures of otoliths have been used as natural markers to retrieve information that allows greater understanding of the life cycle of the species and the maintenance of fish stocks. The objective of this study was to evaluate the influence of different estuarine systems along the Rio de Janeiro coast on the chemical composition of otoliths of the Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* to identify specific signatures and to use them as a tool to determine the areas of origin of individuals from the continental shelf. The elemental ratio of individuals from estuarine systems (two bays, a hypersaline lagoon and a beach with estuarine influence) were used. Additionally, it was also tested the hypothesis that systems with greater connection to the sea would be the major contributors to this stock. Isotopic ratios of $^{86}\text{Sr}:^{43}\text{Ca}$, $^{138}\text{Ba}:^{43}\text{Ca}$, $^{24}\text{Mg}:^{43}\text{Ca}$ and $^{55}\text{Mn}:^{43}\text{Ca}$ were quantified through an inductively coupled plasma mass spectrometer with laser ablation (LA-ICPMS) along core-edge profiles of 107 individuals collected in estuarine systems and 129 individuals from the coastal area adjacent to the estuaries. Larger $^{138}\text{Ba}:^{43}\text{Ca}$ and $^{86}\text{Sr}:^{43}\text{Ca}$ ratios were found in the lagoon and of $^{24}\text{Mg}:^{86}\text{Ca}$ in one of the bays. With 77.1% of the cases correctly classified by the linear discriminant analysis, the chemical differentiation of these systems was considered acceptable for the identification of the origin areas. Approximately 40% of the individuals in the coastal zone were related to some semi-closed estuarine system studied, indicating the greater contribution of the bays to the stock from the platform. The hypothesis that systems of greater sea connection would be the most representative contributors to the stock composition of the platform was confirmed.

Keywords: Connectivity, elemental fingerprints, otolith composition.

1. INTRODUÇÃO

Os movimentos migratórios de peixes entre sistemas estuarinos semifechados e zonas costeiras adjacentes a eles têm sido largamente estudados nos últimos anos através da microquímica de otólitos (Thorrold *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2010; Tulp *et al.*, 2013; Fortunato *et al.*, 2017), com a finalidade de melhor compreender a importância desses ambientes, principalmente utilizados como berçários, no ciclo de vida das espécies e na manutenção dos estoques de pescadores. Áreas de berçário são geralmente zonas rasas da costa, com morfologia mais abrigada e mistura de massas de águas continentais e marinhas que acarretam em alta produtividade primária suportando elevadas densidades de indivíduos que apresentam taxas de crescimento superiores a outros ambientes (Beck *et al.*, 2001). Caracterizada pela alta densidade de juvenis, que tiram proveito de condições favoráveis de alimentação e proteção, os peixes das áreas de berçário desempenham papel de exportadores de nutrientes ao migrarem para a costa, além de contribuem para a composição da população adulta (Beck *et al.*, 2001; Dahlgren *et al.*, 2006).

As áreas estuarinas utilizadas como berçário podem possuir uma composição ou concentração química diferenciada, tendo em vista que diversos processos são responsáveis pelo balanço químico da água, como por exemplo o intemperismo, a lixiviação, a precipitação e os processos biológicos de decomposição (Volpedo & Vaz-dos-Santos, 2015). Essas concentrações são susceptíveis a variação de acordo com o espaço e o tempo, podendo ser influenciadas por diversos fatores ambientais, como temperatura e salinidade (Elsdon *et al.*, 2008). Como resultado de diferentes processos temos por exemplo maiores concentrações de estrôncio:cálcio em águas marinhas (de maior salinidade) do que em água doce e maiores concentrações de bário:cálcio em águas doce e salobra do que em águas salinas (Campana, 1999).

A disponibilidade de elementos químicos na água pode ser refletida na formação dos otólitos de peixes. Juntamente ao carbonato de cálcio que forma os otólitos, os elementos traço, disponíveis no ambiente circundante, são incorporados em camadas concêntricas. O elemento é absorvido principalmente pelas brânquias, sendo incorporados na corrente sanguínea e cristalizado no

otólito (Campana, 1999). Os otólitos, que por sua vez possuem características inertes, não perdendo sua configuração inicial se tornam excelentes ferramentas naturais para resgatar informações sobre o ambiente e o indivíduo. Dessa forma, diferentes concentrações elementares podem ser identificadas e associadas a massas de água experimentadas pelo peixe ao longo de sua vida.

A corvina *Micropogonias furnieri* utiliza sistemas estuarinos na fase inicial do ciclo de vida, retornando para áreas da plataforma continental na fase adulta, onde desovam (Costa & Araújo, 2003; Haimovici & Ignacio, 2005). Esta espécie possui grande importância econômica no Atlântico Sul (do Sudeste do Brasil até a Argentina), e vêm sofrendo com os impactos causados pela sobrepesca e pela degradação dos ambientes onde recrutam. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes ambientes costeiros na composição química de otólitos de corvina e identificar assinaturas de ambientes semifechados como ferramenta de identificação da origem de peixes da costa do Estado.

Partindo da premissa que cada sistema pode possuir influências elementares distintas, testamos a hipótese de que peixes capturados em ambientes estuarinos possuem assinatura química particular de cada sistema e que a origem de peixes capturados na costa pode ser identificada a partir da assinatura química na porção inicial do otólito que se refere a sua fase de vida juvenil. Para isso foram postuladas as seguintes perguntas: 1) A assinatura química dos otólitos é diferente entre sistemas estuarinos podendo, dessa forma, caracterizar a origem por cada sistema? 2) qual o padrão de concentração de elementos em otólitos de indivíduos do interior dos sistemas estuarinos e em áreas costeiras abertas? 3) qual a contribuição dos sistemas estuarinos estudados para a composição de estoques de corvinas para a costa do Estado? 4) Peixes capturados na costa tem uma relação de proximidade com os estuários em que recrutaram?

Espera-se, ao responder estas perguntas, identificar as mais importantes áreas de recrutamento a partir da assinatura química de diferentes áreas ao longo da costa.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de Estudos

A costa do Estado do Rio de Janeiro possui 635 km de extensão e apresenta ecossistemas marinhos de alta relevância ecológica. Dentre eles destacam-se grandes baías (Baía de Guanabara e Baía de Sepetiba), estuários (rio Paraíba do Sul, Itabapoana, Macaé), diversas lagunas (Araruama, Saquarema, Maricá), mangues, restingas, ilhas e costões rochosos. Estes diferentes tipos de formações físico-bióticas constituem espaço no qual se concentram os principais vetores de pressão, uso dos recursos naturais e exploração econômica.

Para esta etapa do estudo foram utilizadas corvinas capturadas no interior de sistemas estuarinos: Baía da Guanabara, Baía de Sepetiba e Laguna de Araruama. Indivíduos adultos foram coletados na zona costeira da plataforma continental interna: Itaipu (próxima a Baía de Guanabara), Saquarema (próxima a Laguna de Saquarema), Arraial do Cabo (próxima a Laguna de Araruama) (Figura 1).

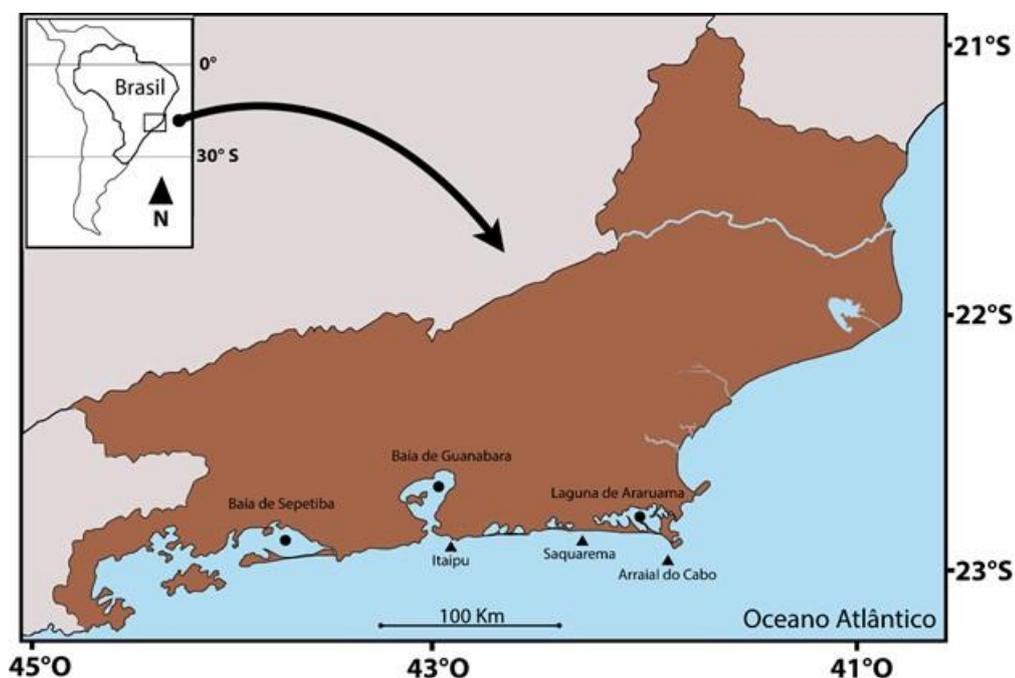


Figura II 1. Mapa da área de estudos com as localidades de coleta indicadas.

2.2 Coleta dos peixes

Foram utilizados 187 indivíduos capturados em 2015 através de pesca artesanal os quais foram acondicionadas em gelo, medidos (cm), pesados (g), e tiveram seus otólitos *Sagittae* removidos. Os otólitos removidos foram lavados em água destilada, emblocados em resina plástica e cortados secções transversais em serra metalográfica de baixa rotação (IsoMet-Buehler) até alcançar o núcleo. Os cortes de 0,5 mm foram lixados com lixas Micro Mesh abrasivas de granulometria 6000, 8000 e 12000. Do total coletado, os 86 indivíduos foram provenientes dos sistemas estuarinos mediram de 7,3 a 33,0 cm, e os 101 indivíduos da zona costeira mediram de 28 a 66 cm de comprimento total (Tabela 1).

Tabela II 1. Número de indivíduos de cada localidade (n), média e desvio padrão do comprimento total em cm (CT), comprimento mínimo e máximo, média e desvio padrão das taxas de Sr:Ca e Ba:Ca.

Locais	n	CT (cm)	
		(Média±DP)	Mínimo-Máximo
Sistemas estuarinos			
Baía de Sepetiba	38	23,6± 5,8	12,5 – 33,0
Baía de Guanabara	38	21,3 ± 1,7	18,5 – 26,8
Laguna de Araruama	25	14,1 ± 4,6	7,3 – 23,0
Zona costeira			
Itaipu	31	37,1 ± 2,1	33,0 – 40,0
Saquarema	28	34,2 ± 4,8	28,0 - 47,0
Arraial do Cabo	27	45,4 ± 8,9	27,2 – 66,0

2.3 Coleta de Água

Amostras de água foram coletadas em diferentes sistemas estuarinos para a verificação da existência de diferenças marcantes entre os períodos de maior influência sazonal na região (verão e inverno). Foram amostradas: Ilha Grande, representando uma baía sem influência de aporte de água doce, porém

com bastante influência do continente; Baías de Sepetiba e Guanabara representando sistemas semifechados com influência de água doce e marés; e Lagunas de Saquarema e Araruama, representando sistemas com menor conexão com o mar, porém com influência de regime de marés.

Dentro dos sistemas 3 localidades de coleta foram estabelecidas obedecendo um gradiente de acordo com a entrada da cunha salina de cada sistema. As amostragens foram realizadas no inverno de 2016 e verão de 2017. As salinidades, medidas com salinômetro óptico durante a amostragem de água tiveram uma variação de 29 a 35 nas baías, de 25 a 35 na lagoa de Saquarema e de 38 a 62 na lagoa de Araruama. Para a coleta de água utilizamos frascos de vidro de 33 ml devidamente esterilizados contendo 0,2 ml de ácido nítrico PA. A água foi filtrada com membrana Millex HV durapore de 0,45 μ M acoplada a uma seringa de 20 ml. Análises de concentração de estrôncio (Sr), bário (Ba), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e manganês (Mn) foram realizadas através de espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC).

2.4 Análise química dos otólitos

A quantificação das concentrações elementares de Ca⁴³, Sr⁸⁶, Sr⁸⁷, Ba¹³⁸, Mg²⁴ e Mn⁵⁵ nos otólitos foi realizada no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da PUC-RJ. Os equipamentos utilizados foram um sistema de ablação a laser 255 nm CETAC LSX-100 e o ICPMS (Perkin Elmer Nexion 300x). O ICP-MS foi previamente calibrado utilizando o método “performance diária” para otimização de sinal e redução de interferências usando óxidos e íons de dupla carga. Após cada 10 varreduras foi realizada uma varredura de branco, ou seja, sem o laser funcionando. A precisão do sinal foi determinada através do desvio padrão relativo calculado sobre 10 medições consecutivas do padrão de referência NIST 611, utilizando a mesma configuração de laser e do ICPMS e resultando em desvios de (4,10 (Ba¹³⁸); 4,84 (Mn⁵⁵); 3,36 (Mg²⁴); 3,30 (Ca⁴³); 3,59 (Sr⁸⁶); 4,55 (Sr⁸⁷)). Os perfis foram realizados do núcleo até a borda de cada otólito.

2.5 Análise de Dados

As concentrações de cada elemento medido nos otólitos foram subtraídas pelo branco do argônio e transformadas em razões de Ca, ou seja, o sinal de cada elemento foi dividido pelo sinal correspondente do Ca em cada amostra. Esses valores foram transformados em $\log_{10} x+1$ com a finalidade de atender aos requisitos da estatística paramétrica (normalidade e homocedasticidade) e foram assumidos como significantes valores de $P<0,05$.

2.5.1 Água

Para testar diferenças das razões elementares na água entre os sistemas estuarinos (Ilha grande, baías de Sepetiba e Guanabara e Lagunas de Saquarema e Araruama) e estações do ano (verão e inverno) foi feita uma análise de variância fatorial com as razões elementares como variável dependente e os fatores fixos de locais e estação do ano. Quando a interação entre os fatores foi significativa, uma análise de variância unifatorial foi utilizada para comparar as razões entre as localidades para cada estação do ano em separado.

2.5.2 Otólitos

Para avaliar eventuais variações ontogenética nas concentrações elementares no núcleo dos otólitos (50 primeiras leituras) dentro de cada sistema estuarino foi utilizada a análise de variância monofatorial, tendo como variável dependente as concentrações elementares e como fator, as classes de tamanho/leitura de anéis. As seguintes classes de tamanho foram testadas: <10 cm, 10-20 cm; 20-30 cm e >30 cm de comprimento total. Para as leituras de anéis considerou-se os otólitos com 0 a 13 anéis. Como não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações elementares entre as diferentes classes de tamanho ou entre as diferentes leituras de anéis dentro de cada sistema estuarino ($p>0,05$), utilizou-se peixes de diferentes tamanhos nas análises.

Foi avaliada a comparação dos elementos entre os sistemas estuarinos. Para testar a diferença nas razões elemento:Ca dos peixes entre os sistemas estuarinos (baías e Laguna de Araruama) foi feita uma análise de variância (ANOVA monofatorial) no núcleo (50 primeiros valores). A análise discriminante foi utilizada para identificar se as concentrações elementares contribuíam suficientemente para a diferenciação das amostras de cada sistema.

As cem primeiras leituras das concentrações elementares foram utilizadas para comparar os sistemas estuarinos com os sistemas costeiros adjacentes. Utilizou-se, para isto o teste de Friedman Anova e concordância de Kendall.

Para testar a origem dos indivíduos capturados na zona costeira adjacente utilizou-se uma análise discriminante com as razões elemento:Ca da região do núcleo dos otólitos (50 primeiras leituras), correspondente a fase inicial do ciclo de vida, em todas as seis localidades de coleta do Estado. A precisão dessa classificação foi avaliada através da porcentagem de indivíduos corretamente classificados (*leave one out*) e posteriormente pela análise de máxima verossimilhança no HISEA *software* (Millar, 1990).

Para comparação das razões elemento:Ca entre todas as localidades foi aplicada análise de variância monofatorial (ANOVA) e teste *a posteriori* de Tukey. Para esta análise foi utilizada a média das razões na borda dos otólitos (média dos 20 últimos valores de cada otólito), que correspondem a área mais periférica do otólito e de mais recente incorporação.

Para as análises de variância utilizamos o pacote estatístico Statistica 7.0, para as análises discriminantes foi utilizado pacote SPSS versão 13.0, e para análise de máxima verossimilhança utilizamos o HISEA.

3 RESULTADOS

3.1 Água

Sr:Ca: A análise Anova fatorial (Tabela II.2), indicou maiores valores no inverno e na Lagoa de Saquarema, bem como foi significativa a interação localidades *versus* estação do ano. Quanto se utilizou a análise de variância monofatorial para cada estação do ano em separado, encontrou-se no inverno que as

menores razões foram determinadas para águas da Baía de Guanabara comparada com as demais localidades ($F=11,59$ $p<0,01$). No período do verão as maiores concentrações foram encontradas para a Laguna de Saquarema ($F=5,09$ $p=0,01$). (Figura II.2)

Mg:Ca: As razões elementares foram maiores na lagoa de Araruama e no inverno, e uma significativa interação local *versus* estação do ano foi detectada (Tabela II.2). Tanto no inverno quanto no verão as razões foram maiores na Laguna de Araruama ($F=13,63$ $p<0,01$) (Figura II.2).

Mn:Ca e Ba:Ca: As concentrações elementares Mn:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os locais nem entre as estações, nem na interação local *versus* estação. Para a razão Ba:Ca as maiores concentrações foram encontradas na Laguna de Saquarema comparadas com as demais localidades e não foi encontrada diferença entre as estações nem a interação localidade *versus* estação foi significativa.

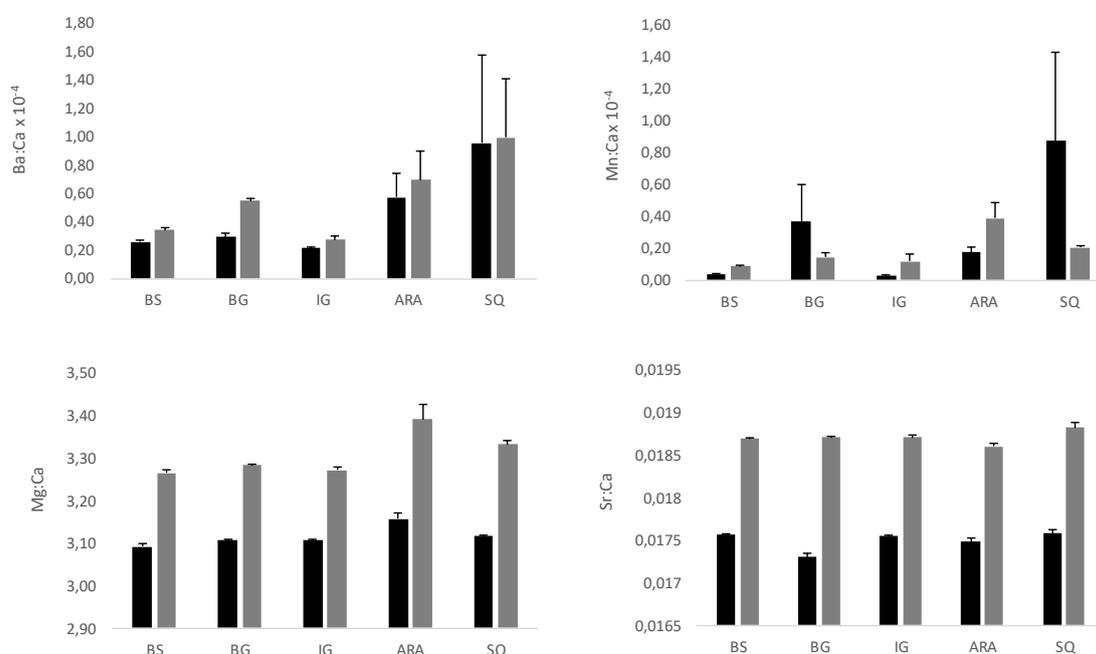


Figura II 2. Valores médios e erro padrão das taxas elementares no inverno (barras pretas) e verão (barras cinza) para cada local.

Tabela II 2. ANOVA bifatorial das taxas elementares presentes na água com valores de F, nível de significância (*p*) e teste *a posteriori* de Tukey, com valores iguais separados por vírgula.

	F	p	Tukey
Sr:Ca			
Local	11,0	0,000**	SQ>BS, IG>ARA>BG
Estação	3339,0	0,000**	I>V
Local x estação	7,0	0,001**	
Mg:Ca			
Local	21,9	0,000**	ARA> BS, IG, BG, SQ
Estação	219,5	0,000**	I>V
Local x estação	3,5	0,023*	
Mn:Ca			
Local	2,4	0,07	-
Estação	0,9	0,33	-
Local x estação	1,8	0,15	-
Ba:Ca			
Local	3,4	0,02*	SQ>BS, IG
Estação	0,5	0,44	-
Local x estação	0,1	0,98	-

3.2 Otólitos dos sistemas estuarinos

As concentrações elementares na avaliação da região do núcleo (50 primeiras leituras) indicaram diferenças nas razões Ba:Ca e Sr:Ca que apresentaram maiores valores em Araruama comparado com os demais sistemas e maiores valores das razões de Mg:Ca e Mn:Ca na Baía de Sepetiba comparada com a Baía de Guanabara (Tabela 3).

Tabela II 3. Diferenças significativas nas proporções dos elementos no perfil núcleo dos otólitos entre os sistemas semifechados: ARA, Laguna de Araruama; BS, Baía de Sepetiba; BG, Baía de Guanabara.

	F	P	Tukey
Ba:Ca	136,4	0,00**	ARA> BS> BG
Mg:Ca	6,9	0,00**	BS> BG, ARA
Mn:Ca	3,3	0,04*	BS> BG
Sr:Ca	25,0	0,00**	ARA>BS, BG

** Valores de significância $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Cerca de 77,2% dos casos analisados pela concentração dos elementos foram corretamente classificados na função discriminante linear, variando de 63,2% a 96,0% na Laguna de Araruama (Tabela 4).

Tabela II 4. Resultado da função discriminante linear dos estuários baseado nas razões elemento:Ca dos indivíduos capturados no interior sistemas BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; ARA- Laguna de Araruama.

Classification Results^a

	Local	Predicted Group Membership			Total
		BS	BG	ARA	
	BS	24	13	1	38
	BG	8	30	0	38
	ARA	1	0	24	25
%	BS	63,2	34,2	2,6	100,0
	BG	21,1	78,9	,0	100,0
	ARA	4,0	,0	96,0	100,0

a. 77,2% of original grouped cases correctly classified.

Com uma explicação de 91,3% no primeiro eixo da distribuição canônica da função discriminante dos sistemas estuarinos, houve uma separação da

Laguna de Araruama com maior influência de maiores razões de Sr:Ca e Ba:Ca e da Baía de Sepetiba com maiores razões de Mg:Ca e Mn:Ca (Figura 4).

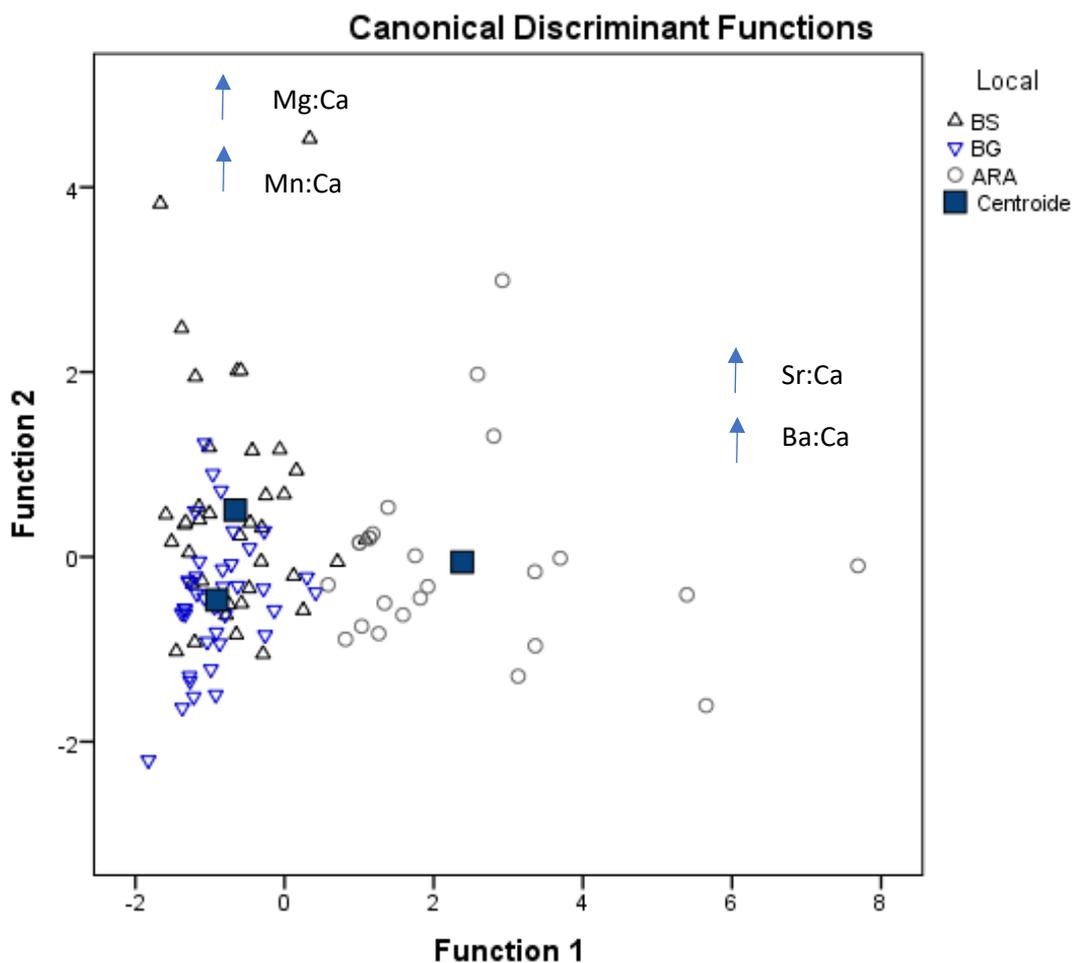


Figura II 3. Diagrama dos dois primeiros eixos da função canônica discriminante das razões elementares no núcleo dos otólitos dos indivíduos nos sistemas estuarinos semifechados.

3.3 Sistemas estuarinos e zona costeira

As maiores razões de Sr:Ca foram encontradas em peixes da Laguna de Araruama e Arraial do Cabo, enquanto as menores foram encontradas na Baía de Guanabara, Itaipu. As maiores razões de Ba:Ca também foram encontradas em peixes da Laguna de Araruama e Arraial do Cabo, e menores dos demais sistemas (Tabela 5).

Tabela II 5. Média \pm Desvio Padrão (DP) das razões de Sr:Ca e Ba:Ca dos otólitos por localidade.

Locais	Sr:Ca	Ba:Ca
	Média \pm DP	Média \pm DP
Sistemas estuarinos		
Baía de Sepetiba	0,47 \pm 0,07	8,0 \pm 2,5
Baía de Guanabara	0,42 \pm 0,03	6,6 \pm 1,4
Laguna de Araruama	0,51 \pm 0,04	26,2 \pm 12,3
Zona costeira		
Itaipu	0,47 \pm 0,05	6,4 \pm 1,6
Saquarema	0,46 \pm 0,04	6,9 \pm 2,9
Arraial do Cabo	0,52 \pm 0,10	10,2 \pm 8,0

As razões de Sr:Ca seguem um padrão de aumento em direção a borda do otólito, enquanto as razões de Ba:Ca tendem a ser maiores mais próximo ao núcleo, com uma tendência ao decréscimo de acordo com o aumento da distância do núcleo (Figura 4 e 5).

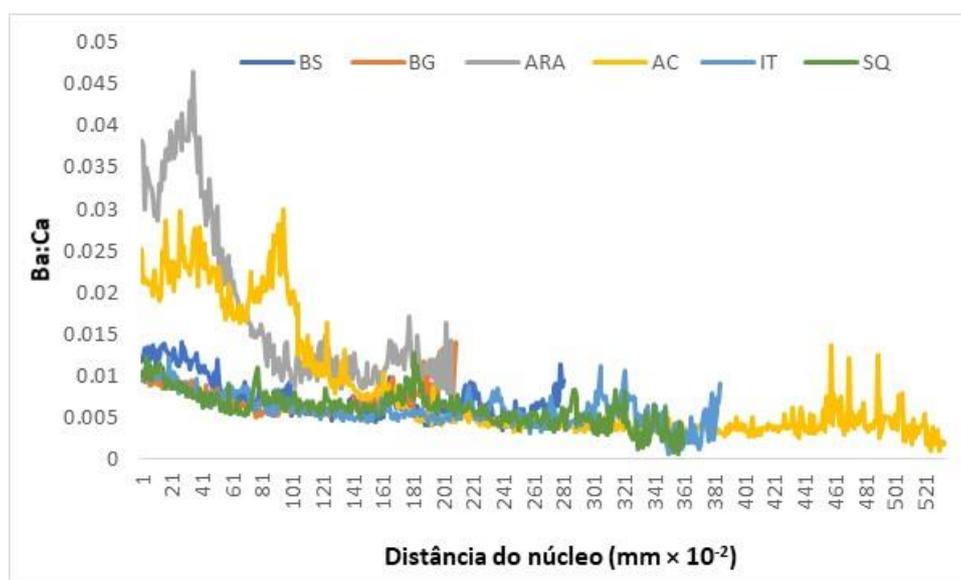


Figura II 4. Média das razões Ba:Ca no eixo núcleo-borda dos otólitos em cada localidade.

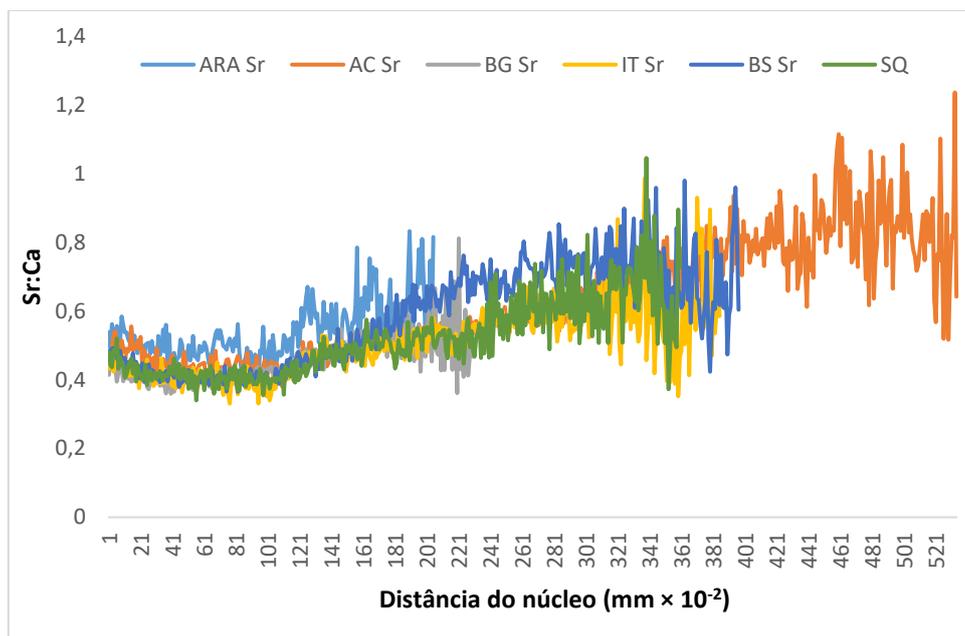


Figura II 5. Média das razões de Sr:Ca no eixo núcleo-borda dos otólitos em cada localidade.

Foram comparadas as razões de Sr:Ca e Ba:Ca de peixes de cada sistema estuarino com sua área costeira mais adjacente com teste de Friedman Anova e concordância de Kendall das 100 primeiras médias de cada elemento (porção mais próxima ao núcleo e onde os indivíduos ainda estariam dentro do sistema) (Figuras 6 e 7). Os maiores valores foram encontrados para a Laguna de Araruama e Arraial do Cabo comparado com os demais sistemas para o Sr:Ca. Para o Ba, os maiores valores foram encontrados para a praia de Saquarema, Laguna de Araruama e Arraial do Cabo comparado com os demais sistemas.

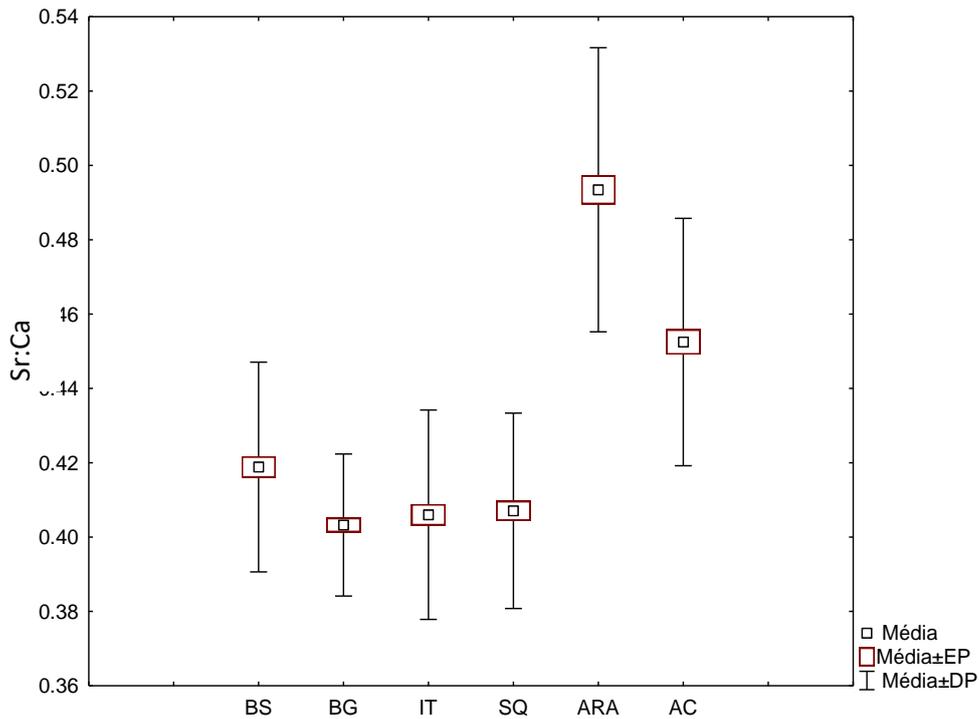


Figura II 6. Média das razões Sr:Ca da porção inicial dos otólitos de corvinas de sistemas estuarinos e costeiros. BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; IT- Itaipu; ARA – Araruama; AC – Arraial do Cabo.

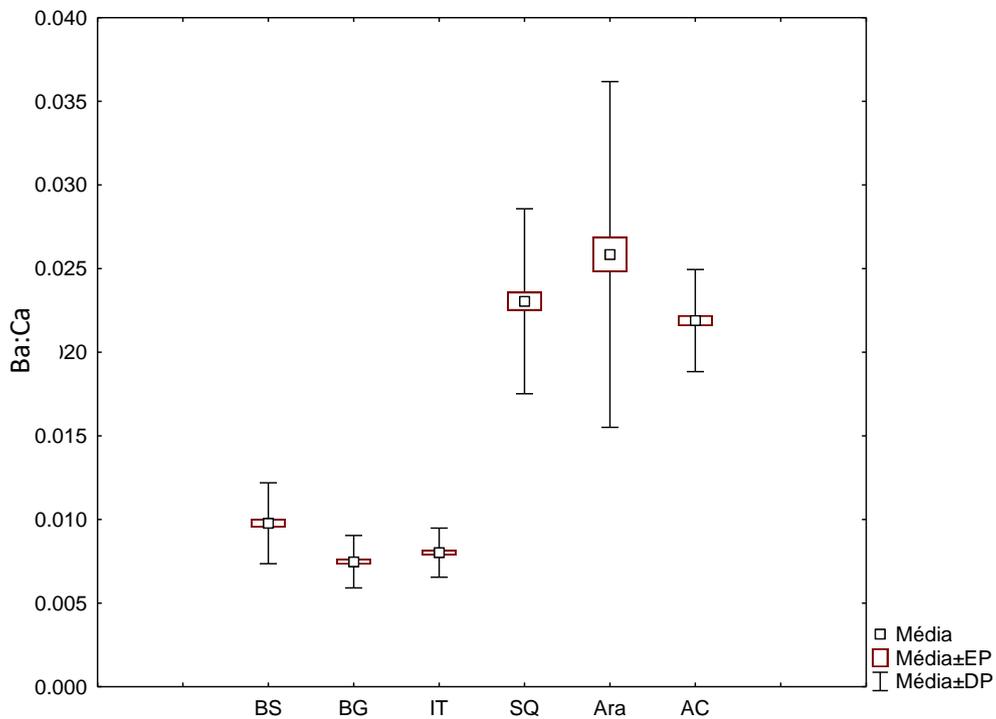


Figura II 7. Média das razões Br:Ca da porção inicial dos otólitos de corvinas de sistemas estuarinos e costeiros. BS- Baía de Sepetiba; BG- Baía de Guanabara; IT- Itaipu; ARA – Araruama; AC – Arraial do Cabo.

Ao comparar o perfil de borda dos indivíduos dos sistemas estuarinos com os indivíduos da zona costeira encontramos diferenças significativas para os elementos. Ba:Ca, Mg:Ca e Sr:Ca, os dois primeiros foram maiores nos otólitos do interior dos sistemas estuarinos enquanto o Sr foi maior na costa (Tabela 6).

Tabela II 6. ANOVA monofatorial de cada razão elementar entre os sistemas Estuarinos (E) e Costeiros da plataforma continental (C).

	F	P	Tukey
Ba:Ca	17,76	0,00**	E > C
Mg:Ca	5,18	0,02*	E > C
Mn:Ca	Ns	Ns	-
Sr:Ca	6,02	0,01*	C > E

A análise discriminante de todas as localidades foi usada para indicar a porcentagem de indivíduos corretamente classificados de acordo com a razão elemento:Ca na porção do núcleo dos otólitos. De acordo com esta análise, aproximadamente 45% dos indivíduos da costa possuem concentrações equivalentes a massas d'água de algum sistema estuarino estudado. Alguns locais se assemelharam ao sistema estuarino mais próximo, como no caso de Itaipu com maior porcentagem dos peixes provenientes da Baía de Guanabara. Já Arraial do Cabo teve maior porcentagem dos peixes provenientes da Baía de Sepetiba e da Lagoa de Araruama (Figura 8).

A análise de máxima verossimilhança do núcleo de todas as amostras (estuários e costa) apontou as Baías de Guanabara e Sepetiba como as principais áreas de exportação de corvinas para o estoque costeiro do Estado, sendo a Baía de Guanabara a mais importante delas com 45% dos indivíduos, seguido pela Baía de Sepetiba com 41%. Em terceira posição ficou a Laguna de Araruama com 12%.

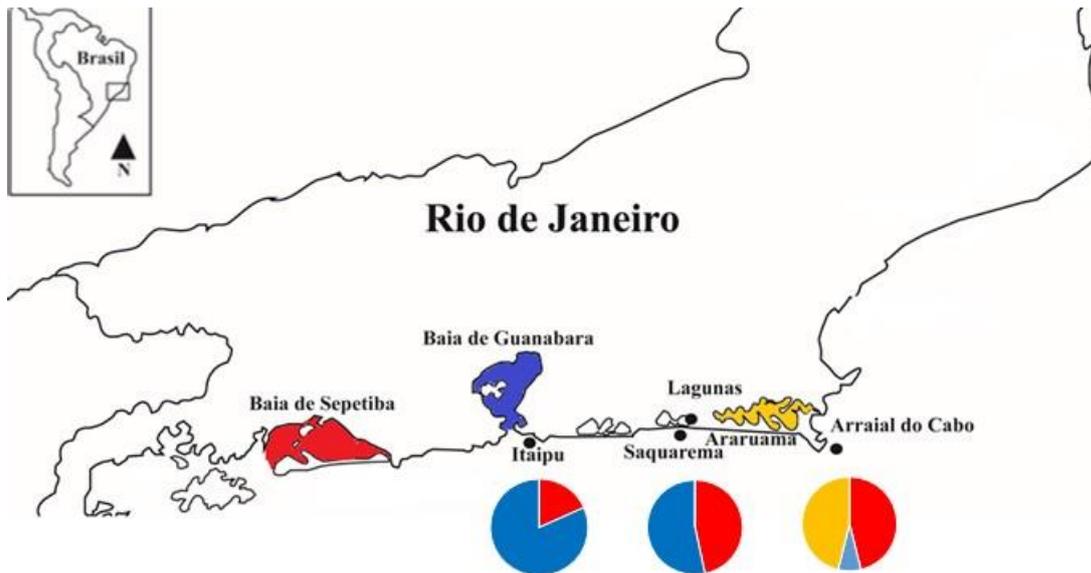


Figura II 8. Área de amostragem ao longo da costa do Rio de Janeiro com as assinaturas químicas dos sistemas semifechados classificados por cor e a origem natal de indivíduos coletados na zona costeira do Estado.

4 DISCUSSÃO

Neste trabalho, pudemos observar, a partir de informações químicas de otólitos, a existência de diferentes concentrações elementares entre corvinas *Micropogonias furnieri* capturadas em sistemas estuarinos e a zona costeira adjacente. Maiores razões de Sr:Ca ocorreram em indivíduos capturados na zona costeira, enquanto maiores razões de Ba:Ca, Mg:Ca e Mn:Ca ocorreram em indivíduos capturados nos sistemas estuarinos. Também foram encontradas diferenças entre os sistemas estuarinos, que permitiram a identificação de um perfil elementar diferenciado para a Laguna de Araruama, com as maiores razões de Ba:Ca e Sr:Ca, e para a Baía de Sepetiba, com a maior razão de Mg:Ca e Mn:Ca. A partir desse resultado, identificamos as baías como os principais sistemas de contribuição para o estoque adulto da costa do Estado.

Diferenças nas razões elementares se devem principalmente a dois fatores: disponibilidade de elementos na água e diferenças na incorporação relacionados a ontogenia. Sistemas estuarinos, por terem aporte de águas continentais que carregam material particulado de origem terrígena, contém, geralmente, maior quantidade de elementos como Ba, negativamente

correlacionado com a salinidade (Miller, 2011; Avigliano *et al.*, 2013). Enquanto sistemas costeiros abertos (plataforma continental) possuem, geralmente, elementos como Sr mais elevado, positivamente correlacionado com a salinidade (Campana, 1999; Kraus & Secor, 2004). Nossos resultados corroboram ao encontrado na literatura com maiores razões de Ba:Ca nos estuários e maiores razões de Sr:Ca na plataforma costeira, porém a maior concentração de Mg:Ca nos peixes da Baía de Sepetiba não tem padrão explicável na literatura disponível. Indivíduos da mesma espécie podem apresentar alterações fisiológicas ao longo do seu crescimento capazes de modificar concentrações elementares sem que experimentem diferentes massas de água (Albuquerque *et al.*, 2010; Volpedo & Vaz-dos-Santos, 2015). Estudos com uma espécie co-genérica (*M. undulatus*) demonstraram que a concentração de elementos como Ba, Mg e Sr podem variar de acordo com a ontogenia (Fowler *et al.*, 1995). Ao comparar taxas elementares do perfil núcleo-borda de todas as localidades aumentamos as chances de inferir nos efeitos ontogenéticos de incorporação, pois corvinas capturadas no interior de sistemas estuarinos são, em sua maioria, recrutas, juvenis e subadultos que diferem em tamanho das corvinas provenientes da costa, geralmente adultas. Da mesma forma, corvinas com idades diferentes dentro dos sistemas também poderiam sofrer influência desta variável. Testamos a existência de diferenças nas leituras dos anéis/comprimento (quando existente) dentro dos sistemas, mas não conseguimos testar essa variável de forma separada, sem influência do fator 1 (disponibilidade de elementos na água). Logo, a diferença dentro de cada sistema estuarino não foi encontrada, somente entre os sistemas estuarinos.

4.1 Variações sazonais na água

Neste estudo não foram encontradas diferenças elementares para Ba:Ca e Mn:Ca na água entre as estações testadas e diferenças entre Sr:Ca e Mg:Ca se deram provavelmente por um regime atípico de chuvas. As razões elementares de Sr e Mg na água foram diferentes entre as estações de verão e inverno. No caso deste estudo estes elementos foram maiores no verão, período chuvoso para a região, onde a água salgada dos sistemas estuarinos é diluída pelo maior aporte de água doce carreado pelos rios. A precipitação total nos

períodos de coleta da água pode explicar esse padrão. No período de junho de 2016 a precipitação acumulada foi de 80 mm, maior do que a esperada (50 mm). Por outro lado, em janeiro de 2017 a precipitação foi de 20 mm, muito abaixo do esperado para o mês de janeiro (130 mm) (INMET, 2017). A análise de água pode servir como um tipo de controle de grandes variações nas concentrações elementares entre estações e anos nos sistemas estudados. Se pouca ou nenhuma variação ocorrer pode-se assumir que peixes de diferentes coortes poderiam ser utilizados na identificação da conectividade entre jovens e adultos.

4.2 Comparação dentro e entre os sistemas estuarinos

Ao comparamos sistemas estuarinos afim de identificar diferenças químicas marcantes nos deparamos com uma elevada razão de Ba:Ca dentro da Laguna de Araruama, onde era esperada somente uma elevada razão de Sr:Ca por conta de sua relação positiva com a salinidade. Porém a presença do Bário está associada ao material biogênico em processo de decomposição e lixiviação (Jacquet *et al.*, 2005). Esse material particulado ou dissolvido é carregado por águas continentais e tende a se acumular no fundo. A laguna possui uma estreita conexão com o mar e uma renovação lenta de água, o que pode causar o aprisionamento desse sedimento e elevar razões de Ba:Ca. A Baía de Sepetiba também apresentou maiores razões de Mg:Ca e Mn:Ca em comparação aos demais sistemas estuarinos. O manganês já foi negativamente relacionado a oxigênio dissolvido na água, pois maiores concentrações de oxigênio aumentam processos biogeoquímicos de oxirredução de metais como o Mn (Rakocinski *et al.*, 2015). Além do fato do regime de chuvas ter ocorrido de forma atípica em alguns períodos do ano, na BS encontra-se o parque industrial de Itaguaí e o porto de Itaguaí, segundo local de maior exportação de minério de ferro e carvão do país. O transporte do minério é feito através de trilhos que invadem a baía por cerca de 1,5 km para abastecer os navios, além disso ocorre uma dragagem do canal principal de navegação, fatores que poderiam estar influenciando a concentração de alguns elementos no interior da baía. Essa dificuldade em diferenciar estes sistemas poderia ser resolvida ao incorporar nas

análises químicas uma maior gama de elementos como por ex. Li, Na, K, S, Cl, P, Zn etc.

4.3 Comparação entre locais da zona costeira

No ambiente oceânico as concentrações elementares tendem a ser mais constantes do que ambientes marinhos mais próximos da costa por não sofrerem influência de estuários e atividades antrópicas (Chang *et al.*, 2004). Ao compararmos locais da costa através da borda dos otólitos, não esperávamos encontrar grandes diferenças, no entanto, alguns locais possuem forte influência dos sistemas estuarinos mais próximos, como Itaipu e Baía de Guanabara por exemplo. Razões elevadas de Ba:Ca e Mn:Ca, ocorreram em sistemas próximos a grandes baías como Itaipu (situada imediatamente na boca da baía). Maiores razões de Ba:Ca foram encontradas mais próximo ao núcleo, o que relacionamos a criação em estuários, apesar da possibilidade da influência ontogenética na incorporação do elemento existir como visto por Secor *et al.*, 1995. Porém, as razões de Ba:Ca em peixes de Arraial do Cabo tiveram valores muito acima da média quando comparados aos demais locais, assim como nos peixes da Laguna de Araruama. Assumimos que parte dos indivíduos capturados em Arraial do Cabo recrutaram em Araruama, porém, outro fator que pode ter influenciado nas concentrações de Ba nestes dois locais é o fenômeno de ressurgência que atua na região durante até 8 meses do ano (Gonzalez *et al.*, 1992). Ao trazer águas frias da profundidade para a superfície, aumenta a concentração de Ba que antes estava sob forma de sedimento (Woodson *et al.*, 2013). Enquanto isso, as taxas Sr:Ca apresentaram uma tendência de aumento de acordo com o afastamento do núcleo do otólito, o que reforça a relação com migração entre sistemas estuarinos e marinhos.

4.4 Contribuição dos sistemas estuarinos para os estoques na zona costeira

A análise discriminante mostrou que os peixes provenientes das baías estão presentes em todos os locais da costa estudados, porém os da Laguna somente foram encontrados na costa em Arraial do Cabo, a área mais adjacente

mais próxima ao sistema. Cerca de 45% dos peixes adultos capturados na costa tiveram assinaturas elementares no núcleo dos otólitos semelhantes às daquelas de indivíduos jovens capturados no interior dos sistemas estudados e as baías parecem ser as maiores contribuintes para a exportação de corvinas para a costa do Estado. Apesar de possuírem porcentagens de exportação semelhantes, a contribuição das baías se diferencia por indivíduos da Baía de Sepetiba atingirem maior distância do que os indivíduos da Baía de Guanabara. Composições químicas semelhantes entre otólitos de peixes não garantem que grupos constituam o mesmo estoque (por poder haver mais de uma combinação de fatores ambientais capaz de produzir o mesmo efeito da composição química nos otólitos) (Volpedo & Vaz-dos-Santos, 2015). Acreditamos que os 55% dos indivíduos que não foram relacionados a nenhum sistema estuarino podem ter diversas razões para a ausência de assinaturas químicas específicas. Dentre elas, destacamos a não amostragem em outros sistemas estuarinos (como o complexo de lagoas da Tijuca, Jacarepaguá e Marapendi), a homogeneidade química da água fora da região de influência dos estuários, e ainda, corvinas que migraram de outros estados como São Paulo e Espírito Santo.

O estoque de corvinas da costa parece ser composto de indivíduos que recrutaram nas baías, formando um estoque heterogêneo, porém, em alguns casos parece existir uma dependência do sistema estuarino mais próximo, como ocorre em Itaipu e Arraial do Cabo. Thorrord et al (1998) estudando áreas de origem de indivíduos de pescada *Cynoscion regalis* da costa sul dos EUA percebeu áreas em que os peixes vinham exclusivamente de um sistema e áreas onde os peixes vinham homogeneamente de todos os sistemas estuarinos estudados. O resultado encontrado neste trabalho também pode estar relacionado ao tamanho dos indivíduos, os que estão relacionados aos sistemas mais próximos provavelmente saíram do sistema estuarino a menos tempo e não tiveram a possibilidade de migrar para áreas mais distantes da costa. Este padrão é facilmente visualizado em Itaipu, com corvinas entre 33 e 40 cm de CT, tamanhos não tão grandes quanto peixes capturados em áreas mais distantes da plataforma continental.

5 CONCLUSÕES

As composições químicas elementares diferem entre otólitos de peixes estuarinos e de zonas costeiras adjacentes. Maiores concentrações de estrôncio se encontram nos indivíduos da costa enquanto maiores concentrações de bário, magnésio e manganês nos indivíduos estuarinos. Da mesma forma, a assinatura química de peixes provenientes de ambientes estuarinos difere de acordo com o sistema, mas não dentro do sistema. Maiores razões de bário e estrôncio foram encontradas em peixes da Laguna de Araruama e magnésio e manganês na Baía de Sepetiba. Tais diferenças permitiram a identificação de assinaturas elementares específicas em sistemas estuarinos diferentes.

Os sistemas estuarinos estudados contribuíram com pelo menos 45% dos peixes capturados na zona costeira de acordo com a composição química dos otólitos. Os maiores contribuintes foram as Baía de Guanabara e Baía de Sepetiba, duas baías de grande porte e ampla conexão com o mar, o que pode facilitar os movimentos de entrada e saída de espécies estuarino-dependentes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C.Q., MIEKELEY, N., MUELBERT, J.H., 2010. Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*, trapped in a freshwater lagoon: a natural comparison of freshwater and marine influences on otolith chemistry. *Neotrop. Ichthyol.* 8 (2), 311-320.

AVIGLIANO, E, MARTINEZ RIAÑOS, F., VOLPEDO, A.V. 2013. Combined use of otolith microchemistry and morphometry as indicators of the habitat of the silverside (*Odontesthes bonariensis*) in a freshwater-estuarine environment. *Fisheries Research* 149, 55-60.

BECK, M. W., HECK, K. L., ABLE, K. W., CHILDERS, D. L., EGGLESTON, D. B., GILLANDERS, B. M., WEINSTEIN, M. P. 2001. The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates. *BioScience*, 51, 633-641.

CAMPANA, S. E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, 188, 263-297.

CHANG, C.W., IIZUKA, Y. & TZENG, W. N. 2004. Migratory environmental history of the grey mullet *Mugil cephalus* as revealed by otoliths Sr:Ca ratios. *Marine Ecology Progress Series* 268, 277-288.

COSTA, M. R., & ARAUJO, F. G. 2003. Use of a tropical bay in southeastern Brazil by juvenile and subadult *Micropogonias furnieri* (Perciformes, Sciaenidae), *ICES J of Mar Science* (02), 268-277.

DAHLGREN, C. P., KELLISON, G. T., ADAMS, A. J., GILLANDERS, B. M., KENDALL, M. S., LAYMAN, C. A., SERAFY, J. E. 2006. Marine nurseries and effective juvenile habitats: concepts and applications, 312, 291-295.

ELSDON, T. S., B. K. WELLS, S. E. CAMPANA, B. M. GILLANDERS, C. M. JONES, K. E. LIMBURG, D. H. SECOR, S. R. THORROLD, AND B. D. WALTHER. 2008. Otolith chemistry to describe movements and life-history parameters of fishes—hypotheses, assumptions, limitations and inferences. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 46, 297-330.

FOWLER, A. J., CAMPANA, S. E., JONES, C. M. & THORROLD, S. R. 1995. Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition of otoliths using laser ablation ICPMS. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52, 1431-1441.

FORTUNATO, R. C., & VOLPEDO, V. B. D. A. 2017. Otolith morphometry and microchemistry as habitat markers for juvenile *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) in nursery grounds in the Valencian community, Spain, 1-5.

GONZALEZ-RODRIGUEZ, E., VALENTIN, J. V., LACERDA, D. A., AND JACOB, S. A. 1992. Upwelling and downwelling at Cabo Frio (Brazil): comparison of biomass and primary production responses. *J of Plankton Res*, 12, 289-306.

HAIMOVICI, M., IGNACIO, J.M. 2005. *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). In: Rossi CLW, Cergole MC, Ávila-da-Silva AO (eds) *Análise das Principais Pescarias Comerciais da Região Sudeste-Sul do Brasil: Dinâmica Populacional das Espécies em Exploração*. Série Documentos Revizee-Score Sul, São Paulo, pp 101-107.

INMET. 2017. Rain precipitation data of the region and years of study, Meteorology National Institute. Meteorology National Institute Data Center, RJ, BR. Disponível em: <[http:// www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br)> Acesso em: maio de 2017.

JACQUET, S. H. M., F. DEHAIRS, D. CARDINAL, J. NAVEZ & B. DELILLE. 2005. Barium distribution across the Southern Ocean frontal system in the Crozet–Kerguelen Basin. *Marine Chemistry*, 95, 149-162.

KRAUS, R.T., SECOR, D.H. 2004. Incorporation of strontium into otoliths of an estuarine fish. *J Exp Mar Biol Ecol* 302, 85-106.

MILLAR, R.B. 1990. Comparison of methods for estimating mixed stock fishery composition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47, 2235-2241.

MILLER, J.A., 2011. Effects of water temperature and barium concentration on otolith composition along a salinity gradient: implications for migratory reconstructions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 405, 42-52.

RAKOCINSKI, C. F., PETERSON, M. S., & SHILLER, A. M. 2015. Regional patterns in the otolith chemistry of Juvenile Spotted Seatrout (*Cynoscion nebulosus*) differ under contrasting hydrological regimes. *The Open Fish Sci J*, 8, 1-12.

SECOR, D.H., DEAN, J.M., AND CAMPANA, S.E. (Editors). 1995. Recent developments in fish otolith research. University of South Carolina Press, Columbia, S.C.

THORROLD S.R., JONES C.M., CAMPANA S.E., MCLAREN J.W., LAM J.W.H., 1998. Trace element signatures in otoliths record natal river of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Limnol. Oceanogr.* 43, 1826-1835.

TULP, I., KELLER, M., NAVEZ, J., WINTER, H. V, GRAAF, M. DE, & BAEYENS, W. 2013. Connectivity between Migrating and Landlocked Populations of a Diadromous Fish Species Investigated Using Otolith Microchemistry, 8 (7), 2-9.

VOLPEDO, A. V.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M. 2015. Métodos de estudios con otolitos: principios y aplicaciones. Métodos de estudos com otólitos: princípios e aplicações. 1a ed. edición bilingüe. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 224 pg.

WANG, C. H., HSU, C. C., CHANG, C. W., YOU, C. F., & TZENG, W. N. 2010. The migratory environmental history of freshwater resident flathead mullet *Mugil cephalus* L. in the Tanshui River, northern Taiwan. *Zoological Studies*, 49 (4), 504-514.

WOODSON, L.E., WELLS, B. K., GRIMES, C. B. , FRANKS, R. P., SANTORA, J. A., CARR, M. H. 2013. Water and otolith chemistry identify exposure of juvenile rockfish to upwelled waters in an open coastal system. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 473, 261-273.

CAPÍTULO III

Título: Identificação de unidades populacionais de corvina *Micropogonias furnieri* no estado do Rio de Janeiro através da química de otólitos e uso de microssatélites

Autores: Franco, T. P., Vasconcellos, A. V., Araújo, F. G. e Correia, A. T.

Resumo: A costa do Estado do Rio de Janeiro possui uma mistura de correntes causada pela existência da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) que, durante os meses de setembro a abril, leva águas frias para a superfície do litoral Norte. O fenômeno ocorre na região de Cabo Frio e pode ser considerado como um limite geográfico, dificultando a dispersão de algumas espécies marinhas. A corvina *Micropogonias furnieri* tem distribuição ao longo de toda a costa Leste Sul Americana e estoques definidos, apesar das divergências encontradas entre estudos que usaram diferentes metodologias. A região ao norte de Cabo Frio apresenta indícios da existência de uma população ainda não determinada desta espécie. O objetivo deste trabalho foi identificar evidências da existência de diferentes unidades populacionais de *M. furnieri* na costa do Estado do Rio de Janeiro. Foram realizadas três diferentes abordagens: (1) análises de marcadores nucleares (microssatélites), (2) análises de razões isotópicas de carbono e oxigênio em otólitos e, (3) determinação de assinaturas químicas elementares de Sr:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Ba:Ca, Zn:Ca e Cu:Ca, também em otólitos. As análises de microssatélites identificaram duas populações de corvina na costa do Estado, uma ao Norte e outra ao Sul de Cabo Frio (12%), apesar das inconsistências de genotipagem nas amostras do Norte. As assinaturas químicas de $\delta^{13}\text{C}$, Sr:Ca, Mg:Ca, Zn:Ca também apresentaram diferenças entre indivíduos associados à diferentes condições ambientais do Norte e do Sul de Cabo Frio, sugerindo que os mesmos experimentam massas de água diferentes ao longo da vida. Contudo a variabilidade nas análises de microssatélites para os grupos do Norte de Cabo Frio, aponta para a necessidade de estudos mais aprofundados de forma a que se confirme a existência da segunda população de *M. furnieri* do estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Sciaenidae, estoques, assinaturas geoquímicas, marcadores moleculares.

Title: Identifying Whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* unit populations along the coast of the Rio de Janeiro State through microsatellites and otolith chemistry

Authors: Franco, T. P., Vasconcellos, A. V., Araújo, F. G. e Correia, A. T.

Abstract: The coast of the State of Rio de Janeiro has a seasonal phenomenon caused by the existence of the subtropical convergence waters that during the months of September to April brings cold water to the surface in the North coast. The phenomenon (upwelling) occurs in the region of Cabo Frio and can be considered as a geographical limit, avoiding dispersion of some species. *Micropogonias furnieri* has distribution along the entire southeast American coast and different population-units have been described, despite the divergences in their distribution in previous studies. The region north of Cabo Frio is supposed to have a differentiate undescribed *M. furnieri* population. The objective of this work was to identify evidences of different *M. furnieri* populations in the coast of the Rio de Janeiro State. Three different approaches were performed: (1) analysis of nuclear markers (microsatellites); (2) isotopic signatures of carbon and oxygen in otoliths; and (3) elemental analysis of Sr:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Ba:Ca, Zn:Ca and Cu:Ca, also in otoliths. The microsatellite analysis identified two *M. furnieri* populations on the coast of the State, one in the North of Cabo Frio and the other in the South of Cabo Frio region (12.0%), despite the inconsistency of Northern samples genotyping. The $\delta^{13}\text{C}$, Sr:Ca, Mg:Ca and Zn:Ca also presented differences in individuals of the North and South of Cabo Frio, suggesting that they inhabit different water masses throughout their lives. The variability in the samples from microsatellites analyses for the North of Cabo Frio suggests that further studies should be carried out to confirm the existence of this second *M. furnieri* population of in the state of Rio de Janeiro.

Keywords: Sciaenidae, fish stocks, geochemical signatures, molecular tags.

1. INTRODUÇÃO

A corvina *Micropogonias furnieri*, um dos recursos pesqueiros de maior importância do Sul e Sudeste do Brasil, encontra-se em estado de sobrepesca desde 1960 (Haimovici & Inácio, 2005). A delimitação de seus estoques é importante para que se criem medidas eficazes de gerenciamento, levando em consideração os impactos causados pela pesca e outras atividades antrópicas. Nas últimas décadas, diversos estudos buscaram delimitar a quantidade e a localização de populações de *M. furnieri* ao longo da costa Leste Sul Americana (e.g., Vazzoler, 1971; Haimovici & Inácio, 2005). No entanto foram sendo utilizadas diferentes metodologias para se testar várias hipóteses, mas os resultados obtidos têm sido, até há data, contraditórios (e.g. Isaac, 1988; Puchnick & Levy, 2006; Vasconcellos *et al.*, 2015).

Apesar da área de distribuição da espécie abranger todo a costa do país, as maiores abundâncias e importância econômica se restringem ao Sul e Sudeste, sendo as principais áreas de estudo da mesma. Dentre as hipóteses testadas nos estudos anteriores, três hipóteses foram sugeridas: a existência de uma, duas ou até três populações distintas de corvina (considerando somente as regiões sul e sudeste dos limites da costa brasileira). Uma única população para a costa Sul/Sudeste foi proposta utilizando análises bioquímicas musculares (Suzuki *et al.*, 1983), eletroforese de aloenzimas (Maggioni *et al.*, 1994) e padrões de restrição de DNA mitocondrial (Levy *et al.*, 1998; Puchnick & Levy, 2006). Já as propostas de duas populações, utilizaram dados da biologia pesqueira e reprodutiva da espécie e propuseram uma população I se distribuindo de Cabo Frio (23°S) até o Cabo de Santa Marta (29°S), e uma população II com distribuição entre o Cabo de Santa Marta e o Chuí (33°S), com próxima concordância entre a área de delimitação das mesmas (Vazzoler 1971; 1988; Isaac, 1988). Já Vasconcellos *et al.* (2015), utilizando marcadores mitocondriais e nucleares, sugerem uma população entre 23°S (Centro do Estado do Rio de Janeiro) até 29°S (Sul do Santa Catarina) e outra população ao sul de 29°S, o que proximamente coincide com os limites das duas populações sugeridas anteriormente..

A proposta da existência de três populações de *M. furnieri* foi baseada em análises morfométricas e de determinação de idade (Haimovici & Inácio, 2005)

que sugeriram uma população I entre o Chuí-RS (33°S) e Santa Marta-SC (29°S), uma população II entre Santa Marta e Cabo Frio (23°S) e uma população III ao norte de Cabo Frio. Também Lima (2005) utilizando análise de polimorfismo de tamanho de íntrons (EPIC-PCR) defende existência de uma população no Rio de Janeiro (23°S), uma outra entre Santos-SP (24°S) e Torres-RS (29°S) e uma terceira entre Torres e Chuí-RS (33°S).

De todas as hipóteses levantadas, o Rio de Janeiro, especialmente a região de Cabo Frio, aparece como limite Norte de quase todos os trabalhos, com exceção de Vasconcellos *et al.* (2015) que fazendo um estudo ao longo de toda a costa brasileira sugere uma terceira população no Pará (1°S). Haimovici e Inácio (2005) também apontam para uma população a norte de Cabo Frio, embora não tenham apresentado resultados confirmando esta possibilidade. A região de Cabo Frio é caracterizada pela existência do afloramento de águas mais frias que ocorre principalmente entre os meses de setembro a abril, quando os ventos predominantes de Nordeste transportam águas das camadas mais superficiais para áreas distantes da costa, favorecendo o transporte de camadas mais profundas para as camadas superficiais (Valentin e Moreira, 1978). Este fenômeno, que traz águas frias e ricas em nutrientes do fundo para a superfície, aumenta a produtividade primária e a biomassa (Gonzalez *et al.* 1992). Apesar da complexidade das correntes costeiras dificultar o entendimento das mesmas como barreiras geográficas, uma área de ressurgência poderia ser considerada como uma barreira para a dispersão de algumas espécies (Shanks *et al.* 2000; Kritze & Sale, 2006).

Dentre as técnicas modernas utilizadas para separação de unidades populacionais de peixes, destacam-se as análises de marcadores nucleares e a química de otólitos. Esta última metodologia assume que o meio, e suas características físico-químicas, onde o peixe vive é capaz de deixar assinaturas geoquímicas na matriz aragonítica dos otólitos através da incorporação de elementos traço e vestigiais (Campana, 1999). A utilização de assinaturas químicas elementares e isotópicas dos otólitos é particularmente eficaz para o estudo de populações de peixes marinhos, que usualmente devido a um longo período larvar e à inexistência de barreiras físicas, apresentam elevado fluxo gênico. Desta forma, as assinaturas químicas dos otólitos resultantes da vivência

dos peixes em massas de água com heterogeneidade espacial têm permitido complementar os estudos de biologia molecular (Bradbury *et al.*, 2008; Smith & Campana, 2010; Correia *et al.*, 2012). Muito se tem a entender sobre essa metodologia e como a concentração de cada elemento deve ser interpretada, mas diversos trabalhos recentes vêm contribuindo para a eficácia da utilização da técnica.

A técnica de microssatélites tem sido bastante utilizada na genética pesqueira por identificar a estrutura populacional contemporânea, revelando padrões mais sutis do que aqueles encontrados pelos marcadores mitocondriais convencionais (Hewitt, 2004). Microssatélites são sequências simples de repetição compostos por poucos nucleotídeos (1-6) que sofrem alto grau de polimorfismos. O mesmo, reflete mutações ocorridas de acordo com a diferenciação entre o tamanho dos alelos (Li *et al.*, 2004).

A hipótese de que o fenômeno de ressurgência no Rio de Janeiro seria suficiente para separar o estoque de corvinas da costa em duas populações foi avaliada neste trabalho. O objetivo foi identificar uma possível nova unidade populacional de *Micropogonias furnieri* ao Norte de Cabo Frio que deveria diferir da população no Centro-Sul do Estado através de análises de microquímica de otólitos e marcadores nucleares (microssatélites).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

A Ilha Grande está situada no extremo sul do Estado do Rio de Janeiro e Macaé está situada próximo do limite norte do Estado. Estas duas localidades apresentam aproximadamente 400 km de distância e a zona de ressurgência está localizada entre estas duas áreas (Figura 1).

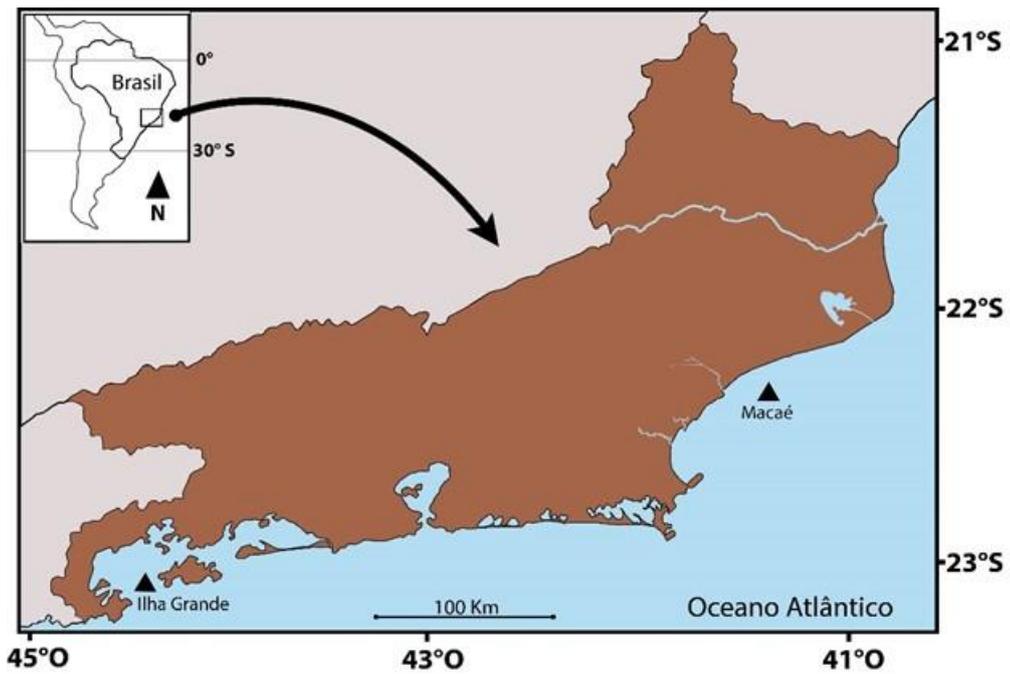


Figura III 1. Mapa do Rio de Janeiro com os pontos de coleta indicados.

O fenômeno da ressurgência, presente na região de Arraial do Cabo e Cabo Frio, atua entre os meses de setembro a abril, com temperaturas que chegam a 18°C no verão (Figura 2).

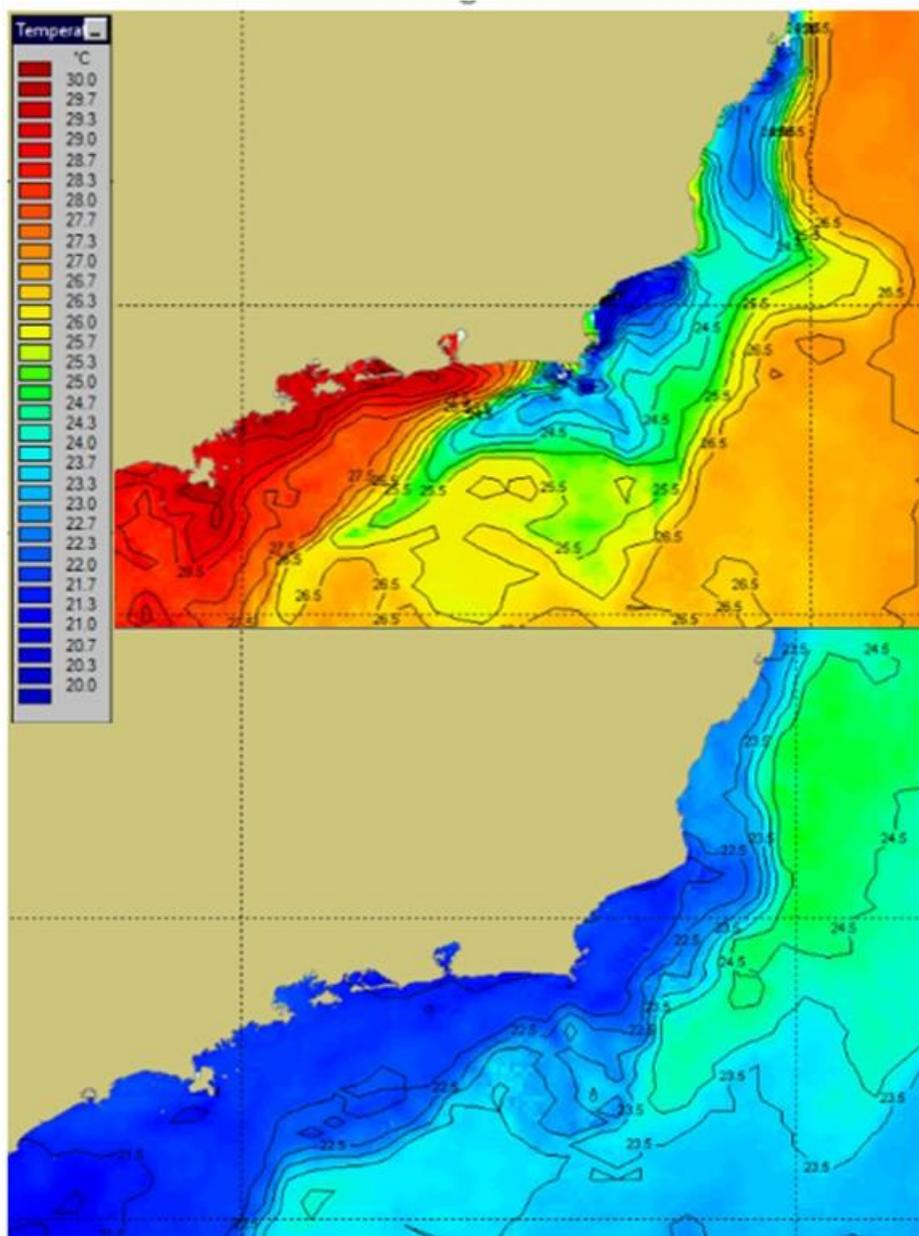


Figura III 2. Temperatura da água nas estações de verão e inverno. Dados de 26.01.2015 e 01.07.2015. Fonte: CATSAT (disponibilizado por Dr. Lauro Antonio Saint Pastous Madureira, FURG).

2.2 Coleta do material

Um total de 60 indivíduos foi utilizado para as análises elementares e isotópicas de otólitos, sendo 30 da Ilha Grande, no sul do Estado, e 30 de Macaé, no norte do Estado. A captura foi realizada por pescadores artesanais nos meses de setembro e outubro de 2016 para garantir que o local de coleta correspondia ao local de desembarque. Os peixes, todos adultos, mediram entre 29,5 e 39,5

cm de comprimento total. Para análises de microsatélites foram utilizados os mesmos 30 indivíduos de Macaé (Norte) e 45 indivíduos de Niterói (Centro) e 37 Sepetiba (Sul), analisadas previamente por Vasconcellos (2012).

Os peixes capturados tiveram os otólitos *Saggitae* cuidadosamente removidos para evitar contaminação metálica, e foram medidos (0,1 cm) e pesados (0,001 g). Para a análise de isótopos utilizamos o otólito esquerdo e para análises elementares o direito. Para análise de microsatélites utilizamos uma fração de músculo da região dorsal do peixe.

2.3 Razões isotópicas de Carbono e Oxigênio

As análises isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{18}\text{O}$ foram realizadas no Laboratório de Isótopos Estáveis (LABISE) da Universidade Federal de Pernambuco. Para determinação isotópica, o CO_2 foi extraído a partir de pó de carbonatos em alto vácuo após reação com ácido anidro ortofosfórico por 12h a 25°C (Craig, 1957). O CO_2 liberado foi analisado para isótopos de carbono e oxigênio em um espectrômetro de massas de dupla entrada, coletor triplo (SIRA III), usando BSC (Borborema Skarn Calcita) como gás de referência. O BSC foi calibrado de acordo com o NBS (National Bureau of Standards) NBS18, NBS19, NBS20. A precisão das análises foi menor do que 0,1% baseada em análises múltiplas desse padrão interno. O resultado foi expresso na notação $\delta\%$ (per mil) na relação internacional VPDB de escala (Viena Pee-Dee Belemnite) (Epstein *et al.*, 1953).

2.4 Assinaturas Químicas Elementares (Elemento:Ca)

A composição química dos otólitos inteiros foi determinada usando a técnica de dissolução com ácido nítrico após descontaminação prévia. Os otólitos sagitais foram descontaminados com peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , Fluka TraceSelect) a 3% durante 15 minutos, seguido de ácido nítrico ultrapuro (HNO_3 , Fluka TraceSelect) a 1% durante 10 segundos e depois duplamente lavados com água ultrapura (Milli-Q-Water) durante 5 minutos, e posteriormente secos em câmara de fluxo laminar (Patterson *et al.*, 1999; Rooker *et al.*, 2001). Foi feita a pesagem em balança analítica (0,0001g) e dissolução a quente durante a noite com HNO_3 ultrapuro a 10% para um volume final de 15 mL. As

amostras foram analisadas por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) equipado com a cyclonic spray chamber e um nebulizados Burgener MiraMist, nas seguintes condições: forward power 1000 W, argon flow plasma 12L/min, sheat gas 0.8L/min. Os otólitos foram analisados de forma randômica para evitar efeitos de sequência. A curva de calibração foi construída utilizando 6 padrões feitos por diluições sucessivas com o padrão do multi-elemento LCA de Inorganic Venture, Christianbourg, VA, USA.

Fez-se uma pré-seleção dos elementos a analisar nos otólitos potencialmente informativos para a espécie com base num estudo prévio (Volpedo & Cirelli, 2006). Sete elementos (^{42}Ca , ^{88}Sr , ^{137}Ba , ^{55}Mn , ^{24}Mg , ^{63}Cu e ^{66}Zn) foram detectados consistentemente acima do limite de detecção. Utilizou-se um material certificado de referência (FEBS-1) para controle de qualidade (Sturgeon *et al.*, 2005). As concentrações elementais determinadas no FEBS-1 estavam dentro dos valores certificados e obteve-se uma taxa de recuperação entre 90 e 110%. A precisão das análises replicadas para os elementos individuais foi entre 2% e 5% do desvio padrão relativo (RSD). Os limites de detecção das curvas de calibração usando o critério dos três sigma foi (em ppb): ^{42}Ca (100), ^{88}Sr (4), ^{137}Ba (20), ^{24}Mg (20), ^{55}Mn (20), ^{63}Cu (20) e ^{66}Zn (20).

2.5 Microssatélites

Foram coletadas amostras de tecido muscular do dorso de 30 indivíduos provenientes da pesca artesanal de Macaé, região Norte do Estado do Rio de Janeiro, as quais foram congeladas até a extração do DNA. Foi utilizada a técnica de extração salina (Miller *et al.*, 1988), amplificação e genotipagem de acordo com a metodologia de Vasconcellos (2012). Os resultados das 30 amostras de Macaé foram comparados aos resultados encontrados em amostras já existentes das Baías de Sepetiba e Guanabara, analisadas utilizando a mesma metodologia (Vasconcellos, 2012).

Foram utilizados 12 marcadores microssatélites desenvolvidos por Vasconcellos, 2012 (Tabela 1).

Tabela III 1. Sequências dos iniciadores, motivos repetitivos e composição dos painéis. Todos os iniciadores forward (F) foram sintetizados com uma cauda na extremidade 5' do iniciador. Os números de tombo no Genbank das sequências dos clones usados para desenhar os iniciadores estão indicados abaixo do marcador.

Locus				
Genbank	Repetições	Sequência dos iniciadores (5' – 3')	Fluoróforo	Painel
Mfur02 JF798645	(CA) ₂₁	F: TTTGAGTTGGATGGATGAGC R: AGTGAGTTTAGAGGGTCTGC	6-FAM	1
Mfur03 JF798646	(CA) ₁₉	F: ATGGAGCGATTAGGATGTGAAT R: CTGAAATGACTGAATGAGGCTG	6-FAM	2
Mfur04 JF798647	(CA) ₆ _G_(AC) ₁₂	F: TAGAGAGCCAAACATACATCGG R: TAAAGAGGTAAAGGCATGGAGG	6-FAM	1
Mfur06 JF798649	(TG) ₁₄	F: TTCACGTCTGTAGCTGTGTGTG R: GGAGACATCTGCCTGTTGAAG	VIC	1
Mfur07 F798650	(GT) ₇	F: TGTAGCCTCGACCTGAAGTGTA R: TGTGCTTAGAAACAAAGTAGCC	PET	2
Mfur10 JF798653	(CA) ₂₅	F: CTTCCCTCCACCCTCCAG R: GAGGACTTCTAAAGCGGACTGA	NED	2
Mfur12 JF798654	(GT) ₁₁	F: CTCTCTTTCCTCCCTTCTTTCC R: GCACACACCTACACACACTCCT	VIC	1
Mfur17 JF798648	(TG) ₁₁	F: AGCCCAGCACTATTTGGTTG R: CATTTGCCCTTTCTGTGTC	6-FAM	1
Mfur20 JF798660	(ACA) ₈	F: TACGCGCCGGACTATCAA R: GGATTTTGCTCATCGTCGTC	NED	2
Mfur24 JF798662	(CA) ₂₀	F: GGAGAGAGTGAGCGATTTGG R: TTTATGGGAGTGAAATGCC	NED	1
Mfur25 JF798663	(TG) ₂₂	F: CATGGCTGTCAAAGAAAAGGA R: TGCCTGTAAGCATCAGCAAC	PET	1
Mfur26 JF798664	(GT) ₂₄	F: GAGGATTTTATTGGCTCGCA R: GCCTGAGACGTGTTGACTGA	PET	1

2.6 Tratamento de dados

2.6.1 Assinaturas químicas e elementares de otólitos

Após teste de normalidade (Shapiro-Wilk, $p > 0,05$) e homogeneidade das variâncias (Levene, $p > 0,05$), com respectiva logaritmização (Log10) se necessário, a relação entre as razões elementares e isotópicas com o peso dos otólitos foi testada pela análise de covariância (ANCOVA). O peso dos otólitos foi considerado como um marcador para idade e para variação de crescimento, logo foi usado como covariável na ANCOVA. Os locais (norte e sul do estado) foram tratados como fator fixo. Para evitar que eventuais diferenças de tamanho nos indivíduos do norte e sul do estado do RJ influenciassem a diferenças de microquímica entre regiões confundindo desta forma a variação espacial (Fowler *et al.*, 1995; Bath *et al.*, 2000; Reis-Santos *et al.*, 2008). Uma ANOVA foi realizada para testar cada elemento ou razão isotópica separadamente, seguida por teste a posteriori de Tukey para identificar diferenças entre locais. A análise de variância multivariada (MANOVA) e análise de função linear discriminante (LDFA) foram usadas para explorar a variação das multi-assinaturas elementares e de razão isotópica entre os locais. Para MANOVA utilizamos o estatístico traço de Pillai por ser o mais robusto dos testes. As Coordenadas Principais da Análise Canônica (CAP) foram utilizadas para visualizar a nuvem de pontos das concentrações elementares e isotópicas nos otólitos. A acurácia de re-classificação de cada local foi avaliada através da porcentagem de casos corretamente classificados pela análise de validação cruzada de Jackknife (*leave one-out*) da análise discriminante. As análises estatísticas para esta etapa do estudo foram realizadas pelo software SPSS e Statistica 7.0. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão e nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

2.6.2 Microssatélites

Para avaliar a ocorrência de problemas inerentes à genotipagem como a presença de alelos nulos e alelos *drop-out* foi utilizado o programa Micro-Checker (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Alelos nulos foram detectados pelo programa através do cálculo da frequência de homocigotos esperados e observados. O excesso de homocigotos aumenta o desvio do esperado em relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Após correção dos problemas de genotipagem, os dados brutos foram convertidos nos arquivos de entrada de todos os programas usados para as análises através do Create 1.3.7 (Coombs *et al.*, 2008).

Para as análises de desequilíbrio de ligação entre todos os pares de loci foi utilizada a versão online do programa GENEPOP (Raymond, 1995) (<http://genepop.curtin.edu.au/>), com 10.000 iterações e desvios em relação ao esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Esse programa utiliza um teste G para testar a hipótese nula de não-associação entre alelos de dois *loci*. Também foi realizada a análise de desequilíbrio de ligação que buscou identificar a presença alelos que ocorram associados em uma frequência maior do que seria esperada ao acaso.

Para calcular as frequências gênicas e o número de alelos de cada *loci* nas três populações foi utilizado o programa FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001).

Para testar a estrutura das populações e comparar as frequências gênicas foi utilizado o programa Arlequin 3.1 (Excoffier, 2005).

A estruturação genética também foi avaliada com uma análise Bayesiana no programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Essa análise busca estimar qual o número de K populações que melhor explica os dados obtidos. O algoritmo faz a atribuição dos indivíduos às populações, buscando minimizar os desequilíbrios de Hardy-Weinberg dentro dessas populações. O programa STRUCTURE foi utilizado para a análise dos dados populacionais. Foram feitas 10 corridas independentes para cada um dos valores de K. Os valores de K analisados variaram entre 1 e 3 para o conjunto de dados populacional. Em cada uma das 30 corridas foram utilizadas 100.000 réplicas de *burn-in* seguidas por 1.000.000 de réplicas de cadeias de Markov (MCMC) e foi considerado um modelo de ancestralidade mista (*admixture*).

Outra abordagem utilizada para identificar o número de agrupamentos (ou populações) mais provável foi o método ΔK descrito por Evanno *et al.* (2005). A

estatística ΔK é definida como uma medida de segunda ordem da taxa de mudança na função da probabilidade dependente de K, e é esperado que o maior valor de ΔK indique o valor de K mais provável. Os valores de ΔK foram calculados pelo programa STRUCTURE Harvester (Earl & VonHoldt, 2011) a partir dos dados obtidos nas corridas do STRUCTURE.

Os dados obtidos pelas 10 corridas independentes STRUCTURE para o K mais provável foram compiladas pelo programa CLUMPP (Jakobsson & Rosenberg, 2007) utilizando a opção de algoritmo “Greedy” e a estrutura obtida foi visualizada no programa DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

Uma análise fatorial de correspondência (AFC) foi utilizada com o intuito de visualizar a distribuição da variação genética entre os indivíduos em um espaço multidimensional. Essa análise foi feita no programa Genetix 4.05 (Belkhir *et al.*, 2002).

3 RESULTADOS

3.1 $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{18}\text{O}$

A razão isotópica média de carbono nos otólitos do Sul foi de $1,59 \pm 0,46\text{‰DPBD}$, e de $1,18 \pm 0,45\text{‰DPBD}$ nos otólitos do Norte. Já a razão isotópica média de oxigênio foi $0,27 \pm 1,05 \text{‰VPBD}$ no Sul, e $0,77 \pm 1,05 \text{‰VPBD}$ no Norte. MANOVA indicou diferenças significativas entre os locais ($F= 4,33$; $p<0,02$). A razão média de isótopos de carbono foi maior nos peixes provenientes do Norte ($F=8,64$; $p<0,05$), enquanto as razões isotópicas de oxigênio não apresentaram diferenças entre os locais estudados ($F= 2,44$ $p>0,05$).

Para cada local, nenhuma razão isotópica mostrou qualquer relação com o peso do otólito, não sendo significativa como covariável (ANCOVA $F= 0,001$; $p>0,05$) (Fig. 3).

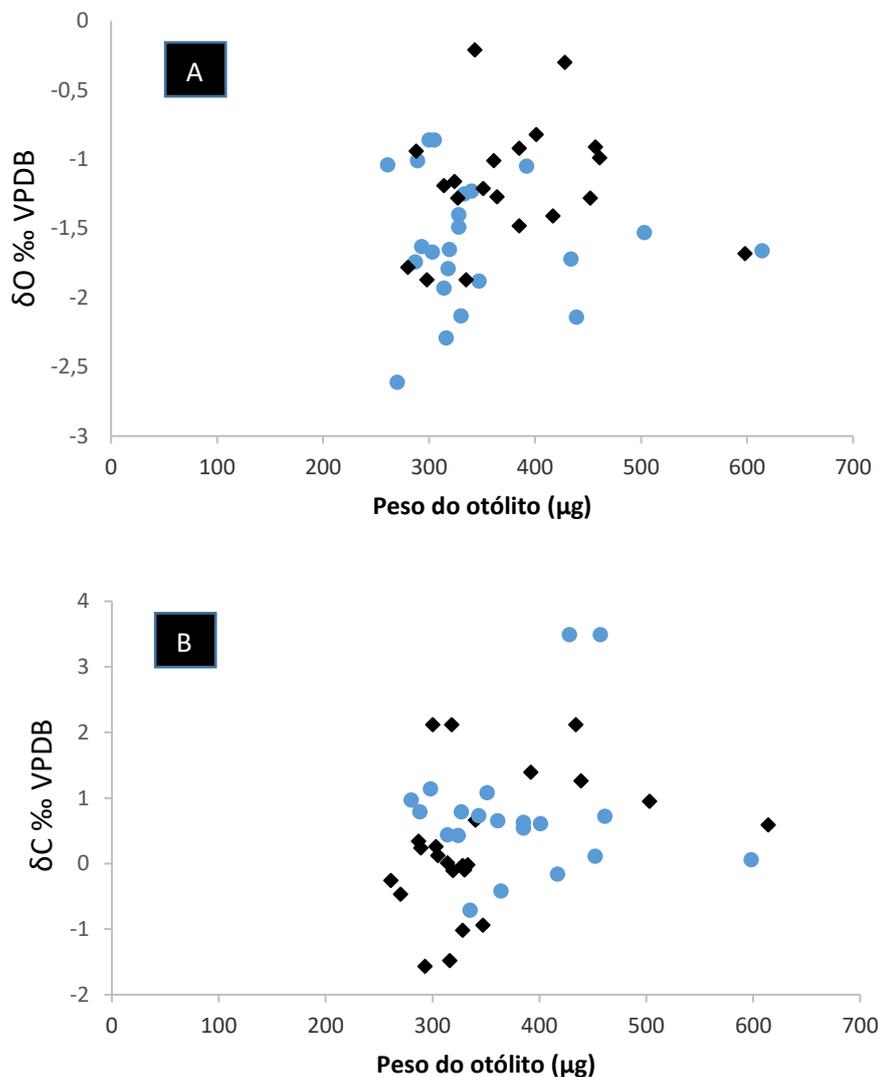


Figura III 3. Relação $\delta^{18}\text{O}$ (A) e $\delta^{13}\text{C}$ (B) dos otólitos de *M. furnieri* do sul (triângulo preto) e norte (círculo azul) e o peso dos otólitos (μg).

Apesar de existirem sobreposições entre as amostras dos dois locais, os valores de reclassificação foram 69,6% para o Sul (Ilha Grande) e 70% para o Norte (Macaé) (Tabela 2). A CAP mostrou que os pontos de Macaé estiveram mais relacionados ao $\delta^{13}\text{C}$, com explicação de 71% no primeiro eixo e 29% do segundo eixo (Fig 4)

Tabela III 2. Re-classificação de Jackknife a partir das razões isotópicas de carbono e oxigênio em Ilha Grande (sul) e Macaé (norte) com 69,8% dos casos agrupados corretamente.

		Local	Associação de Grupo Previsto		Total
			Ilha Grande	Macaé	
Original	n	Ilha Grande	16	7	23
		Macaé	6	14	20
%		Ilha Grande	69,6	30,4	100,0
		Macaé	30,0	70,0	100,0

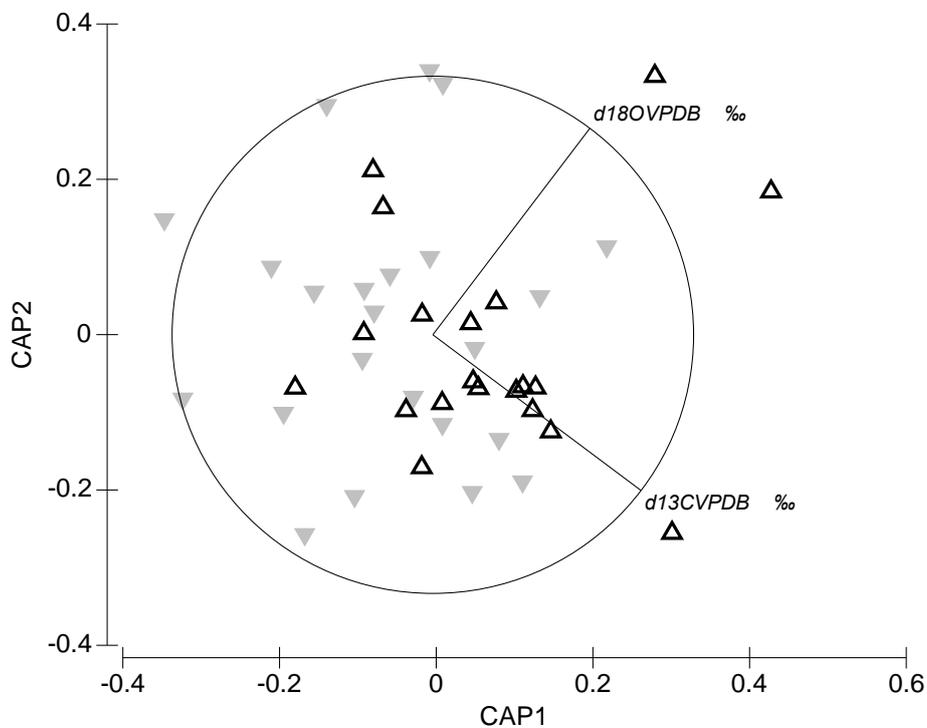


Figura III 4. Coordenadas principais da análise canônica (CAP) de assinaturas isotópicas $\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^{13}\text{C}$ dos otólitos de *M. furnieri* da Ilha Grande (triângulo cinza) e Macaé (triângulo de contorno preto).

3.2 Elemento:Ca

As razões elementares de Sr:Ca, Mg:Ca e Zn:Ca foram diferentes entre os locais estudados. As razões Sr:Ca e Zn:Ca foram maiores em Ilha Grande enquanto o Mg:Ca foi maior em Macaé. Os elementos Ba:Ca, Mn:Ca e Cu:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os locais (Tabela 3). Ao analisar todas as assinaturas multielementares juntas o teste Pillai's mostrou diferença entre os locais (MANOVA $F = 15,52$, $p < 0,01$).

Tabela III 3. Resultados de ANOVA para comparações das razões elementares de otólitos de *M. furnieri* entre os locais estudados. Resultados do pos-hoc teste Tukey também informado.

Elemento	F	p	Tukey
Sr:Ca	36,17	0,000	Ilha Grande >Macaé
Mg:Ca	55,50	0,000	Macaé>Ilha Grande
Ba:Ca	2,98	0,08	-
Cu:Ca	1,52	0,215	-
Mn:Ca	3,79	0,056	-
Zn:Ca	14,56	0,000	Ilha Grande>Macaé

A análise discriminante linear também apresentou separação entre as amostras das duas localidades estudadas com base nas razões elementares:Ca dos otólitos. Globalmente cerca de 93,3% dos casos foram corretamente classificados pela classificação de Jackknifed, variando de 90% em Ilha Grande a 96,7% em Macaé (Tabela 4). A CAP teve explicação de 37% no primeiro eixo e 23% no segundo eixo, sendo o Mg a variável mais importante para a explicação (Figura 5).

Tabela III 4. Re-classificação de Jackknife usando assinaturas químicas elementares:Ca na Ilha Grande e em Macaé com 93,3% dos casos corretamente agrupados.

		Local	Associação de Grupo Previsto		Total
			Ilha Grande	Macaé	
Original	n	Ilha Grande	27	3	30
		Macaé	1	29	30
	%	Ilha Grande	90,0	10,0	100,0
		Macaé	3,3	96,7	100,0

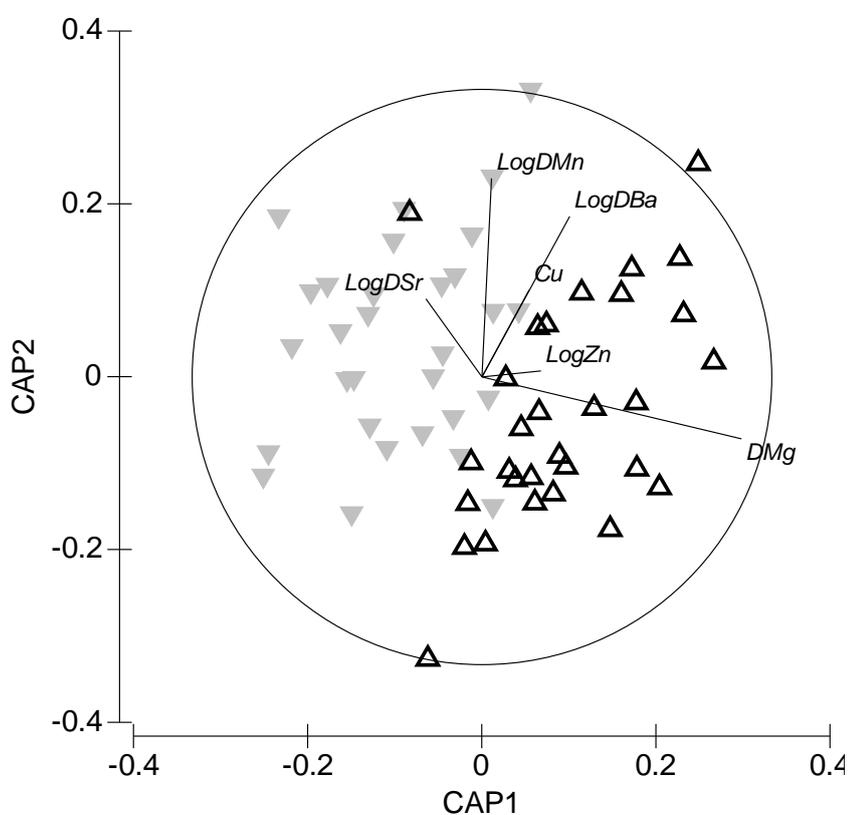


Figura III 5. Coordenadas principais da análise canônica de razões elementares de Sr, Ba, Mn, Mg, Zn e Cu dos otólitos de *M. furnieri* da Ilha Grande (triângulo cinza) e Macaé (triângulo de contorno preto).

3.3 Razões isotópicas e elementares

Ao analisar as razões isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ e elementares (Mg, Sr, Zn) juntas, os valores de classificação foram de 87% para Ilha Grande e 90% para Macaé (Tabela 5). O primeiro eixo da CAP teve explicação de 52% e o segundo

de 22%. E a variável mais importante para a explicação foi o Sr, com maiores valores nas amostras de Ilha Grande.

Tabela III 5. Re-classificação de Jackknife usando apenas as assinaturas químicas elementares e isotópicas que apresentaram diferenças entre Ilha Grande e Macaé com 88,4% dos casos corretamente agrupados no global.

	Local	Associação de Grupo Previsto		Total
		Ilha Grande	Macaé	
Original	Ilha Grande	20	3	23
	Macaé	2	18	20
%	Ilha Grande	87,0	13,0	100,0
	Macaé	10,0	90,0	100,0

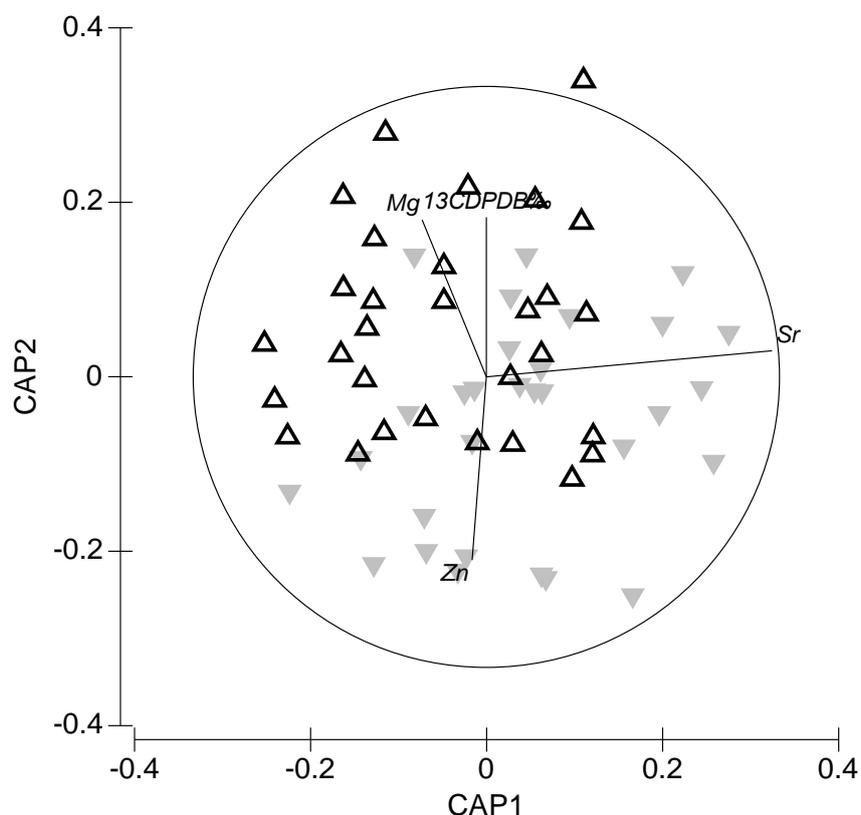


Figura III 6. Coordenadas principais da análise canônica de assinaturas isotópicas e elementares dos otólitos de *M. furnieri* da Ilha Grande (triângulo cinza) e Macaé (triângulo de contorno preto).

3.4 Microssatélites

Foram analisados 99 indivíduos provenientes de três localidades do Estado do Rio de Janeiro: 37 indivíduos de Sepetiba e Ilha Grande, representando o extremo sul do Estado, 45 da região central e 17 de Macaé representando a porção mais ao norte do Estado.

Nas análises de equilíbrio de Hardy-Weinberg, o marcador *Mfur02* apresentou desvio em relação a frequência esperada de heterozigotos para os três grupos de amostras (sul, centro e norte), enquanto os marcadores *Mfur12*, *Mfur25* e *Mfur26* apresentaram diferenças nas frequências das populações de Macaé e Rio de Janeiro (norte e centro). Os marcadores *Mfur03*, *Mfur04* e *Mfur17* apresentaram diferenças para a população de Macaé (norte) e *Mfur10* para o Rio de Janeiro (central). Nenhuma das análises de desequilíbrio de ligação apresentou valores significativos, o que demonstra independência entre os dados.

Foi detectada a presença de alelos nulos nos marcadores *Mfur03*, *Mfur04*, *Mfur07* e *Mfur26* na população de Macaé, enquanto foi encontrada somente a suspeita de alelos nulos nos marcadores *Mfur02*, *Mfur17* e *Mfur24* na mesma população. Para a população de Sepetiba somente uma suspeita de alelos nulos foi encontrada no marcador *Mfur20* e na população do Rio de Janeiro no marcador *Mfur10* (Tabela 5).

O total de alelos variou de 6 no loci *Mfur20* a 31 no loci *Mfur02*. As frequências de cada alelo em cada população podem ser observadas no anexo 1.

Tabela III 6. Excesso de homozigotos detectados na análise com o programa Micro-Checker. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; # suspeita

	Sul	Centro	Norte
Mfur02			#
Mfur03			*
Mfur04			**
Mfur06			
Mfur07			*
Mfur10		#	
Mfur12			
Mfur17			#
Mfur20	#		
Mfur24			#
Mfur25			
Mfur26			*

O maior valor de F_{st} foi encontrado entre o Norte e as demais localidades, ambos foram altamente significativos (Tabela 6).

Tabela III 7. Valores de F_{ST} entre as populações das três diferentes localidades para os 12 loci de microssatélites. Os valores em negrito indicam comparações significativas ($p < 0,05$).

Local	Norte	Centro	Sul
Norte	0,000	-	-
Centro	0,134	0,000	-
Sul	0,122	0,012	0,000

Dois subpopulações foram identificadas através da análises utilizando o programa STRUCTURE (Figuras. 6 e 7).

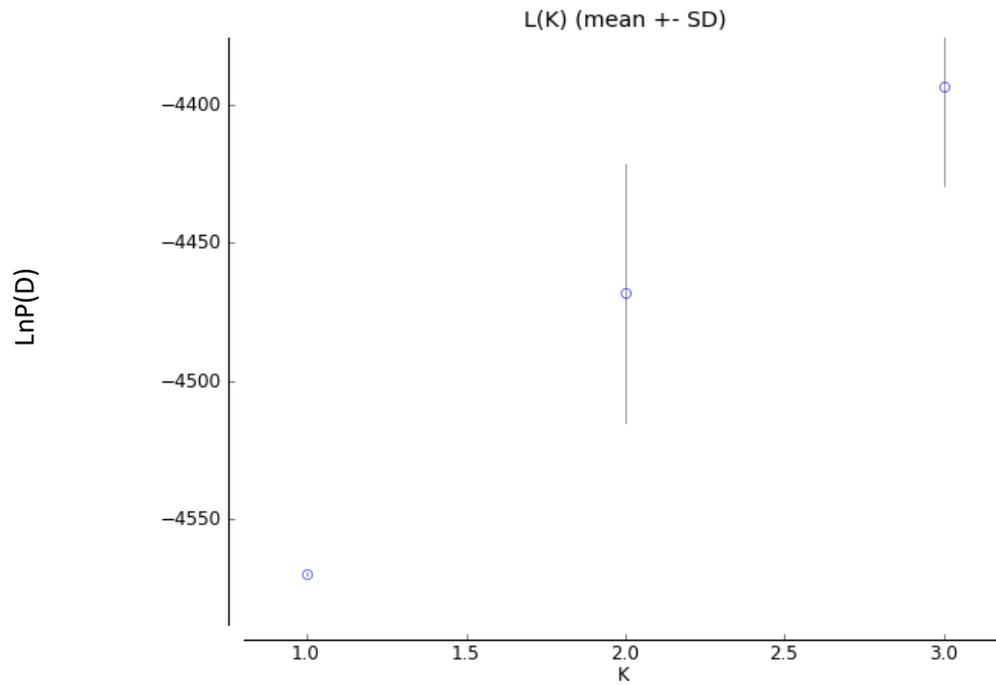


Figura III 7. Média dos valores de verossimilhança ($\text{LnP}(D)$) por número de partições (K) mais provável, segundo o programa STRUCTURE, a partir dos dados, considerando as três localidades.

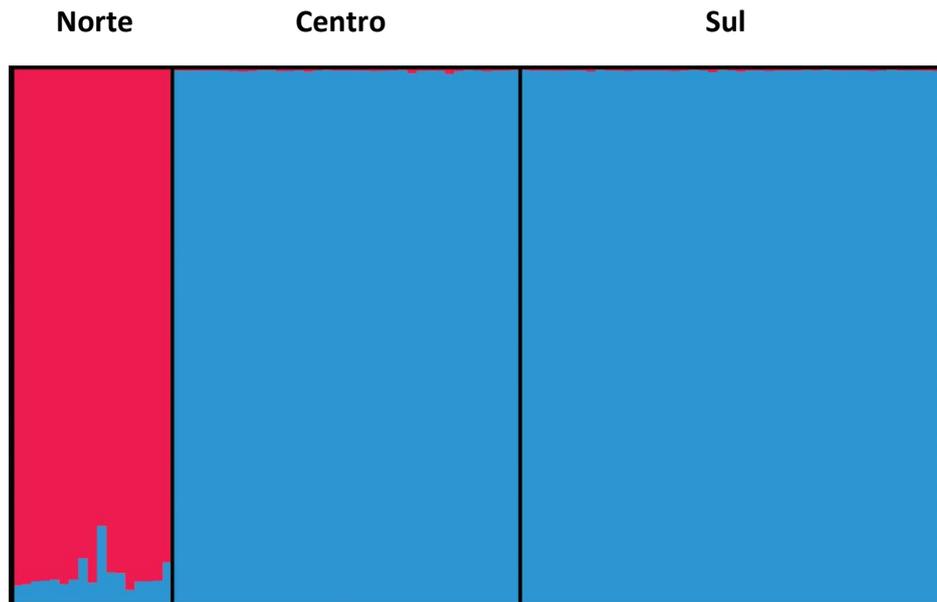


Figura III 8. Gráfico de barras do coeficiente Q para cada população considerando o cenário K=2.

A análise fatorial de correspondência indicou similaridade entre indivíduos das populações de Guanabara e Sepetiba em contraste com os indivíduos de Macaé que apresentaram uma diferença tanto entre os indivíduos quanto entre as demais populações (Fig. 8).

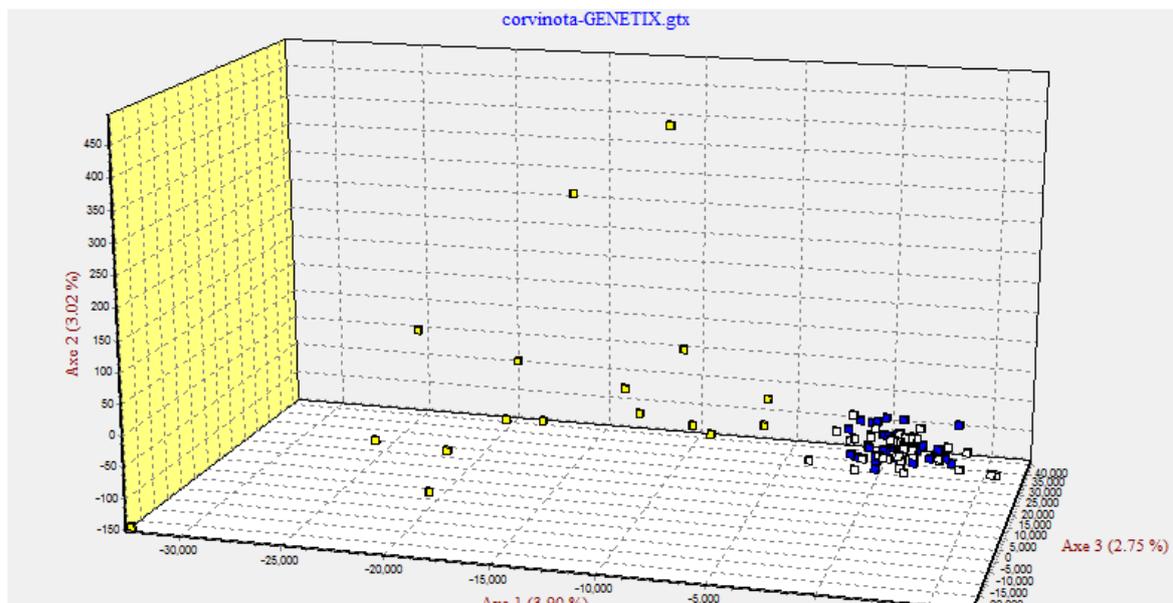


Figura III 9. Relação dos três primeiros eixos (espaço tridimensional) da análise fatorial de correspondência por indivíduo de acordo com os marcadores de microssatélites.

4 DISCUSSÃO

Através das ferramentas utilizadas neste estudo, pudemos observar uma tendência de diferenciação das populações de *M. furnieri* entre os extremos norte (Macaé) e sul (Sepetiba/Ilha Grande) da costa do Estado do Rio de Janeiro. As análises de microssatélites mostraram uma grande diferença entre as amostras do Norte (Macaé) com as demais, embora estas últimas tenham apresentado ampla dispersão no gráfico tridimensional. Por sua vez, as análises elementares e isotópicas realizadas sugerem uma diferenciação entre as amostras das duas localidades, fruto de diferenças significativas sobretudo ao nível do Sr:Ca, Mg:Ca, Zn:Ca e $\delta^{13}\text{C}$ entre as populações do Norte e do Sul.

Os resultados encontrados através das análises de microssatélites apontam para uma diferença de 12-13% entre os peixes do Norte e do Centro/Sul do Estado, sugerindo a existência de duas populações. No entanto, foram detectados alelos nulos em quatro dos doze marcadores analisados, além da suspeita para outros três marcadores. Isto significa que parte dos *loci* apresentou excesso de homozigotos e não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Esse resultado pode estar relacionado a ocorrência de erros de genotipagem ou ainda, pode estar ocorrendo a violação de uma ou mais premissas do teste, como por exemplo, seleção natural ou deriva gênica. O maior valor de F_{st} (par a par) encontrado foi entre o Norte e o Centro, porém não foi muito diferente do valor encontrado entre Norte e Sul. Maiores valores de F_{st} são esperados entre maiores distâncias geográficas em consequência de maior possibilidade de isolamento (Vasconcellos, 2012). Valores como os encontrados, geralmente ocorrem em populações com uma escala maior de distância ou de isolamento, o que não é o caso das amostras analisadas que distam de aproximadamente de 200 e 400 km. Seria pouco plausível aceitar que não esteja ocorrendo fluxo gênico nessa distância sem que algum fenômeno atue impedindo a comunicação. Para que este resultado seja verdadeiro deve ser assumido que a diferença entre as temperaturas das massas de água presentes na região esteja funcionando como uma barreira eficaz de deslocamento entre os indivíduos desta espécie.

A diferenciação entre estoques no Rio de Janeiro pode acontecer por causa da interseção entre correntes, onde águas tropicais da corrente do Brasil encontram águas frias da corrente subantártica, dando origem as águas de convergência subtropical ou Águas Central do Atlântico Sul (ACAS) (Matano *et al.*, 2010). Essas massas de água sobem em direção ao Norte por baixo da Corrente do Brasil e sazonalmente chegam a superfície em locais onde a plataforma continental é mais estreita, dando origem ao fenômeno de ressurgência. A região de Cabo Frio é um desses locais, considerados como uma fronteira de correntes que dividem congêneros e populações de espécies (Mai *et al.*, 2014) como *Macrodon atricauda* (Carvalho-Filho *et al.*, 2010) e *Mugiliza* (Mai *et al.*, 2014; Lemos *et al.*, 2017), além de espécies de crustáceos decápodes (Maggioni *et al.*, 2003; Dumont *et al.*, 2009) e um cetáceo (*Pontoporia blainvillei*) (Lazarro *et al.*, 2004);

A assinatura de $\delta^{13}C$ foi significativamente maior no Norte, o que sugere que os indivíduos de ambos os locais não se misturam em uma massa de água de mesmas características elementares e/ou estejam utilizando fontes de alimento diferenciados. Diferenças de $\delta^{13}C$ se devem, provavelmente a dois fatores: (1) mudanças ontogenéticas com variação de alimentação/metabolismo,

que corresponde a até 30% do C encontrado no otólito (Gao *et al.*, 2004) e (2) variação geográfica com diferentes concentrações de massas de água que correspondem a 70% do carbono encontrado no otólito (Thorrold, 1997; Campana, 1999; Solomon, 2006). Como os indivíduos utilizados nas amostras apresentaram uma estreita faixa de tamanho, isto minimiza a possibilidade de variação trófica. Rakocinski *et al.*, 2015 associou a presença de $\delta^{13}\text{C}$ a descargas fluviais de maior aporte de carbono inorgânico dissolvido. Porém, informações adicionais sobre a concentração dos elementos na água dos locais estudados seriam necessárias para melhor interpretar a diferença encontrada (Correia *et al.*, 2011).

O $\delta^{18}\text{O}$ que está relacionado às diferenças entre temperatura e salinidade (Thorrold, 1997). Durante o período em que os peixes foram capturados, que coincidem com o período da ressurgência, onde as temperaturas da água caem para menos de 18°C (Gonzalez, *et al.*, 1992). Logo, era de se esperar que diferenças nas taxas de isótopo de oxigênio existissem. Porém, quanto tempo de exposição desses peixes às novas condições de temperatura seria necessário para que houvesse uma diferença perceptível nos otólitos? Se esses indivíduos passaram todo o período de vida dentro dessa faixa de ressurgência, os fenômenos dos anos anteriores deveriam ter sido marcados, mas os indivíduos, que mediram de 29 a 39 cm de CT, podem não ter passado os anos anteriores na zona costeira aberta e sim em sistemas estuarinos e dessa forma não seriam influenciados pelas baixas temperaturas da corrente de ressurgência.

A combinação de análises isotópicas e elementares tem sido utilizada para identificar segregações espaciais (Daros *et al.*, 2016; Lemos *et al.*, 2017), uma vez que estas assinaturas geoquímicas estão relacionadas com fatores abióticos e bióticos vários que muitas vezes diferenciam indivíduos que ocupam diferentes massas de água e/ou habitats (Gao *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2017). As análises elementares indicaram diferenças entre as razões de Sr:Ca, Mg:Ca e Zn:Ca, com maiores razões de Sr:Ca e Zn:Ca no Sul e Mg:Ca no Norte. Tais concentrações elementares presentes nos otólitos são, geralmente, impostas pelo ambiente circundante, que responde constantemente a variações causadas por processos hidrogeológicos, regime de marés, precipitação e de ressurgência

(Elsdon *et al.*, 2008). A corrente de ressurgência traz do fundo concentrações elementares antes preservadas no sedimento em condições afóticas. O único elemento em que é conhecido o aumento de concentração em correntes de ressurgência é o Ba (Woodson *et al.* 2013; Elsdon *et al.* 2008), que neste estudo não apresentou diferenças. Woodson *et al.* (2013) afirma a existência de um desfasamento temporal na incorporação dos elementos da água nos otólitos e isso pode ter influenciado nossos resultados.

A atuação da ressurgência como barreira geográfica é mais conhecida em ovos e larvas que dispersam de forma passiva, através de carreamento pelas correntes (Bakun, 1986; Shanks, 2000; Kritzer & Sale, 2006). Os organismos que nadam de forma ativa não teriam grandes dificuldades de dispersão. Indivíduos de *M. furnieri* têm capacidade de realizar migrações na fase adulta saindo de áreas estuarinas e se deslocando para a plataforma interna e não deveriam sofrer com tais influências. Porém, a ressurgência atua no mesmo período do ano em que ocorre a desova da espécie no Estado do Rio de Janeiro segundo Costa & Araújo (2003). De acordo com os autores, a espécie tem desova ocorrendo na primavera, verão e outono (que para o hemisfério sul ocorrem entre os meses de setembro e maio) que correspondem aos mesmos meses de atuação do fenômeno no Norte do Rio de Janeiro. Isto poderia funcionar como empecilho para a dispersão de ovos e larvas através dessa massa de água, além da possibilidade de que as baixas temperaturas poderiam alterar fatores fisiológicos, como a maturação de ovócitos e a desova, já que este tipo de processo está relacionado a temperatura em diversas espécies de peixes (Ware & Tanasichuk, 1989; Takasuka *et al.*, 2008). Outra explicação para a separação de duas unidades populacionais poderia ser atribuída a eventos do passado associados a regressão e transgressão marinha ocorrida no último período glacial que poderia ter isolado a população favorecido pelo estreitamento da plataforma na região de Cabo Frio.

5 CONCLUSÕES

As análises de microssatélites serviram como uma etapa preliminar que indicaram diferenciação de estoques populacionais entre amostras *M. furnieri* da

costa do Estado do Rio de Janeiro. No entanto, novas análises são necessárias para que um resultado mais robusto seja obtido visando elucidar de forma mais consistente a diferença entre as populações.

Metade dos elementos analisados apresentaram diferenças significativas nas razões isotópicas dos dois locais estudados, demonstrando a segregação de áreas (ou de massas de água) ocupadas pelos indivíduos das diferentes localidades. Análises isotópicas de carbono também corroboram com este resultado.

Este trabalho constitui um primeiro passo para a elucidação da existência de duas populações de *M. furnieri*, uma no centro-sul do estado, e outra no norte, após a região limítrofe de Cabo Frio. Futuros estudos neste sentido poderão confirmar esta tendência detectada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKUN, A.; MCLAIN, D.R.; MAYO, F.V. 1974. The mean annual cycle of coastal upwelling off western North America as observed from surface measurements. *Fish. Bull.*, V. 72, P. 843-844.

BATH, G. E., THORROLD, S. R., JONES, C. M., CAMPANA, S. E., MCLAREN, J. W. & LAM, J. W. H. 2000. Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 1705-1714.

BELKHIR K., BORSA P., CHIKHI L., RAUFASTE N., BONHOMME F. 2002. GENETIX 4.04, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).

BRADBURY, I.R., CAMPANA, S.E., BENTZEN, P., 2008. Estimating contemporary early life-history dispersal in an estuarine fish: integrating molecular and otoliths elemental approaches. *Mar. Ecol.* 17, 1438–1450.

CAMPANA, S. E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, vol 188:263-297.

CARVALHO, M. G., MOREIRA, C., CARDOSO, J. F. M. F., BRUMMER, G.-J. A., VAN GAEVER, P., VAN DER VEER, H. W., QUEIROGA, H., SANTOS, P. T., CORREIA, A. T. 2017. Movement, connectivity and population structure of the

intertidal fish *Lipophrys pholis* as revealed by otolith oxygen and carbon stable isotopes. *Marine Biology Research*, 1000 (June), 1–10.

CARVALHO-FILHO, A., SANTOS, S., SAMPAIO, I., 2010. *Macrodon atricauda* (Günther, 1880) (Perciformes: Sciaenidae), a valid species from the southwestern Atlantic, with comments on its conservation. *Zootaxa* 2519, 45-58.

COOMBS J. A., LETCHER B. H., NISLOW K. H. 2008. CREATE: a software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. *Molecular Ecology Resources* 8, 578-580.

CORREIA, A. T., BARROS, F., & SIAL, A. N. 2011. Stock discrimination of European conger eel (*Conger conger* L.) using otolith stable isotope ratios. *Fisheries Research*, 108 (1), 88-94.

CORREIA, A.T., RAMOS, A.A., BARROS, F., SILVA, G., HAMER, P., MORAIS, P., CUNHA, R.L., CASTILHO, R., 2012. Population structure and connectivity of the European conger eel (*Conger conger*) across the Northeastern-Atlantic and Western- Mediterranean: integrating molecular and otolith elemental approaches. *Mar. Biol.* 159, 1509-1525.

CRAIG, H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of bon dioxide. *Geochim Cosmochin Acta* 12, 133-149.

DUMONT, L.F.C., HWANG, G., MACLEAN, N., 2009. The mtDNA control region of the barba-ruça shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda: Penaeidae) and its potential use as a marker for population analysis. *Atlântica* 31 (2), 199-207.

EARL, D. A., VON HOLDT, B. M. 2011. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*.

ELSDON, T. S., B. K. WELLS, S. E. CAMPANA, B. M. GILLANDERS, C. M. JONES, K. E. LIMBURG, D. H. SECOR, S. R. THORROLD, AND B. D. WALTHER. 2008. Otolith chemistry to describe movements and life-history parameters of fishes—hypotheses, assumptions, limitations and inferences. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 46, 297-330.

EPSTEIN, S., BUCHSBAUM, R., LOWENSTAM, H. A., UREY, H. C. 1953. Revised carbonate-water isotopic temperature scale. *Bull. Geol. Soc. Am*, 64, 1315-13.

EVANNO G., REGNAUT S., GOUDET J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611-2620.

EXCOFFIER L., LAVAL G., SCHNEIDER S. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1, 47-50.

FOWLER, A. J., CAMPANA, S. E., JONES, C. M. & THORROLD, S. R. 1995. Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition of otoliths using laser ablation ICPMS. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52, 1431–1441.

GAO Y, JONER SH, SVEC RA, WEINBERG KL. 2004. Stable isotopic comparison in otoliths of juvenile sablefish (*Anoplopoma fimbria*) from waters off the Washington and Oregon coast. *Fisheries Research* 68:351–60.

GONZALEZ-RODRIGUEZ, E. 1982. La résurgence de Cabo Frio (RJ, Brésil): fertileté, facteurs, nutritionnels limitant la biomasse algalie: essai d'amélioration. Thèse Doct. Spéc. Océanol. Univ. Aix. Marseille II.

GONZALEZ-RODRIGUEZ, E., VALENTIN, J. V., LACERDA, D. A., AND JACOB, S. A. 1992. Upwelling and downwelling at Cabo Frio (Brazil): comparison of biomass and primary production responses. *J of Plankton Res*, 12, 289-306.

GOUDET J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Disponible em: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.

GUINAND B. 1996. Use of a multivariate model using allele frequency distributions to analyse patterns of genetic differentiation among populations. *Biological Journal of Linnean Society*. 58, 173-195.

HAIMOVICI, M., IGNACIO, J.M. 2005. *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). In: Rossi CLW, Cergole MC, Ávila-da-Silva AO (eds) *Análise das Principais Pescarias Comerciais da Região Sudeste-Sul do Brasil: Dinâmica Populacional das Espécies em Exploração*. Série Documentos Revizee-Score Sul, São Paulo, pp 101-107.

HAIMOVICI M., UMPIERRE R. G. 1996. Seasonal variations in the population structure of the white croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) from southern Brazil. *Atlantica* 18, 179-203.

HEWITT G. M. 2004. The structure of biodiversity-insights from molecular phylogeography. *Frontiers in Zoology* 1, 4.

ISAAC, V. J. 1988. Synopsis of biological data on the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). FAO Fisheries Synopsis N. 150, 35p.

JAKOBSSON M., ROSENBERG N. A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23, 1801-1806.

KRITZER, P. J. & SALE, P. F. 2006. Marine metapopulations. editors, Jacob P. Kritzer, Peter F. Sale. Elsevier 577p.

LAZARRO, M., LESSA, E.P., HAMILTON, H., 2004. Geographic genetic structure in the franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*). *Mar. Mammal Sci.* 20 (2), 201-204.

LEMOS, V. M. 2017. Stock identification of tainha (*Mugil liza*) by analyzing stable carbon and oxygen isotopes in otoliths. *Fish. Bull.* 115, 201-205.

LEVY, J.A., MAGGIONI, R., CONCEIÇÃO, M.B., 1998. Close genetic similarity among populations of the white croaker (*Micropogonias furnieri*) in the south and south-eastern Brazilian Coast. I. Allozyme studies *FishRes.* 39, 87-94.

LI, Y.C., KOROL, A.B., FAHIMA, T., NEVO, E., 2004. Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Mol. Biol. Evol.* 21, 991-1007.

LIMA D. 2005. Genética de populações da corvina *Micropogonias furnieri* e sistemática molecular da maria-da-toca *Bathygobius soporator*. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 118p.

MAGGIONI, R., PEREIRA, A., JEREZ, B., MARINS, L., CONCEIÇÃO, M., LEVY, J.A., 1994. Estudio preliminar de la estructura genética de la corvina *Micropogonias furnieri*, entre Rio grande (Brasil) y el Rincon (Argentina). *Frente Maritmo* 15, 127-131.

MAGGIONI, R., ROGERS, A.D., MACLEAN, N., 2003. Population structure of *Litopenaeus schmitti* (Decapoda: Penaeidae) from the Brazilian Coast identified using six polymorphic microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 12, 3213-3217.

MAI, A.C.G., MIÑO, C.I., MARINS, L.F.F., MONTEIRO-NETO, C., MIRANDA, L., SCHWINGEL, P.R., LEMOS, V.M., GONZÁLEZ-CASTRO, M., CASTELLO, J.P., VIEIRA, J.P., 2014. Microsatellite variation and genetic structuring in *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) populations from Argentina and Brazil. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 149, 80-86.

MATANO, R.P., PALMA, E.D., PIOLA, A.R., 2010. The influence of the Brazil and Malvinas Currents on the southwestern Atlantic Shelf circulation. *Ocean Sci.* 6, 983-995.

- MILLER S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16, 1215.
- PATTERSON, H.M., THORROLD, S.R., SHENKER, J.M., 1999. Analysis of otolith chemistry in Nassau grouper (*Epinephelus striatus*) from the Bahamas and Belize using solution-based ICPMS. *Coral Reefs* 18, 171–178.
- PRITCHARD J. K., STEPHENS M., DONNELLY P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.
- PUCHNICK-LEGAT, A., LEVY, J.A., 2006. Genetic structure of Brazilian populations of white mouth croaker *Micropogonias furnieri* (Perciformes: Sciaenidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 49, 429-439.
- RAKOCINSKI, C. F., PETERSON, M. S., & SHILLER, A. M. 2015. Regional patterns in the otolith chemistry of Juvenile Spotted Seatrout (*Cynoscion nebulosus*) differ under contrasting hydrological regimes. *The Open Fish Sci J*, 8, 1-12.
- RAYMOND M. R., F. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *The Journal of Heredity*. 86, 248-249.
- REIS-SANTOS, P., VASCONCELOS, R. P., RUANO, M., LATKOCZY, C., GÜNTHER, D., COSTA, M. J. & CABRAL, H. 2008. Interspecific variations of otolith chemistry in estuarine fish nurseries. *Journal of Fish Biology* 72, 2595–2614.
- ROOKER, J.R., ZDANOWICZ, V.S., SECOR, D.H., 2001. Chemistry of tuna otoliths: assessment of base composition and postmortem handling effects. *Mar. Biol.* 139, 35–43.
- ROSENBERG N. A. 2004. Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4, 137-138.
- SHANKS, A.L., LARGIER, J., BRINK, L., BRUBAKER J., AND HOOFF, R. 2000. Demonstration of the onshore transport of larval invertebrates by the shoreward movement of an upwelling front. *Limnol. Oceanogr.* 45, 230–236.
- SMITH, S.J., CAMPANA, S.E., 2010. Integrated stock mixture analysis for continuous and categorical data, with application to genetic–otolith combinations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 67, 1533–1567.

STURGEON, R. E., WILLIE, S. N., YANG, L., GREENBERG, R., SPATZ, R. O., CHEN, Z., SCRIVER, C., CLANCY, V., LAM, J. W., AND THORROLD, S. 2005. Certification of a fish otolith reference material in support of quality assurance for trace element analysis. *J. Anal. At. Spectrom.* 20 (10), 1067-1071.

SOLOMON, C.T., WEBER, P.K., CECH, J.R.J.J., INGRAM, B.L., CONRAD, M.E., MACHAVARAM, M.V. 2006. Experimental determination of the sources of otolith carbon and associated isotopic fractionation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63, 79-89.

SUZUKI, H., A.E.A. M. VAZZOLER, V.N. PHAN. 1983. Estudo electroforético de proteínas de músculo esquelético de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) da costa SE-S do Brasil. 1, Considerações técnicas. *Bol.Inst.Oceanogr.*, São Paulo, 32(2),153-65.

TAKASUKA, A., OOZEKI, Y., AND KUBOTA, H. 2008. Multi-species regime shifts reflect in spawning temperature optima of small pelagic fish in the western North Pacific. *Mar Ecol Prog Series*, 360, 211-217.

THORROLD SR, CAMPANA SE, JONES CM, SWART PK. 1997. Factors determining $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ fractionation in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 2909-2019.

VALENTIN, J. e MOREIRA, A. P. 1978. A matéria orgânica de origem zooplanctônica nas águas de ressurgência de Cabo Frio (Brasil). *An Acad Bras Ciênc*, 50, 104-112.

VAN OOSTERHOUT C., HUTCHINSON W. F., WILLS D. P. M., SHIPLEY P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4, 535-538.

VASCONCELOS, M., HAIMOVICI, M. 2006. Status of white croaker *Micropogonias furnieri* exploited in southern Brazil according to alternative hypotheses of stock discreteness. *Fisheries Research* 80, 196-202.

VASCONCELLOS, A. V. 2012. Diferenciação molecular de estoques de corvinas (*Micropogonias furnieri*) na costa Atlântica da América do Sul. Tese de doutorado, UFRJ Rio de Janeiro, 203 p.

VASCONCELLOS, A. V. DE, LIMA, D., BONHOMME, F., VIANNA, M., SOLÉ-CAVA, A. M. 2015. Genetic population structure of the commercially most important demersal fish in the Southwest Atlantic: The whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*). *Fisheries Research*, 167, 333-337.

VAZZOLER, A.E.A.M. 1971. Diversificação fisiológica e morfológica de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) ao sul de Cabo Frio, Brasil. Boletim do Instituto Oceanográfico, 20, 1-70.

VAZZOLER, A.E.A.M. & V.N. PHAN. 1989. Padrões electroforéticos de proteínas gerais de cristalino de *Micropogonias furnieri* (Demarest, 1823), da costa sudeste-sul do Brasil: estudo populacional. Bolm. Inst. Oceanogr. São Paulo, 37, 21-28.

VOLPEDO AV, CIRELLI AF. 2006. Otolith chemical composition as a useful tool for sciaenid stock discrimination in the south-western Atlantic. Sci Mar 70 (2), 25-334.

WARE, D. M. AND TANASICHUK, R. W. 1989. Biological basis of maturation and spawning waves in pacific Herring (*Clupea harengus pallasii*). Can J Fish Aquat, 46, 1776-1784.

WOODSON, L.E., WELLS, B. K., GRIMES, C. B., FRANKS, R. P., SANTORA, J. A., CARR, M. H. 2013. Water and otolith chemistry identify exposure of juvenile rockfish to upwelled waters in an open coastal system. Mar. Ecol. Prog. Ser. 473, 261-273.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O acelerado e impactante desenvolvimento urbano em áreas costeiras têm contribuído para a degradação de habitats primordiais para o desenvolvimento de espécies costeiras marinhas, especialmente para peixes que têm parte de sua vida em ambientes estuarinos semifechados. Tais pressões de origem antropogênicas, associado com a pesca excessiva de espécies comercialmente visadas constituem sérias ameaças tornando-as vulneráveis e mesmo em risco de extinção em escala local. Neste sentido, é urgente e necessário que se conheça o ciclo de vida das espécies visando o estabelecimento de medidas de manejo e conservação e proteção destes recursos bióticos.

No presente estudo, utilizamos diferentes ferramentas metodológicas modernas, para responder perguntas referentes ao uso e aos padrões de movimentação entre os diferentes ambiente estuarinos e a plataforma interna

pela corvina *Micropogonias furnieri*, um dos mais importantes recursos pesqueiros do Estado do Rio de Janeiro.

A movimentação de entrada e saída dos sistemas estuarinos, utilizados como berçário pela espécie, foi avaliada através de razões elementares de estrôncio e bário, e dois padrões principais bem como a indicação de um terceiro padrão foram encontrados. Esse estudo de padrões de movimentação nos auxilia no entendimento do uso que a espécie faz dos sistemas estuarinos, a capacidade de resiliência da mesma em caso de distúrbios e a importância de se manter esse tipo de sistema. A maior parte dos indivíduos avaliados possui perfis de utilização de ambientes estuarinos pelo menos na fase inicial do ciclo de vida, o que torna a espécie altamente dependente desse tipo de habitat.

Tendo em vista a alta dependência da espécie por ambientes estuarinos, avaliamos a contribuição dos maiores sistemas semifechados da costa para a manutenção dos estoques de *M. furnieri* capturados na plataforma interna. Como resultado, encontramos que as baías foram os sistemas estuarinos de maior importância para a composição dos estoques. O quanto cada um dos sistemas estuarinos semifechados contribui para os estoques pesqueiros presentes na costa nos auxilia na identificação de quais desses sistemas são imprescindíveis de se manter em condições adequadas para o desenvolvimento da espécie.

Outro fator importante ao avaliar a composição de estoques pesqueiros é a identificação de unidades populacionais distintas. Através de ferramentas diferenciadas, pudemos identificar a possibilidade da existência de uma nova unidade populacional, encontrada a Norte da costa. Esse resultado traz a necessidade de medidas específicas de manejo para que a manutenção do recurso ocorra de forma eficiente.

A utilização da análise química em otólitos parece eficiente para a identificação de padrões de uso e identificação de estoques, porém, mais estudos devem ser realizados para aprimorar a técnica, com aprofundamento da importância de cada elemento traço encontrado e suas relações com o ambiente. Além disto, novas análises genéticas devem ocorrer para que se defina com mais clareza e robustez, o padrão encontrado, pela primeira vez, de duas unidades populacionais de *M. furnieri* no Estado do Rio de Janeiro.

Anexo

Apêndice 1. Frequências gênicas para cada um dos *loci* amostrados em *Micropogonias furnieri* para os dados populacionais.

Mfur02	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	12	35	40
172	0,208	0,000	0,000
180	0,042	0,000	0,000
194	0,000	0,014	0,013
196	0,042	0,186	0,213
198	0,042	0,014	0,000
202	0,333	0,057	0,000
204	0,083	0,100	0,150
206	0,125	0,071	0,013
208	0,083	0,086	0,100
210	0,000	0,000	0,038
214	0,000	0,057	0,050
216	0,000	0,029	0,025
218	0,042	0,014	0,000
220	0,000	0,014	0,013
224	0,000	0,000	0,038
226	0,000	0,029	0,013
228	0,000	0,029	0,000
230	0,000	0,043	0,025
232	0,000	0,000	0,038
234	0,000	0,014	0,063
236	0,000	0,029	0,050
238	0,000	0,071	0,025
240	0,000	0,043	0,013
242	0,000	0,043	0,013
244	0,000	0,000	0,013
246	0,000	0,043	0,000
248	0,000	0,014	0,025
250	0,000	0,000	0,013
252	0,000	0,000	0,013
254	0,000	0,000	0,038
264	0,000	0,000	0,013

Mfur03	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	10	34	41
260	0,000	0,000	0,012
264	0,000	0,044	0,024
266	0,050	0,029	0,049
268	0,150	0,029	0,000
270	0,000	0,000	0,037
272	0,000	0,015	0,000
274	0,050	0,103	0,049
276	0,000	0,088	0,134
278	0,050	0,074	0,110
280	0,050	0,103	0,085
282	0,100	0,015	0,085
284	0,000	0,000	0,012
286	0,050	0,088	0,049
288	0,050	0,044	0,012
290	0,150	0,059	0,024
292	0,000	0,059	0,012
294	0,100	0,015	0,012
296	0,050	0,000	0,037
300	0,000	0,044	0,000
304	0,050	0,015	0,024
306	0,000	0,015	0,037
308	0,050	0,015	0,000
310	0,050	0,000	0,037
312	0,000	0,029	0,000
314	0,000	0,015	0,000
316	0,000	0,015	0,012
318	0,000	0,000	0,012
320	0,000	0,029	0,000
322	0,000	0,015	0,012
324	0,000	0,015	0,037
326	0,000	0,000	0,037
328	0,000	0,029	0,037
330	0,000	0,000	0,012
Mfur04	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	12	33	44
287	0,083	0,000	0,000
291	0,042	0,076	0,125

293	0,083	0,076	0,080
297	0,125	0,000	0,000
301	0,000	0,000	0,011
305	0,125	0,212	0,261
307	0,250	0,364	0,386
311	0,167	0,197	0,068
315	0,083	0,000	0,000
319	0,000	0,000	0,011
321	0,000	0,000	0,023
323	0,000	0,015	0,011
327	0,000	0,030	0,011
329	0,000	0,030	0,000
331	0,042	0,000	0,011
Mfur06	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	11	37	43
249	0,000	0,000	0,035
251	0,045	0,000	0,000
253	0,045	0,054	0,047
255	0,545	0,716	0,779
257	0,364	0,108	0,058
259	0,000	0,041	0,012
261	0,000	0,014	0,012
263	0,000	0,014	0,035
265	0,000	0,041	0,023
267	0,000	0,014	0,000
Mfur07	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	16	36	39
252	0,031	0,000	0,000
260	0,000	0,014	0,000
264	0,031	0,000	0,000
274	0,000	0,458	0,410
276	0,375	0,000	0,000
290	0,000	0,194	0,205
292	0,344	0,000	0,000
294	0,031	0,000	0,000
298	0,000	0,000	0,013
312	0,031	0,000	0,000
316	0,000	0,000	0,013
324	0,031	0,028	0,000
340	0,094	0,083	0,090

342	0,031	0,000	0,000
346	0,000	0,000	0,013
348	0,000	0,014	0,013
364	0,000	0,181	0,218
366	0,000	0,014	0,013
368	0,000	0,014	0,013
Mfur10	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	5	37	40
261	0,000	0,014	0,000
263	0,000	0,000	0,013
265	0,200	0,000	0,013
267	0,100	0,000	0,000
269	0,000	0,000	0,025
271	0,000	0,095	0,025
273	0,100	0,054	0,163
275	0,100	0,014	0,038
277	0,000	0,068	0,075
279	0,100	0,054	0,000
281	0,000	0,014	0,038
283	0,000	0,081	0,063
285	0,200	0,135	0,113
287	0,000	0,122	0,025
289	0,000	0,054	0,113
291	0,000	0,014	0,025
293	0,000	0,000	0,038
295	0,000	0,041	0,050
297	0,000	0,041	0,050
299	0,100	0,054	0,063
301	0,100	0,068	0,000
303	0,000	0,014	0,025
305	0,000	0,014	0,000
307	0,000	0,014	0,013
311	0,000	0,000	0,013
313	0,000	0,014	0,000
315	0,000	0,014	0,013
317	0,000	0,014	0,013
Mfur12	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	11	35	32
105	0,136	0,000	0,000
115	0,682	0,000	0,000

123	0,000	0,086	0,078
125	0,182	0,271	0,234
127	0,000	0,000	0,047
129	0,000	0,457	0,422
131	0,000	0,029	0,000
133	0,000	0,143	0,188
135	0,000	0,014	0,031
<hr/>			
Mfur17	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	12	31	45
<hr/>			
361	0,083	0,000	0,000
383	0,125	0,000	0,000
385	0,625	0,645	0,633
387	0,125	0,194	0,067
389	0,042	0,016	0,100
391	0,000	0,065	0,078
393	0,000	0,016	0,033
395	0,000	0,048	0,067
397	0,000	0,000	0,022
401	0,000	0,016	0,000
<hr/>			
Mfur20	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	11	36	45
<hr/>			
240	0,045	0,694	0,644
243	0,591	0,194	0,289
246	0,227	0,028	0,033
249	0,091	0,000	0,000
274	0,000	0,083	0,033
276	0,045	0,000	0,000
<hr/>			
Mfur24	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	12	32	35
<hr/>			
252	0,042	0,016	0,000
256	0,042	0,016	0,000
258	0,000	0,063	0,043
260	0,083	0,016	0,014
262	0,000	0,016	0,114
264	0,000	0,047	0,000
266	0,125	0,063	0,086
268	0,125	0,219	0,300
270	0,125	0,203	0,029
272	0,208	0,031	0,043
274	0,125	0,063	0,071

276	0,083	0,078	0,114
278	0,000	0,063	0,086
280	0,000	0,031	0,057
282	0,000	0,047	0,014
284	0,042	0,016	0,000
288	0,000	0,016	0,000
292	0,000	0,000	0,029
Mfur 25	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	15	27	44
168	0,000	0,000	0,034
170	0,167	0,167	0,136
172	0,033	0,000	0,011
174	0,100	0,019	0,068
176	0,033	0,000	0,000
178	0,067	0,019	0,011
180	0,033	0,019	0,000
182	0,000	0,074	0,034
184	0,133	0,241	0,227
186	0,167	0,111	0,102
188	0,000	0,056	0,011
190	0,033	0,074	0,034
192	0,000	0,019	0,000
194	0,000	0,000	0,011
196	0,100	0,037	0,045
198	0,033	0,000	0,000
200	0,100	0,074	0,114
202	0,000	0,019	0,000
204	0,000	0,000	0,023
206	0,000	0,019	0,000
208	0,000	0,000	0,023
210	0,000	0,000	0,045
214	0,000	0,019	0,000
216	0,000	0,019	0,045
218	0,000	0,000	0,023
220	0,000	0,019	0,000
Mfur26	Macaé	Guanabara	Sepetiba
N	9	34	42
272	0,000	0,294	0,214
274	0,444	0,044	0,036
284	0,000	0,059	0,048

286	0,056	0,015	0,000
288	0,000	0,044	0,095
290	0,111	0,029	0,000
292	0,056	0,015	0,048
294	0,000	0,074	0,036
296	0,000	0,059	0,024
298	0,056	0,029	0,131
300	0,167	0,029	0,095
302	0,000	0,103	0,071
304	0,000	0,088	0,048
306	0,056	0,029	0,060
308	0,056	0,044	0,024
310	0,000	0,029	0,012
312	0,000	0,015	0,036
314	0,000	0,000	0,024
