Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes

Priscila de Oliveira Cunha

Influência do tamanho corporal, hora do dia, tipo de incubação e tempo na excreção de nutrientes de duas espécies de peixe e duas espécies de camarão em rios de Mata Atlântica

Rio de Janeiro
2016

Priscila de Oliveira Cunha

Influência do tamanho corporal, hora do dia, tipo de incubação e tempo na excreção de nutrientes de duas espécies de peixe e duas espécies de camarão em rios de Mata Atlântica

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, do Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.ª Dra. Eugenia Zandonà

Coorientador: Prof. Dr. Timothy Peter Moulton

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

C972 Cunha, Priscila de Oliveira.
Influência do tamanho corporal, hora do dia, tipo de incubação e tempo na excreção de nutrientes de duas espécies de peixe e duas espécies de camarão em rios de Mata Atlântica / Priscila de Oliveira Cunha. – 2016.
71f. : il.

Orientadora: Eugenia Zandonà.
Coorientador: Timothy Peter Moulton.
Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Ecologia aquática - Brasil - Teses. 2. Peixes - Excreção - Teses. 3.Camarão - Excreção - Teses. 4.Ecossistemas aquáticos - Mata Atlântica - Teses. 5. Impacto ambiental - Teses. I. Zandonà, Eugenia. II.Moulton, Timothy Peter. III.Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 574.5 (81)

Autorizo para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Priscila de Oliveira Cunha

Influência do tamanho corporal, hora do dia, tipo de incubação e tempo na excreção de nutrientes de duas espécies de peixe e duas espécies de camarão em rios de Mata Atlântica

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, do Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2016.

Orientadores:

Prof.ª Dra. Eugenia Zandonà
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Timothy Peter Moulton
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes – UERJ

Banca examinadora:

_____
Dr. André Tavares Corrêa Dias
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

_____
Prof.ª Dra. Rosana Mazzoni
Instituo de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

_____
Prof.ª Dra. Miriam Albrecht
Universidade Federal do Rio de Janeiro

_____
Prof. Dr. Bruno Henrique Pimentel Rosado
Instituo de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2016

AGRADECIMENTOS

À minha família por todo apoio, carinho, compreensão e suporte incondicionais durante esses dois anos de mestrado e sempre. Em especial meu marido Daniel, por entender as muitas viagens para trabalho de campo e disciplinas.

À professora Eugenia Zandonà por ter contribuído para meu desenvolvimento profissional e pessoal. Aprendi muito com todas as conversas, trabalhos de campo, disciplinas e reuniões. Muito obrigada por toda orientação e por tornar esse trabalho possível.

Meu muito obrigada também ao professor Timothy Moulton por ter me dado a oportunidade de estagiar no laboratório 6 anos atrás. Por todos esses anos de muitos ensinamentos e paciência, serei sempre grata.

Agradeço a todos os colegas de laboratório por todas as conversas, momentos de descontração e ajuda. Especialmente Vinicius Neres de Lima e Cristiano Sato pela ajuda fundamental com as análises estatísticas, Christine Lourenço e Flávia Tromboni pela ajuda com as análises de nutrientes, e Gabriel Goulart por imprimir e encadernar essa dissertação e entregá-la aos membros da banca. Aos últimos três citados e Leonardo Lisboa, Mariana Gonzalez, Diego Rafael, Bruna Silva, Maíra Moraes, Fernanda Rodrigues, Piatã Marques e Michel Francis: obrigada pela ajuda com os trabalhos de campo.

Obrigada também aos professores André Dias, Rosana Mazzoni, Bruno Rosado, Miriam Albrecht e Erica Caramaschi por aceitarem fazer parte da banca.

Agradeço à agencia de fomento Capes por financiar este estudo e aos administradores do Centro de Estudos Ambientais e Desenvolvimento Sustentável (CEADS) pelo apoio logístico durante os trabalhos de campo.

RESUMO

CUNHA, Priscila de Oliveira. *Influência do tamanho corporal, hora do dia, tipo de incubação e tempo na excreção de nutrientes de duas espécies de peixe e duas espécies de camarão em rios de Mata Atlântica.* 2016. 71f.: il. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Consumidores aquáticos afetam seus ecossistemas de diversas maneiras. Uma delas é através da excreção de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, os nutrientes limitantes na maioria dos ecossistemas aquáticos. Em muitos casos, a excreção de nutrientes por consumidores representa uma fonte significativa do fornecimento de nutrientes do sistema, e por isso vem sendo bastante estudada. Para entender melhor o papel dos consumidores na ciclagem de nutrientes é preciso estimar suas taxas de excreção. Entretanto, pouco se sabe a respeito do quanto diferentes metodologias podem afetar os resultados dos experimentos. A liberação de nutrientes pelos consumidores pode ser influenciada por uma série de fatores como o tamanho corporal do indivíduo, hábitos de vida e a sua dieta. Os consumidores são considerados homeostáticos, ou seja, não mudam a própria composição elementar com mudanças na dieta. Dessa forma, indivíduos com uma dieta pobre em nutrientes retêm mais nutrientes comparados aos indivíduos com uma dieta rica. A excreção dos consumidores também pode variar ao longo do dia, devido aos hábitos alimentares destes, pois em jejum as taxas de excreção diminuem. Peixes e camarões de espécies diferentes têm estequiometria corporal, e dieta muito variadas, e consequentemente, taxas de excreção diferentes. Para entender melhor como os consumidores aquáticos afetam o ecossistema através de sua excreção, é preciso investigar que fatores, da fisiologia e hábitos de vida do animal e da metodologia experimental utilizada, podem afetar as taxas de excreção de nutrientes. Este estudo verificou diferenças entre as espécies e investigou a influência do tamanho corporal, hora do dia, do tipo de incubação (normal e com redução do estresse) e tempo de incubação, sobre as taxas de excreção de NH_4 e PO_4 dos peixes, *Bryconamericus microcephalus* e *Characidium japuhybense*, e camarões, *Potimirim brasiliana* e *Macrobrachium olfersi*. Vimos que há uma relação alométrica entre o tamanho do corpo e a excreção de nutrientes, onde indivíduos menores excretam proporcionalmente mais que indivíduos maiores. A hora do dia teve influência sobre a excreção de NH_4, com os animais excretando mais no período do dia em que se alimentam. A tentativa de minimizar o estresse dos animais durante a incubação não foi bem sucedida. O tempo de incubação afetou as taxas de excreção, que apresentaram maior variação e picos de excreção durante os primeiros 15 minutos.

Palavras-chave: Ciclagem de nutrientes. Alometria. Nitrogênio. Fósforo. Metodologia.

ABSTRACT

OLIVEIRA-CUNHA, P. *Influência do tamanho corporal, hora do dia, tipo de incubação e tempo na excreção de nutrientes de duas espécies de peixe e duas espécies de camarão em rios de Mata Atlântica.* 2016. 71f.: il. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Aquatic consumers can affect their ecosystems in many ways. One of them is by excreting nutrients, especially nitrogen and phosphorus, the limiting nutrients in the majority of aquatic ecosystems. In many cases, nutrient excretion by consumers represents an important source of nutrients to the system, and because of that it has been studied in the past years. To better understand the roles of consumers in nutrient cycling it is necessary to estimate excretion rates. However, little is known about how different methodologies can affect the experiments results. The liberation of nutrients by consumers can be influenced by a series of factors, such as body size, life habits and diet. Consumers are considered homeostatic, which means they do not change their own body compositions with changes in their diets. In this way, individuals with poor nutrient diets retain more nutrients compared to individuals with rich diets. Consumer excretion can also vary throughout the day, due to their feeding habits, because fasting reduces excretion rates. Fish and shrimp of different species have different body stoichiometry and diet, and therefore, different excretion rates. To better understand how aquatic consumers affect their ecosystem through excretion, we must investigate which factors, from physiology and life habits and experimental methodology used, can affect the nutrient excretion rates. This study has verified differences between species and investigated the influence of body size, time of day, type of incubation (normal and with stress reduction) and time of incubation, on the NH_4 and PO_4 excretion rates of the fishes *Bryconamericus microcephalus* and *Characidium japuhybense*, and the shrimps *Potimirim brasiliana* and *Macrobrachium olfersi*. We found an allometric relation between body size and nutrient excretion, with smaller individuals excreting proportionately more nutrients than bigger individuals. Time of day influenced NH_4 excretion, with animals excreting more during the period of day in which they feed. The attempt to minimize stress during incubation was not successful, and the time of incubation affected excretion rates, which had more variance and excretion peaks during the first 15 minutes.

Key words: Nutrient cycling. Allometry. Nitrogen. Phosphorus. Methodology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da ciclagem de nutrientes..... 14

Figura 2 - Efeitos dos consumidores sobre a ciclagem de nutrientes..... 15

Figura 3 - Conceito de homeostase..... 16

Figura 4 - Relação da excreção por consumidores com o fornecimento de nutrientes na dieta e a demanda de nutrientes do corpo do animal.... 17

Figura 5 - Relação entre o tamanho do corpo e a excreção de nutrientes por massa..... 18

Figura 6 - Relação entre a qualidade da dieta e as taxas de excreção..... 19

Figura 7 - Espécies estudadas..... 30

Figura 8 - Esquema ilustrando os três sítios (LAM, MDA, CHA) do córrego Andorinha e suas composições taxonômicas..... 31

Figura 9 - Tipos de incubação..... 33

Figura 10 - Excreção de NH_4 por grama em função do período do dia e tipo de incubação para *Bryconamericus microcephalus*..... 37

Figura 11 - Relação entre o peso e as taxas de excreção de PO_4 por grama de *B. microcephalus*, em função dos tipos de incubação e a hora do dia..... 38

Figura 12 - Relação da taxa de excreção de NH_4 por grama com a hora do dia para *C. japuhybense*..... 39

Figura 13 - Relação da taxa de excreção de PO_4 por grama com o peso para *C. japuhybense*..... 40

Figura 14 - Relação entre a taxa de excreção por grama de NH_4 e peso para *P. brasiliana* dos sítios BP e MDA..... 41

Figura 15 - Relação entre a taxa de excreção de PO_4 por grama e peso para *P. brasiliana* nos sítios BP e MDA..... 41

Figura 16 - Interação entre o tipo de incubação e a taxa de excreção de NH_4 por grama para *P. brasiliana*, com o peso como covariável..... 42

Figura 17 - Taxa de excreção de NH_4 por grama em relação à hora do dia para *P. brasiliana*..... 42

Figura 18 - Taxa de excreção por grama de PO_4 em relação ao peso para *P. brasiliana*..... 43

Figura 19 - Relação entre taxas de excreção de NH_4 por peso e peso para *M. olfersi* nos sítios BP, LAM e MDA..... 44
Figura 20 - Relação entre taxas de excreção de PO_4 por peso e peso para *M. olfersi* nos sítios BP, LAM e MDA..... 45
Figura 21 - Relação da taxa de excreção de NH_4 por grama com o peso e o tipo de incubação para *M. olfersi*..... 46
Figura 22 - Relação entre a taxa de excreção de PO_4 por grama com o peso para *M. olfersi*..... 46
Figura 23 - Taxas de excreção de NH_4 e PO_4 absoluta de todas as espécies..... 48
Figura 24 - Excreção de NH_4 e PO_4 por grama de todas as espécies, com o peso como covariável..... 49
Figura 25 - Taxas de excreção de NH_4 e PO_4 ao longo do tempo para *P.brasiliana* e *M. olfersi*..... 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tukey's Honestly Significant Difference Test- quais sítios (LAM, BP, MDA) diferem entre si na taxa de excreção de PO_4 para *M.olfersi*..... 45

Tabela 2 - Resumo dos fatores que afetaram as taxas de excreção das espécies..... 47

Tabela 3 - Tukey's Honestly Significant Difference Test- quais espécies diferem entre si na excreção de NH_4..... 50

Tabela 4 - Tukey's Honestly Significant Difference Test- quais espécies diferem entre si na excreção de PO_4..... 51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TEE - Teoria de Estequiometria Ecológica

LAM - Sítio Lambari

MDA - Sítio Mãe D'Água

CHA - Sítio Characidium

BP - Sítio Barra Pequena

LERC - Laboratório de Ecologia de Rios e Córregos

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	13
1	**Papel dos consumidores aquáticos na ciclagem de nutrientes**.....	13
1.1	**Estequiometria Ecológica**.....	15
1.2	**Fatores que influenciam a ciclagem de nutrientes pelos consumidores**.....	17
1.3	**Importância da identidade e abundância das espécies**.....	23
1.4	**Consumidores como fonte e sumidouros de nutrientes**.....	26
1.5	**Justificativa**.....	27
2	**OBJETIVO**.....	28
2.1	Objetivo geral.....	28
2.2	Objetivos específicos.....	28
2.3	**Expectativas**.....	28
3	**METODOLOGIA**.....	29
3.1	**Espécies estudadas**.....	29
3.2	**Área de estudo e desenho experimental**.....	30
3.3	**Cálculo da taxa de excreção**.....	34
3.4	**Análise de nutrientes**.....	35
3.5	**Análises estatísticas**.....	36
4	**RESULTADOS**.....	36
4.1	***Bryconamericus microcephalus***.....	38
4.2	***Characidium japuhybense***.....	40
4.3	***Potimirim brasiliana***.....	40
4.3.1	Diferenças nas taxas de excreção de nutrientes entre sítios.....	40
4.3.2	Efeito da hora do dia, tipo de incubação e tamanho corporal sobre a excreção de nutrientes.....	41
4.4	***Macrobrachium olfersi***.....	43
4.4.1	Diferenças nas taxas de excreção de nutrientes entre sítios.....	43
4.4.2	Efeito da hora do dia, tipo de incubação e tamanho corporal sobre a excreção de nutrientes.....	45
4.5	**Comparação entre espécies**.....	47
4.6	**Taxa de excreção ao longo do tempo**.....	51

5 **DISCUSSÃO**..... 52
5.1 **Peixes**..... 53
5.2 **Camarões**..... 56
5.3 **Camarões e peixes: similaridades e diferenças**..... 57
5.4 **Diferença entre sítios**..... 59
5.5 **Efeito do tempo de incubação sobre as taxas de excreção**..... 60
5.6 **Perspectivas futuras**..... 61
CONCLUSÃO..... 62
REFERÊNCIAS..... 64

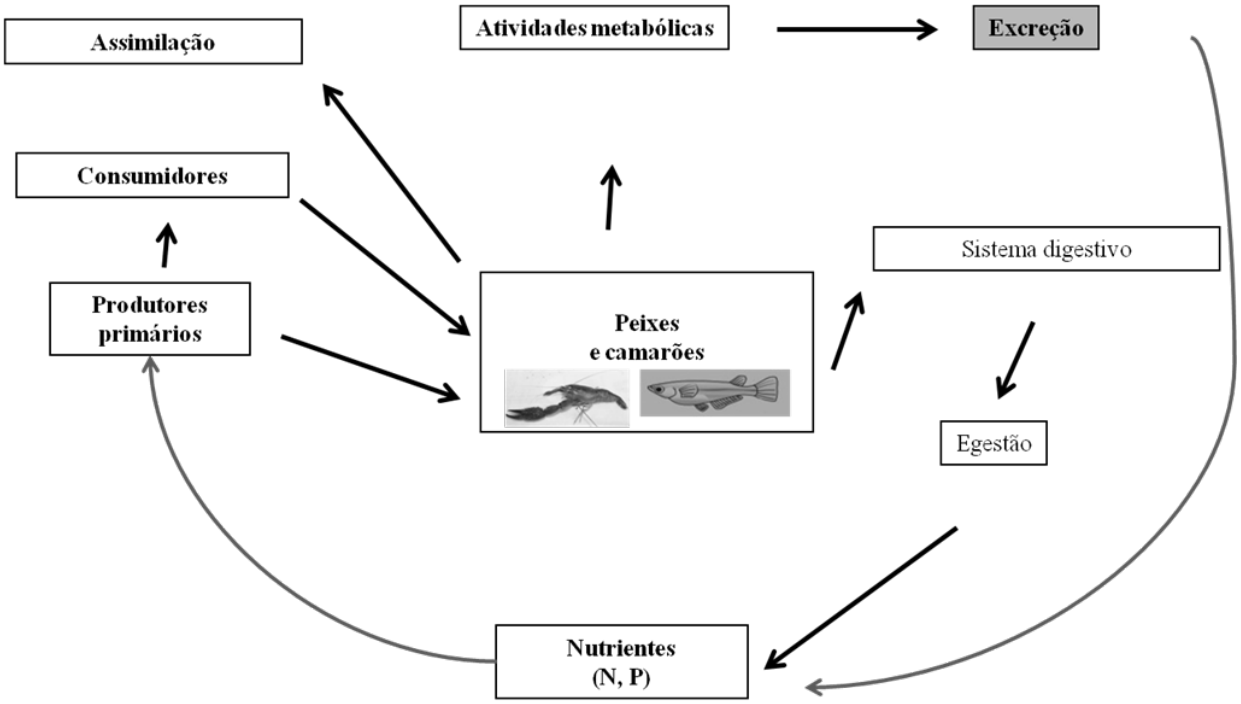
INTRODUÇÃO

1 **Papel dos consumidores aquáticos na ciclagem de nutrientes**

Consumidores aquáticos afetam seus ecossistemas de diversas maneiras. Uma de suas contribuições significativas é o fornecimento de nutrientes para micróbios e produtores primários através de sua excreção (Allan and Castillo 2008, Vanni et *al*. 2002, McIntyre et *al*. 2007). Os consumidores se alimentam dos organismos nos níveis tróficos inferiores, sejam produtores ou consumidores menores. Parte dos nutrientes consumidos na dieta é alocada para o crescimento, reprodução ou gasta com atividades metabólicas. Os nutrientes restantes são eliminados por egestão de fezes e excreção de urina, e se tornam disponíveis para absorção pelos produtores primários (Allan and Castillo, 2008) (Figura 1).

Nitrogênio (N) e fósforo (P), os principais nutrientes excretados pelos consumidores, limitam a produtividade primária na maioria dos ecossistemas aquáticos (Kosten et *al.*, 2009). Estudos mostram que a excreção de N e P pelos consumidores corresponde à parte significativa desses nutrientes em rios tropicais (Vanni et *al*. 2002, Hall, Tank and Dybdahl, 2003, McIntyre et *al.* 2007, Benstead et *al*. 2010,). Dessa forma, os consumidores desempenham um importante papel na ciclagem de nutrientes do ecossistema (Vanni 2002; Capps and Flecker 2013a).

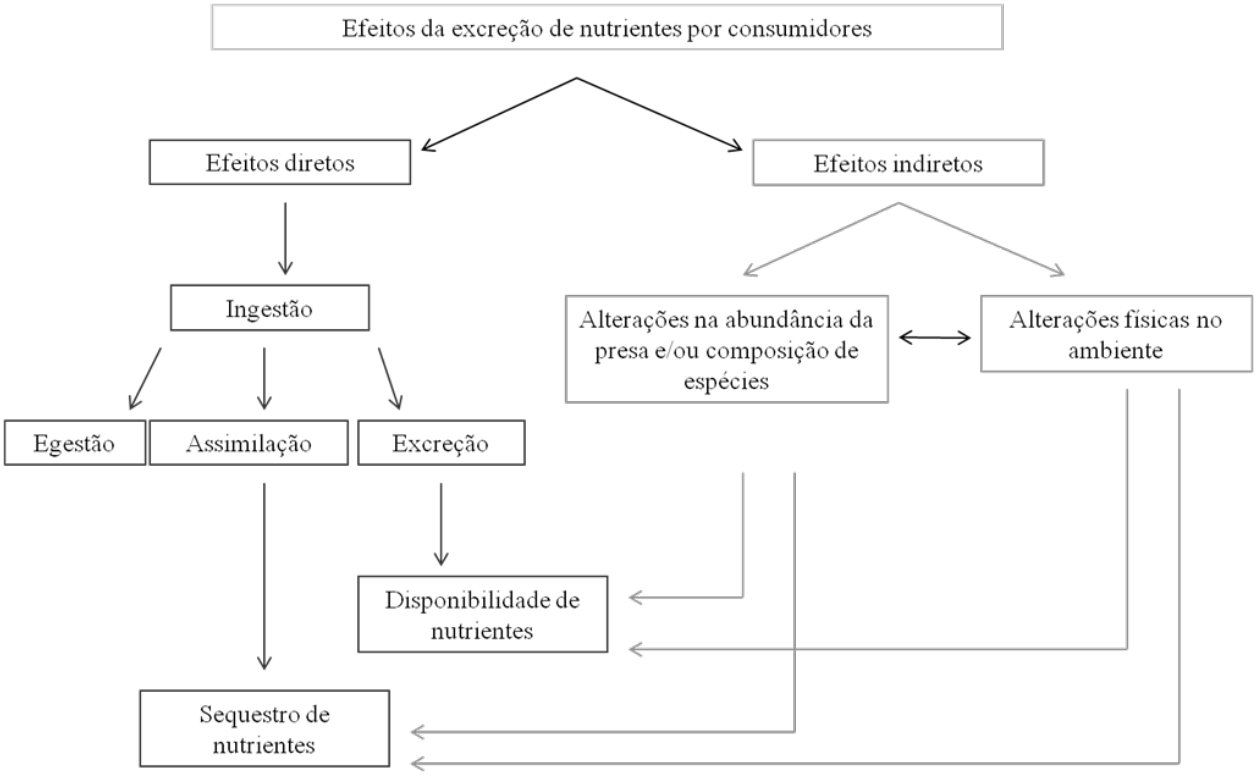
Figura 1 - Esquema da ciclagem de nutrientes.



Legenda: Esquema representando a ciclagem de nutrientes em ecossistemas aquáticos, onde as setas representam o trajeto percorrido pelos nutrientes através do ciclo.

Os consumidores podem atuar na ciclagem de nutrientes de forma direta ou indireta (Vanni, 2002) (Figura 2). A forma direta é através da transformação de nutrientes, a partir da ingestão, excreção e egestão (Vanni et *al*. 2002, Hall, Tank and Dybdahl 2003, McIntyre et *al*. 2007, Benstead et *al*. 2010,), e do transporte de nutrientes entre hábitats (Meyer et *al*. 1983, Glaholt and Vanni 2005), por exemplo, um peixe que se alimenta na região bentônca e excreta na coluna d'água. A forma indireta de atuar na ciclagem de nutrientes é alterando a abundância de suas presas (Bartell 1981) e a produção, biomassa e a distribuição dos produtores primários (Elser et *al*. 1998, Simon et *al*. 2004).

Figura 2 - Efeitos dos consumidores sobre a ciclagem de nutrientes.



Legenda: Esquema dos efeitos dos consumidores sobre a ciclagem de nutrientes.
Fonte: Modificado de Vanni, 2002.

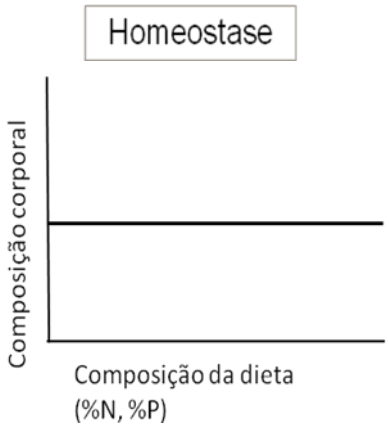
1.1 Estequiometria Ecológica

A Teoria da Estequiometria Ecológica (TEE) busca explicar a ciclagem de nutrientes através de organismos, teias alimentares e ecossistemas. A teoria baseia-se nos princípios de conservação de massa e energia, estudando o balanço de substâncias químicas em processos e interações ecológicas. Segundo a teoria, o balanço dos elementos químicos do organismo e sua dieta determinam o fluxo e armazenamento de nutrientes (Sterner and Elser 2002). Dessa forma, a quantidade de nutrientes excretada por um organismo é prevista como a diferença entre a quantidade de nutrientes consumida na dieta, a quantidade de nutrientes alocada para crescimento e reprodução e a parte perdida na egestão:

Excreção = Dieta – Assimilação – Egestão.

Os consumidores aquáticos são considerados homeostáticos, ou seja, a sua composição corporal não é alterada com mudanças na composição da dieta (Sterner and Elser 2002, Vanni 2002) (Figura 3). Por isso, um animal vai assimilar os nutrientes presentes em sua dieta que são necessários para manter sua composição corporal e excretar os nutrientes restantes (Vanni 2002). Portanto, se soubermos a razão dos elementos de sua dieta e sua composição corporal, podemos prever a razão dos elementos excretados.

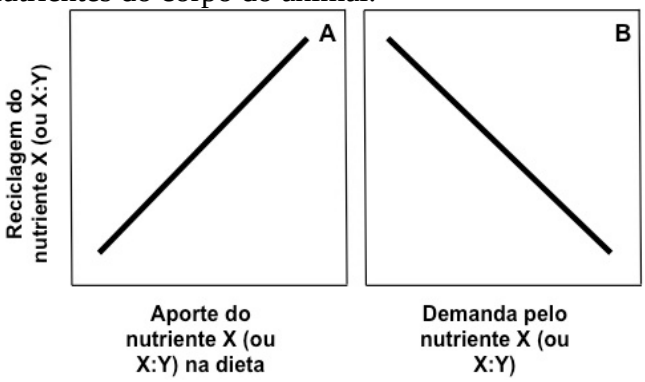
Figura 3 - Conceito de homeostase.



Legenda: O gráfico mostra a relação entre a composição corporal e a composição da dieta (%N, %P) para animais homeostáticos.

Então se um animal possui uma dieta rica, ele irá excretar mais nutrientes e, se o animal precisar assimilar uma alta quantidade de nutrientes, irá excretar menos (Figura 4). Por exemplo, peixes da família Loricariidae apresentam uma alta demanda por fósforo para constituir sua armadura óssea e, por isso, excretam baixos níveis de fósforo (Vanni et *al*. 2002, Capps et *al*. 2015).

Figura 4 - Relação da excreção por consumidores com o fornecimento de nutrientes na dieta e a demanda de nutrientes do corpo do animal.



Legenda: (A) - Relação da reciclagem de nutrientes por consumidores e fornecimento de nutrientes na dieta; (B) - Demanda de nutrientes para o crescimento e reprodução.
Nota: X representa %N, %P ou %C e X:Y representa N:P, C:N ou C:P.

1.2 **Fatores que influenciam a ciclagem de nutrientes pelos consumidores**

Muitos fatores podem influenciar as taxas de excreção de nutrientes de um consumidor aquático, sejam estes características próprias do animal, como tamanho do corpo, composição corporal e da dieta, hábitos de vida (Vanni 2002, Alves et *al.* 2010, Capps and Flecker 2013a), características do ambiente como luz, profundidade, correnteza, concentração de nutrientes na água (Moslemi et *al*. 2012, McIntyre et *al*., 2008, Spooner et *al*. 2013) e pelo estresse causado pela predação ou captura e manipulação (Whiles et al. 2009).

Entender como estes fatores afetam a excreção de nutrientes é fundamental para compreender o papel dos consumidores aquáticos como fornecedores de nutrientes do ecossistema. Além disso, é preciso investigar como o uso de diferentes metodologias pode afetar as taxas de excreção dos consumidores.

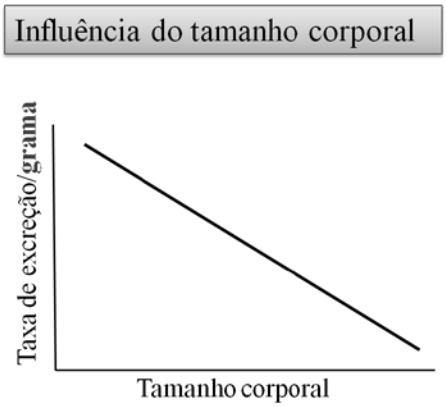
Estudos apontam que as taxas de excreção de nutrientes têm uma relação alométrica com o tamanho corporal dos indivíduos (Vanni 2002, Hall et *al*. 2007, Alves et *al.* 2010). A fórmula abaixo descreve a relação entre o tamanho do corpo e a excreção de nutrientes (Alves et *al*. 2010):

$E = aM^b$

Na equação, E representa a taxa de excreção, a e b são constantes e M é a massa corporal (Huxley 1932, Hall et al. 2007). Para a maioria dos consumidores aquáticos, a constante b é menor do que 1, ou seja, não se trata de uma relação isométrica (razão 1:1), mas sim de uma relação alométrica (razão 1:≠1) (Wen and Peters 1994). Portanto, indivíduos maiores excretam menos nutrientes por massa que indivíduos menores (Vanni 2002, Hall et *al*. 2007, Alves et *al*. 2010) (Figura 5).

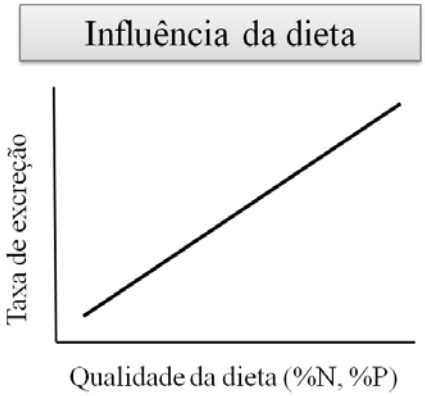
Possivelmente, esta relação não proporcional entre o tamanho do corpo e a excreção de nutrientes está relacionada ao metabolismo que é determinado por um fator de ¾ do tamanho corporal (Brown et al. 2004).

Figura 5 - Relação entre o tamanho do corpo e a excreção de nutrientes por massa.



Os consumidores são considerados homeostáticos, ou seja, não mudam a própria composição elementar corporal com mudanças na dieta (Sterner and Elser 2002). Dessa forma, indivíduos com uma dieta pobre em nutrientes retêm mais nutrientes comparados a indivíduos com uma dieta rica (Vanni et *al.* 2002) (Figura 6).

Figura 6 - Relação entre a qualidade da dieta e as taxas de excreção.



Legenda: Gráfico mostra a relação positiva entre a taxa de excreção de nutrientes e a qualidade da dieta de um animal.

Em alguns estudos, a dieta dos consumidores foi o fator mais importante para determinar as taxas de excreção de nutrientes (Elser and Urabe 1999, Pilati and Vanni 2007). Um estudo com zooplâncton herbívoro encontrou que a razão N:P da dieta foi mais importante que a razão N:P da composição corporal, possivelmente devido à maior variação da razão N:P da dieta (composta por fitoplâncton) em relação à composição do corpo (Elser and Urabe 1999).

Outro experimento que verificou a influência da dieta sobre as taxas de excreção foi desenvolvido em laboratório com peixes (Pilati and Vanni 2007). O experimento mostrou que a diminuição da razão N:P da excreção da larva para o juvenil é explicada principalmente pela diferença da razão N:P dos recursos alimentares (zooplâncton x detrito) (Pilati and Vanni 2007).

Além do tamanho do corpo e da dieta, a excreção de nutrientes dos consumidores também pode sofrer influência de seus hábitos de vida. A excreção dos consumidores pode variar ao longo do dia, devido aos hábitos de vida destes (diurnos, noturnos ou ambos) (Whiles et *al*. 2009, Capps and Flecker 2013a) e seus comportamentos (agregados ou dispersos (Capps and Flecker 2013a).

Estudos mostram que animais que se alimentaram recentemente apresentam maiores taxas de excreção que animais de estômago vazio (Gardner and Scavia 1981, Grimm 1988). É

provável que a assimilação de compostos nitrogenados ative o metabolismo dos animais, aumentando a excreção (Hall et *al.* 2007).

Um estudo com peixes da família Loricariidae mostrou que esses animais apresentam o comportamento de se agregar em grupos durante o dia e de se dispersar durante a noite para se alimentar (Capps and Flecker 2013a). Com isso, durante a noite a excreção de P foi duas vezes maior que durante o dia, pois à noite os animais estavam se alimentando. Além disso, o comportamento agregado em grupos durante o dia fez com que um "hotspot", área de elevada atividade biogeoquímica, fosse criado (Capps and Flecker 2013a). Durante o dia, as amostras de água tiradas dentro da agregação dos peixes apresentaram aproximadamente o dobro de N e P que amostras de água do rio tiradas a distancia da agregação (Capps and Flecker 2013a).

Outro fator que pode afetar a excreção dos animais é o estresse ao qual ele é submetido. Quando sob influência de algum estresse, os animais tendem a excretar mais devido ao aumento da atividade corporal e aceleração do metabolismo (Whiles et *al.* 2009). Por isso, este ponto se torna um desafio metodológico para os pesquisadores que investigam a importância dos consumidores para a ciclagem de nutrientes medindo as taxas de excreção através da incubação dos animais (Whiles et *al.* 2009). Ao realizar experimentos para verificar as taxas de excreção de nutrientes por consumidores, os pesquisadores devem tentar minimizar o estresse dos animais, e devem esperar picos iniciais de excreção durante os primeiros minutos, devido ao estresse gerado pela captura e incubação (Whiles et *al*. 2009). Além disso, é preciso considerar que as taxas de excreção irão variar de acordo com o tamanho do organismo em relação ao recipiente de incubação e o método de captura utilizado (Whiles et *al*. 2009).

O estresse causado no animal devido à captura foi verificado em um estudo com peixes da espécie *Morone saxatilis*, que verificou diferenças em respostas fisiológicas dos peixes entre duas metodologias para capturar os animais, uma usando armadilhas e outra

usando redes (Hopkins and Cech 1992). O uso de armadilhas mostrou-se menos estressante provavelmente porque as redes restringiam movimentos bucais e operculares, porém para ambas as metodologias, os peixes apresentaram alterações nos gases e na acidez do sangue, causadas pelo estresse da captura, exposição ao ar, e manipulação (Hopkins and Cech 1992).

O efeito do estresse da predação sobre as taxas de excreção foi verificado em um experimento realizado em laboratório com girinos da espécie *Rana aurora* (Kiesecker et *al*. 1999). Foram feitos dois tratamentos, um onde os girinos eram expostos a uma simulação de ataque por predador e o controle. Outros girinos foram expostos à água de incubação de ambos os tratamentos. Aqueles expostos à água do controle não sofreram alteração de comportamento. No entanto, os girinos expostos à água do tratamento de simulação de ataque por predador apresentaram comportamento anti-predatório (como redução do movimento e uso de abrigos). Isso ocorreu em resposta a níveis mais elevados de amônio na água do tratamento de simulação de ataque, que foram excretados pelos girinos expostos a estresse (Kiesecker et *al*. 1999).

Além de gerar estresse, a presença de predadores pode alterar a distribuição do tamanho corporal da população de presas, se selecionarem suas presas por tamanho (Vanni, 2002). Como as taxas de excreção estão relacionadas com o tamanho do animal, a predação seletiva por tamanho pode alterar as taxas de excreção de sua população de presas. Por exemplo, um peixe que seleciona os maiores organismos do zooplâncton reduziu a distribuição de tamanhos das populações e, consequentemente, aumentou a taxa de reciclagem de nutrientes por massa pelo zooplâncton (Bartell, 1981).

Fatores abióticos como temperatura, luz, profundidade e correnteza do ambiente também podem influenciar as taxas de excreção dos consumidores (Vanni 2002, McIntyre et *al*. 2008). A temperatura tem uma relação positiva com as taxas de excreção, ou seja, o

aumento da temperatura provoca o aumento das taxas de excreção, pois acelera o metabolismo dos indivíduos (Vanni 2002, Brown et *al*. 2004).

A intensidade luminosa, também afeta a excreção dos animais (Moslemi et *al*. 2012, El-Sabaawi et *al*. 2014). Um estudo realizado com o caramujo *Tarebia granifera* mostra que suas taxas de excreção de N foram de 3 a 9 vezes maiores em hábitats de maior incidência luminosa e que sua excreção correspondeu à demanda de N do ecossistema em 16% em hábitats de dossel aberto e 2% em hábitats de dossel fechado (Moslemi et *al.* 2012). Em 2 dos 3 rios estudados, hábitats de dossel aberto tiveram maiores quantidades de algas e matéria orgânica, provavelmente porque a disponibilidade de luz não foi um fator limitante ao crescimento dos organismos (Moslemi et *al*. 2012). Dessa forma, a degradação da vegetação ripária alterou a disponibilidade de recursos, o que aumentou a biomassa de caramujos e, consequentemente, o impacto de sua excreção de N no ecossistema (Moslemi et *al*. 2012).

A profundidade e correnteza do rio podem afetar a estrutura da comunidade de consumidores e, por isso, também podem influenciar a contribuição dos consumidores para a reciclagem de nutrientes (McIntyre et *al*., 2008). Em um estudo realizado com 47 espécies de peixes neotropicais, a excreção de nutrientes por peixes refletiu os efeitos da profundidade e correnteza dos hábitats sobre a estrutura da comunidade (densidade, composição de espécies e tamanho corporal). A biomassa de peixes aumentou com a correnteza e peixes maiores mostraram preferência por maiores profundidades. Esta distribuição espacial dos peixes gerou zonas de “hotspot” de reciclagem de nutrientes durante a estação seca (McIntyre et *al*. 2008).

A concentração de nutrientes na água é outro fator que pode afetar o papel dos consumidores aquáticos como recicladores de nutrientes do ecossistema (Spooner et *al*. 2013). Um dos fatores que alteram a concentração de nutrientes na água é o impacto de ações antrópicas. Praticamente todos os ecossistemas sofrem algum tipo de impacto, seja ele urbano, industrial ou da agricultura (Pereira et *al.* 2010). O impacto da agricultura é particularmente

prejudicial, pois além de remover a vegetação nativa, nutrientes são adicionados na forma de fertilizantes (Tilman et *al*. 2002), e podem ser transportados pela água da chuva e afetar áreas distantes das plantações (Turner and Rabalais 1994), como rios e lagos. Um estudo realizado em rios no Canadá, ao longo de um gradiente de uso da terra para agricultura, mostra que em rios quase prístinos a reciclagem de nutrientes mediada por mexilhões está relacionada com a maior biodiversidade da comunidade nestes locais (Spooner et *al*. 2013). O aumento da entrada de nutrientes nos rios reduziu quase totalmente a importância dos mexilhões como provedores de nutrientes para os ecossistemas. Em rios de menor atividade agrícola foi estimado que a concentração de N da excreção do mexilhão era aproximadamente 6 vezes mais concentrada que a água do rio ao redor, enquanto em rios de maior atividade agrícola a concentração de N da excreção era aproximadamente 1.3 vezes mais diluída (Spooner et *al*. 2013). Este fato mostra que o impacto das adições de nutrientes oriundas de ações antropogênicas em ecossistemas aquáticos pode resultar numa perda da importância funcional dos consumidores em relação à ciclagem de nutrientes (Spooner et *al*. 2013).

1.3 **Importância da identidade e abundância das espécies**

Espécies diferentes têm estequiometria e dieta variadas, e consequentemente, taxas de excreção diferentes (McIntyre et al. 2007, McIntyre and Flecker 2010, Benstead et al. 2010, Small et al. 2011). Por isso, a identidade da espécie pode afetar significativamente a ciclagem de nutrientes e até ter um efeito na composição da comunidade de algas do ecossistema (Evans- White and Lamberti 2006).

Um experimento realizado em laboratório mostra que diferenças na estequiometria (%C, %N, %P) do corpo dos consumidores, alteraram a estequiometria do perifíton (Evans-White and Lamberti 2006). O experimento realizado em rios artificiais testou a influência de

níveis elevados de N e P, níveis naturais de N e P e a identidade do consumidor: lagosta, caramujo e controle. A lagosta apresenta alta demanda por P e baixa excreção de P (corpo N:P=18), enquanto o caramujo apresenta baixa demanda por P e alta excreção de P (corpo N:P=28). Em níveis naturais de P, os tratamentos com lagostas apresentaram perifiton com menor %P e menor C:P que os tratamentos com caramujos, o que sugere que a identidade do consumidor, provavelmente devido à diferenças na excreção de P, afeta a composição do perifiton (Evans- White and Lamberti 2006).

Outro estudo que demonstra a importância de características estequiométricas específicas das espécies foi feito com 12 espécies de peixe, sendo uma delas *Astyanax aeneus* (Characidae), num córrego limitado por P (Small et *al*. 2011). A população de *A. aeneus,* que corresponde a 18% da biomassa total da comunidade de peixes, foi responsável por 90% do P reciclado e atendeu a aproximadamente 90% da demanda de P do ecossistema, atuando como uma espécie chave na ciclagem de nutrientes (Small et *al*., 2011).

A abundância das espécies é um importante fator para determinar seu papel no ecossistema, pois quanto mais abundante é uma espécie, maior o seu impacto no ambiente (Benstead et *al*. 2010). Um estudo realizado em dois rios de Porto Rico, um com alta densidade de camarões e o outro com baixas densidades, mostra a diferença entre esses ambientes. Em rios com alta densidade de camarões, a excreção de N e P desses organismos corresponde a 21% e 5% do uptake (demanda de nutrientes dos produtores primários) desses nutrientes, respectivamente. Já em rios com baixas densidades de camarões a excreção desses animais corresponde a 0,5% e >0,1% do uptake de N e P, respectivamente (Benstead et *al.* 2010).

Outro estudo que aponta para a importância da abundância de uma população foi realizado na ilha de Trinidade com peixes da espécie *Poecilia reticulata* (guppy) (El-Sabaawi et *al*. 2014). Nesta ilha, são encontrados 2 tipos de populações diferentes de guppies: guppies

de alta predação, na presença de muitos predadores, e guppies de baixa predação, na presença de poucos predadores. Características da história de vida de guppies são afetadas pela pressão da predação (Reznick and Endler 1982, Reznick et *al*. 2001). Os guppies de alta predação se reproduzem mais cedo, possuem prole numerosa e de menor tamanho corporal e são geralmente encontrados em sítios de dossel aberto. Os guppies de baixa predação se reproduzem mais tarde, produzem menos filhotes, mas de maior tamanho corporal, e se encontram em sítios de dossel mais fechado. Na ausência de predadores, a população de guppies apresenta menores taxas de excreção de N e P que na presença de predadores. No entanto, apesar de excretarem menos, as populações de guppies de baixa predação tem maior impacto no ecossistema que as populações de alta predação porque sua abundância é maior (El-Sabaawi et *al*. 2014).

Os consumidores aquáticos que vivem em grupos de alta biomassa podem criar "hotspot" biogeoquímicos (McIntyre et *al*. 2008, Capps and Flecker, 2013b), e alterar a limitação de nutrientes do rio e a comunidade de algas (Atkinson et *al*. 2013). Em rios do centro oeste dos Estados Unidos, pesquisadores verificaram que as comunidades de mexilhões atuam como "hotspot" biogeoquímicos. Os sítios sem a presença de mexilhões eram limitados por N e com maior abundância de algas azuis-verdes fixadoras de N, enquanto sítios com altas densidades de mexilhões eram co-limitados por N e P, e com maior abundância de diatomáceas. A alta razão N:P da excreção dos mexilhões reduziu a limitação por N e o sistema passou a ser co-limitado por N e P (Atkinson et *al*. 2013).

Muitas vezes a introdução de uma nova espécie de consumidor aquático altera profundamente a dinâmica de nutrientes do ecossistema. Esse fato ocorreu em um rio do México, onde uma espécie de peixe da família Loricariidae, que armazena altas quantidades de P devido a sua armadura óssea, foi introduzida. Antes da invasão da espécie, a comunidade de peixes do rio atendia a demanda de N e P do ecossistema através da excreção desses

nutrientes. Depois da invasão, a demanda de P passou a não ser atendida, pois a espécie invasora atua como sumidouro de P devido à sua alta demanda por esse nutriente, e como fonte de N para o ecossistema. A profunda alteração na dinâmica de nutrientes do rio ocorreu devido às diferenças na estequiometria corporal entre as espécies nativas e a espécie invasora. Por isso, antes de introduzir novas espécies para atuar no controle biológico de pragas, os pesquisadores recomendam estudar a estequiometria corporal das espécies nativas e invasoras para avaliar a probabilidade de que a invasão desencadeie mudanças na dinâmica de nutrientes dos ecossistemas aquáticos (Capps and Flecker 2013b).

1.3 **Consumidores como fontes e sumidouros de nutrientes**

Uma alta biomassa de consumidores geralmente contribui bastante para o pool de nutrientes do ecossistema, o que gera discussões entre pesquisadores a respeito do papel desses consumidores como fontes ou sumidouros de nutrientes. O papel dos consumidores aquáticos tem sido amplamente debatido, especialmente em ambientes de água doce (Vanni et *al*. 2013, Capps and Flecker 2013b).

Um estudo buscou entender se peixes são fonte ou sumidouro de nutrientes em lagos ao nível de ecossistema (lago) e ao nível de habitat (bentônico e coluna d'água) (Vanni et *al*. 2013). Os resultados sugerem que, na maioria das circunstâncias, peixes atuam como sumidouros de P para o habitat bentônico e como fonte na coluna d'água, dependendo de seus hábitos alimentares (quantidade de P consumida no bentos e na coluna d'água), padrões de migração e o destino da carcaça de P a ser decomposta. A taxa de mineralização da carcaça e a eficiência com que os produtores primários da região bentônica versus da coluna d'água absorvem o P mineralizado e excretado, são fatores particularmente importantes. A maior absorção de P dos produtores primários do bentos aumenta a probabilidade de peixes atuarem

como sumidouros de P para a coluna d'água (Vanni et *al*. 2013). Outro estudo mostra que peixes da família Loricariidae podem atuar também como sumidouros de P, uma vez que estes animais apresentam uma alta demanda por P para manter sua armadura óssea (Capps and Flecker 2013a).

1.4 **Justificativa**

Os consumidores aquáticos afetam profundamente a dinâmica de nutrientes do ecossistema através da sua excreção, podendo alterar a abundância, composição elementar e estrutura da comunidade de produtores primários (Atkinson et *al*. 2013; Findlay et *al*. 2005), gerar hotspots biogeoquímicos (Capps and Flecker 2013a), e atuar como fonte ou sumidouro de nutrientes (Vanni et *al*. 2013).

Um dos desafios relacionados a experimentos que pretendem medir as taxas de excreção dos consumidores é minimizar o efeito do estresse dos animais. Os estudos na área de ciclagem de nutrientes devem buscar uma metodologia que se aproxime o máximo possível do que acontece na natureza, evitando tanto estressar o animal durante a incubação quanto estender a incubação por longos períodos de tempo, pois o animal estará de estômago vazio e por isso excretando pouco (Whiles *et al*. 2009).

Além disso, para compreender melhor o papel dos consumidores aquáticos na ciclagem de nutrientes, é preciso investigar a influência de fatores fisiológicos, como o tamanho corporal e hábitos de vida (diurno, noturno) destes animais. Assim como verificar a melhor metodologia a ser utilizada para experimentos de excreção.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Investigar quais fatores podem afetar as taxas de excreção de nitrogênio e fósforo de duas espécies de peixe, *Bryconamericus microcephalus* e *Characidium japuhybense*, e duas espécies de camarão, *Potimirim brasiliana* e *Macrobrachium olfersi*, os macroconsumidores mais abundantes nos rios de Mata Atlântica estudados.

2.2 Objetivos específicos

1) Verificar a influência do tamanho corporal dos consumidores sobre as suas taxas de excreção de nitrogênio (N) e fósforo (P).
2) Verificar a influência da hora do dia sobre suas taxas de excreção de N e P.
3) Pesquisar o efeito de diferentes metodologias (tipo de incubação normal - Stress - e tipo de incubação menos estressante - No Stress - e tempo de incubação) sobre as taxas de excreção de N e P dos consumidores.
4) Verificar diferenças nas taxas de excreção de nutrientes entre as espécies.

2.3 Expectativas

Esperamos que:

1) O tamanho corporal tenha uma relação alométrica com as taxas de excreção, onde os indivíduos menores excretam mais nutrientes por massa em comparação a indivíduos maiores.
2) Os consumidores apresentem maiores taxas de excreção durante o seu período de atividade.
3) Metodologias que tentam reduzir o estresse do animal apresentem taxas de excreção menores; e que as taxas de excreção sejam maiores durante os primeiros minutos de incubação devido a um pico de estresse.

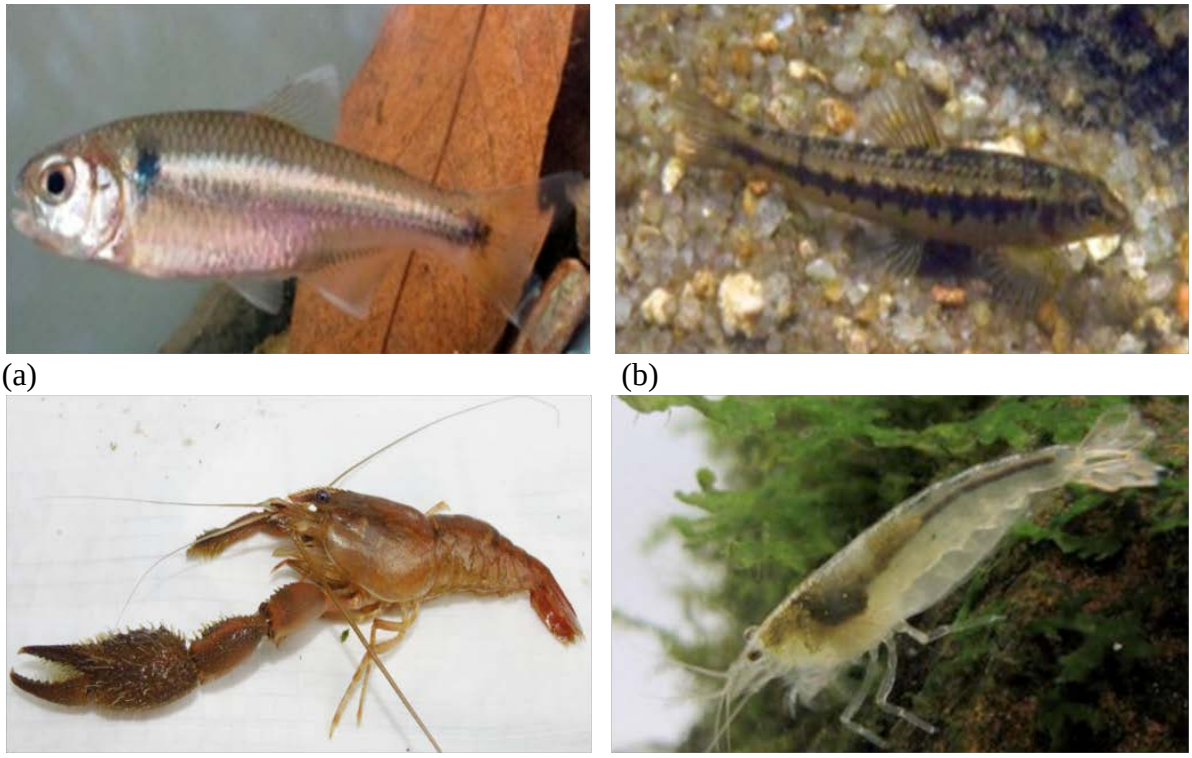
4) Espécies distintas apresentem diferenças nas taxas de excreção de nutrientes devido a diferenças em seus hábitos de vida, composição corporal e dieta; e que camarões excretem mais P que peixes, uma vez que são organismos invertebrados.

3 METODOLOGIA

3.1 Espécies estudadas

As duas espécies de peixes, *Bryconamericus microcephalus* e *Characidium japuhybense*, e as duas espécies de camarões, *Macrobrachium olfersi* e *Potimirim brasiliana*, foram estudadas (Figura 7). *B. microcephalus* (Characiformes: Characidae) é um peixe onívoro (Brito et *al*., 2006; Rezende and Mazzoni, 2006; Rezende and Mazzoni, 2003) de hábitos diurnos (Mazzoni and Rezende, 2009), e *C. japuhybense* (Characiformes: Crenuchidae) é um peixe predador (Brito et *al.* 2006) de hábitos noturnos (observações de campo). *M. olfersi* (Decapoda: Palaemonidae) é um camarão onívoro (Brito et *al*., 2006) de hábitos noturnos (Moulton et *al*., 2004) e *P. brasiliana* (Decapoda: Atyidae) é um camarão onívoro (Brito et *al.* 2006) de hábitos diurnos (observações de campo).

Figura 7: Espécies estudadas.



(a) (b)

(c) (d)

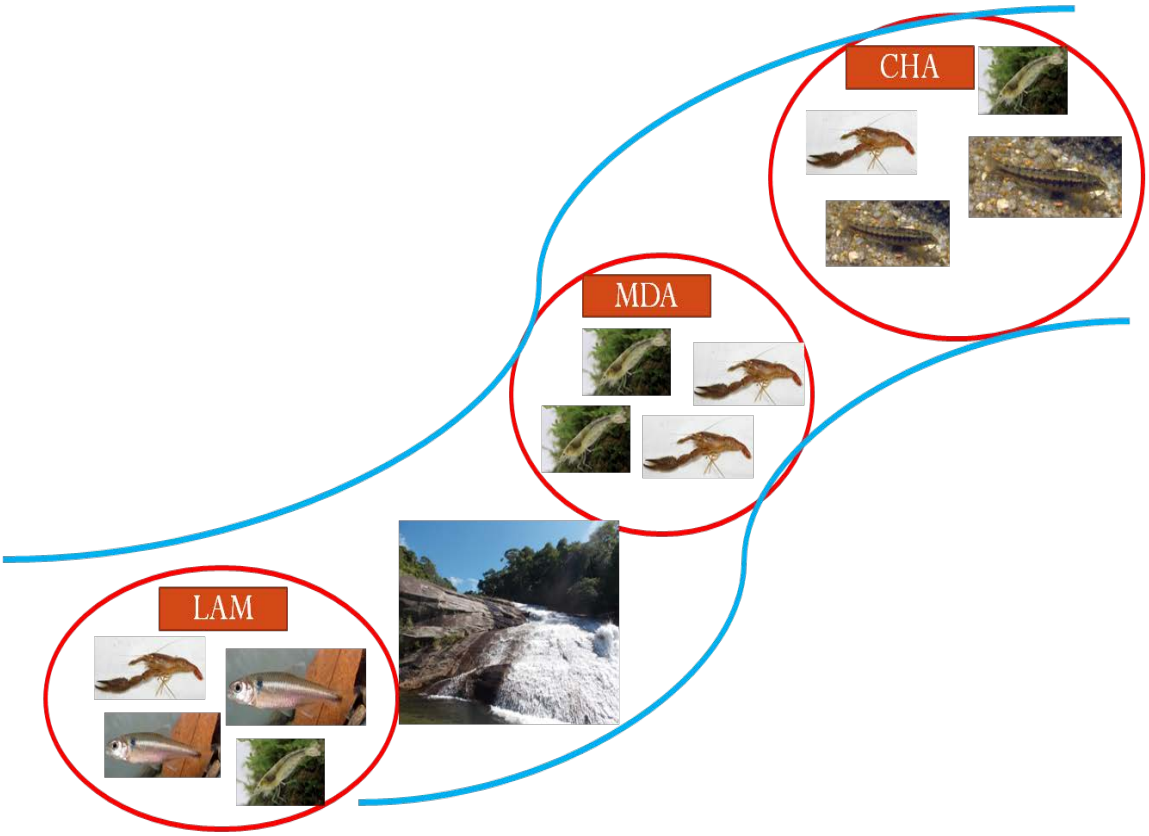
Legenda: (a) Peixe da espécie *Bryconamericus microcephalus*. Foto de Piatã Santana Marques; (b) Peixe da espécie *Characidium japuhybense*. Foto de Piatã Santana Marques; (c) Camarão da espécie *Macrobrachium olfersi*. Foto do arquivo do Laboratório de Ecologia de Rios e Córregos (LERC) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); (d) Camarão da espécie *Potimirim brasiliana*.
Fonte: Foto do arquivo do LERC, da UERJ.

3.2 **Área de estudo e desenho experimental**

O estudo foi realizado em dois córregos chamados Córrego Andorinha e Córrego Barra Pequena, localizados em Vila Dois Rios, Ilha Grande (23º5'-23º41S, 44º5'-44º23'W). Ambos os rios são cercados por florestas de Mata Atlântica e estão em áreas de preservação ambiental. A Ilha Grande é uma ilha de área equivalente a 193 km², ao Sul da costa do estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (Souza and Moulton, 2005).

O Córrego Barra Pequena apresenta alta abundância de camarões das espécies *Potimirim brasiliana* e *Macrobrachium olfersi* e foi amostrado em um único sítio que chamamos de Barra Pequena (BP). No Córrego Andorinha, o estudo foi realizado em 3 sítios chamados Mãe d'Água, Lambari e Characidium (Figura 8). Lambari (LAM) é o sítio mais à jusante, com alta densidade populacional de peixes da espécie *Bryconamericus microcephalus*, e baixa densidade populacional de camarões (Moulton et *al*., 2010). Os sítios Lambari e Mãe d' Água estão separados por uma série de cachoeiras que funcionam como barreiras à dispersão dos peixes (Moulton et *al.* 2010). O sítio Mãe d'Água (MDA) apresenta alta densidade populacional de camarões das espécies *Potimirim brasiliana* e *Macrobrachium olfersi* e presença esporádica do peixe *Characidium japuhybense*. Characidium (CHA) é o sítio mais à montante do rio e apresenta alta densidade populacional de peixes da espécie *Characidium japuhybense* e alta densidade de camarões (Moulton et *al*. 2010).

Figura 8 - Esquema ilustrando os três sítios (LAM, MDA, CHA) do córrego Andorinha e suas composições taxonômicas.



Legenda: No sítio LAM, presença de ambos os camarões e do peixe *B. microcephalus*; no sítio MDA, presença de ambos os camarões; e no sítio CHA, presença de ambos os camarões e do peixe *C. japuhybense*.

Os peixes foram coletados através da pesca elétrica e os camarões com o uso de redes. Após a captura, os animais foram colocados em sacos plásticos transparentes com um volume conhecido de água do rio. A água do rio foi filtrada com uma peneira de malha fina para remover partículas sólidas e o volume de água variou de 50 ml a 1000 ml de acordo com o tamanho do animal.

Os animais foram selecionados de acordo com o tamanho, para que a maior diversidade de tamanhos fosse incubada. Os animais que ficaram muito tempo nas redes esperando (> 30 minutos) para serem incubados foram devolvidos ao rio, pois havia o risco destes estarem com os estômagos mais vazios em relação aos animais que foram incubados mais rapidamente após a captura.

Os peixes e camarões da espécie *M. olfersi* foram colocados individualmente nos sacos plásticos. Os camarões da espécie *P. brasiliana* apresentam tamanhos menores em relação aos outros animais do estudo, e alguns são tão pequenos (Tamanho médio= 3,46cm, Desvio padrão=2,115) que os nutrientes de sua excreção não podem ser detectados quando estão sozinhos na incubação. Por isso, os indivíduos dessa espécie foram colocados nos sacos plásticos individualmente e também em grupos de 3 e 5, dependendo do tamanho dos animais.

Os animais foram submetidos a dois tipos de incubação: Stress – tipo de incubação normal, com os sacos plásticos colocados em potes plásticos transparentes perto do rio – e No stress – para peixes os sacos plásticos foram amarrados a uma corda dentro do rio e para camarões os sacos foram colocados em potes plásticos transparentes e cobertos com folhas e areia do rio, numa tentativa de recriar o ambiente bentônico onde eles ficam e assim reduzir o estresse do animal (Figura 9).

Figura 9 - Tipos de incubação.

(a) (b) (c)

Legenda: (a) Tipo de incubação Stress usada para peixes e camarões; (b)Tipo de incubação No Stress usada para peixes; (c) Tipo de incubação No Stress usada para camarões.

Após 60 minutos, amostras de água foram coletadas de dentro dos sacos plásticos com o uso de uma seringa de 60 ml e filtradas com um filtro de vidro (tipo GF/F, 25mm, Whatman) contido em um porta-filtro (Swinnex, Millipore). Amostras da água do rio também foram coletadas em cada localidade para atuar como controle. Durante todos os dias de

experimento, amostras de água do rio foram coletadas para atuar como o controle para aquele dia. Todas as amostras de água coletadas foram mantidas congeladas até a análise de nutrientes no laboratório.

A maioria dos animais foi medida com uma régua e solta no rio. Uma pequena parte dos animais foi coletada e levada para o laboratório para ser pesada. Todos os animais tiveram medidas de peso úmido, exceto os camarões da espécie *Potimirim brasiliana,* que foram deixados na estufa a 50°C por 24 horas e pesados em seguida. Foi feita uma regressão linear simples entre o log do comprimento em cm (variável independente) e o log do peso em g (variável dependente) dos animais, e obtida uma equação: log(y)= b.log(x)+log(a). A partir dessa equação, usamos a equação a seguir para estimar o peso (g) dos animais a partir do tamanho (cm):

$$\text{Peso} = a.\text{comprimento}^{b}.$$

O estudo foi realizado de dia (entre 8h e 17h) e a noite (entre 19h e 01h) em datas aleatórias no período de 2 anos. Além disso, para os camarões *M. olfersi* e *P. brasiliana* nós também coletamos amostras a cada 15 minutos durante 75 minutos para verificar a variação nas taxas de excreção ao longo do tempo. Este último experimento foi realizado apenas durante o dia.

3.3 **Cálculo da taxa de excreção**

As taxas de excreção de NH_4 e PO_4 foram calculadas através da fórmula:

$$\text{Taxa de excreção (ug/h/g)} = \frac{([\text{Nutrientes amostra} - \text{Nutrientes controle}] \times \text{Volume})}{(\text{Tempo} * \text{Peso} * \text{N}^{\underline{o}})}$$

Onde:

Nutrientes amostra - concentração de nutrientes da amostra (ug/L).
Nutrientes controle - concentração de nutrientes do controle (ug/L). *
Volume – volume de água filtrada da amostra (L).

Tempo – tempo de incubação (horas).

Peso – peso médio dos animais (g).

Nº – número de indivíduos na incubação.

* O controle é uma amostra de água do rio, para verificar a concentração de nutrientes natural do rio.

Dessa forma, as taxas de excreção de nutrientes são taxas de excreção por peso do animal: ug/h/g.

3.4 **Análise de nutrientes**

O nitrogênio foi analisado sob a forma de amônio (NH_4^+) usando métodos fluorimétricos de Holmes *et al*. (1999) modificados por Taylor *et al*. (2007). Nós estimamos as concentrações de NH_4 usando a curva padrão de água deionizada descrita por Taylor *et al*. (2007). O método de adições padrão consiste em adicionar diferentes concentrações de NH_4 à água amostrada para criar a curva padrão que se ajusta aos efeitos de matriz. Efeitos de matriz são causados por substâncias que diminuem ou aumentam o sinal de resposta (Taylor, 1989). Todas as análises fluorimétricas de NH_4 foram feitas através do Fluorímetro Trilogy (Turner Designs, Inc.).

O fósforo foi analisado como fósforo solúvel reativo (SRP) através da técnica de azul molibdeno usando o método de Gotherman *et al*. (1978). As análises colorimétricas foram realizadas no Fluorímetro Trilogy (Turner Designs, Inc.) e no FIA- Flow Injection Analysis (Lachat Instruments Div., Zellweger Analytics, Inc.).

Foram aproximadamente 600 amostras de nutrientes analisadas em laboratórios da UERJ.

3.5 **Análises estatísticas**

Para as analises estatísticas utilizamos o programa SYSTAT e os modelos General Linear Models (GLM). Os dados foram log transformados (log_{10}) para atender as premissas de distribuição normal dos dados e homogeneidade das variâncias. As variáveis dependentes foram: log da taxa de excreção de NH_4/hora/grama e log da taxa de excreção de PO_4/hora/grama. As variáveis independentes foram tipo de incubação (stress/não stress), hora do dia (dia/noite), espécie e sítio. O log do peso dos organismos foi a covariável.

Para todas as espécies individualmente, foram feitas regressões lineares com o log da taxa de excreção como variável dependente e o log do peso como variável independente para ambos os nutrientes. Nos casos em que as regressões apresentaram valor de $p<0,05$, o log do peso foi incluído na análise como covariável.

Para cada espécie individualmente foram feitas ANCOVA ou ANOVA (dependendo do peso ser significativo ou não), uma para a taxa de excreção de NH_4 e uma para PO_4, incluindo os fatores hora do dia e tipo de incubação e o peso como covariável quando significativo.

Para as espécies coletadas em mais de um sítio (*Macrobrachium olfersi* e *Potimirim brasiliana*), foram feitas one-way ANCOVA com o log da taxa de excreção de nutrientes como a variável dependente, o sítio como a variável independente e o log do peso como covariável para cada sítio.

Para comparar todas as espécies, foi feita uma one-way ANCOVA usando a taxa de excreção de nutrientes por grama como a variável dependente, as espécies como variável independente e o peso como covariável.

Para verificar diferenças entre as espécies de peixes, fizemos análises usando a taxa de excreção de nutrientes por grama como a variável dependente, as espécies como variável independente e o peso como covariável quando significativo.

4 RESULTADOS

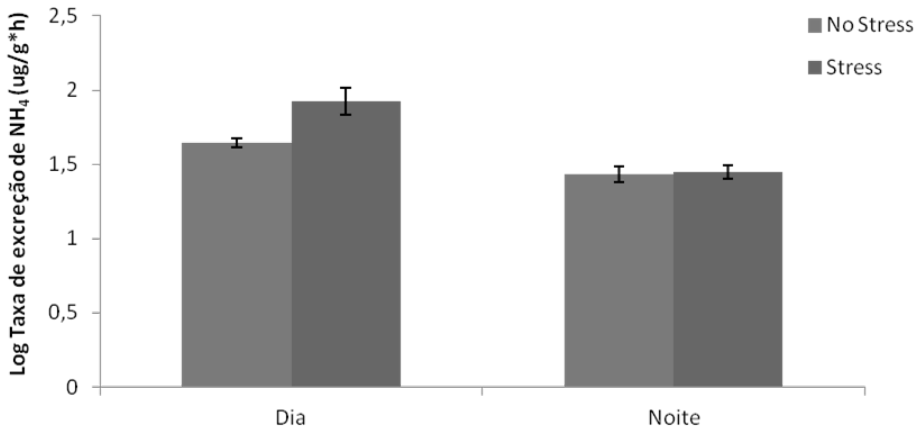
4.1 *Bryconamericus microcephalus*

Para NH_4, a análise realizada foi uma 2-way ANOVA com o log da taxa de excreção por grama de NH_4 como variável dependente e o tipo de incubação e a hora do dia como variáveis independentes. Antes, foi feita uma regressão com o peso como variável independente e a taxa de excreção de NH_4 como variável dependente. O peso não foi significativo ($F_{1,69}$= 0,014; p=0,906) na regressão, por isso não foi incluído na análise.

A interação entre o tipo de incubação e hora do dia foi significativa ($F_{1,66}$=6,928; p=0,011), assim como as variáveis tipo de incubação ($F_{1,66}$=7,328; p= 0,009) e hora do dia ($F_{1,66}$=43,283; p<0,001). Para entender como ocorreu a interação entre o tipo de incubação e a hora do dia, foram feitas 4 one-way ANOVAs: 1) efeito do tipo de incubação durante o dia, 2) efeito do tipo de incubação durante a noite, 3) efeito da hora do dia para o tipo de incubação No Stress e 4) efeito da hora do dia para o tipo de incubação Stress.

Durante o dia, o tipo de incubação Stress apresentou as maiores taxas de excreção de NH_4 ($F_{1,32}$=15,616, p<0,001) (Figura 10). Durante a noite, o tipo de incubação não teve efeito significativo ($F_{1,34}$=0,003; p=0,958). A hora do dia teve efeito significativo para o tipo de incubação No Stress ($F_{1,43}$=13,207; p=0,001) e Stress ($F_{1,23}$=26,310; p<0,001), com as maiores taxas de excreção de NH_4 ocorrendo durante o dia (Figura 10).

Figura 10 - Excreção de NH_4 por grama em função do período do dia e tipo de incubação para *Bryconamericus microcephalus*.



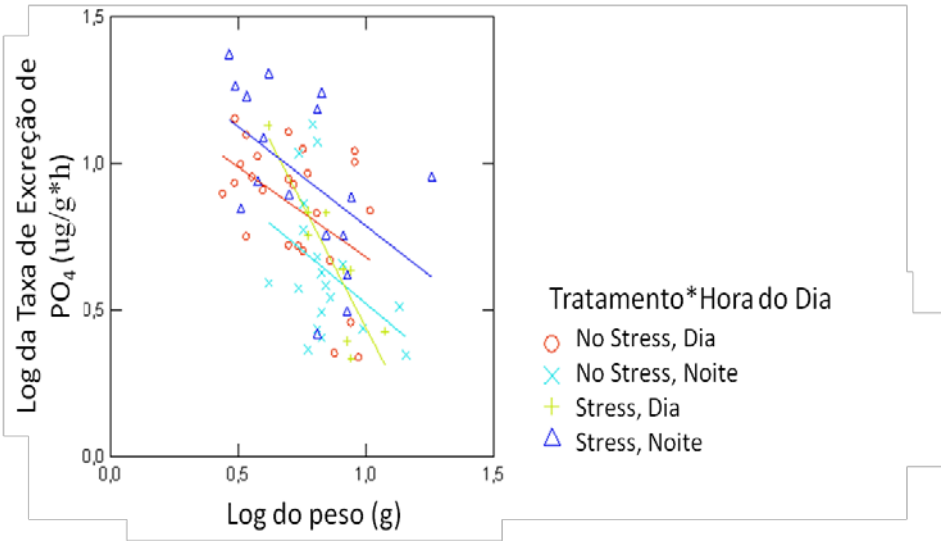
Legenda: Log da excreção de NH_4 por grama em função do período do dia e tipo de incubação (No Stress e Stress) para *Bryconamericus microcephalus*. As barras de erro representam o erro padrão.

Para fosfato, foi feita a análise 2 way ANCOVA, com o log da taxa de excreção por grama de PO_4 como variável dependente, o tipo de incubação e a hora do dia como variáveis independentes e o tamanho do corpo (log do peso) como covariável. A interação entre tipo de incubação e hora do dia foi significativa ($F_{1,64}$=5,455; p=0,023), bem como o peso ($F_{1,64}$=27,220; p<0,001). As taxas de excreção de PO_4 apresentam uma relação alométrica com o peso (Figura 11). A hora do dia ($F_{1,64}$=0,240; p=0,626) e o tipo de incubação ($F_{1,64}$= 1,944.; p=0,168) não tiveram um efeito estatisticamente significativo. Para entender como ocorreu a interação entre o tipo de incubação e a hora do dia, foram feitas 4 one-way ANCOVAs, com o peso como covariável: 1) efeito do tipo de incubação durante o dia, 2) efeito do tipo de incubação durante a noite, 3) efeito da hora do dia para o tipo de incubação No Stress e 4) efeito da hora do dia para o tipo de incubação Stress.

Durante o dia, o tipo de incubação não foi significativo ($F_{1,31}$=0,787; p=0,382) e o peso foi ($F_{1,31}$=14,446; p=0,001). Durante a noite, o tipo de incubação foi significativo ($F_{1,33}$=9,754; p=0,004) com maiores taxas de excreção na incubação Stress (Figura 12), e o peso também foi significativo ($F_{1,33=}$8,911; p=0,005). A hora do dia foi marginalmente significativa para a incubação No Stress ($F_{1,41}$=4,056; p=0,051) e o peso foi significativo

($F_{1,41=}$ 10,194; p=0,003). A hora do dia não foi significativa para a incubação Stress ($F_{1,23}$= 3,729; p=0,066) e o peso foi ($F_{1,23}$=11,474; p=0,003).

Figura 11 - Relação entre o peso e as taxas de excreção de PO_4 por grama de *B. microcephalus*, em função do tipo de incubação e hora do dia.

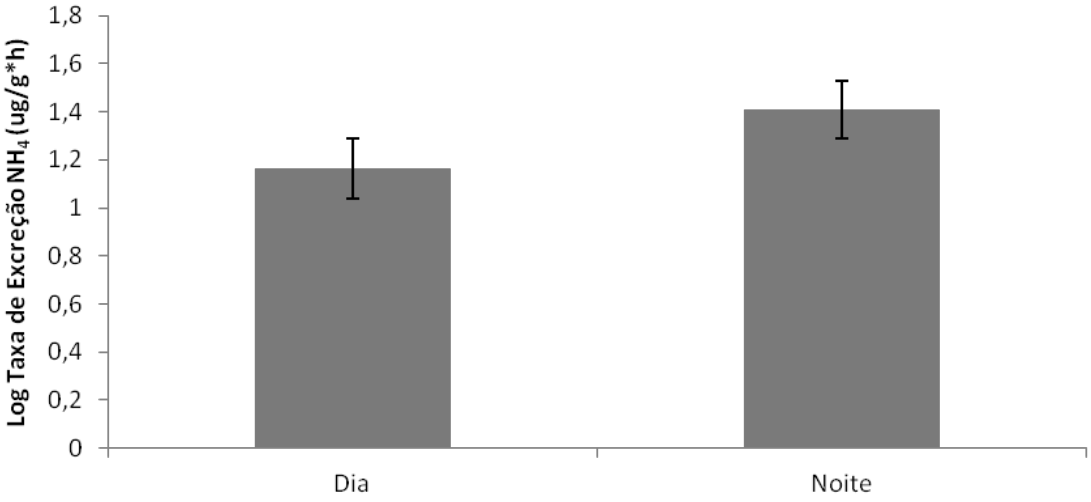


Legenda: Relação entre o log do peso e o log das taxas de excreção de PO_4 por grama de *B. microcephalus*, aonde os tipos de incubação (Stress e No Stress) e a hora do dia (dia e noite) são evidenciados com cores e formas diferentes.

4.1 ***Characidium japuhybense***

Para NH_4, a hora do dia foi estatisticamente significativa ($F_{1,28}$=4,932, p=0,035), enquanto o tipo de incubação ($F_{1,28}$=0,626; p=0,436) e a interação entre tipo de incubação e hora do dia ($F_{1,28}$=0,723; p=0,402) não foram. Durante a noite, as taxas de excreção de NH_4 foram maiores que durante o dia (Figura 12).

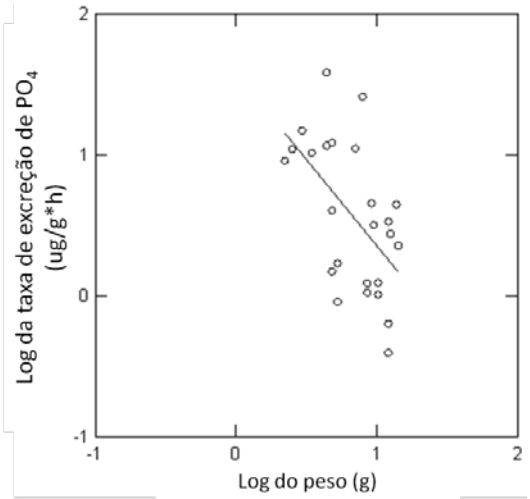
Figura 12 - Relação da taxa de excreção de NH_4 por grama com a hora do dia para *C. japuhybense*.



Legenda: Relação entre o log da taxa de excreção de NH_4 por grama com a hora do dia (dia e noite) para *C. japuhybense*. As barras de erro representam o erro padrão.

Para PO_4, houve um efeito significativo do peso nas taxas de excreção de PO_4 ($F_{1,20}$= 7,370; p=0,013). No entanto, o tipo de incubação ($F_{1,20}$= 0,751; p=0,396), a hora do dia ($F_{1,20}$=0,018; p=0,893) e a interação entre o tipo de incubação e hora do dia ($F_{1,20}$= 2,119; p=0,161) não foram significativas. As taxas de excreção de PO_4 têm uma relação alométrica com o tamanho do corpo, aonde organismos menores excretam proporcionalmente mais (Figura 13).

Figura 13 - Relação da taxa de excreção de PO_4 por grama com o peso para *C. japuhybense*.



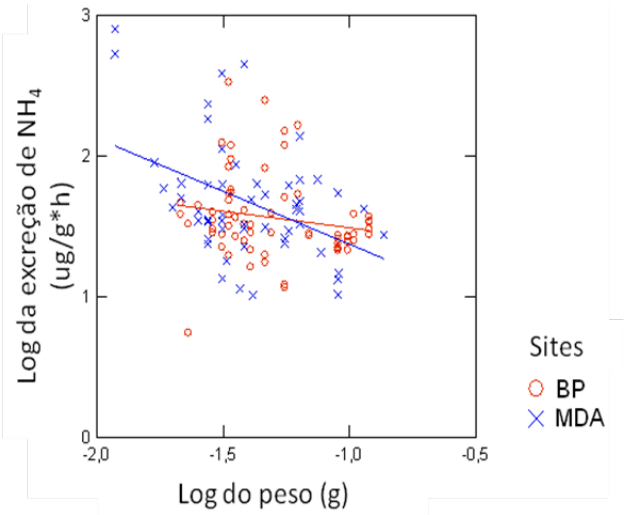
4.3 ***Potimirim brasiliana***

4.3.1 Diferenças nas taxas de excreção de nutrientes entre sítios

Os camarões da espécie *Potimirim brasiliana* foram coletados nos sítios BP e MDA. A análise one way ANCOVA foi feita para verificar diferenças nas taxas de excreção entre os sítios, com a taxa de excreção de nutrientes por grama como variável dependente, o sítio como variável independente e o peso como covariável. Os dados usados são só do tratamento Stress durante o dia, para evitar que diferenças entre a hora do dia e o tipo de incubação interfiram na análise de diferenças entre sítios.

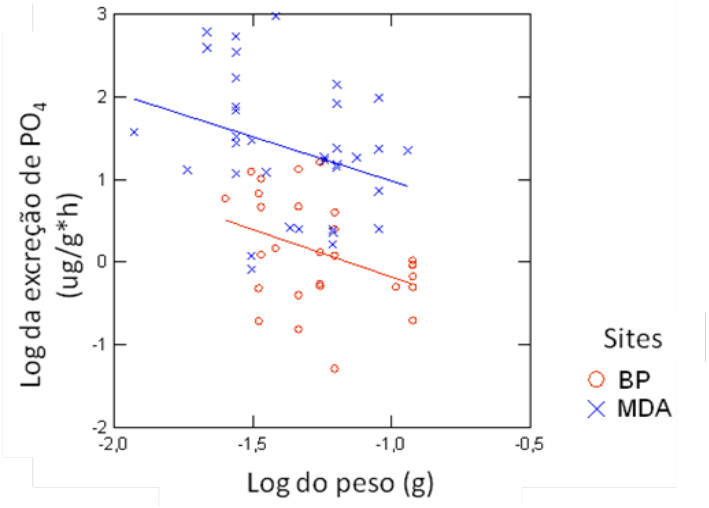
Para NH_4, o efeito do peso foi significativo ($F_{1,119}$= 1,024; p=0,001) (Figura 14), e o efeito do sítio não ($F_{1,119}$= 12,657; p=0,314). Para PO_4, o sítio ($F_{1,60}$= 37,998; p<0,001) e o peso ($F_{1,60}$= 7,718; p=0,007) foram significativos (Figura 15).

Figura 14 - Relação entre a taxa de excreção por grama de NH_4 e peso para *P. brasiliana* dos sítios BP e MDA.



Legenda: Log da taxa de excreção por grama de NH_4 dos sítios BP (bolas vermelhas) e MDA (x azul).

Figura 15 - Relação entre a taxa de excreção de PO_4 por grama e peso para *P. brasiliana* nos sítios BP e MDA.



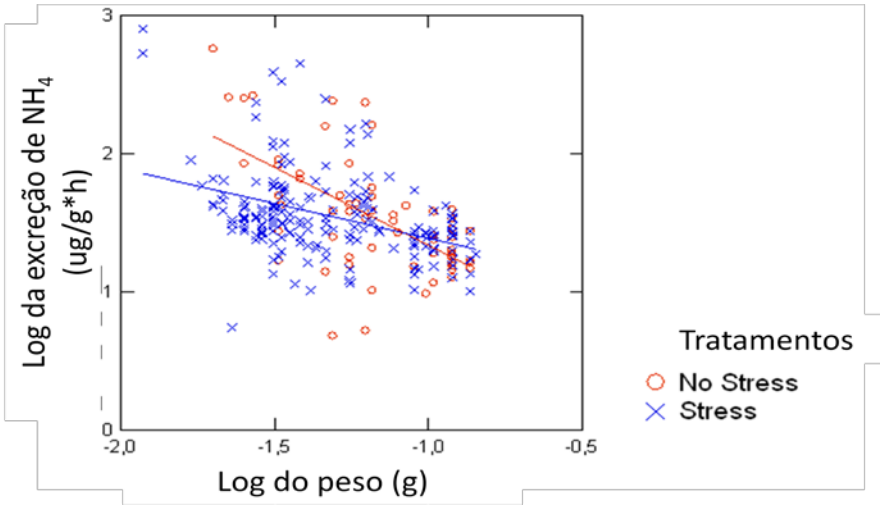
Legenda: Log da taxa de excreção por grama de PO_4 com o log do peso como covariável dos sítios BP (bolas vermelhas) e MDA (x azul).

4.3.2 Efeito da hora do dia e tipo de incubação sobre a excreção de nutrientes

Como para *P. brasiliana* a excreção de NH_4 não diferiu significativamente entre os sítios, as análises para este nutriente foram feitas juntando os dados dos sítios BP e MDA.

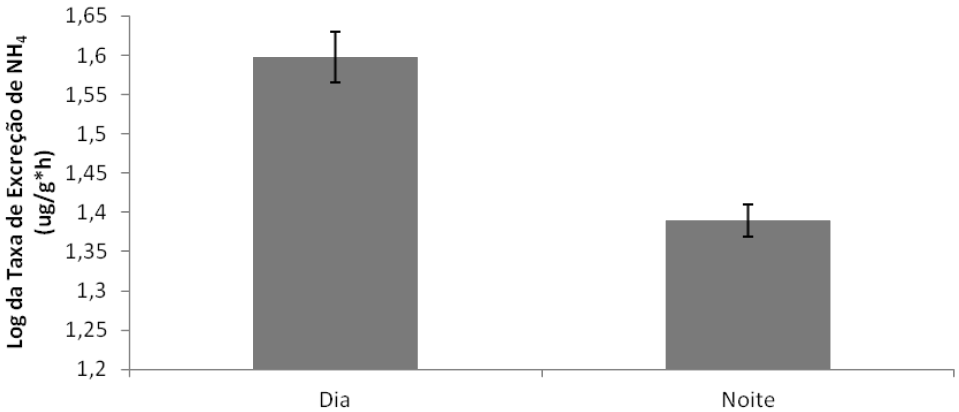
A interação entre o tipo de incubação e o peso foi significativa ($F_{1,247}$= 4,601; p=0,033), assim como o peso ($F_{1,247}$= 38,772; p<0,001), a hora do dia ($F_{1,247}$= 5,138; p=0,024) e o tipo de incubação ($F_{1,247}$= 4,007; p=0,046). A interação entre o tipo de incubação e a hora do dia ($F_{1,247}$= 0,039; p= 0,843) não foi significativa. A excreção de NH_4 apresentou uma relação alométrica com o peso (Figura 16) e foi maior durante o dia (Figura 17). As taxas de excreção de NH_4 apresentaram diferentes padrões em relação ao peso para os dois tipos de tratamento. Para indivíduos de menor tamanho a excreção foi maior no tipo de incubação No Stress, e para indivíduos de maior tamanho a excreção foi maior no tipo de incubação Stress (Figura 16).

Figura 16 - Interação entre o tipo de incubação e a taxa de excreção de NH_4 por grama para *P. brasiliana*, com o peso como covariável.



Legenda: Log da taxa de excreção de NH4 por grama em função dos tipos de incubação Stress (x azul) e No Stress (bolas vermelha) com o log do peso como covariável.

Figura 17 - Taxa de excreção de NH_4 por grama em relação à hora do dia para *P. brasiliana*.



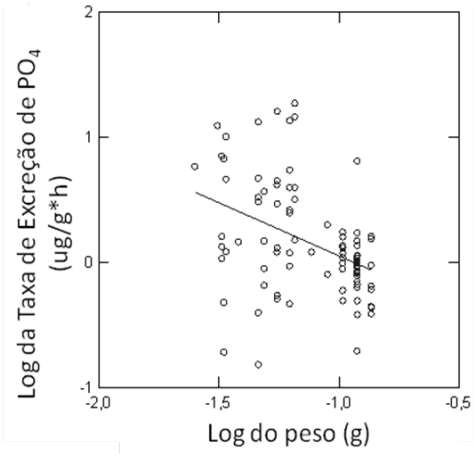
Legenda: Log da taxa de excreção de NH_4 por grama em relação à hora do dia para *P. brasiliana*. As barras de erro representam o erro padrão.

Para PO_4, o sítio com melhor N amostral para todas as combinações de tipo de incubação e hora do dia (Stress/Dia, Stress/Noite, No Stress/Dia, No Stress/Noite) é o BP. Sendo assim, as análises foram feitas para este sítio.

Para PO_4, o peso teve um efeito significativo nas taxas de excreção de PO_4 ($F_{1,85}$= 6,810; p=0,011), aonde animais menores excretam proporcionalmente mais (Figura 18). A interação entre o tipo de incubação e a hora do dia ($F_{1,85}$= 1,839; p=0,179), a hora do dia

($F_{1,85}$= 0,637; p=0,427) e o tipo de incubação ($F_{1,85}$= 1,935; p=0,168) não foram significativos.

Figura 18 - Taxa de excreção por grama de PO_4 em relação ao peso para *P. brasiliana*.



Legenda: Log da taxa de excreção por grama de PO_4 em relação ao log do peso para *P. brasiliana*.

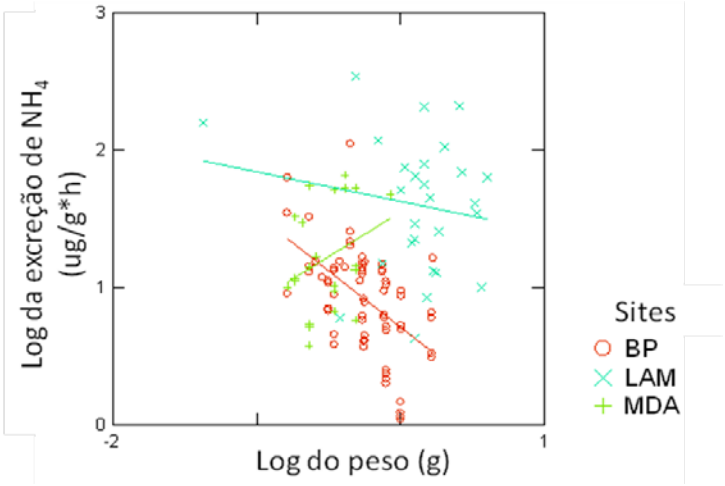
4.1 ***Macrobrachium olfersi***

4.3.1 Diferenças na excreção de nutrientes entre sítios

Os camarões da espécie *Macrobrachium olfersi* foram coletados nos sítios LAM, BP e MDA. A análise one way ANCOVA foi feita para verificar diferenças nas taxas de excreção entre os sítios, com a taxa de excreção de nutrientes por grama como variável dependente, o sítio como variável independente e o peso como covariável. Os dados usados para esta análise são só do tipo de incubação Stress durante o dia, para evitar que diferenças entre a hora do dia e o tipo de incubação interfiram na análise de diferenças entre sítios..

Para NH_4, a interação entre o sítio e o peso foi significativa ($F_{2,111}$=5,623; p=0,005) (Figura 19), assim como o sítio ($F_{2,111}$=42,766; p<0,001). O peso não foi significativo ($F_{2,111}$=0,544; p=0,462).

Figura 19 - Relação entre taxas de excreção de NH_4 por peso e peso para *M. olfersi* nos sítios BP, LAM e MDA.



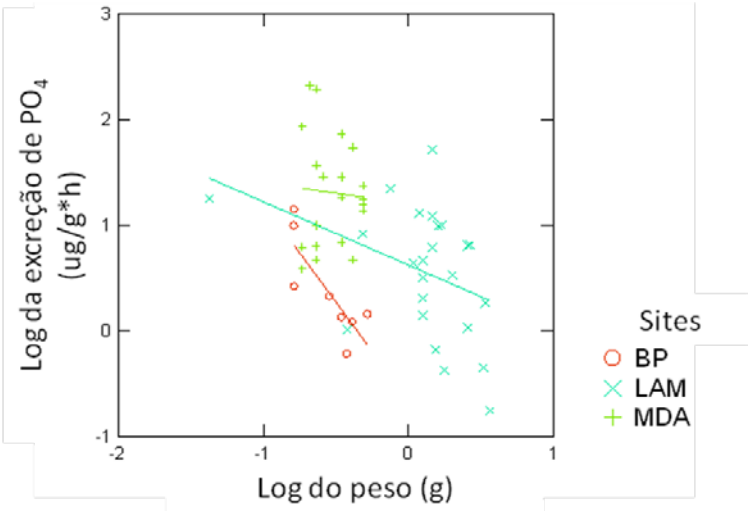
Legenda: Relação do log da taxa de excreção de NH_4 pelo log do peso para *M. olfersi* nos sítios BP (círculos vermelhos), LAM (x azul) e MDA (cruzes verdes). Dados do tipo de incubação Stress durante o dia.

Para PO_4, o sítio ($F_{1,48}$=9,263; p<0,001) e o peso ($F_{1,48}$= 6,416; p=0,015) tiveram um efeito significativo na excreção (Figura 20). Foi realizado o teste post-hoc Tukey's HSD para verificar se os 3 sítios diferiam entre si, ou quais deles diferiam entre si. Os resultados mostraram que o sítio BP diferiu significativamente do sítio MDA (p<0,001) (Tabela 1).

Tabela 1 - Tukey's Honestly Significant Difference Test- quais sítios (LAM, BP, MDA) diferem entre si na taxa de excreção de PO_4 para *M. olfersi*.

Tukey's Honestly-Significant Test					
Sitio	**Sitio**	**Difference**	**p-value**	**95,0% Confidence Interval**	
				Lower	Upper
BP	**LAM**	-0,608	0,080	-1,132	-0,085
BP	**MDA**	-0,951	0,000	-1,488	-0,414
LAM	**MDA**	-0,343	0,301	-0,731	0,046

Figura 20 - Relação entre taxas de excreção de PO_4 por peso e peso para *M. olfersi* nos sítios BP, LAM e MDA.



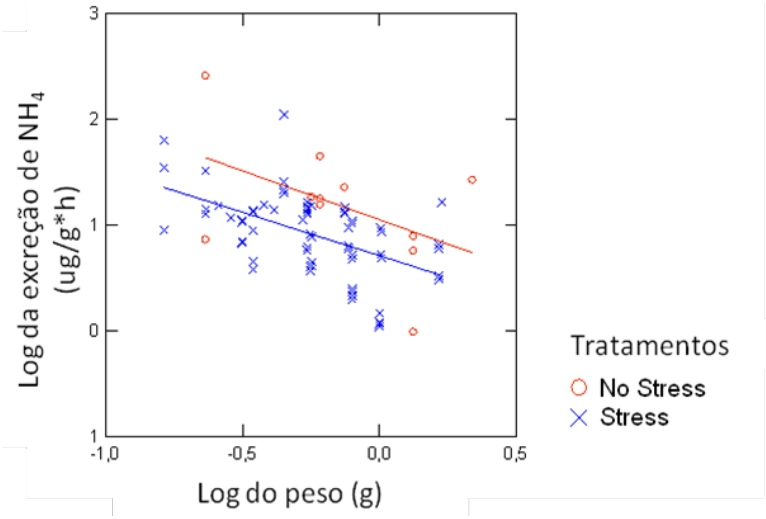
Legenda: Diferenças entre os sítios BP (círculos vermelhos), LAM (x azul) e MDA (cruzes verdes) na relação ao log da taxa de excreção de PO_4 por grama com o peso como covariável, para *M. olfersi*. Dados do tipo de incubação Stress durante o dia.

4.4.2 Efeito do tipo de incubação sobre a excreção de nutrientes

Para os camarões desta espécie, não há um bom N amostral para todas as combinações de tipo de incubação e hora do dia (Stress/Dia, Stress/Noite, No Stress/Dia, No Stress/Noite). Sendo assim, o efeito da hora do dia não foi verificado, apenas o efeito do tratamento (Stress, No Stress) sobre as taxas de excreção de nutrientes durante o dia no sítio BP.

Para NH_4, fizemos a análise one-way ANCOVA. O peso ($F_{1,76}$=26,853; p<0,001) e o tipo de incubação ($F_{1,76}$ =9,109; p=0,003) têm um efeito significativo nas taxas de excreção de NH_4. A excreção de NH_4 apresenta uma relação alométrica com o peso aonde organismos menores excretam proporcionalmente mais (Figura 21). Durante o dia, a excreção de NH_4 foi maior na incubação No Stress (Figura 21).

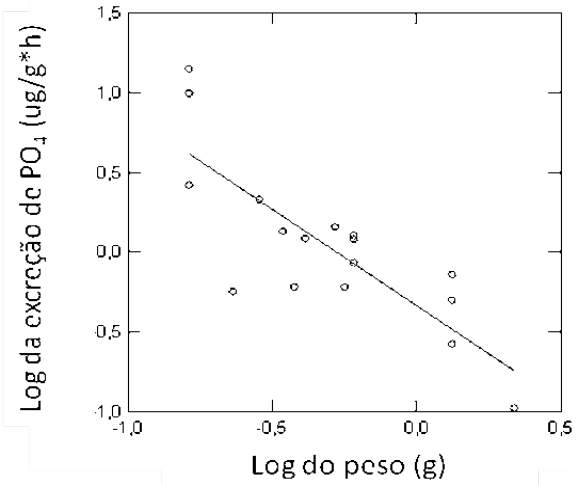
Figura 21 - Relação da taxa de excreção de NH_4 por grama com o peso e o tipo de incubação para *M. olfersi*.



Legenda: Relação do log da taxa de excreção de NH_4 por grama com os tipos de incubação No Stress (círculos vermelhos) e Stress (x azul), com o log do peso como covariável, para *M. olfersi*.

Para PO_4, fizemos a análise one-way ANCOVA. O peso tem um efeito significativo ($F_{1,14}$=11,056; p=0,005) e o tipo de incubação não significativo ($F_{1,14}$= 0,526; p=0,480) nas taxas de excreção de PO_4 (Figura 22).

Figura 22 - Relação entre a taxa de excreção de PO_4 por grama com o peso para *M. olfersi*.



4.5 Comparação entre espécies

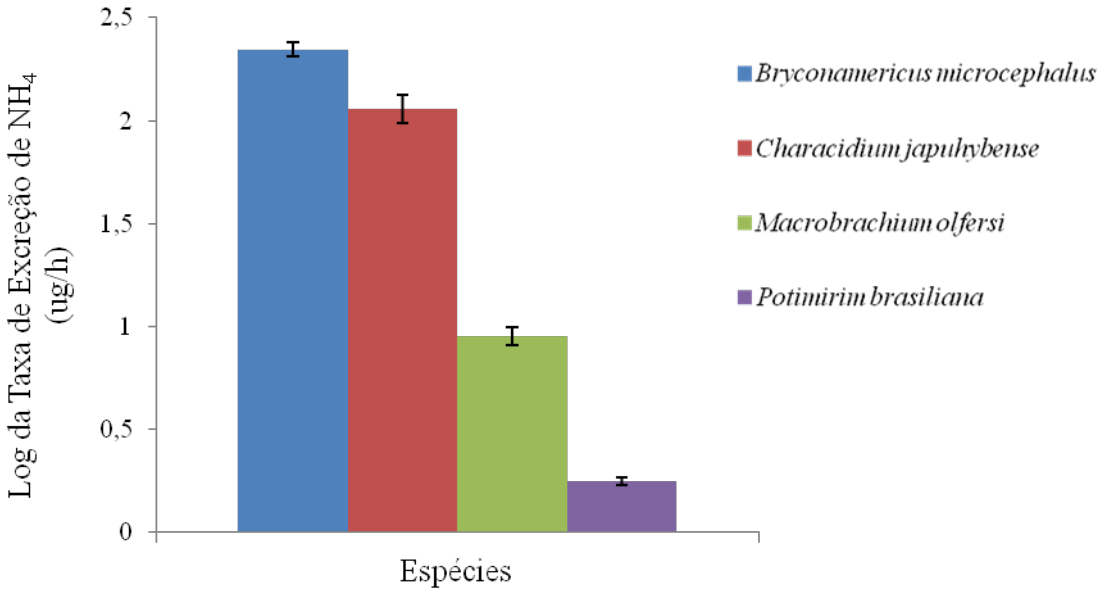
Os fatores que afetaram as taxas de excreção de nutrientes das espécies se encontram resumidos abaixo (Tabela 2).

Tabela 2 – Resumo dos fatores que afetaram as taxas de excreção das espécies

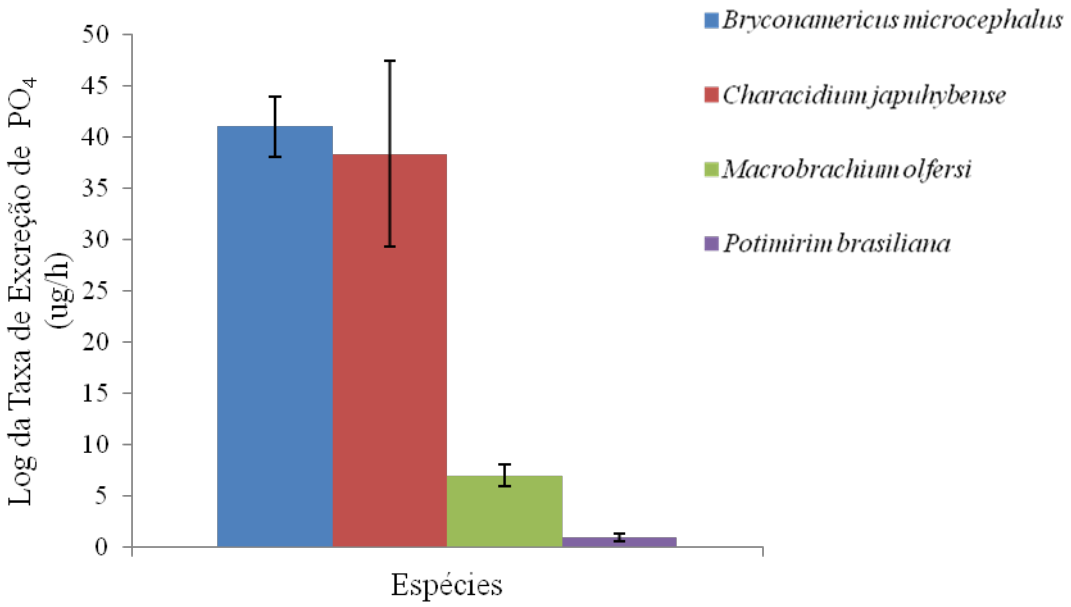
	Fatores que afetaram a excreção de nutrientes dos consumidores			
Espécies	**NH_4**	**Como?**	**PO_4**	**Como?**
B. microcephalus	Hora do dia e tipo de incubação.	Maior excreção durante o dia; maior excreção no tipo de incubação Stress.	Tamanho corporal e tipo de incubação.	Relação alométrica; maior excreção no tipo de incubação Stress.
C. japuhybense	Hora do dia.	Maior excreção durante a noite.	Tamanho corporal.	Relação alométrica.
P. brasiliana	Hora do dia, tipo de incubação e tamanho corporal.	Maior excreção durante o dia; maior excreção no tipo de incubação No Stress; Relação alométrica.	Tamanho corporal.	Relação alométrica.
M. olfersi	Tipo de incubação e tamanho corporal.	Maior excreção no tipo de incubação No Stress; Relação alométrica.	Tamanho corporal.	Relação alométrica.

Os animais com a maior taxa de excreção absoluta para ambos os nutrientes foram *Bryconamericus microcephalus* e *Characidium japuhybense*, seguidos por *Macrobrachium olfersi* e *Potimirim brasiliana* (Figura 23).

Figura 23 - Taxas de excreção de NH_4 e PO_4 absoluta de todas as espécies.



(a)



(b)

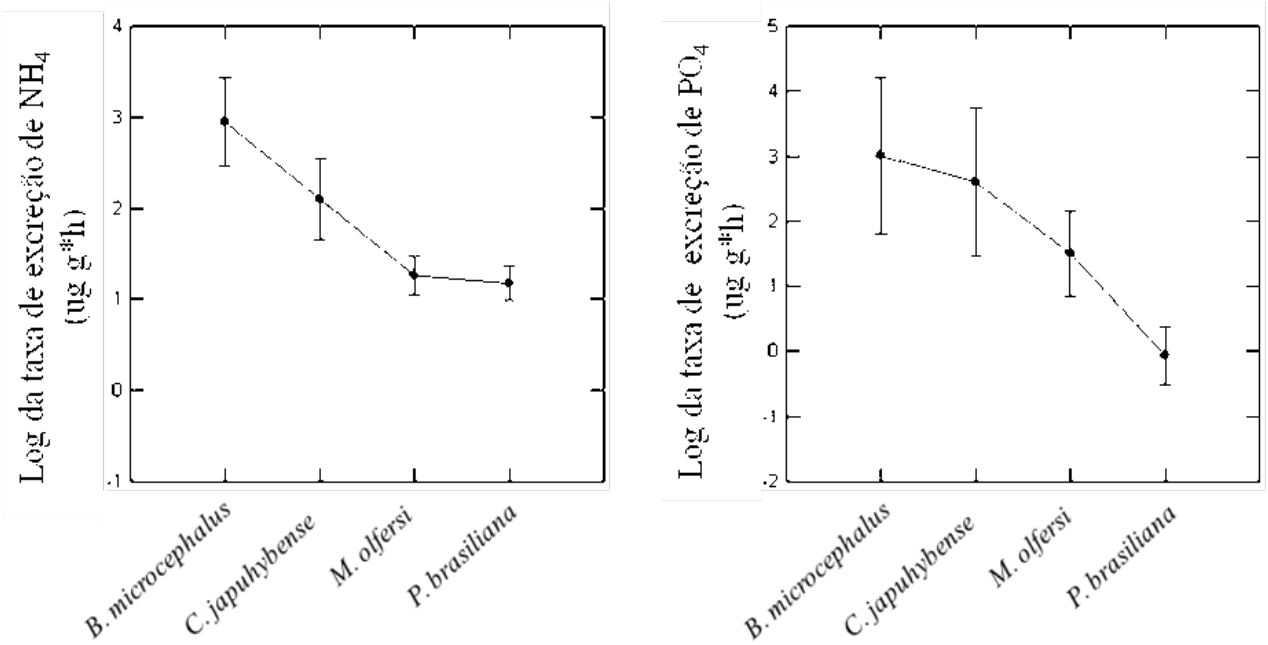
Legenda: (a) Log da taxa de excreção de de NH_4 absoluta (ug/h) de cada espécie; (b) Log da taxa de excreção de PO_4 absoluta (ug/h) de cada espécie. As barras de erro representam o erro padrão.

Para verificar diferenças nas taxas de excreção de nutrientes entre todas as espécies, fizemos uma one-way ANCOVA usando a taxa de excreção de nutrientes por grama como a variável dependente, as espécies como variáveis independentes e o peso como covariável. Os dados usados são da hora do dia de atividade da espécie e do tipo de incubação Stress. Dessa

forma, podemos ver a contribuição de nutrientes de cada espécie no período em que estão mais ativas e com o tipo de incubação sem esforço para reduzir o estresse do animal.

As taxas de excreção de ambos os nutrientes variaram de acordo com a espécie (NH_4- $F_{3,209}$= 31,830, p<0,001 e PO_4- $F_{3,92}$= 5,277, p=0,002) e com o peso (NH_4- $F_{1,209}$= 29,004, p<0,001 e PO_4- $F_{1,92}$= 18,690, p<0,001) (Figura 24). O peixe *B. microcephalus* apresentou as maiores taxas de excreção de ambos os nutrientes, seguido do *C. japuhybense*, o camarão *M. olfersi* em seguida, e por último, *P. brasiliana*

Figura 24 - Excreção de NH_4 e PO_4 por grama de todas as espécies, com o peso como .



(a) (b)

Legenda: (a) Log da taxa de excreção de NH_4 por grama por todas as espécies, com o log do peso como covariável; (b) Log da taxa de excreção de PO_4 por grama por todas as espécies, com o log do peso como covariável. Para os gráficos (a) e (b) foram usados os dados da hora do dia de atividade da espécie e do tipo de incubação com as maiores taxas de excreção.

Para verificar quais espécies diferiram entre si na excreção de NH_4 e PO_4, fizemos o teste post-hoc Tukey's HSD. Verificamos que todas as espécies diferem entre si na excreção de NH_4, com exceção de *Macrobrachium olfersi* e *Potimirim brasiliana* (p=0,967) (Tabela 3).

Para PO_4, *Characidium japuhybense* não diferiu significativamente de *Bryconamericus microcephalus* (p=0,786) e de *Macrobrachium olfersi* (p=0,062) (Tabela 4).

Tabela 3 - Tukey's Honestly Significant Difference Test - quais espécies diferem entre si na excreção de NH_4.

Tukey's Honestly-Significant Test					
Espécie	**Espécie**	**Difference**	**p-value**	**95,0% Confidence Interval**	
				Lower	Upper
B. microcephalus	***C. japuhybense***	*0,844*	*0,001*	*0,265*	*1,424*
B. microcephalus	***M. olfersi***	*1,684*	*0,000*	*0,265*	*1,424*
B. microcephalus	***P. brasiliana***	*1,770*	*0,000*	*1,347*	*2,193*
C. japuhybense	***M. olfersi***	0,840	0,000	0,409	1,270
C. japuhybense	***M. olfersi***	0,926	0,009	0,503	1,349
M. olfersi	***P. brasiliana***	0,086	0,967	-0,083	0,255

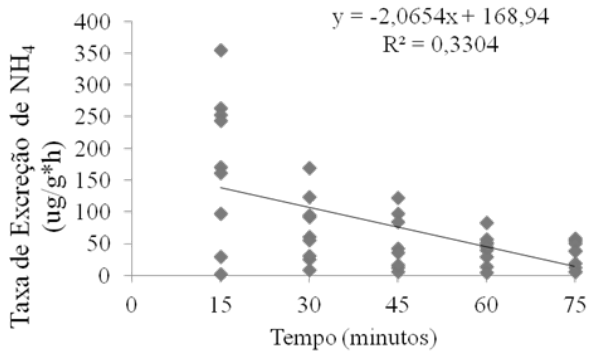
Tabela 4 - Tukey's Honestly Significant Difference Test - quais espécies diferem entre si na excreção de PO_4.

Tukey's Honestly-Significant Test					
Espécie	**Espécie**	**Difference**	**p-value**	**95,0% Confidence Interval**	
				Lower	Upper
B. microcephalus	***C. japuhybense***	*0,404*	*0,786*	*-0,713*	*1,520*
B. microcephalus	***M. olfersi***	*1,496*	*0,004*	*0,639*	*2,354*
B. microcephalus	***P. brasiliana***	*3,069*	*0,001*	*2,314*	*3,824*
C. japuhybense	***M. olfersi***	1,093	0,062	0,100	2,085
C. japuhybense	***M. olfersi***	2,665	-0,004	1,760	3,570
M. olfersi	***P. brasiliana***	1,573	0,016	1,018	2,127

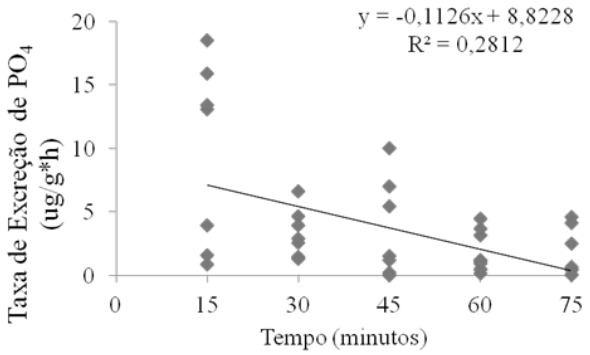
4.6 Taxas de excreção ao longo do tempo

Para ambas as espécies de camarões e ambos os nutrientes (NH_4 e PO_4), observamos que os primeiros 15 minutos de incubação apresentam maior variação das taxas de excreção e que com o passar do tempo, as taxas diminuem e se estabilizam (Figura 25).

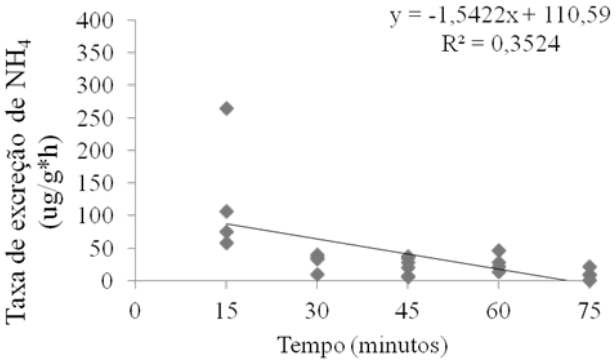
Figura 25: Taxas de excreção de NH_4 e PO_4 ao longo do tempo para *P.brasiliana* e *M. olfersi.*



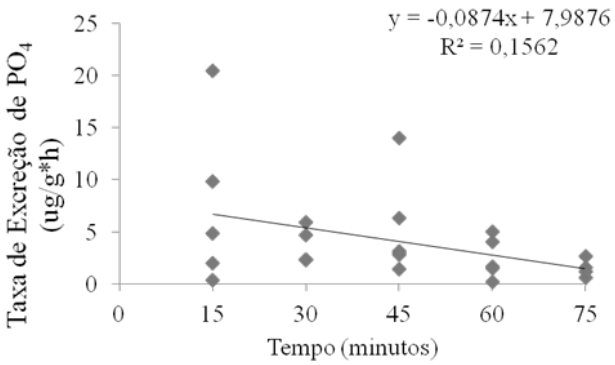
(a)



(b)



(c)



(d)

Legenda: (a) Excreção de NH_4 por grama ao longo do tempo para *P. brasiliana*; (b) Excreção de PO_4 por grama ao longo do tempo para *P. brasiliana*; (c) Excreção de NH_4 por grama ao longo do tempo para *M. olfersi*; (d) Excreção de PO_4 por grama ao longo do tempo para *M. olfersi*.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, vimos que diferentes espécies apresentam diferentes padrões de excreção de nutrientes, e que o tamanho corporal, a hora do dia e o tempo de incubação tem efeito sobre as taxas de excreção. Observamos diferentes padrões nas taxas de excreção de NH_4 e PO_4, o que sugere a existência de diferentes mecanismos de excreção para os dois nutrientes.

Quanto às características metodológicas que podem influenciar a excreção dos animais, vimos que a tentativa de minimizar o estresse durante a incubação (tipos de incubação Stress e No Stress) não foi eficiente, e que a excreção dos animais apresentou maior variação e picos de excreção durante os primeiros 15 minutos de incubação.

5.1 **Peixes**

Para ambas as espécies de peixes, percebemos que a excreção de NH_4 é influenciada pela hora do dia e que a excreção de PO_4 é influenciada pelo tamanho do corpo do peixe. A excreção de NH_4 foi significativamente maior na hora do dia de maior atividade destes animais: *Bryconamericus microcephalus*, peixe de hábitos diurnos (Mazzoni and Rezende, 2008), excretou mais durante o dia e *Characidium japuhybense*, peixe de hábitos noturnos (observações de campo), excretou mais durante a noite. Este resultado sugere que a excreção de NH_4 é maior no período do dia no qual os peixes estão se alimentando. Para PO_4, a excreção tem uma relação alométrica com o tamanho corporal, onde indivíduos de menor tamanho excretam proporcionalmente mais nutrientes em relação a indivíduos maiores. Os diferentes padrões observados sugerem que a excreção de NH_4 e a excreção de PO_4 ocorrem por mecanismos diferentes nesses animais.

A excreção de NH_4 está relacionada com o período de alimentação, pois quando os alimentos proteicos (aminoácidos) são metabolizados, o grupo amino é removido no processo chamado desaminação, e a amônia é formada (Schmidt-Nielsen 2010). A amônia (NH_3) é a forma não ionizada do nitrogênio amoniacal, e a forma ionizada é NH_4^+. Ambas as formas se relacionam entre si através de uma reação ácido-básica (Carmouze 1994): $NH_4^+ \rightarrow NH_3 + H^+$. A amônia ($NH_3$) é um composto altamente tóxico, que deve ser removido do organismo rapidamente (Schmidt-Nielsen 2010), por isso a excreção de NH_4 é afetada pela hora do dia, ocorrendo em maior quantidade no período em que o animal está se alimentando.

A excreção de NH_4 não está relacionada com o tamanho corporal de nenhuma das duas espécies de peixe, o que é o contrário do esperado, devido à relação alométrica entre metabolismo e tamanho do corpo (Brown et *al*. 2004). Este fato possivelmente ocorre porque as demandas de N e P podem ser diferentes ao longo do desenvolvimento deste animal, ou seja, muda para P, mas não para N. Vanni et *al.* (2002) também não encontraram uma relação significativa entre a excreção de NH_4 e o tamanho do corpo de espécies de peixes e anfíbios, porém encontrou uma relação significativa entre a excreção de NH_4 e a estequiometria corporal.

O fósforo é um nutriente presente nas escamas dos peixes, nos ossos em associação com o cálcio, ácidos nucleicos (DNA e RNA), adenosina trifosfato (ATP) e membranas celulares (Lovell 1934). É um nutriente de alta demanda por organismos vertebrados por ser importante para o crescimento do corpo e desenvolvimento do tecido ósseo (Lovell 1934). Estudos defendem que a composição corporal de um indivíduo varia com seu tamanho, alterando a demanda por nutrientes e, consequentemente, sua excreção (Alves et *al.* 2010). Foi observada uma relação alométrica entre a excreção de PO_4 e o tamanho do corpo, onde indivíduos menores excretam proporcionalmente mais que indivíduos maiores. Esta relação

provavelmente ocorre devido ao metabolismo do indivíduo, que é determinado por um fator de ¾ do tamanho corporal (Brown et *al*. 2004).

A excreção de PO_4 não está relacionada à hora do dia para ambas as espécies de peixes. Provavelmente porque, diferente do que ocorre com NH_4 que é uma substância tóxica que precisa ser eliminada rapidamente, a excreção de PO_4 ocorre de forma mais constante ao longo do tempo.

A excreção de ambos os nutrientes pela espécie *Characidium japuhybense* não foi afetada pelo tratamento. Este resultado indica que o esforço para reduzir o estresse de incubação dos peixes desta espécie foi insuficiente. Pensamos que ao amarrar os sacos plásticos contendo os animais a uma corda dentro do rio, o estresse seria minimizado uma vez que o animal iria sentir a correnteza do rio e não haveria muita diferença na temperatura. No entanto, isto não ocorreu. É possível que o tipo de incubação utilizada para esta espécie não tenha sido ideal, uma vez que se trata de um peixe bentônico, que vive no fundo do rio e não na coluna d'água (Brito et *al*. 2006). Se uma incubação onde o animal ficasse no fundo do rio tivesse sido utilizada, talvez houvesse a redução do estresse e um efeito sobre as taxas de excreção de nutrientes.

Já a excreção de NH_4 e PO_4 dos peixes da espécie *Bryconamericus microcephalus* sofreu a influência do tratamento. Os peixes desta espécie vivem na coluna d'água (Mazzoni and Rezende 2009), e por isso o tipo de incubação No Stress, com os sacos plásticos contendo os animais amarrados a uma corda dentro do rio, sob o balanço da correnteza, foi o melhor tratamento a ser adotado. A excreção de NH_4 foi maior na incubação Stress durante o dia e a excreção de PO_4 foi maior na incubação Stress durante a noite.

Como discutido anteriormente, a excreção de NH_4 está relacionada ao período de alimentação, que para *B. microcephalus* ocorre durante o dia. Dessa forma, observamos que durante o dia a incubação No Stress teve menores taxas de excreção de NH_4 e, por isso, foi

eficiente em reduzir o estresse do animal. Durante a noite, não houve diferença significativa na excreção de NH_4 entre os tipos de incubação, provavelmente porque os animais estavam de estômago vazio e com baixos níveis de amônio para excretar.

Para PO_4, as taxas de excreção foram maiores na incubação Stress durante a noite, e durante o dia não houve diferença entre os tipos de incubação. Uma possível explicação é que por serem animais diurnos, os peixes desta espécie estejam acostumados a estarem mais ativos de dia, e o fato de estarem numa incubação mais estressante durante este período não tenha os afetado de forma intensa. Talvez o fato de terem sido capturados e mantidos numa incubação sem o balanço da correnteza do rio durante a noite, período de menor atividade, tenha intensificado ainda mais o estresse e, consequentemente a excreção de PO_4.

De modo geral, *Bryconamericus microcephalus* excretou mais NH_4 e PO_4 por massa corporal que *Characidium japuhybense.* Este fato não está relacionado às dietas destes animais, pois *Characidium japuhybense* é um peixe predador (Brito et *al.* 2006), com uma dieta mais rica em nutrientes que *Bryconamericus microcephalus*, um peixe onívoro (Brito et *al.* 2006), e portanto o esperado seria *Characidium japuhybense* excretar mais nutrientes.

Por isso, o fato de *Bryconamericus microcephalus* excretar mais nutrientes que *Characidium japuhybense* deve estar relacionado a características da estequiometria corporal (%N, %P) destes animais. O peixe *Characidium japuhybense* deve apresentar maior demanda de nutrientes para sua constituição corpórea que o peixe *Bryconamericus microcephalus*, e por isso retém mais nutrientes.

5.2 **Camarões**

Em relação aos camarões, para *Potimirim brasiliana*, a excreção de NH_4 sofreu influência da interação entre o tipo de incubação e o tamanho corporal, e da hora do dia, e a

excreção de PO_4 foi afetada pelo tamanho corporal. Para *Macrobrachium* vimos que a excreção de NH_4 está relacionada ao tipo de incubação e ao tamanho corporal, e a excreção de PO_4 relacionada ao tamanho corporal.

Potimirim brasiliana apresentou maiores taxas de excreção de NH_4 durante o dia, período em que está se alimentando, assim como os peixes deste estudo. A influência da hora do dia não pode ser verificada para *Macrobrachium olfersi*, mas acreditamos que sua excreção de NH_4 seja maior durante a noite, seu período de atividade. Dados de peso do estômago desta espécie indicam que durante a noite seus estômagos estão mais cheios de alimento (dados não publicados), o que indica que sua excreção de NH_4 pode ser maior neste período.

A excreção de NH_4 e PO_4 de ambos os camarões foi afetada pelo tamanho corporal, através de uma relação alométrica, onde os indivíduos de menor tamanho excretam proporcionalmente mais que os indivíduos maiores. Este resultado era esperado uma vez que há uma relação alométrica entre metabolismo e tamanho do corpo (Brown et *al*., 2004).

A excreção de NH_4 de ambos os camarões sofreu influência do tipo de incubação, com maiores taxas de excreção na incubação No Stress. Este resultado é o contrário do esperado, uma vez que, ao cercar os sacos plásticos com folhas e areia do rio, esperávamos que os animais se sentissem mais familiarizados com o tipo de incubação e o estresse fosse minimizado. No entanto, ocorreu o contrário. Possivelmente, o fato de estar cercado por areia e folhas aumentou ainda mais o estresse do animal.

Macrobrachium olfersi excretou mais nutrientes por grama que *Potimirim brasiliana.* Ambos são animais onívoros, porém *Macrobrachium olfersi* apresenta assinaturas isotópicas $\delta^{15}N$ mais altas que *Potimirim brasiliana* (Brito et *al.* 2006), o que indica que *M. olfersi* está em uma posição trófica mais elevada que *P. brasiliana.* Além disso, estudos mostram que *P. brasiliana* ingere detritos com sua garra especializada (Fryer 1977). Portanto, é possível que

as diferenças em relação às taxas de excreção de nutrientes estejam relacionadas com diferenças na dieta entre os dois camarões.

5.3 **Camarões e peixes: similaridades e diferenças**

Em relação à hora do dia, vimos que ambas as espécies de peixe e o camarão *Potimirim brasiliana*, apresentaram maiores taxas de excreção de NH_4 no período do dia em que estão mais ativos. Estes resultados se assemelham aos resultados encontrados por Capps and Flecker (2013a), em um estudo com peixes da família Loricariidae em que foi observada uma excreção de fósforo duas vezes maior durante a noite, período em que os animais estavam se alimentando.

Quanto ao efeito do tipo de incubação, vimos que a excreção do peixe *Characidium japuhybense* não foi afetada e que ambos os camarões tiveram taxas de excreção opostas ao esperado, excretando mais na incubação No Stress. Estes resultados mostram o quanto minimizar o estresse do animal se torna um desafio em experimentos de medição da taxa de excreção. É difícil se certificar de que a incubação menos estressante é de fato menos estressante para o animal.

Em relação ao tamanho, vimos que todos os animais do estudo apresentaram uma relação alométrica entre o tamanho do corpo e a excreção de ao menos um dos nutrientes, provavelmente devido ao fator de ¾ do metabolismo em relação ao tamanho (Brown et *al.*, 2004). Este resultado é semelhante a diversos estudos anteriores: Vanni et *al.* 2002 (peixes), Schindler and Eby 1997 (peixes), Benstead et *al*. 2010 (camarões), Tanaka 1993 (camarões), todos mostrando que animais menores excretam proporcionalmente mais comparado a animais maiores.

Para ambos os camarões, as excreções de NH_4 e PO_4 tiveram uma relação alométrica com o tamanho do corpo do indivíduo. Este resultado difere do padrão encontrado para peixes, onde apenas a excreção de PO_4 foi influenciada pelo tamanho, o que sugere que a excreção de nutrientes ocorra por mecanismos diferentes entre organismos vertebrados e invertebrados.

Talvez essa diferença entre camarões e peixes ocorra porque peixes, por serem vertebrados, apresentem uma alta demanda por P em relação a N, enquanto camarões apresentem demandas semelhantes por P e N para sua constituição corporal. Como peixes são organismos vertebrados, eles apresentam uma maior demanda corporal por P para constituir seu esqueleto ósseo que camarões, organismos invertebrados (Vanni 2002). Estudos mostram que peixes apresentam baixo N:P em seu corpo, pois possuem uma alta demanda por P para compor sua armadura óssea, e consequentemente excretam alto N:P, enquanto, por exemplo, girinos excretam baixo N:P por ainda não possuírem esqueleto ósseo (Vanni et *al*. 2002). É possível que peixes tenham uma maior demanda por P que camarões, e consequentemente menor N:P em sua excreção.

Vimos que todas as espécies diferiram significativamente em relação às taxas de excreção de nutrientes. De acordo com a Teoria de Estequiometria Ecológica (TEE), a excreção de nutrientes de um animal é determinada pelo balanço entre os nutrientes presentes na dieta e os nutrientes que constituem o corpo do animal (Sterner and Elser 2002; Vanni, 2002). Como cada espécie apresenta uma dieta e uma composição corporal específica, uma diferença nas taxas de excreção de nutrientes entre as espécies era esperada. No entanto para NH_4, *M. olfersi* e *P. brasiliana* não diferiram significativamente, e para PO_4, *C. japuhybense* não diferiu significativamente de *B. microcephalus* e de *M. olfersi*. É possível que estas espécies possuam semelhanças entre si na estequiometria corporal para estes nutrientes.

Observamos que quando as taxas de excreção de nutrientes não levam em consideração o tamanho dos indivíduos (taxa de excreção absoluta), os animais de maior tamanho excretam muito mais nutrientes que animais menores. No entanto, as taxas de excreção por massa mostram que estas diferenças na excreção de nutrientes entre as espécies não são tão grandes.

5.4 **Diferenças entre sítios**

Para as espécies de camarão, vimos que houve uma diferença nas taxas de excreção de nutrientes entre sítios. Para *Potimirim brasiliana,* as taxas de excreção de NH_4 não diferiram significativamente entre os sítios MDA e BP. No entanto, as taxas de excreção de PO_4 foram significativamente maiores no sítio MDA. Para *Macrobrachium olfersi,* houve uma interação significativa entre as taxas de excreção de NH_4 e o peso corporal dos animais, e as taxas de excreção de PO_4 dos sítios BP e MDA diferiram significativamente. Os sítios MDA e LAM não diferiram significativamente.

O sítio BP é o sítio de dossel mais fechado e apresentou menores taxas de excreção que os sítios MDA e LAM, ambos de dossel mais aberta. Esta diferença possivelmente está relacionada com a disponibilidade de luz dos sítios. Moslemi et *al*. (2012) mostraram que hábitats de maior incidência luminosa apresentaram maior disponibilidade de recursos, já que a luz não foi um fator limitante ao crescimento dos produtores primários. Com uma maior disponibilidade de recursos, a qualidade da dieta dos camarões deve aumentar, e consequentemente, suas taxas de excreção de nutrientes. Com isso, é possível que os sítios de dossel mais aberto, MDA e LAM, tenham proporcionado uma dieta mais rica em nutrientes que o sítio BP.

O sítio LAM teve as maiores taxas de excreção de nutrientes para *M. olfersi*, seguido do sítio MDA e por último o BP. É possível que outro fator além da dieta tenha sido responsável por isso. O sítio LAM apresenta uma alta densidade populacional de peixes da espécie *Bryconamericus microcephalus* (Moulton et al. 2010), e é provável que estes representem uma ameaça aos camarões, causando estresse e acelerando seu metabolismo, e consequentemente aumentando as taxas de excreção.

5.5 **Efeito do tempo de incubação sobre as taxas de excreção**

Para as espécies de camarão, a variação das taxas de excreção com o tempo foi testada. Vimos que durante os primeiros 15 minutos de incubação, as taxas de excreção apresentam a maior variação entre si, com picos elevados de excreção, e que após esse período de tempo as taxas diminuem.

Este fato provavelmente ocorre porque durante os primeiros minutos de incubação, o animal ainda está lidando com o estresse da captura e manipulação, seu metabolismo está acelerado e suas taxas de excreção muito altas. Com o tempo, o animal vai se adaptando ao novo ambiente, seu metabolismo desacelerando e suas taxas de excreção voltam à normalidade. Estes resultados se assemelham aos resultados de Whiles et *al.* (2009), num estudo realizado com girinos e peixes, onde o mesmo padrão de excreção de NH_4 por tempo foi encontrado e atribuído ao estresse da captura e manipulação.

Vanni (2002) também encontrou a diminuição da excreção de nutrientes com o tempo, mas sua hipótese foi que esta diminuição estava relacionada à falta de comida. No entanto, Whiles et *al*. (2009) verificou em seu estudo que a falta de comida não influenciou a excreção de girinos por até 6 horas, o que indica que os elevados níveis de excreção durante os primeiros minutos está relacionado ao estresse do animal. Embora neste trabalho o efeito do

tempo não tenha sido testado para as espécies de peixe, acreditamos que o mesmo comportamento observado com os camarões se repita para os peixes e outros táxons.

É recomendado que em futuros estudos na área, os pesquisadores façam as medidas da taxa de excreção no minuto 15 e no minuto 60 da incubação, para descontar o efeito do estresse do cálculo final e obter uma taxa de excreção mais próxima da realidade.

5.6 **Perspectivas futuras**

Os dados das taxas de excreção das espécies obtidos neste estudo podem ser utilizados para estimar a excreção em nível de população, sabendo a densidade das espécies. A demanda de nutrientes do sistema também deve ser estimada e, dessa forma, podemos verificar a contribuição dos consumidores para a ciclagem de nutrientes do ecossistema.

CONCLUSÃO

Este estudo buscou compreender como os fatores: tamanho do corpo, hora do dia, tipo e tempo de incubação podem influenciar as taxas de excreção de nutrientes dos principais consumidores em rios de Mata Atlântica na Ilha Grande.

Vimos que o tamanho corporal teve uma relação alométrica com a excreção de nitrogênio (NH_4) de camarões e com a excreção de fósforo (PO_4) de camarões e peixes. A hora do dia teve influência sobre as taxas de excreção de NH_4 de peixes e uma das espécies de camarão, com os animais excretando mais NH_4 durante o seu período de alimentação. No entanto, a hora do dia não afetou a excreção de PO_4. Com isso, observamos que a excreção de NH_4 e PO_4 ocorre por mecanismos distintos. A excreção de NH_4 tem relação com o horário de alimentação, pois é uma substância tóxica que precisa ser eliminada rapidamente, enquanto a excreção de PO_4 ocorre de forma mais constante ao longo do tempo, uma vez que não se trata de uma substância tóxica.

A tentativa de minimizar o estresse dos animais durante a incubação (tipos de incubação Stress e No Stress) não foi bem sucedida. Houve um efeito do tempo de incubação sobre as taxas de excreção de NH_4 e PO_4 dos camarões, onde a excreção dos animais teve maior variação e picos de excreção durante os primeiros 15 minutos.

Diferentes espécies apresentaram diferentes padrões de excreção de nutrientes. Peixes e camarões diferiram em relação aos mecanismos de excreção de NH_4, possivelmente porque peixes são vertebrados e camarões invertebrados.

Para compreender melhor os fatores que influenciam as taxas de excreção de nutrientes por consumidores, é preciso investigar a estequiometria corporal do consumidor, de sua dieta e seus hábitos de vida (diurno ou noturno). Futuros estudos realizados na área devem medir as taxas de excreção nos horários de maior e menor atividade da espécie para não

superestimar ou subestimar a sua contribuição para a reciclagem de nutrientes do sistema. Além disso, é preciso buscar minimizar o estresse do animal e desconsiderar os primeiros 15 minutos de incubação para que o experimento se aproxime o máximo possível da realidade na natureza.

REFERÊNCIAS

Allan, J. D. and Castillo, M. M. 2008. Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters. Second Edition. Springer. P.O. box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands. ISBN 978-1-4020-5582-9 (PB). ISBN 978-1-4020-5583-6 (e-book).

Alves, J. M., Caliman, A., Guariento, R. D., Figueiredo-Barros, M. P., Carneiro, L. S., Farjalla, V. F., Bozelli, R. L. and Esteves, F. A. 2010. Stoichiometry of benthic invertebrate nutrient recycling: interspecific variation and the role of body mass. Aquatic Ecology, (44:421–430 DOI 10.1007/s10452-009-9302-3.

Atkinson, C. L., Vaughn, C. C., Forshay, K. J. and Cooper, J. T. 2013. Aggregated filter-feeding consumers alter nutrient limitation: consequences for ecosystem and community dynamics. Ecology, 94(6), pp. 1359–1369

Bartell, S. M. 1981. Potential impact of size selective planktivory on P release by zooplankton. Hydrobiologia, 80:139–46.

Benstead, J. P., Cross, W. F., March, J. G., McDowell, W. H., Ramirez, A. and Covich, A. P. 2008. Biotic and abiotic controls on the ecosystem significance of consumer excretion in two contrasting tropical streams. Freshwater Biology, 55, 2047–2061 doi:10.1111/j.1365-2427.2010.02461.x.

Brito, E. F., Moulton, T. P., Souza, M. L., and Bunn, S. E. 2006. Stable isotope analysis indicates microalgae as the predominant food source of fauna in a coastal forest stream, Southeast Brazil. Austral Ecology, 31, 623–633. doi:10.1111/J.1442-9993.2006.01610.X

Brown, J. H., Gillooly, J. F., Allen, A. P., Savage, V. M., West, G. B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. Ecology, 85: 1771–1789.

Capps, K. A., Atkinson, C. L. and Rugenski, A. T. 2015. Consumer-driven nutrient dynamics in freshwater ecosystems: an introduction. Freshwater Biology, 60: 439–442. doi:10.1111/fwb.12517

Capps, K. A. and Flecker A. S. 2013b. Invasive aquarium fish transform ecosystem nutrient dynamics. Proceedings of the Royal Society B, 280:20131520.

Capps, K. A. and Flecker A. S. 2013a. Invasive fishes generate biogeochemical hotspots in a nutrient-limited system. Plos One, Volume 8, Issue 1, e54093.

Carmouze, J. P. 1994. O metabolismo dos ecossistemas aquáticos. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher / Fapesp. 253p.

El-Sabaawi, R. W., Marshall, M. C., Bassar, R. D., López-Sepulcre, A., Palkovacs, E. P. and Dalton, C. 2015. Assessing the effects of guppy life history evolution on nutrient recycling: from experiments to the field. Freshwater Biology, 60: 590–601. doi:10.1111/fwb.12507

Elser, J. J. and Urabe J. 1999. The stoichiometry of consumer-driven nutrient recycling: theory, observations, and consequences. Ecology, 80:735–51.

Elser, J. J., Chrzanowski, T. H., Sterner, R. W. and Mills, K. H. 1998. Stoichiometric constraints on food-web dynamics: a whole lake experiment on the Canadian Shield. Ecosystems, 1, 120–13.

Evans-White, M. A. and Lamberti, G. A. 2006. Stoichiometry of consumer-driven nutrient recycling across nutrient regimes in streams. Ecology Letters, 9: 1186–1197 doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00971.x.

Findlay, D. L., Vanni, M. J., Paterson, M., Mills, K. H., Kasian, S. E. M., Findlay, W. J. and Salki, A. G. 2005. Dynamics of a boreal lake ecosystem during a long-term manipulation of top predators. Ecosystems, 8: 603–618 DOI: 10.1007/s10021-005-1221-0

Finney, B. P., Gregory-Eaves I., Sweetman J., Douglas, M. S. V. and Smol J. P. 2000. Impacts of climatic change and fishing on Pacific salmon abundance over the past 300 years. Science, 290:795–99

Gardner, W. S. and Scavia, D. 1981. Kinetic examination of nitrogen release by zooplankters, Limnology and Oceanography, 26, doi: 10.4319/lo.1981.26.5.0801.

Glaholt Jr, S. P. and Vanni, M. J. 2005. Ecological responses to simulated benthic-derived nutrient subsidies mediated by omnivorous fish. Freshwater Biology, 50, 1864–1881 doi:10.1111/j.1365-2427.2005.01456.x

Gotherman, H. L., Clymo, R. S. and Ohnstad, M. A. M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwater. Blackwell, Oxford.

Grimm, N. B. 1988. Feeding dynamics, nitrogen budgets, and ecosystem role of a desert stream omnivore, Agosia chrysogaster (Pisces: Cyprinidae). Environmental. Biology of Fishes, 21:143–52

Hall, R. O. J., Koch, B. J., Marshall, M. C., Taylor, B. W. and Tronstad, L. M. 2007. How body size mediates the role of animals in nutrient cycling in aquatic ecosystems. Page 352 in Hildrew, A.G., Edmonds-Brown, R., and Raffaelli, D. Body Size: The Structure and Function of Aquatic Ecosystems. Cambridge University Press, New York.

Holmes, R. M., Aminot, A., Kerouel, R., Hooker, B. A. and Peterson, B. J.. 1999. A simple and precise method for measuring ammonium in marine and freshwater ecosystems. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 56(10): 1801-1808, 10.1139/f99-128

Hopkins, T. E. and Cech J. J. 1992. Physiological effects of capturing striped bass in gill nets and fyke traps. Transactions of the American Fisheries Society, 121, 819– 822.

Huxley, J. S. 1932. Problems of relative growth. Methuen, London, UK.

Kiesecker J. M., Chivers, D. P., Marco, A., Quilchano, C., Anderson, M. T., and Blaustein, A. R. 1999. Identification of a disturbance signal in larval red-legged frogs, Rana aurora . Animal Behaviour, 57:1295-1300.

Kosten, S., Huzsar, V. L. M., Mazzeo, N., Scheffer, M. and Jeppesen, E. 2009. Lake and watershed characteristics rather than climate influence nutrients limitation in shallow lakes**.** Ecological applications, v.19.p 1791-1804.

LovelI, T. 1934. Nutrition and feeding of fish. ISBN 978-1-4757-1176-9 1. Fishes-Feeding and feeds. I. Title. SH156.L68 1988 639.3-dcI9.

Mazzoni, R. and Rezende, C. F. 2009. Daily feeding activity of Bryconamericus microcephalus (Characiformes, Characidae) from Córrego Andorinha, Ilha Grande – RJ. Brazilian Journal of Biology, 69, 381–384.

McIntyre, P. B. and Flecker, A. S. 2010. Ecological Stoichiometry as an integrative framework in stream fish ecology. American Fisheries Society Symposium, 73:539-558.

McIntyre, P. B., Flecker, A. S., Vanni, M. J., Hood, J. M., Taylor, B. W. and Thomas, S. A. 2008. Fish distributions and nutrient cycling in streams: can fish create biogeochemical hotspots? Ecology, 89(8), 2008, pp. 2335–2346

McIntyre, P. B., Jones, L.E., Flecker, A. S., and Vanni, M. J. 2007. Fish extinctions alter nutrient recycling in tropical freshwaters. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104:4461---4466.

Meyer, J. L., Schultz, E. T. and Helfman, G. S. 1983. Fish schools: an asset to corals. Science, 220, 1047–1049.

Moslemi J. M., Snider S. B., Macneill K., Gilliam J. F. and Flecker A. S. 2012. Impacts of an invasive snail (Tarebia granifera) on nutrient cycling in tropical streams: the role of riparian deforestation in Trinidad, West Indies. PLoS One, 7, e38806

Moulton, T. P., Souza, M. L., Silveira, R. M. L. and Krsulovic, F. A. M. 2004. Effects of ephemeropterans and shrimps on periphyton and sediments in a coastal stream (Atlantic forest, Rio de Janeiro, Brazil). Journal of the North American Benthological Society, 23(4):868-881.

Moulton, T. P., Souza, M. L., Silveira, R. M. L., Krsulović, F. A. M., Silveira, M. P., de Assis, J. C. F., and Francischetti, C. N. 2010. Patterns of periphyton are determined by cascading trophic relationships in two neotropical streams. Marine and Freshwater Research, 61, 57–64. http://dx.doi.org/10.1071/MF08326

Pereira, H. M., Leadley, P. W., Proenca, V., Alkemade, R., Scharlemann, J. P. W. and Fernandez-Manjarres, J. F. 2010. Scenarios for global biodiversity in the 21st century. Science, 330, 1496–1501.

Pilati, A. and Vanni, M. J. 2007. Ontogeny, diet shifts, and nutrient stoichiometry in fish. Oikos, 116: 1663–1674. doi: 10.1111/j.0030-1299.2007.15970.x

Rezende, C. F. and Mazzoni, R. 2006. Disponibilidade e uso de recursos alóctones por Bryconamericus microcephalus (Miranda-Ribeiro) (Actinopterygii, Charaidae), no córrego Andorinha, Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brazileira de Zoologia, 23:218-222.

Rezende, F. C. and Mazzoni, R. 2003. Aspectos da alimentação de Bryconamericus microcephalus (Characiformes, Tetragonopteridae) no córrego Andorinha, Ilha Grande RJ. Biota Neotropica.

Reznick, D. and Endler, J. A. 1982. The impact of predation on life-history evolution in Trinidadian guppies (Poecilia reticulata). Evolution, 36, 160–177

Reznick, D., Butler, M. J. and Rodd, H. 2001. Life-history evolution in guppies. VII. The comparative ecology of highand low-predation environments. American Naturalist, 157, 126–140

Schimidt-Nielsen, K. 2010. Fisiologia animal – adaptação e meio ambiente. São Paulo: Santos. Cap.9, p.353-392.

Schindler, D. E. and Eby, L. A. 1997. Stoichiometry of fishes and their prey: implications for nutrient recycling. Ecology, 78(6), pp. 1816–1831.

Schindler, D.E. and Scheuerell, M.D. 2002. Habitat coupling in lake ecosystems. Oikos. 98:177– 89

Simon, K.S., Townsend, C.R., Biggs, B. J. F., Bowden, W. B. and Frew, R. D. 2004. Habitat-specific nitrogen dynamics in New Zealand streams containing native and invasive fish. Ecosystems, 7, 777–792.

Souza, M. L. and T. P. Moulton. 2005. The effects of shrimps on benthic material in a Brazilian island stream. Freshwater Biology, 50(4):592-602

Small, G. E., Pringle, C. M., Pyron, M., and Duff, J. H. 2011. Role of the fish *Astyanax aeneus* (Characidae) as a keystone nutrient recycler in low- nutrient Neotropical streams. Ecology, 92:386---397. (doi: 10.1890/10-0081.1)

Spooner, D. E., Frost, P. C., Hillebrand, H., Arts, M. T., Puckrin, and O., Xenopoulos, M. A. 2013. Nutrient loading associated with agriculture land use dampens the importance of consumer-mediated niche construction. Ecology Letters, 16: 1115–1125 doi: 10.1111/ele.12146

Sterner, R. W., and J. J. Elser. 2002. Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.

Tanaka, Y. 1993. Influence of Body Weight and Food Density on Kinetics of Ammonia Excretion by the Brine Shrimp *Artemia franciscana*. Journal of the World Aquaculture Society, 24: 499–503. doi: 10.1111/j.1749-7345.1993.tb00580.x

Taylor, B. W., Keep, C. F., Hall Jr., R. O. Koch, B. J., Tronstad, L. M., Flecker, A. S. and Ulseth, A. J. 2007. Improving the fluorometric ammonium method: matrix effects, background fluorescence, and standard additions. Journal of the North American Benthological Society, 26:167-177.

Taylor, J. K. 1989. Quality assurance of chemical measurements. 6th ed. Lewis.

Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R. and Polasky, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature, 418, 671-677.

Turner, R. E. and Rabalais, N. N. 1994. Coastal eutrophication near the Mississippi River Delta. Nature, 368, 619–621.

Vanni, M. J., Flecker, A. S., Hood, J. M., Headworth, J. L. 2002. Stoichiometry of nutrient recycling by vertebrates in a tropical stream: linking species identity and ecosystem processes. Ecology Letters, 5, 285–293.

Vanni, M. J. 2002. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. Annual Review of Ecology and Systematics, 33:341---370.

Vanni, M. J., Boros, G., and McIntyre, P. B. 2013. When are fish sources vs. sinks of nutrients in lake ecosystems? Ecology, 94(10), 2013, pp. 2195–2206.

Wen, Y. H. and Peters, R. H. 1994. Empirical models of phosphorus and nitrogen excretion rates by zooplankton. Limnology and Oceanography, 39, 1669–1679.

Whiles, M. R., Huryn, A. D., Taylor, B. W. and Reeve, J. D. 2009. Influence of handling stress and fasting on estimates of ammonium excretion by tadpoles and fish: recommendations for designing excretion experiments. Limnology and Oceanography: Methods 7, 2009, 1–7.