

Universidade do Minho Escola de Ciências

*

Ī

UMinho | 2015

Ana Gabriela Pereira Barros

Caracterização das fontes de matéria orgânica que suportam a produção de ictioplâncton no estuário do Rio Minho. 

Universidade do Minho Escola de Ciências

Ana Gabriela Pereira Barros

Caracterização das fontes de matéria orgânica que suportam a produção de ictioplâncton no estuário do Rio Minho.

Dissertação de Mestrado Mestrado em Ecologia

Trabalho efetuado sob a orientação da Doutora Sofia Ester e Sousa de Aguilar Dias e da Professora Doutora Fernanda Maria Fraga Mimoso Gouveia Cássio

Não sou nada. Nunca serei nada. Não posso querer ser nada. À parte isso, tenho em mim todos os sonhos do mundo.

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

A *Ester Dias*, o meu sincero agradecimento, por já fora de horas, ter aceite orientar-me. Agradeço toda a paciência, até nas questões mais elementares. Agradeço por nunca ter desistido de mim e por fazer-me acreditar. Agradeço a exigência, por obrigar-me a superar-me. Por fim, agradeço a amizade.

Ao *CIIMAR* – Centro de Investigação Interdisciplinar Marinha e Ambiental (Universidade do Porto), o meu agradecimento por permitirem a realização desta tese, disponibilizando todo o apoio logístico necessário durante o período de investigação.

Ao Aquamuseu do Rio Minho e colaboradores, em especial ao Professor Doutor José Carlos Antunes, pelo apoio logístico fundamental para a realização das amostragens e por toda a disponibilidade e paciência que sempre demonstrou.

Aos investigadores do Grupo Estuarine Ecology and Biological Invasions do CIIMAR, Ronaldo Sousa, Martina Llarri, Vanessa Modesto, Allan Souza e em especial ao Jacinto Cunha, por toda a prontidão em ajudar e tirar dúvidas sempre que precisei.

Aos *meus amigos*, em especial ao *Stefano Araújo*, *Helena Machado* e *Filipa Martins*, por todo o apoio e por toda a paciência que tiveram ao ouvir-me lamentar cada vez que aparecia uma pedra no caminho.

Aos meus colegas, em especial à *Ana Lages* e à *Maria Luís Miranda*, pelo apoio e companheirismo.

Aos *meus pais*, que sem a sua insistência não teria embarcado nesta viagem. Agradeço pelo apoio e confiança em todas as fases desta etapa, sem eles nada disto seria possível.

Ao meu irmão, por existir, que só isso chega.

RESUMO

Barros, A. G. P. Caracterização das fontes de matéria orgânica que suportam a produção de ictioplâncton no estuário do Rio Minho. Characterization of organic matter sources that support the production of ichthyoplankton in the Minho river estuary. 2015. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade do Minho, Campus Gualtar, Braga – Portugal, 2015.

Uma das funções das áreas berçário é fornecer as condições ideais para a sobrevivência e crescimento dos estágios iniciais de desenvolvimento de diversas espécies de peixe. O objectivo principal deste estudo consistiu em avaliar a importância dos habitats estuarinos, e dos ecossistemas adjacentes, para a produção da biomassa do ictioplâncton. Era esperado que com o aumento do caudal, existisse um aumento no contributo de fontes de matéria orgânica (MO) de origem alóctone e durante períodos de caudal baixo, aumentasse a contribuição das fontes de MO de origem autóctone. Para tal, foi identificado e quantificado, o tipo e origem da MO assimilada pelo ictioplâncton no estuário do rio Minho, através da utilização dos isótopos estáveis de carbono (C) e azoto (N). Foi também avaliada a resposta funcional das larvas de peixe, face às variações naturais na disponibilidade de alimento ao longo do gradiente estuarino de salinidade e face às variações do caudal. Os valores dos rácios de C(δ^{13} C: 13 C/ 12 C) e N (δ^{15} N: 15 N/ 14 N) das larvas de peixe analisadas revelam que a sua energia provém essencialmente de fontes autóctones, isto é, produzidas localmente. As variações do caudal, provocaram alterações na qualidade da MO particulada (MOP) disponível, nomeadamente, com o aumento do caudal, aumentou o contributo de MO com origem terrestre no estuário (C/N_{MOP}> 10), e com a diminuição do caudal, terá aumentado o contributo de fitoplâncton para o MOP (C/N_{MOP}≈7). No entanto, esta alteração não foi registada nos tecidos das larvas dos peixes, sugerindo que o caudal não terá um papel determinante na utilização dos diferentes tipos de fontes de MO. Em todo o caso, o contributo do ecossistema terrestre foi notório (até 49%), pois registou-se a sua contribuição para a produção da biomassa das larvas, durante todo o período de estudo, e ao longo do gradiente de salinidade. O contributo do ecossistema marinho foi mais reduzido (até 57%) e estará mais confinado às regiões mais próximas da foz. Verificou-se ainda que, as larvas de peixe no estuário do rio Minho, utilizam quer energia proveniente das cadeias tróficas pelágicas (e.g. MOP), quer da cadeia trófica bentónica (e.g. epilíton e MOS). A distribuição e abundância de ictioplâncton, foi também um tema deste estudo. As famílias mais abundantes foram, Gobiidae n.i. (18.8%) e Ammodytes tobianus (48.7%). Este estudo mostra assim que, apesar dos ecossistemas estuarinos funcionarem como áreas de berçário para o desenvolvimento de várias espécies de peixes, os ecossistemas adjacentes subsidiam as cadeias tróficas nas quais estas larvas de peixe se alimentam.

Palavras-chave: ictioplâncton, estuários, δ^{15} N, δ^{13} C, alóctone, autóctone

ABSTRACT

Barros, A. G. P. Caracterização das fontes de matéria orgânica que suportam a produção de ictioplâncton no estuário do Rio Minho. Characterization of organic matter sources that support the production of ichthyoplankton in the Minho river estuary. 2015. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade do Minho, Campus Gualtar, Braga – Portugal, 2015.

Nursery areas are critical for the survival and growth of early fish larval stages. The main goal of this study was to evaluate the importance of estuarine habitats, and adjacent ecosystems, for the ichthyoplankton biomass. It was expected that with the increase of the river flow, there would be an increase in the contribution of alochthonous sources, and that during low river inflow the importance of autochthonous sources would increase. In order to accomplish this goal, the organic matter (OM) assimilated by the fish larvae in the Minho estuary, was identified and quantified using carbon (C) and nitrogen (N) stable isotopes. It was also evaluated the functional response of fish larvae to the natural variability in food availability throughout the estuarine salinity gradient and due to variations in the river flow. The C(δ^{13} C: 13 C/ 12 C) and N (δ^{15} N: 15 N/ 14 N) values of the fish larvae revealed that they relied essentially on autochthonous sources, i.e., local photosynthetic production. The quality of particulate OM (POM) changed with the river inflow; with increasing river inflow, the contribution of terrestrialderived OM also increased (C/N_{POM}> 10), whereas the decrease in the river inflow lead to an increased contribution of phytoplankton to the POM pool (C/N_{POM}≈7). However, these changes were not reflected on the fish larvae tissues, suggesting that river inflow has a minor role on the type of OM assimilated by fish larvae. Nonetheless, there was a relevant contribution of the terrestrial ecosystem (to 49%) to the fish larvae food web in time and along the estuarine salinity gradient. The contribution of the marine ecosystem (to 57%) was more limited to the stations closer to the river mouth. It was also possible to verify that the fish larvae from the Minho river estuary rely on both pelagic (e.g. POM), and benthic food webs (e.g. epilithon, SOM). Distribution and abundance of ichthyoplankton were also a theme of the present study. Gobiidae n.i. (18.8%) and Ammodytes tobianus (48.7%), were the most abundant species. Therefore, this study shows that, although estuaries may act as important nursery areas for fish species, their food webs are subsidized by the adjacent ecosystems.

Keywords: ichthyoplankton, estuaries, stable isotopes, $\delta^{15}N$, $\delta^{13}C$, allochthonous, autochthonous

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	V
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
1 Introdução	1
2 Objectivos	5
3 Material e Métodos	6
3.1 Área em estudo	6
3.2 Amostragem	6
3.3 No laboratório	8
3.4 Análise de dados	9
4 Resultados	11
4.1 condições ambientais	11
4.2 Abundância de ictioplâncton	13
4.3 Valores isotópicos das fontes de matéria orgânica	16
4.4 Valores isotópicos do ictioplâncton	20
5 Discussão	29
5.1 Abundância larvar	29
5.2 Variabilidade espacial e temporal das fontes de energia que suportam a biomassa das larvas	31
6 Conclusão	34
7 Referências bibliográficas	36
8 Anexos	45

х

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – localização das estações de amostragem ao longo do estuário do Rio Minho.

Figura 2 – Valores de concentração de clorofila (µg.L-1) e salinidade recolhidos no fundo e na superfície, nas estações de 1 a 6 (E1 a E6), entre Janeiro e Julho de 2015, no estuário do rio Minho.

Figura 3 - Caudal médio no rio Minho medido entre 1991 e 2005 (linha sólida; estação Foz do Mouro -SNIRH, 2015) e durante o ano de 2015 (linha picotada; estação N015 - Confederación Hidrográfica del Miño-Sil, 2015).

Figura4–Análise de cluster realizada para os valores de caudal medidos no estuário do rio Minho entre Janeiro e Dezembro de 2015 (Confederación Hidrográfica del Miño-Sil, 2015). Linhas a cinzento indicam os grupos não separados (a a< 0.05) pelo SIMPROF.

Figura 5 – Média (± DP) dos valores de δ^{13} C e δ^{15} N (‰), do ictioplâncton, ajustado para dois níveis tróficos de fraccionamento (+0.8 ‰ δ^{13} C; +5.9 ‰ δ^{15} N) e das potenciais fontes de material orgânica recolhidas entre Janeiro e Abril (caudal elevado) de 2015 em E1, E2, E3, E4 e EAD (correspondente às estações de água doce – 5 e 6): *Parablenius gattorugine* (Pg), *Ammodytes tobianus* (A), *Lipophrys pholis* (Lf), *Lepadogaster purpurea* (Lp), *Centrolabrus exoletus* (Ce), *Platichthys flesus* (Pf), *Pomatoschistus microps* (Pm), Gobiidae n.i. (G), *Solea solea* (Ss), Blennidae n.i. (B), *Dicentrarchus labrax* (DI), *Atherina presbyter* (Ap), *Pomatoschistus sp.* (P), Cyprinidae n.i. (C). As fontes de matéria orgânica (MO) incluem a MO no sedimento (MOS), MO particulada do fundo (MOPf) e da superfície (MOPs), Epilíton (Epi), vegetação aquática emerge (VAE), vegetação aquática submersa (VAS), plantas terrestres (T), detritos (D) *Fucus* sp. (F), plantas de via fotossintética C3 (C3) e C4 (C4) e macroalgas (MA).

Figura 6 – Média (± DP) dos valores de δ^{13} C e δ^{15} N (%), do ictioplâncton, ajustado para dois níveis tróficos de fraccionamento (+0.8 ‰ δ^{13} C +5.9 ‰ δ^{15} N) e das potenciais fontes de material orgânica recolhidas entre Maio e Julho de 2015 (caudal baixo) em E1, E2 , E3, E4 e EAD (correspondente às estações de água doce – 5 e 6): *Lipophrys pholis* (Lf), *Platichthys flesus* (Pf), *Pomatoschistus microps* (Pm), Gobiidae n.i. (G1 e G2), *Dicentrarchus labrax* (DI), *Atherina presbyter* (Ap), Cyprinidae n.i. (C), *Lepadogaster purpurea* (Lp), *Symphodus melops* (Sm), Labridae n.i. (L), *Gobius niger* (Gn), *Lepadogaster sp.* (Lsp), Syngnathidae n.i. (Sn), *Syngnathus acus* (Sa) e *Labrus mixtus* (Lm). As fontes de matéria orgânica (MO) incluem a MO no sedimento (MOS), a MO particulada do fundo (MOPf) e da

superfície (MOPs), epilíton (Epi), vegetação aquática emerge (VAE), vegetação aquática submersa (VAS), plantas terrestres (T), detritos (D), *Fucus* sp. (F), plantas de via fotossintética C3 (C3) e C4 (C4) e macroalgas (MA).

Figura 7 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Fevereiro e Março, na estação 1, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP) e matéria orgânica no sedimento (MOS).

Figura 8 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal baixo, correspondente aos meses de Abril, Maio, Junho e Julho, na estação 1, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e plantas de origem terrestres.

Figura 9 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Março e Abril, na estação 2, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS), vegetação aquática emerge (VAE) e plantas de via fotossintética C4.

Figura 10 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Fevereiro e Março e Abril, na estação 3, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP) e matéria orgânica no sedimento (MOS).

Figura 11 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o baixo, correspondente aos meses de Maio, Junho e Julho na estação 3, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e detritos.

xii

Figura 12 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Fevereiro e Março e Abril, nas estações 5 e 6, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS), vegetação aquática emerge (VAE) e vegetação aquática submerge (VAS).

Figura 13 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal baixo, correspondente aos meses de Maio, Junho e Julho nas estações 5 e 6, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica partículada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e plantas de origem terrestre.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Valores dos rácios isotópicos de carbono (C) e azoto (N), de fontes de matéria orgânica tipicamente encontradas em estuários.

Tabela 2- Número total de indivíduos capturados no estuário do rio Minho entre Janeiro e Julho de 2015. Abundância, em número de indivíduos por 100 m³ (±Desvio padrão) e abundância relativa (%), por espécie. Designação do seu habitat e ciclo de vida (Antunes e Rodrigues, 2004; fishbase.org).

Tabela 3 – Número de espécies capturadas por estação de amostragem e por período de amostragem, abundância de indivíduos por 100 m³ (±Desvio padrão) por estação de amostragem e por período de amostragem.

Tabela 4 - Média (± Desvio padrão) dos valores (‰) de δ^{13} C e δ^{15} N, das potenciais fontes de material orgânica, por estação e período de amostragem: material orgânica particulada (MOP); material orgânica no sedimento (MOS); Plantas terrestres (Terrestres); plantas de via fotossintética C4 (C4): vegetação aquática submersa (VAS) e emergente (VAE).

LISTA DE ABREVIATURAS

- C Carbono
- N Azoto
- ¹³C Isótopos de carbono
- ¹⁵N Isótopos de azoto
- $\delta^{\mbox{\tiny 13}}\mbox{C}$ Rácios de carbono
- δ^{15} N Rácios de azoto
- CO₂ Dióxido de carbono
- h Horas
- °C Graus centigrados
- Km -Quilómetros
- m Metros
- Km² Quilómetros quadrados
- HCL Ácido clorídrico
- µm Micrómetro
- L Litros
- ind/100m³ Indivíduos por metro cúbico
- $\mu g.L^{-1}$ microgramas por litro

1 INTRODUÇÃO

Os estuários são ecossistemas costeiros que desempenham diversas funções económicas importantes, incluindo o transporte, o turismo e a drenagem de resíduos de atividades domésticas, industriais e agrícolas (Heip e Herman, 1995; Raz-Guzman e Huidobro, 2002). Para além disto, são ecossistemas altamente produtivos (Costanza et al., 1997), com elevada relevância ecológica, pois funcionam como locais de desova para várias espécies de peixes migradores como Alosa alosa (sável), Petromyzon marinus (lampreia marinha) (Antunes e Rodrigues, 2004; Mota e Antunes, 2011), e como locais de alimentação e refúgio para várias espécies de aves, peixes e crustáceos marinhos (Reis, 2009). Os estuários são ecossistemas heterogéneos, constituídos por diversos tipos habitats que incluem, sapais, canaviais, canais subtidais e intertidais, fanerogâmicas marinhas, habitats definidos pela salinidade ou pela profundidade da coluna de água, que se interconectam entre si através do movimento da água (e nutrientes) ou de animais (Pihl et al., 2002; Vanni et al., 2004; Sheaves, 2009; Hofman et al., 2015). Apesar da elevada produtividade dos habitats estuarinos, o ictioplâncton é geralmente reduzido quer em diversidade, quer em biomassa (Elliot et al., 1990; Whitfield, 1994). Tal pode dever-se ao elevado stress fisiológico a que os organismos estão sujeitos devido às oscilações ambientais estuarinas (e.g. salinidade, caudal, turbidez, luz, etc; McLusky e Elliot, 2004), ou como consequência do reduzido tempo de vida dos estuários, do ponto de vista geológico (Whitfield, 1994). No entanto, as comunidades de ictioplâncton estuarino são variáveis quer na composição específica quer nos seus padrões de distribuição (Harris et al., 1999), que estão dependentes das épocas de reprodução de cada espécie e das flutuações ambientais (Whitfield, 1994; Harris e Cyrus, 1995), havendo uma tendência para que as larvas atinjam o seu pico de abundância durante a primavera e o verão dentro dos estuários (Whitfield, 1989; Harris et al., 1999; Young e Potter, 2003). Contudo, os estuários desempenham um papel vital na sobrevivência e desenvolvimento de várias espécies de peixes, constituindo importantes áreas bercário para as fases larvares de inúmeras espécies costeiras, tais como, Solea solea (Linguado), Solea senegalensis (Linguado do Senegal), Platichthys flesus (Solha-das-pedras) e Dicentrarchus labrax (Robalo) (Vasconcelos et al., 2008; Freitas et al., 2009). Um bercário pode ser descrito como uma zona restrita onde juvenis de uma dada espécie passam um determinado período do seu ciclo de vida, e durante o qual estão espacialmente e temporalmente separados dos adultos da mesma espécie (Beck

1

et al., 2001). Segundo Beck et al., (2001) um habitat funciona como berçário, para uma espécie, se a sua contribuição por unidade de área para a população dos indivíduos que recrutam para a população adulta é maior, em média, do que a produção noutros habitats onde os juvenis dessa espécie também ocorrem.

A função de um habitat como berçário, implica assim que exista uma ligação entre diferentes habitats e/ou ecossistemas através do movimento de matéria orgânica (MO) e nutrientes, ou através do movimento dos peixes (Sheaves, 2009). No entanto, enquanto que existem vários estudos sobre a dinâmica das fases larvares de peixes em estuários (e.g. Rakocinski et al., 1996; Harris et al., 1999; Faria et al., 2006), poucos estudos se debruçaram sobre a importância que o contributo de diferentes habitats têm para o crescimento e sobrevivência das fases larvares nas áreas de berçário (e.g. Hoffman et al., 2015), ao contrário do que acontece com os juvenis (e.g. Vinagre et al., 2008; Vinagre et al., 2011; Le Pape et al., 2012).

Visto que os estuários são amplamente considerados como locais importantes para a alimentação dos estágios iniciais de desenvolvimento de diversas espécies de peixe (Elliot e McLusky, 2002), é determinante identificar as principais origens das fontes de matéria orgânica que suportam a biomassa das fases larvares, a fim de compreender qual o seu grau de dependência dos habitats estuarinos. No entanto, identificar as fontes de energia que suportam os consumidores em estuários pode ser difícil, dada a multiplicidade de fontes e de origens que estas podem ter. Podem ter origem autóctone (i.e. produção fotossintética local) ou alóctone (i.e. vegetação de origem terrestre ou ripícola, fitoplâncton com origem noutros habitats). Uma ferramenta útil para fazer a identificação das fontes de energia que suportam as cadeias tróficas estuarinas, e compreender a sua dinâmica, são os isótopos estáveis de carbono (C) e azoto (N). A sua utilização em estudos ecológicos, tem aumentado ao longo dos anos, devido ao facto de apresentarem algumas vantagens em relação a outras técnicas como a análise conteúdos estomacais ou observações diretas. Enquanto que os isótopos estáveis permitem identificar os alimentos assimilados pelos tecidos dos consumidores, os conteúdos estomacais ou as observações diretas, apenas permitem identificar o que foi ingerido (Pasquaud et al., 2007). Assim, os isótopos estáveis de C e N fornecem uma informação integrada no espaço e no tempo da MO disponível no estuário e que foi incorporada nos componentes estruturais e nas reservas energéticas dos consumidores (Peterson e Fry, 1987). Os rácios de C(δ^{13} C=¹³C/¹²C) são usados para determinar as fontes de matéria

2

orgânica que suportam a biomassa dos consumidores, uma vez que os valores dos consumidores se assemelham aos da sua dieta (Currin et al., 1995). Os rácios isotópicos de $N(\delta^{15}N={}^{15}N/{}^{14}N)$ complementam a informação dada pelo C e permitem determinar o nível trófico dos consumidores (Minagawa e Wada, 1984; Peterson e Fry, 1987). Assim, os rácios isotópicos de um consumidor refletem a sua dieta apresentando um fracionamento trófico médio (i.e. a diferença entre os rácios isotópicos do consumidor e da sua dieta) de +0.4‰ δ^{13} C e +3.2‰ δ^{15} N por nível trófico (Vander Zander e Rasmussen, 2001).

Uma outra vantagem da utilização dos isótopos estáveis é dada pelo facto de, geralmente, as fontes primárias de energia apresentarem rácios isotópicos distintos. Por exemplo, as plantas ripícolas que utilizam a via fotossintética C3 têm um rácio de carbono de cerca de -28 ‰ (Tabela 1), uma vez que ocorre um fracionamento de cerca de -21 ‰ sobre o CO_2 atmosférico ($\delta^{13}C$; -7 ‰; Smith e Epstein, 1971). Por outro lado, as plantas que utilizam a via fotossintética C4 (e.g. *Spartina* sp.) são mais enriquecidas em ¹³C ($\delta^{13}C$: -10 a -14 ‰; Tabela 1) em virtude da redução do fraccionamento (Smith e Epstein, 1970; Fry e Sherr, 1984). Em sistemas de água doce, onde o carbono inorgânico dissolvido é empobrecido em ¹³C ($\delta^{13}C < -10$ ‰), o fitoplâncton pode ser distinguido da vegetação ripícola (Hoffman e Bronk, 2006). Em geral, os microfitobentos são mais enriquecidos em ¹³C do que o fitoplâncton na coluna de água, devido à existência de uma camada limite difusora entre o sedimento e a coluna de água que reduz o fraccionamento isotópico (France, 1995).

No entanto, vários factores podem fazer variar a qualidade e disponibilidade das diferentes fontes de MO nos ecossistemas estuarinos. O balanço hidrológico entre a água que vem dos rios e a que entra nos estuários, proveniente do mar, influencia a circulação de nutrientes e de MO dentro do estuário. Com o aumento do caudal, aumenta a quantidade de MO com origem alóctone no estuário (Hoffman et al., 2008). Por outro lado, como diminui o tempo de residência, a disponibilidade de fitoplâncton no estuário diminui (Sin et al., 1999). Pelo contrário, em períodos de caudal baixo, o tempo de residência aumenta o que permite que a biomassa de fitoplâncton produzida localmente se acumule, estando por isso, mais disponível para ser consumida (Hoffman e Bronk, 2006). Os ciclos diários de maré, bem como o efeito dos ciclos lunares, podem distribuir a MO e os nutrientes de formas distintas ao longo do gradiente estuarino de salinidade (Riley et al., 2004). Os eventos climáticos extremos podem ainda alterar a magnitude e a direção do material que é transferido entre habitats e ecossistemas (Valiela e Bartholomew, 2015).

Fontes de matéria orgânica	δ13C	$\delta^{15}N$	Referências
Plantas ripícolas	-26 a -30	-4 a 4	Peterson e Fry, 1987; Cloern et al.,2002
Plantas vasculares emergentes	-28 a -30	6 a 10	Cloern et al., 2002; Hoffman e Bronk, 2006
Vegetação aquática submersa	-19 a -22	2 a 8	Cloern et al., 2002; Hoffman et al., 2010
Spartina spp. (C4)	-10 a -14	2 a 6	Fry e Sherr, 1984
Diatomáceas bentónicas (Salinidade <5)	-18 a -22	6 a 7	Cloern et al., 2002; Deegan e Garritt, 1997
Diatomáceas bentónicas (Salinidade >5)	-14 a -24	7 a 9	Dias et al., 2014
Fitoplâncton de água doce	Variável	0 a 8	Hoffman e Bronk, 2006
Fitoplâncton estuarino	-18 a -26	5 a 10	Cloern et al. 2002
Microfitobentos (MPB)	-21 a -24	8 a 14	França et al., 2011; Dias et al., 2014
Sedimento (MOS)	-19 a -28	0,2 a 7	França et al., 2011; Novais, 2013; Dias et al., 2014

Tabela 1- Valores dos rácios isotópicos de carbono (C) e azoto (N), de fontes de matéria orgânica tipicamente encontradas em estuários.

2 OBJECTIVOS

O principal objectivo deste estudo foi o de identificar a importância que os habitats estuarinos e os ecossistemas adjacentes (terrestre e marinho) têm para a produção de biomassa de ictioplâncton no estuário do rio Minho. Neste estudo, apenas se consideraram para análise, as larvas de peixe. Para tal, foram identificadas e caracterizadas, através da análise de isótopos estáveis de C e N, as principais fontes basais de energia neste estuário que poderiam suportar as cadeias tróficas onde se alimentam as larvas de peixe. Procurou-se também avaliar a resposta funcional das larvas de peixe, quando sujeitas à variabilidade natural da matéria orgânica (MO) existente num ecossistema estuarino ao longo do gradiente estuarino de salinidade e face às oscilações provocadas pelos caudais. Os principais resultados esperados com este estudo seriam que o ictioplâncton dependeria predominantemente da cadeia trófica pelágica, e que o caudal teria um papel fundamental no tipo e origem das fontes assimiladas. Assim, esperava-se que durantes os meses de caudal mais elevado, houvesse um aumento da contribuição de MO com origem terrestre na cadeia trófica estuarina, , com particular relevância nas zonas de salinidade mais baixa. Por outro lado, nos meses de caudal mais baixo, como o tempo de residência aumenta, esperar-se-ia um maior contributo de fontes autóctones, nomeadamente de fitoplâncton, para a produção do ictioplâncton, bem como um aumento do contributo de MO com origem marinha nas cadeias tróficas estuarinas, sobretudo nas zonas de maior influência salina.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O rio Minho localiza-se no noroeste da Península ibérica (NO-Europa; Fig. 1) e é um dos rios, em Portugal, menos intervencionados e com enorme relevância para a conservação de espécies piscícolas migratórias (ICNB, 2015). Possui uma extensão de 300 km, uma área de 17 080 km², sendo que apenas 5% desta se localizada em Portugal (Ferreira et al., 2003). O estuário é mesotidal, com marés que variam entre 0.7 e 3.7 m (Alves 1996), com um comprimento de aproximadamente 40 Km e uma área total de 23 km² (Ferreira et al., 2003). A largura máxima do estuário é de cerca de 2 km perto da foz, diminuindo até cerca de 10 m para montante (Ferreira et al., 2003). A sua profundidade média é de 2.6 m e a profundidade máxima é de cerca de 26 metros (Antunes et al., 2011).O estuário estende-se até Valença e reúne um conjunto de habitats de elevada importância ecológica tais como, bancos de vasa e de areia, sapais, matas ripícolas, caniçais e juncais (ICNB, 2015). O estuário é um local importante de passagem migratória para diversas espécies de aves migratórias, sobretudo nas áreas de caniçal e de mancha de floresta aluvial (ICNB, 2015). Devido à sua importância como área de abrigo e alimentação para aves, o estuário foi classificado como uma área Natura 2000 e como uma área importante para aves (BirdLife International, 2015). O estuário do rio Minho é também uma zona de elevada relevância económica, onde se praticam diversas atividades, como a pesca, a caça, a agricultura e a pecuária (ICNB, 2015).

3.2 AMOSTRAGEM

Para avaliar a importância do ecossistema estuarino e dos ecossistemas adjacentes para a produção de ictioplâncton no estuário do rio Minho, foram realizadas amostragens, quinzenalmente, entre Janeiro e Julho de 2015, em seis estações fixas situadas ao longo do gradiente de salinidade do estuário (Fig. 1). As amostragens foram realizadas quinzenalmente, dado que as larvas de peixe apresentam geralmente taxas de crescimento rápido, chegando rapidamente ao equilíbrio isotópico, após uma mudança de dieta isotopicamente diferente (turnover). De uma foram geral, as larvas demoram, entre 10 a 20 dias para que 90% do seu tecido assimile uma nova dieta (Herzka, 2005; Hoffman et al., 2011). O período de amostragem foi selecionado por forma a que as amostragens ocorressem em períodos de caudal contrastantes, uma vez que a sua variação influencia a disponibilidade e variabilidade de alimento (Sin et al., 1999, Hoffman e Bronk 2006).

As recolhas foram realizadas em seis estações fixas ao longo do gradiente de salinidade do estuário: as estações 1 e 2 (sapal do rio Coura) estão sujeitas a uma maior influência marinha, as estações 3 e 4 encontram-se numa zona meso a polihalina e as estações 5 e 6 são oligohalinas.



Figura 1 – Localização das estações de amostragem no estuário do Rio Minho.

Em cada estação, e sempre que possível, foram recolhidas as potenciais fontes de matéria orgânica para a biomassa do ictioplâncton: Estas incluíram: matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS), plantas aquáticas (emergentes e submersas), plantas terrestres, detritos, epilíton e macroalgas. Em cada estação foram recolhidas amostras de água da superfície e do fundo (cerca de 0.5 m a cima do fundo), para determinação da concentração de clorofila (Chl*a*: µg. L⁻¹) e composição isotópica da MOP

 $(\delta^{13}C_{COP}, \delta^{15}N_{NP}, C/N molar)$. A água foi pré-crivada (150 µm) e filtrada através de filtros Whatman GF/F, previamente calcinados. Os filtros foram mantidos congelados até análise

Todas as plantas, detritos, macroalgas e sedimento, foram recolhidos à mão. As amostras de epilíton foram raspadas de seixos submersos nas margens dos locais de amostragem.

O ictioplâncton foi recolhido durante as marés altas de marés vivas. Para tal, realizaram-se arrastos com uma rede de malha de 200 μm (Hydro-Bios), a uma velocidade constante, durante três minutos. Foram recolhidas três réplicas por estação de amostragem. As amostras foram preservadas em etanol a 70%, ainda no campo, para posterior identificação e análise.

Em cada estação de amostragem foram também medidos os parâmetros abióticos temperatura, potencial oxidação/redução, pH, percentagem de oxigénio, concentração de oxigénio, condutividade, salinidade, turbidez e sólidos dissolvidos (TDS), utilizando uma sonda multiparamétrica YSI EXO 2.

3.3 NO LABORATÓRIO

Para análise de Chl*a*, os filtros foram colocados, durante 24h, numa solução de acetona a 90% e posteriormente analisados num espectrofotómetro Spectronic® 20 Genesys. A concentração de Chl*a* (μg.L⁻¹) foi determinada segundo o método Lorenzen (1967).

Para a análise de isótopos estáveis da MOP e do epilíton, os filtros foram secos numa estufa a 60 °C, durante 24h. Posteriormente, foi realizada uma subamostragem do filtrado, para acidificação, numa câmara de vácuo, com ácido clorídrico concentrado. A acidificação foi necessária para a remoção do carbono inorgânico, uma vez que este iria influenciar os valores finais de δ^{13} C (Lorrain et al., 2003).

Para a determinação dos rácios isotópicos da matéria orgânica no sedimento (MOS: COS, NS), as amostras foram secas numa estufa a 60 °C, durante pelo menos 48h. Posteriormente, estas amostras foram reduzidas a pó num moinho de bolas (Retsch MM200). Uma subamostra de sedimento foi depois acidificada através da aplicação direta, gota a gota, de HCI a 10%, para remoção do carbono inorgânico.

As plantas e as macroalgas foram lavadas com água ultra pura, para remoção de epífetos, secas numa estufa a 60 °C, e posteriormente reduzidas a pó com um moinho de bolas (Retsch MM200).

O ictioplâncton foi triado e identificado até ao nível taxonómico mais baixo possível, utilizando para tal bibliografia adequada (e.g. Nichols, 1971, Nichols, 1976, Ré et al., 2008). Todas as larvas foram medidas, com recurso ao software Leica® Application Suite V4.6 acoplado a uma lupa (Leica® S8APO). Para posterior análise isotópica, as amostras foram secas numa estufa a 60 °C, durante 24 horas.

Os rácios dos isótopos estáveis de C e N foram determinados com recurso a um espectrómetro de massa de razões isotópicas (Thermo scientific Delta V Advantage IRMS via conflo IV interface (Marinnova, Universidade do Porto)). As razões isotópicas são expressas em notação δ:

$$\delta X : \delta X = (R_{Amostra} / R_{Padrão} - 1) \times 10^3$$

onde, X representa os isótopos estáveis de C ou N, R é o rácio ${}^{13}C/{}^{12}C$ ou ${}^{15}N/{}^{14}N$ e Pee Dee Belamite e o ar são os padrões utilizados para a análise de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$, respectivamente. O erro analítico, foi de $\pm 0.1\%$ para o $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$.

3.4 ANÁLISE DE DADOS

Foram efectuadas análises multivariadas para ver se existiam agrupamentos nos dados quer entre estações quer ao longo do tempo. Foi efectuada uma análise de cluster, usando a distância de similaridade Euclideana, para verificar de que forma os meses de amostragem se agrupavam de acordo com os valores dos caudais. Foi também efectuada uma análise twoway PERMANOVA, para verificar se existiriam diferenças temporais ou espaciais nos valores de δ^{13} C e δ^{15} N das larvas de peixes recolhidas. . A significância estatística da variância (α =0.05) foi testada utilizando 9999 permutações dos resíduos num modelo reduzido. As análises foram efectuadas no PRIMER (v.6.1.6, PRIMER-E) com a análise da variância multivariada baseada em permutações (PERMANOVA) + 1.0.1 (Anderson et al., 2008).

Para quantificar a contribuição de cada uma das fontes de matéria orgânica para a biomassa do ictioplâncton foi usado um modelo de mistura de isótopos estáveis. O modelo de

mistura estima a contribuição proporcional de cada fonte de alimento para o tecido do consumidor, segundo as seguintes equações:

$$\begin{split} \delta^{13}C_{\mathsf{M}} = & \mathsf{f}_{\mathsf{A}}.\delta^{13}C_{\mathsf{A}} + \mathsf{f}_{\mathsf{B}}.\delta^{13}C_{\mathsf{B}} + \mathsf{f}_{\mathsf{C}}.\ \delta^{13}C_{\mathsf{C}}\\ \delta^{15}\mathsf{N}_{\mathsf{M}} = & \mathsf{f}_{\mathsf{A}}.\delta^{15}\mathsf{N}_{\mathsf{A}} + \mathsf{f}_{\mathsf{B}}.\delta^{15}\mathsf{N}_{\mathsf{B}} + \mathsf{f}_{\mathsf{C}}.\ \delta^{13}\mathsf{N}\\ & \mathsf{f}_{\mathsf{A}} + \mathsf{f}_{\mathsf{R}} + \mathsf{f}_{\mathsf{C}} = 1 \end{split}$$

onde δ_{M} corresponde à composição isotópica do tecido do consumidor M e *f*A , *f*B e *f*C são as contribuições das fontes de matéria orgânica A, B e C. O modelo de mistura utilizado foi um modelo que usa a inferência Bayesiana (*Stable Isotope Analysis in R*- SIAR)e que produz uma distribuição de probabilidades que representa a probabilidade com que uma determinada fonte contribui para a biomassa do consumidor (Parnell et al., 2010). OSIAR permite incluir não só o valor médio dos isótopos de cada fonte e do fraccionamento trófico, mas permite também a inclusão da sua variabilidade (desvio padrão). O SIAR vai produzir uma gama de soluções possíveis para o problema do modelo de mistura, ao qual são atribuídos intervalos de credibilidade (CIs) (Parnell et al., 2010). Para a execução dos modelos, foram selecionadas as fontes mais prováveis através de uma análise gráfica dos valores de δ^{13} C e δ^{15} N dos consumidores e fontes. As fontes com uma contribuição inferior a 10% para a biomassa dos modelos.

Os valores de δ^{13} C das larvas de peixe, foram corrigidos para os lípidos, segundo o modelo proposto por Hoffman e Sutton (2010; Eq.6). Os valores de δ^{13} C e δ^{15} N foram ainda corrigidos para o etanol (+0.4‰ δ^{13} C, +0.6‰ δ^{15} N; Feuchtmayer & Grey, 2003). Para os modelos, os valores de δ^{13} C e δ^{15} N foram ajustados para dois níveis tróficos, uma vez que as larvas de peixe, são consumidores secundários: +0.8± 1.3‰ δ^{13} C, +5.9 ± 1.0‰ δ^{15} N (Vander Zander and Rasmussen, 2001).

4 RESULTADOS

4.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS

As estações de amostragem apresentaram variações ambientais ao longo do tempo. As estações de 1 a 3 são de maior influência marinha, com salinidades que variaram entre 2.7 (Janeiro) e 37.6 (Julho). A estação 4 é uma zona de transição de salinidade, com valores a variarem entre 0.2 (Janeiro) e 7.8 (Março). As estações 5 e 6, são consideradas estações de água doce, uma vez que apresentam sempre valores de salinidade inferiores ou iguais 0.05 e portanto, são consideradas estações de água doce, não existindo diferenças entre os valores medidos à superfície e no fundo (Fig. 2). Os valores de salinidade entre E1 e E4 foram, de uma forma geral, superiores no fundo em relação à superfície (Fig. 3).



Figura 2 – Valores de concentração de clorofila (µg.L-1) e salinidade recolhidos no fundo e na superfície, nas estações de 1 a 6 (E1 a E6), entre Janeiro e Julho de 2015, no estuário do rio Minho

A clorofila apresenta valores superiores nos meses de Junho e Julho, tendo o valor mais elevado (6.65µg.L⁻¹) sido registado em E1, no mês de Junho e à superfície e o valor mais baixo (0µg.L⁻¹), foi registado em E4 nos meses de Fevereiro e Abril.

A salinidade foi sempre mais alta nas estações mais próximas da foz (E1 e E2), e mais baixa nas estações E5 e E6. Junto à foz, os valores de salinidade variaram entre 7 (Fevereiro) e 34 (Julho) em E1, e entre 0.1 (Fevereiro) e 33 (Julho) em E2 (Fig. 2). As estações E5 e E6 são consideradas estações de água doce, uma vez que a salinidade foi sempre inferior a 0.5, não existindo diferenças entre os valores medidos à superfície e no fundo (Fig. 2). As estações E3 e E4 apresentaram valores de salinidade mais variáveis. Na E3, os valores de salinidade variaram entre 0.05 (Fevereiro) e 32 (Julho) (Fig. 2) e na E4, a salinidade variou entre 0.04 (Fevereiro) e 1.4 (Abril) (Fig. 2). Os valores de salinidade entre E1 e E4 foram, de uma forma geral, superiores no fundo em relação à superfície (Fig. 3).

Os valores médios do caudal observados durante o período de amostragem, foram, de uma forma geral, mais baixos do que a média dos valores registados entre 1991 e 2005, com exceção do mês de Fevereiro de 2015 (Fig. 3). No entanto, a tendência observada é mesma. A partir de Setembro começa a haver um aumento do caudal, sendo os valores máximos atingidos entre Janeiro e Fevereiro (Fig. 3). Entre Março e Abril ocorre um decréscimo acentuado nos valores do caudal, que se mantêm baixos até ao final do verão (Fig. 3).



Figura 3 - Caudal médio no rio Minho medido entre 1991 e 2005 (linha sólida; estação Foz do Mouro- SNIRH, 2015) e durante o ano de 2015 (linha picotada; estação N015- Confederación Hidrográfica del Miño-Sil, 2015).

A análise de cluster separou os meses, com base nos valores do caudal, em dois grandes grupos (Fig. 4). Um grupo é constituído pelos meses em que os valores de caudal são tendencialmente mais baixos, entre o final da primavera e o final do outono (Maio a Novembro; Fig. 3) e outro grupo é constituído pelos meses de inverno e primavera, quando os caudais são mais elevados e variáveis (Dezembro a Abril; Fig. 3) (Fig. 4). Uma vez que os sistemas tendem a ser biogeoquimicamente estáveis em períodos de caudais semelhantes (Hoffman e Bronk, 2006), com algumas reservas para os meses de inverno, para facilitar a análise e interpretação dos dados, optou-se por dividir o período de amostragem em período de caudal elevado (Janeiro a Abril) e período de caudal baixo (Maio a Julho).



Figura4–Análise de cluster realizada para os valores de caudal medidos no estuário do rio Minho entre Janeiro e Dezembro de 2015 (Confederación Hidrográfica del Miño-Sil, 2015). Linhas a cinzento indicam os grupos não separados (a α < 0.05) pelo SIMPROF.

4.2 ABUNDÂNCIA DE ICTIOPLÂNCTON

Durante o período de amostragem foram capturadas 611 larvas de peixe no estuário do rio Minho, pertencentes a 13 famílias (Tabela 2). Os grupos mais abundantes foram, Gobiidae n.i. ($60.2 \pm 67.8 \text{ ind}/100\text{m}^3$), seguido de *Ammodytes tobianus* (48.7 ind/100m3), *Syngnathus* spp. (21.1 ± 25.3 ind/100m3) e Cyprinidae n.i. (20.3 ± 17.4 ind/100m3) (Tabela 2).

Tabela 2- Número total de indivíduos capturados no estuário do rio Minho entre Janeiro e Julho de 2015. Abundância, em número de indivíduos por 100 m³ (±Desvio padrão) e abundância relativa (%), por espécie. Designação do seu habitat e ciclo de vida (Antunes e Rodrigues, 2004; fishbase.org).

Ordem	Familia	Espécies	Habitat	Ciclo de vida	Abundância (ind/100m3)	Abundância relativa (%)			
	Ammodytidae	Ammodytes tobianus	Marinho oportunista	Demersal	48.65	16.11			
	Moronidae	Dicentrarchus labrax	Marinho oportunista	Demersal	3,12 (2.3)	0.97			
	Sparidae	Sparidae	Estuarino/Marinho	-	6,40 (0.2)	1.99			
		Pomatoschistus spp.	Estuarino/Marinho	Demersal	10,54 (8.9)	3.28			
		Gobiidae n.i.	-	Demersal	60,24 (67.8)	18.77			
	Gobiidae	Pomatoschistus microps	Estuarino	Demersal	15,72 (13.4)	4.90			
		Gobius niger	Marinho	Demersal	13.71	4.27			
		Lepadogaster purpurea	Marinho	Demersal	6,19 (3.5)	1.93			
Perciformes	Gobiesocidae	Gobiesocidae spp.	Marinho	Demersal	1.91	0.59			
		Lepadogaster n.i.	Marinho	Demersal	6,58 (0.4)	2.05			
		Blenniidae n.i.	Marinho	Demersal	5,36 (3.3)	1.67			
	Blenniidae	Lipophrys pholis	Marinho ocasional	Demersal	4,91 (1.7)	1.53			
		Parablennius gattorugine	Marinho	Demersal	1.91	0.59			
		Centrolabrus exoletus	Marinho	Demersal	8,23 (8.9)	2.56			
	Labridaa	Labridae spp.	Marinho	Demersal	10,31 (3.9)	3.21			
	Labridae	Symphodus melops	Marinho	Demersal	9,69 (3.3)	3.02			
		Labrus mixtus	Marinho	Demersal	14.55	4.53			
Pleuronectiformes	Pleuronectidae	Platichthys flesus	marinho oportunista	Pelágico	7,23 (4.8)	2.25			
Pleuronectiformes	Soleidae	Solea solea	marinho oportunista	Pelágico	8,01 (8.8)	2.52			
Atheriniformes	Atherinidae	Atherina presbyter	marinho oportunista	Pelágico/Neritica	6,08 (3.9)	1.89			
Cypriniformes	Cyprinidae	Cyprinidae n.i.	Dulciaquícola	Demersal	20,30 (17.4)	6.32			
Clupeiformes	Clupeidae Clupeidae		Marinho adventicio	Pelágico	5,79 (3.6)	1.80			
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus spp.	Marinho oportunista /Marinha adventicia	Demersal	21,13 (25.3)	6.58			
Não identificado	Não identificado	n.i.	-	17,49 (21.3)	5.57				
Numero total de individuos			611						

A abundância média foi superior nos meses de caudal baixo (16.3 \pm 19.7 ind/100m³), sendo que a estação onde os valores foram mais elevados, foi E4 (34.4 \pm 35.1 ind/100m³) (Tabela 2). A diversidade específica também foi superior nos meses de caudal baixo (16 \pm 8.2). A diversidade diminui entre E1 e E6, tanto nos meses de caudal mais baixo (entre 28 e 5), como nos meses de caudal mais alto (entre 9 e 1) (Tabela 3).

Tabela 3 – Número de espécies capturadas por estação de amostragem e por período de amostragem, abundância de indivíduos por 100 m³ (±Desvio padrão) por estação de amostragem e por período de amostragem.

Caudal	Número de Estação espécies por estação		Média do número de espécies por período de amostragem (±DP)	Abundância (ind/100m³) (±DP) por estação	Abundância (ind/100m³) (±DP) por período de amostragem
	1	9		10.28 (14.9)	
Alto	2	4		17.81 (26.7)	
	3	6	2 5 (2 5)	5.94 (7.85)	11 50 (10 0)
	4	1	5.5 (5.5)	2.98 (1)	11.59 (10.0)
	5	0		-	
	6	1		2.24 (1)	
	1	28		10.79 (9.6)	
	2	18		26.15 (49.1)	
Baixo	3	21	16 (9.2)	27.71 (51.2)	16.26 (10.7)
	4	14	10 (0.2)	34.44 (35.1)	10.20 (19.7)
	5	10		15.82 (16.4)	
	6	5		10.27 (8.8)	

Relativamente ao habitat, das 23 espécies identificadas, 11 são marinhas, 5 marinhas oportunistas, 3 marinhas e estuarinas, 1 marinha adventícia, 1 marinha oportunista e marinha adventícia 1 estuarina e 1 dulciaquícola (Antunes e Rodrigues, 2004). As espécies com habitat marinho oportunista foram as que apresentaram uma maior distribuição no estuário, encontrando-se representadas em todas as estações amostradas nos meses de caudal mais baixo e em quase todas (E1, E2, E3 e E6) nos meses de caudal mais alto. As espécies com ciclo de vida marinho adventício foram aquelas representadas num menor número de estações no estuário, tendo sido apenas capturadas em E1 e nos meses de caudal mais baixo. As espécies marinhas encontram-se apenas em E1, E2 e E3, as espécies estuarinas em E2, E3 e E4 e as espécies dulciquícolas em E4, E5 e E6. A única espécie que apresentou uma distribuição ao longo de todo o gradiente de salinidade estudado, foi a Platichthys flesus (Anexo 1), encontrando-se representada em E1, E2, E3 e E6 nos meses de caudal mais alto e em E1, E3, E4 e E5 nos meses de caudal mais baixo. Isto deve-se ao facto de P.flesus ter uma elevada tolerância às oscilações ambientais existentes nos ambientes estuarinos (Daverat et al., 2012). As espécies que apresentaram uma distribuição mais restrita, isto é, que foram encontradas apenas numa estação foram Ammodytes tobianus (E1), Gobiesocidae sp. (E1), Parablenius gattorugine (E1), Gobius niger (E1), Clupeidea n.i. (E1) e Labrus mixtus (E3).

A espécie *P. flesus* apresentou valores mais elevados de abundância nos meses de caudal mais baixo ($8.7\pm 3.6 \text{ ind}/100\text{m}^3$), do que nos meses de caudal mais elevado ($4.1\pm 2.6 \text{ ind}/100\text{m}^3$) (Anexo 1). Nos meses de caudal mais elevado, os valores de abundância vão diminuindo entre E1 ($7.6\pm 1.0 \text{ ind}/100\text{m}^3$) e E3 ($2.03\pm 1.0 \text{ ind}/100\text{m}^3$), apresentando um ligeiro aumento em E6 ($2.2\pm 1.0 \text{ ind}/100\text{m}^3$) (Tabela 3). Nos meses de caudal mais baixo, os valores vão diminuindo entre E1 ($11.9\pm 3.3 \text{ ind}/100\text{m}^3$) e E5 ($3.5\pm 2.4 \text{ ind}/100\text{m}^3$) (Tabela 3).

4.3 VALORES DOS ISÓTOPOS DAS FONTES DE MATÉRIA ORGÂNICA

Os valores médios (±DP)de δ^{13} C da matéria orgânica particulada (MOP) foram mais elevados em E1, quer nos meses de caudal alto (δ^{13} C: -24.6 ± 1.0%), quer nos meses de caudal baixo (δ^{13} C: -22.6 ± 0.5%).Os valores médios (±DP) de δ^{15} N foram mais elevados em E4 (δ^{15} N: 5.5 ± 0.9%), nos meses de caudal alto e em E3 (δ^{15} N: 6.1 ± 0.6%), nos meses de caudal baixo. De uma maneira geral, nos meses de caudal mais baixo, a MOP estava mais enriquecida em ¹³C(δ^{13} C: -25.5 ± 2.3%), do que nos meses de caudal mais elevado (δ^{13} C: -26.5 ± 1.4%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N de MOP, foram idênticos nos meses de caudal mais elevado e nos meses de caudal mais baixo, onde a média foi de 5.3± 0.3‰ A média (±DP) dos valores de δ^{13} C_{MOP} e δ^{15} N_{NP} foram superiores no fundo (δ^{13} C: -24.9 ± 2.1‰; δ^{15} N: 5.5 ± 1,5‰) do que à superfície (δ^{13} C: 26.6 ± 2.3%; δ^{15} N: 5.3± 1.6‰). Nos meses de caudal mais baixo, a média (±SD) de MOP C:N_{MOP} foi de 4.6 ± 1.6‰ à superfície e de 4.9 ± 1.5‰ no fundo; nos meses de caudal mais alto, a média (±SD) de C:N_{MOP} foi de 13.3 ± 5.4‰ à superfície e de 12.6 ± 5.1‰ no fundo (Tabela 4).

Os valores médios (±DP) de δ^{13} C do epilíton foram mais elevados em E1 (δ^{13} C: -18.6 ± 0.1%), nos meses de caudal elevado e em E2 (δ^{13} C:-15.6 ± 1.1%), nos meses de caudal baixo. Os valores médios (±DP) de δ^{15} N foram mais elevados em E1 (δ^{15} N: 4.2 ± 0.5%), nos meses de caudal baixo, e entre E3 e E4 (δ^{15} N: 6.5 ± 2.4%), nos meses de caudal alto. De uma maneira geral, nos meses de caudal mais baixo, o epilíton encontrava-se mais enriquecido em ¹³C(δ^{13} C: -18.3 ± 2.2%), do que nos meses de caudal mais alto (δ^{13} C: -23.5 ± 3.1%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N do epilíton, foram mais elevados nos meses de caudal alto (δ^{15} N: 7.7 ± 2.7%) em relação aos meses de caudal baixo, onde a média foi de 6.9 ± 1.4% (Tabela 4).

Os valores médios (±DP) de δ^{13} C de matéria orgânica no sedimento (MOS) foram mais elevados em E1 (δ^{13} C: -20.9 ± 2.8%), nos meses de caudal baixo e entre E3 e E4 (δ^{13} C: -25.5 ± 0.4%), nos meses de caudal alto. Os valores médios (±DP) de δ^{15} N foram mais elevados nas estações de água doce -EAD- (δ^{15} N: 6.0 ± 1.6%), nos meses de caudal alto e em E2 (δ^{15} N: 5.0 ± 0.8%), nos meses de caudal baixo. De uma maneira geral, nos meses de caudal mais baixo, a MOS encontrava-se mais enriquecida em ¹³C(δ^{13} C: -24.7± 2.2%), do que nos meses de caudal mais alto (δ^{13} C: -25.9 ± 0.4%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N de MOS foram mais elevados nos meses de caudal mais baixo (5.0± 0.8%) em relação aos meses de caudal mais alto, onde a média foi de 3.6± 2.02% (Tabela 4).

Os valores médios (±DP) de δ^{13} C da vegetação aquática emergente (VAE) foram mais elevados em EAD, quer nos meses de caudal baixo (δ^{13} C: -21.7 ± 0.02%), quer nos meses de caudal alto (δ^{13} C: -30 ± 1.2%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N foram mais elevados em EAD (δ^{15} N: 8.2 ± 1.2%), nos meses de caudal alto e em E4 (δ^{15} N: 7.6 ± 1.4%), nos meses de caudal baixo. De uma maneira geral, nos meses de caudal mais baixo, a VAE encontrava-se mais enriquecida em ¹³C(δ^{13} C: -25.7 ± 3.8%), do que nos meses de caudal mais alto (δ^{13} C: -29.3 ± 1.6%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N da VAE, foram mais elevados nos meses de caudal mais alto (δ^{15} N: 7.3 ± 1.1%) em relação aos meses de caudal mais baixo, onde a média foi de 7.2 ± 0.5% (Tabela 4).

Os valores médios (±DP) de δ^{13} C da vegetação aquática submersa (VAS) foram mais elevados em E2 (δ^{13} C: -13.9 ± 0.04%), nos meses de caudal baixo e em EAD (δ^{13} C: -27.5 ± 4.5%), nos meses de caudal alto. Os valores médios (±DP) de δ^{15} N foram mais elevados em E3 e E4 (δ^{13} C: 10.02 ± 1.0%), nos meses de caudal alto e em E3 (δ^{13} C: 10.02 ± 1.0%), nos meses de caudal baixo. De uma maneira geral, nos meses de caudal mais baixo, a VAS encontrava-se mais enriquecida em ¹³C(δ^{13} C: -23.4 ± 1.0%), do que nos meses de caudal mais alto (δ^{13} C: -33.4 ± 5.2%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N da VAS, foram mais elevados nos meses de caudal mais alto (δ^{15} N: 9.1 ± 1.6%) em relação aos meses de caudal mais baixo, onde a média foi de 8.3 ± 1.3% (Tabela 4).

Os valores médios (±DP) de δ^{13} C das plantas de origem terrestre foram mais elevados em EAD, tanto nos meses de caudal mais baixo (δ^{13} C: -27.5 ± 0.04%), como nos meses de caudal mais alto (δ^{13} C: -29.8 ± 1.4%). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N foram mais elevados em EAD, nos meses de caudal alto (δ^{15} N: 5.8 ± 1.3%), e em E3 (δ^{13} C: 7.3 ± 1.3%), nos meses de caudal baixo. De uma maneira geral, nos meses de caudal mais baixo, as plantas de origem terrestre encontravam-se mais enriquecidas em ¹³C (δ^{13} C: -28.8 ± 1.3‰), do que nos meses de caudal mais alto (δ^{13} C: -30.04 ± 0.2‰). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N das plantas de origem terrestre, foram mais elevados nos meses de caudal mais alto (δ^{15} N: 5.7 ± 1.0‰) em relação aos meses de caudal mais baixo, onde a média foi de 2.8 ± 3.2‰ (Tabela 4).

Os valores médios (±SD) de δ^{13} C das macroalgas, nos meses de caudal mais alto, foram mais enriquecidos em ¹³C (δ^{13} C: -16.4 ± 1.0‰) do que nos meses de caudal mais baixo (δ^{13} C: -17.2 ± 0,8‰). Os valores médios (±DP) de δ^{15} N das macroalgas, foram mais elevados nos meses de caudal alto (δ^{15} N: 9.1 ± 0.6‰) em relação aos meses de caudal baixo, onde a média foi de 6.9 ± 0.5‰ (Tabela 4).

Tabela 4- Média (±Desvio padrão) dos valores (‰) de δ¹³C e δ¹⁵N, das potenciais fontes de material orgânica, por estação e período de amostragem: material orgânica particulada (MOP); material orgânica no sedimento (MOS); Plantas terrestres (Terrestres); plantas de via fotossintética C4 (C4): vegetação aquática submersa (VAS) e emergente (VAE).

		MOP		Epi	Epilíton Macr		Macroalgas		MOS Detritos		Terrestres		C4		VAS		VAE		<i>Fucus</i> sp.		
Mês	Estação	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N	δ13C	δ15N
		(%)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(%)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(%)	(%)	(%)	(%)	(‰)	(‰)	(%)	(‰)
	1	-24.6	5.2	-18.6	4.2	-15,88	9.5	-26.0	1.7	_		_			_	_		_	_	_	_
	-	(1)	(1)	(0.1)	(0.5)	(2,7)	(1,3)	(1.5)	(0.3)	-	-	-	-	_	_	_	-	_	-	-	_
	2	-26.0	5.1	-27.2	5.7	-17,56	8.5	-26.1	1.2	_		_		-14.1	5.0	_		-27.2	5.7		_
l te	-	(1.5)	(0.1)	(1)	(1)	(0,50)	(1)	(1.5)	(0.3)					(1.2)	(0.7)			(1)	(1)		
<u>a</u>	3	-26.1	5.5	-23.3	12.3	-15,88	9.5	-25.5	4.44	-32.8	0.13	-30.1	5.6		_	-36.4	10.02	-30.4	7.6	_	_
pn		(0.2)	(1)	(1.6)	(6)	(2,7)	(1.3)	(0.4)	(0.2)	52.0	(1)	(0.1)	(3.6)			(1.5)	(0.9)	(0.8)	(1.8)		
Ca	4	-27.7	5.5	-23.8	7.9		_	-25.5	4.44	-32.8	0.13	-30.1	5.6	-	-	-36.4	10.02	-30.4	7.6	-	_
	•	(0.8)	(1)	(2)	(1)			(0.4)	(0.2)	02.0	(1)	(0.1)	(3.6)			(1.5)	(0.9)	(0.8)	(1.8)		
	5 e 6	-28.0	5.4	-24.8	8.4	-	-	-26.4	5.9	-29.9	4.9	-29.8	5,76	-	-	-27.5	7,27	-29.2	8.2	_	-
		(1)	(1)	(3)	(1.7)			(0.6)	(1.6)	(0.5)	(0.9)	(1.4)	(1,4)			(4.5)	(1.7)	(1.2)	(1.2)		
Méd	ia/Caudal	-26.5	5.3	-23.5	7.7	-16.4	9.1	-25.9	2.9	-31.8	1.7	-30.0	5.65			-33.4	9.10	-29.3	7.3		
e	levado	(1.4)	(0.2)	(3.1)	(2.7)	(1)	(0.6)	(0.4)	(2.6)	(1.7)	(2.7)	(0.2)	(0.1)			(5.2)	(1.6)	(1.6)	(1.1)		
	1	-22.6	4.7	-16.1	5.04	-16.7	6.5	-20.9	5.0	-28.9	3.9	-27.9	2,97	-	-	-	-	-	-	_	-
		(0.5)	(0.02)	(1.5)	(0.8)	(0.6)	(1.2)	(2.8)	(1.2)	(0.7)	(2.8)	(2.6)	(2,4)								
	2	-24.0	5.01	-15.6	7.2	-17.8	7.2	-24.6	6.2	-	-	-	-	-	-	-13.9	8.17	-25.9	7.2	-13.9	9.0
aix		(1.3)	(1.6)	(1.1)	(0.4)	(0.04)	(0.1)	(0.3)	(0.4)					-		(0.04)	(0.1)	(1.3)	(1.9)	(0.1)	(0.1)
۵ ا	3	-25.3	6.1	-19.9	6.5	-	-	-26.1	4.8	-32.8	0.1	-30.2	7,25	-	-	-36.4	10.02	-30.4	/.5	-	-
Ida		(1.6)	(0.6)	(0.4)	(2.4)			(0.4)	(0.5)	(1)	(1)	(0.7)	(1,3)			(1.5)	(0.9)	(0.9)	(1.8)		
Cau	4	-27.7	5.2	-19.9	6.5	-	-	-26.1	4.8	-28.7	4.6	-29.6	0,15	-	-	-19.5	6.9	-28.6	/.6	-	-
Ŭ		(1.1)	(0.3)	(0.4)	(2.4)			(0.4)	(0.5)	(0.1)	(0.02)	(0.1)	(0,02)				(0.02)	(0.5)	(1.4)		
	5	-27.7	5.6	-19.8	9.0	_	_	-25.7	4.1	-30.2	1.5	-27.5	0,84		_	-23.8	8.2	-21.6	6.4		_
	560	(0.5)	(1.7)	(1.4)	(2.3)	-	-	(0.8)	(0.6)	(0.04)	(0.03)	(0.04)	(0,07)		-	(0,7)	(0.3)	(0.02)	(0.1)	-	-
Méd	ia/Caudal	-25.5	53	-18 3	69	-17.2	69	-24 7	49	-30.6	25	-28.8	2 80	-14 1	5.0	-23.4	83	-26.7	7.2	-13.9	9.0
Wieu	haixo	(2.3)	(0.4)	(2.2)	(1.4)	(0.8)	(0.5)	(2.2)	(0.8)	(2 1)	(2.1)	(1.3)	(3.2)	(1.2)	(0.7)	(9.6)	(1.3)	(3.8)	(0.5)	(0 1)	(0.1)
		(2.5)	(5.4)	(2.2)	(1.7)	(0.0)	(0.0)	()	(0.0)	(2.1)	(2.1)	(1.5)	(0.2)	(1.2)	(0.7)	(5.0)	(1.5)	(0.0)	(0.0)	(0.1)	(0.1)



Figura 5 – Média (± Desvio padrão) dos valores de δ^{13} C e δ^{15} N (‰), do ictioplâncton, ajustado para dois níveis tróficos de fraccionamento (+0.8 ‰ δ^{13} C; +5.9 ‰ δ^{15} N) e das potenciais fontes de material orgânica recolhidas entre Janeiro e Abril (caudal elevado) de 2015 em E1, E2, E3, E4 e EAD (correspondente às estações de água doce – 5 e 6): *Parablenius gattorugine* (Pg), *Ammodytes tobianus* (A), *Lipophrys pholis* (Lf), *Lepadogaster purpurea* (Lp), *Centrolabrus exoletus* (Ce), Platichthys flesus (Pf), Pomatoschistus microps (Pm), Gobiidae n.i. (G), Solea solea (Ss), Blenniidae n.i. (B), *Dicentrarchus labrax* (DI), *Atherina presbyter* (Ap), *Pomatoschistus sp.* (P), Cyprinidae n.i. (C). As fontes de matéria orgânica (MO)incluem a MO no sedimento (MOS), MO particulada do fundo (MOPf) e da superfície (MOPs), Epiliton (Epi), vegetação aquática emergentes (VAE), vegetação aquática submersa (VAS), plantas terrestres (T), detritos (D) *Fucus* sp. (F), plantas de via fotossintética C3 (C3) e C4 (C4) e macroalgas (MA).



Figura 6 – Média (\pm Desvio padrão) dos valores de δ^{13} C e δ^{15} N (%), do ictioplâncton, ajustado para dois níveis tróficos de fraccionamento (+0.8 ‰ δ^{13} C +5.9 ‰ δ^{15} N) e das potenciais fontes de material orgânica recolhidas entre Maio e Julho de 2015 (caudal baixo) em E1, E2, E3, E4 e EAD (correspondente às estações de água doce – 5 e 6): *Lipophrys pholis* (Lf), *Platichthys flesus* (Pf), *Pomatoschistus microps* (Pm), Gobiidae n.i. (G1 e G2), Dicentrarchus labrax (DI), *Atherina presbyter* (Ap), Cyprinidae n.i. (C), *Lepadogaster purpurea* (Lp), *Symphodus melops* (Sm), Labridae n.i. (L), *Gobius niger* (Gn), *Lepadogaster sp.* (Lsp), Syngnathidae n.i. (Sn), *Syngnathus acus* (Sa) e *Labrus mixtus* (Lm). As fontes de matéria orgânica (MO) incluem a MO no sedimento (MOS), a MO partículada do fundo (MOPf) e da superfície (MOPs), epilíton (Epi), vegetação aquática emergente (VAE), vegetação aquática submersa (VAS), plantas terrestres (T), detritos (D), *Fucus* sp.(F), plantas de via fotossintética C3 (C3) e C4 (C4) e macroalgas (MA).

Não foram observadas diferenças significativas nos valores globais de δ^{13} C e δ^{15} N das larvas capturadas nem entre períodos diferentes de caudal (Pseudo-*F*= 2.57; *P* > 0.05), nem entre estações de amostragem (Pseudo-*F*= 4.20; *P* > 0.05). No entanto, apesar de não haver, na generalidade uma alteração no tipo de fontes basais de energia que contribuíram para a biomassa das larvas de peixe, entre períodos de amostragem, o mesmo já não se verificou entre estações de amostragem (Figs. 5 e 6). Enquanto que, nas estações junto à foz, as macroalgas estão disponíveis e são aparentemente utilizadas, nas estações mais a montante, parece haver uma predominância na disponibilidade e assimilação material com origem em plantas vasculares (Figs. 5 e 6). De uma maneira geral, os valores médios de δ^{13} C são mais elevados nos meses de caudal mais alto (-19.1 ± 2.2%), do que nos meses de caudal baixo (-20.1 ± 2.4%) e os valores médios (±DP) de δ^{15} N, foram superiores nos meses de caudal baixo (6.4 ± 3.1%), do que nos meses de caudal alto (4.7 ± 2.2%).



Figura 7 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Fevereiro e Março, na estação 1, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica partículada (MOP) e matéria orgânica no sedimento (MOS).



Figura 8 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal baixo, correspondente aos meses de Abril, Maio, Junho e Julho, na estação 1, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica partículada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e plantas de origem terrestres.

Em E1, nos meses de caudal alto, as larvas de peixe analisadas parecem estar a alimentar-se de organismos que se alimentam de uma mistura de fontes na coluna de água e no sedimento e que incluem as macroalgas (MA), matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e epilíton (Epi) (Fig. 5-E1). Nos meses de caudal mais baixo, a mistura de fontes basais utilizada, parece ser semelhante. No entanto, os valores médios de δ^{15} N de *P. flesus* (2.9 ± 0.7%) e de *S. melops* (2.6 ± 0%), sugerem que estes poderão estar a alimentar-se de organismos que utilizarão também material com origem terrestre ou detritos (Fig. 6-E1). Os resultados do modelo de mistura apoiam esta interpretação. Assim, nos meses de caudal alto, o epiliton foi a fonte com maior contributo para a biomassa de *P. flesus* (11-95%) e de *L. purpurea* (11-68%; Fig. 7). As macroalgas tiveram também um importante contributo para a biomassa de *L. purpurea* (17-55%) e *A. tobianus* (6-52%;Fig. 6). No período de caudal mais baixo, e de acordo com os resultados do SIAR, o epilíton foi novamente uma fonte relevante, com contributo até 50% para a biomassa das larvas analisadas (Fig.8). A matéria orgânica com origem terrestre revelou-se um contributo importante para a biomassa de *P. flesus* (0-31%) e *S. melops* (0-39%;Fig. 8).



Figura 9 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Março e Abril, na estação 2, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica partículada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS), vegetação aquática emergente (VAE) e plantas de via fotossintética C4.

Em E2, nos meses de caudal alto, os valores de δ^{13} C e δ^{15} N das larvas e fontes, sugerem que as plantas C4 poderão ser uma fonte importante para a biomassa das larvas, sobretudo das de peixes chatos (*P. flesus* e *S. solea*). As larvas de *P. microps* e Gobiidae n.i., apresentam valores mais altos de δ^{15} N, o que sugere a assimilação de fontes mais enriquecidas em ¹⁵N, tais como as macroalgas e epilíton (Fig. 5-E2). Nos meses de caudal baixo, os Gobiidae n.i., apresentam valores de δ^{15} N muito elevados, sobretudo G2, que apresenta valores enriquecidos em ¹⁵N, superiores a um nível trófico (Fig. 6-E2). Os dados dos modelos não foram conclusivos, porque foram capturadas poucas larvas (n< 3) no período de caudal mais elevado (Fig. 9) e, no período de caudal baixo, os valores de δ^{15} N das larvas, saíram fora dos limites das fontes amostradas.



Figura 10 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Fevereiro e Março e Abril, na estação 3, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica partículada (MOP) e matéria orgânica no sedimento (MOS).



Figura 11 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal baixo, correspondente aos meses de Maio, Junho e Julho na estação 3, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e detritos.

Em E3, nos meses de caudal mais alto, os valores de δ^{13} C das larvas e fontes, sugerem que as macroalgas poderão ser uma fonte importante para a biomassa das larvas (Fig. 5-E3). Nos meses de caudal baixo, existem quatro grupos de *taxa*, quanto aos rácios isotópicos. Um grupo será constituído pelas larvas de *P. microps* e *S. acus*, que estarão a utilizar uma mistura de epilíton ou plantas vasculares e MOP; um grupo mais enriquecido em ¹⁵N, constituído pelos Gobiidae n.i e Syngnathidae n.i., que se estará a alimentar de outras larvas ou fontes mais enriquecidas não amostradas; um terceiro grupo que se estará a alimentar de uma mistura de epilíton, MOP, MOS, detritos, e que é constituído pelos *taxa Lepadogaster* sp., *S. melops* e *A. presbyter* (Fig. 11); e um quarto grupo de indivíduos que apresenta valores mais enriquecida em ¹³C do que aquela amostrada, indicando a assimilação de MO mais enriquecida em ¹³C do que aquela amostrada (Fig. 6-E3). Os resultados do modelo de mistura apoiam esta interpretação. Assim, nos meses de caudal alto, as macroalgas foram a fonte com maior contributo para a biomassa de *L. purpuria* (6-57%) e o epilíton para a biomassa de *P. flesus* (0-56%) (Fig. 9). Nos meses de caudal baixo, os dados do modelo não foram conclusivos, porque foram capturadas poucas larvas (n< 3) (Fig. 10).

Em E4, nos meses de caudal mais alto, não foi possível identificar as fontes de matéria orgânica assimiladas pelas larvas de peixe, pois todas apresentaram valores de δ^{13} C e de δ^{15} N mais elevados do que as fontes amostradas (Fig. 5-E4). Nos meses de caudal baixo, existem dois grupos de *taxa*, quanto aos rácios isotópicos. Um grupo será constituído pelas larvas de Cyprinidae n.i. e Gobiidae n.i., que estarão a utilizar uma mistura de plantas vasculares, detritos, MOP e MOS; um segundo grupo constituído por *D. labrax* e *P. flesus*, que se estão a alimentar de epilíton ou plantas vasculares de origem aquática. Os dados dos modelos não foram conclusivos, porque foram capturadas poucas larvas (n< 3) no período de caudal mais elevado (Fig. 11).



Figura 12 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal elevado, correspondente aos meses de Janeiro, Fevereiro e Março e Abril, nas estações 5 e 6, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica particulada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS), vegetação aquática emergente (VAE) e vegetação aquática submerge (VAS).



Figura 13 - Variação das proporções (%) de cada fonte de matéria orgânica, amostradas durante o caudal baixo, correspondente aos meses de Maio, Junho e Julho nas estações 5 e 6, baseado no modelo de mistura de isótopos estáveis com intervalos de credibilidade Bayesianos. As fontes de matéria orgânica são: epilíton (Epi), macroalgas, matéria orgânica partículada (MOP), matéria orgânica no sedimento (MOS) e plantas de origem terrestre.

Em EAD, nos meses de caudal alto, as larvas analisadas parecem estar a alimentarse de organismos que se alimentam de uma mistura de fontes na coluna de água e no sedimento e que incluem MOP, Epi, VAS, VAE, detritos e MOS (Fig. 5-EAD). A espécie *P. flesus* não apresenta correspondência isotópica com nenhuma das fontes de matéria orgânica, pois apresentaram valores de δ^{13} C e de δ^{15} N mais elevados do que as fontes amostradas (Fig. 5-EAD). Nos meses de caudal baixo as larvas de *A. presbyter* e *P. flesus* que estarão a utilizar uma mistura de epilíton, plantas vasculares, MOP ou MOS. Os dados dos modelos não foram conclusivos, porque foram capturadas poucas larvas (n< 3) no período de caudal mais baixo (Fig. 13).

5 DISCUSSÃO

5.1 ABUNDÂNCIA LARVAR

Verificou-se que um pequeno número de *taxa*, como Gobiidae n.i e *Ammodytes tobianus*, apresentou um elevado número de indivíduos, enquanto que a maioria dos *taxa* identificados apresentou, de uma maneira geral, valores de abundância baixos ao longo do período de estudo. Esta é uma característica comum na generalidade dos estuários (Harris e Cyrus, 1995; Whitfield, 1999; Ramos et al., 2006), visto que poucas espécies têm a capacidade de sobreviver e de se desenvolver em ambientes com a enorme variabilidade ambiental existente nos ecossistemas estuarinos, ou pelo facto dos estuários serem ecossistemas recentes do ponto de vista geológico (McLusky, 1989).

Algumas espécies foram capturadas durante todo o ano como *Platichthys flesus*, Lepadogaster purpurea, Solea solea, Lipophrys pholis, Atherina presbyter, Centrolabrus exoletus e espécies pertencentes ao género Pomatoschistus, enquanto que outras só apareceram em determinadas períodos. Os taxa capturados exclusivamente durante os meses de caudal alto foram a Ammodytes tobianus e Gobiesocidae sp. e os taxa capturados apenas durante os meses de caudal baixo foram os Cyprinidae sp., Dicentrarchus labrax, Parablennius gattorugine, Labridae sp., Pomatoschistus microps, Lepadogaster sp., Gobius niger, Syngnathus sp., Sparidea n.i., Clupeidea n.i., Symphodus melops e Labrus mixtus. Gobiidae n.i. foi o taxon mais frequente em todas as estações de amostragem, à exceção de E6, que foi dominada por indivíduos do género Cyprinidae. A dominância de Gobiidae n.i. pode ser explicada pelo facto de algumas espécies deste género, como Pomatoschistus microps, terem a capacidade de desovar várias vezes ao logo do ciclo reprodutivo e por apresentarem uma grande capacidade de adaptação a diferentes condições abióticas (Bouchereau e Guelorget, 1998; Souza et al., 2014a). Outra explicação, prende-se com o facto de possuírem ovos demersais, (reduzindo o risco de mortalidade associado com a dispersão descontrolada de ovos e larvas para fora do estuário) (Whitfield, 1990), ovos e larvas bentónicas (organismos mais desenvolvidos e menos dependentes do alimento disponível, quando eclodem) (Faria et al., 2006) e logo depois da eclosão assentam-se no substrato, o que dificulta a sua captura (Nonaka, 2000).

A abundância larvar e a riqueza específica foram superiores nos meses em que o caudal foi mais baixo (abundância: 16.3 ± 19.7 ind/ $100m^3$; riqueza específica: 16 ± 8.2),

29

comparativamente aos registados nos meses de caudal mais alto (abundância: 11.6 ± 10.0 ind/100m³; riqueza específica: 3.5 ± 3.5). Vários factores poderão explicar os resultados encontrados. Em primeiro lugar, quando o caudal é mais elevado, ocorre uma diminuição da temperatura e da salinidade da água, o que poderá dificultar o recrutamento das espécies marinhas para o estuário (Ramos et al., 2007). Por outro lado, a disponibilidade de alimento poderá também influenciar a distribuição do ictioplâncton. É no final da Primavera e durante o Verão, que aumenta a produtividade de zooplâncton (o alimento preferencial das larvas; Ré, 1999), na costa portuguesa e nos seus estuários (Cunha, 1993; Cabeçadas et al., 1999). Embora o zooplâncton não tenha sido quantificado, estudos realizados neste ecossistema indicam que, de uma forma geral, a diversidade e abundância de zooplâncton é mais elevada entre o final da Primavera e durante o Verão (Vieira et al., 2015).

A estação que apresentou maiores valores de abundância larvar foi E4 (32.3 ± 34.8 ind/100m³). Esta estação situa-se na zona de transição de salinidade no estuário, podendo coincidir com a zona de turbidez máxima do estuário. No entanto, são necessários estudos que o comprovem. As zonas de turbidez máxima têm sido identificadas como importantes áreas de berçário (Boynton et al., 1997; North e Houde, 2003; Winkleretal et al., 2003), uma vez que a turbidez desempenha um papel relevante na sobrevivência de peixes estuarinos (Kattenfeld, 1997; Whitfield, 1999), pois apresentam uma elevada produção/retenção de zooplâncton (Kimmerer et al., 1998; Roman et al., 2001).

A estação que apresentou maior riqueza específica foi E1 (18.5 ± 13.4) devido à captura de um grande número de espécies com origem marinha. Como o ictioplâncton tende a entrar no estuário por transporte passivo, isto é, por ação da corrente (Ré, 1999), e as amostragens decorreram durante a enchente da maré, é esperada uma maior riqueza específica nesta zona. A estação que apresentou menor riqueza específica foi E6 (3.0 ± 2.8), o que pode dever-se ao facto de existir pouca diversidade de espécies dulciaquícolas, no estuário do rio Minho (Sousa et al., 2008).O número de *taxa* (espécies e géneros) identificados durante este estudo foi inferior ao encontrado em estudos realizados noutros ecossistemas nomeadamente no estuário do rio Lima (50 *taxa*; Ramos et al., 2006), Mondego (28 *taxa*; Ribeiro, 1991) ou Guadiana (34 *taxa*; Faria et al., 2006). Apesar de existirem diferenças nas condições de amostragem, uma explicação possível para estas diferenças poderá dever-se às diferenças nos valores dos caudais (Whitfield e Harrison, 2003; Faria et al., 2006), que no estuário do rio Minho é superior (300 m³s⁻¹; Ferreira et al., 2003), em relação ao rio Guadiana

30

(180 m³s⁻¹; Faria, 2006) e ao rio Lima (70 m³s⁻¹; Ramos, 2007). O elevado caudal poderá dificultar a retenção das larvas no interior do estuário, que são exportadas para a zona costeira(Faria et al., 2006). No entanto, espera-se que a longo praxo, com o aumento do caudal, possa haver um aumento da abundância de peixes na zona costeira adjacente ao estuário. Tal foi observado na espécie *Engraulis encrasicolus* (anchova), no estuário do rio Guadiana (Chícharo et al., 2001).

5.2 VARIABILIDADE ESPACIAL E TEMPORAL DAS FONTES BASAIS DE ENERGIA QUE SUPORTAM A BIOMASSA DAS LARVAS

Os valores de δ^{13} C e δ^{15} N das larvas analisadas revelam que a sua energia provém de diferentes tipos de fontes e com diferentes origens. A contribuição das fontes autóctones foi superior nas estações mais junto à foz e nos meses de caudal baixo (28.7%) em relação aos meses de caudal alto (25.8%). A contribuição da matéria orgânica com origem terrestre foi superior nas estações mais afastadas da foz e a contribuição da matéria orgânica com origem marinha foi superior nas estações mais próximas da foz. Para além disto, algumas larvas (eg. *P. flesus*) apresentaram valores de δ^{13} C que não eram consistentes mais enriquecidos em ¹³C do que com os valores das fontes amostradas, sugerindo que a sua chegada a essas estações terá sido recente. Assim, verificou-se que as larvas no estuário do rio Minho, dependem bastante de fontes com uma origem diferente daquela onde foram capturadas.

O contributo de matéria orgânica com origem marinha e terrestre terá sido mais elevado nos meses de caudal mais alto (25% e 22%, respetivamente) do que nos meses de caudal mais baixo (12% e 28%, respetivamente). Apesar de não ter sido determinada a quantidade de carbono com origem terrestre que terá entrado no estuário durante o período do estudo, os valores de C/N da matéria orgânica particulada (MOP) fornecem informação relativamente à sua qualidade (Hedges et al., 1986; Hedges et al., 1997). Assim, os valores de C/N do MOP durante o período de caudal alto variaram entre 11 (E3) e 14 (E1) nas estações junto à foz e de *ca.* 14 nas estações de água doce (E5 e E6), indicando uma forte contribuição da matéria orgânica de origem terrestre para o MOP (C/N > 10; Hedges et al., 1986; Hedges et al., 1997). Pelo contrário, no período de caudal mais baixo, os valores de C/N do MOP variaram entre 5 e 6 ao longo do estuário. Como estes valores se aproximam do rácio de Redfield (\approx 7), o MOP poderá ter tido uma forte contribuição de fitoplâncton, durante

este período (Hedges et al., 1986; Hedges et al., 1997). É esperado que, quando o caudal baixa, o tempo de residência aumente, aumentado assim a acumulação de fitoplâncton produzido localmente (Sin et al., 1999). Para além disto, os valores de Chl*a*, indicam que terá havido um aumento na disponibilidade de fitoplâncton a partir de Abril 2015, tendo-se atingido os valores mais elevados de Chl*a*, na maioria das estações, em Junho 2015 (entre 13.7µg. L⁻¹ e 21.1µg. L⁻¹ à superfície e entre 4.4µg. L⁻¹ e 5.5µg. L⁻¹ no fundo). No entanto, este aumento na disponibilidade de fitoplâncton, não se refletiu nos tecidos das larvas capturadas, pois não houve um aumento generalizado da proporção de MOP assimilada neste período. Era também esperado que o contributo de matéria orgânica com origem marinha fosse superior nos meses de caudal baixo, mas tal não se refletiu nos tecidos das larvas amostradas (caudal alto: 25.3%; caudal baixo: 12.0%).

Contrariamente ao esperado, durante o período de caudal mais baixo, houve uma importante contribuição de plantas, e seus detritos, para a biomassa das larvas, nomeadamente para a *P. flesus* (0-30%) e *S. melops* (0-40%) em E1, para *L. mixtus* e *Lepadogaster* sp. (0-50%) em E3, e para *P. flesus* (0-50%) nas estações de água doce. Apesar do zooplâncton ser geralmente considerado a presa preferencial das larvas de peixes, algumas espécies poderão alimentar-se de invertebrados bentónicos (e.g. larvas de insecto), o que permitirá a transferência da matéria orgânica com origem terrestre para os níveis tróficos superiores (Hoffman et al., 2015). Embora este tipo de presas não esteja descrito para as larvas de *P. flesus*, esta espécie sofre metamorfose na fase larvar onde, entre outras coisas, adquire um hábito demersal (Summers, 1979). Como o estuário do rio Minho é um estuário de baixa profundidade (Antunes et al. 2011), estas presas poderão estar mais disponíveis para serem capturadas.. Contudo, à semelhança do que foi observado noutros ecossistemas (Cole et al., 2011) estudos recentes no estuário do rio Minho indicam que, também o zooplâncton poderá ter a capacidade para assimilar matéria orgânica com origem terrestre (Dias, comm. pess).

O epilíton e a matéria orgânica no sedimento (MOS) foram as fontes de MO que mais contribuíram, e de uma forma constante, para a biomassa das larvas de peixe capturadas. Assim, estes resultados indicam que há uma forte dependência destas espécies, pelo menos na fase larvar, da cadeia trófica bentónica do estuário. A razão para este facto poderá estar relacionada com a aparente baixa disponibilidade de fitoplâncton na coluna de água neste ecossistema. Estudos anteriores revelaram que a concentração média anual de Chl*a* é de 1.3

 μ g.L⁻¹ (Brito et al., 2012). Os picos de Chl*a* observados em Junho, poderão refletir a ocorrência de um bloom de fitoplâncton.

Foi possível também observar que, algumas espécies, apresentavam valores de δ^{13} C e δ^{15} N mais elevados do que as fontes amostradas, sugerindo que, ou as fontes possíveis não foram todas amostradas, ou o local de captura não foi o mesmo onde se alimentaram do material assimilado. Este facto é particularmente evidente sobretudo quando se analisam os valores de δ^{13} C para as espécies *L.purpurea*, *D.labrax*, *C.exoletus*, *P.flesus* e Blenniidae n.i., que apresentaram valores entre 1 a 8‰ mais enriquecidos em ¹³C do que a fonte mais enriquecida (MA; $16.8 \pm 0.9\%$). Os tecidos das larvas de peixe demoram entre 10 a 20 dias para que ocorra o turnover de 90% do seu tecido (Hoffman et al., 2011). Assim, existem duas possibilidades para os resultados observados: ou houve deslocação de MO proveniente de uma cadeia trófica mais enriquecida em ¹³C para as zonas amostradas, ou houve uma deslocação recente das larvas para esses locais. O facto de as larvas apresentarem constantemente valores mais enriquecidos em ¹³C, suporta a hipótese de que estas se deslocaram para esses locais e ainda não assimilaram a MO aí existente. No caso da P. *flesus*, que apresentou valores mais enriquecidos em ¹³C do que todas fontes amostradas, sobretudo nas estações de água doce, sugere que estas terão migrado de uma zona de maior salinidade, como a zona costeira para o interior do estuário, e posteriormente, terão migrado para as zonas de água doce (Bos, 1999). No entanto, apesar de apenas terem sido analisadas larvas com a vesícula vitelina aparentemente reabsorvida, não se pode descartar a hipótese de que ainda exista algum efeito materno nos valores dos rácios de isótopos estáveis dos seus tecidos, ou que a progenitora tenha migrado recentemente da costa, para se reproduzir na zona de água doce do estuário (sea-run mother hypothesis), pois estudos recentes sugerem que a desova, nesta espécie, poderá ocorrer em zonas de água salobra ou mesmo doce (Daverat et al., 2012).

<u>6 CONCLUSÃO</u>

Com este estudo foi possível pela primeira vez, inferir qual a importância dos habitats estuarinos, e dos ecossistemas adjacentes, para o crescimento e desenvolvimento das larvas de peixes numa importante área berçário, o estuário do rio Minho. Foi também possível, pela primeira vez, identificar e avaliar a abundância e distribuição da comunidade de larvas de peixes neste ecossistema. Verificou-se que o caudal teve um papel determinante na abundância e diversidade específica, uma vez que estas foram superiores nos meses de caudal mais baixo. Este facto que pode ser explicado pela existência de um aumento de alimento, temperatura e salinidade, durante este período. Abundância no estuário do rio Minho ficou marcada pela dominância de indivíduos da família Gobiidae.

As larvas de peixe neste ecossistema dependem predominantemente de fontes de matéria orgânica (MO) autóctones (e.g. epilíton, MOS). Ao contrário do esperado, o caudal não teve um papel determinante no tipo de fontes basais de energia que suportaram a biomassa larvar. Foi possível constatar que, o ecossistema terrestre tem um contributo importante para as cadeias tróficas nas quais as larvas de peixe se alimentam, visto que foi assimilada MO com origem terrestre, independentemente da sua maior ou menor disponibilidade. Durante os meses de caudal mais baixo, quando a disponibilidade de fitoplâncton foi maior verificou-se que a MO com origem terrestre, contribui para a biomassa das espécies capturadas ao longo do gradiente de salinidade estuarino, e não só nas estações de água doce, como seria expectável. Da mesma forma, não foi observado um aumento da contribuição de fontes com origem marinha (por exemplo, as macroalgas, ou de MOP enriquecida em ¹³C), com a diminuição do caudal. No entanto, verificou-se que o ecossistema marinho, subsidia as cadeias tróficas da região mais próxima da foz.

Foi possível também observar que as larvas de peixe, no estuário do rio Minho, dependem não só da cadeia trófica pelágica, através do consumo de matéria orgânica particulada (MOP), mas também são dependentes da cadeia trófica bentónica, uma vez que o epilíton e o MO no sedimento (MOS) foram as fontes que, de uma maneira geral, tiveram um maior contributo para a sua biomassa.

Desta forma, conclui-se que, apesar dos habitats do estuário do rio Minho funcionarem como um importante local para o crescimento e desenvolvimento de várias espécies de peixes, as suas cadeias tróficas são subsidiadas pelos ecossistemas adjacentes. Assim, qualquer plano de gestão ou conservação neste estuário, terá que incluir também, os ecossistemas marinho, mas sobretudo o terrestre, no planeamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahams, M., Kattenfeld, M. (1997). *The role of turbidity as a constraint on predator-prey interactions in aquatic environments*. Behavioral Ecology Sociobiology 40:169-174.

Anderson, M. J. (2001). *A new method for non-parametric multivariate analysis of variance.* Austral Ecology 26: 32-46.

Anderson, M. J., Gorley, R. N., Clarke, K. R. (2008). *Plymouth: primer-E; 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods.* 214.

Antunes, C., Rodrigues, H. (2004). *Guia Natural do Rio Minho: Os Peixes*. Aquamuseu do Rio Minho. Vila Nova de Cerveira – Portugal. 86 pgs.

Antunes, C., Araújo, M. J., Braga, C., Roleira, A., Carvalho, R., Mota, M. (2011). *Valorização dos recursos naturais da bacia hidrográfica do rio Minho.* Final report from the project Natura Miño-Minho, Centro interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto.

Altominho.pt – disponível em http://www.altominho.pt/gca/?id=858; consultado em 03/10/2015.

Alves, A. M. (1996). *Causas e processos da dinâmica sedimentar na evolução atual do litoral do Alto Minho.* Tese de doutoramento, Universidade do Minho: Portugal, 442 pgs.

Beck, M. W., Heck Jr. K. L., Able, K. W., Childers, D.L., Eggleston, D. B., Gillanders, B. M.,
Halpern, B., Hays, C. G., Hoshino, K., Minello, T. J., Orth, R. J., Sheridan, P. F., and Weinstein,
M. P. (2001). *The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates.* BioScience 51: 633–641

Boehlert, G. W., Mundy, B. C. (1988). *Roles of behavioral and physical factors in larval and juvenile fish recruitment to estuarine nursery areas*. American Fisheries Society Symposium 3, 51–67.

Bos, A. R. (1999). *Tidal transport of flounder larvae* (Pleuronectes flesus) *in the Elbe River, Germany.* Arch. Fish. Mar. Res. 47, 47–60.

Bouchereau, J. L., Guelorget, O. (1998). *Comparison of three Gobiidæ (Teleostei) life history strategies over their geographical range.* Oceanologica Acta 21(3):503–517. doi:10.1016/S0399-1784(98)80034-0.

Boynton, W. R., Boicourt, W., Brandt, S., Harding, L., Holliday, Y., Jech, M., Kemp, M., Lascara, C., Leach, S., Madden, A., Roman, M., Sanford, S., Smith, E. (1997). *Interactions*

between physics and biology in the estuarine turbidity maximum (ETM) of Chesapeake Bay, USA. ICES CM 1997/S:11.

Brito, A. C., Brotas, V., Caetano, M., Coutinho, T. P., Bordalo, A. A., Icely, J., Neto, J. M., Serôdio, J., Moita, T. (2012). *Defining phytoplankton class boundaries in Portuguese transitional waters: an evaluation of the ecological quality status according to the water framework directive*. Ecological Indicators 19:5–14. doi:10.1016/j.ecolind.2011.07.025.

Cabeçadas, G., Nogueira, M., Brogueira, M.J. (1999). *Nutrient dynamics and productivity in three European estuaries.* Marine Pollution Bulletin 38 (12), 1092-1096.

Chicharo, M. A., Esteves, E., Andrade, J. P., Morais, P. (2001). *Effects of alterations in fresh water supply on the abundance and distribution of* Engalius encrasicolus *in the Guadiana estuary and adjacent coastal areas of South Portugal*. Ecohydrology and Hydrology 3, 341-345. Cloern, J. E., Canuel, E. A., Harris. D. (2002). *Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system*. Limnology and Oceanography 47:713–729.

Costa-Dias, S., Freitas, V., Sousa, R., Antunes, C. (2010). *Factors influencing epibenthic assemblages in the Minho Estuary (NW Iberian Peninsula)*. Marine Pollution Bullerin 61:240-246.

Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R., Paruelo, J., Raskin, R., Sutton, P., van den Belt, M. (1997). *The value of the world's ecosystem services and natural capital.* Nature 387:253-260. In: Ramos, S. (2007). *Icthyoplankton of the Lima estuary (NW-Portugal): Ecology of the early life stages of Pleuronectiformes.* Tese de Mestrado, Universidade do Porto: Porto, 228 pgs.

Cunha, M. E. (1993). *Variabilidade estacional do zooplâncton na plataforma continental portuguesa*. Boletim UCA Universidade do Algarve 1, 229 e 241. In: Faria, A., Morais, P., Chicharo, M. A. (2006). *Ichthyoplankton dynamics in the Guadiana estuary adjacent coastal area, South-East Portugal.* Estuarine, Coastal and Shelf Science 70, 85-97.

Currin, C. A., Newell, S. Y., Paerl, H. W. (1995). *The role of standing dead Spartina alterniflora and benthic macroalgae in salt marsh food webs: considerations based on multiple stable isotope analysis.* Marine Ecology Progress Series 121, 99-116.

Deegan, L. A., Garritt, R. H. (1997). *Evidence for spatial variability in estuarine food webs.* Marine Ecology Progress Series 147: 31–47.

Deverat, F., Morais, P., Dias, E., Babaluk, J., Martin, J., Eon, M., Fablet, R., Peycheran, C.,

Antunes, C. (2012). *Plasticity of European flounder life history patterns discloses alternatives to catadromy*. 465:267-280.

Dias, E., Morais, P., Antunes, C., Hoffman, J. C. (2014). *Linking terrestrial and benthic estuarine ecosystems: organic matter sources supporting the high secondary production of a non-indigenous bivalve.* Biological invasions, DOI 10.1007/s10530-014-0655-8.

Elliott, M., O'Reilly, M. G., Taylor, C. J. L. (1990). *The Forth estuary: a nursery and overwintering area for North Sea fishes.* Hydrobiologia 195: 89-103.

Faria, A., Morais, P., Chicharo, M. A. (2006). *Ichthyoplankton dynamics in the Guadiana estuary adjacent coastal area, South-East Portugal.* Estuarine, Coastal and Shelf Science 70, 85-97.

Ferreira, J. G., Simas, T., Nobre, A., Silva, M. C., Schifferegger, K., Lencart-Silva, J. (2003). *Identification of sensitive areas and vulnerable zones in transitional and coastal Portuguese systems.* Application of the United States National Estuarine Eutrophication Assessment to the Minho, Lima, Douro, Ria de Aveiro, Mondego, Tagus, Sado, Mira, Ria Formosa and Guadiana systems. INAG/IMAR Technical Report.

Fishbase – disponível em http://www.fishbase.org/TrophicEco/FishEcoList.php?ve_code=13; consultado em 10/12/2015.

Feuchtmayer, H., Grey, J. (2003). *Effect of preparation and preservation procedures on carbon and nitrogen stable isotope determinations from zooplankton.* Rapid Communications in Mass Spectrometry 17: 2605–2610.

Fisher, L., Pereira, L. E., Vieira, J. (2011). *Peixes estuarinos e costeiros.* "Ed.2". Rio grande, Portugal.

França, S., Vasconcelos, R. P., Tanner, S., Máguas, C., Costa, M. J., Cabral, H. N. (2011).
Assessing food web dynamics and relative importance of organic matter for fish species in two
Portuguese estuaries: A stable isotope approach. Marine Environmental Research 72 204-215.
France, R. L. (1995). Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: food
web implications. Marine Ecology Progress Series 124:307-312.

Freitas, V., Costa-Dias, S., Campos, J., Bio, A., Santos, P., Antunes, C. (2009). *Patterns in abundance and distribution of juvenile flounder*, Platichthys flesus, *in Minho estuary (NW Iberian Peninsula)*. Aquatic Ecology 43, 1143–1153.

Fry, B., Sherr, E. B. (1984). ¹³C measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. Contributions in Marine Science 27: 13-47

Harris, S. A., Cyrus, D. P. (1995). Occurrence of larval fishes in the St. Lucia estuary, KwaZulu-Natal, South Africa. South African Journal of Marine Science 16:333-350.

Harris, S. A., Cyrus, D. P., Beckley, L. E. (1999). *The larval fish assemblage in nearshore coastal waters off the St Lucia estuary, South Africa. KwaZulu-Natal, South Africa.* South African Journal of Marine Science 49:789-811.

Hedges, J. I., Clark, W. A., Quay P. D., Richey, J. E., Devol A. H., Santos U. M. (1986). *Compositions and fluxes of particulate organic material in the Amazon River.* Limnology and Oceanography 31:717-738.

Heip, C. H. R., Herman, P. M. J. (1995). *Major biological processes in European tidal estuaries: a synthesis of the JEEP-92 project.* Hydrobiologia 311:1-7.

Herzka, S. Z. (2005). *Assessing connectivity of estuarine fishes based on stable isotope ratio analysis.* Estuarine, Coastal and Shelf Science 64:58-69.

Hoffman, J. C., Bronk, D. A. (2006). *Interannual variation in stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry of the Mattaponi River,* Virginia. Limnology and Oceanography 51:2319–2332.

Hoffman, J. C., Bronk, D. A., Olney, J. E. (2008). *Organic matter supporting lower food web production In the tidal freshwater portion of the York river estuary, Virginia.* Coastal and estuarine research federation.

Hoffman, J. C., Sutton, T. T. (2010). *Lipid correction for carbon stable isotope analysis of deep-sea fishes.* Deep sea Research Part I: Oceanography Research Papers 57:956–964.

Hoffman, J. C., Cotter, A. M., Peterson, G. S. & Kelly, J. R. (2011). *Rapid stable isotope turnover of larval fish in a Lake Superior coastal wetland: implications for diet and life history studies.* Aquatic Ecosystem Health and Management 14:403-413.

Hoffman, J. C., Kelly, J. R., Peterson, G. S., Cotter, A. M. (2015). *Landscape-Scale food webs* of fish nursery habitat along a river-coast mixing zone. Estuarine and Coasts 38: 1335-1349.

Kimmerer, W. J., Burau, J. R., Bennett, W. A. (1998). *Tidally oriented vertical migration and position maintenance of zooplankton in a temperate estuary*. Limnology and Oceanography 43:1697–1709

Leggett, W. C., Deblois, E. (1994). *Recruitment in marine fishes: is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stages?* Netherlands Journal of Sea Research 32 (2), 119-134. In: Faria, A., Morais, P., Chicharo, M. A. (2006). *Ichthyoplankton dynamics in the Guadiana estuary adjacent coastal area, South-East Portugal.* Estuarine, Coastal and Shelf

Science 70, 85-97.

Le Pape, O., Modéran, J., Beaunée, G., Riera, P., Nicolas, D., Savoye, N., Harmelin-Vivien, M., Darnaude, A. M., Brind Amour, A., Le Bris, H., Cabral, H., Vinagre, C., Pasquaud, S., França, S., Kostecki, C. (2012). *Sources of organic matter for flatfish juveniles in coastal and estuarine nursery grounds: A meta-analysis for the common sole* (Solea solea) *in contrasted systems of Western Europe.* Journal of Sea Research.

Lorenzen, C. J. (1967). *Determination of chlorophyll and pheo-pigments: spectrophotometric equations.* Limnology and Oceanography 12:343-346.

Lorrain, A., Savoye, N., Chauvaud, L., Paulet, Y., Naulet, N. (2003). *Decarbonation and preservation method for the analysis of organic C and N contents and stable isotope ratios of low-carbonated suspended particulate material.* Analytica Chimica Acta 491:125-133.

McLusky. (1989). The Estuarine Ecosystem. "ed.2". Blackie and Son, 215 pp.

McLusky, D.S., Elliott, M., 2004. The Estuarine Ecosystem. Oxford University Press, Oxford, 214 pp.

Minagawa, M., Wada, E. (1984). *Stepwise enrichment of* ¹⁵*N along food chains: further evidence and the relation between* ¹⁵*N and animal age.* Geochimica er Cosmochimica Acta Vol. 58:1135-1140.

Miranda, A., Cal, R. M., Iglesias, J. (1990). *Effect of temperature on the development of eggs and larvae of sardine Sardina pilchardus Walbaum in captivity.* Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 140, 69-77.

Morais, P., Dias, E., Babaluk, J., Antunes, C. (2011). *The migration patterns of the European flounder* Platichthys fleus *(Linnaeus, 1758) (Pleuronectidae, Pisces) at the southern limit of its distribution range: Ecological implications and fishery management.* Journal of Sea Research 65:235-246.

Mota, M., Antunes, C. (2011). *First report on the status of Allis shad* (Alosa alosa) *in the Minho River (Northwestern Iberian Peninsula)*. Journal of applied ichthyology 27;56-59.

Nichols, J. H. (1971). Pleuronectidae. *Identification Sheets on Fish Eggs and Larvae, number* 4-6. Conseil International pour l'Exploration de la Mer, Danemark, 18 pp.

Nichols, J. H. (1976). *Soleidae. Identification Sheets on Fish Eggs and Larvae, number 150-151.* Conseil International pour l'Exploration de la Mer, Danemark, 10 pp.

Nonaka, R. H., Matsuura, Y., Suzuki, K. (2000). *Seasonal variation in larval fish assemblages in the Abrolhos. Bank region off eastern Brazil.* Fishery Bulletin. v. 98, p. 767-784.In: Mota, E.

M. (2013). *Distribuição e abundância do ictioplâncton na plataforma continental (42-37 W, 48-21 S) no nordeste do Brasil*. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Ceará: Fortaleza, 71 pgs.

Norcross, B. L., Shaw, R. F. (1984). *Oceanic and estuarine transport of fish eggs and larvae: a review.* Transactions of the American Fisheries Society 113, 153–165.

North, E. W., Houde, E. D. (2003). *Linking ETM physics, zooplankton prey, and fish early-life histories to striped bass Morone staxatilis and white perch M. americana recruitment.* Marine Ecological Progress Series 260:219-236.

Novais, A. (2013). Análise comparative das diferentes fontes de recursos utilizadas por uma espécie invasora (Corbicula fluminea) e por espécies nativas simpátricas. Tese de mestrado, Universidade do Minho: Braga, 109 pgs.

Parnell, A. C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L. (2010). *Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation.* Plos One 5:1–5.

Pasquaud, S., Lobrym J., Ellie, P. (2007). *Facing the necessity of describing estuarine ecosystems: a review of food web ecology study techniques*. Hydrobiologia 588:159-172. PBHL. (2002). http://www.dre.pt/pdfgratis/2002/03/057B00.PDF

Peterson, B. J., Fry, B. (1987) *Stable isotopes in ecosystem studies*. Annual Review Ecology, Evolution and Systematics 18:293–320.

Pihl, L., Cattrijsse, A., Codling, I., Mathieson, S., McLusky, D. S., Roberts, C. (2002). *Habitat use by fishes in estuaries and other brackish areas.* In: Elliott, M., Hemingway, K.L. (Eds.), Fishes in Estuaries. Blackwell Science.

Post, D. M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, Methods and Assumptions. Ecology, 83:703-718, Ecological Society of America.

Rakocinski, C. F., Lyczkowski-Shultz, J., Richardson, S. L. (1996). *Ichthyoplankton assemblage structure in Mississippi sound as revealed by canonical correspondence analysis.* Estuarine, coastal and shelf science 43:237-257.

Ramos, S., Cowen, R. K., Ré, P., Bordalo, A. A. (2006). *Temporal and spatial distributions of larval fish assemblages in the Lima estuary*, Portugal. Estuarine, coastal and shelf science.
Ramos, S. (2007). *Icthyoplankton of the Lima estuary (NW-Portugal): Ecology of the early life stages of Pleuronectiformes*. Tese de Mestrado, Universidade do Porto: Porto, 228 pgs.
Raz-Guzman, A., Huidobro, L. (2002). *Fish communities in two environmentally different estuarine systems of Mexico*. Journal of Fish Biology 61:182-195.

Ré, P. (1999). *Ictioplâncton estuarino da Península Ibérica. Guia de identificação dos ovos e estados larvares planctónicos.* Câmara Municipal de Cascais, Cascais.

Ré, P. (2008). *Early stages of marine fishes occurring in the Iberian Peninsula.* IPIMAR/IMAR: 282pp.

Reis, P. A. P. (2009). *Estudo geoquiímico de metais em sedimentos do sepal dos rios Minho e Coura*. Tese de Mestrado, Universidade do Porto: Porto, 89 pgs.

Ribeiro, R. (1991). *Ictioplâncton do estuário do Mondego e Resultados*. Revista de Biologia:
Actas do 1º Encontro de Planctologistas Portugueses 4, 233e244. In: Ramos, S., Cowen, R.
K., Ré, P., Bordalo, A. A. (2006). *Temporal and spatial distributions of larval fish assemblages in the Lima estuary*, Portugal. Estuarine, coastal and shelf science.

Riley, R. H., Townsend, C. R., Raffaelli, D. A., Flecker, A. S. (2004). *Sources and effects of subsidies along the stream-estuary continuum.* In: Polis, G. A., Power, M. E., Huxel, G. R. (eds) *Food webs at the landscape level.* Pp.241-245. University of Chicago Press. Chicago.

Roman, M. R., Holliday, D. V., Sandford, L. P. (2001). *Temporal and spatial patterns of zooplankton in the Chesapeake Bay turbidity maximum.* Marine Ecology Progress Series 213:215-227.

Sheaves, M. (2009). *Consequences of ecological connectivity: the coastal ecosystem mosaic.* Marine Ecology Progress Series 391:107–115.

Sin, Y., Wetzel, R. L., Anderson, I.C. (1999). *Spatial and temporal characteristics of nutrient and phytoplankton dynamics in the York River estuary, Virginia: analyses of long-term data.* Estuaries 22:260–275.

Smith, B. N., Epstein, S. (1970). *Biogeochemistry of the stable isotopes of hydrogen and carbon in salt marsh biota.* Plant Physiology 46:738–742.

Smith, B. N., Epstein, S. (1971). *Two categories of* ¹³C/¹²C ratios for higher plants. Plant Physiology 47:380–384.

Souza, A. T., Dias, E., Campos, J., Marques, J. C., Martins, I. (2014a). *Structure, growth and production of a remarkably abundant population of the common goby,* Pomatoschistus microps (*Actinopterygii: Gobiidae*). Environmental Biology Fishes 97:701-715.

Souza, A. T., Dias, E., Marques, J. C., Antunes, C. (2014b). *Population structure, production and feeding habitat of the goby* Pomatoschistus minutus *(Actinopterygii: Gobiidae) in the Minho estuary (NW Iberian Peninsula)*. Environmental Biology Fishes DOI 10.1007/s10641-014-0259-2. Sousa, R., Costa Dias, S., Guilhermino, L., Antunes, C. (2008). *Minho River tidal freshwater wetlands: threats to faunal biodiversity*. Aquatic Biology 3:237-250.

Summers, R.W. (1979). *Life cycle and population ecology of the flounder* Platichthys flesus (*L.*) *in the Ythan estuary, Scotland.* J. Nat. Hist. 13, 703–723.

Valiela, I., Bartholomew, M. (2015). *Land-Sea Coupling and Global Forcing: Following Some os Scott Nixon* 's Challenges. Estuaries and Coasts 38:1189-1201.

Vander Zander, M. J., Rasmunssen, J. B. (2001). *Variations in* $\delta^{15}N$ and $\delta^{13}C$ trophic *fractionation: Implications for aquatic food web studies.* Limnology and Oceanography, 46:2061-2066.

Vasconcelos, R. P., Reis-Santos, P., Tanner, S., Maia, A., Latkoczy, C., Gunther, D., Costa, M. J., Cabral, H. (2008). *Evidence of estuarine nursery origin of five coastal fish species along the Portuguese coast through otolith elemental fingerprints.* Estuarine, Coastal and Shelf Science 317-327.

Vieira, L. R., Guilhermino, L., Morgado, F. (2015). *Zooplankton structure and dynamics in two estuaries from the Atlantic coast in relation to multi-stressors exposure.* 167:347-367.

Vinagre, C., Salgado, J., Costa, M. J., Cabral, H. N. (2008). *Nursery fidelity, food web interactions and primary sources of nutrition of the juveniles of* Solea solea and S. senegalensis *in the Tagus estuary (Portugal): A stable isotope approach.* Estuarine, Coastal and Shelf science 76:255-264.

Vinagre, C., Salgado, J., Cabral, H. N., Costa, M. J. (2011). *Food web structure and habitat connectivity in fish estuarine nurseries – impact of river flow.* Estuaries and Coasts 34:663-674.

Whitfield, A.K. (1990). *Life-history styles of fishes in South African estuaries*. Environmental Biology of Fishes 28, 295-308.

Whitfield, A.K. (1989). *Ichthyoplankton in a southern African surf zone: nursery area for the postlarvae of estuarine associated fish species?* Estuarine, Coastal and Shelf Science 29:533-547.

Whitfield, A. K. (1994). *An estuary-association classification for the fishes of southern Africa.* South African Journal of Science 90:411-417.

Whitfield, A. K. (1999). *Ichthyofaunal assemblages in estuaries: a South African study.* Reviews in Fish Biology and Fisheries 9:151-186.

Whitfield, A. K., Harrison, T. D. (2003). River flow and fish abundance in a South African

43

estuary. Journal of Fish Biology 62:1467-1472.

Winkler, G., Dodson, J. J., Bertrand, N., Thivierge, D., Vincent, W. F. (2003). *Trophic coupling across the St. Lawrence River estuarine transition zone.* Marine Ecology Progress Series 251:59-73.

Young, G. C., Potter, I. C. (2003). *Do the characteristics of the ichthyoplankton in an artificial and a natural entrance channel of a large estuary differ?* Estuarine, Coastal and Shelf Science 56:765-779.

Anexo I – Abundância de espécies

Fonésion			Caudal al	lto			Total/Caudal	Caudal baixo								
Especies	E1	E2	E3	E4	E5	E6	alto	E1	E2	E3	E4	E5	6	baixo		
Ammodytes tobianus	48.65	-	-	-	-	-	8.11 (18.9)	-	-	-	-	-	-	-		
Platichthys flesus	7.64	4.45	2.03	-	-	2.24	2.73 (2.9)	11.96 (3.3)	-	9.71 (6.8)	9.46 (5.5)	3.53 (1.7)	-	5.78 (4.9)		
Lepadogaster purpurea	11.46	-	4.06	-	-	-	2.59 (4.6)	4.56 (3.2)	-	6.30	-	-	-	1.81(±3.0)		
Gobiesocidae sp.	1.91	-	-	-	-	-	0.32 (0.8)	-	-	-	-	-	-	-		
Lepadogaster sp.		-	-	-	-	-	-	6.86	-	6.30	-	-	-	2.19(±3.6)		
Solea solea	1.91	-	-	-	-	-	0.32 (0.8)	-	14.29	-	-	-	-	2.38(±6.4)		
Blenniidae n.i.	1.91	-	4.06	-	-	-	0.99 (1.7)	7.32(3.7)	6.52	7.27	-	-	-	3.52(±3.8)		
Lipophrys pholis	3.82	-	4.06	-	-	-	1.31 (2)	6.86	-	-	-	-	-	1.14 (3.1)		
Parablennius gattorugine	-	-	-	-	-	-	-	1.91	-	-	-	-	-	0.32 (0.9)		
Atherina presbyter	-	-	2.03	-	-	-	0.34 (0.8)	-	-	6.30(±0)	-	-	9,91(±1)	2.70 (2.8)		
Centrolabrus exoletus	-	-	-	-	-	-	-	1.91	-	14.55(±0)	-	-	-	2.74 (6.3)		
Labridae sp.	-	-	-	-	-	-	-	10.11	10.40 (5.5)	-	-	-	-	3.42 (5.6)		
Symphodus melops	-	-	-	-	-	-	-	8.33	13.48	7.27	-	-	-	4.85 (5.8)		
Labrus mixtus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.55	-	-	-	2.42 (6.5)		
Pomatoschistus sp.	-	4.45	-	-	-	-	0.74 (1.8)	8.33	10.82 (9.2)	5.59 (1.01)	27.91	-	-	8.77 (10.5)		
Gobiidae n.i.	-	-	-	2.98	-	-	0.50 (1.2)	20.45 (17.04)	82.97 (89.5)	118.85 (102.3)	66.21 (38.02)	31.68 (1)	-	35.14 (31.2)		
Pomatoschistus microps	-	-	-	-	-	-	-	-	9.42	11.42 (4.5)	23.16 (22.5)	-	-	7.33 (9.6)		
Gobius niger	-	-	-	-	-	-	-	13.71	-	-	-	-	-	2.29 (6.1)		
Cyprinidae n.i.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25.38	18.60 (20.9)	-	7.33 (12.3)		
Dicentrarchus labrax	-	-	-	-	-		-	-	5.80	2.01	1.55	-	-	1.56 (2.4)		
Sparidea n.i.	-	-	-	-	-	-	-	6.0	-	6.30	-	-	-	2.13 (3.5)		
Clupeidea n.i.	-	-	-	-	-	-	-	5.79 (3.6)	-	-	-	-	-	0.97 (2.6)		
Syngnathus sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38.99	-	-	3.26	7.04 (17.4)		

Tabela 1- Abundância das espécies, por estação e por período de amostragem em número de indivíduos por 100 m³ (± Desvio padrão).