

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA
BIOLÓGICA

**DIFERENÇAS INTRA E
INTERESPECÍFICAS NA ECOLOGIA
ESPACIAL E TRÓFICA DE TRÊS
ESPÉCIES DO GENÊRO *ARCTOCEPHALUS***

THAISE LIMA DE ALBERNAZ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oceanografia Biológica da Universidade Federal do Rio Grande-FURG, como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE.

Orientadora: Dra. Silvina Botta
Co-orientador: Dr. Eduardo R. Secchi

RIO GRANDE

Setembro 2015

“Um homem precisa viajar. Por sua conta, não por meio de histórias, imagens, livros ou TV. Precisa viajar por si, com seus olhos e pés, para entender o que é seu. Para um dia plantar as suas próprias árvores e dar-lhes valor. Conhecer o frio para desfrutar o calor. E o oposto. Sentir a distância e o desabrigo para estar bem sob o próprio teto. Um homem precisa viajar para lugares que não conhece para quebrar essa arrogância que nos faz ver o mundo como o imaginamos, e não simplesmente como é ou pode ser. Que nos faz professores e doutores do que não vimos, quando deveríamos ser alunos, e simplesmente ir ver”

Amyr Klink

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a todos que de alguma forma colaboraram para a realização desta dissertação e que me acompanharam nessa jornada.

Principalmente à minha orientadora Dr. Silvina Botta, que além de me orientar com extrema competência, é um exemplo e grande inspiração para muitas mulheres que exercem ou sonham em trabalhar com pesquisa. Muito obrigada por todo o aprendizado, paciência, dedicação, esforço e apoio.

Ao meu co-orientador Dr. Eduardo R. Secchi, outro exemplo não somente como pessoa, mas também como profissional. Obrigada por todos os ensinamentos, confiança e ajuda.

Aos meus pais Tania Maria Lima Albernaz e Renato Farias de Albernaz por todo amor, suporte e confiança.

Aos membros da banca, Dr. Damián G. Vales e Dr. Leandro Bugoni, por aceitarem o convite e pelas valiosas contribuições para essa dissertação.

À minha família (Tia Gessy, Tia Regina, Lívia, Rozane, Eliane, Martina, Ilana, Filipe, Elton, Lane e Arthur) por todo apoio e amor, sendo sempre meu alicerce.

Sempre serei grata ao Átilio Mazzoleni (*In memoriam*) e Lauro Barcellos, que juntos me ajudaram a dar os primeiros passos em direção aos meus sonhos, antes mesmo de entrar na faculdade.

Ao Leandro Pischke, de quem sempre tive apoio para realizar todos meus sonhos. Obrigada pela confiança, dedicação e amor.

À minha família Pischke, (Mônica, Olavo, Valéria, Olinda, Tati, Alexandre, Matheus e André, Bia, Ana, Gladis, Odair e Fernando), pelo amor incondicional que me faz cada vez mais acreditar no amor e nas pessoas.

À todos do Laboratório de Ecologia da Megafauna Marinha-ECOMEGA, muito obrigada por fazerem parte da minha vida durante toda a jornada acadêmica, obrigada pelo companheirismo, risadas, e conversas.

À equipe do CRAM, em especial ao Neneco quem me proporcionou toda a base de profissionalismo, o qual todos os dias aplico em meu trabalho e na minha vida, sou muito grata por todos os aprendizados.

Às companheiras na construção desta Dissertação (Elisa, Carol e Genyffer), obrigada pela amizade.

À minha super amiga Laís (Lalacita) companheira para qualquer indiada, obrigada pela amizade e companheirismo.

À minha amiga Carolina não tão simpática, mas uma boa pessoa (risadas!) obrigada pela bela amizade que construímos esses últimos anos.

À minha amiga/irmã Aryse (PÚ) por essa amizade linda, da qual sou muito grata, são nove anos cumplicidade, carinho e confiança.

À minha amigona Elisa (Eliset), minha companheira máster durante toda minha jornada no laboratório. Muito obrigada pela amizade, companheirismo e diversão!

Aos meus amigos do Projeto Baleia Franca, muito obrigada pelo apoio e amizade.

Ao meu super amigo Dudu, muito obrigada por toda ajuda na dissertação e na minha vida! Obrigada pelo companheirismo, e por nossa grande amizade.

Ao Laboratório de Limnologia, Ictiologia, Ecologia da Vegetação Costeira, e Histologia pelo empréstimo da balança para a pesagem das amostras isotópicas e lupa.

Por fim, não poderia deixar de agradecer ao meu suporte psicológico, muitas vezes me deixando mais sã e outras vezes mais louca, muito obrigada ao time de rúgbi Atlântico Sul.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	3
APRESENTAÇÃO	5
CAPÍTULO 1	6
Introdução geral	7
Hipóteses	20
OBJETIVOS	21
CAPÍTULO 2	22
Introdução	23
Material e Métodos	27
Resultados	31
Discussão	34
Conclusão	44
BIBLIOGRAFIA	54
ANEXO I	73
ANEXO II	80

RESUMO

Estudos a respeito de hábitos de forrageio de mamíferos marinhos são importantes para entender suas interações tróficas, além de identificar as posições que eles ocupam nas teias alimentares, contribuindo para o entendimento da estrutura trófica, do fluxo de energia e do funcionamento dos ecossistemas marinhos. Uma forma de evidenciar o nicho ecológico de um predador é através do nicho isotópico formado pelos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (eixo trófico) e de $\delta^{13}\text{C}$ (eixo espacial). Adicionalmente, ao analisar a composição isotópica de tecidos inertes com deposição cronologicamente ordenada de material (e.g. dentes) a variação temporal pode ser incorporada, obtendo-se assim uma visão mais abrangente do nicho ecológico. No presente trabalho uma abordagem isotópica foi utilizada para investigar as diferenças intra e interespecíficas na ecologia espacial e trófica de três espécies do gênero *Arctocephalus* que habitam latitudes distintas: subtropical (*A. australis*), subpolar (*A. tropicalis*) e polar (*A. gazella*). Os dentes caninos de 40 indivíduos encontrados mortos no litoral do Rio Grande do Sul (Brasil) foram utilizados. As idades foram estimadas através da contagem dos *Growth Layer Groups* (GLGs) na dentina. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ foram obtidos para cada GLG. A amplitude e sobreposição de nicho isotópico foram calculados por meio da ferramenta *SIBER* para cada sexo e cada grupo etário (juvenil, subadulto, adulto) das três espécies. Modelos aditivos generalizados (GAM) foram ajustados aos dados cronologicamente ordenados de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de machos e fêmeas das três espécies de lobos-marinhos, para verificar a variação ontogenética dos valores isotópicos. As três espécies apresentaram segregação no nicho espacial e trófico, resultado do forrageio nas diferentes latitudes ocupadas pelas três espécies. Machos e fêmeas de *A. australis* apresentaram segregação total no nicho, onde machos ocupam posições tróficas mais altas do que as fêmeas no δ -espaço. Por outro lado, *A. tropicalis* e *A. gazella* apresentaram sobreposição de nicho entre os sexos, porém os machos

apresentaram maior amplitude de valores de $\delta^{13}\text{C}$, sugerindo a utilização de uma maior área de forrageio que as fêmeas. Diferenças significativas foram encontradas entre os GLGs, demonstrando uma marcada variação ontogenética, principalmente nos primeiros anos de vida dessas espécies.

PALAVRAS CHAVE: isótopos estáveis, nicho isotópico, *Arctocephalus gazella*, *Arctocephalus tropicalis*, *Arctocephalus australis*, dieta, uso do hábitat, lobos-marinhos.

ABSTRACT

Studies on foraging habits of marine mammals are important to understand their trophic interactions and identify the positions they occupy in food webs, contributing to the understanding of the trophic structure, energy flow and functioning of marine ecosystems. One way to represent the ecological niche of a predator is through the isotopic niche, defined by the values of $\delta^{15}\text{N}$ (trophic axis) and $\delta^{13}\text{C}$ (spatial axis). In addition, when analyzing the isotopic composition of inert tissues formed by the deposition of chronologically ordered material (e.g. teeth) the temporal variation can be incorporated, thus obtaining a more comprehensive view of the ecological niche. In the present work an isotopic approach was used to investigate the intra- and interspecific differences in the spatial and trophic ecology of three species of the genus *Arctocephalus* inhabiting distinct latitudes: subtropical (*A. australis*), subantarctic (*A. tropicalis*) and polar (*A. gazella*). The canine teeth of 40 individuals found dead on the coast of Rio Grande do Sul (Brazil) were used. Ages were estimated by counting the Growth Layer Groups (GLGs) dentin. The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values were obtained for each GLG. The breadth and overlap of the isotopic niches were calculated through the SIBER tool for each gender and each age group (juvenile, subadult, adult) of the three species. Generalized additive models (GAM) were adjusted to chronological data of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of males and females of the three species of fur seals to investigate the ontogenetic variation of the isotopic values. The three species showed segregation in their isotopic niches both in the spatial and the trophic dimensions as a result of foraging at different latitudes. *A. australis* male and female showed total segregation in the niche where males occupy higher trophic positions than females in the δ -space. On the other hand, *A. tropicalis* and *A. gazella* showed niche overlap but the males showed higher amplitude of $\delta^{13}\text{C}$ values, suggesting the use of a

wider foraging area than females. Significant differences were found between the GLGs, showing a marked ontogenetic variation, especially in the early years of these species.

KEY WORDS: stable isotopes, isotopic niche, *Arctocephalus gazella*, *Arctocephalus tropicalis*, *Arctocephalus australis*, diet, habitat use, fur seal.

APRESENTAÇÃO

Entender a dieta e as relações tróficas nos predadores de níveis tróficos elevados é essencial para avaliar o seus papéis funcionais nas redes tróficas. Os pinípedes estão entre os maiores carnívoros dos ecossistemas marinhos, porém a ecologia trófica deste grupo ainda possui várias lacunas de conhecimento. Obter informação sobre o forrageio destes predadores marinhos é de notável dificuldade devido principalmente às amplas áreas percorridas durante os deslocamentos pós-reprodutivos geralmente para locais remotos de difícil acesso. Como consequência disto, a maior parte dos estudos sobre a ecologia trófica deste grupo foca sobre a alimentação durante a etapa reprodutiva quando os animais passam uma maior parte do tempo em terra, sendo escassos os conhecimentos sobre o forrageio durante o período não-reprodutivo. Desta forma, a análise de isótopos estáveis em tecidos de deposição contínua (e.g. dentes) permite a obtenção de dados longitudinais (i.e. ontogenéticos) sobre os padrões de forrageio destes predadores de uma forma mais abrangente. Assim, na presente Dissertação, as diferenças inter e intraespecíficas na dieta e no uso do hábitat de três espécies do gênero *Arctocephalus* (*A. australis*, *A. tropicalis* e *A. gazella*) foram abordadas por meio da análise de isótopos estáveis.

A Dissertação foi estruturada em 2 Capítulos e 2 Anexos. O primeiro Capítulo inclui uma Introdução geral onde são abordados os antecedentes e a justificativa deste trabalho, assim como as hipóteses e objetivos do mesmo. O Capítulo 2 é o manuscrito principal do trabalho, redigido no formato de artigo científico. As referências bibliográficas utilizadas nos dois Capítulos são apresentadas numa única lista. Uma descrição detalhada da metodologia utilizada durante a preparação das amostras é apresentada no Anexo I. Por último a lista completa e os dados biológicos dos espécimes utilizados neste estudo encontram-se no Anexo II.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

Estudos a respeito de hábitos de forrageio de mamíferos marinhos são importantes para entender suas interações tróficas e identificar as posições que eles ocupam nas teias alimentares, contribuindo para o entendimento da estrutura trófica, do fluxo de energia e do funcionamento dos ecossistemas marinhos (Barros e Clarke 2002). O comportamento de forrageio dos animais está limitado pelas adaptações morfológicas e fisiológicas para a alimentação (Bolnick et al. 2003). Porém, dentro destes limites, os animais apresentam uma ampla gama de comportamentos alimentares ajustando suas escolhas àquelas que minimizem o investimento energético maximizando a aquisição de energia (McArthur e Pianka 1966). O espectro de comportamentos tróficos que os organismos apresentarão depende principalmente de fatores extrínsecos tais como a distribuição, abundância e variação dos recursos e fatores intrínsecos como idade ou sexo. A forma em que estes últimos influenciam os padrões de comportamento trófico está associada com as diferentes capacidades de forrageio e demandas energéticas (Newsome et al. 2006; Weise et al. 2010).

Os pinípedes (Classe Mammalia, Ordem Carnivora) constituem um grupo monofilético que evoluiu a partir de carnívoros terrestres (Berta et al. 2006). Como parte desta ancestralidade terrestre, as espécies apresentam hábitos de vida semiaquáticos, onde a reprodução e, em algumas espécies, a muda de pelos, ocorre em substratos sólidos como terra ou gelo (Riedman 1990). Nestes substratos as fêmeas geralmente agrupam-se durante o período reprodutivo, e machos disputam território e fêmeas para formar seus haréns, o que teria derivado na seleção para machos de maior tamanho no curso da evolução do grupo (Cullen et. al. 2014). O dimorfismo sexual extremo encontrado nos pinípedes reflete-se em padrões de forrageio geralmente divergentes entre machos e

fêmeas, associado ao requerimento energético diferencial e às diferentes capacidades de dispersão, mergulho e captura de presas (e.g. Boyd et al. 1998; Weise et al. 2010; Kernaléguen et al. 2012). Associado à seleção por machos de maior tamanho, a maioria dos pinípedes apresentam um sistema de acasalamento do tipo poligínico (Berta et al. 2006). Este tipo de sistema resulta em estratégias de vida de vida distintas entre machos e fêmeas, incluindo a participação exclusiva da fêmea no cuidado dos filhotes, envolvendo tanto a amamentação como a proteção de predadores e de conspecificos (Bowen 1991). Este investimento diferencial tem como consequência a maior demanda energética enfrentada das fêmeas durante os períodos de gestação e amamentação, contribuindo também para as estratégias divergentes de forrageio entre os sexos.

Os otarídeos (Família Otariidae) reproduzem-se através da formação de haréns, onde machos reprodutores competem por territórios ou fêmeas. Neste grupo a estratégia de amamentação utilizada envolve um curto período pós-parto onde a fêmea amamenta o filhote continuamente, após o qual ela começa a realizar viagens de forrageio alternadas com períodos de amamentação em terra (Bowen et al. 2009). Dessa forma as fêmeas comportam-se como “*central place foragers*”, conceito em que predadores restringem suas viagens de forrageio para voltar a colônia reprodutiva (Orians e Pearson 1979).

Este tipo de estratégia de cuidado parental adotada pelas fêmeas de otarídeos é chamada de *income breeding*, onde o sucesso reprodutivo é dependente das condições ambientais no momento da reprodução, as quais devem ser favoráveis à aquisição de energia suficiente para enfrentar os custos da reprodução (Jonsson 1997). Assim as fêmeas destas espécies dependem do consumo de alimento suficiente para suportar sua própria demanda energética, além dos custos energéticos da produção de leite, extremamente rico em gorduras (Bowen et al. 2009). Por outro lado, os organismos que separam temporalmente as atividades de forrageio e amamentação são chamados de

capital breeders (Jonsson 1997). Fatores tais como abundância e disponibilidade do alimento, especialmente durante a época reprodutiva, determinam gradientes de variação entre uma e outra estratégia (Ferguson 2006; Stephens et al. 2014). Estes gradientes também se refletem nos diferentes tempos de amamentação apresentados pelos otarídeos, os quais variam de 4 meses a 3 anos (Bowen et al. 2009). Assim, fêmeas que amamentam por períodos mais curtos precisam investir mais tempo na alimentação a fim de suprir a demanda de produção de um leite energeticamente mais rico (Bailleul et al. 2005; Stephens et al. 2014). Por outro lado, períodos mais curtos de amamentação permitem que as fêmeas realizem uma maior dispersão para forrageio pós-reprodutivo, ao contrário daquelas que investem um tempo consideravelmente maior na lactação (Bailleul et al. 2005).

Além do marcado dimorfismo sexual os estágios de desenvolvimento também podem influenciar em distintos comportamentos de forrageio. No estágio juvenil os pinípedes começam a desenvolver hábitos de forrageio independentes na procura de alimentos sólidos (Newsome et al. 2006; Kernaléguen et al. 2012; Elorriaga-Verplancken et al. 2013). Quando jovens estes animais possuem menor habilidade para capturar presas, e acabam consumindo pequenas presas de mais fácil captura (Guinet et al. 2005; Verrier et al. 2011; Vales et al. 2015). Diferenças no tamanho durante o desenvolvimento também influenciam diretamente na taxa metabólica e, portanto, na capacidade de dispersão e mergulho (Burns 1999; Staniland 2005). Hanson et al. (2009) observou que machos de *A. gazella* tendem a forragear sobre presas maiores conforme a idade avança, fato que pode refletir mudanças ontogenéticas nas necessidades energéticas. No entanto, existem poucos estudos que exploram aspectos de forrageio entre classes etárias.

Os lobos-marinhos (*Arctocephalus* spp.)

O gênero *Arctocephalus* (das palavras gregas *arktos* e *kephale*, ou “cabeça de urso”) compreende oito espécies e quatro subespécies ocorrendo quase exclusivamente no Hemisfério Sul (apenas uma espécie é encontrada no Hemisfério Norte, *A. townsendi*) (Arnould 2009). As espécies estão distribuídas principalmente em latitudes tropicais e subtropicais com exceção de *A. gazella*, que possui suas principais colônias reprodutivas em regiões antárticas (Fig. 1). Esta ampla distribuição resulta em diferentes estratégias de forrageio intra e interespecíficas associadas às variadas condições ambientais encontradas (Bailleul et al. 2005).

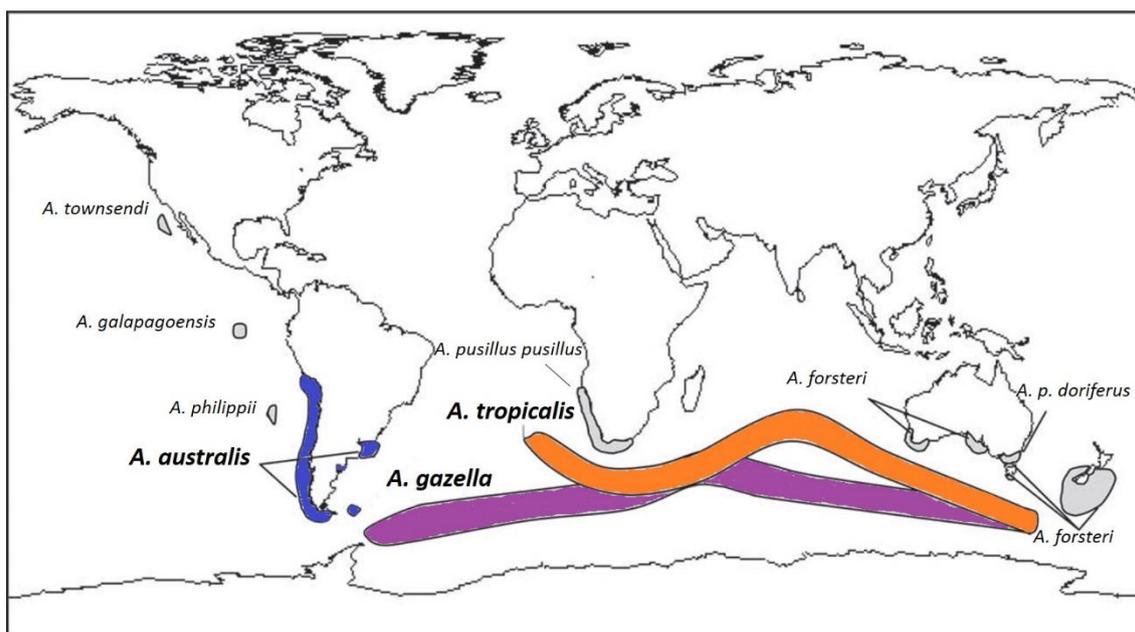


Figura 1. Distribuição das espécies de *Arctocephalus* spp. Em destaque, as distribuições de *A. australis* (azul), *A. tropicalis* (laranja) e *A. gazella* (roxo). Figura adaptada de Arnould (2009).

Arctocephalus australis, *A. tropicalis* e *A. gazella*, em particular, diferem nas suas distribuições, sendo a primeira principalmente subtropical, a segunda apresentando uma

distribuição ao norte da frente polar antártica e a última, como mencionado anteriormente, de distribuição antártica (Bastida et al. 2007). *Arctocephalus tropicalis* e *A. gazella* também ocorrem em simpatria, principalmente nas ilhas Macquarie, Crozet e Prince Edward (Arnould 2009).

Assim, o estudo comparado das estratégias de forrageio adotadas pelos membros destas espécies que habitam regiões oceanográficas diferentes é de especial interesse contribuindo com a elucidação dos seus papéis funcionais nos diferentes ecossistemas.

***Arctocephalus australis* (lobo-marinho sul-americano, South American Fur Seal)**

Arctocephalus australis (Fig. 2) possui uma ampla distribuição ao longo da América do Sul, desde o sul do Brasil na costa Atlântica até o norte do Peru, na costa Pacífica, possuindo colônias reprodutivas em ambas costas (Vaz-Ferreira 1982). A maior colônia reprodutiva da espécie fica localizada na Ilha de Lobos, no Uruguai, onde são encontrados mais de 150.000 indivíduos (Ximenez e Langguth 2002).

A espécie apresenta reprodução poligínica onde os machos competem por territórios e são capazes de manter até 14 fêmeas durante a temporada reprodutiva (Ximenez e Langguth 2002). Na colônia da Ilha de Lobos os machos começam deslocar-se rumo às colônias de reprodução em novembro e as fêmeas chegam em dezembro para dar à luz a uma única cria, estando prontas para copular apenas alguns dias depois do parto (Ponce-de-León e Pin 2006). O período de cuidado parental dura em torno de 12 meses, onde as fêmeas alternam viagens de forrageio com a amamentação do filhote (Vaz-Ferreira e Ponce-de-León 1987). Ao término do período reprodutivo uma parcela da população, composta basicamente por exemplares juvenis e por machos adultos, realizam movimentos de dispersão pós-reprodutiva, correspondendo porém à fase menos

conhecida do seu ciclo de vida, tanto em comportamento e duração como em distâncias percorridas (Bastida e Rodriguez 1990).



Figura 2. Lobo-marinho sul-americano (*Arctocephalus australis*) encontrado na praia do Cassino, Rio Grande do Sul, Brasil (foto: Rodrigo Moreira - NEMA).

Arctocephalus australis é considerada uma espécie generalista, alimentando-se longe da costa, onde preda principalmente pequenas presas pelágicas (Pinedo e Barros 1983; Naya et al. 2002; Oliveira et al. 2008; Franco-Trecu et al. 2012, 2014). Após o desmame os juvenis passariam a alimentar-se principalmente de lulas (Gerpe et al. 2009; Vales et al. 2015). Na idade adulta as presas principais da espécie incluem lulas oceânicas (i.e. *Illex argentinus*), anchoitas (*Engraulis anchoita*) e merluzas (*Merluccius hubbsi*) (Pinedo e Barros 1983; Naya et al. 2002; Oliveira et al. 2008; Franco-Trecu et al. 2012, 2013; Vales et al. 2015).

***Arctocephalus tropicalis* (lobo-marinho subantártico, SubAntarctic Fur Seal)**

Arctocephalus tropicalis (Fig. 3) possui ampla distribuição no Hemisfério Sul com as colônias reprodutivas localizadas em ilhas oceânicas situadas ao norte da Convergência Antártica (Wynen et al. 2000). Nas ilhas Prince Edward e Gough estão as maiores colônias da espécie (Bester 1987; Bester et al. 2003).



Figura 3. Lobo-marinho-subantártico (*Arctocephalus tropicalis*) encontrado na praia do Cassino, Rio Grande do Sul, Brasil (Foto: ECOMEGA).

A amamentação nesta espécie dura em torno de 10 meses (Beauplet et al. 2004). Durante a amamentação as fêmeas realizam longas viagens de forrageio durante as quais

se alimentam principalmente de peixes mictofídeos (Robinson et al. 2002; Beauplet et al. 2004). Devido ao longo período de cuidado dos filhotes as fêmeas não apresentam grandes variações dos locais de forrageio ao longo do ano (Kernaleguen et al. 2012) enquanto os machos tem a possibilidade de se dispersarem para locais mais distantes. Contudo, as informações sobre a dispersão e forrageio dos machos desta espécie são escassos.

Arctocephalus tropicalis é considerado oportunista e consomem principalmente presas pelágicas. Estudos tróficos realizados em áreas reprodutivas como na Ilha Marion (Klages e Bester 1998) e Ilha Gough (Bester e Laycock 1985) reportaram uma alimentação baseada principalmente em cefalópodes e peixes. No entanto, os *A. tropicalis* também podem preda crustáceos e pinguins (Condy 1981; McDonald 1991).

***Arctocephalus gazella* (lobo-marinho antártico, Antarctic Fur Seal)**

As colônias reprodutivas de *A. gazella* (Fig. 4) distribuem-se em ilhas ao norte e ao sul da Convergência Antártica perto da latitude 65° S, sendo que 96% da população concentra-se nas Ilhas Geórgia do Sul. Nas ilhas Macquarie (Goldsworthy 1999), Crozet (Guinet et al. 1994) e no arquipélago Prince Edward (Condy 1978), que ficam localizadas ao norte da Convergência Antártica, os *A. tropicalis* e *A. gazella* se reproduzem simpatricamente, compartilhando também espécies de presas semelhantes (Klages e Bester 1998; Robinson et al. 2002).



Figura 4. Exemplar macho do lobo-marinho-antártico, *Arctocephalus gazella*, na Ilha Elefante, Ilhas Shetland do Sul. (Foto: S. Botta).

A espécie apresenta um dos menores tempos de amamentação entre os otarídeos, com apenas 4 meses de duração (Payne 1978). Este curto tempo de cuidado parental permite liberar a fêmea da restrição espacial ao redor da colônia reprodutiva durante um período de tempo maior do que as fêmeas congêneres. Assim, fêmeas de *A. gazella* apresentam uma ampla dispersão pós-reprodutiva (Walters 2014; Arthur et al. 2015). Os machos também apresentam dispersões pós-reprodutivas que incluem forrageio tanto na região antártica, como na subantártica, além da zona subtropical (Cherel et al. 2009). Tanto machos quanto fêmeas parecem apresentar variações individuais no forrageio e fidelidade aos sítios de alimentação (Cherel et al. 2009; Arthur et al. 2015).

Na região da Convergência Antártica, diversos estudos demonstraram que o *A. gazella* preda sobre uma ampla gama de presas (principalmente peixes Mictofídeos e “krill” (*Euphausia superba*), variando segundo a disponibilidade de presas de cada região (Daneri et al. 1999; Makhado et al. 2008). Charbonnier et al. (2010) também observaram que, principalmente machos adultos de *A. gazella*, predam sobre pinguins. Essa espécie realiza mergulhos de forrageio curtos e rasos, principalmente à noite (Robinson et al 2002).

Metodologias de estudo sobre ecologia trófica: técnicas convencionais vs. análises de isótopos estáveis

Devido ao comportamento de forrageio em locais remotos, associado com a alimentação subaquática dos pinípedes, o estudo sobre a ecologia trófica deste grupo tem sido historicamente baseado em técnicas indiretas, como as análises de conteúdos estomacais e fecais (Naya et al. 2002; Makhado et al. 2013). Estas técnicas têm sido uma importante fonte de informação sobre a dieta de pinípedes e até hoje umas das principais ferramentas na identificação e quantificação das presas consumidas pelas diferentes espécies (Barros e Clarke 2002). Uma das principais limitações destas metodologias é que a avaliação dos itens alimentares neste tipo de amostra reflete a última refeição do animal, dependendo de uma extensa amostragem espaço-temporal para obter uma informação completa da sua alimentação (Dunshea et al. 2013). Por outro lado, dietas baseadas em forrageios em regiões oceânicas, distantes muitas vezes, são subestimadas devido à digestão e consequente ausência de itens reconhecíveis destas presas nos conteúdos e/ou fezes. Por último, particularmente a dieta estudada com base na identificação de itens alimentares em fezes, não permite avaliar diferenças entre sexos, estando enviesadas para aquele sexo que estiver mais representado numericamente no momento e no local onde as amostras foram coletadas.

Recentemente o uso mais difundido de técnicas de rastreamento remoto de indivíduos tem se tornado uma importante fonte de informação sobre os padrões de forrageio destes organismos (e.g. Bonadonna et al. 2000, 2001; Thompson et al. 2003). A técnica, porém, envolve procedimentos específicos de captura dos animais e instrumentação com equipamentos de alto custo monetário tornando a técnica muitas vezes inacessível tanto logística como financeiramente.

Neste contexto, a análise de isótopos estáveis (AIE) vem sendo cada vez mais utilizada para estudar a ecologia trófica e o uso do hábitat de pinípedes (e.g. Zenteno et al. 2015), assim como de outros componentes da megafauna marinha (e.g. Botta et al. 2012; Tilley et al. 2013; Mancini et al. 2014). A ideia central da utilização de isótopos estáveis em estudos de ecologia trófica baseia-se no fato de que as composições de isótopos de consumidores refletem as composições isotópicas das presas que estes consomem, porém apresentando composições isotópicas mais enriquecidas nos isótopos pesados em relação a suas fontes alimentares (DeNiro e Epstein 1978, 1981). Os isótopos estáveis mais comumente utilizados em estudos de ecologia trófica são os de carbono (^{13}C e ^{12}C) e nitrogênio (^{15}N e ^{14}N) expressos na notação δ em partes por mil (‰) ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) em relação a padrões internacionais (Peterson e Fry 1987). O enriquecimento de nitrogênio entre níveis tróficos varia, tipicamente, entre 2 e 5‰ (Peterson e Fry 1987), enquanto que, para carbono, varia entre 1 e 2‰ (DeNiro e Epstein 1978). Assim, em virtude da diferença no enriquecimento trófico apresentado pelos elementos, usualmente isótopos de nitrogênio são usados para estimar a posição trófica de um indivíduo em uma cadeia alimentar, enquanto que isótopos de carbono são usados como indicadores das fontes de produtores da base da rede trófica onde os predadores se alimentam (Peterson e Fry 1987; Graham et al. 2010).

Esta abordagem oferece, assim, informação sobre o alimento assimilado proporcionando

uma maneira indireta de estudar a composição da dieta e a área de forrageio típica dos organismos (McMahon et al. 2013). No ambiente marinho, gradientes costa-oceano de empobrecimento em ^{13}C e ^{15}N na base das cadeias tróficas (Hobson 1999), têm sido uma ferramenta útil para inferir áreas de forrageio, podendo inclusive diferenciar variações inter e intraespecíficas na ecologia trófica de predadores marinhos (Cherel et al. 2009; Riccialdelli et al. 2010). Adicionalmente, as redes tróficas oceânicas apresentam um empobrecimento em ^{13}C e enriquecimento em ^{15}N seguindo o gradiente latitudinal, desde regiões subtropicais até os polos (Rau et al. 1982; Cherel e Hobson 2007; McMahon et al. 2013). Já em ambientes neríticos, na Plataforma Patagônica existiria um empobrecimento latitudinal tanto em ^{13}C quanto ^{15}N (Lara et al. 2010). No entanto, na mesma região McMahon et al. (2013) mostra uma paisagem de ^{13}C relativamente homogênea. Estes padrões também vêm sendo de grande utilidade para evidenciar padrões de forrageio de diversos predadores marinhos (e.g. Burton e Koch 1999; Cherel et al. 2009; Kim et al. 2012; Pelletier et al. 2014).

Devido à variação no metabolismo e na taxa de renovação de diferentes tecidos, as informações sobre hábitos de forrageio podem ser determinadas para intervalos de tempo que vão desde alguns dias até anos (Kelly 2000). A análise de isótopos estáveis em tecidos considerados metabolicamente inertes, como a dentina, oferece informação de longo prazo ou ao longo de toda a vida do animal, uma vez que após ser sintetizado não é posteriormente remodelado (Mendes et al. 2007; Newsome et al. 2010). Por essa razão, a dentina é considerada como um tecido adequado para identificar tendências de longo prazo nos padrões alimentares ou para investigar mudanças significativas na estrutura da cadeia alimentar ao longo do tempo (Hobson e Sease 1998). No caso dos dentes de pinípedes, a deposição gradual de dentina ocorre ao longo de toda a vida do indivíduo, em grupos de camadas de crescimento (*Growth Layer Groups* ou GLGs, Perrin e Myrick 1980) que representam 1 ano de idade (Scheffer 1950; Laws 1952). Assim, a variação ontogenética na

ecologia trófica de um indivíduo, pode ser estudada através da composição de isótopos estáveis encontrada em cada GLG (Hobson e Sease 1998; Newsome et al. 2006; York et al. 2008; Elorriaga-Verplancken et al. 2013).

O conceito de nicho isotópico

A definição clássica de Hutchinson (1957) para nicho ecológico diz que trata-se de um espaço de n-dimensões, cada uma representando um fator ou recurso importante para o organismo. Os eixos podem ser resumidos a dois tipos principais: os bionômicos (que definem os recursos que os animais usam) e os cênicos (que representam o ambiente onde os animais vivem) (Hutchinson 1957). Espécies ecologicamente similares podem coexistir desde que elas particionem os recursos disponíveis e mantenham nichos ecológicos distintos. Esta separação de nichos pode envolver todas ou algumas das dimensões como, por exemplo, através de diferenças espaciais ou temporais no forrageio ou o uso de diferentes estratégias de alimentação (Schoener 1974; Wilson 2010).

Assim, o δ -espaço representado pelos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (o habitat de forrageio) e $\delta^{15}\text{N}$ (os recursos que consome) pode ser comparado com o espaço n-dimensional do nicho ecológico proposto por Hutchinson, onde os eixos isotópicos representam os eixos bionômicos e cênicos, respectivamente (Bearhop et al. 2004; Newsome et al. 2007). O nicho isotópico oferece desta forma uma opção indireta porém acessível de investigar nichos ecológicos de diferentes espécies. Por outro lado, a análise de isótopos estáveis em diferentes tipos de tecidos permite ainda adicionar um eixo temporal ao hipervolume do nicho trófico.

Neste contexto, a proposta deste trabalho é estudar as variações no nicho isotópico como representação do nicho ecológico de três espécies de *Arctocephalus* por meio da análise de dados isotópicos cronologicamente ordenados obtidos das camadas de

crescimento dos dentes. O desenvolvimento do estudo foi norteado pelas seguintes **hipóteses:**

(1) *Arctocephalus australis* apresenta um nicho isotópico distinto em comparação às duas espécies de distribuição mais austral;

(2) a amplitude de nicho isotópico é maior nos machos do que nas fêmeas das três espécies em virtude das estratégias de “*central place forager*” adotada pelas fêmeas durante o período de reprodução, que restringe a dispersão delas;

(3) as fêmeas das espécies com períodos de amamentação mais curtos (i.e. *A. gazella*) têm nichos isotópicos mais amplos quando comparados àquelas que têm um tempo mais prolongado de amamentação (i.e. *A. tropicalis* e *A. australis*).

(4) o nicho isotópico dos indivíduos machos desmamados de diferentes classes etárias (i.e. juvenis, subadultos, adultos) tem sobreposição apenas entre os machos subadultos e adultos, sendo diferentes daqueles dos indivíduos juvenis.

OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo determinar as diferenças intra e interespecíficas na ecologia trófica de três espécies do gênero *Arctocephalus*.

Objetivos Específicos

- Identificar os padrões de uso das áreas de forrageio de três espécies de *Arctocephalus*;
- avaliar diferenças nos nichos tróficos de machos e fêmeas de cada uma das três espécies;
- relacionar a amplitude de nicho trófico das fêmeas de cada espécie com as diferentes estratégias de lactação adotadas;
- avaliar se há variação ontogenética no forrageio entre as classes etárias de cada sexo;

CAPÍTULO 2

Variação intra e interespecífica de longo prazo na ecologia espacial e trófica de três espécies do gênero *Arctocephalus*

Thaise L. de Albernaz, Eduardo R. Secchi, Larissa Rosa

de Oliveira, Silvana Botta

INTRODUÇÃO

Estudos a respeito de hábitos de forrageio de mamíferos marinhos são importantes para entender suas interações tróficas, distribuição e abundância (Barros e Clarke 2002). Devido ao nível trófico elevado que a maioria dos componentes deste grupo ocupa, conhecer a forma que utilizam os recursos contribui ainda para o entendimento da estrutura trófica, fluxo de energia e funcionamento dos ecossistemas marinhos (Barros e Clarke 2002). A variação no uso dos recursos ocorre principalmente ao longo de dimensões espaciais, tróficas e temporais (Hutchinson 1957; Schoener 1974). Porém, o ambiente de difícil acesso que os mamíferos marinhos utilizam dificulta a obtenção de informações básicas para entender a sua ecologia trófica.

O conceito de nicho ecológico como um hipervolume de n-dimensões foi proposto por Hutchinson (1957) como uma forma de entender de que forma os organismos utilizam os recursos. Para definir o nicho três dimensões principais são utilizadas: espacial, trófica e temporal (Schoener 1974). Variações nestes três componentes podem ser encontradas dentro das espécies de acordo com o ambiente em que vivem, a disponibilidade e distribuição espaço-temporal dos recursos e fatores intrínsecos como a idade e o sexo. No

caso dos predadores marinhos, a dificuldade de acesso ao habitats remotos que eles ocupam limita a possibilidade de estudo sobre os aspectos principais da sua ecologia. Desta forma, informações que permitam uma visão abrangente das principais dimensões que compõem o seus nichos ecológicos assim como das interações tróficas que permitam entender a estruturação das comunidades em que eles se inserem são geralmente escassas.

Uma forma alternativa de investigar as dimensões espacial, trófica e temporal do nicho ecológico é através de técnicas complementares como a análise de isótopos estáveis (AIE), principalmente de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) (e.g. Franco-Trecu et al. 2014; Mancini et al. 2014). Os valores isotópicos encontrados num predador são resultado da mistura da composição isotópica das presas consumidas e assimiladas (DeNiro e Epstein 1978, 1981). Porém, os predadores são tipicamente enriquecidos em ^{15}N em relação as suas presas (DeNiro e Epstein 1981) enquanto que o incremento em ^{13}C entre níveis tróficos é mínimo (DeNiro e Epstein 1978). Desta forma, os valores isotópicos encontrados nos tecidos dos consumidores podem ser utilizados para estimar a posição trófica que eles ocupam ($\delta^{15}\text{N}$) e o habitat de forrageio ($\delta^{13}\text{C}$). No ambiente marinho, gradientes costa-oceano de empobrecimento em ^{13}C e ^{15}N na base das cadeias tróficas foram comprovados em diversas regiões (France 1995; Hobson 1999). Além disso, um empobrecimento em ^{13}C e enriquecimento em ^{15}N seguindo o gradiente latitudinal, desde regiões subtropicais até os polos caracterizam a base das redes tróficas (Rau et al. 1982; Cherel e Hobson 2007; McMahon et al. 2013). Já em ambientes neríticos, na Plataforma Patagônica existiria um empobrecimento latitudinal tanto em ^{13}C quanto ^{15}N (Lara et al. 2010). No entanto, na mesma região McMahon et al. (2013) mostra uma paisagem de ^{13}C relativamente homogênea. Estes gradientes definem paisagens isotópicas (*isoscares*, Graham et al. 2010) que são úteis para inferir áreas de forrageio de predadores marinhos (e.g. Ceriani et al. 2014). Neste contexto, algumas dimensões do nicho ecológico de um

predador podem ser definidas por meio dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (i.e. componente trófico) e de $\delta^{13}\text{C}$ (componente espacial) (Bearhop et al. 2004; Layman et al. 2007; Newsome et al. 2007). Este nicho isotópico pode ser representado num espaço multivariado formando um δ -espaço, com valores isotópicos como eixos. Adicionalmente, o componente temporal também pode ser incorporado à definição de nicho por meio da análise isotópica de tecidos que integrem diferentes períodos de tempo (i.e. tecidos com diferente taxa de renovação, Kelly 2000). Os tecidos metabolicamente inertes (e.g. vibrissas, dentes) e de crescimento contínuo, especificamente, oferecem ainda a vantagem de proporcionar informações cronologicamente ordenadas sobre o forrageio do indivíduo (Cherel et al. 2007; Hanson et al. 2009).

Os lobos-marinhos do gênero *Arctocephalus* ocorrem quase exclusivamente no Hemisfério Sul, com as espécies distribuídas principalmente em latitudes tropicais e subtropicais, à exceção de *A. gazella*, que possui suas principais colônias reprodutivas em regiões antárticas (Arnould 2009). Esta ampla distribuição resulta em diferentes estratégias de forrageio interespecíficas associadas às variadas condições ambientais encontradas (Bailleul et al. 2005). Neste grupo, e nos otarídeos em geral, o marcado dimorfismo sexual associado ao sistema de acasalamento poligínico (Berta et al. 2006), somado à estratégia de lactação utilizada pelas fêmeas, onde viagens de forrageio são intercaladas com o aleitamento dos filhotes (*income breeding*, Jonsson 1997) resulta em diferentes estratégias de forrageio adotadas por machos e fêmeas. O maior tamanho corporal dos machos garante uma maior capacidade de dispersão e mergulho (Halsey et al. 2006; Weise et al. 2010), o que permite evitar ou minimizar a competição intraespecífica por recursos com as fêmeas, que ficam restritas às áreas de forrageio próximas às colônias reprodutivas enquanto cuidam do filhote (Burns 1999; Staniland 2005). Por outro lado, o gradual desenvolvimento das diferentes estratégias de forrageio após o desmame, é evidenciado através de diferenças

nos recursos utilizados, principalmente entre juvenis e subadultos/adultos (Vales et al. 2015).

Dentro destes padrões gerais, diferenças intra e interespecíficas nas estratégias de forrageio podem ser encontradas em relação ao ambiente que os indivíduos ocupam. Diferentes períodos de duração do aleitamento materno, por exemplo, podem ser encontrados entre as diferentes espécies de lobos-marinhos (Arnould 2009). Estas diferenças estão associadas ao ambiente que elas habitam (Ferguson 2006; Stephens et al. 2014). Assim, espécies que habitam regiões de alta produtividade, porém com grandes variações sazonais, apresentam um aleitamento intensivo e curto (e.g. *A. gazella*), quando comparado com aquelas de ambientes menos variáveis, com recursos menos limitados temporalmente (e.g. *A. australis*) (Jonsson 1997; Stephens et al. 2014). Desta forma, as fêmeas apresentam uma variação considerável nas estratégias de forrageio associada ao tempo em que devem permanecer restritas à colônia de reprodução.

Neste contexto, o presente trabalho procurou investigar as variações inter e intraespecíficas nos componentes espacial, trófico e temporal do nicho ecológico de três espécies de lobos-marinhos cujas distribuições características incluem ambientes que vão desde regiões subtropicais (*A. australis* ou South American Fur Seal - SAFS) até ambientes subpolares (*A. tropicalis* ou Subantarctic Fur Seal - SFS) e polares (*A. gazella* ou Antarctic Fur Seal - AFS). As dimensões do nicho ecológico foram investigadas através da AIE de dentes caninos de indivíduos das três espécies. A vantagem de se usar este tipo de estrutura provem da deposição gradual de dentina que ocorre ao longo de toda a vida do indivíduo, em grupos anuais de camadas de crescimento (*Growth Layer Groups* ou GLGs, Perrin e Myrick 1980). Esta característica permitiu a obtenção de dados isotópicos longitudinais (i.e. cronologicamente ordenados) dos componentes trófico ($\delta^{15}\text{N}$) e espacial ($\delta^{13}\text{C}$) do nicho isotópico (Hobson e Sease 1998; Newsome et al. 2006; Hanson et al.

2009), permitindo a investigação das variações ontogenéticas na ecologia trófica destes animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e coleta de material

O material analisado foi obtido de exemplares de SAFS, SFA e AFS, encontrados mortos durante monitoramentos sistemáticos de praia realizados entre os anos de 1984 e 2009. Os monitoramentos ocorreram entre 29°52'S e 33°44'S, na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. Um dente canino superior de cada exemplar foi selecionado para o estudo. No total, 40 exemplares foram utilizados, sendo 22 desses de SAFS (10 machos e 12 fêmeas), 8 de SFA (6 machos e 2 fêmeas) e 10 de AFS (4 machos e 6 fêmeas) (ver lista completa no Anexo II).

Estimativa de idade

A estimativa das idades dos animais coletados foi realizada através da contagem dos grupos de camadas de crescimento (GLGs, *Growth Layer Groups*, Perrin e Myrick 1980) na dentina, adaptando a técnica proposta por Schultz (1996). O GLG é uma unidade contável, constituída por grupos de camadas de crescimento seguindo um padrão semelhante de repetição. Cada GLG é composto por uma camada escura e outra translúcida, depositadas anualmente na dentina e no cimento em pinípedes (Scheffer 1950; Laws 1952). Um dente canino superior de cada indivíduo foi seccionado longitudinalmente por meio de uma serra metalográfica de baixa rotação, obtendo-se duas metades simétricas com a finalidade de expor os GLGs. A superfície exposta foi polida com lixas d'água de diferentes granulações. Posteriormente, a superfície polida foi descalcificada em ácido fórmico 25%, por aproximadamente 1 h, para se obter um

contraste mais acentuado entre os GLGs. Após a descalcificação, o dente foi lavado em água corrente por 12 h e secado. A leitura das idades foi realizada com o auxílio de uma lupa binocular de (8 a 40 X) de magnitude. O número de GLGs foi contado em dois momentos por dois observadores independentes. Imagens de cada secção de dente, com os GLGs expostos, foram capturadas por uma máquina fotográfica digital acoplada a um microscópio estereoscópico com aumento de 10 X. Cada GLG foi considerado como representativo de um ano de vida do animal (e.g. Payne 1978; Crespo et al. 1994; Bester 1995).

Análise de isótopos estáveis

Para a determinação da composição de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, foi obtida de cada GLG do mesmo dente utilizado para a estimativa de idade, uma porção de pó de dentina por meio de uma micro broca de 300 micras acoplada a um ferramenta abrasiva rotativa (micro retifica Dremel[®] 4000) (Fig. 1). A primeira camada de pó obtida do material da superfície externa do dente, a qual sofreu acidificação com ácido fórmico, não foi utilizada a fim de evitar qualquer interferência no resultado isotópico. A dentina foi perfurada a uma profundidade inferior a 500 micras para minimizar a contaminação por outros GLGs. Amostras de dentina foram coletadas somente onde os GLGs apresentaram largura suficiente para a perfuração. Assim, amostras não foram coletadas das camadas de crescimento que representam os últimos anos de vida do animal, por serem muito estreitas. O pó resultante foi acidificado por defumação em dissecador com ácido clorídrico (HCl) a 30% para eliminar o carbono inorgânico. Em seguida, foi seco em estufa a 60°C e, aproximadamente 1 mg de cada amostra, foi armazenado em cápsulas de prata para análise em um espectrômetro de massa de razão isotópica, acoplado a um analisador de elementos. As amostras de dentina não sofreram extração lipídica para a análise, pois apresentaram

valores de C:N compatíveis com níveis livres de lipídios (i.e. C:N < 3,5, Post et al. 2007). As razões isotópicas de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) encontradas na dentina das espécies foram expressas pela notação delta (δ) em partes por mil (‰) dos padrões internacionais: V PDB (*Viena Peedee Belemnite Limestone*) para Carbono e ar atmosférico para Nitrogênio, segundo: $\delta X = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1]$, onde a notação δ representa as razões isotópicas de ^{13}C ou ^{15}N em cada indivíduo, X representa o isótopo analisado ^{13}C ou ^{15}N , R_{amostra} e o $R_{\text{padrão}}$ padrão são razões $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ na composição da amostra e padrão respectivamente. A precisão analítica, com base no desvio padrão de réplicas do padrão do laboratório (*Acetalinide*), foi $\leq 0,1\%$ para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$.

Para a classificação etária, os GLGs foram agrupados em 4 categorias: filhotes, juvenis, sub-adultos e adultos. Os GLGs correspondentes ao primeiro ano de vida foram considerados como representativos da categoria filhote. O restante dos GLGs foram considerados como pertencentes às categorias juvenil (antes da maturidade sexual) ou adulto (após a maturidade sexual). Nos machos considerou-se ainda a categoria sub-adulto, agrupando aqueles GLGs correspondentes ao período em que os indivíduos sexualmente maduros porém não reprodutivamente ativos. Dessa forma, as fêmeas de SAFS foram consideradas juvenis entre o segundo e terceiro GLG e adultas a partir do quarto GLG. Os machos foram consideradas juvenis entre o segundo e quinto GLG, sub-adultos do sexto ao oitavo GLG e, adultos, a partir do nono GLG (e.g. Vaz-Ferreira e Ponce-de-León 1987; Batallés et al. 1990). Para SFS fêmeas, foram consideradas juvenis entre o segundo e o quarto GLG e adultas a partir do quinto GLG. Os machos estão no estágio juvenil do segundo ao quarto GLG, sub-adultos do quinto ao oitavo GLG e adultos a partir do nono GLG (Bester 1990; Dabin et al. 2004). Nos AFS, as fêmeas foram consideradas juvenis entre o segundo e o terceiro GLG, e adultas a partir do quarto GLG.

Os machos foram considerados juvenis entre o segundo e quarto GLG, sub-adultos entre o quinto e o oitavo GLG, e adultos a partir do nono GLG (Payne 1977, 1979) (Tabela 1).

Análise dos dados

Testes paramétricos (*t* de Student, ANOVA) e/ou seus correspondentes não paramétricos (Teste *U* de Mann Whitney, Kruskal Wallis H) foram utilizados para verificar se havia diferenças nas composições isotópicas entre espécies, sexos e classes de desenvolvimento, adotando-se um nível de significância de $p < 0,05$. Para analisar as amplitudes de nicho isotópico e as possíveis sobreposições tróficas, foi utilizada a ferramenta *SIBER* (*Stable Isotope Bayesian Ellipses in R*; Jackson et al. 2011). No *SIBER* o nicho isotópico é definido como uma elipse (δ -espaço) com valores isotópicos como eixos (Newsome et al. 2007). Dessa forma a área estimada de sobreposição das elipses foi calculada entre as espécies, os sexos de cada espécie, os sexos de todas as espécies e entre as classes etárias de machos e fêmeas, separadamente. Os dados utilizados para a construção das elipses das espécies separadas por sexo, não incluem os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do primeiro ano de vida dos indivíduos em análise. A área das elipses, utilizada para inferir o tamanho do nicho isotópico, foi ajustada para um número pequeno de amostras (SEAc, *Standard Ellipse Area*).

Modelos aditivos generalizados (GAM) (Zuur et al. 2009) foram ajustados aos dados dos perfis de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em cada idade, de cada sexo, das três espécies de lobos-marinhos, para verificar de que forma os valores isotópicos de carbono e nitrogênio comportam-se ao longo da vida de fêmeas e machos dos lobos-marinhos. O modelo foi estruturado utilizando a distribuição Gaussiana, função de ligação identidade e curvas suavizadas (*Thin plate regression splines*) como funções de suavização. Nesta análise, foi

utilizado um GAM simples, sendo a idade a única variável explanatória. Os modelos foram ajustados no ambiente estatístico R (R Core Team 2013) utilizando o pacote *mgcv* (Wood 2006).

RESULTADOS

Variação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em *Arctocephalus* spp.

A extração da dentina a partir dos GLGs em caninos de lobos-marinhos coletados no sul do Brasil, gerou 392 amostras (Tabela 2). Para as comparações estatísticas foi utilizado apenas o valor isotópico médio de todos os GLGs, exceto o primeiro, de cada indivíduo. Os valores isotópicos médios encontrados na dentina dos indivíduos analisados das três espécies diferiram entre si tanto no $\delta^{13}\text{C}$ ($H = 31,12$ $p < 0,001$, e $p < 0,05$ para todas as comparações múltiplas) quanto no $\delta^{15}\text{N}$ ($H = 31,23$ $p < 0,001$). Não houve diferenças significativas nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre machos e fêmeas de SAFS ($U = 43,5$ $p = 0,270$). No entanto, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ foram significativamente maiores nos machos ($t = 6,42$, $gl = 20$, $p < 0,001$). Não houve diferença significativa nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (SFS: $U = 9$, $p = 0,310$ e AFS: $t = 0,9$, $gl = 08$, $p = 0,380$) ou $\delta^{15}\text{N}$ (SFS: $t = 0,7$, $gl = 06$ $p = 0,470$ e AFS: $t = 0,20$, $gl = 08$, $p = 0,846$) entre os sexos dos indivíduos de SFS e AFS (Tabela 3, Fig. 2).

As elipses das três espécies encontraram-se completamente segregadas no δ -espaço. Ainda, uma total segregação de nicho isotópico foi observada nas elipses geradas para machos e fêmeas de SAFS. No entanto, machos e fêmeas de SFS e AFS, tiveram uma sobreposição parcial (30% e 21%, respectivamente) nos seus nichos isotópicos. Cabe mencionar que a elipse dos machos de AFS foi construída com base nos valores isotópicos

de GLGs juvenis, já a amostra contava-se com apenas um macho adulto (11 anos de idade) (Fig. 3).

Variação ontogenética nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

SAFS. Foram encontradas diferenças significativas entre as classes etárias para ambos os isótopos estáveis, tanto em machos ($\delta^{13}\text{C}$: $H = 10,55$, $p = 0,010$ e $\delta^{15}\text{N}$: $H = 34,69$, $p < 0,001$) como em fêmeas ($\delta^{13}\text{C}$: $F = 8,52$, $p < 0,001$ e $\delta^{15}\text{N}$: $H = 25,18$ $p < 0,001$) (Fig. 4). Os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ foram 3,13‰ mais elevados na primeira GLG (filhotes) do que na segunda GLG (segundo ano de vida). Os juvenis tiveram sobreposição com sub-adultos (16,7%) e adultos (6,1%); e os sub-adultos tiveram 30,2% de sobreposição com os adultos. Já fêmeas juvenis apresentaram sobreposição com os adultos (18,5%) (Fig. 5). Os GAMs demonstraram um aumento gradual de $\delta^{13}\text{C}$ em machos e fêmeas de SAFS com o avanço da idade, tendendo à estabilização nos últimos anos de vida (Fig. 6) Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos machos, por outro lado, apresentaram uma diminuição brusca logo após o primeiro ano de vida, seguida de um aumento gradativo a partir do terceiro ano, atingindo, no oitavo GLG, os valores do primeiro ano de vida. As oscilações de $\delta^{15}\text{N}$ nos primeiros anos de vida das fêmeas de SAFS comportaram-se de forma semelhante aos machos. No entanto, a partir do terceiro ano de vida, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ tendem a diminuir gradativamente até os nove anos, quando voltam a aumentar (Fig. 7).

SFS. Houve diferenças significativas nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ entre as classes etárias em machos ($\delta^{13}\text{C}$: $H = 15,72$, $p = 0,001$ e $\delta^{15}\text{N}$: $F = 31,71$, $p < 0,001$) e fêmeas ($\delta^{13}\text{C}$: $H = 9,64$, $p = <0,050$ e $\delta^{15}\text{N}$: $F=11,74$, $p < 0,001$) (Fig. 4). O valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ dos filhotes foi 2,91‰ mais elevado do que os valores médios do segundo ano de vida da categoria

juvenil. As elipses geradas para cada classe etária de machos revelaram uma sobreposição de juvenis com sub-adultos (37,7%) e adultos (18,7%). Estas duas últimas categorias apresentaram uma sobreposição de nicho isotópico de 17,7% entre si. Em fêmeas, as elipses de juvenis e adultas tiveram uma sobreposição de 14% (Fig. 5). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ apresentaram oscilações ontogenéticas, sendo bastante baixos no primeiro ano, alcançando subitamente um pico entre o segundo e o terceiro ano de vida, diminuindo até o quinto ano de vida, onde retoma um aumento gradual (Fig. 6). A curva suavizada de $\delta^{15}\text{N}$ dos machos iniciou com altos valores no primeiro ano de vida do animal, seguido de uma queda brusca até o terceiro ano de vida, quando volta a aumentar (Fig. 7). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ em fêmeas começaram baixos, similar aos machos, chegando a um pico no terceiro ano de vida, a partir do qual diminuiu gradativamente (Fig. 6). Os valores iniciais de $\delta^{15}\text{N}$ foram elevados, seguidos de uma queda entre o segundo e o terceiro GLG, e um pico entre o quarto e o quinto GLG, quando decaem gradativamente. No entanto, é importante salientar que as análises das fêmeas foram baseadas em apenas dois indivíduos (Fig. 7).

AFS. Foram encontradas diferenças significativas nos valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ ($H = 9,03$; $p = 0,010$), mas não entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ ($H = 3,70$; $p = 0,153$) entre as diferentes categorias etárias das fêmeas. Não houve diferenças significativas entre os filhotes e juvenis nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ($U = 10$ $p = 0,240$) e $\delta^{15}\text{N}$ ($t = -0,86$, $gl = 11$ $p = 0,40$) em machos. Diferenças nos valores isotópicos não puderam ser testadas entre todas as classes etárias de machos de AFS devido ao insuficiente número de amostras para as categorias sub-adulto e adulto (Fig. 4). O valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ em filhotes foi 1,79‰ mais elevado do que em indivíduos com dois anos de vida. A elipse dos machos juvenis não teve sobreposição com aquelas geradas para as GLGs correspondentes às fases sub-adulta e adulta do único macho adulto da amostra (Fig. 5). Quanto às fêmeas, houve sobreposição

entre as elipses de juvenis e adultas (31,7%). Nos GAMS, valores de $\delta^{13}\text{C}$ de machos de AFS apresentaram um aumento gradativo conforme o desenvolvimento do animal, porém voltando a lembrar que os valores das GLGs sub-adultas e adultas pertencem apenas a um indivíduo. Em fêmeas, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ apresentaram um padrão crescente semelhante aos machos (Fig. 6). Os valores de $\delta^{15}\text{N}$, por outro lado, iniciaram com valores mais elevados de nitrogênio, com uma leve diminuição até os quatro anos de vida, quando iniciou-se um aumento gradual desses valores (Fig. 7).

DISCUSSÃO

A variação intra e interespecífica em valores de isotópicos de carbono e nitrogênio cronologicamente ordenados da dentina do dente canino de três espécies do gênero *Arctocephalus* revelou estratégias de forrageio contrastantes entre as espécies, as classes etárias e sexos.

A análise de isótopos estáveis em tecidos mineralizados, como osso ou dente é útil para avaliar o forrageio de longo prazo e o padrão de uso do habitat de predadores (Mendes et al 2007; Botta et al 2012; Vales et al 2013). A deposição cronologicamente ordenada de camadas de crescimento na dentina de dentes caninos em pinípedes também oferece a possibilidade de obter informações sobre forrageio ao longo da vida do animal (Newsome et al 2006; Authier et al 2012).

Segregação espacial no forrageio de *A. australis*, *A. tropicalis* e *A. gazella*

Visto que o empobrecimento em ^{13}C e enriquecimento em ^{15}N seguem um gradiente latitudinal, desde regiões subtropicais até os polos (Rau et al. 1982; Cherel e Hobson 2007; McMahon et al. 2013), diferenças isotópicas entre as espécies eram esperadas pois

SAFS habitam águas temperadas enquanto SFS e AFS habitam regiões subantártica e antárticas, respectivamente (Arnould 2009).

Apesar das populações uruguaias de SAFS se dispersam em toda a região oceânica do país, alcançando regiões muito distantes das áreas reprodutivas (e.g. Ponce-de-León e Pin 2006; Crespo et al. 2015), os valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados neste estudo, sugerem que os indivíduos amostrados não alcançam latitudes ocupadas por SFS e AFS. De acordo com Bastida e Rodriguez (1994) o registro de exemplares de SAFS na região de Mar del Plata na Argentina, estaria relacionado à dispersão pelágica pós-reprodutiva realizada por estas espécies em busca de alimento. Pinedo (1986) sugeriu que os animais encontrados na costa sul do Brasil nos meses de inverno também estariam forrageando. Evidências de estudos alimentares através de fezes e conteúdo estomacal (Naya et al. 2002; Szteren et al. 2004; Oliveira et al. 2008), assim como isótopos estáveis (Franco-Trecu et al. 2012; Vales et al. 2014) indicam que o SAFS provenientes de colônias uruguaias predam sobre espécies pelágicas que habitam principalmente a pluma do Rio da Prata (Uruguai) e áreas adjacentes. Estes estudos demonstram um limite na distribuição dos indivíduos provenientes destas colônias.

Embora SFS e AFS distribuam-se em colônias reprodutivas próximas umas das outras e, em algumas ilhas próximas à região da Frente Polar Antártica, ocorram em simpatria, e compartilhem espécies de presas (Bester e Klages 1998; Robinson et al. 2002), não observamos qualquer sobreposição nos nichos isotópicos de SFS e AFS. Nossos resultados sugerem que, provavelmente, os indivíduos de SFS que chegam à costa sul do Brasil são provenientes de populações que não compartilham as mesmas áreas de alimentação que os AFS. Isso corrobora com o estudo de Ferreira et al. (2008), que demonstrou que a maioria dos indivíduos de SFS encalhados no litoral sul do Brasil é proveniente da Ilha Gough, a maior colônia de reprodução e a mais próxima ao Brasil

(Bester 1987; Bester et al. 2003), onde somente esta espécie se reproduz. Por outro lado, os indivíduos de AFS analisados neste estudo são, provavelmente, provenientes de colônias localizadas ao sul da Convergência Antártica. Além das colônias situarem-se em latitudes mais altas, estudos de telemetria e isótopos estáveis constataram que os AFS deslocam-se para áreas de forrageio ainda mais ao norte, principalmente durante o período pós-reprodutivo (Boyd et al. 1998; Bonadonna et al. 2000, 2001; Cherel et al. 2009), podendo explorar até a plataforma continental Patagônica como área para forrageio (Croxall e Wood 2002).

Caso os indivíduos coletados de SFS e AFS compartilhassem colônias reprodutivas, esperar-se-ia que, ao menos as fêmeas, apresentassem alguma sobreposição nos valores de $\delta^{13}\text{C}$, como observado por Kernaléguen et al. (2012). Contudo, é possível que estas espécies ocorram em simpatria, mas apresentam segregação nas áreas de alimentação e nicho trófico para minimizar a competição interespecífica, como observado em outros estudos (e.g. Bailleul et al. 2005, Kernaléguen et al. 2015). Resultados similares foram encontrados para outras espécies simpátricas de pinípedes, como *A. australis* e *Otaria flavescens* (Franco-Trecu et al. 2014 e *Zalophus wollebaeki* e *Arctocephalus galapagoensis* (Páez-Rosas et al. 2012).

Mudanças ontogenéticas nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$

Lactação e desmame

Séries ontogenéticas de dados isotópicos em tecidos de deposição contínua e cronologicamente ordenada (i.e. dentes, ossos, vibrissas) vêm sendo amplamente utilizadas para investigar as estratégias de investimentos maternos em cetáceos (*Orcinus orca*, Newsome et al. 2009; *Delphinapterus leucas*, Matthews e Ferguson 2015) e

pinípedes (*Zalophus californianus*, Newsome et al. 2006; *Eumetopias jubatus*, York et al. 2008) incluindo espécies de *Arctocephalus* (*A. australis*, Vales et al. 2015; *A. gazella* e *A. tropicalis*, Cherel et al. 2009; Kernaléguen et al. 2012). Nas três espécies analisadas no presente estudo, o primeiro GLG apresentou altos valores de $\delta^{15}\text{N}$ e baixos valores de $\delta^{13}\text{C}$, principalmente em comparação com aqueles encontrados no segundo GLG. O primeiro GLG integra a informação nutricional do primeiro ano de vida do animal, durante o qual o animal alimenta-se exclusivamente do leite materno. O leite é sintetizado a partir do catabolismo de tecidos da mãe, resultando num sinal de $\delta^{15}\text{N}$ mais alto, o qual sugere um nível trófico acima da própria mãe (Hobson e Sease 1998; Newsome et al. 2006; Orr et al. 2011; Cherel et al. 2015). Da mesma forma, os baixos valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados no primeiro GLG das três espécies, estão associados ao carbono derivado principalmente de lipídios no leite, durante a amamentação. Os lipídios são tipicamente empobrecidos em ^{13}C , devido à incorporação preferencial de ^{12}C durante a sua síntese (DeNiro e Epstein 1977). Assim, uma parcela considerável do carbono presente no leite é utilizada para a síntese da dentina, especialmente durante períodos de crescimento rápido, no primeiro ano de vida (Newsome et al. 2006). Portanto, a diferença nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre o GLG que representa o primeiro ano de vida e aqueles da fase adultas das fêmeas está diretamente relacionada com o tempo de amamentação dos filhotes. No caso do $\delta^{13}\text{C}$, os valores médios encontrados no primeiro GLG foram em geral menores do que aqueles encontrados nas fêmeas adultas. Porém, esta diferença foi mínima e não significativa em muitos dos casos (0,7‰ e 0,4‰, 1,1‰ e 0‰, 2,1‰ e 0,3‰ para filhotes machos e fêmeas de SAFS, SFS e AFS, respectivamente). De acordo com Cherel et al. (2015) a diferença de $\delta^{13}\text{C}$ entre mãe e filhote na maioria dos casos é nula, uma vez que para a síntese de tecidos o filhote utilizaria apenas a parcela proteica do leite. Porém, neste e em outros estudos (e.g. Hobson et al. 2004; Hanson et al. 2009; Wolf et al. 2015),

sugere-se que exista uma parcela de incorporação de lipídios do leite na síntese do dente pois, em alguns casos, houve diferenças entre os valores da mãe e do filhote.

Embora os valores de $\delta^{15}\text{N}$ do primeiro GLG foram significativamente mais altos do que a média dos valores dos GLGs da classe adulta das fêmeas, esta diferença variou entre as espécies, sendo maior nos SAFS (3,1‰ entre fêmea adulta-filhote macho e 2,1‰ entre fêmea adulta-filhote fêmea), seguida dos SFS (~2,6‰ entre fêmea adulta-filhote de ambos os sexos) e AFS (~1,2‰ entre fêmea adulta-filhote de ambos os sexos). Tais diferenças podem refletir distintas estratégias de cuidado parental entre as espécies, quanto à intensidade e tempo de amamentação. Os filhotes de SAFS são amamentados por até um ano (Vaz-Ferreira e Ponce-de-León 1987) enquanto os filhotes de SFS dependem do leite materno por cerca de dez meses (Beauplet et al. 2004). O AFS é a espécie com o menor tempo de lactação, apenas quatro meses (Payne 1978). A composição isotópica do primeiro GLG, em SAFS, corresponderia exclusivamente à ingestão do leite materno, enquanto em SFS e, especialmente, AFS o sinal representaria uma mistura da contribuição do leite e de alimentos sólidos, após um período de jejum com duração desconhecida. Assim, a menor diferença nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre filhotes e fêmeas adultas de AFS deve-se a uma maior contribuição relativa do sinal proveniente de uma alimentação pós-desmame (e.g. Newsome et al. 2006). McCafferty et al. (1998) demonstraram que filhotes de AFS desenvolvem habilidades de mergulho em uma idade precoce e são capazes de explorar presas similares às fêmeas adultas.

Adicionalmente, os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ em filhotes machos foram maiores do que nas fêmeas de SAFS, indicando que possivelmente diferenças associadas ao marcado dimorfismo sexual nos otarídeos já são observadas nos primeiros meses de vida do animal, ao menos nesta espécie. Nos filhotes de SFS e AFS os valores médios dos machos foram maiores do que os das fêmeas, porém não significativos, talvez em decorrência do

menor tamanho amostral nestas espécies. Trivers e Willard (1973) afirmaram que pequenas diferenças na condição corporal terão efeitos desproporcionalmente maiores no sucesso reprodutivo dos machos do que nas fêmeas. Geralmente em mamíferos poligâmicos, apenas uma pequena parcela de machos irão conseguir manter um harém, enquanto que praticamente todas as fêmeas serão copuladas e gerarão uma cria. Ou seja, fêmeas em boas condições físicas investiriam mais em filhotes machos do que fêmeas (Trivers e Willard 1973). Por exemplo, em cervos-comuns (*Cervus elaphus*) foi comprovado que as fêmeas dominantes, melhor alimentadas, geram mais filhotes machos (Clutton-Brock et al. 1986). Fêmeas de *A. fosteri*, que tiveram filhotes machos, realizaram viagens de alimentação mais demoradas que aquelas com filhotes fêmeas, sugerindo um investimento maternal diferencial de acordo com o sexo do filhote (Goldsworthy 2006). Outra hipótese seria que os filhotes machos poderiam mamar com mais frequência que as fêmeas, para sustentar maiores exigências energéticas, proporcional ao maior tamanho (Ono e Boness 1996). Um crescimento mais rápido nos filhotes machos comparado com as fêmeas durante o período de cuidado parental e uma taxa de perda de peso maior na fêmeas, durante o período de jejum foram reportados para filhotes de SFS e AFS (Doidge et al. 1986; Guinet et al. 2001). Este maior investimento nos filhotes machos poderia se traduzir num prolongamento do período de aleitamento quando comparado com as fêmeas. O desmame mais cedo e a gradual incorporação de alimento sólido ainda no primeiro ano nos filhotes fêmeas, poderia ser a causa do menor valor de $\delta^{15}\text{N}$ encontrado nestas últimas.

Estratégias de forrageio na fase juvenil

Uma queda acentuada nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ e um aumento nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ ocorre entre o primeiro e o segundo ano de vida das três espécies, sendo a primeira mais marcante nos SAFS e SFS. Esta diferença entre os sinais isotópicos indica claramente o desmame e incorporação de uma dieta sólida isotopicamente distinta. No caso dos AFS, a transição é consideravelmente menos acentuada devido à mencionada incorporação de alimentos sólidos ainda durante o primeiro ano de vida, como consequência de um curto período de amamentação na espécie. No estágio juvenil os lobos marinhos começam a desenvolver hábitos de forrageio independentes na procura de alimentos sólidos (Newsome et al. 2006; Kernaléguen et al. 2012). Os juvenis recém-desmamados, com menor habilidade para capturar presas, provavelmente consomem espécies forrageadoras do ambiente epipelágico, de mais fácil captura e de menores níveis tróficos (e.g. Guinet et al. 2005; Verrier et al. 2011; Vales et al. 2015). Gerpe et al. (2009) observaram que a dieta de juvenis de SAFS recém desmamados é composta por uma alta proporção de lulas, presas de menor posição trófica do que a maioria dos peixes predados por esta espécie (Franco-Trecu et al. 2012), explicando os baixos valores de $\delta^{15}\text{N}$ encontrados no estágio juvenil. Outro fator que pode reduzir os valores isotópicos de nitrogênio em juvenis é a sua alta taxa de crescimento, quando comparadas com os adultos. Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos juvenis podem sofrer a influência do crescimento sobre os fatores de discriminação trófica. A massa corporal dos machos jovens praticamente triplica quando esses chegam à idade adulta (Lunn e Arnould 1997), o que exigiria uma utilização direta das proteínas ingeridas para a síntese de tecido em períodos de crescimento, e consequentemente diminuição nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (i.e baixos fatores de discriminação trófica) (Martínez del Rio et al. 2009; Newsome et al. 2009).

Após os baixos valores de $\delta^{15}\text{N}$ no segundo GLG, observa-se um rápido aumento desses valores, os quais alcançam um pico no quarto GLG em machos e fêmeas de SAFS e SFS. Este aumento pode estar relacionado ao período de aprendizagem das técnicas de forrageio e maior capacidade de deslocamento e mergulho (Verrier et al. 2011), que os permitem capturar presas de maior nível trófico.

No caso dos SAFS os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados na fase juvenil são similares aos da fase adulta, e empobrecidos em ^{13}C quando comparados com típicos forrageadores costeiros da região (i.e. $\sim -11\%$ em dentina de botos, *T. truncatus*, Botta et al. 2012). Desta forma, a espécie apresentaria um forrageio pelágico ao longo da sua ontogenia, aumentando o nível trófico das suas presas na fase adulta (Vales et al. 2015). Warren et al. (2006) acompanharam cinco filhotes machos e fêmeas de AFS após o desmame, com transmissores satelitais, e observaram um deslocamento progressivo para as mesmas áreas de forrageio dos adultos em regiões oceânicas no inverno.

Transição para a vida adulta: o forrageio dos machos subadultos

O progressivo aumento nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ demonstra uma tendência para uma alimentação em níveis tróficos mais elevados durante a transição dos machos subadultos à fase adulta. Uma vez que os subadultos ainda não atingiram o tamanho dos adultos (Lima e Paez 1995; Dabin et al. 2004; Borella et al. 2013), este fator assim como o nível de experiência na captura de presas podem ter sido decisivos na influência das características tróficas dos sub-adultos. Hanson et al. (2009) observaram, a partir de dados de isótopos estáveis, que machos de AFS tendem a forragear sob presas de maior nível trófico conforme a idade avança, fato que pode refletir mudanças ontogenéticas nas necessidades energéticas. Vales et al. (2015), porém, reportaram uma composição de

presas similar entre estas duas categorias etárias a partir da análise isotópica de vibrissas e ossos de indivíduos de SAFS da costa patagônica, na Argentina. Elorriaga-Verplancken et al. (2013) também encontraram valores de $\delta^{15}\text{N}$ similares entre sub-adultos e adultos em *Zalophus californianus*. Assim, um aumento gradual do tamanho das presas pode ser a explicação mais provável para o aumento progressivo observado nos valores de $\delta^{15}\text{N}$. Por outro lado, capacitados por um maior tamanho e peso, os adultos teriam uma maior facilidade de forragear e consumir uma proporção maior de presas associadas ao fundo, as quais possuem valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente maiores quando comparadas com presas de hábitos pelágicos (Bugoni et al. 2010). No entanto, para confirmar esta hipótese os resultados de $\delta^{13}\text{C}$ também apresentariam diferenças significativas uma vez que, organismos associados ao fundo possuem valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais enriquecidos em relação aos pelágicos (Drago et al. 2009). Os poucos estudos que exploram classes etárias como os sub-adultos, dificultam uma melhor compreensão das características tróficas e de forrageio nesta fase transitória.

Ecologia alimentar na fase adulta: influência do dimorfismo sexual na variação intraespecífica

O nicho isotópico das três espécies de *Arctocephalus* apresentou diferenças nos padrões relacionados ao sexo. Em SAFS observou-se uma segregação trófica total. Os maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos machos sugerem que estariam ocupando uma posição trófica significativamente mais alta do que as fêmeas, apesar do componente espacial (i.e. valores de $\delta^{13}\text{C}$) ser similar. A segregação intraespecífica espacial e trófica é comum dentre os pinípedes para reduzir a competição por recursos com as fêmeas, que ficam restritas às áreas de forrageio próximas às colônias reprodutivas enquanto cuidam dos filhotes (Burns

1999; Staniland 2005). Porém, Franco-Trecu et al. (2014) ao analisar o nicho isotópico de machos e fêmeas de SAFS no Uruguai encontraram um alto grau de sobreposição entre os sexos, contrastando com os resultados deste estudo. No sul do Brasil, os encalhes de SAFS são fortemente enviesados para indivíduos juvenis e machos adultos, enquanto os encalhes de fêmeas adultas são mais raros (Pinedo 1986; Oliveira 1999). Assim, os machos adultos utilizados neste estudo poderiam ser parte de uma parcela da população que teria como estratégia de forrageio predominante o deslocamento pós-reprodutivo para as costas do Rio Grande do Sul, alimentando-se de presas com valores de $\delta^{15}\text{N}$ mais altos ou de presas similares, porém com elevados valores de $\delta^{15}\text{N}$ devidos a diferenças na base das redes tróficas entre os locais. Diversos estudos reportaram valores isotópicos das presas principais de SAFS coletadas no sul do Brasil (Vales et al. 2014) e no Uruguai (Franco-Trecu et al. 2012), a partir dos quais pode-se comprovar um valor isotópico relativamente mais enriquecidos em ^{15}N nas primeiras. Isto sustentaria uma segunda hipótese para explicar os maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos machos que postula um forrageio em regiões isotopicamente distintas entre os machos e fêmeas analisados no presente estudo.

No caso das espécies subantártica e antártica houve uma sobreposição nos nichos isotópicos entre os sexos, apesar de uma maior amplitude nos valores isotópicos de carbono em machos, indicando uma maior dispersão espacial ou uma maior amplitude de forrageio dos indivíduos deste sexo. No entanto, é necessária cautela ao interpretar esses resultados já que os nichos isotópicos das fêmeas de SFS e machos de AFS foram evidenciados com base em amostras de reduzidas. No entanto, os resultados relatados por Kernaléguen et al. (2012) também sugerem que os machos de SFS e AFS podem ser capazes de explorar áreas mais amplas após o período de reprodução. A maior massa corporal apresentada pelos machos otarídeos lhes confere vantagens metabólicas que

permitem maior capacidade de dispersão e mergulho (Campagna et al. 2001), ampliando as possibilidades de estratégias de forrageio para reduzir a competencia intersexual (Stewart 1997;. Boyd et al 1998). Em contraste, as fêmeas adultas são restritas a habitats próximos às colônias reprodutivas ao longo do ano devido a cuidados parentais (Boyd et al 1998; Beck et al 2007), especialmente em fêmeas de SFS que têm um longo período de lactação (Arnould 2009) .

CONCLUSÃO

Este foi o primeiro estudo a avaliar de forma comparativa a variação sexual e ontogenética em SAFS, SFS e AFS, através da análise de isótopos estáveis em camadas de crescimento nos dentes. A resolução anual aportada pela amostragem cronologicamente ordenada da dentina dos GLGs permitiu a obtenção de informações em longo prazo e em nível individual das espécies, possibilitando registrar características ecológicas da vida dos animais desde o nascimento até a morte. Além disso, a metodologia empregada permitiu investigar a variação no nicho ecológico, integrando três dimensões: espacial, trófica e temporal, avaliando assim, o papel de três espécies como predadores de níveis tróficos elevados no ecossistema. A continuidade de estudos de longo prazo com os isótopos estáveis pode se tornar uma ferramenta poderosa para investigar possíveis mudanças interanuais no nicho ecológico e sua relação com anomalias climáticas e mudanças ambientais. No entanto, recomendam-se análises integradas de telemetria por satélite, conteúdo estomacal e análise isotópica das potenciais presas para aprofundar o conhecimento sobre a partilha de recursos, utilização das fontes de nutrientes e exploração espacial em fina escala entre as categorias de idade e sexo analisadas neste estudo.

TABELAS

Tabela 1. Categorias etárias de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS).

SAFS			SFS			AFS		
Categorias	GLG		Categoria	GLG		Categoria	GLG	
	Macho	Fêmea		Macho	Fêmea		Macho	Fêmea
Filhotes	≤ 1	≤ 1	Filhotes	≤ 1	≤ 1	Filhotes	≤ 1	≤ 1
Juvenis	2 - 5	2 - 3	Juvenis	2 - 4	2 - 4	Juvenis	2 - 4	2 - 3
Subadultos	6 - 8	-	Subadultos	5 - 8	-	Subadultos	5 - 8	-
Adultos	≥ 9	≥ 4	Adultos	≥ 9	≥ 5	Adultos	≥ 9	≥ 4

Tabela 2. Valores médios (\pm DP) de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ coletados na dentina das espécies de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS). O número total de amostras coletadas dos GLGs (*Growth Layer Groups*) analisados, e idades mínimas e máximas contabilizadas para cada espécie estão indicados.

Espécies	n	Número de GLGs	Idades (anos)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
				Média \pm DP	Média \pm DP
SAFS	22	224	7 a 12	$-12,5 \pm 0,4$	$18,0 \pm 1,4$
SFS	08	93	8 a 13	$-14,7 \pm 1,6$	$13,7 \pm 0,5$
AFS	10	75	1 a 11	$-17,1 \pm 1,5$	$11,0 \pm 1,3$

Tabela 3. Valores médios (\pm DP) de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ na dentina de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS) coletados no sul do Brasil. Os valores foram separados por sexo e por classe etária (F = filhotes, J = juvenis, SA= subadultos e A = adultos).

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)				$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
	Número de GLGs	Média \pm DP	Média \pm DP	Média \pm DP	Média \pm DP	Média \pm DP
SAFS	107	117	-12,6 \pm 0,4	-12,5 \pm 0,4	19,2 \pm 0,8	17,0 \pm 0,7
F	10	12	-13,1 \pm 0,5	-12,0 \pm 0,4	19,7 \pm 1,0	18,7 \pm 1,0
J	40	24	-12,6 \pm 0,5	-12,6 \pm 0,6	18,0 \pm 1,4	16,1 \pm 1,7
SA	30	-	-12,6 \pm 0,5	-	19,0 \pm 0,8	-
A	27	81	-12,5 \pm 0,4	-12,4 \pm 0,4	19,8 \pm 1,0	16,6 \pm 1,1
SFS	72	21	-14,8 \pm 1,9	-14,4 \pm 0,0	13,8 \pm 0,5	14,8 \pm 2,0
F	6	2	-15,5 \pm 0,5	-14,4 \pm 1,0	16,0 \pm 0,3	15,9 \pm 0,1
J	18	6	-14,4 \pm 0,7	-13,6 \pm 0,4	13,2 \pm 0,8	13,3 \pm 0,7
SA	24	-	-14,6 \pm 0,7	-	13,2 \pm 0,6	-
A	24	13	-14,2 \pm 0,4	-14,4 \pm 0,2	13,8 \pm 0,6	13,3 \pm 0,7
AFS	21	54	-17,7 \pm 2,0	-16,8 \pm 1,2	11,1 \pm 1,7	10,9 \pm 1,1
F	4	6	-18,7 \pm 1,7	-16,9 \pm 1,1	12,6 \pm 2,0	12,3 \pm 0,6
J	9	12	-17,7 \pm 2,1	-17,4 \pm 1,3	11,1 \pm 1,4	10,5 \pm 1,1
SA	4	-	-15,5 \pm 0,3	-	13,0 \pm 0,2	-
A	4	36	-15,7 \pm 0,2	-16,6 \pm 1,4	13,5 \pm 0,3	11,2 \pm 1,2

FIGURAS



Figura 1. Dente canino superior seccionado pertencente a um *Arctocephalus australis*, com os grupos de camadas de crescimento evidenciados na metade superior do dente. Na metade inferior é possível identificar as perfurações pela micro retifica.

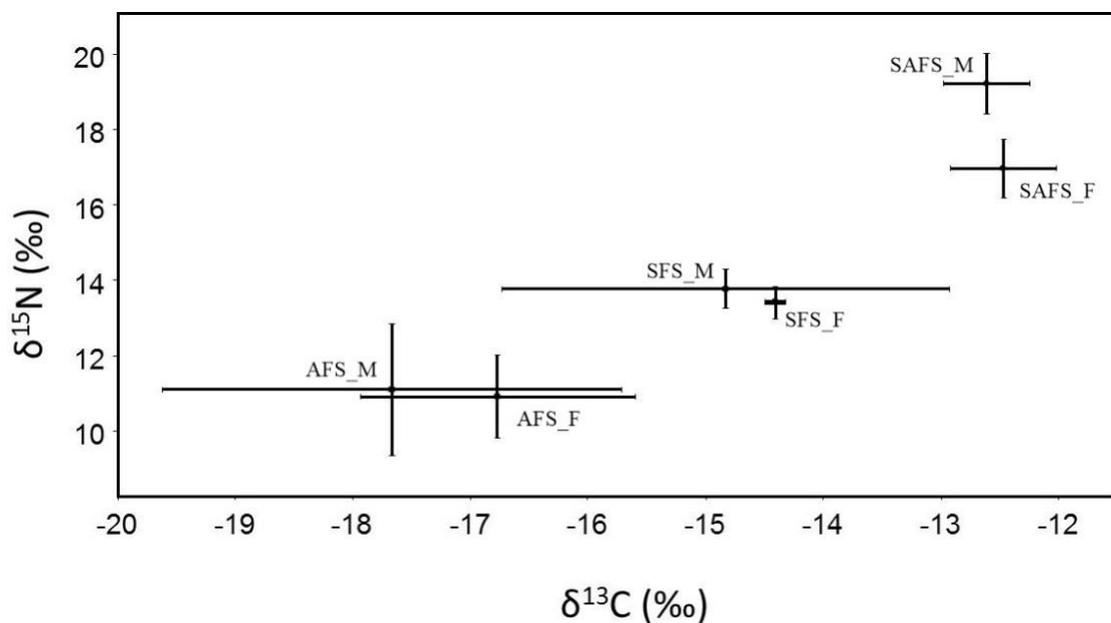


Figura 2. Média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ coletados de ambos os sexos das diferentes espécies de *Arctocephalus* (*Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS), encontradas encalhadas na costa sul do Brasil. As barras de erros representam o desvio padrão.

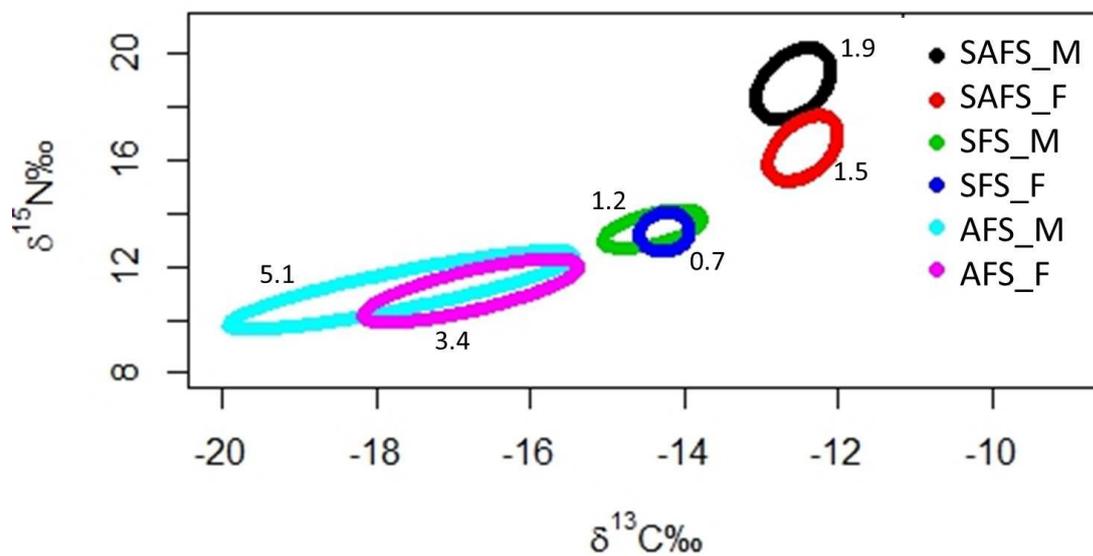


Figura 3. Padrões de elipses isotópicas representam as variações de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em amostras de dentina de fêmeas (F) e machos (M) para cada espécie de lobo-marinho: *Arctocephalus australis* (SAFS), *A. tropicalis* (SFS) and *A. gazella* (AFS). Os valores das áreas das elipses padrão indicados foram ajustados para um número pequeno de amostras (SEAc).

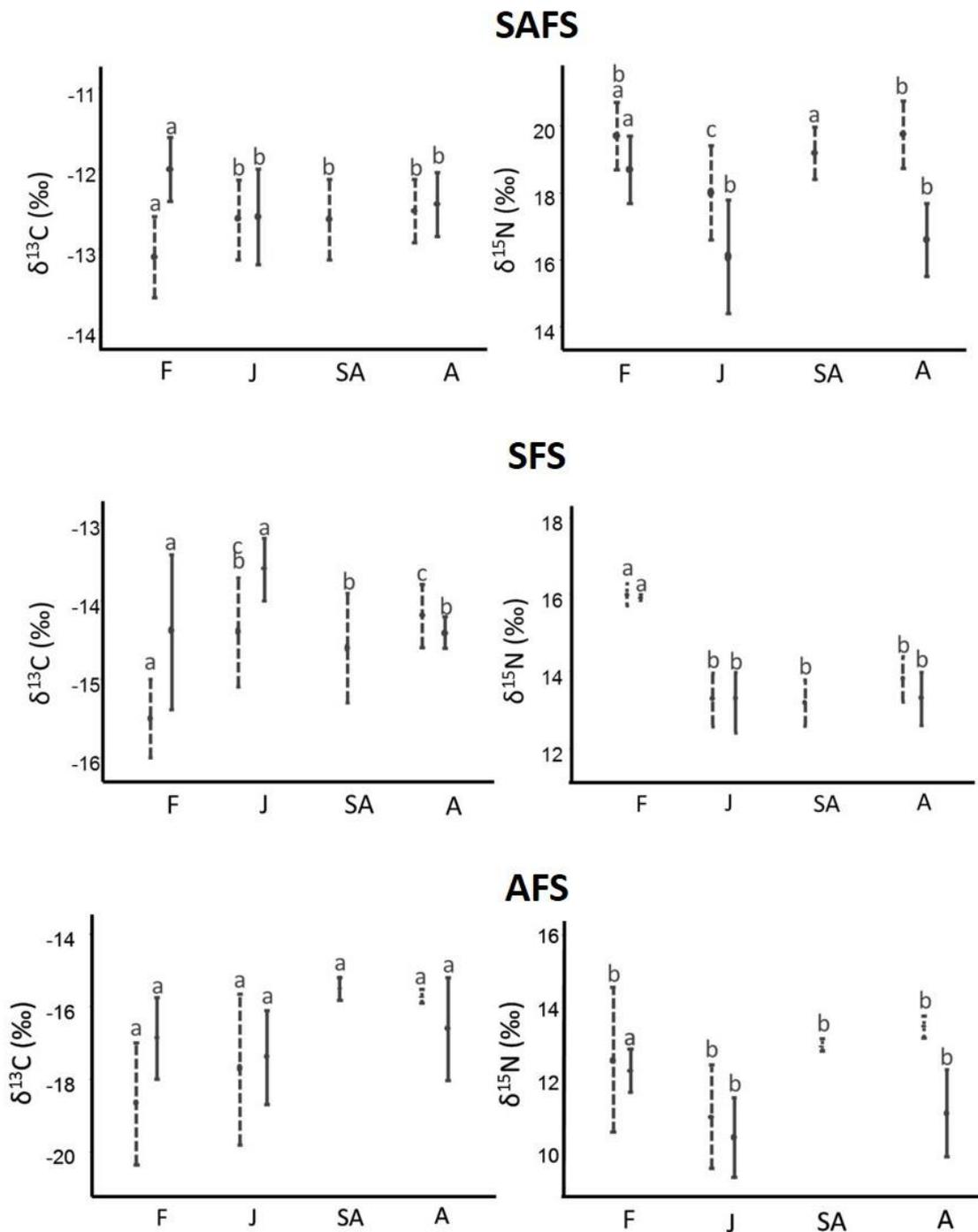


Figura 4. Média (pontos) e desvio padrão (barras) de valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em machos (linha tracejada) e fêmeas (linha contínua) de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS) separadas em diferentes classes etárias (F = filhotes, J = juvenis, SA= subadultos e A = adultos). Letras iguais representam que não houve diferença estatística entre os valores médios de isótopos. Para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (exceto para $\delta^{13}\text{C}$ em fêmeas de SAFS e $\delta^{15}\text{N}$ em fêmeas de SFS, em que foi utilizado ANOVA).

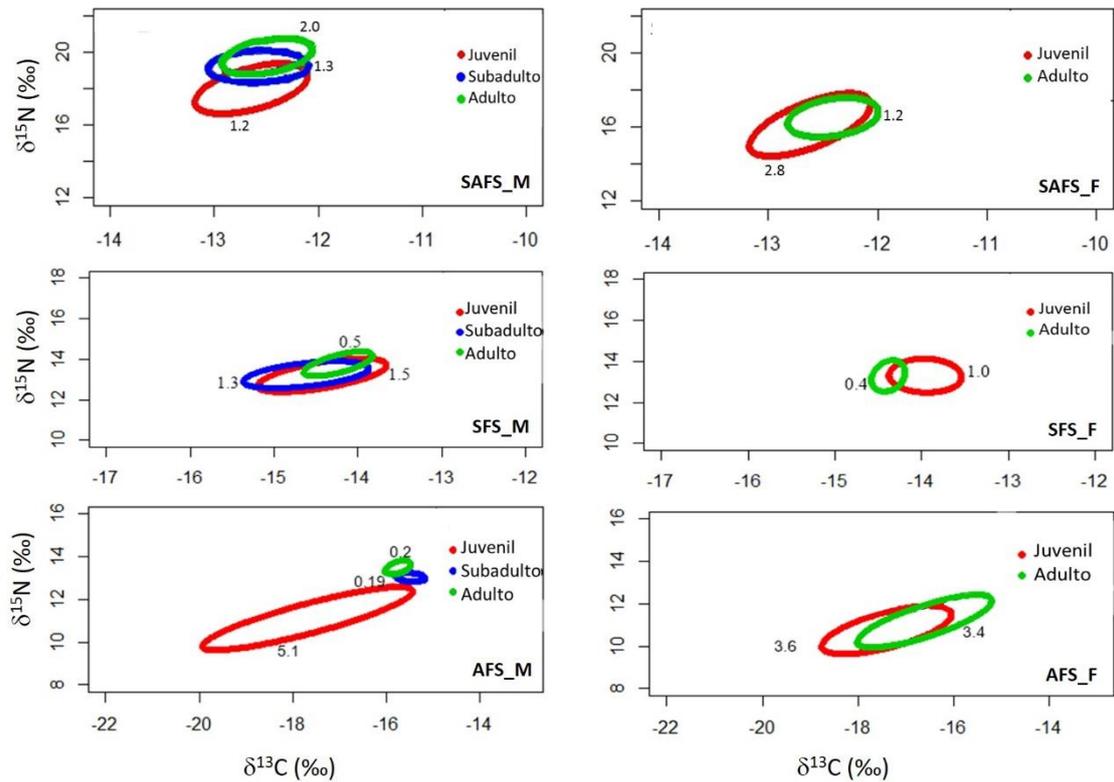


Figura 5. Nichos isotópicos de machos (M) e fêmeas (F) de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS) separados em diferentes categorias etárias. Os valores das áreas das elipses padrão indicados foram ajustados para um número pequeno de amostras (SEAc).

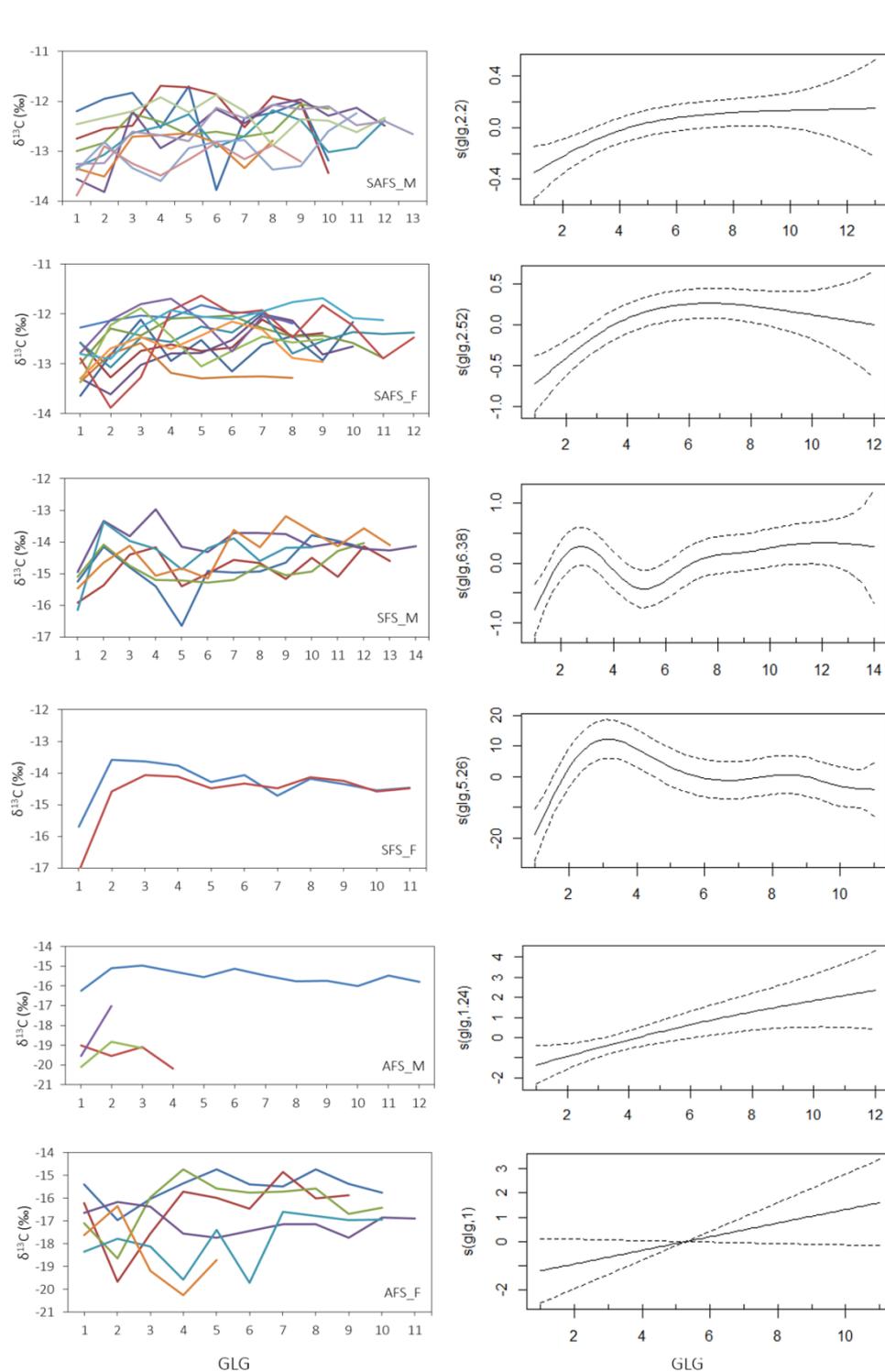


Figura 6. Representação gráfica individual dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ em cada GLG coletados em dentes de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS) (à esquerda). Curvas suavizadas demonstrando a variação ontogenética nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ referentes aos gráficos de indivíduos (à direita). Os gráficos foram separados em machos (M) e fêmeas (F).

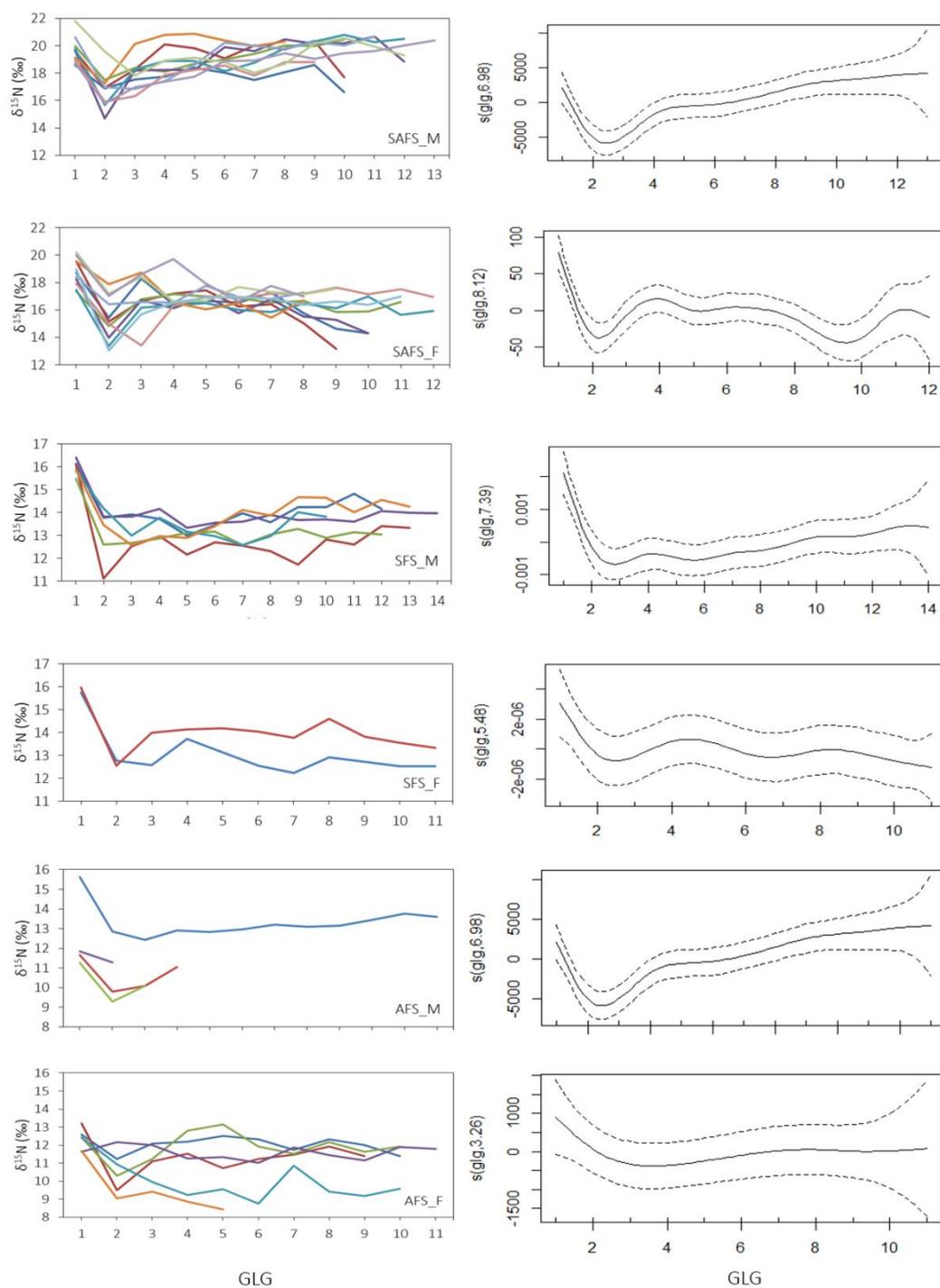


Figura 7. Representação gráfica individual dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ em cada GLG coletados em dentes de *Arctocephalus australis* (South American fur seal – SAFS), *A. tropicalis* (Sub Antarctic fur seal - SFS) e *A. gazella* (Antarctic fur seal - AFS) (à esquerda). Curvas suavizadas demonstrando a variação ontogenética nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ referentes aos gráficos de indivíduos (à direita). Os gráficos foram separados em machos (M) e fêmeas (F).

BIBLIOGRAFIA

- Arnould JPY (2009) Fur seals. In Perrin, W., B. Würsig & J. Thewissen (eds) Encyclopedia of Marine Mammals 2nd ed. Academic Press. pp: 1079–1084
- Arthur B, Hindell M, Bester M, Trathan P, Jonsen I, Staniland I, Oosthuizen WC, Wege M, Lea MA (2015) Return customers: foraging site fidelity and effect of environmental variability in wide-ranging Antarctic fur seals. PLoS One 10: e0120888
- Aurioles D, Koch PL, LeBoeuf BJ (2006) Differences in foraging location of Mexican and California elephant seals: evidence from stable isotopes in pups. Mar Mammal Sci 22:326–338
- Authier M, Ponchon A, Martin C, Bentaleb I, Guinet C (2012) Foraging fidelity as a recipe for a long life: foraging strategy and longevity in male southern elephant seals. PLoS ONE 7:e32026
- Bailleul F, Luque S, Dubroca L, Arnould JPY, Guinet C (2005) Differences in foraging strategy and maternal behaviour between two sympatric fur seal species at the Crozet Islands. Mar Ecol Prog Ser 293:273–282
- Barros NB, Clark M (2002) Diet. In: Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM Hans (eds) Encyclopedia of Marine Mammals. Academic Press, San Diego, pp 323–327
- Bastida R, Rodríguez D (1990) Hallazgo de un apostadero estacional de lobos de dos pelos, *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783), en bajos fondos frente a la costa de Mar del Plata (Provincia de Buenos Aires, Argentina). In: Anales de la IV Reunión de Trabajo de Expertos en Mamíferos Acuáticos de América del Sur. Valdivia, Chile, pp 1–22

- Bastida R, Rodríguez D, Secchi E, Silva VMF (2007) Mamíferos Acuáticos de Sudamérica y Antártida, 1st edn. Vázquez Mazzini Editores, Buenos Aires
- Batallés M, Pin O, Lima M (1990) Estudio del crecimiento del lobo fino sudamericano (*Arctocephalus australis*) en Isla de Lobos, Uruguay. Frente Marítimo 7:69–73
- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, MacLeod H (2004) Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. J Anim Ecol 73:1007–1012
- Beauplet G, Dubroca L, Guinet C, Cherel Y, Dabin W, Gagne C, Hindell MA (2004) Foraging ecology of sub-Antarctic fur seals (*Arctocephalus tropicalis*) breeding on Amsterdam Island: seasonal changes in relation to maternal characteristics and pup growth. Mar Ecol Prog Ser 273:211–225
- Beck CA, Rea LD, Iverson SJ, Kennish JM, Pitcher, KW, Fadely BS (2007) Blubber fatty acid profiles reveal regional, seasonal, age-class and sex differences in the diet of young Steller sea lions in Alaska. Mar Ecol Prog Ser 338:269–280
- Berta A, Sumich JL, Kovacs KM (2006) Marine mammals: Evolutionary biology (2nd ed.). San Diego: Elsevier. 560 pp
- Bester MN (1987) Subantarctic fur seal *Arctocephalus tropicalis* at Gough Island (Tristan da Cunha Group). In: Croxall JP, Gentry RL (eds) Status, biology and ecology of fur seals. NOAA Tech Rep 51:57–60
- Bester MN (1990) Reproduction in the male sub-Antarctic fur seal *Arctocephalus tropicalis*. J Zool 222:177–185

- Bester MN, Laycock PA (1985) Cephalopod prey of the SubAntarctic fur seal, *Arctocephalus tropicalis*, at Gough Island. In: Siegfried WR, Condy PR, Laws RM (eds) Antarctic nutrient cycles and food webs. Springer, Berlin, pp 551–554
- Bester MN, Ryan PG, Dyer BM (2003) Population numbers of fur seals at Prince Edward Island, South Ocean. *Afr J Marine Sci* 25:549–554
- Bolnick DI, Svanbäck R, Fordyce JA, Yang LH, Davis JM, Hulsey CD, Forister ML (2003) The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *Am Nat* 161:1–28
- Bonadonna F, Lea MA, Dehorter O, Guinet C (2001) Foraging ground fidelity and route-choice tactics of a marine predator: the Antarctic fur seal *Arctocephalus gazella*. *Mar Ecol Prog Ser* 223:287–297
- Bonadonna F, Lea MA, Guinet C (2000) Foraging routes of Antarctic fur seals (*Arctocephalus gazella*) investigated by the concurrent use of satellite tracking and time-depth recorders. *Polar Biol* 23:149–159
- Borella F, Grandi F, Vales DG, Goodall RNP, Crespo EA (2013) Esquema preliminar de fusión epifisaria en huesos de lobos marinos (*Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens*), su contribución en los análisis zooarqueológicos. In: Zangrando AF, Barberena R, Gil A, Neme G *et al.* (eds) Tendencia teórico metodológicas y casos de estudios en la arqueología de Patagonia. Editorial Altuna Impresiones, San Rafael, pp 39–51
- Botta S, Hohn AA, Macko SA, Secchi ER (2012) Isotopic variation in delphinids from the subtropical western South Atlantic. *J Mar Biol Assoc UK* 92:1689–1698

- Bowen WD (1991) Behavioural ecology of pinnipeds neonates. In: Renouf, D (ed). Behaviour of Pinnipeds. Cambridge, England: Chapman and Hall and Cambridge University Press. 66–127.
- Bowen WD, Beck CA e Austin DA (2009) Pinnipeds Ecology. In Encyclopedia of Marine Mammals. Second Edition. Perrin, W. F., Würsig, B. & Thewissen, J. G. M. (eds.) Elseiver. pp 868–873.
- Boyd IL, Cafferty MC, Reid DJ, Taylor RK, Walker TR (1998) Dispersal of male and female Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*). Can J Fish Aquat Sci 55:845–852
- Bugoni L, McGill RAR, Furness RW (2010) The importance of pelagic longline fishery discards for a seabird community determined through stable isotope analysis. J Exp Mar Biol Ecol 391: 190-200.
- Burns JM (1999) The development of diving behavior in juvenile Weddell seals: pushing physiological limits in order to survive. Can J Zool 77:737–747
- Burton RK, Koch PL (1999) Isotopic tracking of foraging and long- distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. Oecologia 119:578–585
- Campagna C, Werner R, Karesh W, Marin MR, Koontz F, Cook R, Koontz C (2001) Movements and location at sea of South American sea lions (*Otaria flavescens*). J Zool 255:205–220
- Ceriani SA, Roth JD, Sasso CR, Mcclellan CM, James MC, Haas HL, Smolowitz RJ, Evans DR, Addison DS, Bagley DA, Ehrhart LM, Weishampel JF (2014) Modeling and mapping isotopic patterns in the Northwest Atlantic derived from loggerhead sea turtles. Ecosphere 5:122

- Charbonnier, Y, Delord K, Jean-Baptiste Thiebot (2010) King-size fast food for Antarctic fur seals. *Polar Biol* 33:721–724
- Cherel Y, Hobson KA (2007) Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 329: 281–287
- Cherel Y, Hobson KA, Guinet C (2015) Milk isotopic values demonstrate that nursing fur seal pups are a full trophic level higher than their mothers. *Rapid Commun Mass Spectrom* 29:1485–1490
- Cherel Y, Hobson KA, Guinet C, Vanpe C (2007) Stable isotopes document seasonal changes in trophic niches and winter foraging specialization in diving predators from the Southern Ocean. *J Anim Ecol* 76:826–836
- Cherel Y, Kernaléguen L, Richard P, Guinet C (2009) Whisker isotopic signature depicts migration patterns and multi-year intra and inter-individual foraging strategies in fur seals. *Biol Lett* 5:830–832
- Clutton-Brock TH, Albon SD, Guinness FE (1986) Great expectations: maternal dominance, sex ratios, and offspring reproductive success in red deer. *Anim Behav* 34:460–471
- Condy PR (1978) Distribution, abundance and annual cycle of fur seals (*Arctocephalus* spp.) on the Prince Edward Islands. *S Afr J Wildl Res* 8:159–168
- Condy PR (1981) Annual food consumption and seasonal fluctuations in biomass of seals at Marion Island. *Mammalia* 45:21–30

- Crespo EA, Schiavini ACM, García NA, Franco-Trecu V, Goodall RNP, Rodríguez D, Morgante JS, Oliveira LR (2015) Status, population trend and genetic structure of South American fur seals *Arctocephalus australis* in southwestern Atlantic waters. *Mar Mammal Sci* 31:866–890
- Crespo EA, Schiavini ACM, Perez Macri G, Reyes L, Dans S (1994) Estudios sobre determinación de edad en mamíferos marinos del Atlántico Sudoccidental. In: Anales de la IV Reunión de Trabajo de Expertos en Mamíferos Acuáticos de América del Sur. Valdivia, Chile, pp 31–55
- Croxall JP, Wood AG (2002) The importance of the Patagonian Shelf for top predator species breeding at South Georgia. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 12: 101-118
- Cullen TM, Fraser D, Rybczynski N, Schroder-Adams C (2014) Early evolution of sexual dimorphism and polygyny in Pinnipedia. *Evolution* 68:1469-1484
- Dabin W, Beauplet G, Crespo EA, Guinet C (2004) Age structure, growth and demographic parameters in breeding-age female subAntarctic fur seals, *Arctocephalus tropicalis*. *Can J Zool* 82:1043–1050
- Daneri GA, Piatkowski U, Coria NR, Carlini AR (1999) Predation on cephalopods by Antarctic fur seals, *Arctocephalus gazella* at two localities of the Scotia Arc, Antarctica. *Polar Biol* 21:59–63
- DeNiro MJ, Epstein S (1977) Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197:261–263
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 42:495–506

- DeNiro MJ, Epstein S (1981) Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 45:341–351.
- Doidge DW, Mccann TS, Croxall JP (1986) Attendance behavior of Antarctic fur seals. In: Gentry RL, Kooyman GL (eds) *Fur seals: Maternal strategies on land and at sea*. Princeton University Press, New Jersey, pp 102–114
- Drago M, Cardona L, Aguilar A, Crespo EA, Ameghino SP, García NA (2010) Diet of lactating South American sea lions, as inferred from stable isotopes, influences pup growth. *Mar Mammal Sci* 26:309–323
- Drago M, Cardona L, Crespo EA, Aguilar A (2009) Ontogenetic dietary changes in South American sea lions. *J Zool* 279: 251–261
- Dunsha G, Barros NB, Berens McCabe EJ, Gales NJ, Hindell MA, Jarman SN and Wells RS (2013) Stranded dolphin stomach contents represent the free-ranging population's diet. *Biol Lett* 9:20121036
- Elorriaga-Verplancken F, Aurióles-Gamboa D, Newsome SD, Martínez-Díaz SF (2013) $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in dental collagen as a proxy for age and sex related variation in foraging strategies of California sea lions. *Mar Biol* 160:641– 652
- Ferguson SH (2006) The influences of environment, mating habitat, and predation on evolution of pinniped lactation strategies. *J Mamm Evol* 13:63–82
- Ferreira JM, Oliveira LR, Wynen L, Bester MN, Guinet C, Barros MN, Martins FM, Muelbert MMC, Moreno IB, Siciliano S, Ott PH, Morgante JS (2008) Multiple origins of vagrant SubAntarctic fur seals: a long journey to the Brazilian coast detected by molecular markers. *Polar Biol* 31:303–308

- France RL (1995) Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Mar Ecol Prog Ser* 124:307–312
- Franco-Trecu V, Aurióles-Gamboá D, Inchausti P (2014) Individual trophic specialisation and niche segregation explain the contrasting population trends of two sympatric otariids. *Mar Biol* 161:609–618
- Franco-Trecu V, Aurióles-Gamboá D, Arim M, Lima M (2012) Prepartum and postpartum trophic segregation between sympatrically breeding female *Arctocephalus australis* and *Otaria flavescens*. *J Mammal* 93:514–521
- Franco-Trecu V, Drago M, Riet-Sapriza F, Parnell A, Frau R, Inchausti P (2013) Bias in diet determination: incorporating traditional methods in Bayesian mixing models. *PLoS ONE* 8:e80019
- Gerpe MS, Ponce de León A, Bastida R, Moreno VJ, Rodríguez DH (2009) Sharp accumulation of heavy metals after weaning in the South American fur seal *Arctocephalus australis*. *Mar Ecol Prog Ser* 375:239–245
- Goldsworthy SD (1999) Maternal attendance behaviour of sympatrically breeding Antarctic and subantarctic fur seals, *Arctocephalus* spp., at Macquarie Island. *Polar Biol* 21:316–325
- Goldsworthy SD (2006). Maternal strategies of the New Zealand fur seal: evidence for interannual variability in provisioning and pup growth strategies. *Aust J Zool* 54:31–44
- Graham BS, Koch PL, Newsome SD, McMahon KW, Aurióles D (2010) Using isoscapes to trace the movements and foraging behavior of top predators in oceanic ecosystems. In: West JB, Bowen GJ, Dawson TE, Tu KP (eds) *Isoscapes—understanding*

movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping. Springer Netherlands, Dordrech, p 299–318

Guinet C, Dubroca L, Lea MA, Goldsworthy SD, Cherel Y, Duhamel G, Bonadonna F, Donnay JP (2001) Spatial distribution of foraging in female Antarctic fur seals *Arctocephalus gazella* in relation to oceanographic variables: a scale-dependent approach using geographic information systems. *Mar Ecol Prog Ser* 219:251–264

Guinet C, Jouventin P, Georges JY (1994) Long-term population changes of fur seals *Arctocephalus gazella* and *Arctocephalus tropicalis* on subAntarctic (Crozet) and subtropical (St Paul and Amsterdam) islands and their possible relationship to El Niño Southern oscillation. *Antarct Sci* 6:473–478

Guinet C, Servera N, Deville T, Beauplet G (2005) Changes in subAntarctic fur seal pups' activity budget and diving behaviours throughout the rearing period. *Can J Zool* 83:962–970

Hanson NN, Wurster CM, Bird MI, Reid K, Boyd IL (2009) Intrinsic and extrinsic forcing in life histories: Patterns of growth and stable isotopes in male Antarctic fur seal teeth. *Mar Ecol Prog Ser* 388:263–272

Hobson KA (1999) Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120:314–326

Hobson KA, Sease JL (1998) Stable isotope analyses of tooth annuli reveal temporal dietary records: an example using Steller sea lions. *Mar Mammal Sci* 14:116–129

Hobson KA, Sinclair EH, York AE, Thomason JR, Merrick RE (2004) Retrospective isotopic analyses of Steller sea lion tooth annuli and seabird feathers: a cross-taxa

- approach to investigating regime and dietary shifts in the Gulf of Alaska. *Mar Mammal Sci* 20:621–638
- Hutchinson GE (1957) Concluding remarks. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 22:415–427
- Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER – Stable Isotope Bayesian Ellipses. *J Anim Ecol* 80:595–602
- Jonsson KI (1997) Capital and income breeding as alternative tactics of resource use in reproduction. *Oikos* 78:57–66
- Kelly JF (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can J Zool* 78:1–27
- Kernaléguen L, Cazelles B, Arnould JPY, Richard P, Guinet C, Cherel Y (2012) Long-term species, sexual and individual variations in foraging strategies of fur seals revealed by stable isotopes in whiskers. *PLoS ONE* 7:e32916
- Kim SL, Tinker MT, Estes JA, Koch PL (2012) Ontogenetic and among-individual variation in foraging strategies of northeast pacific white sharks based on stable isotope analysis. *PLoS ONE* 7:e45068
- Klages NTW, Bester MN (1998) Fish prey of fur seals *Arctocephalus* spp. at subAntarctic Marion Island. *Mar Biol* 131:559–566
- Laws, R. M (1952) A new method of age determination for mammals. *Nature* 169: 972–973.

- Layman CA, Arrington DA, Montaña CG, Post DM (2007) Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology* 88:42–48
- Lima M, Páez E (1995) Growth and reproductive patterns in the South American fur seal. *J Mammal* 76:1249–1255
- Lunn NJ, Arnould JPY (1997) Maternal investment in Antarctic fur seals: evidence for equality in the sexes? *Behav Ecol Sociobiol* 40:351–362
- MacArthur RH, Pianka ER (1966) On optimal use of a patchy environment. *Am Nat* 100:603–609
- Makhado AB, Bester MN, Kirkman SP, Pistorius PA, Ferguson JWH, Klages NTW (2008) Prey of the Antarctic fur seals *Arctocephalus gazella* at Marion Island. *Polar Biol* 31:575–581
- Makhado AB, Bester MN, Somhlaba S, Crawford RJM (2013) The diet of the subAntarctic fur seal *Arctocephalus tropicalis* at Marion Island. *Polar Biol* 36:1609–1617
- Mancini PLM, Hobson KA, Bugoni L (2014) The role of body size in shaping the trophic structure of tropical seabird communities. *Mar Ecol Prog Ser* 497:243–257
- Martinez del Rio C, Wolf N, Carleton SA, Gannes LZ (2009) Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biol Rev* 84:91–111
- Matthews CJD, Ferguson SH (2015) Weaning age variation in beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *J Mammal* 96:425–437
- McCafferty DJ, Boyd IL, Taylor RI (1998) Diving behaviour of Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*) pups. *Can J Zool* 76:513–520

- McDonald D (1991) Mamíferos marinos. Ballenas, focas y delfines. Navarra/Espanha: Folio.
- McMahon KW, Hamady LL, Thorrold SR (2013) A review of ecogeochemistry approaches to estimating movements of marine animals. *Limnol Oceanogr* 58:697–714
- Mendes S, Newton J, Reid RJ, Zuur AL, Pierce GJ (2007) Stable carbon and nitrogen isotope ratio profiling of sperm whale teeth reveals ontogenetic movements and trophic ecology. *Oecologia* 151:605–615
- Molina-Schiller D, Pinedo MC (2004) Growth layer patterns in *Arctocephalus australis* canine teeth: evaluation of techniques for age determination. *LAJAM* 3:107–118
- Muelbert JH, Acha M, mianzan H, Guerrero R, Reta R, Braga ES, Garcia VMT; Berasategui A, Gomez-Erach EM, Ramírez F (2008) Biological, physical and chemical properties at the Subtropical Shelf Front Zone in the SW Atlantic Continental Shelf. *Cont Shelf Res* 28:1662–1673
- Naya DE, Arim M, Vargas R (2002) Diet of South American fur seals (*Arctocephalus australis*) in Isla de Lobos, Uruguay. *Mar Mammal Sci* 18:734–745
- Newsome S, Martínez del Rio C, Phillips DL, Bearhop S (2007) A niche for isotopic ecology. *Front Ecol Environ* 5:429–436
- Newsome SD, Clementz MT, Koch PL (2010) Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Mar Mammal Sci* 26:509–572.

- Newsome SD, Etnier MA, Monson DH, Fogel ML (2009) Retrospective characterization of ontogenetic shifts in killer whale diets via $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis of sectioned teeth. *Mar Ecol Prog Ser* 374:229–242
- Newsome SD, Koch P, Etnier MA, Aurioles GD (2006) Using carbon and nitrogen isotope values to investigate maternal strategies in Northeast Pacific Otariids. *Mar Mammal Sci* 22:1–18
- Oliveira LR, Ott PH, Malabarba LR (2008) Ecologia alimentar dos pinípedes do sul do Brasil e uma avaliação de suas interações com atividades pesqueiras. In: Reis NRD, Peracchi AL, Dos Santos GASD (eds) *Ecologia de mamíferos*. Technical Books Editora, Londrina, pp 97–116
- Oliveira, L.R. (1999) Caracterização dos padrões de ocorrência dos pinípedes (Carnívora:Pinipedia) ocorrentes no Litoral do Rio Grande do Sul, Brasil entre 1993 a 1999. Thesis. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Porto Alegre, RS, Brazil. 154pp.
- Oliveira LR, Hoffman JI, Hingst-Zaher E, Majluf P, Muelbert MMC, Morgante JS, Amos W (2008) Morphological and genetic evidence for two evolutionarily significant units (ESUS) in the South American fur seal, *Arctocephalus australis*. *Conservation Genetics* 9: 1451–1466.
- Ono KA e Boness DJ (1996) Sexual dimorphism in sea lion pups: differential maternal investment, or sex-specific differences in energy allocation? *Behav Ecol Sociobiol* 38:31–41

- Orians GH, Pearson NE (1979) On the theory of central place foraging. In: Horn, B.J., Stairs, G.R., Mitchell, R.D. (Eds.), *Analysis of Ecological Systems*. Ohio State University Press, Columbus pp. 155–177
- Orr AJ, Newsome SD, Laake JL, VanBlaricom GR, DeLong RL (2011) Ontogenetic dietary information of the California sea lion (*Zalophus californianus*) assessed using stable isotope analysis. *Mar Mammal Sci* 28:714–732
- Páez-Rosas D, Aurióles-Gamboa D, Alava JJ, Palacios DM (2012) Stable isotopes indicate differing foraging strategies in two sympatric otariids of the Galapagos Islands. *J Exp Mar Biol Ecol* 424–425:44–52
- Payne MR (1977) Growth of a fur seal population. *Phil Trans R Soc B* 279:67–97
- Payne MR (1978) Population size and age determination in the Antarctic fur seal *Arctocephalus gazella*. *Mammal Rev* 8:67–73
- Payne MR (1979) Growth in the Antarctic fur seal *Arctocephalus gazella*. *J Zool* 187:1–20
- Pelletier L, Chiaradia A, Kato A, Ropert-Coudert Y (2014) Fine-scale spatial age segregation in the limited foraging area of an inshore seabird species, the little penguin. *Oecologia* 176:399–408
- Perrin WF, Myrick CA (1980) Report of the workshop on growth of odontocetes and sirenians. In: *Age determination of toothed whales and sirenians*. International Whaling Commission, Cambridge, p 229
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Syst* 18:293–320

- Pinedo MC (1986) Mortalidade de *Pontoporia blainvillei*, *Tursiops gephyreus*, *Otaria flavescens* e *Arctocephalus australis* na costa do Rio Grande do Sul, Brasil, 1976–1983. In: Anales de la 1a Reunión de Trabajo de Expertos en Mamíferos Acuáticos de América del Sur. Buenos Aires, Argentina, 187–199
- Pinedo MC, Barros NB (1983) Análise dos conteúdos estomacais do leão marinho, *Otaria flavescens*, e do lobo-marinho, *Arctocephalus australis*, na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. In: Anales del 8 Simpósio Latino Americano sobre Oceanografía Biológica, 1983. Montevideo, 1983. p. 25.
- Ponce de León A, Pin OD (2006) Distribución, reproducción y alimentación del lobo fino *Arctocephalus australis* y del león marino *Otaria flavescens* en Uruguay. In: Menafra, R., Rodríguez (eds) Bases para la conservación y el manejo de la costa Uruguaya. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo, pp 305–313
- Post DM, Layman CA, Arrington DA, Takimoto G, Quattrochi J, Montaña CG (2007) Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152:179–189
- R Core Team (2013) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. www.R-project.org/
- Rau GH, Sweeney RE, Kaplan IR (1982) Plankton $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ratio changes with latitude: differences between northern and southern oceans. *Deep Sea Res* 29:1035–1039
- Riccialdelli L, Newsome SD, Fogel ML, Goodall RNP (2010) Isotopic assessment of prey and habitat preferences of a cetacean community in the southwestern South Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 418:235–248

- Riedman, M (1990) The pinnipeds: seals, sea lions and walruses. University of California Press, 439 pp.
- Robinson SA, Goldsworthy SD, van den Hoff J, Hindell MA (2002) The foraging ecology of two sympatric fur seal species, *Arctocephalus gazella* and *Arctocephalus tropicalis*, at Macquarie Island during the austral summer. Mar Freshw Res 53:1071–1082
- Scheffer VB (1950) Growth layers in teeth of Pinnipedia as an indication of age. Science 112:309–311
- Schoener TW (1974) Resource partitioning in ecological communities. Science 185:27–39
- Schultz RAD (1996) Desenvolvimento e aplicação da técnica de preparação de material dentário de *Sotalia fluviatilis* e *Tursiops truncatus* (Mammalia – Cetacea), para análise de G.L.C. Dissertação de Bacharelado em Ciência Biológicas. Universidade Federal de Santa Catarina
- Staniland IJ (2005) Sexual segregation in seals. In: Ruckstuhl KE, Neuhaus P (eds) Sexual segregation in vertebrates: ecology of the two sexes. Stewart, Cambridge, UK, pp 53–73
- Stephens PA, Houston AI, Harding KC, Boyd IL, McNamara JM (2014) Capital and income breeding: the role of food supply. Ecology 95:882– 896
- Stewart BS (1997) Ontogeny of differential migration and sexual segregation in northern elephant seals. J Mammal 78:1101–1116

- Szteren D, Naya DE, Arim M (2004) Overlap between pinniped summer diet and artisanal fishery catches in Uruguay. *LAJAM* 3:119–125
- Thompson D, Moss SEW, Lovell P (2003) Foraging behaviour of South American fur seals *Arctocephalus australis*: extracting fine scale foraging behaviour from satellite tracks. *Mar Ecol Prog Ser* 260:285–296
- Tilley A, López-Angarita J, Turner JR (2013) Diet reconstruction and resource partitioning of a Caribbean marine mesopredator using stable isotope Bayesian modelling. *PLoS ONE* 8: e79560
- Trivers RL, Willard DE (1973) Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179:90–92
- Vales DG, Cardona L, García NA, Zenteno L, Crespo EA (2015) Ontogenetic dietary changes in male South American fur seals *Arctocephalus australis* in Patagonia. *Mar Ecol Prog Ser* 525:245–260
- Vales DG, Saporiti F, Cardona L, Oliveira LR, Dos Santos RA, Secchi ER, Aguilar A, Crespo EA (2014) Intensive fishing has not forced dietary change in the South American fur seal *Arctophoca* (= *Arctocephalus*) *australis* off Río de la Plata and adjoining areas. *Aquat Conserv Mar Freshw Ecosyst* 24:745–759
- Vaz-Ferreira R (1982) *Arctocephalus australis*, South American fur seal. *FAO Fisheries Series* 5:497-508
- Vaz-Ferreira R, Bianco J, Rondini G, Gorga J, Little V (1989) Some factors which condition attendance and breeding of *Otaria flavescens* and *Arctocephalus australis* on Isla de Lobos, Uruguay. In: 5° Congreso Theriológico Internacional. Roma, Italy, pp 776–777

- Vaz-Ferreira R, Ponce de León A (1987) South American fur seal, *Arctocephalus australis*, in Uruguay. In: Croxall JP, Gentry RL (eds) Status, biology and ecology of fur seals. NOAA Tech Rep 51:29–32
- Verrier D, Guinet C, Authier M, Tremblay Y, Shaffer S, Costa DP, Groscolas R, Arnould JPY (2011) The ontogeny of diving abilities in subAntarctic fur seal pups: developmental trade-off in response to extreme fasting? *Funct Ecol* 25:818–828
- Walters A (2014) Quantifying the trophic linkages of Antarctic marine predators. PhD Thesis, University of Tasmania.
- Warren NL, Trathan PN, Forcada J, Fleming A, Jessopp MJ (2006) Distribution of post-weaning Antarctic fur seal *Arctocephalus gazella* pups at South Georgia. *Polar Biol* 29:179–188
- Weise MJ, Harvey JT, Costa DP (2010) The role of body size in individual-based foraging strategies of a top marine predator. *Ecology* 91:1004–1015
- Wilson RP (2010) Resource partitioning and niche hyper-volume overlap in free-living Pygoscelid penguins. *Funct Ecol* 24:646–657
- Wolf N, Newsome S, Peters J, Fogel ML (2015) Variability in the routing of dietary proteins and lipids to consumer tissues influences tissue-specific isotopic discrimination. *Rapid Commun Mass Spectrom* 29:1448–1456
- Wood SN (2006) Generalized additive models: an introduction with R. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton
- Wynen LP, Goldsworthy SD, Guinet C, Bester MN, Boyd IL, Gjertz I, Hofmeyr GJG, White RWG, Slade R. (2000) Postsealing genetic variation and population structure

of two species of fur seal (*Arctocephalus gazella* and *A. tropicalis*). *Mol Ecol* 9:299–314

Ximenez IM, Langguth E (2002) *Isla de Lobos*. Graphis, Montevideo

York AE, Thomason JR, Sinclair EH, Hobson KA (2008) Stable carbon and nitrogen values in teeth of Steller sea lions: age of weaning and the impact of the 1975–1976 regime shift in the North Pacific Ocean. *Can J Zool* 86: 33–44

Zenteno L, Crespo E, Vales D, Silva L, Saporiti F, Oliveira LR, Secchi ER, Drago M, Aguilar A, Cardona L (2015) Dietary consistency of male South American sea lions (*Otaria flavescens*) in southern Brazil during three decades inferred from stable isotope analysis. *Mar Biol* 162:275–289

Zuur AF, Ieno EN, Walker N, Saveliev AA, Smith GM (2009) *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer-Verlag, New York

ANEXO I

METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DE PÓ PARA ANÁLISES ISOTÓPICAS DAS GLGs EM DENTES DE *Arctocephalus* spp.

Obtenção das amostras

Os dentes utilizados para as análises de isótopos estáveis foram obtidas a partir de exemplares encontrados mortos durante os monitoramentos de praia (Figura 1). Durante os mesmos, os crânios dos exemplares são retirados e levados ao laboratório para processamento.



Figura 1. Lobo-marinho-do-sul (*Arctocephalus australis*) encontrado morto na praia do Cassino, com quadro de informações do espécime.

Uma vez no laboratório os crânios são colocados em caixas de maceração onde periodicamente é trocada a água para acelerar o apodrecimento dos tecidos moles aderidos ao crânio, facilitando assim a sua remoção.

Uma vez completada a maceração os crânios são limpos com água corrente e uma vez removidos os dentes, são escovados com água e detergente neutro e secos a temperatura ambiente.

Os dentes são escovados em água corrente e guardados a seco sem ter nenhum contato com químicos, evitando assim a possível influência dos mesmos na composição isotópica do material.

De cada exemplar um dente canino superior foi selecionado para a análise. Na tabela do Anexo II encontra-se uma lista completa dos exemplares utilizados neste estudo e os dados associados a eles.

Estimativa de idade

Antes de proceder com a extração do pó para análise isotópica é necessário realizar a estimativa da idade dos exemplares e assim individualizar as camadas de crescimento a serem amostradas. A estimativa das idades foi realizada através da contagem dos grupos de camadas de crescimento (GLGs, *Growth Layer Groups*, Perrin & Myrick, 1980) na dentina, utilizando a técnica proposta por Schultz (1996) com algumas modificações. A GLG é uma unidade contável, constituída por grupos de camadas de crescimento seguindo um padrão semelhante de repetição. Cada GLG é composta por uma banda escura e uma banda translúcida, depositada anualmente na dentina e no cimento em pinípedes (Scheffer, 1950; Schiavini et al. 1992; Crespo et al. 1994). Estas bandas são decorrentes da deposição de camadas de dentina com diferentes graus de mineralização. Cada dente canino de cada indivíduo foi bisseccionado no plano sagital por meio de uma serra metalográfica de baixa rotação, obtendo duas metades simétricas com a finalidade de expor as GLGs. Preferencialmente, sempre foi escolhido o dente canino mais retilíneo para o corte. A superfície exposta foi polida com lixas d'água de diferentes granulações (320, 500, 600). Em seguida foi realizado o polimento fino utilizando uma lixa de granulação de 1200, e utilizada água destilada para auxiliar o lixamento. Posteriormente, a superfície já polida foi descalcificada em ácido fórmico 25%, por aproximadamente 1

h, para uma distinção mais acentuada das GLGs. Após a descalcificação, o dente foi lavado em água corrente por 12 h e posteriormente seco em bancada. A leitura das idades foi realizada com o auxílio de uma lupa binocular de (8 a 40 X) de magnitude. O número de GLGs foram contados em dois momentos por dois observadores independentes. Imagens de cada seção de dente, com as GLGs expostas, foram capturadas por uma máquina fotográfica digital acoplada a um microscópio estereoscópico com aumento de 10 X. Cada GLG foi considerado como representativo de um ano de vida do animal (Schiavini *et al.*, 1992; Crespo *et al.*, 1994; Molina-Schiller & Pinedo, 2004) (Figura 2).

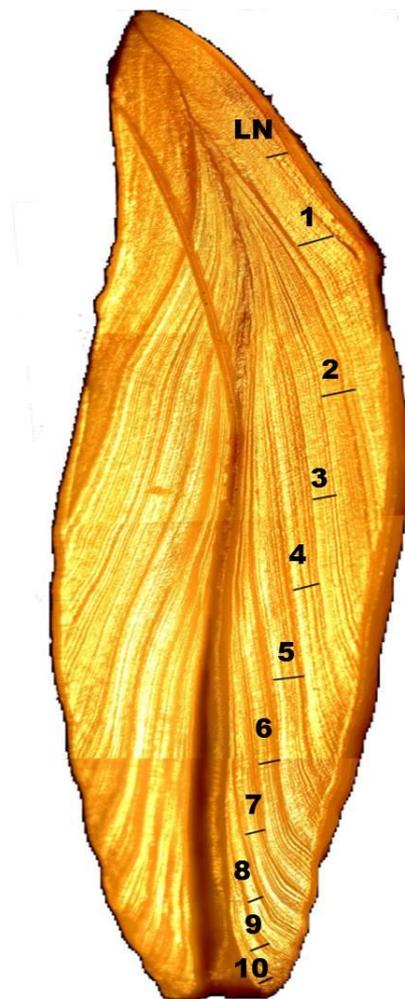


Figura 2. Dente canino descalcificado e seccionado, pertencente a uma fêmea de SAFS, com os grupos de camadas de crescimento evidenciados. Idade do espécime estimada em 10 anos (LN: Linha neonatal).

Cabe ressaltar que a metodologia original de processamento dos dentes para estimativa de idades, recomenda a utilização de pó de grafite para realçar os vales e cristas da dentina, facilitando assim a sua identificação. Neste caso, porém, optou-se por não utilizar o mesmo devido à potencial influência deste material sobre os valores isotópicos de carbono.

A amostragem das GLGs

O dente utilizado para a amostragem dos GLGs foi o mesmo onde foi realizada a estimativa de idade. Uma vez identificadas as GLGs com ajuda de uma lupa, procedeu-se a retirada da primeira camada de pó obtida do material da superfície externa do dente, a qual sofreu o tratamento com ácido fórmico por meio de uma micro broca de 300 micras acoplada a um ferramenta abrasiva rotativa (micro retifica Dremel[®] 4000). Esta primeira camada foi retirada a fim de evitar qualquer interferência do ácido utilizado no resultado isotópico.

Uma vez demarcadas, as GLGs foram perfuradas ao longo de toda a sua extensão por meio da mesma micro-broca, realizando perfurações a uma profundidade inferior a 500 micras para minimizar a contaminação com GLGs adjacentes (Figura 3).

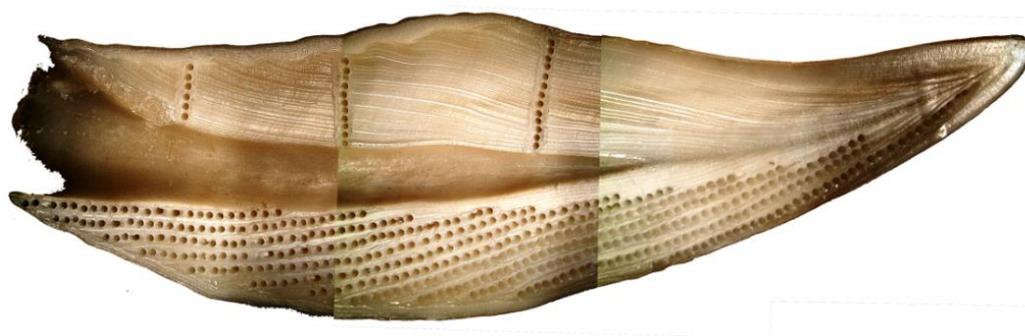


Figura 3. Dente canino superior seccionado pertencente a um SAFS, com os grupos de camadas de crescimento evidenciados na metade superior do dente. Na metade inferior é possível identificar as perfurações pela micro broca.

Amostras de dentina foram coletadas somente onde os GLGs apresentaram largura suficiente para a perfuração. Assim, amostras não foram coletadas a partir das camadas de crescimento que representam as idades mais avançadas, as quais representam os últimos anos de vida do animal por serem muito estreitas. Ao finalizar a perfuração de uma GLG, o pó resultante foi coletado por meio de uma espátula metálica e colocado em recipientes do tipo Eppendorf[®]. Aquelas GLGs das quais pouca quantidade de pó podia ser obtida (< 1-2 mg) o acondicionamento ocorreu diretamente em cápsulas de prata, utilizadas para analisar a amostra no espectrômetro de massa de razão isotópica. A razão pela qual nestes casos é utilizado cápsulas de prata e não as tradicionais de estanho é a maior resistência da prata à acidificação (ver procedimento adiante).

Imediatamente após a amostragem de uma GLG, a superfície do dente era limpa por meio de um aparelho de ar comprimido eliminando assim qualquer vestígio de pó que pudesse contaminar a seguinte GLG a ser amostrada. O pó resultante de cada GLG de cada dente foi acidificado por defumação colocando os Eppendorf[®] abertos dentro de um dessecador contendo um recipiente com ácido clorídrico (HCl) a 30% para eliminar o carbono inorgânico. Em seguida, foram secos em estufa a 60°C e, aproximadamente 1 mg de cada amostra, foi armazenado em cápsulas de prata para análise em espectrômetro de massa de razão isotópica, acoplado a um analisador de elementos (Figura 4).

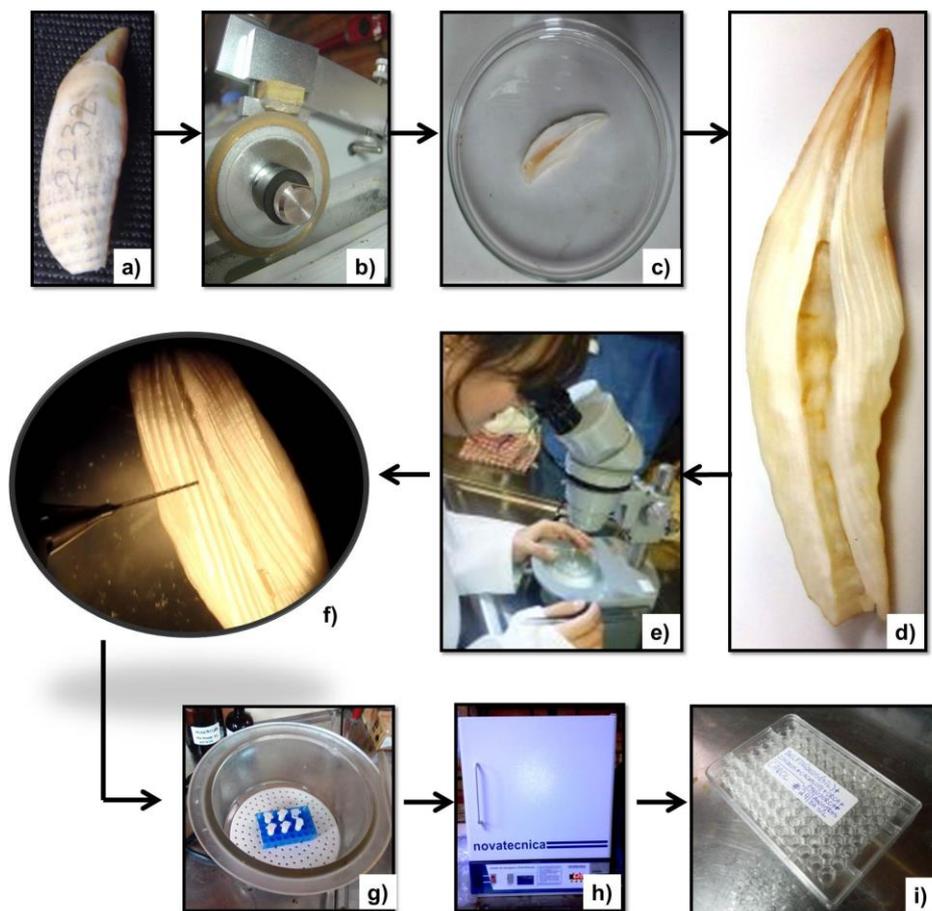


Figura 4. Processo para a preparação da amostra para a análise de isótopos estáveis dos dentes de lobos-marinhos: a) Dente inteiro de um animal encalhado morto; b) serra metalográfica; c) dente sendo descalcificado; d) dente descalcificado com os GLGs evidenciados; e) estimativa de idade; f) retirada da amostra (pó) do dente por meio de uma broca de 300 micras; g) acidificação da amostra em um dessecador com ácido clorídrico 30%; h) amostras secando dentro da estufa f) armazenamento da amostra em cápsulas de estanho ou prata.

REFERÊNCIAS

- Crespo EA, Schiavini ACM, Perez Macri G, Reyes L, Dans S (1994) Estudios sobre determinación de edad en mamíferos marinos del Atlântico Sudoccidental. In: Anales de la IV Reunión de Trabajo de Expertos en Mamíferos Acuáticos de América del Sur. Valdivia, Chile, pp 31–55
- Molina-Schiller D, Pinedo MC (2004) Growth layer patterns in *Arctocephalus australis* canine teeth: evaluation of techniques for age determination. *Lat Am J Aquat Mammals* 3:107–118
- Perrin WF, Myrick CA (1980) Report of the workshop on growth of odontocetes and sirenians. In: Age determination of toothed whales and sirenians. International Whaling Commission, Cambridge, p 229
- Scheffer VB (1950) Growth layers in teeth of Pinnipedia as an indication of age. *Science* 112:309–311
- Schiavini, AC, MM Lima e LM Batallés (1992) Growth structures of maxillary canines of the southern fur seal (*Arctocephalus australis*). *Mar. Mamm. Sci.* 8:89–93.
- Schultz RAD (1996) Desenvolvimento e aplicação da técnica de preparação de material dentário de *Sotalia fluviatilis* e *Tursiops truncatus* (Mammalia – Cetacea), para análise de G.L.C. Dissertação de Bacharelado em Ciência Biológicas. Universidade Federal de Santa Catarina.

ANEXO II

Tabela 1. Espécie, código da coleção, sexo, idade e comprimento total dos indivíduos coletados no Sul do Brasil utilizados neste estudo.

Espécie	Instituição	Código	Sexo	Ano	Idade (anos)	Comprimento total (cm)
<i>A. australis</i>	FURG	1680	Macho	1995	11	133
<i>A. australis</i>	FURG	754	Macho	1985	9	171
<i>A. australis</i>	FURG	1815	Macho	1995	9	180,6
<i>A. australis</i>	FURG	1824	Macho	1995	11	165
<i>A. australis</i>	FURG	1341	Macho	1993	9	159,5
<i>A. australis</i>	FURG	2234	Macho	1999	10	160,8
<i>A. australis</i>	FURG	1549	Macho	1994	11	-
<i>A. australis</i>	FURG	2233	Macho	1999	7	154,2
<i>A. australis</i>	FURG	2238	Macho	1999	8	145,9
<i>A. australis</i>	FURG	1698	Macho	1995	12	167,3
<i>A. australis</i>	FURG	1442	Fêmea	1993	8	~120
<i>A. australis</i>	FURG	2042	Fêmea	1997	9	121,8
<i>A. australis</i>	FURG	2258	Fêmea	1999	8	-
<i>A. australis</i>	FURG	702	Fêmea	1985	11	138
<i>A. australis</i>	FURG	621	Fêmea	1984	7	~113
<i>A. australis</i>	FURG	1885	Fêmea	1996	10+	-
<i>A. australis</i>	FURG	2275	Fêmea	1999	9	125,9
<i>A. australis</i>	FURG	2259	Fêmea	1999	11+	-
<i>A. australis</i>	FURG	1516	Fêmea	1994	7	112,2
<i>A. australis</i>	FURG	711	Fêmea	1985	10	144,0
<i>A. australis</i>	FURG	1097	Fêmea	1987	7	~124
<i>A. australis</i>	FURG	1215	Fêmea	1992	8	145
<i>A. tropicalis</i>	FURG	2128	Macho	1998	12	161,2
<i>A. tropicalis</i>	FURG	1502	Macho	1994	9	164,1
<i>A. tropicalis</i>	FURG	1517	Macho	1994	11	151,5
<i>A. tropicalis</i>	FURG	2124	Macho	1998	13	162,3
<i>A. tropicalis</i>	FURG	715	Macho	1985	11	~172
<i>A. tropicalis</i>	FURG	1087	Macho	1987	12	170,0
<i>A. tropicalis</i>	FURG	865	Fêmea	1986	10+	125
<i>A. tropicalis</i>	FURG	6268	Fêmea	2008	10+	112
<i>A. gazella</i>	FURG	1505	Macho	1994	1	93
<i>A. gazella</i>	FURG	27119	Macho	2002	13+	146
<i>A. gazella</i>	GEMARS	G0199	Macho	1994	3	121
<i>A. gazella</i>	GEMARS	G0209	Macho	1994	2	118
<i>A. gazella</i>	GEMARS	G189	Fêmea	1994	12+	127
<i>A. gazella</i>	GEMARS	G0895	Fêmea	2002	15	127
<i>A. gazella</i>	FURG	615	Fêmea	1984	14+	131,5
<i>A. gazella</i>	FURG	494129	Fêmea	2009	4	115
<i>A. gazella</i>	FURG	42541	Fêmea	2009	10+	127
<i>A. gazella</i>	FURG	2071	Fêmea	-	11+	-