

# Aplicação da técnica de isótopos estáveis na estimativa da taxa de *turnover* em estudos ecológicos: uma síntese

Gislaine Iachstel Manetta\* e Evanilde Benedito-Cecilio

Departamento de Biologia, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. \*Autor para correspondência. e-mail: eva@nupelia.uem.br

**RESUMO.** Os isótopos estáveis vêm sendo utilizados na obtenção da taxa de *turnover* em animais aquáticos e representam mais uma ferramenta no auxílio à tomada de medidas de conservação, considerando que os impactos antrópicos ameaçam áreas específicas de alimentação, reprodução e crescimento de espécies em ambientes naturais. Na aquicultura, por outro lado, o conhecimento da velocidade de conversão do alimento em tecido auxilia em melhores estimativas de produção. Neste sentido, o presente estudo pretende fazer uma síntese dos trabalhos realizados acerca das taxas de *turnover* em ecologia, com uso da técnica de isótopos estáveis. O *turnover* consiste na síntese do novo tecido e na substituição dos tecidos velhos utilizando a composição da dieta atual do animal. A taxa de *turnover* é dependente do tecido animal analisado, da fase de desenvolvimento, do tempo e dos parâmetros abióticos.

**Palavras-chave:** isótopos estáveis, *turnover*, dieta,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$ .

**ABSTRACT. The use of stable isotopes technique in the *turnover* estimative rate in ecological studies.** The stable isotopes have been used to obtain the turnover rate in aquatic animals. This is one more tool to help making decisions about the conservation, considering that the anthropic impacts threaten specific areas of food, reproduction and growth of the species in natural ambient. On the other hand, in the aquaculture, the knowledge about the conversion speed of the food in tissue helps to better estimate the production. Based on that, the aim of this paper is to make a revision about the studies carried out related to the *turnover* rate using stable isotopes, in ecology. The *turnover* consists of the new tissue synthesis and of the old tissue replacement using the animal composition present diet. The *turnover* rate depends on the animal tissue analyzed, on the development phase, on the time and on the abiotic parameters.

**Key words:** stable isotopes, *turnover*, diet,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$ .

## Introdução

Estudos abordando o fluxo de energia em ecossistemas, usualmente quantificam e/ou qualificam a transferência de matéria e energia através de análises de conteúdo estomacal (ACE) ou mesmo pela observação direta da seleção do alimento pelo predador no ambiente. Dessa maneira, o exame revela, direta e especificamente, o item alimentar que está sendo ingerido em determinado local e período de tempo (Beaudoin *et al.*, 1999). No entanto, deve-se considerar que os itens ingeridos apresentam composições químicas distintas, o que implica velocidades diferentes de digestão e, conseqüentemente, incertezas na identificação do item realmente consumido. Outro fator deve-se à real assimilação do alimento consumido, pois nem todos os itens ingeridos pelo animal serão efetivamente assimilados.

Recentemente, as análises da ocorrência natural de isótopos estáveis (AIE), especialmente aquelas de carbono e nitrogênio, têm se intensificado em ecologia. Esta técnica vem auxiliando a delinear e a melhor compreender a dinâmica trófica entre os organismos produtores, consumidores e decompositores nas teias alimentares (Fry, 1988; Yoshioka *et al.*, 1988; Forsberg *et al.*, 1993). Dessa forma, com base na composição isotópica dos tecidos dos consumidores, tem-se a indicação mais precisa do item assimilado dentre os alimentos consumidos (Fry e Arnold, 1982).

O uso de isótopos estáveis em ecologia, entretanto, é facilitado pelas indicações da dieta, obtidas através da análise do conteúdo estomacal. Assim, a conjunção de ambas as técnicas, ACE e AIE, pode fornecer uma visão ampla e eficaz do fluxo de energia em teias alimentares complexas, como verificado em ambientes tropicais.

Apesar dessa importante aplicabilidade, ainda são incipientes os estudos realizados no país utilizando isótopos estáveis. Os trabalhos precursores foram desenvolvidos na Amazônia nas décadas de 80 e 90 por Araújo-Lima *et al.* (1986), Martinelli *et al.* (1992) e Forsberg *et al.* (1993), tratando das fontes autotróficas de carbono para peixes. Porém, estudos desta natureza desenvolvidos atualmente no Brasil (Leite, 2000; Benedito-Cecílio *et al.*, 2000; Benedito-Cecílio e Araújo-Lima, no prelo), ainda não têm focalizada a taxa de reposição dos tecidos biológicos (taxa de *turnover*). No caso de espécies migradoras, a ausência desta informação, impede indicação mais clara dos locais de alimentação e até mesmo os melhores esclarecimentos, acerca da sua ecologia alimentar e rota migratória.

A obtenção da taxa de *turnover* para animais aquáticos representa mais uma ferramenta no auxílio na tomada de medidas de conservação. Os crescentes impactos antrópicos nos ecossistemas naturais, provocados pelos sucessivos represamentos, desmatamentos, atividades agrícolas ou pecuárias, ameaçam áreas específicas de alimentação, ainda pouco conhecidas para muitas espécies. Por outro lado, na aquíicultura, o conhecimento da velocidade de conversão do alimento em tecido; obviamente facilita estimativas de produção, com conseqüente redução de custos.

Neste sentido, o presente trabalho faz uma análise dos trabalhos realizados para a determinação das taxas de *turnover* em ecologia, com o uso da técnica de isótopos estáveis. Inicialmente, serão apresentadas algumas noções básicas sobre a metodologia de isótopos estáveis, bem como sua aplicação básica na estimativa da dieta. São definidos, ainda, pressupostos sobre a taxa de *turnover* em diferentes tecidos somáticos e discutidos os resultados obtidos em trabalhos específicos.

### Isótopos estáveis e dieta

A técnica de isótopos estáveis tem sido utilizada para o estabelecimento de um esboço geral da via metabólica, empregando a forma isotópica de um dado elemento químico para marcar um metabólito, considerando que a composição dos tecidos do consumidor reflete a sua dieta, sendo assim, permite verificar as mudanças de presa e hábitos de forrageamento dos animais. Em ecologia, alguns isótopos são usados como marcadores (Tabela 1). Por exemplo, o isótopo radioativo  $^{14}\text{C}$  é utilizado para marcar um dado átomo de carbono de uma molécula orgânica, sendo quimicamente indistinguível de uma molécula normal não-

marcada. Entretanto pode ser facilmente detectada e quantificada através de sua radioatividade.

**Tabela 1.** Alguns isótopos estáveis ou radioativos, utilizados como marcadores em estudos ecológicos

Isótopo marcador	$^2\text{H}$	$^3\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^{14}\text{C}$	$^{15}\text{N}$	$^{18}\text{O}$	$^{24}\text{Na}$	$^{30}\text{P}$	$^{35}\text{S}$	$^{42}\text{K}$	$^{59}\text{Fe}$
Tipo Isótopo	ES	RA	ES	RA	ES	ES	RA	RA	RA	RA	RA
Meia-vida		12,1 <sup>t</sup>		5700a			15h	14,3d	87,1d	12,5d	45d

Fonte: Lehninger, 1990; Nota: (ES) estável; (RA) radioativo; (a) anos; (h) horas; (d) dias

Os isótopos estáveis de oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ), hidrogênio ( $\delta\text{D}$ ) e enxofre ( $\delta^{34}\text{S}$ ) são usados em pesquisas para fins distintos. O  $\delta^{18}\text{O}$  tem sido usado para distinguir se a origem do óxido nítrico é proveniente da desnitrificação ou nitrificação. O  $\delta\text{D}$  pode ser utilizado como traçador no contraste de organismos alimentados em diferentes sistemas de água doce *versus* marinha ou terrestre *versus* cadeias alimentares marinhas. O  $\delta^{34}\text{S}$ , através da diferença isotópica entre o sulfato e sulfeto, é capaz de distinguir o enxofre da produção bentônica *versus* a pelágica, ou de plantas de pântano *versus* fitoplâncton estuarino (Fry *et al.*, 1982; Peterson e Howarth, 1987).

Os isótopos estáveis mais utilizados em estudos biológicos são os de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ). Os resultados baseiam-se na determinação da proporção  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ , respectivamente. Por exemplo, o isótopo estável ( $^{13}\text{C}$ ) de uma molécula de carbono ( $^{12}\text{C}$ ) é transmitido ao longo da cadeia alimentar, sendo detectado pelo espectrômetro de massa. Tais diferenças isotópicas ocorrem na natureza e são fruto de reações físicas, químicas e/ou biológicas que promovem a discriminação de um dos isótopos (Martinelli *et al.*, 1988). Ao processo de discriminação dá-se o nome de fracionamento, que pode ser resumido como um enriquecimento ou deplecionamento do isótopo, dado pela seguinte equação:

$$E(p/s) = \delta(p) - \delta(s)$$

onde:

E = fator de enriquecimento por mil;

$\delta_{(p)}$  = valor isotópico por mil do animal;

$\delta_{(s)}$  = valor isotópico por mil da dieta.

Como as variações naturais dos isótopos  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  são pequenas, a notação  $\delta$  é expressa em partes por mil.

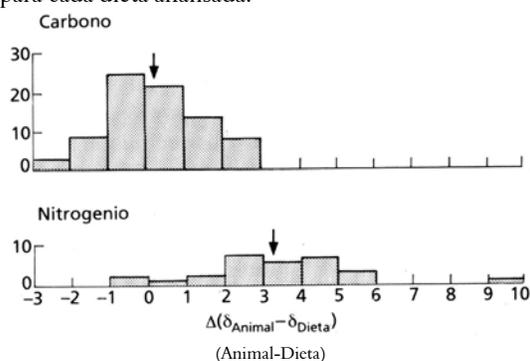
$$\delta_{(‰)} = R_{\text{substrato}} / R_{\text{produto}}$$

onde, R é a relação  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ .

Os valores dos isótopos estáveis dependem da fonte primária, ou seja, se o produtor é uma planta  $C_3$  (via Calvin),  $C_4$  (via Hatch-Slack) ou CAM (via Ácidos Crassuláceos). Esta dependência ocorre, pois elas se diferenciam na fixação biológica do  $CO_2$  atmosférico e nos processos de fracionamento bioquímico (Smith e Epstein, 1971).

### Isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}C$ )

A composição isotópica de carbono nos tecidos de animais representa a sua dieta, com um enriquecimento por nível trófico de aproximadamente 1‰, evidenciado pelo valor isotópico do carbono no animal em relação ao valor isotópico do carbono na dieta (Figura 1), (DeNiro e Epstein, 1978; Fry *et al.*, 1978; Fry e Arnold, 1982; Tieszen *et al.*, 1983; Peterson e Fry, 1987). Em estudos com cobaias, Tieszen *et al.* (1983) alteraram a dieta de milho (metabolismo  $C_4$ ) para uma dieta de trigo (metabolismo  $C_3$ ), e observaram um enriquecimento do  $\delta^{13}C$  no pêlo do animal em 1‰ para cada dieta analisada.



**Figura 1.** Relação entre organismos e dieta para isótopos de carbono ( $\delta^{13}C$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}N$ ). Fonte: Michener e Schell (1994)

Entre os vários processos que contribuem para o enriquecimento do  $^{13}C$ , destacam-se: (i) a perda de  $^{12}CO_2$  durante a respiração; (ii)  $^{13}C$  a composição da digestão; (iii) o fracionamento metabólico durante a síntese nos diferentes tipos de tecidos (DeNiro e Epstein, 1978; Tieszen *et al.*, 1983; Fry e Sherr, 1984).

A transferência da assinatura isotópica de carbono ao longo da teia trófica é conservativa, podendo, assim, ser utilizada para traçar o fluxo de energia em sistemas onde existem vários tipos de alimentos com diferenças nos valores de  $^{13}C$ , dado pelas plantas  $C_3$  versus  $C_4$  ou outros itens ingeridos no sistema marinho versus sistema terrestre (Fry *et al.*, 1977, 1978; DeNiro e Epstein, 1978; Schoeninger e DeNiro, 1984).

Exemplificando, o Orthoptera *Melanoplus* sp, alimentando-se essencialmente de trigo, teve a composição do corpo e das fezes enriquecida em  $^{13}C$ , em relação a sua dieta inicial. No cálculo das contribuições dos componentes da dieta para o ortóptero, constatou-se um enriquecimento aproximado de 1‰ (DeNiro e Epstein, 1978).

Mesmo quando um organismo é alimentado seletivamente, ocorrem variações isotópicas e diferenças nas taxas de *turnover*, dependendo do tecido somático analisado. Quando há mais de uma fonte de alimento, é preciso identificar as fontes de carbono, sejam elas derivadas do detrito, de plantas  $C_3$ ,  $C_4$  ou CAM, que deverão ser identificadas através do conhecimento da taxa de *turnover* nos tecidos do consumidor.

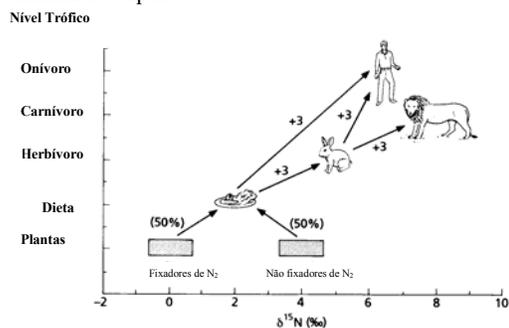
Os animais migradores, ao longo do seu trajeto, tendem a mudar a composição isotópica quando incorporam uma nova dieta. Em estudos de campo, Fry (1983) determinou a composição isotópica de jovens camarões alimentando-se inicialmente com graminhas. Os juvenis possuíam valores isotópicos de carbono de -11‰, de nitrogênio de -14‰ e de enxofre entre 6-8‰. Após a migração dos indivíduos, os valores isotópicos convergiram para -16‰, 11,5‰ e 16‰ para carbono, nitrogênio e enxofre, respectivamente, indicando, assim, uma marcante mudança de dieta. Nesse caso, a dificuldade reside em determinar o período decorrido da ingestão do alimento e, portanto, o local mais provável da alimentação da espécie (Fry e Arnold, 1982).

### Isótopos estáveis de nitrogênio ( $\delta^{15}N$ )

Em contraste com o isótopo estável de carbono, a relação entre o isótopo estável de nitrogênio ( $\delta^{15}N$ ) do organismo consumidor e de sua dieta tem sido menos estudada (DeNiro e Epstein, 1981; Peterson e Fry, 1987). Entretanto, assim como o  $\delta^{13}C$ , DeNiro e Epstein (1981) encontraram que o valor do  $\delta^{15}N$ , em vários tipos de tecidos ou do organismo como um todo, reflete o valor do  $\delta^{15}N$  da dieta.

Variações espaciais de  $\delta^{15}N$  e  $\delta^{13}C$  na composição de plantas, invertebrados e peixes foram investigadas por Jennings *et al.* (1997), que constataram o enriquecimento  $^{15}N$  com a elevação do nível trófico. Este enriquecimento também foi verificado para cadeias alimentares do ártico marinho (Hobson e Welch, 1992). Os valores de  $\delta^{15}N$  indicaram que algumas espécies de peixes estudadas pelos autores tiveram diferentes adaptações na estratégia de alimentação para diferentes locais e, como resultado, os indivíduos da mesma espécie compuseram diferentes grupos tróficos em cada local.

Em estudos de campo, Michener e Schell (1994) encontraram uma média de enriquecimento de 3,2‰ em  $^{15}\text{N}$  do animal *versus* sua dieta, considerando ser este enriquecimento efeito do nível trófico (Figura 1). Embora Minagawa e Wada (1984) tenham verificado uma variação no enriquecimento do valor isotópico do nitrogênio de  $3,4 \pm 1,1\text{‰}$  por nível trófico, usualmente atribui-se a esta variação entre níveis tróficos de uma teia alimentar o valor de 3‰. A Figura 2 apresenta o valor isotópico do nitrogênio em herbívoros o qual é enriquecido em 3‰ em relação ao produtor primário consumido. Já o carnívoro tem seu valor enriquecido em 6‰ em relação ao vegetal e 3‰ em relação ao herbívoro, e assim, sucessivamente a cada nível trófico. Deste modo, os estudos com isótopos estáveis de nitrogênio são usados quando se tem por objetivo analisar o nível trófico que a pertence uma determinada espécie.



**Figura 2.** Modelo da variação de isótopo de nitrogênio em plantas e o fracionamento do isótopo de nitrogênio entre os diferentes níveis tróficos, incluindo herbívoro, carnívoro e onívoros. Fonte: Koch et al. (1994)

A maioria das plantas capazes de fixarem nitrogênio no ecossistema terrestre pertencente à família Leguminosae, sendo que as cianobactérias são responsáveis por grande parte da fixação do nitrogênio molecular que ocorre em ecossistemas aquáticos. As plantas fixadoras, usualmente apresentam um valor de  $\delta^{15}\text{N}$  menor do que aqueles das plantas que não podem fixar o nitrogênio molecular. Em ecossistemas, onde os fixadores de nitrogênio são importantes produtores primários, os consumidores devem ter o  $^{15}\text{N}$  deplecionado, por terem menor valor isotópico de nitrogênio, comparado com aqueles que ingerem vegetais, que não fixam o nitrogênio, os quais têm maior valor isotópico de  $^{15}\text{N}$ .

O valor de  $\delta^{15}\text{N}$  de um tecido animal e o valor  $\delta^{15}\text{N}$  de sua dieta depende do tecido analisado e da natureza da dieta. Para ratos, *Mus musculus*, alimentados com dietas distintas isotopicamente,

pôde-se observar, nos tecidos, enriquecimento em relação à dieta, ocorrendo um aumento do valor isotópico de nitrogênio na seguinte ordem: rim, pêlo, fígado e cérebro (DeNiro e Epstein, 1981). Desta forma, parte dessas diferenças de  $\delta^{15}\text{N}$  nos tecidos deve ser atribuída ao fracionamento isotópico durante a transaminação dos aminoácidos (Michener e Schell, 1994).

### Turnover em estudos ecológicos

O método de marcação isotópica, quando usado para a determinação da velocidade de processos metabólicos em animais, fornece resultados seguros acerca da taxa de *turnover*. Um dos avanços mais significativos realizados com este método foi a descoberta de que os componentes macromoleculares das células e dos tecidos sofrem um processo constante de renovação metabólica. Existe um estado de equilíbrio dinâmico no interior celular, no qual a biossíntese é constante e exatamente contrabalançada por igual velocidade de degradação. Este processo de troca metabólica, “renovação celular”, é também chamado de “lavagem celular”.

O *turnover* consiste na síntese do novo tecido no corpo e da degradação do velho. A velocidade na qual ocorre a degradação do tecido velho refere-se ao *turnover* metabólico e pode ser determinada pela comparação nas alterações observadas da composição isotópica relativa ao crescimento. A taxa de *turnover* está associada à taxa de crescimento, porque um indivíduo que cresce rapidamente terá uma rápida taxa de *turnover*, comparado com os organismos que têm crescimento relativamente mais lento.

Quando ocorre mudança na dieta do consumidor ao longo do tempo, o conhecimento do período necessário para a composição isotópica do consumidor reflete a composição isotópica da nova dieta, que corresponde a um requisito essencial ao entendimento dos processos biológicos. Através do conhecimento da taxa de *turnover*, pode-se revelar o período necessário no qual cada espécie assimila os nutrientes da nova dieta nos tecidos e, assim, inferir a identidade da presa e hábito de forrageamento do animal. Em estudos de migração, os isótopos estáveis utilizados como marcadores biológicos informam sobre o possível local de obtenção do alimento.

Animais que se movimentam entre cadeias alimentares com diferenças isotópicas podem reter informações do alimento anterior por período que depende da taxa de *turnover* do tecido de interesse (Tieszen e Boutton, 1988; Hobson e Clark, 1992). Dado este fato, o uso de tecido com rápida taxa de *turnover*, como fígado, em contraste com outros

tecidos com taxa mais lenta de *turnover*, como o músculo, permitirá a identificação dos indivíduos que não obtiveram alimento de um determinado ambiente, possibilitando, assim, determinar estratos de população residente e migratória.

Por outro lado, em estudos de migração, estruturas ósseas como os otólitos vêm sendo usadas para registrar o passado recente da espécie, através da composição isotópica registrada nos tecidos, durante seu trajeto por diferentes ambientes de um mesmo ecossistema. Os anéis presentes nos otólitos demonstram o crescimento anual, e este está em equilíbrio isotópico com o meio aquático, ocupado pelo peixe. Através dos otólitos de *Retropinna retropinna* observou-se que o peixe ao longo de seu ciclo de vida passa pelos ambientes marítimo, estuarino, fluvial e lacustre, sendo este fato confirmado pelas diferenças isotópicas encontradas nos otólitos, para cada um dos locais analisados (Nelson *et al.*, 1989).

Diferenças na composição nutricional de uma mesma população de peixe, procedente de dois sistemas de água doce, na região do Delta Mackenzie no Norte do Canadá (Hesslein *et al.*, 1991), foram identificadas através do uso de isótopos múltiplos (enxofre, carbono e nitrogênio), fornecendo indicação mais precisa sobre a origem do alimento. A Tabela 2 sintetiza os trabalhos realizados com o uso de diferentes isótopos estáveis, para inferir acerca da origem do alimento, bem como o movimento migratório de diferentes grupos animais. É importante destacar que esta técnica subsidia também o entendimento de teias alimentares terrestres, como é demonstrado através dos resultados obtidos com aves (Hobson e Wassenaar, 1997). Neste estudo, os autores, utilizando isótopos estáveis de deutério, traçaram a rota de pássaros migratórios.

#### Estimativa da taxa de *turnover*

A taxa de *turnover* pode ser calculada em função do tempo, sendo esta relação descrita através do modelo exponencial de Thompson (1953). Resumidamente, Hobson e Clark (1992) utilizaram a seguinte equação:

$$Y = a + be^{ct} \quad (1)$$

onde:

y =  $^{13}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}$  no tempo t;

a = o valor aproximado assintoticamente;

b = mudança total no valor isotópico depois da mudança da dieta;

e = base dos logaritmos naturais;

c = taxa de *turnover*;

t = o tempo decorrido desde que a dieta foi alterada.

Entretanto, esta expressão não considera o crescimento. A incorporação do crescimento na taxa de *turnover* foi feita por Fry e Arnold (1982), definindo o crescimento através do aumento relativo à biomassa:

$$W_r = \frac{W_f}{W_i} \quad (2)$$

onde:

$W_r$  = crescimento relativo;

$W_f$  = peso final depois da mudança da dieta;

$W_i$  = peso inicial antes da mudança da dieta.

Dessa forma, o crescimento é usado para estimar a taxa de *turnover*, através da equação 3:

$$Y = a + bx^c \quad (3)$$

Na equação 3, as variáveis são as mesmas da equação 1, com  $x = W_r$ .

Quando  $c = -1$ , o crescimento é inteiramente responsável pela mudança da composição isotópica. Quando  $c < -1$ , *turnover* metabólico ou troca dos tecidos está efetivamente ocorrendo e, quanto mais negativo for o valor de c, mais alta é a taxa de *turnover*. A mudança da dieta é refletida na composição isotópica dos tecidos, sendo atribuída ao estágio de desenvolvimento e ao crescimento do novo tecido, e não ao *turnover* metabólico existente nos tecidos.

A taxa de *turnover* é expressa tipicamente em termos de meia-vida. A meia-vida refere-se à quantidade de tempo requerida para que o sinal do isótopo estável do tecido do consumidor alcance o valor médio entre a dieta original observada e o que será verificado na nova dieta em equilíbrio, conforme demonstra a equação 4.

$$T = \ln(1 - \alpha/100)/P_2 \quad (4)$$

Onde:

T = é o tempo em dias;

$\alpha$  = % de *turnover* (no caso da meia vida  $\alpha = 50\%$ );

$P_2$  = Taxa de *turnover* para o tecido em questão.

Como mencionado anteriormente, as análises de fezes ou dos conteúdos estomacais das várias espécies de animais são freqüentemente utilizadas como indicativos da dieta. Entretanto estas metodologias têm sido substituídas ou mesmo combinadas às

técnicas de isótopos estáveis. Ultimamente, verifica-se o tecido animal ou fracionamento bioquímico para obter o valor isotópico, pois este valor é a integração do isótopo estável da dieta sobre um determinado período de tempo.

**Tabela 2.** Resumo dos isótopos estáveis mais usados para inferir a origem nutricional e movimentos migratórios, o correspondente gradiente isotópico ou discriminação presente na natureza

Elemento	Taxa de isótopo	Abundância natural (%)	Aplicação
Hidrogênio	$^2\text{H}/^1\text{H}$	$^1\text{H} = 99,985$ $^2\text{H} = 0,015$	Terrestre/água doce <i>versus</i> marinho Cadeia alimentar continental
Carbono	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$^{12}\text{C} = 98,89$ $^{13}\text{C} = 1,11$	Plantas $\text{C}_3$ <i>versus</i> $\text{C}_4$ Cadeia alimentar bêntica <i>versus</i> pelágica $\text{C}_3$ terrestre /água doce <i>versus</i> cadeia alimentar marinha e efeito climático no sinal de poluição pontual.
Nitrogênio	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$^{14}\text{N} = 99,633$ $^{15}\text{N} = 0,366$	Terrestre/água doce <i>versus</i> marinho Trófica/mudança da dieta nos fixadores de nitrogênio <i>versus</i> as plantas que usam nitrato <i>versus</i> alguns distúrbio no ecossistema terrestre
Oxigênio	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	$^{16}\text{O} = 99,759$ $^{17}\text{O} = 0,037$ $^{18}\text{O} = 0,204$	Cadeia alimentar terrestre <i>versus</i> marinha Cadeia alimentar bêntica <i>versus</i> pelágica
Enxofre	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	$^{32}\text{S} = 95,00$ $^{33}\text{S} = 0,760$ $^{34}\text{S} = 4,220$ $^{36}\text{S} = 0,014$	Terrestre <i>versus</i> cadeias alimentares marinha.
Estrôncio	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$^{86}\text{Sr} = 0,56$ $^{87}\text{Sr} = 9,86$ $^{87}\text{Sr} = 7,02$ $^{88}\text{Sr} = 82,56$	Variação no substrato geológico Terrestre <i>versus</i> cadeias alimentares marinha.

Fonte: Hobson (1999)

Utilizando ratos, com administração de óxido de trítio intraperitonealmente, Thompson (1953) analisou o período de retenção da atividade do trítio ( $^3\text{H}$ ) e estabeleceu em órgãos individuais e em tecidos a intervalos de tempo de até 281 dias.

A meia-vida biológica encontrada nos líquidos do corpo dos ratos foi de 3,3 dias, enquanto que nos órgãos e tecidos foi superior a 80 dias. Entretanto, neste último período, ocorreu, também, a síntese e a degradação dos tecidos que já haviam assimilado o trítio. Após a injeção de óxido de trítio, as altas concentrações foram registradas em tecidos considerados metabolicamente mais ativos, como fígado, intestino e sangue. Em contraste, os tecidos metabolicamente menos ativos, como o músculo, osso e gordura, demonstraram uma menor concentração de trítio. A diminuição na concentração de trítio nos órgãos e tecidos não é somente dada pelo *turnover* metabólico, mas também pela diluição, como resultado do crescimento (Thompson, 1953).

No experimento realizado com gerbil (*Meriones unguiculatus*) por Tieszen et al. (1983), o objetivo básico foi o de obter a taxa de *turnover* do carbono nos diferentes tecidos somáticos e estabelecer a relação entre o valor isotópico do alimento ingerido e do carbono tecidual. A primeira alimentação fornecida foi de milho ( $\text{C}_4$ ) com valor isotópico de carbono de -12,2% e a segunda dieta foi à base de trigo (planta  $\text{C}_3$ ), com o valor isotópico de carbono de -21,8%. A taxa na qual o carbono derivado da dieta de milho foi substituído pelo carbono da dieta de trigo muda de tecido para tecido, devido a uma variação na composição bioquímica específica (Tabela 3). Assim, a taxa de *turnover* do carbono, dada em meia-vida, foi mais rápida para o fígado (6,4 dias). Relativamente, a gordura teve curta meia-vida (15,6 dias). O músculo e cérebro tiveram valores similares de meia-vida, sendo estes de 27,6 e 28,2 dias, respectivamente. A taxa de *turnover* do carbono mais lenta foi encontrada para o pêlo, com meia-vida de 47,5 dias.

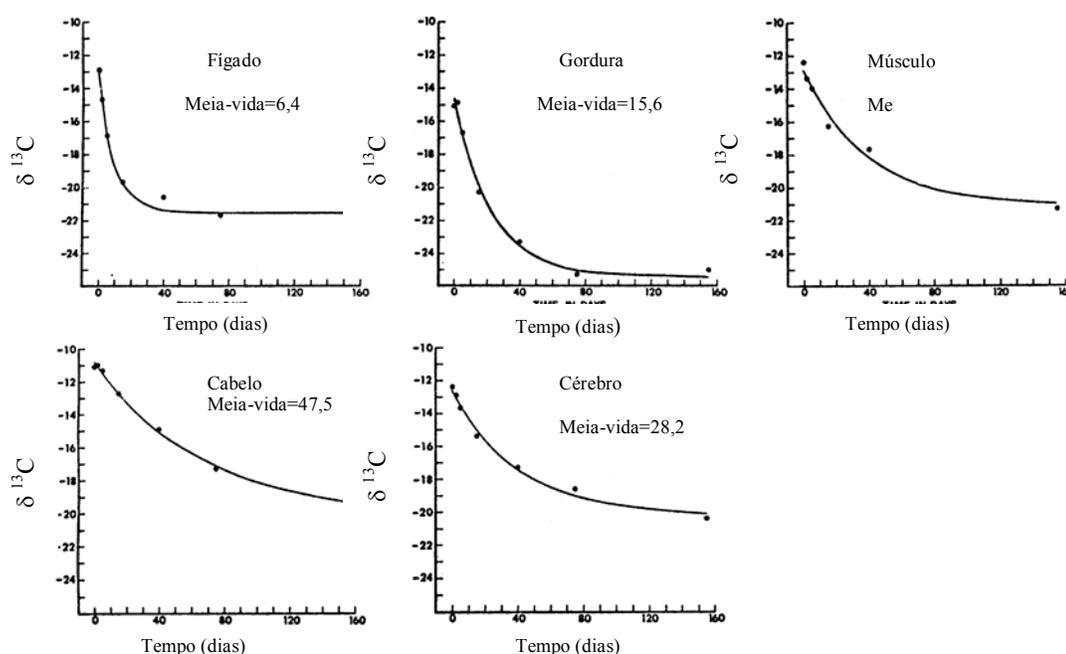
**Tabela 3.** Valores da meia-vida (em dias) para o isótopo estável de carbono em tecidos selecionados da espécie *Meriones unguiculatus*

Tecido	Músculo	Gordura	Cérebro	Fígado	Pêlo
Traçador	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$
Meia-vida (dias)	27,6	15,6	28,2	6,4	47,5

Fonte: Tieszen et al. (1983)

Os tecidos e componentes do corpo que têm alto nível de atividade metabólica, ou que possuem alta quantidade de gordura, assim como sangue e fígado de cobaias, apresentaram rápida taxa de *turnover* em relação aos tecidos menos ativos ou gordurosos, como, por exemplo, colágeno e pêlo (Figura 3), (Tieszen et al., 1983; Hobson e Clark, 1992). Desta forma, ambos os experimentos animais estudados e descritos acima, evidenciaram que a meia-vida aumenta à medida que obedece a seguinte seqüência dos tecidos analisados: fígado, gordura, músculo, cérebro e pêlo. Na Figura 3, foi utilizado o modelo exponencial no cálculo da taxa de *turnover* em função do tempo, uma vez que se utilizam intervalos de tempo na análise das alterações metabólicas.

As determinações da taxa de *turnover* nos tecidos de organismos aquáticos, usando isótopos estáveis, têm sido aplicadas tanto em ectotérmicos quanto em endotérmicos. Dentre estes autores, destacaram aqueles desenvolvidos com pós-larvas de camarão (Fry e Arnold 1982), peixes (Hesslein et al., 1993) e larvas de peixes (Herzka e Holt, 2000).



**Figura 3.** Composição dos isótopos estáveis de carbono nos diferentes tecidos de cobaia *versus* o tempo. Fonte: Tieszen *et al.* (1983)

Em experimentos realizados com pós-larva de camarão, *Penaeus aztecus*, Fry e Arnold (1982) analisaram a taxa de *turnover* durante seu crescimento, sendo calculada em função do peso ganho por unidade de tempo. Os autores observaram que o *turnover* das pós-larvas de camarão foi maior durante o período de maior crescimento. Já para os grandes animais, o crescimento é lento e o *turnover* deve estar mais relacionado com a manutenção do metabolismo do que com o crescimento.

A Tabela 4 apresenta os quatro experimentos realizados com pós-larva de camarão, submetidos a diferentes dietas.

Em estudos com larvas de poliquetas, Hentschel (1998) também usou o  $\delta^{13}\text{C}$  para verificar a mudança da dieta de quatro espécies de larvas benthicas durante sua ontogenia. O experimento mostrou que as larvas benthicas têm seu carbono assimilado das algas benthicas, enquanto os adultos têm o carbono do detrito, derivado das macroalgas. Dessa forma, estudos abordando a taxa de *turnover* não podem deixar de levar em consideração as exigências nutricionais específicas a cada fase de desenvolvimento do animal. Estas mudanças naturais da dieta podem conduzir a processos metabólicos distintos entre os tecidos de jovens e adultos de uma mesma espécie. Frequentemente estas mudanças ontogenéticas são discretas e coincidem com a metamorfose, mas pode ocorrer

uma mudança gradual de nicho durante o crescimento.

**Tabela 4.** A estimativa da meia-vida em quatro experimentos com pós-larva de camarão e suas respectivas dietas, traçado pelo  $\delta^{13}\text{C}$

Experimento	Dieta	Traçador	Meia-vida (dias)	Taxa de crescimento (dias)
A	Camarão	$\delta^{13}\text{C}$	10	11
B	Camarão	$\delta^{13}\text{C}$	19	23
C	Lula	$\delta^{13}\text{C}$	16	15
D	Camarão salgado	$\delta^{13}\text{C}$	18	8

Fonte: Fry e Arnold (1982)

Esta questão foi analisada por Hesslein *et al.* (1993), os quais observaram a mudança na composição isotópica de músculos e fígado de exemplares (*Coregonus nasus*) durante seu crescimento. Utilizando traçadores naturais de  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , os autores encontraram uma taxa de *turnover* de  $0,1 - 0,2\% \text{d}^{-1}$ , sendo similar para os três tipos de isótopos. Neste experimento, foi registrado crescimento rápido do peixe. A mudança na composição isotópica do enxofre, do carbono e do nitrogênio, em resposta ao novo alimento, foi determinada pela adição de novos tecidos, uma vez que os indivíduos jovens têm alto investimento em crescimento somático. Entretanto, nas menores taxas de crescimento (indivíduo adulto), a mudança de  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  foi relativamente mais lenta, chegando a períodos superiores a um ano para reposição isotópica da nova dieta.

Em contraste com Hesslein *et al.* (1993), Bosley *et al.* (no prelo) e Herzka e Holt (2000) obtiveram uma menor meia-vida. Bosley *et al.* (no prelo) observaram que a meia-vida para o tecido muscular de peixe *Pseudopleuronectes americanus*, em metamorfose, foi de 1 a 17 dias para o carbono, e de 2 a 19 dias para o nitrogênio. Dessa mesma forma, Herzka e Holt (2000) encontraram que a estimativa da meia-vida para larvas de peixe *Sciaenops ocellatus* foi de 1 a 2 dias. O efeito da temperatura sobre a taxa de *turnover* foi verificado por Bosley *et al.* (no prelo). Estes autores verificaram que a taxa de *turnover* de carbono e de nitrogênio em peixes jovens foi significativamente mais rápida a 18°C do que a 13°C. Dessa forma, fatores abióticos, como temperatura, afetam a taxa de ingestão, conseqüentemente, têm influência sobre a eficiência na conversão alimentar para o crescimento (Wootton, 1992).

### Considerações finais

A partir da análise dos trabalhos que estimaram a taxa de *turnover* em organismos terrestres e aquáticos, através da metodologia de isótopos estáveis, pode-se afirmar que fatores intrínsecos e extrínsecos influenciam a taxa de *turnover*. Entre os intrínsecos destacam-se o tipo de tecido e o estágio de desenvolvimento do animal. Estes fatores, por sua vez, podem ser controlados pelos fatores extrínsecos, como a temperatura. Torna-se evidente, entretanto, que mais estudos acerca da forma e da velocidade da conversão do alimento em tecidos são ainda necessários. A elucidação de tais processos não apenas auxiliarão na interpretação do papel funcional do organismo na ciclagem de nutrientes em ecossistemas naturais, mas também esclarecerão sua fisiologia alimentar necessária à evolução da aquicultura.

### Agradecimentos

Agradecemos ao Curso de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais e ao Nupélia pelo apoio logístico, a Milena Morimoto, pela elaboração do *abstract*.

### Referências

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. *et al.* Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. *Science*, Washington, DC, v. 234, p. 1256–1258, 1986.

BEAUDOIN, C.P. *et al.* Individual specialization and trophic adaptability of northern pike (*Esox lucius*): an isotope and dietary analysis. *Oecologia*, Berlin, v. 120, p. 386–396, 1999.

BENEDITO-CECÍLIO, E.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R. M. Variation in the carbon isotope composition of *Semaprochilodus insignis*, a detritivorous fish associated with oligotrophic and eutrophic Amazonian rivers. *J. Fish Biol.*, London, (no prelo).

BENEDITO-CECÍLIO, E. *et al.* Carbon sources of Amazonian fisheries. *Fish. Manag. Ecol.*, Oxford, v.7, p. 305–315, 2000.

DENIRO, M.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 42, p. 495–506, 1978.

DENIRO, M.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 42, p. 495–506, 1981.

FORSBERG, B.R. *et al.* Autotrophic Carbon Sources for Fish of the Central Amazon. *Ecology*, Washington, DC, v.74, p. 643–652, 1993.

FRY, B. Fish and shrimp migrations in the northern Gulf of Mexico analyzed using stable C, N, and S isotope ratios. *Fish Bull.*, Albotstow, v. 81, p. 789–801, 1983.

FRY, B. *et al.* Stable carbon isotope evidence for two sources of organic matter in coastal sediments: seagrasses and plankton. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 41, p. 1875–1877, 1977.

FRY, B. *et al.*  $\delta^{13}\text{C}$  food web analysis of a Texas sand dune community. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 42, p. 1299–1302, 1978.

FRY, B. *et al.* Sulfur uptake by salt grasses, mangroves and seagrasses in anaerobic sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 46, p. 1121–1124, 1982.

FRY, B. Food web structure on Georges bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnol. Oceanogr.*, Waco, v. 33, n. 5, p. 1182–1190, 1988.

FRY, B.; ARNOLD, C. Rapid  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *Oecologia*, Berlin, v. 54, p. 200–204, 1982.

FRY, B.; SHERR, E.B.  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contrib. Mar. Sci.*, Port Aransas, v. 27, p. 13–47, 1984.

HENTSCHERL, B.T. Intraspecific variations in  $\delta^{13}\text{C}$  indicate ontogenetic diet changes in deposit-feeding polychaetes. *Oecologia*, Berlin, v. 79, p. 1357–1370, 1998.

HERZKA, S.Z.; HOLT, G.J. Changes in isotopic composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, Ottawa, v.57, p. 137–147, 2000.

HESSLEIN, R.H. *et al.* Stable isotopes of sulfur, carbon and nitrogen as indicators of trophic level and fish migration in the lower Mackenzie River basin, Canada. *Can J Fish Aquat Sci.*, Ottawa, v.52, p. 2258–2265, 1991.

HESSLEIN, R.H. *et al.* Replacement of sulfur carbon and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by  $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ . *Can J Fish Aquat Sci.*, Ottawa, v.50, p. 2271–2276, 1993.

- HOBSON, K.A. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia*, Berlin, v. 120, p. 314-326, 1999.
- HOBSON, K.A.; CLARK, R.W. Assessing avian diets using stable isotopes. Turnover of carbon-13. *Condor*, Lawrence, v. 94, p. 181-188, 1992.
- HOBSON, K.A.; WASSENAAR, L.I. Linking breeding and wintering grounds of neotropical migrant songbirds using stable hydrogen isotopic analysis of feathers. *Oecologia*, Berlin, v. 109, p. 142-148, 1997.
- HOBSON, K.A.; WELCH, H.E. Determination of trophic relationships within a high arctic marine food web using  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Nordbueente, v. 84, p. 9-18, 1992.
- JENNINGS, S. et al. Spatial variation in the  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  stable isotope composition of plants, invertebrates and fishes on Mediterranean reefs: implications for the study of trophic pathways. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Nordbueente, v.146, p. 109-116, 1997.
- KOCH, P.L. et al. Tracing the diets of fossil animals using stable isotopes. In: LAJTHA, H.; MICHENER, R. H. (Ed.). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Oxford: Blackwell Scientific, 1994. Cap. 4, p. 63-92. (Methods in ecology).
- LEHNINGER, A.L. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier. cap. 13, 1990.
- LEITE, R. G. Alimentação e fontes autotróficas de energia das larvas de peixes no rio Solimões/Amazonas e suas áreas inundáveis. 2000. 118f. Tese (doutorado em Ciências Biológicas). Universidade do Amazonas. Manaus.
- MARTINELLI, L. A. et al. Utilização das variações naturais de  $\delta^{13}\text{C}$  no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos; princípios e perspectivas. *Acta Limnológica Brasiliensis*, Botucatu, SP, v.11, p. 859-882, 1988.
- MARTINELLI, L. A. et al.  $^{15}\text{N}$  natural abundance in plants of the Amazon river floodplain and potential atmospheric  $\text{N}_2$  fixation. *Oecologia*, Berlin, v. 90, p. 591-596, 1992.
- MICHENER, R. H.; SCHELL, D. M. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: LAJTHA, H.; MICHENER, R. H. (Ed.). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Oxford: Blackwell Scientific, 1994. Cap. 7, p. 138-157. (Methods in ecology).
- MINAGAWA, M.; WADA, E. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 48, p. 1135-1140, 1984.
- NELSON, C.S. et al. Potential use of oxygen and carbon isotopic composition of otoliths to identify migratory and non-migratory stocks of the New Zealand common smelt: a pilot study. *NZ J. Mar. Fresh. Res.*, Wellington, v.23, p. 337-344, 1989.
- PETERSON B.J.; HOWARTH, R.W. Sulfur, carbon and nitrogen isotopes used to trace the organic matter flow in the salt-marsh estuaries of Sapelo Island, Georgia. *Limnol. Oceanogr.*, Waco, v. 32 p. 1195-1213. 1987
- PETERSON, B.J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, Palo Alto, v.18, p. 293-320, 1987.
- SCHOENINGER, M.J.; DENIRO, M.J. Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Kidlington, v. 48, p. 625-639, 1984.
- SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two categories of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios for higher plants. *Plant Physiol.*, Rockville, v. 47, p. 380-384, 1971.
- THOMPSON, R.C. Studies of metabolic turnover with tritium as a tracer. II. Gross studies on the rat. *J. Biol. Chem.*, Bethesda, v. 200, p. 731-743, 1953.
- TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W. Stable isotopes in terrestrial ecosystem research. In: RUNDEL, P. W. et al. (Ed.). *Stable isotopes in ecological research*. New York: Springer, p. 167-195, 1988.
- TIESZEN, L.L. et al. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia*, Berlin, v. 57, p. 32-37, 1983.
- WOOTON, R.J. *Ecology of teleost fishes*. 1 ed., London: Chapman & Hall, p. 403, 1992.
- YOSHIOKA, T. et al. Analysis of lacustre food web with natural carbon and nitrogen isotope ratios. *Verh. Int. Verein. Limnol.*, Stuttgart, v. 23, p. 573-578, 1988.

Received on July 17, 2002.

Accepted on September 26, 2002.