# MERCÚRIO E COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE CARANGUEJOS EM MANGUEZAIS BRASILEIROS: RELAÇÃO ENTRE HÁBITOS ALIMENTARES, NÍVEL TRÓFICO E BIOMAGNIFICAÇÃO

CYNARA PEDROSA FRAGOSO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ JULHO DE 2019

# MERCÚRIO E COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE CARANGUEJOS EM MANGUEZAIS BRASILEIROS: RELAÇÃO ENTRE HÁBITOS ALIMENTARES, NÍVEL TRÓFICO E BIOMAGNIFICAÇÃO

#### CYNARA PEDROSA FRAGOSO

Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de doutora em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Rezende

# CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ JULHO DE 2019

# MERCÚRIO E COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE CARANGUEJOS EM MANGUEZAIS BRASILEIROS: RELAÇÃO ENTRE HÁBITOS ALIMENTARES, NÍVEL TRÓFICO E BIOMAGNIFICAÇÃO

## CYNARA PEDROSA FRAGOSO

Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em <u>11/07/2019</u>

Comissão examinadora:

Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli (CENA – USP)

Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Madeira Di Beneditto (LCA – UENF)

Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Cristina Gaglianone (LCA - UENF)

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Rezende - Orientador – (LCA - UENF)

Aos meus amados pais, Nazareth e Roberto, Aos meus irmãos, Cyntia e Crystiano, Ao meu marido, Pedro Sampaio. Sem vocês eu não teria conseguido.

#### AGRADECIMENTOS

- Agradeço primeiramente ao meu orientador, Carlos Eduardo de Rezende, por todas as oportunidades, ensinamentos e experiências vivenciadas ao longo dessa jornada. Obrigada pela confiança, por ter acompanhado toda minha formação acadêmica e acreditar no meu trabalho.

 - Um agradecimento muito especial as professoras Ana Paula Madeira Di Beneditto e Maria Cristina Gaglianone que fizeram parte do meu comitê de acompanhamento e contribuíram de forma tão significativa no desenvolvimento da tese.

 Agradeço a professora Elaine Bernini da Universidade Federal da Paraíba e ao Frederico Lage por toda disponibilidade e parceria nas amostragens e pela amigável recepção em seu laboratório e residência.

- Um agradecimento ao professor Nils Edvin Asp da Universidade Federal do Pará pela parceria nas coletas e por todo o auxílio necessário.

- Agradeço imensamente aos amigos do nosso grupo de pesquisa que sempre me apoiaram na realização dos campos e análises. Cito alguns a seguir:

- À Beatriz Araújo por ter me auxiliado em todas análises de mercúrio da tese, me ajudando inclusive, na otimização da metodologia de análise de Hg nos insetos. Além disso, sou imensamente grata por toda amizade, apoio e incentivo diário. Sem sua ajuda eu não teria conseguido.

 Aos técnicos Bráulio Cherene e Diogo Quitete por terem me acompanhado nas inúmeras saídas de campo para coleta das amostras. Agradeço principalmente pela disposição na amostragem dos insetos, mesmo com todas as dificuldades.

- Ao Pedro Gatts agradeço imensamente por todo apoio nas análises estatísticas da tese, sua ajuda foi primordial.

- Ao Thiago Rangel por ter se disposto a fazer o mapa.

- Ao Marcelo Almeida agradeço pelas análises de Hg e isótopos.

- Agradeço ao Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) pela disponibilização de toda infraestrutura necessária para o desenvolvimento da tese.

- Agradeço a CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e ao INCT (Transferência de Material na Interface Continente-Oceano) pelo financiamento da pesquisa.

- Agora toda minha gratidão as pessoas de meu convívio social que foram verdadeiros pilares para a conclusão do meu trabalho.

- Á minha família, que mesmo residindo em outra cidade, sempre se fez presente e nunca me deixou desistir dos meus sonhos.

V

- Ao meu marido, Pedro Sampaio. Não tenho palavras suficientes para expressar minha gratidão por ter acompanhado tão intensamente cada etapa do doutorado. Obrigada por ser meu porto seguro e minha maior fonte de incentivo, sem você tudo teria sido muito mais difícil.

- As minhas grandes amigas Valéria Romano, Magda Lugon e Manuela Wigand por acreditarem tanto em mim, por todo o carinho e incentivo diário. Obrigada por se fazerem tão presentes na minha vida mesmo com a distância.

# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	X
RESUMO	XI
ABSTRACT	XII
ESTRUTURA DA TESE	XIII

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1. Aspectos ecológicos e econômicos do ecossistema de manguezal: um enfoque sobre o	)S
caranguejos	14
1.2. Mercúrio no ecossistema de manguezal: uma abordagem geral	16
2. OBJETIVOS	19
3. PERGUNTAS	19

# Capítulo 1: Revisão Bibliográfica

Isótopos	estáveis	e	ferramentas	auxiliares	usadas	como	traçadores	tróficos	em	cadeias
alimentar	es aquátio	cas	·····							20

# Capítulo 2:

Isotopic	niche	and	feeding	assimilation	of	crab	species	in	three	mangrove	regions	of
Brazil					••••			••••				.48

# Capítulo 3:

Mercúrio total, composição elementar e isotópica ( $\delta^{13}$ C e $\delta^{15}$ N) de espécies d	e caranguejos e
compartimentos bióticos e abióticos em manguezais de três regiões do Brasil: in	nferências sobre
biomagnificação	79

2. DISCUSSÃO GERAL	
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
APÊNDICES	

## LISTA DE FIGURAS

#### Introdução Geral

## Capítulo 1

**Figura 2:** Relação entre a concentração de mercúrio e a posição trófica dos organismos de uma cadeia alimentar marinha da costa Sudeste do Brasil. Modificado de Kherig et al. (2017).......29

## Capítulo 2

**Figure 3:** Isotopic niche from three crab species in different mangroves regions of Brazil. Solid lines represent the corrected standard ellipse area (SEAc -40% of credibility range) and dotted lines to measure the convex hull area (TA). Area 1 = Paraíba do Sul River (RJ), Area 2 = Mamanguape River (PB) and Area 3 = Bragança (PA)......60

#### Capítulo 3

**Figura 2:** Relação entre as concentrações de mercúrio e a composição isotópica do nitrogênio nas espécies de caranguejos, suas fontes alimentares e sedimento dos manguezais analisados. Área 1: rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2: Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3: Bragança (PA).......93

## LISTA DE TABELAS

#### Capítulo 1

## Capítulo 2

**Table 1:** Average isotopic composition values for carbon and nitrogen, the elemental ratio (C:N)<sub>a</sub>, carapace width and weight of three crab species in the areas studied......57

#### Capítulo 3

#### RESUMO

A tese teve o objetivo geral de avaliar os níveis de mercúrio (Hg) e a composição elementar e isotópica do carbono e do nitrogênio na cadeia alimentar do ecossistema de manguezal através de três espécies de caranguejos, investigando a relação entre hábitos alimentares, nível trófico e biomagnificação. O estudo foi realizado nas regiões Sudeste (área 1), Nordeste (área 2) e Norte (área 3) do Brasil, utilizando um manguezal como modelo de estudo para cada região. As áreas de estudo foram: área 1 - manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, Rio de Janeiro; área 2 - manguezal do estuário da Barra do rio Mamanguape, Paraíba; área 3 - manguezal do estuário de Caeté, Pará. Nos manguezais foram coletadas as espécies de caranguejos (Ucides cordatus, Aratus pisonii e Goniopsis cruentata), suas prováveis fontes alimentares (folhas verdes, folhas senescentes e artrópodes) e sedimentos superficiais. No capítulo 1 foi apresentada uma revisão bibliográfica sobre a aplicação dos isótopos estáveis e as principais ferramentas acessórias usadas na modelagem das cadeias alimentares aquáticas. Foram evidenciados os principais pontos críticos e avanços nos modelos estatísticos utilizados em estudos de ecologia trófica, além de informações sobre seus pontos fortes, limitações e perspectivas. No capítulo 2 foram abordados as preferências alimentares, estrutura trófica e nicho isotópico dos caranguejos em cada área de estudo. Os resultados mostraram variações entre as espécies e áreas, não sendo observado um padrão geral na preferência alimentar e nicho isotópico dos caranguejos. Tais informações contribuem para um melhor entendimento da ecologia trófica das comunidades e são fundamentais para o monitoramento e conservação de todo o ecossistema, uma vez que as espécies tem papel significativo na dinâmica de nutrientes, matéria orgânica e fluxo de energia. O capítulo 3 fecha o trabalho apresentando as concentrações de Hg total em associação às razões elementares (C:N)<sub>a</sub> e isotópicas ( $\delta^{13}$ C e  $\delta^{15}$ N) nas espécies de caranguejos e nos demais compartimentos analisados (folhas, artrópodes e sedimento). Os resultados sugerem a ocorrência da biomagnificação do Hg na cadeia alimentar da área 1 e em menor proporção na área 3. A avaliação dos níveis de Hg nos caranguejos não indica risco direto de consumo pela população humana. Contudo, em áreas com potencial de biomagnificação, organismos de níveis tróficos superiores podem vir a ultrapassar as concentrações de Hg permitidas. Isso reforça a necessidade de monitoramento constante dos níveis de contaminação das regiões costeiras prevenindo sérios danos à qualidade do ecossistema e à saúde humana.

#### ABSTRACT

This thesis had an general aim to evaluate the values of mercury (Hg) and the elemental and isotopic composition of carbon and nitrogen in the food web of the mangrove ecosystem through three crab species, investigating the relationship between feeding habits, trophic level and biomagnification. The study was carried out in the Southeast (area 1), Northeast (area 2) and North (area 3) of Brazil, using one mangrove area as a study model for each region. The study areas were: area 1 - Mangrove from the Paraíba do Sul River estuary, Rio de Janeiro; area 2 - Mangrove from the mouth of Mamanguape River estuary, Paraíba; area 3 - Mangrove from the Caeté estuary, Pará. The crab species (Ucides cordatus, Aratus pisonii and Goniopsis cruentata), their probable food sources (green leaves, senescent leaves and arthropods) and surface sediments were sampled in the mangroves. In Chapter 1 a review of the literature was presented on the application of stable isotopes and the main accessory tools used in the modeling of aquatic food chains. Was showed the main critical points and advances in the statistical models used in trophic ecology studies, besides their strengths, limitations and perspectives. In Chapter 2 the food preferences, trophic structure and isotopic niche of the crabs in each study area were discussed. The results showed variations between the species and areas, not were observed a general pattern in the food preference and isotopic niche of the crabs. This information contributes to a better understanding of the communities' trophic ecology and is fundamental for monitoring and conservation of the entire ecosystem, since the species had a significant role in the dynamics of nutrients, organic matter and energy flow. Chapter 3 concludes the study showing the total Hg concentrations in association with the elemental (C: N)<sub>a</sub> and isotopic composition ( $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N) in crab species and in the other compartments analyzed (leaves, arthropods and sediments). The results suggest the occurrence of the Hg biomagnification in the food web of area 1 and to a lesser extent in area 3. The evaluation of Hg levels in crabs does not indicate direct risks of consumption by the human population. However, in areas with biomagnification potential, organisms at higher trophic levels may exceed permissible Hg concentrations for human consumption. This reinforces the need for constant monitoring of the contamination levels of coastal regions, preventing serious damage to ecosystem and human health.

# ESTRUTURA DA TESE

A tese é composta de:

(1) Uma introdução geral, onde é abordada de forma sintetizada a importância ecológica e econômica dos manguezais, descrevendo as espécies de caranguejos usadas no estudo e finalizando a sessão com uma abordagem geral do mercúrio no ecossistema.

(2) Três capítulos, onde é apresentada inicialmente uma revisão bibliográfica sobre o tema, em seguida dados relacionados aos hábitos alimentares e nicho isotópico dos caranguejos. Por fim, é feita uma avaliação da dinâmica do Hg em associação com os isótopos nos compartimentos dos manguezais e inferências sobre a biomagnificação do Hg na cadeia alimentar. Cada capítulo contém seu próprio resumo, introdução, métodos, resultados, discussão e conclusão pertinentes.

(3) Uma discussão geral, em que os resultados dos capítulos são sintetizados em uma perspectiva mais ampla sobre a biologia dos caranguejos e a dinâmica do Hg em cada manguezal estudado.

(4) Considerações finais, em que são ressaltados os principais pontos do trabalho.

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

# 1.1. Aspectos ecológicos e econômicos do ecossistema de manguezal: um enfoque sobre os caranguejos

O manguezal é um ecossistema localizado nas regiões costeiras tropicais e subtropicais, na faixa de transição entre o continente e o oceano (Schaeffer-Novelli, 1995; Kathiresan e Bingham, 2001). A confluência de aspectos específicos de ambientes terrestres, marinhos e de aguá doce, cria uma configuração singular e única que se autorregula (Souza et al., 2018). No Brasil os manguezais abrangem aproximadamente 13.000 km<sup>2</sup> de faixas costeiras descontínuas, o que representa cerca de 10 % das áreas de manguezal do mundo (Spalding et al., 2010). Se estendem desde Cabo Orange no extremo norte do Estado do Amapá, até a região Sul, na cidade de Laguna em Santa Catarina. A região Norte abriga mais de 80% das áreas de manguezal do país, concentradas nos Estados do Amapá, Pará e Maranhão, enquanto os manguezais das regiões Nordeste e Sudeste foram os mais atingidos pela urbanização desenfreada das regiões litorâneas (Spalding et al., 2010).

Os manguezais são reconhecidos por sua importância ecológica e socioeconômica, gerando serviços de alta relevância à humanidade, principalmente por proporcionar um ambiente favorável a alimentação, reprodução e proteção de diversas espécies marinhas de interesse econômico (Schaeffer-Novelli, 1995; Kathiresan e Bingham, 2001; Souza et al., 2018). Muitas espécies animais são atraídas por um dos mais eficientes sistemas de transformação de matéria orgânica em nutrientes para o meio (Souza et al., 2018). Isso se deve ao papel relevante dos manguezais na exportação da matéria orgânica produzida, em forma de serapilheira e material particulado, que formarão a base da cadeia alimentar das áreas costeiras adjascentes, influenciando diretamente na manutenção do estoque pesqueiro da região (Alongi, 2009; Kathiresan e Bingham, 2001).

Tanto a fauna quanto a flora do manguezal possuem adaptações estruturais e fisiológicas específicas que as tornam aptas a lidar com condições singulares do ecossistema, como variações diárias de salinidade em função da ação das marés, sedimento geralmente anóxico e de consistência inconsolidada (Kathiresan e Bingham, 2001; Souza et al 2018). Dentre a fauna característica do manguezal, os crustáceos representam um dos grupos mais importantes. Os caranguejos (ordem *Decapoda*) são os principais representantes do grupo, podendo ter hábitos arborícolas, bentônicos e aquáticos (Souza et al., 2018).

Nos manguezais brasileiros várias espécies de caranguejos se distribuem ao longo da costa e podem preencher uma variedade de nichos. Dentre estas, podemos destacar o *Ucides* 

*cordatus* (Linnaeus, 1763) (família *Ocypodidae*), *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837) (família *Sesarmidae*) e *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (família *Grapsidae*) (Figura 1). Tais caranguejos ocupam manguezais de norte ao sul do país, com relevante papel ecológico e econômico. Se diferenciam em alguns aspectos da ecologia alimentar e história de vida, o que permite sua utilização em estudos que visem uma melhor compreensão dos processos que envolvem a ciclagem de elementos no ecossistema (Pinheiro et al., 2005; Pinheiro et al., 2012; Lira et al., 2013; Hirose et al., 2015; Reis et al., 2015; Pereira et al., 2019).



**Figura 1:** Espécies de caranguejos utilizadas no presente estudo. (a) *Ucides cordatus*, (b) *Goniopsis cruentata*, (c) *Aratus pisonii*.

Os caranguejos *U. cordatus*, conhecidos popularmente como caranguejo-uçá, possuem expectativa de vida longa, podendo viver em torno de 10 anos (Pinheiro et al., 2005). Atingem a maturidade sexual entre 2 e 3 anos e seu período reprodutivo pode se estender entre os meses de novembro a abril, com picos entre janeiro e março (Nascimento, 1993; Pinheiro et al., 2005; Costa et al., 2014). São animais herbívoros que atuam de forma significativa na ciclagem de nutrientes e bioturbação dos sedimentos através da construção de suas tocas, além de ser um dos recursos pesqueiros mais importantes para as comunidades tradicionais costeiras no Brasil (Koch e Wolff, 2002; Nordhaus, 2004; Christofoletti, 2005; Nordhaus et al., 2006; Kristensen, 2008).

*A. pisonii* é conhecido popularmente como marinheiro, possui comportamento arborícola se deslocando entre raízes e troncos das árvores, podendo habitar ainda o ambiente aquático por curto período de tempo quando em fuga (Yeager et al., 2016). São animais com expectativa de vida curta (1 a 2 anos) e sua reprodução ocorre ao longo do ano, com pico em fevereiro e março (Lira et al., 2013; Reis et al., 2015). Tem a onivoria como estratégia alimentar

e são um dos poucos caranguejos do mundo capazes de se alimentar das folhas diretamente das árvores, alcançando o topo do dossel (Erickson et al., 2003; Erickson et al., 2008). Além das folhas, há registros da ingestão de pequenos artrópodes, algas e tecido morto de animais quando dispostos entre as estruturas das árvores, sendo apontado como um onívoro oportunista (Erickson et al., 2004; Erickson et al., 2008; López e Conde, 2013; Riley et al., 2014).

*G. cruentata* é conhecido como aratu, aratu vermelho ou aratu do mangue (Melo, 1996). São considerados semi-arborícolas, podendo escalar as árvores, permanecer no sedimento e ocupar as tocas do *U. cordatus* e o ambiente aquático como uma estratégia de defesa (Menezes et al., 2012; Lira et al., 2013; Reis et al., 2015; Buranelli, 2016). Sua longevidade é de 1 a 2 anos e sua reprodução é contínua, com picos de janeiro a março (Lira et al., 2013; Buranelli, 2016). São apontados como onívoros oportunistas e generalistas (Andrade et al., 2012; Menezes et al., 2012). Sua alimentação é composta por folhas, pequenos artrópodes e caranguejos vivos ou mortos (gênero *Uca*, *A. pisonii* e juvenis da própria espécie), além de outros tecidos animais quando disponíveis no ambiente. São considerados importantes predadores no manguezal (Botelho, 2004; Lima-Gomes et al., 2011; Andrade et al., 2012). Vale destacar que a composição e importância dos itens alimentares que compõe a dieta do aratu ainda não estão bem documentadas na literatura, da mesma forma para o *A. pisonii* (Erickson et al., 2008; Lima-Gomes et al., 2011; Buranelli, 2016).

As espécies *U. cordatus* e *G. cruentata* têm sido apontadas como potenciais bioindicadoras do estado de conservação do ecossistema de manguezal, através de estudos de contaminação que indicaram alterações genéticas, citológicas e enzimáticas (Davanso et al., 2013; Duarte et al., 2016, 2017; Ortega et al., 2016). Isso reforça a necessidade de novos estudos para um melhor entendimento da biologia das espécies, visando ações de monitoramento da qualidade ambiental e conservação das regiões estuarinas (Souza et al., 2018).

#### 1.2. Mercúrio no ecossistema de manguezal: uma abordagem geral

O ciclo biogeoquímico do mercúrio (Hg) envolve diversos processos físicos, químicos e biológicos, como volatilização, transporte, deposição, transformações químicas, bioacumulação e biomagnificação (Marins et al., 2004; Driscoll et al., 2013). A atmosfera funciona como um compartimento receptor do Hg emitido tanto por vias naturais quanto antrópicas. Uma vez na atmosfera, o Hg pode permanecer circulando por curtos e longos períodos sem ser depositado, se dispersando globalmente até condições favoráveis à sua deposição, atuando, assim, como uma fonte difusa (Gustin et al., 2015; Obrist et al., 2018). O

tempo médio de circulação e deposição é de 1 ano, mas pode variar de semanas a até 2 anos dependendo da forma química (Schroeder e Munthe, 1998; Gustin et al., 2015). Embora a atmosfera seja um reservatório relativamente menor de Hg comparado a outros (ex.: oceanos e sedimentos), ela é uma importante via pelo qual o Hg é distribuído mundialmente, conferindo ao elemento a designação de poluente global (Driscoll et al., 2013; Gustin et al., 2015).

Na vegetação do manguezal as vias de deposição atmosférica (úmida e seca) são consideradas as principais fontes de entrada para o elemento (Zhang et al., 2009; Risch et al., 2017), visto que a absorção do Hg pelas raízes contribui somente com cerca de 10% do total acumulado nas folhas (Bishop et al., 1998). Uma vez nas folhas, o Hg pode ser transferido aos sedimentos através da deposição atmosférica (ex.: transprecipitação – lavagem do dossel pela precipitação) e da decomposição da serapilheira (St. Louis et al., 2001; Pokharel e Obrist, 2011; Wright et al., 2016). No entanto, o conhecimento da relevância da vegetação no ciclo biogeoquímico do Hg ainda é incipiente (Zhou et al., 2013; Wang et al., 2016). Isso reforça a necessidade de estudos que integrem diferentes compartimentos e processos em abordagens sobre a dinâmica do Hg nas regiões estuarinas.

As fontes de Hg para o sedimento do manguezal englobam o aporte continental, marinho e atmosférico (Mason et al., 2006; Bergamaschi et al., 2012). Tal compartimento apresenta um papel importantíssimo no controle do Hg nos ambientes aquáticos (Mason et al., 2006; Haris et al., 2017). Isso se deve a características gerais dos sedimentos de mangue que favorecem a retenção do Hg e outros metais, como elevada incidência de matéria orgânica, sedimentos finos e ambiente redutor (Laurier et al, 2003; Lei et al., 2019).

A fração majoritária do Hg encontra-se associada à fase orgânica (Yu et al., 2012; Chakraborty et al., 2014; 2015). Este comportamento complexante da matéria orgânica limita a mobilidade do Hg, resultando em sua acumulação e lenta liberação para águas superficiais (Lei et al., 2019). As partículas finas do sedimento (silte e argila) também atuam diretamente no processo de retenção do Hg devido a sua elevada área superficial que propicia sítios de adsorção e, indiretamente pela presença de carbono orgânico e outros substratos geoquímicos, que aumentam a capacidade de sorção dos sedimentos (Yu et al., 2012; Chakraborty et al., 2014). Outros substratos importantes para o acúmulo de Hg são os metais formadores de óxidos (principalmente Fe e Mn) e sulfetos (Mason et al., 2006; Haris et al., 2017). Em ambientes anaeróbios, os sulfetos praticamente governam a especiação, biodisponibilidade e toxicidade dos metais. A redução do enxofre é uma das reações mais importantes na retenção de Hg (Ravichandran, 2004). Além destes, outros fatores como pH, força iônica, potencial redox, temperatura, teores de oxigênio dissolvido, carbono orgânico dissolvido e o material particulado em suspensão controlam a especiação e biodisponibilidade do Hg no ambiente (Bergamaschi et al., 2012; Lei et al., 2019).

A toxicidade e biodisponibilidade do Hg irão variar de acordo com a presença das formas orgânicas, onde o Hg<sup>2+</sup> encontra-se ligado covalentemente a um radical orgânico. O monometilmercúrio (MMHg - CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>), altamente lipofílico, é a forma orgânica mais tóxica com elevada permeabilidade em membranas biológicas, o que confere um potencial teratogênico ao elemento (Liu et al., 2011). Um dos aspectos mais relevantes do Hg é sua reconhecida capacidade de sofrer biomagnificação, ou seja, há um enriquecimento de MMHg à medida que aumenta o nível trófico na cadeia alimentar do ecossistema (Chen et al., 2008; Liu et al., 2011). Dessa forma, organismos que ocupam o topo da cadeia apresentam elevadas concentrações do elemento e, ao terem seus tecidos consumidos, expõem a população humana aos efeitos adversos do MMHg, podendo ocasionar sérios danos a saúde (Rice et al., 2003; Dorea et al., 2010).

# 2. OBJETIVOS

## 2.1. OBJETIVO GERAL

 Este estudo tem como objetivo geral avaliar os níveis de mercúrio e a composição elementar e isotópica do carbono e do nitrogênio na cadeia alimentar do ecossistema de manguezal através de três espécies de caranguejos, investigando a relação entre hábitos alimentares, nível trófico e biomagnificação.

# 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a assimilação alimentar, estrutura ttrófica e amplitude de nicho isotópico dos caranguejos *Ucides cordatus*, *Aratus pisonii* e *Goniopsis cruentata* em três manguezais distribuídos nas regiões Sudeste, Nordeste e Norte do Brasil (Capítulo 2).
- Avaliar os níveis de Hg total em associação com a composição isotópica do C e do N nas espécies de caranguejos, suas prováveis fontes alimentares (folhas e artrópodes) e sedimento de manguezais localizados em diferentes regiões do Brasil (Capítulo 3).

## **3. PERGUNTAS**

- Há variações na preferência alimentar, estrutura trófica e amplitude de nicho dos caranguejos nos manguezais estudados? Há um padrão geral para as espécies?
- Há ocorrência de biomagnificação do mercúrio na cadeia alimentar dos manguezais analisados?
- Os níveis de mercúrio nos caranguejos podem gerar riscos de consumo pela população humana?

Capítulo 1 - Revisão Bibliográfica

Isótopos estáveis e ferramentas auxiliares usadas como traçadores tróficos em cadeias alimentares aquáticas

#### **RESUMO**

A estrutura das cadeias alimentares é considerada um atributo fundamental dos ecossistemas e sua caracterização proporciona um conhecimento intrínseco da dinâmica das comunidades. Ao longo das últimas décadas várias abordagens foram aprimoradas permitindo explorar diversos aspectos das cadeias alimentares. Neste sentido, o objetivo desta revisão é descrever a aplicação dos isótopos estáveis e as principais ferramentas acessórias usadas na modelagem das cadeias alimentares aquáticas, incluindo seus avanços, pontos fortes e limitações. As ferramentas mais usadas com essa finalidade nos estudos de ecologia trófica são os isótopos estáveis, aliados às análises de mercúrio e de compostos específicos, como aminoácidos e ácidos graxos. Além disso, também são discutidos aqui aspectos dos métodos estatísticos aplicados na interpretação desses resultados, como os modelos de mistura isotópico, que sofreram avanços significativos nas duas últimas décadas. Toda ferramenta tem premissas e limitações, que devem ser bem compreendidas pelos pesquisadores. A aplicação de múltiplos traçadores nos estudos tróficos fornece informações complementares, sendo em muitos casos uma alternativa apropriada para superar algumas dessas limitações, permitindo expandir o conhecimento das cadeias alimentares de acordo com o objetivo de cada estudo.

Palavras-chave: isótopos estáveis, modelos de mistura, cadeias alimentares

# **INTRODUÇÃO**

As cadeias alimentares podem ser definidas como redes de interações entre consumidores e seus recursos nutricionais, englobando modelos de fluxo de nutrientes, matéria e energia nos ecossistemas (Odum, 2004). Abrangem populações, grupos de organismos ou unidades tróficas que constituem uma das bases primárias do desenvolvimento e avanço dos estudos ecológicos (Thompson *et al.*, 2012; Layman *et al.*, 2015). A partir dos primeiros estudos em cadeias alimentares (ex., Elton, 1927; Lindeman, 1942) importantes conceitos foram introduzidos, permitindo o entendimento de processos como fluxo de energia, estimativas de produção primária e relações tróficas. Uma síntese histórica dos estudos da ecologia das cadeias alimentares pode ser encontrada no trabalho de Layman *et al.* (2015).

As informações atuais sobre o fluxo de energia nos ecossistemas surgiram da necessidade de gerar dados empíricos sobre a dieta dos consumidores na cadeia alimentar e do aprimoramento de ferramentas químicas e técnicas analíticas, como no caso dos isótopos estáveis (Vander Zander *et al.*, 1997; Layman *et al.*, 2012). Por definição química, isótopos estáveis são nuclídeos não radioativos de um mesmo elemento químico com mesmo número de prótons e elétrons e diferente número de nêutrons, resultando em distintos números de massa (DeNiro e Epstein, 1978; Fry, 2006; Martinelli *et al.*, 2009). As análises isotópicas têm se tornado uma ferramenta altamente eficaz para rastrear as fontes de produtividade que abastecem as cadeias alimentares (ex. hábitats, tipos de recursos) e a posição trófica dos consumidores. Além disso, fornecem informações integradas acerca das complexas interações entre os organismos de forma temporal e espacial, permitindo desenvolver modelos sobre a estrutura trófica do ecossistema (Post, 2002; Layman *et al.*, 2012).

As razões isotópicas mais comumente usadas como traçadores em cadeias alimentares são do carbono ( $^{13}C/^{12}C$ ) e do nitrogênio ( $^{15}N/^{14}N$ ) (Fry, 2006; Martinelli *et al.*, 2009). Além destes, isótopos de enxofre ( $^{34}S/^{32}S$ ) também se mostram eficazes em determinadas condições e têm sido cada vez mais utilizados em estudos tróficos (Carr *et al.*, 2017; Willacker *et al.*, 2017; Pizzochero *et al.*, 2018). Associado a análise isotópica, a quantificação dos níveis de mercúrio (Hg) tem auxiliado na modelagem vertical das cadeias alimentares (Di Beneditto *et al.*, 2012; Kherig *et al.*, 2017). Outra abordagem promissora é associar a análise isotópica de componentes específicos aos estudos, como aminoácidos e ácidos graxos, expandindo as possibilidades de aplicação no campo da ecologia trófica (Nielsen *et al.*, 2015; Bertt *et al.*, 2016; Sardene *et al.*, 2017). Visto que toda ferramenta possui premissas e limitações, em muitos casos a abordagem múltipla se torna uma opção apropriada, contribuindo para inúmeros avanços nesta área de pesquisa em diferentes ecossistemas (Layman *et al.*, 2012; Brett *et al.*, 2016).

Neste sentido, nas últimas três décadas têm se observado um esforço dos pesquisadores em mudar o enfoque qualitativo dado às primeiras aplicações isotópicas para uma abordagem mais quantitativa dos dados, ampliando o conhecimento das cadeias alimentares (ex.: Layman *et al.*, 2007; Layman *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2014). Com esses avanços, surge a necessidade de aprimorar os modelos estatísticos visando explorar de forma mais robusta os dados isotópicos, um esforço que tem sido observado na literatura (ex. Parnell *et al.*, 2010; Bond e Dimond, 2011; Jackson *et al.*, 2011; Layman *et al.*, 2012; Fry, 2013; Phillips *et al.*, 2014).

Com o desenvolvimento de novas propostas de análise das razões isotópicas, surge um questionamento sobre qual método ou modelo seria mais apropriado. Uma perspectiva mais eficaz é reconhecer os pontos fortes e incertezas de cada metodologia e suas aplicações, entendendo que cada método é mais ou menos adequado dependendo das circunstâncias e perguntas específicas de cada estudo. Dessa forma, esta revisão tem o objetivo de: (1) descrever a utilização dos isótopos estáveis e as principais ferramentas acessórias usadas na modelagem das cadeias alimentares aquáticas, suas aplicações e pontos críticos, (2) mostrar os avanços dos principais modelos estatísticos utilizados em estudos sobre a ecologia trófica, reunindo informações sobre seus pontos fortes, limitações e perspectivas.

# ISÓTOPOS ESTÁVEIS

As razões isotópicas expressam a diferença de nêutron contida no núcleo dos isótopos estáveis mais pesados e mais leves de um mesmo elemento. Por exemplo, a espécie atômica <sup>13</sup>C possui um nêutron a mais em seu núcleo comparado a sua forma mais abundante, <sup>12</sup>C. Estes são chamados na literatura como isótopos pesados e leves de carbono, respectivamente (Vander Zanden *et al.*, 1997; Fry, 2006; Martinelli *et al.*, 2009). Dessa forma, os valores isotópicos comumente reportados na literatura pela notação delta ( $\delta$ ), exemplo  $\delta^{13}$ C, expressam a razão dos isótopos pesados pelos leves na amostra a ser analisada em relação a uma amostra padrão internacional, seguindo a seguinte equação:

$$\delta^m X = \left[ \left( \frac{R_{amostra}}{R_{padrão}} \right) - 1 \right] * 1000$$

Onde *X* é o elemento químico a ser analisado, *m* é a massa do isótopo mais pesado e *R* é a razão obtida pelo isótopo mais pesado e mais leve, tanto na amostra quanto no padrão. Os valores finais são expressos em partes por mil (‰) (Vander Zanden *et al.*, 1997; Fry, 2006).

Os primeiros estudos com isótopos estáveis em organismos observaram que os valores isotópicos dos consumidores refletiam a composição isotópica dos recursos ingeridos, o que foi melhor explorado através de experimentos com dieta controlada, como os realizados por DeNiro e Epstein (1978, 1981). Desde então, os isótopos têm sido usados como marcadores químicos nos tecidos biológicos, registrando o recurso assimilado e não somente o recurso ingerido (Fry, 2006). Assim, fornecem informações das interações tróficas, transferências de energia e complexidade das cadeias alimentares. Além disso, sua aplicação permite identificar alterações temporais ou espaciais no uso das fontes primárias e na dieta dos consumidores (Layman et al., 2012; Phillips et al., 2014). Contudo, algumas observações devem ser consideradas. Por exemplo, a partir dos dados isotópicos não é possível identificar os itens alimentares ingeridos, como no caso da análise do conteúdo estomacal ou observação direta do forrageamento (Abdurahiman et al., 2010), nem gerar estimativas de biomassa, diferenciando apenas o padrão da alimentação e o nível trófico ocupado (Layman et al., 2012). Além disso, é muito importante ter um conhecimento prévio da história de vida das espécies estudadas, como as diferentes fontes alimentares que podem estar presentes na dieta. Informações que podem ser adquiridas através dos métodos tradicionais citados acima, mostrando que as ferramentas podem ser complementares (Di Beneditto et al., 2016; Di Beneditto et al., 2018). Outro ponto é o conhecimento prévio dos recursos basais da cadeia alimentar (do inglês, *baseline*), que é um dos pontos limitantes para estimar a estrutura trófica (Fry, 2006).

Nas duas últimas décadas tem-se observado um aumento do número de trabalhos publicados associando os isótopos estáveis às dietas dos organismos, relações tróficas e as cadeias alimentares aquáticas (Figura 1), mostrando os avanços nesse campo de pesquisa. Alguns estudos de revisão reportaram a mesma tendência de aumento de publicações associando a análise isotópica a dieta e a cadeia alimentar de diferentes ecossistemas, como Layman *et al.* (2012), Philippsen e Benedito, (2013) e Phillips *et al.* (2014).



**Figura 1:** Número de artigos publicados nos últimos 20 anos abordando isótopos estáveis em cadeias alimentares aquáticas, disponíveis no portal de periódicos da CAPES/MEC. As palavras-chaves utilizadas foram "isotope", "aquatic food chain", "aquatic food web", "diet" e "trophic relationships".

Algumas premissas viabilizam a aplicação das razões isotópicas em estudos de ecologia trófica, como: (1) grupos de produtores primários, considerados como recursos base da cadeia alimentar (ex.: fitoplânctons, algas, plantas), apresentam valores isotópicos distintos que permitem rastrear sua origem, (2) os tecidos dos consumidores refletem a composição isotópica da sua dieta e (3) o caráter conservativo dos isótopos proporciona uma variação constante e previsível de seus valores entre os diferentes componentes da cadeia alimentar, processo conhecido como fracionamento isotópico ou fator de enriquecimento trófico (Bearhop *et al.*, 2004; Martinelli *et al.*, 2009; Boecklen *et al.*, 2011). Uma ressalva para a segunda premissa, já que muitos fatores podem afetar a assimilação isotópica do alimento no tecido dos organismos. Boecklen *et al.* (2011) listaram fatores bióticos e abióticos que são fontes de variação da composição isotópica nos organismos, que vão desde as propriedades dos consumidores (ex. tipos de tecido, histórias de vida, condições fisiológicas), propriedades dos recursos ingeridos (ex. conteúdo de lipídeos e proteínas, concentração elementar), propriedades do ambiente (a nível de bioma e habitat) e propriedades analíticas (ex. extração de lipídeos). Com relação ao fracionamento isotópico, essa é considerada uma das questões centrais para a interpretação

adequada do fluxo de energia, das inter-relações e complexidade da cadeia alimentar (Fry, 2006; Bond e Dimond, 2011; Phillippsen e Benedito, 2013).

De modo geral, a composição isotópica  $\delta^{13}$ C possibilita identificar quais produtores primários ou fontes orgânicas formam a base para um determinado consumidor, visto que a composição isotópica dos produtores é assimilada no tecido dos consumidores com um enriquecimento de  $\leq 1 \%$  a cada nível trófico, o chamado fracionamento (Vander Zanden e Rasmussen 2001; Post, 2002). Por outro lado, os isótopos de  $\delta^{15}$ N permitem avaliar a posição trófica de um organismo na cadeia alimentar. Com o avanço do nível trófico geralmente há liberação do isótopo mais leve (<sup>14</sup>N) e retenção do mais pesado (<sup>15</sup>N), resultando em um aumento dos valores de  $\delta^{15}$ N ao longo da cadeia trófica (Vander Zanden *et al.*, 1997; Lavoie *et al.*, 2013). Com isso, suas razões podem ser usadas para estimar o comprimento das cadeias alimentares estudadas (Thompson *et al.*, 2012). A cada mudança de nível trófico há um acréscimo médio estimado de ~3 ‰ de  $\delta^{15}$ N. Entretanto, esse valor pode variar muito em função da espécie, do tecido analisado e de variações temporais e espaciais, abrangendo valores entre ~2 e 5‰ (Post, 2002; Layman *et al.*, 2012; Hussey *et al.*, 2014).

A composição isotópica do enxofre, expressa como  $\delta^{34}$ S, é outra ferramenta cada vez mais aplicada em estudos tróficos (Connolly et al., 2003, 2004; Carr et al., 2017; Clayden et al., 2017; Pizzochero et al., 2018). Nos ecossistemas aquáticos, as diferentes formas químicas do S (ex. sulfato na coluna d'água, sulfetos no sedimento) tendem a ter valores distintos de  $\delta^{34}$ S. A redução do SO4<sup>2-</sup> aquoso pelas bactérias sulfato-redutoras normalmente resulta na deposição de compostos de sulfeto no sedimento, que apresentam valores mais baixos de  $\delta^{34}$ S, sendo essa discriminação mais pronunciada em ambientes anóxicos. Como resultado, produtores primários que utilizam sulfatos da coluna d'água tendem a ser mais enriquecidos em <sup>34</sup>S (ex., microalgas e fitoplânctons,  $\delta^{34}$ S médio de ~18 ‰), enquanto aqueles que utilizam os sulfetos oriundos do sedimento são mais deplecionados em <sup>34</sup>S (ex., plantas de áreas alagadas,  $\delta^{34}$ S entre -10 ‰ e 5 ‰) (Connolly et al., 2003, 2004). Como o fracionamento isotópico do S normalmente é muito baixo e não é considerado, seus valores permitem diferenciar consumidores bentônicos e pelágicos em ambientes costeiros, de acordo com as fontes de produção primária na cadeia alimentar. Isso permite a diferenciação em ambientes onde há possível sobreposição de fontes de matéria orgânica (McCutchan et al., 2003; Connolly et al., 2003, 2004). Além disso, a ferramenta pode ser aplicada ainda em espécies que diferem quanto ao uso de hábitat, identificando, por exemplo, movimentos entre águas rasas e profundas ou na investigação de espécies migratórias (Carr et al., 2017; Pizzochero et al., 2018).

Dois pontos críticos devem ser bem avaliados de acordo com o objetivo de cada estudo para evitar uma interpretação ineficaz dos resultados isotópicos. O primeiro é a taxa de substituição (do inglês, *turnover*), que consiste no processo de renovação ou síntese de novo tecido biológico a partir de alterações na dieta. Reflete o período necessário para que o consumidor integre o sinal isotópico de sua presa. Dessa maneira, as razões isotópicas no consumidor são um reflexo de diferentes períodos de alimentação, devido às distintas taxas de substituição associado ao metabolismo de cada tecido (Hobson e Clark, 1992; Manetta e Benedito-Cecílio, 2003).

As taxas metabólicas e o tipo de tecido analisado são fatores chave para uma avaliação eficiente dos dados isotópicos. Por exemplo, tecidos com maior atividade metabólica (ex.: fígado e sangue) apresentam taxas de substituição mais acelerada, por isso, devem ser aplicados em estudos que visem um registro recente da dieta (poucos dias) ou em experimentos curtos. Por outro lado, tecidos com taxas de substituição mais lentas (ex.: músculos e ossos) devem ser utilizados em pesquisas com enfoque de médio e longo prazo, respectivamente (Boecklen *et al.*, 2011; Layman *et al.*, 2012). Além disso, variações inerentes ao desenvolvimento dos organismos e que afetam seu metabolismo, também influenciam nas taxas de substituição alimentar (Barnes e Jennings, 2007). Outra questão é o delineamento amostral, onde consumidores e suas fontes alimentares devem ser coletados em escalas temporais e espaciais condizentes com a incorporação do sinal isotópico em seus tecidos. No geral, as fontes devem ser coletadas antes dos consumidores (Layman *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2014).

O segundo ponto a ser discutido condiz com uma das premissas da análise isotópica, o fracionamento isotópico. Atualmente há um questionamento quanto ao uso generalizado dos valores amplamente aplicado nos trabalhos de ecologia trófica, como os definidos por DeNiro e Epstein (1978) e Post (2002). Estudos apontam que esses valores podem variar significativamente em função de alguns aspectos fisiológicos e ambientais, como: tipo de ecossistema, tipo de tecido, dieta, posição trófica, grupo taxonômico, forma de excreção (amônia, ureia ou ácido úrico) e tratamento das amostras (ex. extração de lipídeos) (McCutchan *et al.*, 2003; Florin *et al.*, 2011; Phillips *et al.*, 2014). Portanto, o mais apropriado é aplicar de forma mais restrita, gerando estimativas mais precisas para pequenos grupos de organismos ou para um consumidor específico (Phillips *et al.*, 2014). O ideal seria gerar valores próximos ao real em cada caso por meio de experimentos curtos ou observações. No entanto, na maioria das situações essa não é uma possibilidade viável. Nesses casos, pode-se buscar estimativas mais robustas em estudos de meta-análise, que utilizam correções matemáticas para minimizar os erros inerentes ao uso de valores de fracionamento oriundos de populações distintas (McCutchan *et al.*, 2003; Caut *et al.*, 2009; Phillippsen e Benedito, 2013; Hussey *et al.*, 2014).

27

Alguns trabalhos reforçam a necessidade de novos avanços e estudos experimentais que visem entender a natureza das variações observadas (Caut *et al.*, 2010; Layman *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2014).

Desde a concepção de nicho ecológico como conjunto de informações referentes à utilização de recursos e habitat dispersos em um espaço multidimensional (Hutchinson, 1978), o espaço bidimensional formado na dispersão dos dados isotópicos (ex.  $\delta^{13}$ C *versus*  $\delta^{15}$ N) tem sido usado para explorar alguns aspectos da teoria dos nichos. Assim, o espaço trófico de espécies ou grupos representaria, em sentido amplo, parte dos nichos ecológicos destes (Newsome *et al.*, 2007; Newsome *et al.*, 2012). A partir disso surgiu o conceito de "nicho isotópico", outro viés utilizado na investigação de diferentes questões relacionadas ao nicho ecológico das espécies. Embora haja distinções, o nicho isotópico se assemelha a vários aspectos do nicho trófico real, o que permite sua aplicação em diferentes finalidades e áreas da ecologia (Di Beneditto e Monteiro, 2016, 2018; Jackson et al., 2012; Layman *et al.*, 2012).

# **MERCÚRIO**

O mercúrio (Hg) é um metal potencialmente tóxico, reportado como contaminante global devido a seu notável potencial de circulação e deposição atmosférica (Wang et al., 2016). O aumento nos níveis de Hg causa efeitos adversos nos ecossistemas e nas cadeias alimentares associadas, gerando ainda riscos à saúde humana (ex.: Liu *et al.*, 2011; Lavoie *et al.*, 2013). Nos ambientes aquáticos, a biodisponibilidade é um dos pontos determinantes para inserção do Hg nas cadeias alimentares costeiras. Isso implica na presença da forma orgânica e mais tóxica, o metilmercúrio (CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>), que pode ser disponibilizado pela conversão da forma inorgânica (Hg<sup>+2</sup>) em orgânica principalmente por bactérias sulfato redutoras, processo conhecido como metilação (Correia e Guimarães, 2017). Na biota o metilmercúrio é a forma predominante, podendo variar em torno de ~80 a 90% do Hg total do organismo. Algumas características inerentes ao elemento favorecem sua retenção nos tecidos biológicos, como por exemplo: elevada permeabilidade em membranas celulares, afinidade pelo grupamento sulfidril das proteínas, elevada absorção gastrointestinal, estabilidade, lipossolubilidade e taxa de excreção lenta (~2,8 vezes menor que a forma inorgânica) (Ulrich *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2011).

Uma vez incorporado à biota o Hg pode ser bioacumulado (i.e., assimilado e retido nos tecidos biológicos), ou ser biomagnificado (i.e., transferido ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar). Poucos metais são reconhecidamente capazes de sofrer biomagnificação, o que implica em concentrações crescentes de Hg a cada nível trófico na cadeia alimentar (ex.:

detritívoros < herbívoros < onívoros < piscívoros) (Ulrich *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2008; Lavoie *et al.*, 2013).

Diante da clara ligação entre o Hg e a posição trófica dos organismos, os estudos buscaram integrar informações sobre o hábito alimentar, biomagnificação e análises isotópicas (Di Beneditto *et al.*, 2012, 2013a; Kehrig *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2014). Como o enriquecimento de  $\delta^{15}$ N tipicamente indica um aumento do nível trófico, muitos trabalhos têm reportado uma associação positiva e significativa entre esses dois parâmetros (Di Beneditto *et al.*, 2012, 2013a; Jones *et al.*, 2014; Batista *et al.*, 2016; Kherig *et al.*, 2017). Além disso, os valores de  $\delta^{15}$ N também podem ser usados no cálculo de nível trófico dos consumidores, permitindo associar esses dados às concentrações de Hg e a biomagnificação. Um exemplo de tal associação pode ser visualizado na Figura 2.

Outra aplicação múltipla engloba as concentrações de Hg e isótopos de C, N e S no contexto trófico (Clayden *et al.*, 2017; Willacker *et al.*, 2017). A variação dos isótopos de  $\delta^{34}$ S nos ambientes costeiros está diretamente ligada a atividade das bactérias sulfato redutoras, que são consideradas as principais responsáveis pela metilação do Hg (Correia e Guimarães, 2017; Willacker *et al.*, 2017). Assim, a utilização de múltiplos traçadores pode ser usada para estimar o poder de biomagnificação do Hg na cadeia alimentar aquática, e assim, investigar os impactos antrópicos e a qualidade dos organismos comumente ingeridos pela população humana (Chen *et al.*, 2008; Kehrig *et al.*, 2013).



**Figura 2:** Relação entre a concentração de mercúrio e a posição trófica dos organismos de uma cadeia alimentar marinha da costa Sudeste do Brasil. Modificado de Kherig *et al.* (2017).

# ANÁLISE DE COMPONENTES ESPECÍFICOS – AMINOÁCIDOS E ÁCIDOS GRAXOS

A evolução significativa das técnicas tem ampliado as possibilidades de aplicação de múltiplos traçadores para investigar a estrutura das cadeias alimentares. Sendo assim, a análise de compostos específicos provavelmente é uma das áreas com maior potencial de desenvolvimento futuro (Layman *et al.*, 2012; Nielsen *et al.*, 2015; Sardene *et al.*, 2017). A determinação isotópica de aminoácidos específicos (AA) é um método relativamente novo realizado através da análise isotópica do nitrogênio ( $\delta^{15}$ N) em aminoácidos individuais (AA-CSIA, do inglês "*Amino acid compound specific nitrogen isotope analysis*"), sendo utilizado para gerar estimativas mais precisas da posição trófica dos organismos e rastrear os recursos basais da cadeia alimentar em situações onde há incertezas associado à análise isotópica tradicional (Chikaraishi *et al.*, 2014; Thorp e Bows, 2017).

A técnica se baseia no fracionamento isotópico contrastante entre dois grupos de AA durante o metabolismo. O primeiro grupo é chamado de AA "tróficos", representado pelo ácido glutâmico, ácido aspártico, alanina, leucina, isoleucina, prolina e valina. O grupo tem como principal representante o ácido glutâmico, que geralmente apresenta um fracionamento trófico maior e é melhor identificado por cromatografia gasosa. O segundo grupo é citado na literatura como AA "fontes", representado pela metionina, tirosina e fenilalanina. Dente estes, a fenilalanina é a mais utilizada como marcador por apresentar a menor variação dos valores de  $\delta^{15}$ N durante a transferência trófica (Bowes e Thorp, 2015; McMahon *et al.*, 2015).

Durante o metabolismo dos AA, o ácido glutâmico sofre processos de desaminação e transaminação, acarretando em um significante enriquecimento de  $\delta^{15}$ N a cada nível trófico (fracionamento médio de 8,0‰). Por outro lado, a fenilalanina mantém seu grupamento amina durante o metabolismo, uma vez que não pode ser sintetizada pelo próprio organismo. Dessa forma, o enriquecimento trófico da fenilalanina é significativamente menor (média de 0,4‰) (Bowes e Thorp, 2015; Nielsen *et al.*, 2015). Portanto, a análise isotópica dos AA "fontes" nos consumidores fornece informações sobre os recursos basais da cadeia alimentar assimilados em seus tecidos devido ao pequeno valor de fracionamento entre os níveis tróficos. Por outro lado, a análise isotópica dos AA "tróficos" informa o posicionamento trófico dos organismos dentro da cadeia alimentar devido ao aumento consistente e relativamente grande dos valores isotópicos durante a transferência trófica (Chikaraishi *et al.*, 2009, 2014).

Comparado à análise de isótopos estáveis tradicional, a aplicação de AA-CSIA pode ser uma alternativa quando há limitações quanto a estimativas precisas do recurso basal da cadeia alimentar, principalmente em sistemas aquáticos, ou quando as fontes potenciais possuem valores isotópicos muito próximos. A principal vantagem analítica da AA-CSIA é que um único consumidor contém informações tanto da composição isotópica na base da cadeia, quanto do número de transferências tróficas (Bowes e Thorp, 2015; Nielsen *et al.*, 2015; Blanke *et al.*, 2017). Isso também elimina em alguns casos necessidade de realizar análise nos produtores primários. Assim, potencialmente menos amostras são necessárias para estimativas de consumidores de níveis mais elevados na cadeia alimentar. No entanto, geralmente o custo da análise de AA-CSIA é mais elevado que a análise tradicional.

Outra ferramenta potencialmente aplicável na ecologia trófica é a análise de ácidos graxos, que são ácidos carboxílicos formados por longas cadeias hidrocarbônicas que constituem os lipídeos, necessários a uma variedade de funções metabólicas. Quando consumidos, eles podem ser utilizados como fonte de energia ou serem assimilados no tecido adiposo do consumidor (principalmente como triglicerol). Isso permite que os perfis de ácidos graxos provenientes da alimentação sejam armazenados nos tecidos dos consumidores de uma forma previsível (Dalsgaard *et al.*, 2003; Iverson *et al.*, 2004). Neste sentido, a abordagem conjunta com as análises isotópicas traz informações complementares aos estudos tróficos e tem sido utilizada nos ecossistemas marinhos (Dalsgaard *et al.*, 2003; Brett *et al.*, 2016; Sardene *et al.*, 2017) e estuarinos (Hall *et al.*, 2006).

Alguns trabalhos integraram a análise de isótopos estáveis, Hg e ácidos graxos essenciais para caracterizar cadeias alimentares no ambiente marinho, aprimorando a seleção de traçadores tróficos em estudos futuros (Brewster, 2016; Sardene *et al.*, 2017). Três ácidos graxos são reconhecidamente considerados essenciais para os consumidores e podem ser aplicados em estudos tróficos, são estes: DHA (ácido decosahexaenoico), EPA (ácido eicosapentaenoico) e ARA (ácido araquidônico). Os dois primeiros constituem o grupo conhecido como ômega-3 e o último, ômega-6. Enquanto o ARA se origina principalmente de áreas bentônicas costeiras, o DHA é preservado em toda cadeia alimentar, aumentando seus níveis a cada posição trófica (Dalsgaard *et al.*, 2003; Iverson *et al.*, 2004). A correlação com os valores de  $\delta^{15}$ N foi reportada por alguns trabalhos (ex. Koussoroplis *et al.*, 2011; Sardene *et al.*, 2017), o que torna a abordagem aplicável na estruturação das cadeias alimentares.

Vale ressaltar que, embora o uso de múltiplos traçadores (isótopos, Hg e ácidos graxos) seja informativo, o custo benefício das análises deve ser levado em consideração. A estratégia de agrupar dados previamente originados com outros propósitos, como em estudos nutricionais (ácidos graxos) e de contaminação (Hg), pode ser mais vantajosa. Além disso, as ferramentas apresentam um forte potencial de aplicação no nível de indivíduo, podendo ser aplicadas, por exemplo, em estudos com populações de espécies migratórias (Brewster, 2016; Sardene *et al.,* 2017).

#### MODELOS DE MISTURA E NICHO ISOTÓPICO

A primeira abordagem para interpretação isotópica no contexto trófico é aplicação da estatística básica e teste de hipóteses, comparando médias entre grupos, locais ou até entre escalas temporais (Oulhot *et al.*, 2011). Embora a estatística básica seja importante, quando aplicada sozinha sua visão ecológica é restrita em muitos aspectos, especialmente em cadeias alimentares complexas (Layman *et al.*, 2012). Assim, os modelos de mistura surgiram como uma ferramenta mais precisa buscando investigar a contribuição relativa de cada item alimentar que compõe a dieta dos consumidores estudados (ex. Phillips e Kock, 2002; Phillips e Gregg, 2003; Phillips *et al.*, 2005). Houve uma evolução significativa nas capacidades e sofisticação dos modelos desde sua criação e sua progressão tem sido contínua (Phillips *et al.*, 2014).

Inicialmente, os modelos de mistura lineares de balanço de massa eram restritos a sistemas que envolviam um único consumidor (ou uma média de múltiplos consumidores). Além disso, o número de fontes permitidas era limitado ao número de isótopos utilizados mais um, o que geralmente restringia o número de fontes no modelo a 3 (ex.:  $\delta^{13}$ C e  $\delta^{15}$ N +1 = 3) (Phillips, 2001; Layman *et al.*, 2012). Outro aspecto limitante é que os primeiros modelos não forneciam medidas de erro e intervalos de confiança, o que restringia os resultados a uma faixa de valores possíveis de contribuição de cada fonte. Assim, Phillips e Gregg (2001) desenvolveram cálculos de propagação de erro para cada sistema através do IsoError. Este modelo estabelece intervalos de confiança em torno das estimativas baseado nas variâncias do consumidor e dos valores isotópicos das fontes.

Em seguida, o IsoSource surgiu como uma solução linear para englobar situações que ultrapassavam o limite de fontes permitidas (Phillips e Gregg, 2003). Neste método, os resultados são exibidos na forma de histogramas de frequências ilustrando todas as contribuições viáveis e estatísticas descritivas nas distribuições de cada recurso alimentar. O trabalho de Phillips *et al.* (2005) buscou aprimorar a técnica simplificando as análises, sugerindo duas formas de agrupamento de fontes que fossem isotopicamente e ecologicamente similares. Contudo, o modelo continua tendo limitações quanto à variabilidade dos parâmetros e na investigação de questões ecológicas. Outros modelos foram desenvolvidos logo após o IsoSource usando algoritmos diferentes, mas foram menos aplicados (Layman *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2014).

Outra questão envolvendo os modelos de mistura lineares é que não consideravam as diferenças nas concentrações elementares dos recursos ingeridos, assumindo que são iguais (Phillips e Kock, 2002). Embora essa suposição seja válida para alguns herbívoros e carnívoros, muitas vezes isso não se aplica a animais onívoros e generalistas. Visto que se alimentam de uma ampla variedade de recursos em diferentes níveis tróficos. Neste sentido, o IsoConc foi

desenvolvido para realizar cálculos "dependentes da concentração", incluindo dados da composição elementar das fontes, considerando ainda sua digestibilidade (Phillips e Kock, 2002). Este foi um avanço importante para gerar estimativas cada vez mais precisas sobre a dieta dos organismos estudados. Contudo, sua aplicação prática em animais generalistas não é tão simples e, diferente do IsoError, o método não permite incluir os erros associados ao processo (Layman *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2014).

Diante das limitações dos modelos lineares padrão, a estatística Bayesiana passou a ser incorporada nos modelos de mistura gerando avanços significativos nas abordagens tróficas (Phillips et al., 2014). O primeiro modelo desenvolvido foi o MixSIR (Moore e Semmens, 2008), seguido pelo SIAR (Parnell et al., 2010) e MixSIAR (Stock e Semmens, 2013). Embora algumas características tenham sido aprimoradas (ex. algoritmos, saídas gráficas), a essência dos modelos é semelhante. Ambos integram os cálculos de probabilidades nas contribuições relativas em sistemas com diversas fontes, fornecendo ainda os intervalos de credibilidade solicitados pelo pesquisador. Realizam correções através da inclusão dos valores de fracionamento isotópico, juntamente com os valores de desvio padrão associados. Permitem ainda inserir valores distintos da composição elementar (ex. C e N) de cada fonte (opcional). Além destes, Hopkins e Ferguson (2012) criaram o IsotopeR, que integra todos os recursos dos modelos anteriores usando cálculos inteiramente bayesiano, abrangendo medição de erros associados as análises isotópicas, dependência de concentração, correlação isotópica e estimativas a nível de indivíduo. Contudo, dentre os modelos citados, o SIAR tem sido o mais aplicado para investigar a assimilação alimentar dos organismos de interesse (Parnell et al., 2013; Phillips et al., 2014). A Figura 3 mostra um exemplo gráfico do SIAR aplicado na investigação da assimilação de presas na dieta de duas espécies de peixes.



**Figura 3:** Exemplo do modelo de mistura SIAR para mostrar a contribuição (%) das diferentes presas na alimentação de duas espécies de peixes (*Bagre bagre e Genidens barbus*). Modificado de Di Beneditto et al. (2018).

Muitos avaços também surgiram a partir da exploração do espaço formado pela dispersão do conjunto de dados isotópicos, possibilitando inferências sobre o nicho isotópico e vários aspectos da ecologia trófica. Tradicionalmente, estimativas da amplitude de nicho eram realizadas através da análise do conteúdo estomacal e medidas de riqueza e uniformidade aplicadas em grupos de indivíduos. Contudo, devido a algumas limitações apresentadas por essas abordagens, os isótopos tornaram-se um complemento robusto na investigação dos nichos tróficos (Bearshop *et al.*, 2004). Neste sentido, Layman *et al.* (2007) formularam seis métricas quantitativas geradas a partir da dispersão dos valores isotópicos, que fornecem informações sobre amplitude de nicho e estrutura das cadeias alimentares. De forma simplificada, as métricas refletem a diversidade trófica em relação à distribuição dos valores de  $\delta^{15}$ N e  $\delta^{13}$ C e, informam como os indivíduos das espécies estão estreitamente relacionados dentro de seus respectivos nichos. São geradas estimativas quanto a variedade de recursos alimentares explorados, diversidade e amplitude trófica, redundância trófica (similaridade) e uniformidade de distribuição dos indivíduos no espaço de nicho isotópico.

Um ponto a ser considerado é que as métricas utilizam medidas da área total do polígono para estimar o nicho trófico, abrangendo todos os valores dispersos no espaço  $\delta^{15}N \ e \ \delta^{13}C$ , inclusive os extremos. Entretanto, ao se comparar nichos com tamanhos amostrais distintos a abordagem não é adequada, já que a área do polígono tenderá a aumentar juntamente com

número de amostras. Diante disso, Jackson *et al.* (2011) sugeriram uma adaptação das métricas de Layman *et al.* (2007) e para isso criaram uma proposta baseada na inferência Bayesiana, o SIBER ("Stable Isotope Bayesian Ellipses in R").

O SIBER utiliza como medida da área isotópica, a área de uma elipse padrão (SEA, do inglês *standard ellipse area*). A elipse padrão se baseia na variância e covariância dos valores isotópicos, abrangendo cerca de 40% dos dados, o que representa o núcleo do nicho isotópico. Assim, quando se observa sobreposição das elipses formadas, significa que os grupos comparados estão compartilhando o mesmo espaço isotópico e, consequentemente, pode ser usado como medida de sobreposição do nicho (Jackson *et al.*, 2011; Knickle e Rose, 2014). Para isto, os autores recomendam um número amostral em torno de 30. No entanto, ao se trabalhar com amostras menores pode ser feito uma correção no cálculo para ajustar a SEA, que passa a se chamar área da elipse padrão corrigida (SEA<sub>c</sub>) (Jackson *et al.*, 2011).

Por considerar a variabilidade existente no processo, essa métrica se torna mais comparável entre gradientes espaciais e temporais, já que os valores extremos passam a não ter grande efeito na medida. Além disso, as métricas não são afetadas por erros associados ao número amostral, o que permite comparar grupos de diferentes tamanhos. Dessa forma, a abordagem possibilita identificar padrões gerais entre diferentes sistemas e períodos amostrais (Jackson *et al.*, 2011; Abrantes *et al.*, 2014). Isso permite, por exemplo, comparar espécies dentro de uma mesma comunidade (Figura 4-C), em comunidades diferentes (Figura 4-A,B) e diferentes períodos amostrais ou sazonais (Figura 4-A).



**Figura 4:** Exemplos gráficos de estudos usando o SIBER para investigar o nicho isotópico em distintas situações. **A:** comparando espécies de peixes entre diferentes áreas e períodos sazonais, Abrantes et al. (2014); **B:** comparando espécies de caranguejos em diferentes áreas, Odintsov e Kiyjasko (2018); **C:** diferentes espécies de caranguejos dentro de uma comunidade, Vermeiren et al. (2015).
As métricas geradas pela abordagem Bayesiana permitem a comparação robusta entre comunidades, que é um dos pontos fortes da técnica. No entanto, algumas ressalvas à sua aplicação devem ser consideradas. Quando aplicadas, por exemplo, em comunidades inteiras usando médias com pequenos tamanhos amostrais, há um aumento da incerteza associada. Assim, mesmo utilizando a SEA corrigida, os autores recomendam um número mínimo de 10 amostras por grupo a ser analisado para mitigar esses efeitos (Jackson *et al.*, 2011). Vale ressaltar que as estimativas de nicho isotópico não devem ser consideradas como medida direta do nicho ecológico das espécies. Na verdade, devem ser interpretadas como um marcador que permite inferir sobre aspectos fundamentais do nicho ecológico das espécies ou comunidades (Jackson *et al.*, 2011; Layman *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2014).

Uma síntese dos principais modelos e abordagens descritos anteriormente utilizados em estudos tróficos, destacando seus avanços, pontos fortes e limitações, pode ser observado na Tabela 1. Além destes, dois outros modelos Bayesianos podem ser citados, embora sua aplicação nos estudos tróficos ainda não tenha se expandido na literatura, como exemplo do IsoWeb (Kadoya *et al.*, 2012) e do FRUITS (Fernandes *et al.*, 2014).

Mesmo com todos os avanços da incorporação da estatística Bayesiana nos modelos tróficos, ainda há desafios para sua aplicação efetiva. Phillips *et al.* (2014) reuniram algumas recomendações para que os modelos de mistura sejam utilizados de forma eficaz na ecologia trófica. Primeiramente, os estudos devem apresentar questões claras, reunir informações sobre o funcionamento do ecossistema e, ter um delineamento amostral que efetivamente englobe a variabilidade isotópica dos consumidores e suas fontes em escalas temporais e espaciais apropriadas (considerando por ex., a taxa de substituição). Em seguida, os pesquisadores devem escolher adequadamente os modelos aplicados de acordo com a questão a ser respondida, reconhecendo suas premissas e limitações. Os autores ressaltam ainda que as decisões sobre agrupar ou não fontes semelhantes ou incluir a dependência de concentração nos cálculos podem influenciar nos resultados.

**Tabela 1:** Principais avanços nos modelos de mistura aplicados em estudos de cadeias alimentares, destacando seus pontos fontes e limitações.

Modelo	Descrição	Pontos Fortes	Limitações	Referências de Base
Modelos Geométricos	Usa as distâncias euclidianas entre a composição	Cálculos simples que requerem	Pode não identificar de forma precisa as	Kline <i>et al.</i> (1993)
	isotópica de consumidores e fontes no espaço de	apenas os valores isotópicos	contribuições, pela possibilidade de múltiplas	BenDavid et al. (1997)
	distribuição bivariada de $\delta^{13}C \mbox{ e } \delta^{15}N.$	dos consumidores e presas.	combinações de fontes. Tende a superestimar espécies de presas raras e subestimar presas	
	Estima a contribuição proporcional de cada fonte.		comuns.	
Modelos de Mistura	Usa equações lineares de balanço de massa	Pode fornecer uma contribuição exata das fontes para os consumidores.	Determina somente a contribuição para	Schwarez (1991)
Linear	para determinar a proporção da contribuição de (n + 1) fontes potenciais (n = número de isótopos do sistema)	modelo.	(n + 1) fontes alimentares potenciais.	Phillips (2001)
IsoError	Permite incorporar os erros associados e a	Estabelece intervalos de confiança em torno das	Não engloba muitas premissas. Não abrange	Phillps e Gregg (2001)
	correlação isotópica das fontes no modelo.	estimativas nas variâncias entre consumidores e presas	sistemas complexos de múltiplas fontes.	
IsoSource	Calcula a distribuição das frequências e a	Examina todas as possíveis combinações que	Fornece uma solução probabilística e não	Phillips e Gregg (2003)
	contribuições das fontes em sistemas que as	poderiam resultar no valor isotópico observado e	a proporção exata das contribuições.	Phillips et al. (2005)
	fontes ultrapassam (n+1) (n= número de isótopos).	determina a faixa de contribuições possíveis.	Não incorpora a variabilidade no modelo.	
IsoConc	Realiza cálculos dependentes da concentração.	Assume que a contribuição da fonte é proporcional	Difícil aplicação prática em organismos	Phillips e Kock (2002)
	modelo (ex. C e N) e digestibilidade.	a sua biomassa multiplicada pela concentração elementar.	inerentes ao modelo.	
	Examina as distribuições de probabilidades	Engloba sistemas complexos com múltiplas	A interpretação dos dados é sensível a	Mooree e Semmens (2008)
Modolos do Mistura	das contribuições das fontos, com as incortozas	fontos notonsiais. Dormito incluir dosvio nadrão	variaçãos no fator do anriguesimento tráfico o	Barnell at $al (2010)$
Bayesianos	associadas. Incorpora a variabilidade nos	nas correções pelo fator de enriquecimento trófico.	a presença de fontes muito similares.	Stock e Semmens (2013)
	parâmetros e fornece um intervalo de	Possibilita incluir informações opcionais		
	credibilidade.	(ex. concentrações elementares)		
IsotopeR	A estrutura hierárquica do modelo permite	Incorpora os recursos dos demais modelos,	A interpretação dos dados é sensível a	Hopkins e Ferguson (2012)
Modelo de Mistura	fazer inferências estatísticas a nível de	incluindo erros de medição, dependência	variações no fator de enriquecimento trófico e	
Bayesiano	indivíduo na população.	da concentração e correlação isotópica.	a presença de fontes muito similares.	
SIBER	Utiliza métricas quantitativas do espaço de dispersão	As métricas calculadas geram elipses	Recomenda-se um número amostral	Jackson et al. (2011)
Modelo Bayesiano	isotópico para inferir sobre a estrutura da	imparciais em relação ao tamanho das amostras'.	mínimo de 10 por grupo membro	
	comunidade. Inclui incertezas associadas a	Permite comparar grupos com distintos tamanhos	da comunidade.	
	amostragem, gerando medidas robustas da largura	amostrais e nichos isotópicos, entre diferentes		
	do nicho isotópico ocupado pelas espécies.	sistemas e comunidades. Possibilita realização de estudos de meta-análise.		

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Neste estudo de revisão foram apresentadas as abordagens principais aplicadas na ecologia trófica, que podem gerar informações precisas e contribuir para o entendimento da dinâmica das comunidades ecológicas. Através da aplicação das técnicas apresentadas aqui, pode-se: 1) traçar as fontes de matéria orgânica na cadeia trófica, 2) determinar a contribuição de cada fonte alimentar na dieta dos organismos, 3) investigar a estrutura vertical das cadeias alimentares, 4) inferir sobre a utilização de recursos e habitat das espécies estudadas, gerando estimativas da amplitude do nicho, 5) realizar estimativas e comparações robustas através dos modelos estatísticos atuais.

O pesquisador deve ter em mente que toda ferramenta tem premissas, vantagens e limitações, que devem ser bem compreendidas para uma interpretação efetiva dos resultados. A aplicação de múltiplas metodologias, assim como se entender a história de vida dos organismos e as interações entre as espécies, irá proporcionar uma maior compreensão das cadeias alimentares. Além disso, as informações geradas entre as ferramentas muitas vezes se complementam, podendo ser uma alternativa mais apropriada para superar algumas limitações e expandir o conhecimento das cadeias alimentares aquáticas.

# **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abdurahiman, K. P., Nayak, T. H., Zacharia, P. U., Mohamed, K. S. (2010). Trophic organisation and predator–prey interactions among commercially exploited demersal finfishes in the coastal waters of the southeastern Arabian Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 87(4), 601-610.

Abrantes, K. G., Barnett, A., Bouillon, S. (2014). Stable isotope-based community metrics as a tool to identify patterns in food web structure in east African estuaries. *Functional ecology*, 28(1), 270-282.

Blanke, C. M., Chikaraishi, Y., Takizawa, Y., Steffan, S. A., Dharampal, P. S., Vander Zanden, M. J. (2017). Comparing compound-specific and bulk stable nitrogen isotope trophic discrimination factors across multiple freshwater fish species and diets. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 74(8), 1291-1297.

Baptista, G., Kehrig, H. A., Di Beneditto, A. P. M., Hauser-Davis, R. A., Almeida, M. G., Rezende, C. E., Moreira, I. (2016). Mercury, selenium and stable isotopes in four small cetaceans from the Southeastern Brazilian coast: Influence of feeding strategy. *Environmental Pollution*, *218*, 1298-1307.

Barnes, C., Jennings, S. (2007). Effect of temperature, ration, body size and age on sulphur isotope fractionation in fish. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 21(8), 1461-1467.

Bearhop, S., Adams, C. E., Waldron, S., Fuller, R. A., Macleod, H. (2004). Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of animal ecology*, *73*(5), 1007-1012.

Ben-David, M., Flynn, R. W., Schell, D. M. (1997). Annual and seasonal changes in diets of martens: evidence from stable isotope analysis. *Oecologia*, *111*(2), 280-291.

Boecklen, W. J., Yarnes, C. T., Cook, B. A., James, A. C. (2011). On the use of stable isotopes in trophic ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *42*, 411-440.

Bond, A. L., Diamond, A. W. (2011). Recent Bayesian stable-isotope mixing models are highly sensitive to variation in discrimination factors. *Ecological Applications*, *21*(4), 1017-1023.

Bond, A. L., Hobson, K. A. (2012). Reporting stable-isotope ratios in ecology: recommended terminology, guidelines and best practices. *Waterbirds*, *35*(2), 324-331.

Brett, M. T., Eisenlord, M. E., Galloway, A. W. E. (2016). Using multiple tracers and directly accounting for trophic modification improves dietary mixing-model performance. *Ecosphere*, 7(8).

Brewster, J. D. (2016). Characterizing the diet and habitat niches of coastal fish populations in the Beaufort Sea Tarium Niryutait Marine Protected Area. Tese de doutorado. University of Manitoba, Canada. 121p.

Carr, M. K., Jardine, T. D., Doig, L. E., Jones, P. D., Bharadwaj, L., Tendler, B., Lindenschmidt, K. E. (2017). Stable sulfur isotopes identify habitat-specific foraging andmercury exposure in a highly mobile fish community. *Science of the Total Environment*, 586, 338-346.

Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F., Figuerola, J. (2010). Trophic experiments to estimate isotope discrimination factors. *Journal of Applied Ecology*, 47(4), 948-954.

Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F. (2009). Variation in discrimination factors ( $\delta^{15}$ N.and  $\delta^{13}$ C.): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology*, *46*(2), 443-453.

Chen, C., Amirbahman, A., Fisher, N., Harding, G., Lamborg, C., Nacci, D., Taylor, D. (2008). Methylmercury in marine ecosystems: spatial patterns and processes of production, bioaccumulation, and biomagnification. *EcoHealth*, *5*(4), 399-408.

Chikaraishi, Y., Ogawa, N.O., Kashiyama, Y., Takano, Y., Suga, H., Tomitani, A., Ohkouchi, N. (2009). Determination of aquatic food-web structure based on compound-specific nitrogen isotopic composition of amino acids. *Limnology and Oceanography: methods*, 7(11), 740-750.

Chikaraishi, Y., Steffan, S. A., Ogawa, N. O., Ishikawa, N. F., Sasaki, Y., Tsuchiya, M., Ohkouchi, N. (2014). High-resolution food webs based on nitrogen isotopic composition of amino acids. *Ecology and evolution*, *4*(12), 2423-2449.

Clayden, M.G., Lescord, G.L., Kidd, K.A., Wang, X., Muir, D.C., O'driscoll, N.J. (2017). Using sulfur stable isotopes to assess mercury bioaccumulation and biomagnification in temperate lake food webs. *Environmental toxicology and chemistry*, *36*(3), 661-670.

Connolly, R.M.; Guest, M.A.; Melville, A.J. Oakes, J.M. (2003). Sulfur stable isotopes separate producers on a marine food-web analysis. *Oecologia*, 138, 161 -167.

Connolly, R. M., Guest, M. A., Melville, A. J., Oakes, J. M. (2004). Sulfur stable isotopes separate producers in marine food-web analysis. *Oecologia*, *138*(2), 161-167.

Correia, R. R. S., Guimarães, J. R. D. (2017). Mercury methylation and sulfate reduction rates in mangrove sediments, Rio de Janeiro, Brazil: The role of different microorganism consortia. *Chemosphere*, *167*, 438-443.

Dalsgaard, J., John, M. S., Kattner, G., Müller-Navarra, D., Hagen, W. (2003). Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in marine biology*, *46*, 225-340.

Deniro, M. J., Epstein, S. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et cosmochimica acta*, 42(5), 495-506.

Deniro, M. J., Epstein, S. (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et cosmochimica acta*, 45(3), 341-351.

Di Beneditto, A. P. M., Bittar, V. T., Camargo, P. B., Rezende, C. E., Kehrig, H. A. (2012). Mercury and nitrogen isotope in a marine species from a tropical coastal food web. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 62(2), 264-271.

Di Beneditto, A. P. M. D., Bittar, V. T., Rezende, C. E. D., Camargo, P. B., Kehrig, H. A. (2013a). Mercury and stable isotopes ( $\delta^{15}$ N and  $\delta^{13}$ C) as tracers during the ontogeny of Trichiurus lepturus. *Neotropical Ichthyology*, *11*(1), 211-216.

Di Beneditto, A.P.M, Rezende, C.E., Camargo, P.B. Kehrig, H.A. (2013b) Trophic niche comparison between two predators in northern Rio de Janeiro State, Brazil: a stable isotopes approach. Biota Neotrop.13(3).

Di Beneditto, A.P.M., Monteiro, L.R. (2016). Isotopic niche of two coastal dolphins in a tropical marine area: specific and age class comparisons. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 96(4): 853-858.

Di Beneditto, A.P.M., Tavares, M. T. M., Monteiro, L. R. (2018). Isotopic niche of the catfishes Bagre bagre and Genidens barbus in a coastal area of south-eastern Brazil. *Biota Neotropica*, *18*(3).

Elton, C.S. (1927). Animal Ecology. Sidgewick & Jackson, London. In: Layman et al., (2015).

Fernandes, R., Millard, A. R., Brabec, M., Nadeau, M. J., Grootes, P. (2014). Food reconstruction using isotopic transferred signals (FRUITS): a Bayesian model for diet reconstruction. *PLOS One*, 9(2), e87436.

Florin, S. T., Felicetti, L. A., Robbins, C. T. (2011). The biological basis for understanding and predicting dietary-induced variation in nitrogen and sulphur isotope ratio discrimination. *Functional Ecology*, 25(3), 519-526.

Fry, B. (2006). Stable isotope ecology. Vol. 521. New York: Springer. 320p.

Fry, B. (2013). Alternative approaches for solving underdetermined isotope mixing problems. *Marine Ecology Progress Series*, (472), 1-13.

Hall, D., Lee, S. Y., Meziane, T. (2006). Fatty acids as trophic tracers in an experimental estuarine food chain: tracer transfer. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 336(1), 42-53.

Hobson, K. A., Clark, R. G. (1992). Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of <sup>13</sup>C in tissues. *Condor*, 181-188.

Hobson, K. A., Fisk, A., Karnovsky, N., Holst, M., Gagnon, J. M., Fortier, M. (2002). A stable isotope ( $\delta^{13}$ C,  $\delta^{15}$ N) model for the North Water food web: implications for evaluating trophodynamics and the flow of energy and contaminants. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(22), 5131-5150.

Hopkins Iii, J. B., Ferguson, J. M. (2012). Estimating the diets of animals using stable isotopes and a comprehensive Bayesian mixing model. *PLoS One*, 7(1), 28478.

Hussey, N. E., Macneil, M. A., Mcmeans, B. C., Olin, J. A., Dudley, S. F., Cliff, G., Fisk, A. T. (2014). Rescaling the trophic structure of marine food webs. *Ecology letters*, *17*(2), 239-250.

Hutchinson, G. E. (1957). Concluding remarks: Cold Spring Harbor symposium. *Quantitative Biology* 22, 415–477. *In:* Layman *et al.*, (2012).

Iverson, S. J., Field, C., Don Bowen, W., Blanchard, W. (2004). Quantitative fatty acid signature analysis: a new method of estimating predator diets. *Ecological Monographs*, 74(2), 211-235.

Jackson, A. L., Inger, R., Parnell, A. C., Bearhop, S. (2011). Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER–Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80(3), 595-602.

Jackson, M. C., Donohue, I., Jackson, A. L., Britton, J. R., Harper, D. M., Grey, J. (2012). Population-level metrics of trophic structure based on stable isotopes and their application to invasion ecology. *PloS one*, *7*(2), e31757.

Jones, H. J., Swadling, K. M., Butler, E. C. V., Barry, L. A., Macleod, C. K. (2014). Application of stable isotope mixing models for defining trophic biomagnification pathways of mercury and selenium. *Limnology and oceanography*, *59*(4), 1181-1192.

Kadoya, T., Osada, Y., Takimoto, G. (2012). IsoWeb: a Bayesian isotope mixing model for diet analysis of the whole food web. *PloS one*, *7*(7), 41057.

Kehrig, H. A., Seixas, T. G., Malm, O., Di Beneditto, A. P. M., Rezende, C. E. (2013). Mercury and selenium biomagnification in a Brazilian coastal food web using nitrogen stable isotope analysis: a case study in an area under the influence of the Paraiba do Sul River plume. *Marine pollution bulletin*, 75(1), 283-290.

Kehrig, H. A., Baptista, G., Di Beneditto, A. P. M., Almeida, M. G., Rezende, C. E., Siciliano, S., Moreira, I. (2017). Biomagnificación de mercurio en la cadena trófica del Delfín Moteado del Atlántico (*Stenella frontalis*), usando el isótopo estable de nitrógeno como marcador ecológico. *Revista de biología marina y oceanografía*, 52(2), 233-244.

Knickle, D. C., Rose, G. A. (2014). Dietary niche partitioning in sympatric gadid species in coastal Newfoundland: evidence from stomachs and CN isotopes. *Environmental biology of fishes*, 97(4), 343-355.

Koussoroplis, A. M., Bec, A., Perga, M. E., Koutrakis, E., Bourdier, G., Desvilettes, C. (2011). Fatty acid transfer in the food web of a coastal Mediterranean lagoon: Evidence for high arachidonic acid retention in fish. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *91*(3), 450-461.

Kline Jr, T. C., Goering, J. J., Mathisen, O. A., Poe, P. H., Parker, P. L., Scalan, R. S. (1993). Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific salmon: II.  $\delta$ 15N and  $\delta$ 13C evidence in the Kvichak River watershed, Bristol Bay, southwestern Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *50*(11), 2350-2365.

Lavoie, R. A., Jardine, T. D., Chumchal, M. M., Kidd, K. A., Campbell, L. M. (2013). Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis. *Environmental science & technology*, *47*(23), 13385-13394.

Layman, C. A., Arrington, D. A., Montaña, C. G., Post, D. M. (2007). Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology*, *88*(1), 42-48.

Layman, C. A., Araujo, M. S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C. M., Harrison, E., Jud, Z. R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D. M., Bearhop, S. (2012). Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, *87*(3), 545-562.

Layman, C. A., Giery, S. T., Buhler, S., Rossi, R., Penland, T., Henson, M. N., Bogdanoff, A.K., Cove, M.V., Irizarry, A.D., Schalk, C.M., Archer, S. K. (2015). A primer on the history of food web ecology: Fundamental contributions of fourteen researchers. *Food Webs*, *4*, 14-24.

Lindeman, R.L., (1942). The trophic-dynamics aspect of ecology. *Ecology 23*, 399 –418. *In:* Layman *et al.*, (2015).

Liu, G., Cai, Y., Driscoll, N. O. (2011). Environmental chemistry and toxicology of mercury. John Wiley & Sons. 574p.

Manetta, G. I., Benedito-Cecilio, E. (2003). Aplicação da técnica de isótopos estáveis na estimativa da taxa de turnover em estudos ecológicos: uma síntese. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 25(1), 121-129.

Martinelli, L. A., Ometto, J. P. H. B., Ferraz, E. S., Victoria, R. L., Camargo, P. B., Moreira, M. Z. (2009). Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. *São Paulo: Oficina de Textos*, 144.

Mccutchan, J.H.; Lewis, W.M.; Kendall, C. Mcgrath, C.C. (2003). Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen and sulfur. *Oikos*, 102: 378-390.

Mcmahon, K.W., Thorrold, S.R., Elsdon, T.S., Mccarthy, M.D. (2015). Trophic discrimination of nitrogen stable isotopes in amino acids varies with diet quality in a marine fish. *Limnology and Oceanography*, *60*(3), 1076-1087.

Moore, J. W. Semmens, B. X. (2008). Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models. *Ecology Letters* 11, 470–480.

Newsome, S. D., Martinez Del Rio, C., Bearhop, S., Phillips, D. L. (2007). A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(8), 429-436.

Newsome, S. D., Yeakel, J. D., Wheatley, P. V., Tinker, M. T. (2012). Tools for quantifying isotopic niche space and dietary variation at the individual and population level. *Journal of Mammalogy*, 93(2), 329-341.

Nielsen, J. M., Popp, B. N., Winder, M. (2015). Meta-analysis of amino acid stable nitrogen isotope ratios for estimating trophic position in marine organisms. *Oecologia*, *178*(3), 631-642.

Odintsov, V. S., Kiyashko, S. I. (2018). Variations in the Carbon and Nitrogen Isotope Composition of the Crabs *Chionoecetes opilio* (Fabricius, 1788) and *Hyas coarctatus* Leach, 1816 (Crustacea: Decapoda) from the Chukchi Sea. *Russian Journal of Marine Biology*, 44(1), 68-74.

Odum, E.P. (2004). Fundamentos de ecologia. 7 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 927p.

Parnell, A. C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L. (2010). Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLOS One*, *5*(3), 9672.

Parnell, A. C., Phillips, D. L., Bearhop, S., Semmens, B. X., Ward, E. J., Moore, J. W., Inger, R. (2013). Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*, *24*(6), 387-399.

Phillips, D. L. (2001). Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia*, *127*(2), 166-170.

Phillips, D. L., Koch, P. L. (2002). Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models. *Oecologia*, *130*(1), 114-125.

Phillips, D. L., Gregg, J. W. (2003). Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, *136*(2), 261-269.

Phillips, D. L., Newsome, S. D., Gregg, J. W. (2005). Combining sources in stable isotope mixing models: alternative methods. *Oecologia*, 144(4), 520-527.

Phillips, D. L., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L., Moore, J. W., Parnell, A. C., Semmens, P.B., Ward, E. J. (2014). Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*, *92*(10), 823-835.

Philippsen, J. S., Benedito, E. (2013). Discrimination factor in the trophic ecology of fishes: a review about sources of variation and methods to obtain it. *Oecologia Australis*, *17*(2), 205-2016.

Pizzochero, A.C., Michel, L.N., Chenery, S R., Mccarthy, I.D., Vianna, M., Malm, O., Dorneles, P.R. (2017). Use of multielement stable isotope ratios to investigate ontogenetic movements of Micropogonias furnieri in a tropical Brazilian estuary. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 75(6), 977-986.

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

Sardenne, F., Hollanda, S., Lawrence, S., Albert-Arrisol, R., Degroote, M., Bodin, N. (2017). Trophic structures in tropical marine ecosystems: a comparative investigation using three different ecological tracers. *Ecological Indicators*, *81*, 315-324.

Schwarcz, H. P. (1991). Some theoretical aspects of isotope paleodiet studies. *Journal of Archaeological Science 18*, 261–275.

Thompson, R.M., Brose, U., Dunne, U., Hall, J.A., Hladyz, R.O.J., Kitching, S., Martinez, R.L., Rantala, N.M., Romanuk, H., Stouffer, T.N., D.B. (2012). Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. *Trends Ecol. Evol.* 27, 689–697.

Thorp, J. H., Bowes, R. E. (2017). Carbon Sources in Riverine Food Webs: New Evidence from Amino Acid Isotope Techniques. *Ecosystems*, 1-13.

Ullrich, S. M., Tanton, T. W., Abdrashitova, S. A. (2001). Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Critical reviews in environmental science and technology*, *31*(3), 241-293.

Vander Zanden, M. J., Cabana, G., Rasmussen, J. B. (1997). Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ( $\delta$ 15N) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *54*(5), 1142-1158.

Vander Zanden, M., Rasmussen, J. B. (2001). Variation in  $\delta^{15}$ N and  $\delta^{13}$ C trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and oceanography*, 46(8), 2061-2066.

Vermeiren, P., Abrantes, K., Sheaves, M. (2015). Generalist and specialist feeding crabs maintain discrete trophic niches within and among estuarine locations. *Estuaries and coasts*, *38*(6), 2070-2082.

Wang, X., Bao, Z., Lin, C.J., Yuan, W., Feng, X. (2016). Assessment of global mercury deposition through litterfall, *Environmental science & technology*, *50*(16), 8548-8557.

Willacker, J.J., Eagles-Smith, C.A., Ackerman, J.T. (2017). Mercury bioaccumulation in estuarine fishes: Novel insights from sulfur stable isotopes. *Environment* 

Capítulo 2

Isotopic niche and feeding assimilation of crab species in three mangrove regions of Brazil.

## ABSTRACT

Crabs are among the most important members of mangrove fauna, where they play a key role in the food chain, nutrient cycling and energy flow in the ecosystem. This study investigated the food preference, trophic structure and amplitude of the isotopic niche of *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837) and *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) mangrove crabs from 3 different regions of Brazil. Results of the elemental ratio (C:N)<sub>a</sub>, isotopic ( $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N) and food assimilation models varied between crab species and location, reflecting their behavioral adaptations and resource availability within each ecosystem. In the three communities, no niche overlap was observed between crab species, and *G. cruentata* stood out for the greater isotopic niche width and trophic diversity, reflecting its opportunist and generalist feeding habit. A better understanding of a community's the trophic ecology is fundamental for managing the area, maintaining its balance, and guiding conservation activities in estuarine ecosystems.

Keywords: Isotopic niche; feeding habits; stable isotopes; crabs; mangrove.

#### **1. INTRODUCTION**

Crabs from *Ucididae*, *Sesarmidae* and *Grapsidae* families are among the most abundant and ecologically important representatives of the mangrove fauna. They play a key role in the ecosystem's food chain and energy flow (Kristensen, 2008; Hirose et al., 2015; Kristensen et al., 2017).

The species *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) has the behavior of excavating galleries which is an important role contributing to the bioturbation of sediment and providing refuge in adverse conditions (Koch, 1999; Correia and Guimarães, 2016). This species has a slow growth rate, reaching sexual maturity between 2 - 3 years of age. Their lifespan is approximately 10 years (Pinheiro et al., 2005; Costa et al., 2014). *U. cordatus* is primarily herbivorous and has an important ecological role. They are able to remove between 60 and 80% of the freshly dropped leaves on the sediment (Schories et al., 2003; Nordhaus et al., 2006) avoiding its immediate wash off by the tides, and retaining locally, a large part of the organic matter produced in the mangrove (Koch, 1999; Koch and Wolff, 2002; Christofoletti et al., 2013). In addition, its intense foraging and processing of the plant material, accelerates the decomposition process (up to 70%), acting on organic matter and nutrient cycling in the ecosystem (Koch, 1999; Nordhaus et al., 2006; Nordhaus and Wolf, 2007; Buranelli, 2016).

The species Aratus pisonii (H. Milne Edwards, 1837) and Goniopsis cruentata (Latreille, 1803), representatives of the families Sesarmidae and Grapsidae, respectively, are omnivorous crabs (Linton and Greenaway, 2007; Lima-Gomes et al., 2011; López and Conde, 2013) with high growth rate and short lifespan (1 - 2 years) (Warner, 1967; Lira et al., 2013; Reis et al., 2015). A. pisonii is primarily arboreal, with the ability to jump between tree trunks and remain in the water long enough to avoid predators (Yeager et al., 2016). It feeds mostly on leaves. But other items supplement their nutritional diet, such as small arthropods, insects, algae and animal tissues found between the roots and trunks. These crabs are therefore considered opportunistic omnivorous (Erickson et Al., 2008; López and Conde, 2013; Riley et al., 2014). The G. cruentata crabs exploit practically all the microhabitats of the mangrove. They are semiarboreal, extremely quick and agile, moving between roots, trunks and the sediment. They are capable of considerable speed when on the run, and able to live in aquatic environment for a short time as defense strategy (Cobo and Fransozo, 2003; Reis et al., 2015; Buranelli, 2016). These crabs are characterized as opportunistic and generalist predators, exploiting most of the food available in the mangrove (Lima-Gomes et al., 2011; Hirose et al., 2015). They consume both plant and animal sources, such as insects, live or dead smaller crustaceans of genus Uca and *A. pisonii*, and individuals of their own species (Lima-Gomes et al., 2011; Reis et al., 2015; Pereira et al., 2019).

In addition to their ecological importance, *U. cordatus* and *G. cruentata* are species of commercial interest, widely consumed in many areas of Brazil (Ibama, 2011; Hirose et al., 2015). A. *pisonii*, in turn, plays an important role in the food chain, linking primary production to higher trophic levels in the role of prey (Erickson et al., 2008; Yeager et al., 2016).

Stable nitrogen ( $\delta^{15}$ N) and carbon ( $\delta^{13}$ C) isotopes have been important tools in the study of coastal food chain ecology (e.g., Di Beneditto et al., 2011; Claudino et al., 2013; 2015). Isotopic values gradually increase with the trophic level. But, the enrichment of  $\delta^{15}$ N is more evident than  $\delta^{13}$ C (Fry, 2006). Thus, the data of  $\delta^{15}$ N are commonly used in the vertical modeling of the food chains, while the  $\delta^{13}$ C data indicate the carbon sources assimilated in the diet of consumers (Peterson and Fry, 1987; Layman et al., 2012). Thus, isotopic models, when applied appropriately, allow the investigation of the food preference and the isotopic niche occupied by the species within the communities (Jackson et al., 2011; Phillips et al., 2014).

The objective of this study is to investigate the food preference, trophic structure and amplitude of the isotopic niche of the crabs *U. cordatus*, *A. pisonii* and *G. cruentata* in three mangroves located in different regions of Brazil. We raised two assumptions: (i) omnivorous crab species assimilate a greater diversity of food resources and exploit a wider isotopic niche breadth, (ii) crabs can adapt their eating behavior according to the availability of resources and specific conditions of the each mangrove ecosystem. This information is important in the monitoring and conservation activities of the entire ecosystem, since these species play a significant role in the dynamics of nutrients, organic matter and energy flow (Kristensen, 2008; Lima-Gomes et al., 2011; Claudino et al., 2015).

### 2. MATERIALS AND METHODS

## 2.1. Study Areas

In this study were selected a total of three areas, one per region, located in the Southeast, Northeast and North of Brazil, and using the mangrove as the study model for each region. The areas were: Area 1: Southeast-Mangrove from the Paraíba do Sul River estuary, São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro; Area 2: Northeast-Mangrove from the Mamanguape River estuary, Rio Tinto, Paraíba; Area 3: North-Mangroves from the Caeté estuary, Bragança, Pará (Figure 1).



**Figure 1:** Location of the sampling areas in different regions of Brazil. Area 1 - Mangrove from the Paraíba do Sul River estuary, São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro - Southeast; Area 2 - Mangrove from the Mamanguape River estuary, Rio Tinto, Paraíba – Northeast; Area 3 - Mangroves from the Caeté estuary, Bragança, Pará – North.

The first area is in the Paraíba do Sul River basin (RPS), an important water resource in the Southeast region, extending 1,137 km from its headwater to its mouth, covering the states of São Paulo, Minas Gerais and Rio de Janeiro (ICMBio, 2011). The mangrove at the mouth of the RPS is considered the largest in the northern region of Rio de Janeiro, with an approximate size of 7.2 km<sup>2</sup>. The estuary is microtidal, with an average amplitude of 0.8 m (Bernini et al. 2010). The present study was conducted in the mangroves of Gargaú, in the São Francisco do Itabapoana city. Despite anthropic exploitation activities, the mangrove is in a good state of conservation (Bernini and Rezende, 2004; 2010; 2011).

The second mangrove studied was in the Environmental Protection Area (EPA) of Barra do Rio Mamanguape, Paraíba. It is an estuary distant approximately 70 km<sup>2</sup> from the capital João Pessoa, occupying an area of thereabout 24 km long and 2.5 km wide. The mangrove areas cover approximately 60 km<sup>2</sup> along its shores, near its mouth. The range is mesotidal, with an average amplitude of 2.7 m (Claudino et al., 2015). It is considered the largest mangrove in the state of Paraíba and it is in a good state of conservation (ICMBio, 2014) although a few

anthropic activities, such as sugar cane plantations, shrimp farming and tourism, were recorded within the EPA (Silvestre et al., 2011; ICMBio, 2014).

The third study area is in the state of Pará, in the Bragança municipality, 215 km from the capital Belém. It is located within the Federal sustainable use conservation unit of Caeté-Taperaçu Marine Extractive Reserve (RESEX). The region has the second largest continuous mangrove area in the country, covering 7.600 km<sup>2</sup> and inhabited by almost 50% of the state's population (ICMBio, 2012). The coastal region of Bragança area, covered by mangrove forests is about 25 km long by 8 km wide. The sampled draining area is about 2.2 km<sup>2</sup>. The estuary is macrotidal and can reach up to 5 m (Koch and Wolf, 2002). Its potential for tourism is still not much explored. Concerning fishery, Bragança presents the third largest production of fish in the state of Pará, with more than 6,000 tons annually (ICMBio, 2012).

### 2.2. Sampling

The three species of crabs were collected in the mangroves, as well as their probable food sources such as: the plant species found (green and senescent leaves), arthropods from the canopy of the trees (insects and spiders), and sediments. The crabs, leaves and sediments were sampled during 2015, 2016 and 2017 to the areas 1, 2 and 3, respectively. The insects and spiders were collected in the mangrove of the Paraíba do Sul River (RJ) and the data were applied to the models of the other regions.

The crabs were captured manually, using simple hand gathering techniques commonly used by locals. Due to the size of crabs, it was necessary to group different number of individuals to obtain the minimum mass needed to perform all analyses. In each of the mangroves, were captured about 700 individuals of *A. pisonii* and 50 individuals of *U. cordatus* and *G. cruentata*. A final sample size between 10 - 30 individuals per species was obtained from each study area. In the laboratory, were measured the individual's cephalothoracic width (cm) and its weight (g). The samples were lyophilized, macerated and homogenized for subsequent chemical analyses.

The green and senescent leaves were collected directly from the trees, separating them per plant species. In all areas were collected the species in common: *Rhizophora mangle* L., *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn and *Avicennia germinans* (L.) Stearn. In addition to these, in the mangroves of the Mamanguape River (PB), the species of Avicennia schaueriana Stapf & Leechm. ex Moldenke, was registered and duly sampled. In the laboratory, the leaves were dried in a circulating greenhouse (at 60°C for approximately 72h) for subsequent grinding and homogenization. We used a sample number of 30 green leaves and 30 senescent leaves in each

mangrove. Sediments were collected at 5 random points in each area. For each point, we collected 3 samples from surface sediment (0-2 cm deep) considered field duplicates, totaling 15 samples per mangrove. In the laboratory, the samples were lyophilized, separated by size fraction < 2,0 mm and homogenized.

The arthropod sample (insects and spiders) was carried out in the mangrove of the Paraíba do Sul River (RJ), where the individuals were collected directly from the mangrove tree canopy, which constitutes an important foraging area of the studied crabs. The collection was done with the aid of the Entomological umbrella, a trap made using a square of resistant white fabric (1.0 m x 1.0 m), stretched by two crossed wooden sticks embedded in the tips.

The collected individuals were classified and separated by taxonomic order, because it is necessary to group large number of individuals in a single sample to perform the analyses. The proposed sampling is to characterize the orders possibly consumed and, their role in feeding omnivorous crabs. After collection, the arthropods were kept in containers labeled and preserved frozen until screening and processing. From laboratory tests, we found a loss between 40 and 50% of the arthropod mass during lyophilization. Thus, for each analytical sample we collected enough individuals to compose approximately 1.5 g of dry weight to perform all analyses. The samples separated per order were worked in triplicates. The most represented orders sampled in the analyses were: *Hymenoptera* (represented here by the ants), *Araneae* and *Lepidoptera*.

### 2.3. Analysis of elemental and isotopic composition of carbon and nitrogen

The determination of the elemental and isotopic composition of dry samples used the following masses: 2 mg for leaves, 0.5 mg for crabs and 0.45 mg for insects and spiders. The analyses were performed on the Thermo Finnigan Delta V Advantage Isotope mass spectrometer coupled to the Elemental Analyzer Flash 2000 (Organic Elemental Analyzer-Thermo Scientific). The elemental values are expressed as percentages (%), with detection limit for C and N of 0.05% and 0.02%, respectively. The isotope ratio is expressed the by notation delta ( $\delta$ ) in parts per thousand ( $\infty$ ), obtained according to international calibration standards. We used the carbonate Pee Dee (Belemnite) for carbon and for nitrogen the atmospheric N<sub>2</sub>.

#### 2.4. Data analysis

Comparing the data from the analyses of  $\delta^{13}$ C,  $\delta^{15}$ N and Ratio (C:N)<sub>a</sub>, the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests were first applied to evaluate the analysis of variance hypotheses (normality and homoscedasticity). When the hypotheses were accepted, the ANOVA test was used, and the averages compared using the Tukey Test. In cases where the assumptions were not accepted, the non-parametric Kruskal-Wallis test was applied, followed by the Dunn Test. All comparisons were tested at *p* <0.05 significance level. These analyses were carried in the R Development Core Team Program, 2018.

The approach used was Bayesian with an isotope mixing models in the SIAR package (Stable isotopic Analysis in R – by R Development Core Team, 2018; Parnell and Jackson, 2013) to estimate the relative contribution of each food item in the diet of the crab species in different areas. In the isotopic mixing models, it is recommended grouping food sources with similar isotope signatures, the use of representative sources in the diet of consumers and, to generate more accurate estimates from the factors of Trophic Enrichment (TEFs) (Parnell et al., 2010; Phillips et al., 2014). In this case, the mixing models consisted of grouped data from green and senescent leaves for each plant species and arthropods' orders. As for the TEF values, in the absence of specific data for the species obtained from experiments with controlled diet, these estimates can be produced from meta-analysis studies for phylogenetically related organisms considering the same tissue (Newsome et al., 2007). Thus, TEF values for  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N were calculated based on the equations from the meta-analysis study on groups of invertebrates (Caut et al., 2009) ( $\Delta^{13}$ C = -0.113  $\delta^{13}$ C - 1.916) ( $\Delta^{15}$ N = -0.311  $\delta^{15}$ N + 4.065). The values calculated for our data were: Area 1:  $\text{TEF}^{13}\text{C} = 0.97 \pm 0.35$  e  $\text{TEF}^{15}\text{N} = 1.47 \pm 0.57$ ; Area 2: TEF<sup>13</sup>C=  $0.71 \pm 0.13$  e TEF<sup>15</sup>N= 2.44 ± 0.47; Area 3: TEF<sup>13</sup>C=  $0.70 \pm 0.14$  e TEF<sup>15</sup>N= 1.66 ± 0.52.

The quantitative analyses were estimated based on the position of the individuals within the niche space formed by the dispersion of the crabs'  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N values (Layman et al., 2007; Jackson et al., 2011) and calculated through functions from the SIBER (*Stable Isotope Bayesian Ellipses in R* - Jackson et al., 2011; R Development Core Team, 2018) Bayesian model. The metrics obtained were: 1)  $\delta^{15}$ N Range (NR) - indicates the total nitrogen range exploited by the population; 2)  $\delta^{13}$ C Range (CR) - provides information about the variability of food resources consumed; 3) Total area of the convex hull (TA) -corresponds to the niche dimensions occupied by all individuals; 4) mean distance to centroid (CD) - average Euclidean distance from each individual to the centroid group (mean values of  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N), which provides the trophic diversity degree of the species; 5) Mean nearest neighbor distance (MNND) – Provides information on the trophic redundancy of species within the community, where individuals with similar trophic ecology tend to show a lower MNND value compared to individuals who have greater variability in dietary terms; 6) Standard Deviation of the nearest neighbor distance (SDNND) – Provides a measure the species' uniformity within the community, where the smallest values indicate a more uniform distribution of individuals in the trophic niche space.

#### **3. RESULTS**

## 3.1. Elemental and isotopic composition of carbon and nitrogen

The isotope composition of the crabs varied according to the area analyzed. Were did not observe a general pattern for all species. In Area 1, the isotopic values within all species differed statistically ( $\delta^{13}$ C: ANOVA F = 441.1; *p*<0.0001;  $\delta^{15}$ N: F = 119.93; *p*<0.0001) (Table 1). The first species, *U. cordatus*, obtained a reduced average signature at  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N compared to *A. pisonii* and *G. cruentata*. The same pattern was observed in Area 3 ( $\delta^{13}$ C: ANOVA F = 96.60; *p*<0.0001;  $\delta^{15}$ N: F= 354.01; *p*<0.0001) (Table 1). In Area 2, *U. cordatus* and *A. pisonii* did not differ in their  $\delta^{13}$ C values (*p* = 0.100), both of which were significantly different from *G. cruentata* which was more enriched in  $\delta^{13}$ C (ANOVA F = 47.36; *p*<0.0001). Regarding  $\delta^{15}$ N data, the three crab species were statistically different (ANOVA F = 229.86; *p*<0.0001), with the highest values reported for *A. pisonii*, followed by *G. cruentata* and *U. cordatus* (Table 1).

Comparing the results between areas, we observed the  $\delta^{13}$ C values for all crab species in Area 1 were statistically different from all other regions (Kruskal-Wallis *U. cordatus*: H = 54.03; *p*<0.0001; *A. pisonii*: H = 20.58; *p* = 0.000; *G. cruentata*: ANOVA F = 8.92; *p* = 0.003). The  $\delta^{15}$ N for both crabs *U. cordatus* and *G. cruentata* presented different isotopic values in all areas (Kruskal-Wallis *U. cordatus*: H = 67.28; *p*<0.0001, *G. cruentata*: H = 50.38; *p*<0.0001). The *A. pisonii*, obtained an isotope signature in Area 1 different from the other regions (Kruskal-Wallis H = 17.98; *p* = 0.0001), but there was no significant difference in the values of  $\delta^{15}$ N (*p* = 0.17) in areas 2 and 3 (Table 1).

The data of elemental ratio  $(C:N)_a$  in Area 1 crabs show that the *U. cordatus* was the one species presenting the highest value, statistically different from the other species (Kruskal-Wallis H = 26.96; *p*<0.0001). In Area 2, the highest ratio  $(C:N)_a$  was for *A. pisonii*. The same was observed in Area 3, where all species were statistically different (Kruskal-Wallis Area 2: H=51.98; *p*<0.0001; Area 3: H=28.50; *p*<0.0001) (Table 1).

**Table 1:** Average isotopic composition values for carbon and nitrogen, the elemental ratio  $(C:N)_a$ , carapace width and weight of three crab species in the areas studied.

Areas	Species	δ <sup>13</sup> C (‰)	δ <sup>15</sup> N (‰)	(C:N) <sub>a</sub>	Carapace width (cm)		Weight (g)
					mean ± SD		
1	U. cordatus	-28.0±0.2 aA	7.1±0.9 aA	3.9±0.1 aA	6.5±3.8	(5.7 - 7.4)	107.6 ± 25.9
	A. pisonii	-24.6±0.3 bA	8.1±0.3 bA	3.5±0.2 bA	$2.0 \pm 2.6$	(1.5 - 2.6)	4.2 ± 2.5
	G. cruentata	-20.4 ± 2.1 cA	11.6±0.8 cA	3.5±0.2 bA	3.2 ± 3.8	(2.6 - 4.0)	23.2 ± 7.4
2	U. cordatus	-24.1±0.2 aB	3.7±0.3 aB	4.1±0.1 aB	$6.5 \pm 0.4$	(5.6 - 7.3)	$120.1 \pm 21.6$
	A. pisonii	-23.7±0.6 aB	7.1±0.4 bB	4.5±0.2 bB	$2.1 \pm 2.4$	(1.6 - 2.6)	$4.4 \pm 1.5$
	G. cruentata	-21.9±0.8 bB	6.3±0.7 cB	$3.8\pm0.05\mathrm{cB}$	$4.0 \pm 0.3$	(3.6 - 4.7)	26.5±6.0
3	U. cordatus	-24.2 ± 16.1 aB	6.1±0.6 aC	3.7±0.1 aC	$7.9 \pm 0.4$	(6.4 - 7.7)	$172.6 \pm 20.0$
	A. pisonii	-23.2±0.2 bB	7.4±0.6 bB	4.4±0.1 bB	$2.1 \pm 2.5$	(1.6 - 2.7)	4.3 ± 1.5
	G. cruentata	-21.9±0.8 cB	9.5±0.4 cC	3.8±0.1 cB	4.5 ± 0.5	(3.5 - 5.6)	41.4 ± 13.2

Lowercase letters indicate significant differences in the species within the same area. Uppercase letters indicate significant differences comparing the species between areas. Area 1 = Paraíba do Sul River (RJ), Area 2 = Mamanguape River (PB) and, Area 3 = Bragança (PA).

Figure 2 shows the dispersion of the  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N isotopic values within the crabs and other compartments analyzed (leaves, sediment, insects and spiders) in the three areas. In Area 1, the alignment of the  $\delta^{15}$ N values *U. cordatus* and *A. pisonii* suggest they share the same trophic level, while *G. cruentata* has the trophic position above them. The  $\delta^{13}$ C for *U. cordatus* is shown near the isotope signature for A. *germinans* senescent leaves and sediment, while *A. pisonii* shows a preference for animal resource, represented by *Hymenoptera* and *Araneae* orders.

In Area 2, the *U. cordatus* is at the same trophic level of the senescent leaves and sediment, except for leaves of *A. germinans*. These presented higher N contents and, consequently, higher  $\delta^{15}$ N values (*Appendices*). *A. pisonii* and *G. gruentata* share the same trophic level and have proximity in the values of  $\delta^{13}$ C, which is different from the behavior of these species in Area 1. In Area 3, *G. gruentata* stands a trophic position above the other crabs, like the reported for Area 1. *U. cordatus* present  $\delta^{13}$ C values from its isotope signature closest to sediment than to senescent leaves. Crabs *A. pisonii* exhibit a signature of  $\delta^{13}$ C near the order *Hymenoptera* and, *G. cruentata* near *A. pisonii*.





**Figure 2:** Relationship between carbon and nitrogen isotopic values in crab species and other compartments from the analysed mangroves. Lg leaves = green and senescent leaves of *L. racemosa*; Rh leaves = green and senescent leaves of *R. mangle*; Ag leaves = green and senescent leaves of *A. germinans*; As leaves = green and senescent leaves of *A. schaueriana*. Area 1 = Paraíba do Sul River (RJ), Area 2 = Mamanguape River (PB) and Area 3 = Bragança (PA).

#### 3.2. Isotopic niche

The measured ellipses areas (*standard ellipse area* - SEA) within the crabs' species varied in width and position of the values of  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N in the dispersion graph for each area studied. *G. cruentata* presents ellipses larger than the other species (Figure 3). In Area 1, *U. cordatus* presents an ellipse greater than *A. pisonii*. The inverse was observed in Area 2. Both species exhibited ellipses with similar sizes in Area 3 (Table 2). However, in the three areas studied, we observed no niche overlap among crab species (Figure 3, Table 2).

The quantitative metrics used to estimate the width of the crabs' isotopic niche in the different areas are presented in Table 2. The trophic preference measure (NR =  $\delta^{15}$ N range) indicates trophic diversity among the analyzed consumers. In Area 1, the higher NR value presented by *U. cordatus* reflect the difference in the isotopic values of the plant species consumed, while the *G. cruentata* values indicate greater trophic diversity in relation to *A. pisonii*. The same can be observed in Area 2, although the variation in the  $\delta^{15}$ N values in the *U. cordatus* is lower. In Area 3, the trophic preference measure suggests that *U. cordatus* and *A. pisonii* exploit resources in the same range of trophic amplitude, while *G. cruentata* explores a narrower range of  $\delta^{15}$ N. In terms of food resource variability (CR =  $\delta^{13}$ C range), areas 1 and 3 present the greatest variations in CR values compared to Area 2, indicating a greater diversity of consumed food sources. Comparing the species, *G. cruentata* presents a greater exploitation of food resources, with values up to 4 times higher than the other species in areas 1 and 3. In Area 2, *G. cruentata* and *A. pisonii* exploit a variety of similar food sources.

The size of the isotopic niche occupied by all individuals in the dispersion space of  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N (TA = convex hull area), showed *G. cruentata* obtained the highest values, suggesting more food resources are consumed and assimilated i.e., its greater trophic amplitude. However, the CD data, which provide additional information on the width of the niche and spacing of the species, showed *G. cruentata* differs statistically from the other species in areas 1 and 2. In Area 3 this difference is not significative (Table 2).



**Figure 3:** Isotopic niche from three crab species in different mangroves regions of Brazil. Solid lines represent the corrected standard ellipse area (SEAc -40% of credibility range) and dotted lines to measure the convex hull area (TA). Area 1 = Paraíba do Sul River (RJ), Area 2 = Mamanguape River (PB) and Area 3 = Bragança (PA).

Areas	Species	NR	CR	ТА	CD	MNND	SDNND	SEA <sub>c</sub> (‰ <sup>2</sup> )
1	U. cordatus	3.06	1.17	2.23	0.74 a	0.16 a	0.10 a	0.59
	A. pisonii	1.14	0.95	0.6	0.35 a	0.19 a	0.14 a	0.27
	G. cruentata	2.36	5.55	3.65	2.11 b	0.45 b	0.22 b	2.34
2	U. cordatus	1.47	0.98	0.86	0.33 a	0.12 a	0.11 a	0.23
	A. pisonii	1.26	2.24	1.08	0.66 a	0.35 b	0.17 b	0.74
	G. cruentata	2.62	2.85	3.38	0.91 b	0.27 b	0.12 a	1.17
3	U. cordatus	2.1	1.32	1.59	0.60 a	0.12 a	0.09 a	0.56
	A. pisonii	1.92	0.81	0.72	0.52 a	0.30 b	0.15 b	0.55
	G. cruentata	1.46	4.15	3.93	0.78 a	0.24 b	0.21 b	1.06

**Table 2:** Observed quantitative niche metrics for three species of crabs in mangroves from different regions of Brazil.

 $NR = \delta^{15}N$  range;  $CR = \delta^{13}C$  range; TA = total area of the convex hull; CD = mean distance to centroid; MNND = mean nearest neighbour distance; SDNND = standard deviation of the nearest neighbour distance; SEAc = Standard Ellipse Area corrected. Different letters indicate significant statistical differences (ANOVA e F Test, p<0,05).

MNND and SDNND measures inform how the individuals from the species are closely related within their respective isotopic niches. In Area 1, *G. cruentata* obtained the highest values of MNND and SDNND, indicating lower trophic redundancy (less similar) and uniformity in the distribution of individuals in the niche space. This reflects the greater amplitude and trophic diversity presented by this species in relation to the others. In Area 2, *G. cruentata* and *A. pisonii* did not differ in relation to trophic redundancy, both are less similar than *U. cordatus*. SDNND values indicated *A. pisonii* was the species with less uniform distribution. In Area 3, the values suggest that *G. cruentata* and *A. pisonii* have a lower trophic redundancy and uniformity compared to the *U. cordatus* (Table 2).

## **3.3. Feeding assimilation**

The results of the isotopic mixing model indicate the relative contribution (%) from food sources assimilated from the diet of studied crabs (Figures 4, 5 and 6). In Area 1, more than 80% of the food assimilated by *U. cordatus* species was composed of *A. germinans* leaves (Figure 4). The predominant food source for *A. pisonii* (56%) were insects from the *Hymenoptera* order, followed by spiders (34%). The species *G. cruentata*, did not have an observed preference for a single food source, reinforcing its generalist behavior. The food sources mostly represented were *A. pisonii* crabs (25%) and spiders (22%) (Figure 4).

In Area 2, the U. cordatus crabs showed a clear feeding preference for *R. mangle* leaves (90%). While the species *A. pisonii* showed a similar food assimilation between the order *Hymenoptera* and leaves of *R. mangle*, followed by leaves of *L. racemosa*. The *G. cruentata* crabs exhibited a different feeding behavior from Area 1, suggesting a preference for the plant

resource, with 56% contribution of *R. mangle* leaves, followed by the leaves of *L. racemosa* (Figure 5).

The food assimilation of the *U. cordatus* in Area 3 was predominantly of *R. mangle* leaves (62%), followed by leaves of *L. racemosa* (21%) and *A. germinans* (17%). Data related to species *A. pisonii* showed feeding preference for the order *Hymenoptera* (67%), with no differentiation in the contribution of the other food sources analyzed. The order *Hymenoptera* also showed an important food item in the diet of these crabs in Area 1. The species *G. cruentata*, among the food sources analyzed, *A. pisonii* crabs were preferably consumed and assimilated, contributing with more than 80% of their diet, followed by spiders (10 %) (Figure 6).



**Figure 4:** Contribution from different food sources in the diet of crab species from the Paraíba do Sul River (RJ) – Area 1. SIAR (Stable isotope Analysis in R) results showing 95, 75 and 25% of the credibility interval. Average contribution values (%) of each food source are shown above the credibility intervals. Leaves\_Lg = green and senescent leaves of *L. racemosa*; Leaves\_Rh = green and senescent leaves of R. mangle; Leaves\_Ag = green and senescent leaves of *A. germinans*. For *U. cordatus* only data from senescent leaves were used.



Sources

**Figure 5:** Contribution from different food sources in the diet of crab species from the Mamanguape River mangrove (PB) – Area 2. SIAR (Stable isotope Analysis In R) results showing 95, 75 and 25% of the credibility interval. Average contribution values (%) of each food source are shown above the credibility intervals. Leaves\_Lg = green and senescent leaves of *L. racemosa*; Leaves\_Rh = green and senescent leaves of R. mangle; Leaves\_Av = green and senescent leaves of the genus *Aviceniia*. For *U. cordatus* were analyzed only senescent leaves and leaves of the genus *Aviceniia* separated in: Leaves\_Ag = Leaves of *A. germinans*; Leaves\_As = *A. schaueriana* leaves.



**Figure 6:** Contribution from different food sources in the diet of crab species from the Caeté-Taperaçu Resex mangrove in Bragança (PA) – Area 3. SIAR (Stable isotope Analysis In R) results showing 95, 75 and 25% of the credibility interval. Average contribution values (%) of each food source are shown above the credibility intervals. Leaves\_Lg = green and senescent leaves of *L. racemosa*; Leaves\_Rh = green and senescent leaves of *R. mangle*; Leaves\_Ag = green and senescent leaves of *A. germinans*. For *U. cordatus* only data from senescent leaves were used.

#### 4. DISCUSSION

The variations found in the values of the elemental and isotopic composition between species and, the variations found between areas, were attributed to possible food source availability, the species' metabolic needs and, their life history traits. These variations are closely related to the dynamics of each ecosystem and the crabs' behavioral adaptations (Stephens and Krebs, 1986; Linton and Greenaway, 2007; Kristensen et al., 2017; Pereira et al., 2019). This information along with the isotopic niche models contribute with important knowledge to the ecology of the species and the interspecific relationships within the crab communities (Jackson et al., 2011; Yakel et al., 2016).

The degree of niche overlap, trophic similarity and uniformity can be used as indicators of the species' competitive potential (Newsome et al., 2007; Yakel et al., 2016; Caredu et al., 2017; Raw et al., 2017). The data from the models showed that the crab populations do not share the same isotopic niches and they have different trophic habits. Overall, *U. cordatus* had the highest trophic redundancy and uniformity in the dispersion of the individuals in the trophic niche space. *G. cruentata* in turn, presented lower similarity and uniformity, reflecting the greater isotopic niche width, the trophic diversity of the species, and the advantages from a broader range of food sources (Figure 3, Table 2).

Despite all information on the ecologic and economic importance, there are still few published studies on isotope analyses and eating habits of these crabs in the present study. Giarrizzo et al. (2011) presented isotopic values of the three crab species in the Curuçá mangrove, in the state of Pará. Data from  $\delta^{13}$ C in *U. cordatus* (-24.6 ± 0.14 ‰) and *A. pisonii* (-22.1 ± 0.2 ‰) were closer to those reported in Areas 2 and 3, while  $\delta^{15}$ N values (5.0 ± 1.0 ‰ and 6.7 ± 0.2 ‰) were lower compared to the present study. The species *G. cruentata* obtained a less negative signature of  $\delta^{13}$ C (-18.9 ± 0.8 ‰) and higher for  $\delta^{15}$ N (9.2 ± 0.7 ‰) near Area 3, which is also located in Pará state. Pereira et al. (2019) studied the *U. cordatus* ( $\delta^{13}$ C: -24.4 ‰ and  $\delta^{15}$ N: 6.1 ‰) was similar to the values observed in Area 3. *G. cruentata* showed an average signature of  $\delta^{13}$ C -20.6 ‰ close to the Area 1 values in this study and,  $\delta^{15}$ N values of 8.8 ‰, which were lower than the values observed for Areas 1 and 3 but greater than Area 2 (Table 1). The species *A. pisonii* studied by Lacerda et al. (1991) in the Sepetiba Bay, state of Rio de Janeiro, presented an average value of  $\delta^{13}$ C of -21.5 ‰, more enriched in <sup>12</sup>C, than those observed in this present study.

The isotope ratios of C and N in crabs are directly related to the species' feeding habits and consequently, to the different food sources consumed and assimilated, along with their trophic positioning in the food web from each ecosystem (Linton and Greenaway, 2007; Giarrizzo et al., 2011; Kristensen et al., 2017; Pereira et al., 2019). This is better seen in the dispersion of the isotopic values and the models of food assimilation. Data referring to the *U. cordatus* show a preference for the plant species consumed. In Area 1 there is a selection by leaves of *A. germinans* (Figure 4), while in the other regions *R. mangle* was the plant species most consumed and assimilated (Figures 5 and 6). These preferences may be partly explained by the predominance of *A. germinans* and *R. mangle* in the respective estuaries. Literarure reference for the dominant species in Area 1 were *A. germinans* (53% coverage), followed by *L. racemosa* (28%) and *R. mangle* (19%) (Bernini and Rezende, 2011). In the region where the collections were performed in Area 2, the predominant plant species are *R. mangle* and *A. schaueriana* (Araújo, 2002). While in the estuary the dominant species in Area 3 were *R. mangle* followed by *A. germinans* (Menezes et al., 2003; Mehlig, 2006).

The feeding preference of *U. cordatus* was evaluated by other studies, through analyses of stomach contents (e.g., Nordhaus, 2004; Nordhaus and Wolf, 2007), field and laboratory experiments (Christofoletti, 2005; Christofoletti et al., 2013). There is no consensus regarding the preference for a plant species and the maturation state of the leaves ("leaf age hypothesis" - Giddens et al., 1986; Nascimento, 1993), suggesting an adaptation of the feeding behavior of crabs according to their nutritional requirements and specific conditions of each ecosystem. Moreover, there are discussions on the role of sediments in the feeding of crabs, whether they are ingested accidentally along with the vegetal material or whether they should be considered a source of nutrition in the diet (Skov and Hartnoll, 2002; Christofoletti, 2005; Nordhaus et al., 2006; Nordhaus et al., 2009; Lima-Gomes et al., 2011). Since vegetal material is the predominant food source reported in the analyses of stomach contents of *U. cordatus*, with the leaves covering more than 60% of the stomachs (Nordhaus and Wolf, 2007), only this material was considered in food assimilation analyses herein.

Field experiments suggest *U. cordatus* while foraging, does not select the leaves per their species, and transport them all indistinctly to the burrow. The selection process starts after the storage step, as observed through laboratory experiments showing a higher consumption of *A. schaueriana* in a period between 48 and 72 hours (Christofoletti, 2005; Christofoletti et al., 2013). The study of Nordhaus and Wolf (2007), carried in the same estuary as Area 3, reported a preference for leaves of *R. mangle*, which corroborates our food assimilation results. However, the leaves of the genus *Avicennia* are considered more nutritious because they possess higher N content, higher caloric content and low ratio (C:N)<sub>a</sub> (Christofoletti, 2005; Nordhaus and Wolf, 2007). The analysis of the feces of *U. cordatus* revealed a high incidence of leaf fragments of *A. germinans*, suggesting the low metabolization of the ingested foliar biomass.

What is probably related to *A. germinans* higher fiber content which may difficult the crabs' chewing and digestion of these leaves (Godoy et al., 1997; Christofoletti, 2005; Nordhaus and Wolf, 2007). In addition, these leaves presented a lower polyphenols content compared to *R. mangle*. Polyphenols are secondary metabolites produced by plants as chemical defense against herbivory, and it is mainly represented by condensed tannins and other phenols with astringent properties (Godoy et al., 1997; Kandil et al., 2004). The adaptive mechanisms to deal with tannins are not yet well understood for Decapoda crustaceans (Linton and Greenaway, 2007). However, studies suggest that the ability to break down tannins by *U. cordatus* is due to either the action of intestinal bacteria or specific endogenous enzymes, both of which can be an important competitive advantage over the other herbivorous invertebrates (Nordhaus, 2004; Schmitt, 2006).

Another issue involving the feeding of herbivorous crabs, is the hypothesis of leaf age (Giddens et al., 1986; Nascimento, 1993), which predicts that crabs store the leaves in their burrows long enough for a reduction of the content of tannins and an increase in microbial colonization (fungi and bacteria), contributing with an enrichment of N and a reduction of the ratio (C:N)<sub>a</sub>, making the leaves more palatable and nutritious for consumption. However, the results related to this hypothesis are controversial (Skov and Hartnoll 2002; Linton and Greenaway, 2007; Kristensen et al., 2017; Pereira et al., 2019). Nordhaus and Wolf (2007) did not observe differences in the contents of C and N in leaves stored in the burrows and leaves collected directly from the sediment surface. In addition, in many burrows the leaves were stored in few quantities and presented feeding marks, suggesting that crabs do not store the leaves long enough for a considerable increase in the N content and a reduction of the ratio (C:N)<sub>a</sub> (Nordhaus et al., 2006).

The results of food assimilation in *A. pisonii* crabs were consistent with the records from an omnivorous and opportunistic diet (Erickson et al., 2008; López and Conde, 2013; Riley et al., 2014). In Areas 1 and 3, crabs showed a clear preference for animal resource, covering between 80 and 90% of their diet. In Area 2, both animal and plant resources were important items in the diet of *A. pisonii*. Among the food sources analyzed, the insects of the order *Hymenoptera* were assimilated in greater proportion, followed by the leaves of *R. mangle*. The consumption of insects was approached by other studies in a general way. López and Conde (2013) reported the direct observation of the capture of a bee (order *Hymenoptera*) by an adult *A. pisonii* crab during sampling.

The crabs of this species are one of the few in the world able to access the top of the canopy and feed on the leaves directly from the trees (Diaz and Conde, 1988; Erickson et al., 2008; López and Conde, 2013). Among the plant species, the analysis of leaf damage and

stomach contents of *A. pisonii* showed feeding preference for leaves of *R. mangle*, which in turn presented about 30-40 times more damage in its leaves compared to *L. racemosa* and *A. germinans* (Erickson et al. 2003; 2004; Feller et al., 2013) thus, corroborating our observations. Experimental evidence, however, showed *A. pisonii* commonly supplements its diet with animal tissue, which is consumed up to 13 times more (Erickson et al., 2008) and assimilated in greater proportion (~ 58% - Riley et al., 2014) than other resources available, nutritionally enriching their diet in N and proteins (Erickson et al., 2008; López and Conde, 2013). Riley et al. (2014) suggests that the inclusion of the animal resource provides a direct improvement in the crabs' physiological and reproductive conditions.

Was did not observe a pattern of food assimilation between areas for G. cruentata crabs, which reinforces the opportunistic and generalist behavior attributed to this species (Kock, 1999; Lima-Gomes et al., 2011; Andrade et al., 2012). In Areas 1 and 3 the animal resource was predominant over the plant material, covering 60% of the diet in Area 1 and 95% in Area 3 (Figures 4 and 6). In Area 2, an inverse feeding behavior was observed, where leaves represented 80% of the crab diet (Figure 5). The plasticity in the diet of a species considered omnivorous and opportunistic among different regions can be expected, since, according to the "optimum foraging theory" (Emlen 1966; Pyke, 1984), the species will lead the selection of food sources in order to balance the costs of foraging (e.g., prey meeting rate, handling time involved, energy required) and benefits (e.g., energy acquired and nutritional quality) in order to optimize fitness. Kristensen et al. (2017) suggested that crabs with a primary diet in leaves do not select more prey (animal tissue) than necessary, to optimize the balance between the energy spent in the time of search, handling of prey (costs) and the ingestion of N (benefit) to achieve the nutritional requirement favorable to its growth and reproduction. This may be an explanation for the different dietary behavior of G. cruentata in Area 2, where the high consumption of leaves in this region would provide a good diet, sufficient in nutritional terms, without excessive energy expenditure.

The results of food assimilation in Area 2 show a preference for leaves of *R. mangle* (56%), which is the dominant plant species in the estuary (Araújo, 2002) and was also the most consumed by the other crabs. As for the animal resource, the food items that most contributed in the diet of *G. cruentata* were crabs *A. pisonii* (25% in Area 1 and 80% in Area 3) and spiders (22% in Area 1 and 10% in Area 3). There are no records in the literature about the importance of spiders and insects as a source of nutrition, but crabs *A. pisonii* are reported as potential prey of *G. cruentata* (Santos et al., 2001; Botelho et al., 2004), corroborating the observed results. The alignment of the individuals in the dispersion of  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N in Areas 1 and 3 (Figure 2) suggests *G. cruentata* is in a trophic position above the main assimilated resources, the *A*.

*pisonii* and the spiders. The trophic level difference was reported by Giarrizzo et al. (2011), where *G. cruentata* occupies the superior trophic level (TL = 3) in relation to *A. pisonii* and *U. cordatus* (TL = 2).

The stomach contents analysis of *G. cruentata* was performed by Lima-Gomes et al. (2011). They identified in the crabs' stomachs eight categories of food items, indicating the large trophic role played by the species. For adult crabs, sediment, plant material and insects were the most frequent items. The plant material was present in more than 60% of the stomachs along with a high incidence of sediment. The study discusses the importance this item in the diet of crabs. But they stress that the constant presence of sediment in the stomachs may also be related to the difficulty of digestion, making therefore uncertain its real importance for the nutrition of *G. cruentata*.

The understanding of the trophic ecology of these crab species is essential for maintaining the equilibrium of estuarine ecosystems. These species have been considered trues *ecosystem engineers* (Kristensen, 2008; Lima-Gomes et a., 2011; Araújo et al., 2012). Due to the crabs' macerating and consumption of the plant material, the decomposition process is accelerated and there is an enrichment of nutrients made available to the environment through their feces, modifying availability of these resources to microbial and detritivore communities of the ecosystem (Skov and Hartnoll, 2002; Gutiérrez and Jones, 2006). This behavior is of fundamental importance for balance in the base of the food web and nutrient cycling in mangroves. A reduction in the foraging process of these crabs, due to excessive commercial exploitation, would alter all the nutrient dynamics and decomposition of organic matter causing serious damage to the ecosystem (Christofoletti, 2005; Lima-Gomes et a., 2011; Araújo et al., 2012; Hirose et al., 2015; Pereira et al., 2019). Finally, a better knowledge of the crab community puts us in a better position to detect and manage changes in the trophic ecology of the ecosystem, such as anthropogenic disturbances from excessive economic exploitation of mangrove resources.

### **5. CONCLUSION**

The results of elemental (C:N)<sub>a</sub>, and isotopic ( $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N) ratios in crabs varied among species and areas studied, with no general pattern being observed. The isotopic niche models showed that the crab populations did not share the same niche space and have distinct trophic habits. The isotopic models of food assimilation for the *U. cordatus* showed preference for the plant species consumed in each area. The *A. pisonii* and *G. cruentata* crabs showed preference for animal sources in Areas 1 and 3 and, for plant material in Area 2. The plasticity in the diet of omnivorous and opportunistic species, between different regions, can therefore be expected. A better understanding of the crabs' trophic ecology is important for monitoring and conservation of the entire ecosystem, since these species have a significant role in the dynamics of nutrients, organic matter and energy flow.

## REFERENCES

Andrade, E. B., Júnior, T. L., Júnior, J. M. A. L., Leite, J. R. S. A. 2012. Predation by native fish and feeding by crab species on *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro, 1926 (Anura: Leptodactylidae) in northeastern, Brazil. *Herpetology Notes*, *5*, 173-175.

Araújo, J. M. C., Otero, X. L., Marques, A. G. B., Nóbrega, G. N., Silva, J. R. F., Ferreira, T. O. 2012. Selective geochemistry of iron in mangrove soils in a semiarid tropical climate: effects of the burrowing activity of the crabs Ucides cordatus and Uca maracoani. *Geo-Marine Letters*, *32*(4), 289-300.

Araújo, D. C. B. 2002. O Processo de herbivoria e os organismos causadores de danos foliares, em plantas de mangue na Área de Proteção Ambiental da Barra do Rio Mamanguape, Estado da Paraíba, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

Bernini, E., Rezende, C. E. 2004. Estrutura da vegetação em florestas de mangue do estuário do rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, *18*(3), 491-502.

Bernini, E., Ferreira, R., Silva, F.L.C., Mazurec, A.P., Nascimento, M.T., Rezende, C.E. 2010. Alterações na cobertura vegetal do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul no período de 1976 a 2001. *Revista de Gestão Costeira Integrada*, N. 2, Manguezais do Brasil.

Bernini, E., Rezende, C.E. 2011. Vegetation structure in a mangrove forest in Southeastern Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 6(3), 193–209.

Buranelli, R. C. 2016. Variabilidade populacional em manguezais: análises moleculares e morfológicas em caranguejos Brachyura (Crustacea: Decapoda). Ph.D. Thesis of the Universidade de São Paulo. 188p.

Careddu, G., Calizza, E., Costantini, M. L., Rossi, L. 2017. Isotopic determination of the trophic ecology of a ubiquitous key species–The crab *Liocarcinus depurator* (Brachyura: Portunidae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 191*, 106-114.

Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F. 2009. Variation in discrimination factors ( $\delta^{15}$ N.and  $\delta^{13}$ C.): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology*, *46*(2), 443-453.

Claudino, M. C., Abreu, P. C., Garcia, A. M. 2013. Stable isotopes reveal temporal and between-habitat changes in trophic pathways in a southwestern Atlantic estuary. *Marine Ecology Progress Series*, 489, 29-42.

Claudino, M. C., Pessanha, A. L. M., Araújo, F. G., Garcia, A. M. 2015. Trophic connectivity and basal food sources sustaining tropical aquatic consumers along a mangrove to ocean gradient. *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 167*, 45-55.

Cobo, V. J., Fransozo, A. 2003. External factors determining breeding season in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille(Crustacea, Brachyura, Grapsidae) on the São Paulo State northern coast, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(2), 213-217.

Correia, R.R.S., Guimarães, J.R.D. 2017. Mercury methylation and sulfate reduction rates in mangrove sediments, Rio de Janeiro, Brazil: The role of different microorganism consortia. *Chemosphere*, *167*, 438-443.

Costa, T.M.M., Pitombo, F.B., Soares-Gomes, A. 2014. The population biology of the exploited crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in a southeastern Atlantic Coast mangrove area, Brazil. *Invertebr. Reprod. Dev.* 58, 259–268.

Christofoletti, R.A. 2005. Ecologia trófica do Caranguejo-Uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Ocypodidae) e o fluxo de nutrientes em bosques de mangue, na região de Iguape (SP). Ph.D. Thesis of the Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brazil. 127p.

Christofoletti, R. A., Hattori, G. Y., Pinheiro, M. A. (2013). Food selection by a mangrove crab: temporal changes in fasted animals. *Hydrobiologia*, 702(1), 63-72.

Di Beneditto, A. P. M., Souza, C. M. M., Kehrig, H. A., Rezende, C. E. 2011. Use of multiple tools to assess the feeding preference of coastal dolphins. *Marine Biology*, *158* (10), 2209-2217.

Di Beneditto, A. P. M., Tavares, M. T. M., Monteiro, L. R. 2018. Isotopic niche of the catfishes Bagre bagre and Genidens barbus in a coastal area of south-eastern Brazil. *Biota Neotropica*, 18(3).

Díaz, H., Conde, J. E. 1988. On the Food Sources for the Mangrove Tree Crab *Aratus pisonii* (Brachyura : Grapsidae). *Biotropica*, *20*(4), 348–350.

Emlen, J. M. 1966. The role of time and energy in food preference. *The American Naturalist*, 100(916), 611-617.
Erickson, A.A., Bell, S. S., Dawes, C. J. 2004. Does mangrove leaf chemistry help explain crab herbivory patterns? *Biotropica*, *36*(3), 333-343.

Erickson, A.A., Feller, I.C., Paul, V.J., Kwiatkowski, L.M., Lee, W. 2008. Selection of an omnivorous diet by the mangrove tree crab Aratus pisonii in laboratory experiments. *Journal of Sea Research*, 59(1-2), 59–69.

Erickson, A.A., Saltis, M., Bell, S.S., Dawes, C.J. 2003. Herbivore feeding preferences as measured by leaf damage and stomatal ingestion: a mangrove crab example. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289(1), 123–138.

Feller, I. C., Chamberlain, A. H., Piou, C., Chapman, S., Lovelock, C. E. 2013. Latitudinal patterns of herbivory in mangrove forests: consequences of nutrient overenrichment. *Ecosystems*, *16*(7), 1203-1215.

Fry, B. 2006. Stable isotope ecology. vol. 521. New York: Springer. 320p.

Giarrizzo, T., Schwamborn, R., Saint-Paul, U. 2011. Utilization of carbon sources in a northern Brazilian mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *95*(4), 447-457.

Giddins, R. L., Lucas, J. S., Neilson, M. J., Richards, G. N. 1986. Feeding ecology of the mangrove crab *Neosarmatium smithi* (Crustacea: Decapoda: Sesarmidae). *Marine ecology progress series*, 147-155.

Godoy, S. A., Mayworm, M. A., L, V. K., Salatino, A., Schaeffer-Novelli, Y. 1997. Teores de ligninas, nitrogênio e taninos em folhas de espécies típicas do mangue. *Brazilian Journal of Botany*, 20(1), 35-40.

Gutiérrez, J. L., Jones, C. G. 2006. Physical ecosystem engineers as agents of biogeochemical heterogeneity. *BioScience*, *56*(3), 227-236.

Hirose, G. L., Souza, L. S., Silva, S. L., Alves, D. F., & Negreiros-Fransozo, M. L. 2015. Population structure of the red mangrove crab, *Goniopsis cruentata* (Decapoda: *Grapsidae*) under different fishery impacts: Implications for resource management. *Revista de Biología Tropical*, *63*(2), 443-457.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2011. Plano de ação nacional para a conservação das espécies aquáticas ameaçadas de extinção da Bacia do Rio Paraíba do Sul. Séries Espécies Ameaçadas: 16. Brasília, DF. 140p.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2012. Plano de manejo da Reserva Extrativista Marinha de Caeté – Taperaçu (PA). Vol.1. Diagnóstico da Unidade de Conservação. Brasília, DF. 109p.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2014. Plano de manejo da Área de Proteção Ambiental da Barra do rio Mamanguape, Área de relevante interesse ecológico de manguezais da Foz do rio Mamanguape. Brasília, DF. 335p.

Jackson, A. L., Inger, R., Parnell, A. C., Bearhop, S. 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER–Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80(3), 595-602.

Kandil, F. E., Grace, M. H., Seigler, D. S., Cheeseman, J. M. 2004. Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence. *Trees*, *18*(5), 518-528.

Koch, V. 1999. Epibenthic production and energy flow in the Caeté mangrove estuary, North Brazil. Ph.D. Thesis, ZMT Contribution 6, Bremen, 97p.

Koch, V., Wolff, M. 2002. Energy budget and ecological role of mangrove epibenthos in the Caete estuary, North Brazil. *Marine Ecology Progress Series*, 228, 119–130.

Kristensen, E. 2008. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. *Journal of sea Research*, 59(1-2), 30-43.

Kristensen, E., Lee, S. Y., Mangion, P., Quintana, C. O., Valdemarsen, T. 2017. Trophic discrimination of stable isotopes and potential food source partitioning by leaf-eating crabs in mangrove environments. *Limnology and Oceanography*, *62*(5), 2097-2112.

Lacerda, L.O., Silva, C.A.R., Rezende, C.E., Martinelli, L.A. 1991. Food sources for the mangrove tree crab *Aratus pisonii:* a carbon isotopic study. *Rev. Bras. Biol.*, 51(3), 685-687. Layman, C. A., Arrington, D. A., Montaña, C. G., Post, D. M. 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology*, 88(1), 42-48.

Layman, C. A., Araujo, M. S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C. M., Harrison, E., Jud, Z. R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D. M., Bearhop, S. 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 87(3), 545-562.

Lima-Gomes, R. C., Cobo, V. J., Fransozo, A. 2011. Feeding behaviour and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. *Crustaceana*, 735-747.

Linton, S. M., Greenaway, P. 2007. A review of feeding and nutrition of herbivorous land crabs: adaptations to low quality plant diets. *Journal of Comparative Physiology*, 177, 269–86.

López, B., Conde, J. E. 2013. Dietary variation in the crab *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837(Decapoda, Sesarmidae) in a mangrove gradient in northwestern Venezuela. *Crustaceana*, 86(9), 1051-1069.

Lira, J. J. P. R., Calado, T. C. S., Araújo, M. S. L. C. 2013. Breeding period in the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Decapoda: Grapsidae) in Northeast Brazil. *Revista de biologia tropical*, *61*(1), 29-38.

Martinelli, L. A., Ometto, J. P. H. B., Ferraz, E. S., Victoria, R. L., Camargo, P. B., Moreira, M. Z. 2009. Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. *São Paulo: Oficina de Textos*, 144.

Mehlig, U. 2006. Phenology of the red mangrove, *Rhizophora mangle* L., in the Caeté Estuary, Pará, equatorial Brazil. *Aquatic Botany*, 84(2), 158-164.

Menezes, M., Berger, U., Worbes, M. 2003. Annual growth rings and long-term growth patterns of mangrove trees from the Bragança peninsula, North Brazil. *Wetlands Ecology and Management*, *11*(4), 233-242.

Nascimento, S.A. 1993. Biologia do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*). Administração Estadual do Meio Ambiente (ADEMA), Aracajú, SE, 45 p.

Newsome, S. D., Martinez Del Rio, C., Bearhop, S., Phillips, D. L. 2007. A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(8), 429-436.

Nordhaus, I. 2004. Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *U. cordatus* (Decapoda: Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil. Ph.D. thesis, ZMT, Contribution 18, Bremen, Germany. 217p.

Nordhaus, I., Diele, K., Wolff, M. 2009. Activity patterns, feeding and burrowing behaviour of the crab *Ucides cordatus* (Ucididae) in a high intertidal mangrove forest in North Brazil. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *374*(2), 104-112.

Nordhaus, I., Wolff, M., Diele, K. 2006. Litter processing and population food intake of the mangrove crab *Ucides cordatus* in a high intertidal forest in northern Brazil. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 67, 239–250.

Nordhaus, I., Wolff, M. 2007. Feeding ecology of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Ocypodidae): food choice, food quality and assimilation efficiency. *Marine Biology*, 151(5), 1665–1681.

Parnell, A. C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L. 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLOS One*, *5*(3), 9672.

Parnell, A. C., Phillips, D. L., Bearhop, S., Semmens, B. X., Ward, E. J., Moore, J. W., Inger, R. 2013. Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*, *24*(6), 387-399.

Pereira, T. M., Nóbrega, G. N., Ferreira, T. O., Ogawa, C. Y., de Camargo, P. B., Silva, J. R. F., Rezende, C. F. 2019. Does food partitioning vary in leaf-eating crabs in response to source quality? *Marine environmental research*, *144*, 72-83.

Peterson, B. J., & Fry, B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual review of ecology and systematics*, *18*(1), 293-320.

Pinheiro, M.A.A., Fiscarelli, A.G., Hattori, G.Y., 2005. Growth of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura, *Ocypodidae*). J. Crustacean Biol. 25, 293–301.

Phillips, D. L., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L., Moore, J. W., Parnell, A. C., Semmens, P.B., Ward, E. J. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*, *92*(10), 823-835.

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

Pyke, G. H. 1984. Optimal foraging theory: a critical review. *Annual review of ecology and systematics*, 15(1), 523-575.

Raw, J. L., Perissinotto, R., Bird, M. S., Miranda, N. A., Peer, N. 2017. Variable niche size of the giant mangrove whelk *Terebralia palustris* (Linnaeus, 1767) in a subtropical estuary. *Hydrobiologia*, 803(1), 265-282.

Reis, C. R., Taddei, F. G., Cobo, V. J. 2015. Growth and reproduction of the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803(Crustacea: Decapoda: Grapsidae) in southeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 699-711.

Riley, M. E., Vogel, M., Griffen, B. D. 2014. Fitness-associated consequences of an omnivorous diet for the mangrove tree crab *Aratus pisonii*. *Aquatic Biology*, 20(1), 35-43.

Santos, M. C. F., Botelho, E. R. O., Ivo, C. T. C. 2001. Biologia populacional e manejo da pesca de aratu, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no litoral sul de Pernambuco-Brasil. *Boletim Técnico Científico do CEPENE*, *9*(1), 87-123.

Schories, D., Barletta-Bergan, A., Barletta, M., Krumme, U., Mehlig, U., Rademaker, V. 2003. The keystone role of leaf-removing crabs in mangrove forests of North Brazil. *Wetlands Ecol Manage*, 11, 243–255.

Silvestre, L. C., Farias, D. L. S., Lourenço, J. D. S., Barros, S. C. A., Braga, N. M. P. 2011. Diagnóstico dos impactos ambientais advindo de atividades antrópicas na APA da Barra do Rio Mamanguape. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer-Goiânia*, 7(12), 1-11.

Schmitt, B. 2006 Characterization of organic nitrogen compounds in sediment and leaves of a mangrove ecosystem in North Brazil. Ph. D. thesis, Bremen, Germany.

Skov, M. W., Hartnoll, R. G. 2002. Paradoxical selective feeding on a low-nutrient diet: Why do mangrove crabs eat leaves? *Oecologia*, 131, 1-7.

Stephens, David W., John R. Krebs., 1986. Foraging theory. Princeton University Press. Warner, G.F. 1967. The life history of mangrove tree crab, *Aratus pisonii*. Journal of Zoology. 153: 321–335.

Yeakel, J. D., Bhat, U., Elliott Smith, E. A., Newsome, S. D. 2016. Exploring the isotopic niche: Isotopic variance, physiological incorporation, and the temporal dynamics of foraging. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *4*, 1.

Yeager, L. A., Stoner, E. W., Peters, J. R., Layman, C. A. 2016. A terrestrial-aquatic food web subsidy is potentially mediated by multiple predator effects on an arboreal crab. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 475, 73-7.

# Appendices

Areas	Samples	Species /	δ <sup>13</sup> C (‰)	δ <sup>15</sup> N (‰)	(C:N) <sub>a</sub>
		Orders			
	Green	L. racemosa	-31.5±0.3 a	7,1±0,2 a	35,6±1,6 a
1	Leaves	R. mangle	-32.5±0.4 a	5,3±0,1 a	35,0±1,2 a
		A. germinans	-29.3±0.2 a	6,4±0,1 a	26,6±1,5 a
	Senescent	L. racemosa	-31.2±0.4 a	6,6±0,2 b	75,6±5,9 b
1	Leaves	R. mangle	-31.9±0.2 b	4,6±0,2 b	77,9±4,4 b
		A. germinans	-28.5±0.3 b	6,2±0,2 b	33,7±2,2 b
		L. racemosa	-28.8±0.2 a	3,7±0,3 a	42,0±1,8 a
2	Green	R. mangle	-26.9±0.3 a	4,3±0,2 a	48,3±3,0 a
	Leaves	A. germinans	-27.1±0.3 a	8,6±0,2 a	17,6±0,8 a
		A. schaueriana	-27.1±0.1 a	5,5±0,2 a	32,4±1,0 a
		L. racemosa	-28.2±0.2 b	2,3±0,3 b	101,7 ± 4,2 b
2	Senescent	R. mangle	-27.1±0.3 a	2,5±0,3 b	89,8±3,5 b
	Leaves	A. germinans	-27.0±0.2 a	8,0±0,2 b	30,9±1,5 b
		A. schaueriana	-26.6±0.1 b	4,9±0,4 b	77,0±2,0 b
	Green	L. racemosa	-31.9±0.3 a	5,1±0,2 a	36,1±1,7 a
3	Leaves	R. mangle	-31.3±0.5 a	4,7±0,3 a	36,2±1,7 a
		A. germinans	-30.9±0.2 a	4,8±0,3 a	19,3±0,8 a
	Senescent	L. racemosa	-31.0±0.2 a	4,3±0,3 b	70,3±2,5 b
3	Leaves	R. mangle	-30.7±0.4 b	4,1±0,3 b	77,1±2,8 b
		A. germinans	-31.2±0.3 b	5,7±0,2 b	44,2±2,4 b
1		х	-26.9 ± 0.3	5.2 ± 0.4	17.1 ± 1.1
2	Sediment	х	$-26.1 \pm 0.9$	$4.3 \pm 0.6$	15.9 ± 2.7
3		x	-25.8±0.2	4.2 ± 0.4	$13.9 \pm 1.0$
		Hymenoptera	-24.7 ± 0.4	5.6±0.2	5.5 ± 0.3
	Arthropods	Araneae	$-25.9 \pm 0.4$	$8.2 \pm 0.8$	$4.8 \pm 0.2$
		Lepidoptera	-30.9 ± 0.3	8.2±0.6	$1.8 \pm 4.2$

**Table A.1:** Mean values of elemental and isotopic composition of C and N in leaves, sediments and arthropods from mangroves in different regions of Brazil.

Different letters show the significant differences between green and scenescent leaves in each area: Area 1 = Paraíba do Sul River (RJ), Area 2 = mouth of Mamanguape River (PB) and, Area 3 = Bragança (PA).

Capítulo 3

Mercúrio total, composição elementar e isotópica ( $\delta^{13}$ C e  $\delta^{15}$ N) de espécies de caranguejos e compartimentos bióticos e abióticos em manguezais de três regiões do Brasil: inferências sobre biomagnificação.

### **RESUMO**

O presente estudo buscou avaliar os níveis de mercúrio total (Hg) em associação com composição elementar (C:N)<sub>a</sub> e isotópica ( $\delta^{13}$ C e  $\delta^{15}$ N) nos caranguejos *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837) e *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) , suas potenciais fontes alimentares e sedimento de três manguezais distribuídos em diferentes as regiões do Brasil. Os resultados variaram entre as espécies e regiões estudadas. Na área 1 (região Sudeste) foram observadas as maiores concentrações de Hg em todas as matrizes analisadas. No geral, os caranguejos *G. cruentata* apresentaram os maiores valores de Hg, seguido pelo *A. pisonii e U. cordatus*. Os resultados têm estreita relação com os hábitos alimentares e o papel funcional dos caranguejos na cadeia alimentar. A associação entre os valores de  $\delta^{15}$ N e Hg sugere a ocorrência de biomagnificação na cadeia alimentar da área 1 e em menor proporção na área 3 (região Norte). A avaliação dos níveis de Hg nos caranguejos não indica riscos direto de consumo pela população humana. Contudo, o monitoramento constante das regiões costeiras se torna necessário para evitar futuros danos a qualidade do ecossistema e à saúde humana.

Palavras-chaves: Mercúrio; Isótopos Estáveis; Biomagnificação; Caranguejos; Manguezal.

## 1. INTRODUÇÃO

O ecossistema de manguezal se distribuí em praticamente toda extensão costeira do Brasil e corresponde a segunda maior área de manguezal do mundo (13.000 km<sup>2</sup>) (Spalding et al., 2010). São ecossistemas altamente produtivos, com relevante papel ecológico e econômico (Kathiresan e Bingham, 2001; Alongi, 2009). Desempenham um papel importante no ciclo biogeoquímico do Hg, atuando como sumidouro do elemento de origem continental ou como fontes potenciais de Hg para o oceano (Fitzgerald et al., 2007; Chakraborty et al., 2015). A toxicidade e biodisponibilidade do Hg no ecossistema variam em função da presença do monometilmercúrio (CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>, abreviado como MMHg), forma orgânica e mais tóxica do elemento, que pode representar entre 80 e 90% do Hg total do organismo (Liu et al., 2011). Uma vez ingerido pelos consumidores, o MMHg é rapidamente absorvido pelas membranas do trato digestivo dos animais e, assim, tem sua concentração aumentada ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar, processo conhecido como biomagnificação (Chen et al., 2008; Liu et al., 2011). A população humana fica exposta aos efeitos adversos relacionados à biomagnificação ao consumir organismos topos de cadeia com elevadas concentrações de MMHg, podendo ocasionar danos generalizados no sistema nervoso central e cardíaco (WHO, 1991; Rice et al., 2003; Dorea et al., 2010). À vista disso, o monitoramento da biomagnificação do Hg nas regiões costeiras é determinante para avaliar a qualidade ambiental e os possíveis danos ao ecossistema e a população humana (Liu et al., 2011; Lavoie et al., 2013).

Crustáceos braquiúros são membros característicos da fauna dos manguezais e representam uma importante fonte de renda para comunidades costeiras tradicionais (FAO, 2007). Os caranguejos *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837) e *Gonipsis cruentata* (Latreille, 1803) estão presentes em manguezais do Norte ao Sul do Brasil e apresentam grande importância ecológica e econômica (Melo, 1996). *U. cordatus* é um caranguejo primariamente herbívoro (Nordhaus, 2004; Nordhaus e Wolf, 2007), enquanto *A. pisonii* e *G. cruentata* apresentam hábito alimentar onívoro, ou seja, consomem recursos alimentares provenientes de níveis tróficos distintos (Linton e Greenaway, 2007; Lima-Gomes et al., 2011; López e Conde, 2013). Em razão das diferentes estratégias alimentares, tais espécies podem ser incluídas em estudos que visem um melhor entendimento dos processos que envolvem a ciclagem de elementos no ecossistema, como o mercúrio (Hg).

O principal caranguejo produzido em escala comercial no Brasil é *U. cordatus*. Dados oficiais de estatística pesqueira destacam a região Norte e Nordeste com a maior produção do país (IBAMA, 2011). O Estado do Pará (região Norte) é considerado o maior produtor de *U. cordatus* do Brasil (mais de 5000 toneladas/ano). No Estado da Paraíba (região Nordeste) a produção anual estimada fica em torno de 300 e 400 toneladas e no Rio de Janeiro (região

Sudeste) entre 40 e 50 toneladas ao ano (IBAMA, 2011). Os caranguejos *G. cruentata* também são explorados comercialmente no país e os poucos dados disponíveis apontam um crescimento considerável da produção no Nordeste (IBAMA 2004; 2005; 2006). Contudo, grande parte da exploração econômica dos caranguejos é realizada pelas comunidades tradicionais de forma artesanal e informal, o que gera dados de produção provavelmente subestimados (IBAMA, 2006, 2011).

A dinâmica do Hg, assim como outros metais, pode ser estudada em associação às análises elementares e isotópicas do carbono ( $\delta^{13}$ C) e nitrogênio ( $\delta^{15}$ N) em compartimentos bióticos e abióticos do ecossistema. A razão isotópica  $\delta^{13}$ C permite avaliar as fontes primárias de matéria orgânica assimiladas por um determinado consumidor e estudar sua transferência entre os compartimentos ambientais, enquanto os valores de  $\delta^{15}$ N permitem estimar o nível trófico ocupado pelos consumidores na cadeia alimentar (Vander Zanden et al., 2003; Lavoie et al., 2013). Dada a ligação do Hg com a posição trófica dos organismos, vários estudos buscam integrar informações relacionadas à ecologia alimentar das espécies, biomagnificação e análises isotópicas (Di Beneditto et al., 2012, 2013; Kehrig et al., 2013; Jones et al., 2014; Kherig et al., 2017). Assim, diante de sua importância para a saúde humana e ambiental, o acompanhamento dos níveis de Hg nos sistemas costeiros é crucial para determinar o risco de contaminação e de exposição humana ao Hg via alimentação (Layman et al., 2012; Lavoie et al., 2013).

Dessa forma, o objetivo do estudo é avaliar os níveis de Hg total em associação com os dados elementares e isotópicos nas espécies de caranguejos, suas prováveis fontes alimentares e no sedimento de manguezais localizados na região Sudeste, Norte e Nordeste do Brasil. O estudo busca investigar se há ocorrência da biomagnificação do Hg na cadeia alimentar de cada ecossistema e se há riscos de consumo dos caranguejos pela população humana. Trabalhamos com as seguintes hipóteses: (i) as espécies de caranguejos onívoros (*A. pisonii* e *G. cruentata*) apresentam cconcentrações de Hg superiores comparado ao caranguejo herbívoro *U. cordatus*, podendo ser observado os maiores valores nas espécies de nível trófico superior por efeito da biomagnificação; (ii) devido ao registro histórico de contaminação por Hg na área que compreende a região Sudeste (estuário do rio Paraíba do Sul), espera-se que o manguezal da região apresente as maiores concentrações de Hg em todos os compartimentos do ecossistema, podendo ser observado a biomagnificação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Áreas de estudo

O estudo foi realizado em três áreas distribuídas nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil, utilizando um manguezal como modelo de estudo para cada região. As áreas estudas

são: Área 1: Sudeste - manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro; Área 2: Nordeste - manguezal do estuário da Barra do rio Mamanguape, Rio Tinto, Paraíba; Área 3: Norte - manguezal do estuário de Caeté, Bragança, Pará (Figura 1).



**Figura 1:** Localização das áreas de amostragem em diferentes regiões do Brasil. Área 1: Sudeste – Manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro; Área 2: Nordeste – Manguezal da Área de Proteção Ambiental (APA) da Barra do rio Mamanguape, Rio Tinto, Paraíba e Área 3: Norte – manguezal da Reserva Extrativista (Resex) Marinha de Caeté-Taperaçu, Bragança, Pará.

A área 1 está inserida na bacia do rio Paraíba do Sul (RPS), que é um importante recurso hidrológico da região Sudeste, com 1.137 km de extensão desde sua nascente à foz, abrangendo três importantes Estados brasileiros (São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro) (ICMBio, 2011). O estudo foi realizado no estuário localizado na foz do RPS, no manguezal de Gargaú, município de São Francisco do Itabapoana. O estuário está sob regime de micromarés, com uma amplitude média de 0,8 m. Sua vegetação tem *Avicennia germinans* (L.) Stearn como espécie dominante (53%), seguida por *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn (28%) e *Rhizophora mangle* L. (19%) (Bernini e Rezende, 2011). Sua floresta de mangue abrange aproximadamente

725 ha e é considerada a maior da região Norte do Estado do Rio de Janeiro (Bernini et al. 2010; Bernini e Rezende, 2011). Cerca de 20% da sua área original foi perdida em 15 anos (1986 -2001) devido aos processos de erosão e sedimentação, além de ações antrópicas como desmatamento, implantação de pastagens e desenvolvimento urbano (Bernini et al. 2010). A região da bacia inferior do rio Paraíba do Sul apresenta um registro histórico de utilização do Hg entre as décadas de 1970 e 1980. Durante o período, o Hg foi usado em fungicidas organomercuriais aplicados no combate a pragas em plantações de cana-de-açúcar (principal produto agrícola da região) e em atividades de garimpo do ouro, onde foram liberados anualmente cerca de 150 kg de Hg nos rios da região (Câmara et al., 1986; Lacerda et al., 1993).

O manguezal da área 2 está localizado na Área de Proteção Ambiental (APA) da Barra do rio Mamanguape, na Paraíba. O estuário encontra-se a cerca de 70 km da capital João Pessoa, ocupando uma área de aproximadamente 24 km de extensão e 2,5 km de largura. As florestas de manguezal abrangem aproximadamente 6000 ha e são as mais representativas do Estado da Paraíba (ICMBio, 2014). Sua vegetação é composta pelas espécies *R. mangle, L. racemosa, A. germinans* e *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke. Na região de amostragem, *R. mangle* é a espécie dominante seguido pela *A. schaueriana* (Araújo, 2002). O estuário é caracterizado pelo regime de mesomarés, com uma amplitude média de 2,7 m (Claudino et al., 2015). Suas áreas de manguezal são bem preservadas, embora algumas atividades antrópicas sejam registradas dentro da APA, como plantios de cana-de-açúcar, carcinicultura, extração de madeira e turismo ecológico (Silvestre et al., 2011; ICMBio, 2014).

A área 3 está inserida na Reserva Extrativista (RESEX) Marinha de Caeté-Taperaçu, que é uma Unidade de Conservação Federal de Uso Sustentável, localizada no município de Bragança, aproximadamente 200 km da capital Belém no Estado do Pará. A região possui a segunda maior área contínua de manguezal do país, com aproximadamente 140 km<sup>2</sup>, onde vivem cerca de 50% da população do Estado (Diele et al., 2005; ICMBio, 2012). *R. mangle* é a espécie vegetal dominante, seguido pela *A. germinans* e em menor frequência, *L. racemosa* (Menezes et al., 2003). O estuário está sobre regime de macromarés, variando entre 3,5 m e 5 m (Koch e Wolf, 2002; Melhlig, 2006). O potencial turístico ainda é pouco explorado na região. Quanto à exploração pesqueira, Bragança apresenta a terceira maior produção de pescado do Estado do Pará, com mais de seis mil toneladas anuais (ICMBio, 2012).

### 2.2. Amostragem

Foi realizada a amostragem dos caranguejos (*U. cordatus*, *A. pisonii* e *G. cruentata*) e dos demais compartimentos associados considerados prováveis fontes alimentares, como:

folhas verdes e senescentes das espécies vegetais, ordens de artrópodes (insetos e aranhas) presentes na copa das árvores e sedimentos superficiais. Os caranguejos, folhas e sedimentos foram coletados durante os anos de 2015, 2016 e 2017 nas áreas 1, 2 e 3, respectivamente. A amostragem dos insetos e aranhas foi realizada no manguezal do rio Paraíba do Sul (RJ) e os dados foram aplicados nas demais regiões como uma representação de tal fonte alimentar na dieta dos caranguejos onívoros.

Os caranguejos foram capturados manualmente usando técnicas simples utilizadas por catadores artesanais. Em cada área, foram capturados cerca de 700 indivíduos de *A. pisonii* e 50 indivíduos de *U. cordatus* e *G. cruentata*. Essa discrepância no número amostral é justificada pela diferença no tamanho dos caranguejos, o que gera a necessidade de agrupar uma quantidade distinta de indivíduos para compor uma única amostra analítica. Para cada amostra final de tecido muscular foram utilizados aproximadamente 70 indivíduos de *A. pisonii* e de 2 a 5 indivíduos de *U. cordatus* e *G. cruentata*. Ao final, obteve-se um número amostral entre 10 e 30 por espécie em cada área de estudo. No laboratório, foram medidos a largura cefalotoráxica (cm) e o peso (g) de cada indivíduo. As amostras foram liofilizadas, maceradas e homogeneizadas para posteriores análises.

Folhas verdes e senescentes foram coletadas diretamente das árvores e separadas de acordo com a espécie. Em todas as áreas, foram coletadas as espécies presentes, que são: *R. mangle, L. racemosa* e *A. germinans*. Além destas, no manguezal da área 2 (rio Mamanguape, PB) foram coletadas folhas de *A. schaueriana*. No laboratório, o material vegetal foi seco em estufa de circulação (60°C por cerca de 72h) para posterior trituração e homogeneização. Foi utilizado um número amostral de 30 folhas verdes e 30 folhas senescentes em cada manguezal. Os sedimentos foram coletados em 5 pontos aleatórios em cada área. Para cada ponto, foram coletadas 3 amostras de sedimento superficial (0-2 cm) consideradas réplicas amostrais de campo, totalizando 15 amostras por manguezal. No laboratório, foram separadas alíquotas para análise granulométrica e o restante foi seco por liofilização, separadas na fração < 2,0 mm e homogeneizadas com auxílio de gral e pistilo para subsequentes análises.

A amostragem dos artrópodes (insetos e aranhas) foi realizada no manguezal do rio Paraíba do Sul (RJ), onde os indivíduos foram coletados diretamente da copa das árvores de mangue, que constitui uma área importante de forrageio dos caranguejos estudados. A coleta foi feita com o auxílio do guarda-chuva entomológico, uma armadilha confeccionada com tecido branco resistente (1,0 m x 1,0 m), sustentado por duas hastes de madeira cruzadas e encaixadas na ponta do tecido.

Os artrópodes foram identificados e classificados a nível de ordem devido a necessidade de agrupar um grande número de indivíduos para compor uma única amostra analítica. Após a

coleta, os artrópodes foram mantidos em recipientes etiquetados e conservados congelados até a triagem e processamento. A partir de testes no laboratório, constatou-se uma perda entre 40 e 50% da massa dos artrópodes durante a liofilização. Assim, para cada amostra analítica foram coletados indivíduos suficientes para compor aproximadamente 1,5 g de peso seco para realização de todas as análises. As amostras separadas em ordens foram trabalhadas em triplicatas. As ordens amostradas foram: *Hymenoptera* (representado pelas formigas), *Araneae, Lepidoptera, Blattaria, Orthoptera, Hemiptera* e *Coleoptera*.

### 2.3. Determinações Analíticas

### 2.3.1. Mercúrio total

Para análise no sedimento foram utilizadas alíquotas de 0,3 g da amostra liofilizada e homogeneizada. Foram adicionados 8 mL de água régia (3 HCl: 1 HNO<sub>3</sub>) e os extratos foram levados ao micro-ondas, modelo Mars Xpress (CEM Corporation), por 25 minutos (rampa de 10 minutos) a temperatura de 95 °C e potência de 1600w (adaptado de Santos et al., 2005). Após o resfriamento (30 minutos), o extrato final foi filtrado e aferido a 50 mL com água ultrapura. A leitura do Hg total foi realizada no Analisador de Hg, Quick Trace M-7500 da CETAC-VARIAN com limite de detecção de 0,4 ng g<sup>-1</sup>. Análises em triplicatas foram feitas a cada 5 amostras e o coeficiente de variação entre as réplicas foi inferior a 10%. Foi utilizado o padrão certificado estuarino (NIST – 1646) para calcular a exatidão, obtendo-se uma recuperação de 95%.

A determinação do Hg total nos caranguejos foi adaptada da metodologia de Bastos et al. (1998). Foram usadas alíquotas de 0,4 g de tecido muscular liofilizado. No procedimento foram adicionados 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% e em seguida 3 mL de uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/HNO<sub>3</sub> (1:1). A digestão química foi realizada em bloco digestor a 60°C até completa solubilização do extrato. Posteriormente foram adicionados 5 mL de KMnO<sub>4</sub> (5%), aquecendo-se novamente os tubos a 60°C por 30 minutos. Após o resfriamento as amostras foram tituladas com solução de cloridrato de hidroxilamina (12%), filtradas e aferidas a 20 mL com água ultrapura. A determinação analítica foi realizada no Analisador de Hg Quick Trace M-7500 da CETAC-VARIAN, com um limite de detecção da técnica de 1 ng.g<sup>-1</sup>. Triplicatas foram realizadas a cada 10 amostras obtendo-se um coeficiente de variação analítico inferior a 10%. Testes de exatidão do método foram feitos através do padrão de referência para material biológico (DORM-2) com uma recuperação ≥ 90%.

No material vegetal a metodologia de análise do Hg total foi determinada no trabalho de Fragoso et al. (2018). Foram utilizadas 0,2 g de amostras previamente trituradas e homogeneizadas, onde foram adicionados 4 mL de água ultrapura, 2 mL de  $H_2O_2$  e 6 mL da

solução ácida de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/HNO<sub>3</sub> (1:1). O processo de digestão foi efetuado em micro-ondas (CEM Corporation). O extrato final foi filtrado e aferido a 50 mL com água ultrapura. A determinação do Hg total foi feita no Analisador de Hg Quick Trace M-7500 da CETAC-VARIAN, com um limite de detecção de 1 ng.g<sup>-1</sup>. Foram feitas triplicatas a cada 5 amostras e o coeficiente de variação entre as réplicas esteve abaixo de 10%. A exatidão foi calculada através do padrão de referência *Apple Leaves* com recuperação de 92%.

Para análise de Hg total nos insetos e aranhas foram usadas alíquotas de 0,1 g de amostra liofilizada e macerada. Foi utilizado 10 mL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/HNO<sub>3</sub> (7:3) nas amostras, que foram levadas ao bloco digestor até total solubilização. Ao final, foi adicionado 200  $\mu$ L de Cloreto de Bromo 0,2 N (BrCl) e aferido ao volume final de 20 mL com água ultrapura. No preparo das amostras para leitura foram adicionados 150  $\mu$ L de BrCl, 60  $\mu$ L de Cloridrato de Hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH.HCl) e 150  $\mu$ L de Cloreto de Estanhoso (SnCl<sub>2</sub>). A determinação de Hg total foi realizada por Espectrofotometria de Fluorescência Atômica usando a técnica de geração de vapor frio (CVAFS) com pré-concentração em ouro (um estágio) em um Tekran 2600. Foi realizada análise com material padrão certificado biológico (DORM-4) para avaliar a exatidão do método, obtendo-se uma recuperação de 98%.

#### 2.3.2. Composição elementar e isotópica do carbono e nitrogênio

Para a análise elementar e isotópica as amostras previamente secas e homogeneizadas foram devidamente pesadas em cápsulas de estanho, utilizando as seguintes massas: 2 mg para folhas, 0,5 mg para os caranguejos e 0,45 mg para os insetos e aranhas. A análise no sedimento foi feita em duas etapas. Primeiramente, foi utilizado 10 mg de amostra bruta para obtenção dos valores de nitrogênio total elementar e isotópico. Para o carbono orgânico elementar e isotópico foram utilizadas amostras descarbonatadas. O procedimento para descarbonatação foi feito a partir de 10 mg de amostra em capsula de prata, onde foram adicionados HCl 2,0 M ~3 vezes até que não houvesse nenhuma reação da amostra (Kennedy et al., 2005).

As determinações analíticas foram realizadas no Espectrômetro de Massa Isotópica Thermo Finnigan Delta V Advantage acoplado ao Analisador Elementar Flash 2000 (Organic elemental analyzer - Thermo Scientific). Os valores elementares são expressos em percentual (%), com limite de detecção para o C e N de 0,05% e 0,02%, respectivamente. Para as razões isotópicas, os valores são expressos pela notação delta ( $\delta$ ) em partes por mil (‰), obtidos em relação aos padrões internacionais de calibração, para o carbono é usado o carbonato Pee Dee (Belemnite) e N<sub>2</sub> atmosférico para o nitrogênio. A precisão da análise é de 0,1‰.

#### 2.3.3. Granulometria

A análise granulométrica do sedimento é realizada através do analisador de partículas (Shimadzu SALD-310). A partir dos resultados obtidos, os sedimentos são classificados nas seguintes frações granulométricas: areia (0,062 < d < 2 mm), silte (0,004 < d < 0,062 mm) e argila (d < 0,004 mm) (d = diâmetro de acordo com a escala de Wentworth).

#### 2.4. Análise dos dados

Na comparação dos dados referentes as análises de Hg total,  $\delta^{13}$ C,  $\delta^{15}$ N e razão (C:N)<sub>a</sub>, primeiramente foram aplicados os testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov para avaliar as premissas da análise de variância (normalidade e homocedasticidade). Quando as premissas foram aceitas, foi usado o teste ANOVA e as médias foram comparadas usando o Teste de Tukey. Nos casos onde uma das premissas não foram aceitas, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo Teste de Dunn. Todas as comparações foram testadas a um nível de significância de *p*<0,05. As análises foram realizadas no programa R Development Core Team, 2018.

### **3. RESULTADOS**

As concentrações de Hg total nos caranguejos variaram entre as espécies e regiões estudadas (Tabela 1). Os valores foram significativamente diferentes entre as áreas (Kruskal-Wallis *U. cordatus* H= 66,46 p<0,0001; *A. pisonii* H= 28,09 p<0,0001 e *G. cruentata* H= 28,27 p<0,0001). Na área 1, foram observadas as maiores concentrações do elemento em todas as espécies, seguido pelas áreas 3 e 2. Os caranguejos *G. cruentata* apresentaram os maiores valores de Hg nas áreas 1 e 3 diferindo estatisticamente dos demais caranguejos (ANOVA área 1 F= 90,12 p<0,0001 e área 3 F= 49,01 p<0,0001). Na área 2, a espécie *U. cordatus* obteve concentrações significativamente inferiores (ANOVA F= 11,02 p<0,0001) e não houve diferença significativa nos valores do *A. pisonii* e *G. cruentata* (p= 0,058).

Houve variações nos resultados da composição elementar e isotópica do C e N entre as espécies de caranguejos e áreas (Tabela 1). Os dados da razão  $(C:N)_a$ ,  $\delta^{13}C e \delta^{15}N$  da área 1 foram significativamente diferentes das demais regiões para todas as espécies, embora alguns padrões sejam próximos ao observado na área 3. De modo geral, nota-se um padrão distinto nos resultados da área 2 em relação as demais localidades. Nas áreas 1 e 3 todas as espécies diferiram significativamente nos valores isotópicos, com *U. cordatus* apresentando valores de  $\delta^{13}C e \delta^{15}N$  mais leves, seguido pelo *A. pisonii* e *G. cruentata* (ANOVA área 1:  $\delta^{13}C F = 441,1$ 

p=0,000 e  $\delta^{15}$ N F= 119,93 p<0,0001; área 3:  $\delta^{13}$ C F= 96,61 p<0,0001e  $\delta^{15}$ N F= 354,01 p=0,000). Na área 2 observa-se valores mais enriquecidos em  $\delta^{13}$ C nos caranguejos *G. cruentata* (Kruskal-Wallis H= 47,361 p<0,001) e uma composição isotópica distinta de  $\delta^{15}$ N entre as espécies, com *A. pisonii* apresentando os maiores valores (ANOVA F= 229,86 p<0,0001).

**Tabela 1:** Valores médios e desvio padrão da composição elementar e isotópica do C e N, concentrações de Hg, largura da carapaça e peso dos caranguejos analisados.

Áreas	Espécies	δ <sup>13</sup> C (‰)	δ <sup>15</sup> N (‰)	(C:N) <sub>a</sub>	Hg (ng.g <sup>-1</sup> )	Largura da carapaça (cm)		Peso (g)
					(peso seco)	média ± DP	(Mín - Máx)	
	U. cordatus	-28,0±0,2 aA	7,1±0,9 aA	3,9±0,1 aA	31,7±7,6 aA	6,5 ± 3,8	(5,7 - 7,4)	107,6±25,9
1	A. pisonii	-24,6±0,3 bA	8,1±0,3 bA	3,5±0,2 bA	67,0±24,1 aA	2,0 ± 2,6	(1,5 - 2,6)	4,2 ± 2,5
	G. cruentata	-20,4 ± 2,1 cA	11,6±0,8 cA	3,5±0,2 bA	408,7±64,7 bA	3,2 ± 3,8	(2,6 - 4,0)	23,2 ± 7,4
	U. cordatus	-24,1±0,2 aB	3,7±0,3 aB	4,1±0,1 aB	2,3±0,3 aB	6,5 ± 0,4	(5,6 - 7,3)	120,1 ± 21,6
2	A. pisonii	-23,7±0,6 aB	7,1±0,4 bB	4,5±0,2 bB	5,4±1,2 bB	2,1 ± 2,4	(1,6 - 2,6)	4,4 ± 1,5
	G. cruentata	-21,9±0,8 bB	6,3±0,7 cB	3,8 ± 0,05 cB	10,3±4,2 bB	4,0±0,3	(3,6 - 4,7)	26,5±6,0
	U. cordatus	-24,2 ± 16,1 aB	6,1±-,6 aC	3,7±0,1 aC	6,0±3,4 aC	7,9±0,4	(6,4 - 7,7)	172,6 ± 20,0
3	A. pisonii	-23,2±0,2 bB	7,4±0,6 bB	4,4±0,1 bB	9,5 ± 1,9 aC	2,1±2,5	(1,6-2,7)	4,3 ± 1,5
	G. cruentata	-21,9±0,8 cB	9,5±0,4 cC	3,8±0,1 cC	50,1±27,3 bC	2 4,5 ± 0,5	(3,5 - 5,6)	41,4 ± 13,2

Letras minúsculas indicam diferenças significativas das espécies na mesma área. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas das espécies entre as áreas. Área 1: rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2: Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3: Bragança (PA).

Os valores médios das concentrações de Hg e das razões elementares e isotópicas nas espécies vegetais e ordens de artrópodes podem ser visualizados nas tabelas 2 e 3, respectivamente. Na área 1, as maiores concentrações de Hg foram observadas nas folhas de *A. germinans*. De modo geral, nas demais regiões os maiores valores de Hg foram registrados no gênero *Avicennia*, principalmente nas folhas senescentes. Os resultados mostram diferentes concentrações de Hg entre os estágios de maturação das folhas. Com exceção de *A. schaueriana* na área 2, todas as espécies vegetais apresentaram diferenças significativas entre folhas verdes e senescentes, com as maiores concentrações nas folhas senescentes (Tabela 2 e Apêndices – Figura A.4).

Os resultados isotópicos das folhas na área 1 mostram valores mais enriquecidos de  $\delta^{13}$ C em *A. germinans* e valores significativamente diferentes entre folhas verdes e senescentes para essa espécie (H= 14,38 *p*<0,0001) e *R. mangle* (Kruskal-Wallis H= 11,87 *p*<0,0001). Na área 2, observa-se valores mais empobrecidos de  $\delta^{13}$ C em *L. racemosa* e diferenças significativas entre o estágio de maturação das folhas dessa espécie (ANOVA F= 26,98 *p*<0,0001) e *A. schaueriana* (F= 49,96 *p*<0,0001). Na área 3, os dados  $\delta^{13}$ C variaram significativamente entre as folhas de *R. mangle* (Kruskal-Wallis H= 3,92 *p*<0,0001) e *A. germinans* (H= 5,05 *p*<0,0001). A composição isotópica do  $\delta^{15}$ N em todas as áreas foram significativamente diferentes para folhas verdes e senescentes (Tabela 2). Com exceção da *A. germinans* na área 3, todas as

espécies obtiveram maiores valores de  $\delta^{15}$ N nas folhas verdes. Quanto a razão elementar (C:N)<sub>a</sub>, todas as espécies mostraram diferenças significativas entre o estágio de maturação das folhas, com os maiores valores registrados nas folhas senescentes (Tabela 2 e Apêndices – Figura A.1).

Os artrópodes coletados em maior representatividade na copa das árvores de mangue são membros das ordens taxonômicas *Hymenoptera*, *Araneae* e *Lepidoptera* (Tabela 3). As concentrações de Hg variaram entre as ordens analisadas, com *Coleoptera*, *Lepidoptera* e *Hemiptera* apresentando as menores concentrações (5,8 a 12,7 ng.g<sup>-1</sup>) e *Blattaria* e *Araneae* os maiores valores (139,7 e 271,6 ng.g<sup>-1</sup>, respectivamente). Os resultados isotópicos mostram um enriquecimento de  $\delta^{13}$ C nas ordens *Coleoptera* (-23,8 ‰) e *Hymenoptera* (-24,7 ‰) e uma composição isotópica menos enriquecida em *Lepidoptera* (-30,9 ‰). Quanto ao  $\delta^{15}$ N, os menores valores foram registrados na ordem *Blattaria* (3,8 ‰) e os maiores valores em *Araneae* e *Lepidoptera* (8,2 ‰), que apresentaram a menor razão (C:N)<sub>a</sub> (Tabela 3).

Áreas	Matriz	Espécies	δ <sup>13</sup> C (‰)	δ <sup>15</sup> N (‰)	(C:N) <sub>a</sub>	Hg (ng.g <sup>-1</sup> )
	Folhas	L. racemosa	-31,5±0,3 a	7,1±0,2 a	35,6±1,6 a	21,5±2,2 a
1	Verdes	R. mangle	-32,5±0,4 a	5,3±0,1 a	35,0±1,2 a	20,8±1,1 a
		A. germinans	-29,3±0,2 a	6,4±0,1 a	26,6±1,5 a	35,4±3,2 a
	Folhas	L. racemosa	-31,2±0,4 a	6,6±0,2 b	75,6±5,9 b	28,7±1,3 b
1	Senescentes	R. mangle	-31,9±0,2 b	4,6±0,2 b	77,9±4,4 b	29,5±2,1 b
		A. germinans	-28,5±0,3 b	6,2±0,2 b	33,7±2,2 b	34,3±3,1 a
		L. racemosa	-28,8±0,2 a	3,7±0,3 a	42,0±1,8 a	7,2±1,1 a
2	Folhas	R. mangle	-26,9±0,3 a	4,3±0,2 a	48,3±3,0 a	2,8±1,1 a
	Verdes	A. germinans	-27,1±0,3 a	8,6±0,2 a	17,6±0,8 a	6,4±1,7 a
		A. schaueriana	-27,1±0,1 a	5,5±0,2 a	32,4±1,0 a	13,2±1,1 a
		L. racemosa	-28,2±0,2 b	2,3±0,3 b	101,7 ± 4,2 b	4,8±1,1 b
2	Folhas	R. mangle	-27,1±0,3 a	2,5±0,3 b	89,8±3,5 b	10,0±2,4 b
	Senescentes	A. germinans	-27,0±0,2 a	8,0±0,2 b	30,9±1,5 b	18,0±3,7 b
		A. schaueriana	-26,6±0,1 b	4,9±0,4 b	77,0±2,0 b	13,2±2,3 a
	Folhas	L. racemosa	-31,9±0,3 a	5,1±0,2 a	36,1±1,7 a	22,0±1,1 a
3	Verdes	R. mangle	-31,3±0,5 a	4,7±0,3 a	36,2±1,7 a	21,1±1,9 a
		A. germinans	-30,9±0,2 a	4,8±0,3 a	19,3±0,8 a	12,0±1,1 a
	Folhas	L. racemosa	-31,0±0,2 a	4,3±0,3 b	70,3±2,5 b	29,1±1,6 b
3	Senescentes	R. mangle	-30,7±0,4 b	4,1±0,3 b	77,1±2,8 b	24,9 ± 0,03 b
		A. germinans	-31,2±0,3 b	5,7±0,2 b	44,2±2,4 b	32,2±1,6 b
1		x	-26,9 ± 0,3 a	5,2±0,4a	17,1±1,1a	97,4 ± 14,7 a
2	Sedimento	х	-26,1 ± 0,9 b	4,3 ± 0,6 b	15,9 ± 2,7 a	18,9 ± 13,5 b
3		х	-25,8±0,2 b	4,2 ± 0,4 b	13,9 ± 1,0 b	24,5±8,6 b

**Tabela 2:** Valores médios e desvio padrão da composição elementar e isotópica do C e N e das concentrações de Hg nas folhas verdes e senescentes das espécies vegetais e sedimentos dos manguezais analisados.

Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre folhas verdes e senescentes na mesma espécie vegetal e entre as áreas para o sedimento. Área 1: rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2: Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3: Bragança (PA).

Ordens	Número de indivíduos	δ <sup>13</sup> C (‰)	δ <sup>15</sup> N (‰)	(C:N)a	Hg (ng.g⁻¹)
Hymenoptera	1241	-24,7 ± 0,4	5,6 ± 0,2	5,5 ± 0,3	61,7 ± 5,9
Araneae	674	-25,9 ± 0,4	8,2 ± 0,8	4,8 ± 0,2	271,6 ± 74,9
Lepidoptera	171	-30,9 ± 0,3	8,2 ± 0,6	1,8 ± 4,2	6,0 ± 1,2
Blattaria	69	-27,6 ± 0,3	3,8 ± 0,4	5,1 ± 0,2	139,7
Orthoptera	52	-27,1 ± 0,2	5,6 ± 0,6	5,1 ± 0,2	60,9
Hemiptera	33	-25,7 ± 0,2	7,0 ± 0,4	4,9 ± 0,2	12,7
Coleoptera	17	-23,8 ± 1,8	5,5 ± 1,6	5,7 ± 0,2	5,8

**Tabela 3:** Valores médios e desvio padrão da composição elementar e isotópica do C e N, das concentrações de Hg e o número de indivíduos coletados de artrópodes e suas respectivas ordens.

Os sedimentos dos manguezais analisados são predominantemente compostos por partículas finas (Tabela 4). Nas áreas 1 e 3 as frações silte e argila correspondem a mais de 90% do sedimento analisado, enquanto na área 2 esse valor varia entre 66% e 86%. Somente em um ponto amostrado na área 3 a fração arenosa foi maior (62%). As maiores concentrações de Hg nos sedimentos foram registradas na área 1 (69,9 a 121,6 ng.g<sup>-1</sup>) e os menores valores na área 2 (5,1 a 31,6 ng.g<sup>-1</sup>) (Tabela 3). Os resultados isotópicos ( $\delta^{13}$ C e  $\delta^{15}$ N) e as concentrações de Hg da área 1 foram estatisticamente diferentes das demais regiões ( $\delta^{13}$ C: Kruskal-Wallis H= 27,42 *p*<0,0001;  $\delta^{15}$ N: ANOVA F= 38,21 *p*<0,0001 e Hg: Kruskal-Wallis H= 31,33 *p*<0,0001). Os dados das áreas 2 e 3 não variaram de forma significativa entre si (Tabela 3). Os sedimentos da área 3 apresentaram a menor razão (C:N)<sub>a</sub>, diferindo estatisticamente das outras regiões (ANOVA F= 11,52 *p*<0,0001).

Áreas		Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5
1	Areia	5,4±0,8	5,1±1,4	3,8±0,8	7,5 ± 0,4	8,3±1,3
	Silte	68,2 ± 1,5	71,6±0,4	72,6 ± 1,9	71,1±0,3	68,6±1,5
	Argila	26,4 ± 2,3	23,3 ± 1,1	23,6 ± 1,3	21,4 ± 0,6	23,0±0,3
2	Areia	13,4 ± 5,9	14,0 ± 7,6	30,7 ± 11,6	30,4 ± 15,0	33,7 ± 15,5
	Silte	62,9 ± 4,2	60,2 ± 2,9	48,7 ± 5,9	47,2 ± 10,6	47,9 ± 12,9
	Argila	23,6 ± 1,9	25,8±9,4	20,6 ± 8,3	22,4 ± 14,5	18,4 ± 3,3
3	Areia	3,6±0,4	0,5 ± 0,4	1,7 ± 0,7	8,1±6,4	62,9 ± 15,4
	Silte	53,3 ± 3,0	49,2 ± 2,1	55,1 ± 3,2	53,5 ± 1,2	24,4 ± 15,9
	Argila	43,1 ± 2,5	50,4 ± 2,4	43,2 ± 4,9	38,4±5,4	12,7 ± 14,5

**Tabela 4:** Valores médios e desvio padrão das frações granulométricas do sedimento superficial dos manguezais analisados. Área 1: rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2: Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3: Bragança (PA).

O alinhamento dos organismos e o fracionamento isotópico do  $\delta^{15}$ N em relação às concentrações de Hg nos caranguejos e demais compartimentos dos manguezais podem ser visualizado na figura 3. Na área 1, os caranguejos *G. cruentata* se destacam pelos maiores valores de  $\delta^{15}$ N e Hg comparado as demais espécies e compartimentos. Na mesma área, *A. pisonii* tende a mostrar valores maiores de  $\delta^{15}$ N e Hg que *U. cordatus* embora alguns indivíduos de ambas as espécies compartilhem uma faixa similar de  $\delta^{15}$ N. Um padrão semelhante pode ser observado na área 3. Na área 2, os caranguejos *G. cruentata* e *A. pisonii* apresentam valores próximos de Hg e  $\delta^{15}$ N, sendo ambos superiores a *U. cordatus*.



**Figura 2:** Relação entre as concentrações de mercúrio e a composição isotópica do nitrogênio nas espécies de caranguejos, suas fontes alimentares e sedimento dos manguezais analisados. Área 1: rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2: Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3: Bragança (PA).

## 4. DISCUSSÃO

As concentrações de Hg nos caranguejos têm estreita relação com os hábitos alimentares e o papel funcional da espécie na cadeia alimentar. No geral, os menores valores de Hg foram obtidos nos caranguejos herbívoros U. cordatus, seguido pelo A. pisonii e G. cruentata, que são espécies onívoras e oportunistas, corroborando com a primeira hipótese de trabalho (Tabela 1). Para as espécies onívoras, não há estudos prévios publicados com análises de Hg. Para U. cordatus, os trabalhos de Vilhena et al. (2003) e (2013) reportaram concentrações de Hg de 21 ng.g<sup>-1</sup> (7 a 37 ng.g<sup>-1</sup>) e entre 1 e 38 ng.g<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo mais próximos ao observado na área 1 (Tabela 1), enquanto o estudo de Pinheiro et al. (2012) observou concentrações superiores ao presente estudo, com valores médios de 80 ng.g<sup>-1</sup>. Além de toda importância ecológica e econômica, estudos sugerem que U. cordatus tem potencial para ser usado como espécie bioindicadora de metais em áreas de manguezal devido a aspectos de sua história de vida (taxa de crescimento lenta e ciclo de vida longo - Pinheiro et al., 2005), ecologia alimentar e por promover a bioturbação do sedimento, entrando em contato com a matéria orgânica durante a construção de suas tocas (Nordhaus et al., 2009, Correia e Guimarães, 2016). Dessa forma, U. cordatus pode ser utilizado em estudos de avaliação dos impactos ambientais e ações para monitoramento e conservação das regiões estuarinas (Pinheiro et al., 2012; 2013; Duarte et al., 2016).

A análise de diferentes compartimentos no manguezal contribui com conhecimentos importantes sobre a dinâmica do Hg e da matéria orgânica em cada ecossistema. Os resultados isotópicos dos caranguejos, assim como o Hg, refletem suas fontes alimentares. Na área 1, onde foram reportadas as maiores concentrações de Hg, se observa uma maior proximidade dos valores de  $\delta^{13}$ C de *U. cordatus* com folhas de *A. germinans* (Tabelas 1 e 2), que é espécie vegetal dominante no estuário (Bernini e Rezende, 2011). Análises em folhas de serapilheira na mesma região de amostragem reporta maiores concentrações de Hg (53 ± 4 ng.g<sup>-1</sup>) e maior aporte anual (32 µg.m<sup>-2</sup>.ano<sup>-1</sup>) em folhas de *A. germinans* (Fragoso et al., 2018), corroborando com os resultados do presente estudo.

A composição elementar e isotópica variou entre folhas verdes e senescentes (Tabela 2). No geral, foi observado uma diminuição dos valores de  $\delta^{15}$ N e um aumento da razão (C:N)<sub>a</sub> nas folhas senescentes. O decréscimo nos teores de N durante a maturação foliar é devido a uma adaptação fisiológica das plantas que visa a conservação de nutrientes. Através desse mecanismo, conhecido como retranslocação, as árvores tendem a realocar alguns nutrientes das folhas antes da abscisão, de forma que os mesmos possam ser reaproveitados (Soto, 1992; Wang e Lin, 1999; Lin e Wang, 2001; Belligotti et al., 2007).

A vegetação é considerada uma das principais vias de entrada do Hg do manguezal, que através da alimentação passa a ser incorporado na cadeia alimentar do ecossistema (Ding et al., 2011; Wang et al., 2016; Risch et al., 2017). No presente estudo foi observado um aumento nas concentrações durante a senescência. O enriquecimento de Hg com o avanço da idade foliar foi reportado pelos estudos de Ericksen et al. (2003) e Ding et al. (2011). Os teores de Hg na copa das árvores normalmente refletem as concentrações atmosféricas do elemento, visto que a absorção e translocação do Hg das raízes às folhas não é significante (inferior a 10%) (Bishop et al., 2008; Graydon et al., 2009). Assim, o aumento do Hg em função da idade foliar acontece devido ao maior tempo de exposição das folhas aos processos de deposição atmosférica, que ocorre principalmente pela adsorção da forma gasosa reativa (Hg<sup>+2</sup>) e particulada na superfície foliar (Graydon et al., 2009; Stamenkovic e Gustin, 2009; Wang et al., 2016).

Os caranguejos *A. pisonii* mostram uma composição isotópica de  $\delta^{13}$ C mais próxima as ordens de artrópodes *Hymenoptera* e *Coleoptera* (Tabelas 1 e 3), o que sugere a importância de tais itens na alimentação dos caranguejos. Entretanto, *Hymenoptera* (formigas) é o grupo de artrópode amostrado em maior representatividade nas árvores de mangue e provavelmente é consumido em maior proporção.

Os dados referentes aos artrópodes divergiram entre as ordens em função das distinções alimentares e relações tróficas dos organismos. Algumas ordens apresentam uma alimentação diversificada (ex., *Coleoptera*) (Rafael et al., 2012), o que dificulta a interpretação dos resultados isotópicos. Indivíduos de *Lepidoptera* (lagartas) possuem dieta herbívora (Rafael et al., 2012) e seus valores de  $\delta^{13}$ C refletem a composição isotópica das folhas (Tabela 2), com baixas concentrações de Hg (Tabelas 3). As aranhas (*Araneae*) compreendem o segundo grupo de maior representatividade na copa das árvores do manguezal. São onívoras ou carnívoras, predadoras em sua maioria, que consomem diversos invertebrados (insetos e também aranhas - canibalismo intraespecífico e interespecífico) (Bertani et al., 2015). Os valores de  $\delta^{15}$ N e Hg observados refletem seu hábito alimentar e seu papel funcional dentro da cadeia alimentar, sugerindo a ocorrência de biomagnificação do Hg na área 1 (onde as amostragens de artrópodes foram realizadas). Alguns trabalhos publicados de isótopos e Hg em grupos de artrópodes terrestres corroboram com os resultados reportados no presente estudo (Benett e Hobson, 2009; Rimmer et al., 2010., Ortiz et al., 2015).

O sedimento do manguezal tem grande importância na ciclagem biogeoquímica do Hg por apresentar características específicas que propiciam sua retenção no ecossistema, como elevado teor de matéria orgânica, sedimentos finos e condições redutoras (Laurier et al, 2003; Mason et al., 2006; Haris et al., 2017). A predominância de partículas finas de sedimento (silte e argila) observadas no presente estudo (Tabela 4) atua de forma direta no processo de retenção do Hg e outros metais devido a sua elevada área superficial que propicia sítios de adsorção e, de forma indireta pela presença de carbono orgânico e outros substratos geoquímicos, que aumentam a capacidade de sorção dos sedimentos (Yu et al., 2012; Chakraborty et al., 2014). A associação significativa entre os níveis de Hg e a fração silte-argila tem sido reportada por vários estudos em regiões estuarinas (Sanders et al., 2008; Araújo et al., 2015; Haris et al., 2017; Fragoso et al., 2018).

A matéria orgânica sedimentar é outro parâmetro importante que atua diretamente na especiação e biodisponibilidade do Hg devido a formação de complexos estáveis que limitam sua mobilidade, resultando em sua acumulação e lenta liberação para águas superficiais (Chakraborty et al., 2014; Chakraborty et al., 2015; Lei et al., 2019). Além disso, o conteúdo de matéria orgânica afeta a produção de MMHg de diferentes formas (Lei et al., 2019), servindo por exemplo, como fonte de energia e nutrição para os microorganismos responsáveis pelo processo de metilação (bactérias sulfato-redutoras, ferro-redutoras e metanogênicas - Correia e Guimarães, 2017). Dado a estreita relação entre matéria orgânica e Hg, as análises elementares e isotópicas do C e N contribuem para melhor entendimento da dinâmica de transferência e exportação da matéria orgânica nos sistemas estuarinos e permitem avaliar os níveis de contaminação por Hg e os riscos associados à sua biodisponibilidade (Ravichadran, 2004; Chakraborty et al., 2014).

As maiores concentrações de Hg no sedimento foram observadas na área 1 (70 a 122 ng.g<sup>-1</sup>), seguido pela área 3 (12 a 51 ng.g<sup>-1</sup>) e área 2 (5 a 32 ng.g<sup>-1</sup>). Os valores são comparados a dados previamente reportados em regiões estuarinas com limitada influência antrópica (100 a 200 ng.g<sup>-1</sup>) ou regiões relativamente remotas (< 100 ng.g<sup>-1</sup>) (Sanders et al., 2008; Silva et al., 2009; Vilhena et al., 2013; Haris et al., 2017; Lei et al., 2019). Os valores estimados como níveis de base de Hg para sedimentos costeiros no Brasil estão entre 15 e 30 ng.g<sup>-1</sup> (Marins et al., 2004), próximos aos observados nas áreas 2 e 3.

A área 1 registrou as maiores concentrações de Hg em todos os compartimentos analisados (fauna, vegetação e sedimento), corroborando com a segunda hipótese de trabalho. Vale ressaltar que as concentrações de Hg reportadas no sedimento estão abaixo de ambos valores de referência TEL (*threshold effect level* – 174 ng.g<sup>-1</sup>) e PEL (*probable effect level* – 486 ng.g<sup>-1</sup>) estabelecidos pelo NOAA (*National Oceanic Atmospheric Administration*) (Buchman, 2008). Manguezais que sofrem fortes influências antrópicas, com descargas de esgotos domésticos, resíduos industriais e portuários, apresentam concentrações de Hg no sedimento variando aproximadamente entre 500 e 3000 ng.g<sup>-1</sup>, como os valores registrados por Kehrig et al. (2003) e Covelli et al. (2012) na região da Baía de Guanabara, no Estado do Rio de Janeiro.

Os riscos mais preocupantes em relação ao Hg estão associados a seu potencial de biomagnificação na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos (Liu et al., 2011; Lavoie et al., 2013; Anderoli e Sprovieri, 2017). A relação entre os isótopos de  $\delta^{15}$ N e Hg tem sido uma das abordagens mais utilizadas para inferir sobre a ocorrência da biomagnificação do Hg e avaliar as potenciais ameaças para o ecossistema e a população humana (Chen et al., 2008; Di Beneditto et al., 2012, 2013; Kehrig et al., 2013, 2017). No presente estudo, os resultados entre os dois parâmetros nos caranguejos em relação às suas prováveis fontes alimentares (Figura 2) sugerem que nas áreas 1 e 3 *G. cruentata* encontra-se uma posição trófica acima do *A. pisonii* e *U. cordatus*, enquanto estes compartilham o mesmo nível trófico (NT). O mesmo padrão foi reportado no estudo de Giarrizzo et al. (2011) (*G. cruentata* NT = 3, *A. pisonii* e *U. cordatus* NT=2). Pode ser observado também concentrações crescentes de Hg nos caranguejos *U. cordatus* <a href="https://www.nteatua.com/mailto/sugerind/sug

À vista disso, os resultados da associação entre  $\delta^{15}N$  e Hg nos compartimentos analisados indicam a ocorrência da biomagnificação do Hg na cadeia alimentar no estuário da área 1, onde foram reportadas as maiores concentrações do elemento, corroborando com a segunda hipótese. Na área 3, há um risco em potencial associado à biomagnificação do Hg na cadeia alimentar caso haja alterações nas fontes de entrada de Hg no ecossistema em consequências das ações antrópicas, como surgimento de fontes pontuais de contaminação, ou ainda, pela intensificação dos processos de deposição atmosférica. As vias de entrada atmosférica do Hg (deposição úmida e seca) nos ecossistemas florestais tem gerado preocupações a nível global (Driscoll et al., 2013; Wang et al., 2016; Wright et al., 2016). Isso se deve a notável capacidade de circulação atmosférica das formas gasosas do Hg e seu longo tempo de permanência na atmosfera (em média 1 ano, Schroeder e Munthe, 1998). O Hg pode percorrer longas distâncias desde sua fonte de emissão (dependendo da forma química) até condições propícias à sua deposição, sendo, portanto, considerado um poluente global (Driscoll et al., 2013; Travnikov et al., 2017). Alguns estudos tem relatado um aumento nas concentrações de Hg em regiões remotas ou com pouca influência antrópica, associando ao aporte do Hg via deposição atmosférica (Wang et al., 2016; Wright et al., 2016; Travnikov et al., 2017).

Os níveis de Hg reportados nos caranguejos no presente estudo estão abaixo da concentração máxima permitida para consumo humano (500 ng.g<sup>-1</sup> peso úmido) estabelecida pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1991), não acarretando em risco direto de consumo. Entretanto, nas áreas com potencial de biomagnificação na cadeia alimentar, espécies

de peixes que consomem esses caranguejos podem vir a ultrapassar as concentrações de Hg permitidas e gerar danos a população humana que ingere esses recursos. Na região Sudeste do Brasil (área 1) não há registro da exploração comercial dos caranguejos G. cruentata (que apresentaram os maiores níveis de Hg), diferente das regiões Norte e Nordeste, onde a espécie é considerada um importante recurso pesqueiro (Maciel e Alves, 2009; Menezes et al., 2012; Hirose et al., 2015). Contudo, a produção comercial do G. cruentata no Sudeste pode se tornar atrativa no futuro caso haja declínio das populações de U. cordatus devido a sobrepesca, como já tem sido reportado ao longo do litoral brasileiro (Botelho et al., 2004; Diele et al., 2005; Jankowski et al., 2006; Guerra et al., 2013; Reis et al., 2015). Alguns estudos já apontam consequências associadas ao crescimento considerável da produção do G. cruentata no Nordeste, como a redução no tamanho corporal, da abundância de indivíduos e do potencial reprodutivo da espécie (Hirose et al., 2015; Buranelli, 2016). Isso reforça a necessidade de desenvolver um plano de manejo para o uso sustentável da espécie, assim como há para U. cordatus (IBAMA, 2011). As informações disponíveis sobre a produção e estoque de G. cruentata no litoral brasileiro são escassas e sem atualização, o que acarreta em dados provavelmente subestimados gerando riscos as populações desses caranguejos devido à sobrepesca (Menezes et al., 2012; Hirose et al., 2015).

### 5. CONCLUSÃO

As maiores concentrações de Hg em todos os compartimentos analisados foram registradas na área 1 (Sudeste), seguido pela área 3 (Norte) e área 2 (Nordeste). No geral, foram observadas concentrações crescentes de Hg nos caranguejos *U. cordatus < A. pisonii < G. cruentata*. A relação entre os valores de  $\delta^{15}$ N e Hg nos caranguejos e suas fontes alimentares sugere a ocorrência de biomagnificação do Hg na cadeia alimentar da área 1 e em menor proporção na área 3. Os resultados da área 2 apresentaram um padrão distinto das demais regiões. A avaliação dos níveis de Hg nos caranguejos não indica riscos direto de consumo pela população humana. Entretanto, em áreas com potencial de biomagnificação na cadeia alimentar, organismos de níveis tróficos superiores podem vir a ultrapassar as concentrações de Hg permitidas, reforçando a necessidade de monitoramento dos níveis de contaminação nas regiões costeiras, prevenindo danos ao ecossistema e à saúde humana.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alongi, D.M. 2009. The energetics of mangrove forests. Springer, London, 228p.

Araújo, D. C. B. 2002. O Processo de herbivoria e os organismos causadores de danos foliares, em plantas de mangue na Área de Proteção Ambiental da Barra do Rio Mamanguape, Estado da Paraíba, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

Bastos, W. R., Malm, Pfeiffer, W. C., Cleary, D. 1998. Establishment and Analytical Quality Control of Laboratories for Hg Determination in Biological and Geological Samples in the Amazon, Brazil. *Ciência e Cultura*, *50*(4), 255 – 260.

Belligotti, F. M., Carreira, R. S., Soares, M. L. G. 2012. Contribuição ao estudo do aporte de matéria orgânica em sistemas costeiros: Hidrocarbonetos biogênicos em folhas de mangue. *Geochimica Brasiliensis*, 21(1), 71-85.

Bennett, P. M., Hobson, K. A. 2009. Trophic structure of a boreal forest arthropod community revealed by stable isotope ( $\delta^{13}$ C,  $\delta^{15}$ N) analyses. *Entomological Science*, *12*(1), 17-24.

Bernini, E., Ferreira, R., Silva, F. L. C., Mazurec, A. P., Nascimento, M. T., Rezende, C. E. 2010. Alterações na cobertura vegetal do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul no período de 1976 a 2001. *Revista da Gestão Costeira Integrada*, *2*, 1-9.

Bernini, E., Rezende, C.E. 2011. Vegetation structure in a mangrove forest in Southeastern Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 6(3), 193–209.

Bertani, R., Godé, L., Kury, A., Célérier, M.L. 2015. Aracnídeos (Arachnida) da Reserva Bilógica da Pedra Talhada. *In:* Studer, A., Nusbaumer, L., Spichiger, R. Biodiversidade da Reserva Biológica de Pedra Talhada. Alagoas, Pernambuco, Brasil. *Boissiera: mémoires des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève*, (68), 1-818.

Bishop, K. H., Lee, Y.H., Munthe, J., Dambrine, E. 1998. Xylem sap as a pathway for total mercury and methylmercury transport from soils to tree canopy in the boreal forest. *Biogeochemistry*, 40, 2-3.

Botelho, R.O., Andrade, C.E.R., Santos, M.C.F. 2004. Estudo da População de Aratu-do-Mangue, *Goniopsis cruentata* (Latraille, 1803) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) no Estuário do Rio Camaragibe (Alagoas - Brasil). Boletim Técnico Científico do CEPENE/IBAMA, 12(1), 91-98.

Buchman, M.F.,2008. NOAA Screening Quick Reference Tables, NOAA OR&R Report 08-1, Seattle WA, Office of Response and Restoriation Division, National Oceanic and Atmospheric Administration. 34p. Buranelli, R. C. 2016. Variabilidade populacional em manguezais: analyses moleculares e morfológicas em caranguejos Brachyura (Crustacea: Decapoda). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 188p.

Câmara, V.M., Campos, R.C., Perez, M.A., Tambelini, A.T., Klein, C.H. 1986. Teores de mercúrio no cabelo: Um estudo comparativo em trabalhadores da lavoura de cana-de-açúcar com exposição progressiva aos fungididas organo-mercuriais no município de Campos. *Cadernos de Saúde Pública*, *2* (3), 359-372.

Chakraborty, P., Sarkar, A., Vudamala, K., Naik, R., Nath, B. N. 2015. Organic matter—a key factor in controlling mercury distribution in estuarine sediment. *Marine Chemistry*, *173*, 302-309.

Chakraborty, P., Sharma, B., Babu, P. R., Yao, K. M., Jaychandran, S. 2014. Impact of total organic carbon (in sediments) and dissolved organic carbon (in overlying water column) on Hg sequestration by coastal sediments from the central east coast of India. *Marine pollution bulletin*, *79*(1-2), 342-347.

Chen, C., Amirbahman, A., Fisher, N., Harding, G., Lamborg, C., Nacci, D., Taylor, D. 2008. Methylmercury in marine ecosystems: spatial patterns and processes of production, bioaccumulation, and biomagnification. *EcoHealth*, *5*(4), 399-408.

Claudino, M. C., Pessanha, A. L. M., Araújo, F. G., Garcia, A. M. 2015. Trophic connectivity and basal food sources sustaining tropical aquatic consumers along a mangrove to ocean gradient. *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 167*, 45-55.

Correia, R. R. S., Guimarães, J. R. D. 2016. Impacts of crab bioturbation and local pollution on sulfate reduction, Hg distribution and methylation in mangrove sediments, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine pollution bulletin*, *109*(1); 453-460.

Correia, R. R. S., Guimarães, J. R. D. 2017. Mercury methylation and sulfate reduction rates in mangrove sediments, Rio de Janeiro, Brazil: the role of different microorganism consortia. *Chemosphere*, *167*, 438-443.

Covelli, S., Protopsalti, I., Acquavita, A., Sperle, M., Bonardi, M., Emili, A. 2012. Spatial variation, speciation and sedimentary records of mercury in the Guanabara Bay (Rio de Janeiro, Brazil). *Continental Shelf Research*, *35*, 29-42.

Di Beneditto, A. P. M., Bittar, V. T., Camargo, P. B., Rezende, C. E., Kehrig, H. A. 2012. Mercury and nitrogen isotope in a marine species from a tropical coastal food web. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 62(2), 264-271.

Di Beneditto, A. P. M. D., Bittar, V. T., Rezende, C. E. D., Camargo, P. B., Kehrig, H. A. 2013. Mercury and stable isotopes ( $\delta^{15}$ N and  $\delta^{13}$ C) as tracers during the ontogeny of Trichiurus lepturus. *Neotropical Ichthyology*, *11*(1), 211-216. Diele, K., Koch, V., Saint-Paul, U. 2005. Population structure, catch composition and CPUE of the artisanally harvested mangrove crab *Ucides cordatus* (Ocypodidae) in the Caeté estuary, North Brazil: Indications for overfishing? *Aquatic Living Resources*, *18*(2), 169-178.

Ding, Z., Wu, H., Feng, X., Liu, J., Yuan, Y., Zhang, L., Lin, G., Jiayong, P. 2011. Distribution of Hg in mangrove trees and its implication for Hg enrichment in the mangrove ecosystem. *Applied Geochemistry*, *26*, 205-212.

Dorea, J., Barbosa, A., Ferrari, Í., De Souza, J. 2003. Mercury in hair and in fish consumed by Riparian women of the Rio Negro, Amazon, Brazil. *International Journal of Environmental Health Research*, *13*(3), 239-248.

Driscoll, C. T., Mason, R. P., Chan, H. M., Jacob, D. J., Pirrone, N. 2013. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environmental science & technology*, *47*(10), 4967-4983.

Duarte, L. F. A., de Souza, C. A., Nobre, C. R., Pereira, C. D. S., Pinheiro, M. A. A. 2016. Multi-level biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae) as indicators of conservation status in mangrove areas from the western atlantic. *Ecotoxicology and environmental safety*, *133*, 176-187.

Ericksen, J. A., Gustin, M. S., Schorran, D. E., Johnson, D. W., Lindberg, S. E., Coleman, J. S. 2003. Accumulation of atmospheric mercury in forest foliage. *Atmospheric Environment*, *37*(12), 1613-1622.

FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. 2007. The world's mangrove 1980–2005. FAO Forestry Paper, Rome, 153.

Fitzgerald, W. F., Lamborg, C. H., Hammerschmidt, C. R. 2007. Marine biogeochemical cycling of mercury. *Chemical Reviews*, *107*(2), 641-662.

Fragoso, C. P., Bernini, E., Araújo, B. F., de Almeida, M. G., de Rezende, C. E. 2018. Mercury in litterfall and sediment using elemental and isotopic composition of carbon and nitrogen in the mangrove of Southeastern Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 202, 30-39.

Giarrizzo, T., Schwamborn, R., Saint-Paul, U. 2011. Utilization of carbon sources in a northern Brazilian mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *95*(4), 447-457.

Graydon, J.A., St. Louis, V.L., Hintelmann, H., Lindberg, S.E., Sandilands, K.A., Rudd, J. W., Lehnherr, I. 2009. Investigation of uptake and retention of atmospheric Hg (II) by boreal forest plants using stable Hg isotopes. *Environmental Science & Technology*, *43*(13), 4960-4966.

Guerra, R.S., Nascimento, M.M.F., Miesch, S., Najafzadeh, M.J., Ribeiro, R.O., Ostrensky, A., Hooq, G.S., Vicente, V.A., Boeger, W.A. 2013. Black yeast biota in the mangrove, in search of the origin of the lethargic crab disease (LCD). *Mycopathologia*, *175*(5-6), 421-430.

Haris, H., Aris, A. Z., Mokhtar, M. B. 2017. Mercury and methylmercury distribution in the intertidal surface sediment of a heavily anthrophogenically impacted saltwater-mangrove-sediment interplay zone. *Chemosphere*, *166*, 323-333.

Hirose, G.L., Souza, L.S., Alves, D.F.R., Negreiros-Fransozo, M.L. 2015. Population structure of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Dexapoda: Grapsidae) under different fishery impacts: Implications for resource management. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 63(2), 443-457.

IBAMA. 2011. Proposta de Plano Nacional de Gestão para o uso sustentável do Caranguejo-Uçá, do Guaiamum e do Siri-Azul. Série Plano de Gestão Recursos Pesqueiros, 4- 156p.

IBAMA. 2004. Boletim Estatístico da Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil – 2003. Tamandaré, 209p.

IBAMA. 2005. Boletim Estatístico da Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil – 2004. Tamandaré, 157p.

IBAMA. 2006. Boletim Estatístico da Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil – 2005. Tamandaré, 157p.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2011. Plano de ação nacional para a conservação das espécies aquáticas ameaçadas de extinção da Bacia do Rio Paraíba do Sul. Séries Espécies Ameaçadas: 16. Brasília, DF. 140p.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2012. Plano de manejo da Reserva Extrativista Marinha de Caeté – Taperaçu (PA). Vol.1. Diagnóstico da Unidade de Conservação. Brasília, DF. 109p.

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2014. Plano de Manejo: Área de Proteção Ambiental da Barra do rio Mamanguape e Área de Relevante Valor Ecológico de Manguezais da Foz do rio Mamanguape. Brasília, 335p.

Jankowski, M., Pires, J.S.R., Nordi, N. 2006. Contribuição ao manejo participativo do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) em Cananeia, SP. *Boletim do Instituto de Pesca.*, *32*(2), 221-228.

Jones, H. J., Swadling, K. M., Butler, E. C. V., Barry, L. A., Macleod, C. K. 2014. Application of stable isotope mixing models for defining trophic biomagnification pathways of mercury and selenium. *Limnology and oceanography*, *59*(4), 1181-1192.

Kathiresan, K., Bingham, B.L. 2001. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. *Advances in Marine Biology*, 40, 81-251.

Kehrig, H.A., Pinto, F.N., Moreira, I., Malm, O. 2003. Heavy metals and methylmercury in a tropical coastal estuary and a mangrove in Brazil. Organic *Geochemistry*, *34*(5), 661–669.

Kehrig, H. A., Seixas, T. G., Malm, O., Di Beneditto, A. P. M., Rezende, C. E. 2013. Mercury and selenium biomagnification in a Brazilian coastal food web using nitrogen stable isotope analysis: a case study in an area under the influence of the Paraiba do Sul River plume. *Marine pollution bulletin*, *75*(1), 283-290.

Kehrig, H. A., Baptista, G., Di Beneditto, A. P. M., Almeida, M. G., Rezende, C. E., Siciliano, S., Moreira, I. 2017. Biomagnificación de mercurio en la cadena trófica del Delfín Moteado del Atlántico (Stenella frontalis), usando el isótopo estable de nitrógeno como marcador ecológico. *Revista de biología marina y oceanografía*, *52*(2), 233-244.

Kennedy, P., Kennedy, H., Papadimitrious, S. 2005. The effect of acidification on the determination of organic carbon, total nitrogen and their stable isotopic composition in algae and marine sediment. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, *19*, 1063-1068.

Koch, V., Wolff, M. 2002. Energy budget and ecological role of mangrove epibenthos in the Caeté estuary, North Brazil. *Marine Ecology Progress Series*, 228, 119–130.

Lacerda, L.D.; Carvalho, C.E.V.; Rezende, C.E.; Pfeiffer, W.C. 1993. Mercury in sediments from the Paraíba do Sul River Continental Shelf, S.E., Brazil. *Marine Pollution Bulletin, 26*, 220-222.

Laurier, F. J. G., Cossa, D., Gonzalez, J. L., Breviere, E., Sarazin, G. 2003. Mercury transformations and exchanges in a high turbidity estuary: The role of organic matter and amorphous oxyhydroxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(18), 3329-3345.

Lavoie, R. A., Jardine, T. D., Chumchal, M. M., Kidd, K. A., Campbell, L. M. 2013. Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis. *Environmental Science & Technology*, *47*(23), 13385-13394.

Layman, C. A., Araujo, M. S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C. M., Harrison, E., Jud, Z. R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D. M., Bearhop, S. 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 87(3), 545-562.

Lei, P., Zhong, H., Duan, D., Pan, K. 2019. A review on mercury biogeochemistry in mangrove sediments: Hotspots of methylmercury production? *Science of The Total Environment, 680,* 140-150.

Lima-Gomes, R. C., Cobo, V. J., Fransozo, A. 2011. Feeding behaviour and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. *Crustaceana*, 735-747.

Lin, P., Wang, W. Q. 2001. Changes in the leaf composition, leaf mass and leaf area during leaf senescence in three species of mangroves. *Ecological Engineering*, *16*(3), 415-424.

Linton, S. M., Greenaway, P. 2007. A review of feeding and nutrition of herbivorous land crabs: adaptations to low quality plant diets. *Journal of Comparative Physiology*, 177, 269–86.

López, B., Conde, J. E. 2013. Dietary variation in the crab *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837(Decapoda, Sesarmidae) in a mangrove gradient in northwestern Venezuela. *Crustaceana*, 86(9), 1051-1069.

Liu, G., Cai, Y., Driscoll, N. O. 2011. Environmental chemistry and toxicology of mercury. John Wiley & Sons. 574p.

Maciel, D.C., Alves, A.G.C. 2009. Conhecimentos e práticas locais relacionados ao aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) em Barra de Sirinhaém, litoral sul de Pernambuco, Brasil. *Biota Neotropica*, *9*(4), 29-36.

Marins, R. V., de Paula Filho, F. J., Maia, S. R. R., de Lacerda, L. D., Marques, W. S. 2004. Distribuição de mercúrio total como indicador de poluição urbana e industrial na costa brasileira. *Química Nova*, *27*, 763-770.

Mason, R. P., Kim, E. H., Cornwell, J., Heyes, D. 2006. An examination of the factors influencing the flux of mercury, methylmercury and other constituents from estuarine sediment. *Marine Chemistry*, *102*(1-2), 96-110.

Mehlig, U. 2006. Phenology of the red mangrove, *Rhizophora mangle* L., in the Caeté Estuary, Pará, equatorial Brazil. *Aquatic Botany*, 84(2), 158-164.

Melo, G. A. S. 1996. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo: Plêiade, 603p.

Menezes, M., Berger, U., Worbes, M. 2003. Annual growth rings and long-term growth patterns of mangrove trees from the Bragança peninsula, North Brazil. *Wetlands Ecology and Management*, 11(4), 233-242.

Menezes, A.P.D., Araújo, M.S.L.C., Calado, T.C.S. 2012. Bioecologia de *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidade) do complexo estuarino lagunar Mundaú/Manguaba, Alagoas, Brasil. *Natural Resources*, 2(2), 37-49.

Nordhaus, I. 2004. Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *Ucides cordatus* (Decapoda: Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil. Tese de Doutorado, ZMT Contribution 18, Bremen, Alemanha.

Nordhaus, I., Wolff, M. 2007. Feeding ecology of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Ocypodidae): food choice, food quality and assimilation efficiency. *Marine Biology*, *151*(5), 1665–1681.

Nordhaus, I., Diele, K., Wolff, M. 2009. Activity patterns, feeding and burrowing behaviour of the crab Ucides cordatus (Ucididae) in a high intertidal mangrove forest in North Brazil. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *374*(2), 104-112.

Ortiz, C., Weiss-Penzias, P. S., Fork, S., Flegal, A. R. 2015. Total and monomethyl mercury in terrestrial arthropods from the central California coast. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *94*(4), 425-430.

Pinheiro, M. A. A., e Silva, P. P. G., de Almeida Duarte, L. F., Almeida, A. A., Zanotto, F. P. 2012. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *81*, 114-121.

Pinheiro, M. A. A., Duarte, L. F. A., Toledo, T. R., Adam, M. L., Torres, R. A. 2013. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. *Environmental monitoring and assessment*, *185*(10), 8273-8285.

Rafael, J. A., Melo, G. A. R., de Carvalho, C. J. B. casari, S. A., Constatino, R. 2012. Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia. Editora Holos. Ribeirão Preto, SP. 795p. Ravichandran, M. 2004. Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review. *Chemosphere*, *55*(3), 319-331.

Reis, C. R., Taddei, F. G., Cobo, V. J. 2015. Growth and reproduction of the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) in southeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 699-711.

Rice, D. C., Schoeny, R., Mahaffey, K. 2003. Methods and rationale for derivation of a reference dose for methylmercury by the US EPA. *Risk Analysis: An International JournaL*, 23(1), 107-115.

Rimmer, C. C., Miller, E. K., McFarland, K. P., Taylor, R. J., Faccio, S. D. 2010. Mercury bioaccumulation and trophic transfer in the terrestrial food web of a montane forest. *Ecotoxicology*, *19*(4), 697-709.

Risch, M. R., Dewild, J. F., Gay, D.A., Zhang, L., Boyer, E. W., Krabbenhoft, D. P. 2017. Atmospheric mercury deposition to forests in the eastern USA. *Environmental Pollution*, 228, 8-18.

Sanders, C. J., Santos, I. R., Silva-Filho, E. V., Patchineelam, S. R. 2008. Contrasting mercury and manganese deposition in a mangrove-dominated estuary (Guaratuba Bay, Brazil). *Geo-Marine Letters*, 28(4), 239-244.

Santos, E.J., Herrmann, A.B., Frescura V.L.A., Curtius, A.J. 2005. Simultaneous determination of As, Hg, Sb, Se and Sn in sediments by slurry sampling axial view inductively coupled plasma

optical emission spectrometry using on-line chemical vapor generation with internal standardization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20, 538.

Schroeder, W. H., Munthe, J. 1998. Atmospheric mercury—an overview. Atmospheric environment, 32(5), 809-822.

Silva, G. S. D., Bisinoti, M. C., Fadini, P. S., Magarelli, G., Jardim, W. F., Fostier, A. H. 2009. Major aspects of the mercury cycle in the Negro River Basin, Amazon. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(6), 1127-1134.

Silvestre, L. C., Farias, D. L. S., Lourenço, J. D. S., Barros, S. C. A., Braga, N. M. P. 2011. Diagnóstico dos impactos ambientais advindo de atividades antrópicas na APA da Barra do Rio Mamanguape. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer-Goiânia*, 7(12), 1-11.

Soto, R. 1992. Nutrient concentration and retranslocation in coastal vegetation and mangroves from the Pacific coast of Costa Rica. *Brenesia (Costa Rica), 37, 33-50.* 

Spalding, M., Kainuma, M., Collins, L. 2010. World Atlas of Mangroves. Earthscan, London, UK, 319p.

Stamenkovic, J. Gustin, M.S. 2009. Nonstomatal versus Stomatal Uptake of Atmospheric Mercury. *Environmental Science Technology* 43, 1367-1372.

Travnikov, O., Angot, H., Artaxo, P., Bencardino, M., Bieser, J., D'Amore, F., Ebinghaus, R. 2017. Multi-model study of mercury dispersion in the atmosphere: atmospheric processes and model evaluation. *Atmospheric chemistry and physics*, 5271-5295.

Vander Zanden, M.J., Chandra, S., Allen, B.C., Reuter, J.E., Goldman, C.R. 2003. Historical food web structure and restoration of native aquatic communities in the Lake Tahoe (California –Nevada) Basin. *Ecosystems* 6, 274–288.

Vilhena, M.P.S.P., Costa, M.L., Berrêdo, J.F., Sá, G.C., Costa, A.M., Santos, E.O., Brabo, E.S. 2003. Mercúrio em sedimentos de mangues, caranguejos (*Ucides cordatus*) e cabelos humanos em torno dos manguezais do Nordeste do Pará. *Geochimica Brasiliensis*, *17*(2), 121–129.

Vilhena, M. S., Costa, M. L., Berredo, J. F. 2013. Accumulation and transfer of Hg, As, Se, and other metals in the sediment-vegetation-crab-human food chain in the coastal zone of the northern Brazilian state of Pará (Amazonia). *Environmental Geochemistry and Health*, *35*(4), 477-494.

Wang, X., Bao, Z., Lin, C.J., Yuan, W., Feng, X. 2016. Assessment of global mercury deposition through litterfall. *Environmental Science & Technology*, *50*(16), 8548-8557.

Wang, W., Lin, P. 1999. Transfer of salt and nutrients in Bruguiera gymnorrhiza leaves during development and senescence. *Mangroves and Salt Marshes*, *3*(1), 1-7.

WHO. 1991. Inorganic mercury. IPCS, Environmental Health Criteria. Geneva: World Health Organization, *118*, 84-114.

Wright, L. P., Zhang, L., Marsik, F. J. 2016. Overview of mercury dry deposition, litterfall, and throughfall studies. *Atmospheric Chemistry and Physics*, *16*(21), 13399-13416.

Yu, X., Li, H., Pan, K., Yan, Y., Wang, W. X. 2012. Mercury distribution, speciation and bioavailability in sediments from the Pearl River Estuary, Southern China. *Marine pollution bulletin*, *64*(8), 1699-1704.

## 2. DISCUSSÃO GERAL

Os dados referentes à ecologia trófica dos caranguejos (Capítulo 2) indicam uma plasticidade alimentar das espécies, não sendo observado um padrão geral entre as três comunidades estudadas. Uma mesma espécie animal pode adaptar alguns aspectos de seu comportamento alimentar em função da disponibilidade de recursos, seu requerimento nutricional e condições específicas de cada ecossistema (Linton e Greenaway, 2007; Kristensen et al., 2017; Pereira et al., 2019). A seleção por folhas realizada pelo *U. cordatus* variou provavelmente em função da espécie vegetal de maior dominância em cada manguezal. Contudo, no geral *R. mangle* foi a espécie mais consumida pelos caranguejos, o que possivelmente reflete o eficiente sistema adaptativo dos caranguejos para lidar com altas concentrações de taninos (Nordhaus, 2004; Linton e Greenaway, 2007). As espécies onívoras *A. pisonii* e *G. cruentata* mostraram uma preferência pelo recurso animal nas áreas 1 (Sudeste) e 3 (Norte), enquanto na área 2 (Nordeste) o consumo de tecidos vegetais se mostrou importante.

Os modelos de nicho isotópico nos caranguejos reforçam os hábitos tróficos distintos e indicam que as espécies não compartilham o mesmo nicho dentro da comunidade (Capítulo 2) (Jackson et al., 2011; Yakel et al., 2016). As métricas quantitativas de nicho indicam que *G. cruentata* explora uma faixa mais ampla de recursos alimentares, apontado pela maior largura de nicho e maior diversidade trófica nas comunidades estudadas. Os aspectos da ecologia trófica dos caranguejos refletiram diretamente nas concentrações de Hg em cada região (Capítulo 3).

Todas as regiões apresentaram dinâmicas distintas nas razões elementares e isotópicas e nos valores de Hg nos caranguejos, suas potenciais fontes alimentares (folhas e artrópodes) e sedimento (Capítulo 3). Os resultados da área 1 se distinguiram das demais regiões, embora se observe alguns aspectos similares na área 3. Em ambas as áreas o alinhamento dos organismos nos valores de  $\delta^{15}$ N sugerem que *G. cruentata* está uma posição trófica acima de suas potenciais fontes alimentares. Já na área 2 os dados apontam um padrão diferenciado na ecologia trófica dos caranguejos, onde *G. cruentata* e *A. pisonii* estariam compartilhando o mesmo nível trófico. Esses resultados influenciam diretamente no potencial de biomagnificação do Hg na cadeia alimentar dos ecossistemas, já que as maiores concentrações de Hg foram observadas no *G. cruentata*.

Na área 1 foram reportados os maiores valores de Hg em todos os compartimentos analisados, provavelmente devido ao registro histórico de uso do Hg na região. A relação com os isótopos de  $\delta^{15}$ N indicam a ocorrência da biomagnificação do Hg na cadeia alimentar da região. Nas áreas 2 e 3 os valores de Hg foram próximos a regiões consideradas remotas ou de
pouca influência antrópica. Contudo, mesmo com baixas concentrações, a associação entre  $\delta^{15}$ N e Hg na área 3 mostram um potencial para biomagnificação do Hg na cadeia alimentar. Isso reforça a necessidade de monitoramento constante das potenciais fontes de contaminação e impactos antrópicos para prevenir futuros danos ao ecossistema e a saúde da população humana que consome esses caranguejos.

As concentrações de Hg nos caranguejos analisados não apontam riscos diretos para seu consumo. Mas uma questão importante em relação ao consumo dos caranguejos *G. cruentata* nas regiões Norte e Nordeste é a forma que são comercializados. Diferente do *U. cordatus*, geralmente os indivíduos de *G. cruentata* não são vendidos inteiros, mas como uma carne processada, conhecida porpularmente como "catado". Para produção de 1 kg de carne processada são necessários uma média de 120 a 150 caranguejos adultos (Hirose et al., 2015). Pensando em níveis de contaminação, caso haja alteração nas concentrações de Hg nos caranguejos a comercialização desse concentrado de tecido muscular seria um problema, gerando potenciais riscos à saúde humana. Deve-se levar em conta também a crescente produção de *G. cruentata* registrada no Norte e Nordeste, provavelmente subestimada, que pode se expandir para outras regiões do país no caso de uma redução acentuada no estoque pesqueiro de *U. cordatus*.

## **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

- Os modelos de assimilação alimentar e nicho isotópico não apontaram um padrão geral na ecologia trófica das espécies de caranguejos entre as áreas analisadas, indicando adaptações no comportamento alimentar dos caranguejos em função da disponibilidade de recursos e características específicas de cada localidade.
- Goniopsis cruentata foi a espécie de caranguejo com maior amplitude nicho isotópico e maior diversidade trófica nas três comunidades analisadas. Os dados das áreas 1 e 3 sugeriram que a espécie ocupa uma posição trófica superior aos demais caranguejos e, foi a espécie com maiores concentrações de Hg em todas as áreas.
- Os resultados da relação entre a composição isotópica do δ<sup>15</sup>N e as concentrações de Hg indicaram a ocorrência da biomagnificação do Hg no estuário da área 1 (Sudeste), que apresentou os maiores valores do elemento em todos os compartimentos. Na área 3 (Norte) foi observado um padrão similar, indicando um potencial para biomagnificação do Hg na cadeia alimentar do ecossistema.

- O registro da biomagnificação do Hg nos estuários alerta para a necessidade de acompanhamento dos níveis de Hg em níveis tróficos superiores das cadeias alimentares costeiras.
- Os resultados da área 2 (Nordeste) mostraram um padrão diferenciado na ecologia trófica dos caranguejos e na dinâmica do Hg associado a matéria orgânica do ecossistema.
- Os dados apresentados apontam os potenciais riscos da crescente exploração comercial dos caranguejos *G. cruentata*, uma espécie importante na cadeia alimentar estuarina e ainda pouco estudada. Isso reforça a necessidade de elaboração de um plano de manejo para uso sustentável da espécie nas regiões costeiras do Brasil.

## 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alongi, D.M. 2009. The energetics of mangrove forests. Springer, London, 228 p.

Andrade, E. B., Júnior, T. L., Júnior, J. M. A. L., Leite, J. R. S. A. 2012. Predation by native fish and feeding by crab species on *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro, 1926 (Anura: Leptodactylidae) in northeastern, Brazil. *Herpetology Notes*, *5*, 173-175.

Bergamaschi, B. A., Krabbenhoft, D. P., Aiken, G. R., Patino, E., Rumbold, D. G., Orem, W. H. 2012. Tidally driven export of dissolved organic carbon, total mercury, and methylmercury from a mangrove-dominated estuary. *Environmental Science & Technology*, *46*(3), 1371-1378.

Bishop, K. H., Lee, Y.H., Munthe, J., Dambrine, E. 1998. Xylem sap as a pathway for total mercury and methylmercury transport from soils to tree canopy in the boreal forest. *Biogeochemistry*, 40, 2-3.

Botelho, R.O., Andrade, C.E.R., Santos, M.C.F. 2004. Estudo da População de Aratu-do-Mangue, *Goniopsis cruentata* (Latraille, 1803) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) no Estuário do Rio Camaragibe (Alagoas - Brasil). Boletim Técnico Científico do CEPENE/IBAMA, 12(1), 91-98.

Buranelli, R. C. 2016. Variabilidade populacional em manguezais:análises moleculares e morfológicas em caranguejos Brachyura (Crustacea: Decapoda). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. 188p.

Costa, T.M.M., Pitombo, F.B., Soares-Gomes, A. 2014. The population biology of the exploited crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in a southeastern Atlantic Coast mangrove area, Brazil. *Invertebr. Reprod. Dev.* 58, 259–268.

Chakraborty, P., Sarkar, A., Vudamala, K., Naik, R., Nath, B. N. 2015. Organic matter—a key factor in controlling mercury distribution in estuarine sediment. *Marine Chemistry*, *173*, 302-309.

Chakraborty, P., Sharma, B., Babu, P. R., Yao, K. M., Jaychandran, S. 2014. Impact of total organic carbon (in sediments) and dissolved organic carbon (in overlying water column) on Hg sequestration by coastal sediments from the central east coast of India. *Marine pollution bulletin*, *79*(1-2), 342-347.

Chen, C., Amirbahman, A., Fisher, N., Harding, G., Lamborg, C., Nacci, D., Taylor, D. 2008. Methylmercury in marine ecosystems: spatial patterns and processes of production, bioaccumulation, and biomagnification. *EcoHealth*, *5*(4), 399-408.

Christofoletti, R.A. 2005. Ecologia trófica do Caranguejo-Uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Ocypodidae) e o fluxo de nutrientes em bosques de mangue, na região de Iguape (SP). Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 127p.

Davanso, M. B., Moreira, L. B., Pimentel, M. F., Costa-Lotufo, L. V., de Souza Abessa, D. M. 2013. Biomarkers in mangrove root crab *Goniopsis cruentata* for evaluating quality of tropical estuaries. *Marine environmental research*, *91*, 80-88.

Dorea, J., Barbosa, A., Ferrari, Í., De Souza, J. 2003. Mercury in hair and in fish consumed by Riparian women of the Rio Negro, Amazon, Brazil. *International Journal of Environmental Health Research*, *13*(3), 239-248.

Driscoll, C. T., Mason, R. P., Chan, H. M., Jacob, D. J., Pirrone, N. 2013. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environmental science & technology*, *47*(10), 4967-4983.

Duarte, L. F. A., de Souza, C. A., Nobre, C. R., Pereira, C. D. S., Pinheiro, M. A. A. 2016. Multi-level biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae) as indicators of conservation status in mangrove areas from the western atlantic. *Ecotoxicology and environmental safety*, 133, 176-187.

Duarte, L. F. A., de Souza, C. A., Pereira, C. D. S., Pinheiro, M. A. A. 2017. Metal toxicity assessment by sentinel species of mangroves: In situ case study integrating chemical and biomarkers analyses. *Ecotoxicology and environmental safety*, *145*, 367-376.

Erickson, A.A., Bell, S. S., Dawes, C. J. 2004. Does mangrove leaf chemistry help explain crab herbivory patterns? *Biotropica*, *36*(3), 333-343.

Erickson, A.A., Feller, I.C., Paul, V.J., Kwiatkowski, L.M., Lee, W. 2008. Selection of an omnivorous diet by the mangrove tree crab *Aratus pisonii* in laboratory experiments. *Journal of Sea Research*, 59(1-2), 59–69.

Erickson, A.A., Saltis, M., Bell, S.S., Dawes, C.J. 2003. Herbivore feeding preferences as measured by leaf damage and stomatal ingestion: a mangrove crab example. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289(1), 123–138.

Gustin, M. S., Amos, H. M., Huang, J., Miller, M. B., Heidecorn, K. 2015. Measuring and modeling mercury in the atmosphere: a critical review. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 15(10), 5697-5713.

Haris, H., Aris, A. Z., Mokhtar, M. B. 2017. Mercury and methylmercury distribution in the intertidal surface sediment of a heavily anthrophogenically impacted saltwater-mangrove-sediment interplay zone. *Chemosphere*, *166*, 323-333.

Hirose, G. L., Souza, L. S., Silva, S. L., Alves, D. F., Negreiros-Fransozo, M. L. 2015. Population structure of the red mangrove crab, *Goniopsis cruentata* (Decapoda: *Grapsidae*) under different fishery impacts: Implications for resource management. *Revista de Biología Tropical*, *63*(2), 443-457.

Jackson, A. L., Inger, R., Parnell, A. C., Bearhop, S. 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER–Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, *80*(3), 595-602.

Kathiresan, K., Bingham, B.L. 2001. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. *Advances in Marine Biology*, 40, 81-251.

Koch, V., Wolff, M. 2002. Energy budget and ecological role of mangrove epibenthos in the Caete estuary, North Brazil. *Marine Ecology Progress Series*, 228, 119–130.

Kristensen, E. 2008. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. *Journal of sea Research*, 59(1-2), 30-43.

Kristensen, E., Lee, S. Y., Mangion, P., Quintana, C. O., Valdemarsen, T. 2017. Trophic discrimination of stable isotopes and potential food source partitioning by leaf-eating crabs in mangrove environments. *Limnology and Oceanography*, 62(5), 2097-2112.

Laurier, F. J. G., Cossa, D., Gonzalez, J. L., Breviere, E., Sarazin, G. 2003. Mercury transformations and exchanges in a high turbidity estuary: The role of organic matter and amorphous oxyhydroxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(18), 3329-3345.

Lei, P., Zhong, H., Duan, D., Pan, K. 2019. A review on mercury biogeochemistry in mangrove sediments: Hotspots of methylmercury production? *Science of The Total Environment*, *680*, 140-150.

Lima-Gomes, R. C., Cobo, V. J., Fransozo, A. 2011. Feeding behaviour and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. *Crustaceana*, 735-747.

Linton, S. M., Greenaway, P. 2007. A review of feeding and nutrition of herbivorous land crabs: adaptations to low quality plant diets. *Journal of Comparative Physiology*, 177, 269–86.

Lira, J. J. P. R., Calado, T. C. S., Araújo, M. S. L. C. 2013. Breeding period in the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Decapoda: Grapsidae) in Northeast Brazil. *Revista de biologia tropical*, *61*(1), 29-38.

Liu, G., Cai, Y., Driscoll, N. O. 2011. Environmental chemistry and toxicology of mercury. John Wiley & Sons. 574p.

López, B., Conde, J. E. 2013. Dietary variation in the crab *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards, 1837(Decapoda, Sesarmidae) in a mangrove gradient in northwestern Venezuela. *Crustaceana*, 86(9), 1051-1069.

Marins, R. V., de Paula Filho, F. J., Maia, S. R. R., de Lacerda, L. D., Marques, W. S. 2004. Distribuição de mercúrio total como indicador de poluição urbana e industrial na costa brasileira. *Química Nova*, *27*, 763-770.

Mason, R. P., Kim, E. H., Cornwell, J., Heyes, D. 2006. An examination of the factors influencing the flux of mercury, methylmercury and other constituents from estuarine sediment. *Marine Chemistry*, *102*(1-2), 96-110.

Melo, G. A. S. 1996. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo: Plêiade, 603p.

Menezes, A.P.D., Araújo, M.S.L.C., Calado, T.C.S. 2012. Bioecologia de *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidade) do complexo estuarino lagunar Mundaú/Manguaba, Alagoas, Brasil. *Natural Resources*, 2(2), 37-49.

Nascimento, S.A. 1993. Biologia do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*). Administração Estadual do Meio Ambiente (ADEMA), Aracajú, SE, 45 p.

Nordhaus, I. 2004. Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *U. cordatus* (Decapoda: Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil. Ph.D. thesis, ZMT, Contribution 18, Bremen, Germany. 217p.

Nordhaus, I., Wolff, M., Diele, K. 2006. Litter processing and population food intake of the mangrove crab *Ucides cordatus* in a high intertidal forest in northern Brazil. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 67, 239–250.

Obrist, D., Kirk, J. L., Zhang, L., Sunderland, E. M., Jiskra, M., Selin, N. E. 2018. A review of global environmental mercury processes in response to human and natural perturbations: Changes of emissions, climate, and land use. *Ambio*, *47*(2), 116-140.

Ortega, P., Vitorino, H. A., Moreira, R. G., Pinheiro, M. A., Almeida, A. A., Custódio, M. R., & Zanotto, F. P. (2017). Physiological differences in the crab Ucides cordatus from two

populations inhabiting mangroves with different levels of cadmium contamination. *Environmental toxicology and chemistry*, *36*(2), 361-371.

Pinheiro, M.A.A., Fiscarelli, A.G., Hattori, G.Y., 2005. Growth of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura, *Ocypodidae*). J. Crustacean Biol. 25, 293–301.

Pinheiro, M. A. A., e Silva, P. P. G., de Almeida Duarte, L. F., Almeida, A. A., Zanotto, F. P. 2012. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *81*, 114-121.

Pereira, T. M., Nóbrega, G. N., Ferreira, T. O., Ogawa, C. Y., de Camargo, P. B., Silva, J. R. F., Rezende, C. F. 2019. Does food partitioning vary in leaf-eating crabs in response to source quality? *Marine environmental research*, *144*, 72-83.

Pokharel, A. K., Obrist, D. 2011. Fate of mercury in tree litter during decomposition. *Biogeosciences*, 8(9), 2507–2521.

Ravichandran, M. 2004. Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review. *Chemosphere*, 55(3), 319-331.

Reis, C. R., Taddei, F. G., Cobo, V. J. 2015. Growth and reproduction of the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803(Crustacea: Decapoda: Grapsidae) in southeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 699-711.

Rice, D. C., Schoeny, R., Mahaffey, K. 2003. Methods and rationale for derivation of a reference dose for methylmercury by the US EPA. *Risk Analysis: An International JournaL*, 23(1), 107-115.

Riley, M. E., Vogel, M., Griffen, B. D. 2014. Fitness-associated consequences of an omnivorous diet for the mangrove tree crab *Aratus pisonii*. *Aquatic Biology*, 20(1), 35-43.

Risch, M. R., Dewild, J. F., Gay, D.A., Zhang, L., Boyer, E. W., Krabbenhoft, D. P. 2017. Atmospheric mercury deposition to forests in the eastern USA. *Environmental Pollution*, 228, 8-18.

Schaeffer-Novelli, Y. 1995. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo: Caribbean Ecological Research, 64p.

Schroeder, W.H, Munthe, J. 1998. Atmospheric Mercury-an Overview. Atmospheric Environment, 32(5), 809.

Souza, C. A., Duarte, L. F. A., João, M. C., Pinheiro, M. A. 2018. Biodiversidade e conservação dos manguezais: importância bioecológica e econômica. *Educação Ambiental sobre Manguezais*, Cap. 1, 16-56.

Spalding, M., Kainuma, M., Collins, L. 2010. World Atlas of Mangroves. Earthscan, London, UK, 319p.

St-Louis, V. L., Rudd, J. W. M., Kelly, C. A., Hall, B. D., Rolfhus, K. R., Scott, K. J., Lindberg, S. E., Dong, W. 2001. Importance of the Forest Canopy to Fluxes of Methyl Mercury and Total Mercury to Boreal Ecosystems. *Environmental Science Technology*, *35*, 3089-3098.

Wang, X., Bao, Z., Lin, C.J., Yuan, W., Feng, X. 2016. Assessment of global mercury deposition through litterfall. *Environmental Science & Technology*, *50*(16), 8548-8557.

Wright, L. P., Zhang, L., Marsik, F. J. 2016. Overview of mercury dry deposition, litterfall, and throughfall studies. *Atmospheric Chemistry and Physics*, *16*(21), 13399-13416.

Yeakel, J. D., Bhat, U., Elliott Smith, E. A., Newsome, S. D. 2016. Exploring the isotopic niche: Isotopic variance, physiological incorporation, and the temporal dynamics of foraging. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *4*, 1.

Yeager, L. A., Stoner, E. W., Peters, J. R., Layman, C. A. 2016. A terrestrial-aquatic food web subsidy is potentially mediated by multiple predator effects on an arboreal crab. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 475, 73-79.

Yu, X., Li, H., Pan, K., Yan, Y., Wang, W. X. 2012. Mercury distribution, speciation and bioavailability in sediments from the Pearl River Estuary, Southern China. *Marine pollution bulletin*, *64*(8), 1699-1704.

Zhang, L., Wright, L. P., Blanchard, P. 2009. A review of current knowledge concerning dry deposition of atmospheric mercury. *Atmospheric Environment*, *43*(37), 5853-5864.

Zhou, J., Feng, X., Liu, H., Zhang, H., Fu, X., Bao, Z., Zhang, Y. 2013. Examination of total mercury inputs by precipitation and litterfall in a remote upland forest of Southwestern China. *Atmospheric environment*, *81*, 364-372.

## **APÊNDICES**



**Figura A.1:** Valores de mediana para a composição isotópica do carbono nas espécies de caranguejos nos manguezais analisados. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).







**Figura A.2:** Valores de mediana para a composição isotópica do nitrogênio nas espécies de caranguejos nos manguezais analisados. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).



**Figura A.3:** Valores de mediana para a razão elementar  $(C:N)_a$  nas espécies de caranguejos nos manguezais analisados. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).



**Figura A.4:** Valores de mediana das concentrações de mercúrio nas espécies de caranguejos nos manguezais analisados. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).



**Figura A.5:** Valores de mediana para as razões elementares, isotópicas e concentrações de mercúrio nos caranguejos *U. cordatus* nas diferentes áreas. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).



**Figura A.6:** Valores de mediana para as razões elementares, isotópicas e concentrações de mercúrio nos caranguejos *A. pisonii* nas diferentes áreas. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).



**Figura A.7:** Valores de mediana para as razões elementares, isotópicas e concentrações de mercúrio nos caranguejos *G. cruentata* nas diferentes áreas. Letras diferentes indicam diferenças significativas. Área 1= rio Paraíba do Sul (RJ), Área 2= Barra do rio Mamanguape (PB) e Área 3= Bragança (PA).