Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de
Ambientes Aquáticos Continentais

Ecologia trófica do biguá, *Nannopterum brasilianum*, em ambiente límnico e estuarino no sul do Brasil

Talita de Alcantara Carneiro Backhaus

Orientador: Leandro Bugoni

Rio Grande
2026

Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais

Ecologia trófica do biguá, *Nannopterum brasilianum*, em ambiente límnico e estuarino no sul do Brasil

Aluno: Talita de Alcantara Carneiro Backhaus
Orientador: Leandro Bugoni

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande
2026

B126e

Backhaus, Talita de Alcantara Carneiro
Ecologia trófica do biguá, *Nannopterum brasilianum,* em ambiente límnico e estuarino no sul do Brasil / Talita de Alcantara Carneiro Backhaus - 2026.
125fl.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – Programa de Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, 2026.

Orientador: Dr Leandro Bugoni

1. Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais 2. Ave piscívora. 3. Dieta. 4. Estação Ecológica do Taim. 5. Isótopos estáveis.6. Lagoa dos Patos.7. Pellet. I. Bugoni, Leandro. II. Título.

CDU 574.5(28)

Catalogação na fonte: Bibliotecária Brenda Sequeira CRB10/1979

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS - PPGBAC
Av. Itália s/n – Rio Grande/RS, Brasil. 96203-900 fone/fax: 53-3233.6848
e-mail: pgbac@furg.br
https://ppgbac.furg.br

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS – Nº 005/2026

Às 14:00h (quatorze horas) do dia 14 (uqatorze) do mês de maio de 2026 (dois mil e vinte e seis), no Laboratório de Bioinformática do ICB e via Webconferêcia (https://conferenciaweb.rnp.br/sala/bioinformatica-icb-furg) reuniram-se docentes, discentes e comunidade em geral, para a defesa pública da Dissertação de Mestrado da acadêmica **Talita de Alcantara Carneiro Backhaus**. A Dissertação intitulada **"Ecologia trófica da biguá, *Nannopterum brasilianum*, em ambiente límnico e estuarino no sul do Brasil"** foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelo Orientador: Prof. Dr. Leandro Bugoni (PPGBAC/FURG), Prof. Dr. Alexandre Miranda Garcia (PPGBAC/FURG) e Prof. Dr. Pablo A. E. Alarcón (Universidad Nacional del Comahue – UNComa, Argentina). Após a defesa e arguição pública, a Banca Examinadora reuniu-se, para deliberação final, e considerou a acadêmica **APROVADA** Desta forma, a acadêmica concluiu mais uma das etapas necessárias para a obtenção do grau de **MESTRE EM BIOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS**. Nada mais havendo a tratar, às 16:30h (dezesseis horas e trinta minutos) foi lavrada a presente ATA, que lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora, pela Acadêmica e pela Coordenadora do Curso.

gov.br Documento assinado digitalmente
ALEXANDRE MIRANDA GARCIA
Data: 15/05/2026 11:41:52-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Alexandre Miranda Garcia

Prof. Dr. Pablo A. E. Alarcón

gov.br Documento assinado digitalmente
LEANDRO BUGONI
Data: 15/05/2026 15:03:28-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Leandro Bugoni

gov.br Documento assinado digitalmente
TALITA DE ALCANTARA CARNEIRO BACKHAUS
Data: 15/05/2026 14:23:06-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Talita de Alcantara Carneiro Backhaus

gov.br Documento assinado digitalmente
CAMILA DE MARTINEZ GASPAR MARTINS
Data: 18/05/2026 17:19:38-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profª Drª. Camila De Martinez Gaspar Martins
Coordenadora do Curso

Dedico esta dissertação à minha família, principalmente àqueles que não estão mais entre nós: avó Terezinha, avô Glauco, tio Glauco, tio Rodrigo, primo Thomas (Dude) e tio Thomas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Leandro Bugoni, por me guiar ao longo da minha trajetória acadêmica. Sou imensamente grata por ter me recebido no laboratório, pelas oportunidades, experiências, desafios e ensinamentos que me proporcionou e, principalmente, por confiar no meu potencial e incentivar a mirar mais alto na pesquisa acadêmica. Você é a grande referência que tenho de um excelente profissional nesta área.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Aves Aquáticas e Tartarugas Marinhas pelos inúmeros dias de campo juntos e pela ajuda nas atividades de laboratório, pelo apoio, risadas, conselhos, ensinamentos e, principalmente, pelo acolhimento. Este trabalho não seria possível sem a ajuda de vocês.

À minha família por me incentivar a estudar desde a minha infância, por me apoiar e acreditar no meu potencial para seguir o caminho que escolhi. Nos momentos mais desafiadores da minha formação, foi pensando em vocês e no esforço em vida de cada um que encontrei motivação para continuar. Obrigada por não medirem esforços para que eu pudesse estudar e atingir meus objetivos. Sei que todos estão vibrando de alegria por mim, independentemente de onde se encontram, e esta é a maior recompensa que eu poderia ter.

Ao Daniel, meu companheiro, por acreditar na minha capacidade mais do que eu mesma, por me incentivar, apoiar e, principalmente, por me ensinar a enxergar as coisas boas nos momentos mais difíceis e a valorizar as coisas simples da vida. Obrigada por tornar minha vida mais leve e feliz ao seu lado. Tenho sorte por caminhar ao seu lado nesta etapa importante das nossas vidas, iniciando e cumprindo o tão desejado mestrado juntos, e estou ansiosa pelos próximos passos que daremos.

Aos meus amigos, que me apoiaram ao longo da minha trajetória na FURG e tornaram os momentos mais leves e alegres. Obrigada pela parceria, apoio e carinho desde que cheguei em Rio Grande. Vocês foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

Agradeço ao Yan e aos colegas do Laboratório de Ictiologia pelo auxílio nas coletas e na identificação dos peixes no Taim. Ao técnico Márcio, do Laboratório de Recursos Pesqueiros Demersais e Cefalópodes, pelo auxílio na identificação dos peixes marinhos e estuarinos. À técnica Roberta, do Laboratório de Crustáceos Decápodes, por auxiliar na identificação e quantificação dos camarões. À equipe do Núcleo de Educação e Monitoramento Ambiental, por permitir a participação nos monitoramentos do Molhe Leste para a coleta de pellets. À

equipe da Estação Ecológica do Taim e à equipe do Centro de Reabilitação de Animais Marinhos, por nos receber sempre de braços abertos para as amostragens em campo.

Agradeço aos membros da banca por se disponibilizarem a avaliar esta dissertação e contribuir com este trabalho. Por fim, agradeço à CAPES e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais por possibilitarem a execução deste trabalho.

RESUMO

O biguá (*Nannopterum brasilianum*) é uma ave aquática piscívora de grande porte com hábitos alimentares flexíveis, porém os estudos prévios sobre sua dieta ocorreram em um único ambiente ao longo de sua ampla distribuição nas Américas. No primeiro capítulo desta dissertação a dieta do biguá foi comparada em um ambiente límnico, na Estação Ecológica do Taim, e estuarino na Lagoa dos Patos, ambos no sul do Brasil, através da análise de pellets (material regurgitado) e isótopos estáveis de carbono (δ^{13}C) e nitrogênio (δ^{15}N) no sangue e nas penas, visando abranger a assimilação da dieta em escalas temporais distintas. O índice de importância relativa presa-específico (PSIRI%) indicou que os biguás estuarinos consumiram peixes dependentes do estuário, principalmente a corvina (*Micropogonias furnieri*) (PSIRI% = 79,8), seguido pela tainha (*Mugil* spp.) e bagres (Ariidae), enquanto no ambiente límnico as espécies de água-doce foram mais importantes, principalmente os lambaris (Characidae) (PSIRI% = 61,9), seguido pelo biru (*Cyphocharax voga*) e pelo bagre-pintado (*Pimelodus pintado*). A análise de isótopos estáveis e o nicho isotópico determinado nas amostras de sangue revelaram que os principais itens alimentares consumidos em cada ambiente também foram assimilados, corroborando os dados do método convencional. Já as penas, sintetizadas durante o período pós-reprodutivo, indicaram um nicho isotópico mais amplo e maior assimilação de presas de água doce em ambos os locais, no período anterior à amostragem. Logo, além dos hábitos alimentares generalistas em nível de espécie, este estudo demonstrou que os biguás são especialistas locais, com espécies ou grupos únicos compondo a maior parte da dieta de cada ambiente, confirmando o seu hábito piscívoro e oportunista. No segundo capítulo, o muco que envolve os pellets dos biguás foi testado como uma amostra alternativa ao sangue na análise de isótopos estáveis para inferir a dieta em ambientes distintos, estuarinos e de água doce. Os valores de δ^{13}C e δ^{15}N refletiram as diferenças esperadas para cada ambiente. Ao comparar com modelos de mistura dos componentes sanguíneos, o muco foi mais similar ao soro e indicou uma janela temporal curta de assimilação da dieta devido à provável rápida renovação isotópica. Os resultados indicaram que o muco tem potencial para inferir alterações recentes na dieta, mas é necessário explorar o seu uso e determinar o fator de discriminação trófica deste material ainda pouco estudado. Desta forma, este trabalho não apenas confirmou a alta plasticidade alimentar do biguá, que possui uma dieta flexível ajustada conforme disponibilidade de presas mais abundantes em cada ambiente, mas também demonstrou que o muco é um material de fácil obtenção e minimamente invasivo que pode ser útil para monitorar a dieta recente de populações de aves e as alterações no ambiente através de análises isotópicas.

Palavras-chave: ave piscívora, dieta, Estação Ecológica do Taim, isótopos estáveis, Lagoa dos Patos, pellet.

ABSTRACT

The Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) is a large piscivorous waterbird with flexible feeding habits; however, previous studies on its diet have focused on a single environment throughout its wide distribution in the Americas. In the first chapter, the diet of the Neotropic cormorant was compared in a limnetic environment, at the Taim Ecological Station, and an estuarine environment at Lagoa dos Patos, both in southern Brazil, through the analysis of pellets (regurgitated material) and stable isotopes of carbon (δ^{13}C) and nitrogen (δ^{15}N) in blood and feathers, aiming to encompass the assimilation of the diet on different time scales. The prey-specific index of relative importance (PSIRI%) indicated that estuarine cormorants consumed estuarine-dependent fish, mainly whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) (PSIRI% = 79.8), followed by mullet (*Mugil* spp.) and marine catfish (Ariidae), while in the limnetic environment freshwater species were more important, mainly characids (Characidae) (PSIRI% = 61.9), followed by toothless characin (*Cyphocharax voga*) and pintado catfish (*Pimelodus pintado*). Stable isotope analysis and isotopic niche based on blood samples revealed that the main food items consumed in each environment were also assimilated, corroborating the data from the conventional method. Feathers, synthesized during the post-breeding period, indicated a broader isotopic niche and greater assimilation of freshwater prey in both locations in the period prior to sampling. Therefore, in addition to generalist feeding habits at the species level, this study demonstrated that cormorants are local specialists, with unique species or groups comprising the majority of the diet in each environment, confirming their piscivorous and opportunistic habits. In the second chapter, the mucus surrounding cormorant pellets was tested as an alternative sample to blood in stable isotope analysis to infer diet in distinct estuarine and freshwater environments. The δ^{13}C and δ^{15}N values reflected the expected differences for each environment. When compared to blood components in mixture models, mucus appeared to be more similar to serum and indicated a shorter time window for diet assimilation due to probable rapid isotopic turnover. The results indicated that mucus has the potential to infer recent changes in diet, but it is necessary to explore its use and determine the trophic discrimination factor of this still poorly studied material. Thus, this research not only confirmed the high dietary plasticity of the Neotropic cormorant, which has a flexible diet adjusted according to the availability of the most abundant prey in each environment, but also presents mucus as an easily obtainable and minimally invasive material that could be useful for monitoring the recent diet of bird populations and changes in the environment through isotopic analyses.

Key-words: diet, Patos lagoon, pellet, stable isotopes, Taim Ecological Station, waterbird.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação segue o modelo solicitado pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais e apresenta-se estruturada em quatro seções. A primeira seção compõe a **Introdução Geral** onde são abordados os principais temas do estudo, seguido pelos Objetivos e Hipóteses. Os tópicos desta seção são: (i) A ecologia trófica e as aves aquáticas; (ii) Análise da dieta de aves piscívoras; (iii) Análise de isótopos estáveis na ecologia trófica; (iv) O biguá, *Nannopterum brasilianum*, como espécie desse estudo; (v) Áreas de estudo, aves e ictiofauna da região e; (vi) Técnicas utilizadas para a captura das aves. A segunda seção está apresentada como **Capítulo 1** e refere-se ao artigo intitulado "Ecologia trófica do biguá (*Nannopterum brasilianum*), um generalista piscívoro, em ambiente límnico e estuarino" e está formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico *Hydrobiologia.* A terceira seção está apresentada como **Capítulo 2** e refere-se ao artigo intitulado "A análise de isótopos estáveis em muco de pellets representa a dieta recente de biguás: uma alternativa não invasiva e de fácil coleta", formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. Por fim, a quarta e última seção, compreende as **Considerações Finais e Perspectivas Futuras** do estudo e anexos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS x
LISTA DE TABELAS xiii
INTRODUÇÃO GERAL 15
A ecologia trófica e as aves aquáticas 15
Análise da dieta de aves piscívoras 17
Análise de isótopos estáveis na ecologia trófica 23
Áreas de estudo, aves e ictiofauna da região 27
O biguá, *Nannopterum brasilianum*, como espécie desse estudo 32
Técnicas utilizadas para a captura das aves 37
OBJETIVOS 40
HIPÓTESES 41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41
CAPÍTULO 1 54
Trophic ecology of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*), a piscivorous generalist, in limnetic and estuarine environments 55
Introduction 56
Materials and methods 59
Results 66
Discussion 76
Conclusion 83
References 85
CAPÍTULO 2 98
Stable isotope analysis in the mucus of pellets represents the recent diet of cormorants: a non-invasive and easy-sampling alternative 99
Introduction 100
Material and Methods 102
Results 106
Discussion 110
Conclusions and Recommendations 112
References 113
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS 119

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. Pellets de biguá (*Nannopterum brasilianum*) em diferentes etapas de processamento: inteiro congelado (A), fresco recém coletado (B), de molho em água com detergente (C) e aberto (D) demonstrando a camada de muco envolvendo o material rígido não digerido – ossos e otólitos de peixes. Fotos: Talita Backhaus.

Figura 2. Otólitos *sagitta* de corvina (*Micropogonias furnieri)* (esquerda) e otólitos *asteriscus* do biru (*Cyphocharax voga*) (direita) encontrados em pellets do biguá (*Nannopterum brasilianum*). Fotos: Talita Backhaus.

Figura 3. Cristalinos de peixes de diferentes tamanhos encontrados nos pellets de biguá (*Nannopterum brasilianum*) visualizados por uma lupa estereoscópica. Foto: Talita Backhaus.

Figura 4. Telas instaladas em árvores utilizadas pelos biguás (*Nannopterum brasilianum*) para coleta dos pellets na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Fotos: Natália Gularte (acima) e Talita Backhaus (abaixo).

Figura 5. Localização das áreas de estudo destacando os pontos de amostragem no estuário da Lagoa dos Patos (A e B) e na Estação Ecológica do Taim (C), no sul do Brasil. Os pontos indicam os locais de coleta de pellets e captura de biguás (*Nannopterum brasilianum*).

Figura 6. Biguás (*Nannopterum brasilianum*) descansando em estrutura de concreto inativada onde os pellets foram coletados no estuário da Lagoa dos Patos em frente ao Molhe Leste em Rio Grande, no Rio Grande do Sul. Foto: Nema.

Figura 7. Biguás (*Nannopterum brasilianum*) alimentando-se no canal da Lagoa Mirim localizado na Estação Ecológica do Taim, no Rio Grande do Sul. Fotos: Márcio Repenning.

Figura 8. Biguás (*Nannopterum brasilianum*) pousados em armadilhas de náilon adaptadas instaladas em trapiches utilizados para descanso. Fotos: Fernando Faria (esquerda) e Natália Gularte (direita).

Figura 9. Imagem de satélite da Ilha da Pólvora (A), no estuário da Lagoa dos Patos, sul do Brasil. Os traços vermelhos indicam os pontos em que as redes de neblina (B) foram instaladas. (C) Detalhe de biguá capturado. Fotos: Google Earth (A) e Carlos Eduardo Soares (B, C).

Figura 10. Imagem de satélite (A) e foto (B) do canal da Lagoa Mirim ao lado da sede da Estação Ecológica do Taim, no Rio Grande do Sul. O traço vermelho indica o local em que a rede de neblina foi instalada. Fotos: Google Earth (A) e Talita Backhaus (B).

CAPÍTULO 1

Fig. 1 Study areas in the Patos Lagoon estuary, including Pólvora Island (A) and a concrete structure (B), and at Taim Ecological Station (C), southern Brazil. Black dots indicate sampling sites where pellets were collected (A, B, C) and Neotropic cormorants (*Nannopterum brasilianum*) were captured (A, C)

Fig. 2 Size-class frequencies of total length (TL) and body mass (BM) of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) (A, B) and mullets (*Mugil* spp.) (C, D), the main prey of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the estuarine environment of Patos Lagoon, southern Brazil

Fig. 3 Size-class frequencies of total length (TL) and body mass (BM) of toothless characin (*Cyphocharax voga*) (A, B) and pintado catfish (*Pimelodus pintado*) (C, D), the main prey of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the limnetic environment of Taim Ecological Station, southern Brazil

Fig. 4 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (‰) in blood (A) and feathers (C) of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) and potential prey, and the estimated proportional contribution of each source (B and D, respectively), in the estuarine environment of Patos Lagoon, southern Brazil. Ninety-five percent credibility intervals were used for the mixing models in the 'simmr' package

Fig. 5 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (‰) in blood (A) and feathers (C) of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) and potential prey, and the estimated proportional contribution of each source (B and D, respectively), in the limnetic environment of Taim Ecological Station, southern Brazil. Ninety-five percent credibility intervals were used for the mixing models in the 'simmr' package

Fig. 6 Isotopic niche width based on $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in blood (circle, solid line) and feathers (triangle, dashed line) of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) from limnetic (light gray) and estuarine (dark gray) environments in southern Brazil

CAPÍTULO 2

FIGURE 1 Mean and standard deviation values of $\delta^{13}C$ (A) and $\delta^{15}N$ (B), in ‰, in red blood cells (RBCs), blood serum and pellet mucus of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil.

FIGURE 2 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ in red blood cells, serum, and pellet mucus of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) collected in limnetic (lower left) and estuarine (upper right) environments in southern Brazil, with potential prey sources indicated.

FIGURE 3 Proportion of estimated contribution of each potential prey source in Bayesian stable isotope mixing models in red blood cells, serum, and pellet mucus of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the estuarine (A, B, C) and limnetic (D, E, F) environment, southern Brazil. 95% credibility intervals were used for the mixing models in the 'simmr' package.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1 Relationships between otolith length (OtL) and total length (TL) and body mass (BM) of fish consumed by the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments of southern Brazil

Table 2 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (mean ± standard deviation) in blood and feathers of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) and its potential prey in limnetic and estuarine environments of southern Brazil

Table 3 Diet of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in estuarine and limnetic environments of southern Brazil, as determined from pellet samples collected during 2024–2025

Table 4 Mean number ± standard deviation (minimum–maximum) of ingested prey, reconstructed mass, and total length found in pellets of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments of southern Brazil

Table 5 Standardized Levins niche breadth (B_s) determined from pellet data and isotopic niche width (SEAc) determined from $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in blood and feathers of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the estuarine environment of Patos Lagoon and the limnetic environment of Taim Ecological Station, southern Brazil

CAPÍTULO 2

TABLE 1 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (mean ± standard deviation, in ‰) of prey consumed by the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil, used in Bayesian isotopic mixing models; n = sample size.

TABLE 2 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (mean ± 1 standard deviation) in mucus, red blood cells (RBCs), and serum samples of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil. Statistical comparisons were carried out between materials, with Bonferroni correction ($p< 0.00625$) separated by

isotope and environment; same letter within the same comparative group indicates non-significantly differences.

TABLE S1 Median and 95% credibility intervals (95% CI) of contribution of each prey source in Bayesian stable isotope mixing models in pellet mucus, red blood cell (RBCs), and serum samples of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil.

INTRODUÇÃO GERAL

A ecologia trófica e as aves aquáticas

A cadeia trófica é definida como uma sequência linear de organismos em um ecossistema através da qual a energia e os nutrientes fluem, de modo que o estudo dessas relações informa sobre a transferência desses elementos através dos níveis tróficos, desde os produtores primários até os decompositores (Begon & Townsend 2023). Atualmente, o termo "trófico", derivado da palavra grega *trophe* que significa nutrição, refere-se a um grupo de organismos com demandas energéticas/nutricionais semelhantes (Garvey & Whiles 2016). Através de análises distintas pode-se obter informações sobre os padrões de uso dos recursos alimentares, o que contribui para estabelecer o papel dos organismos na cadeia trófica. Isso inclui análises visuais de conteúdo estomacal, intestinal e fezes, abordagens moleculares de DNA, ácidos graxos e isótopos estáveis (Nielsen et al. 2018). Ao identificar quais espécies são consumidas, como o consumidor controla as suas presas, e os possíveis impactos sobre elas, é possível elucidar a relação entre os predadores e as presas (Bearhop et al. 2001; Zydelis & Kontautas 2008). Logo, a descrição das relações entre os diferentes níveis tróficos é fundamental para compreender a estrutura e a dinâmica dos ecossistemas (Nielsen et al. 2018).

Os predadores são tipicamente seletivos em relação ao tipo de presa que consomem e, consequentemente, podem ser responsáveis por regular a diversidade, as classes de tamanho e até o comportamento de suas presas (Ricklefs & Relyea 2016). Os organismos que ocupam posições elevadas na cadeia trófica, como as aves aquáticas, são excelentes modelos para o estudo das relações tróficas (Weller 1999; Garvey & Whiles 2016). As interações entre as aves aquáticas e suas presas influenciam os diferentes níveis tróficos das comunidades de um ecossistema aquático (Weller 1999). Além disso, elas podem contribuir com o fluxo de matéria e energia entre diferentes ecossistemas das zonas úmidas, conectando esses ambientes e auxiliando a manter o equilíbrio entre eles (Faria et al. 2016). Quando os efeitos indiretos gerados pelas interações predador-presa avançam sobre os demais níveis tróficos ocorre o fenômeno ecológico denominado de cascata trófica. Isso pode gerar tanto o aumento quanto a redução da biodiversidade, demonstrando a importância da predação para manter a integridade e equilíbrio de um ecossistema (Ripple et al. 2016).

As comunidades de aves aquáticas desempenham várias funções em ambientes aquáticos. Além de apresentarem um papel importante como predadoras ao desempenhar

o controle populacional de outros organismos, as aves também participam da ciclagem de nutrientes através da deposição de excrementos e são vetores de dispersão de sementes, propágulos, invertebrados aquáticos e terrestres, e até mesmo ovos de peixes (Green & Elmberg 2014; Silva et al. 2019; Green et al. 2023). As aves são capazes de deslocar-se entre diferentes ambientes e migrar longas distâncias, alterando os seus locais de forrageio e o tipo de recurso que utilizam em cada local (Silva-Costa & Bugoni 2013; Britto & Bugoni 2015; Faria et al. 2016). Ademais, são particularmente sensíveis às alterações do ambiente e podem funcionar como indicadoras da qualidade de um ecossistema (Furness & Greenwood 1993; Green & Amat 2010; Mansfield et al. 2024).

Ao trazer informações sobre a ecologia trófica das aves, os estudos de dieta auxiliam a interpretar as alterações nas populações, estratégias de forrageamento e no ambiente (Nielsen et al. 2018; Navarro et al. 2022). A composição da dieta pode variar entre diferentes populações de uma mesma espécie, além de ser influenciada pela estrutura da comunidade e pelas características específicas do habitat (Michalik et al. 2012). A ingestão diária de alimentos e o gasto energético diário são alguns dos parâmetros que podem ser determinados por meio de taxas metabólicas em campo, energia calórica das presas e suas taxas de assimilação, permitindo estimar o consumo em nível populacional (Ellis & Gabrielsen 2002; Ridgway 2010). Alguns fatores como as variações na disponibilidade de recursos, idade e sexo do indivíduo, também podem promover alterações na dieta entre os organismos (Michalik et al. 2012; Morgenthaler et al. 2020). Nesse contexto, a determinação da dieta informa sobre a utilização de recursos e é um dos pré-requisitos para o entendimento das interações entre as espécies e das diferentes dimensões do nicho ecológico ocupadas por elas (Nielsen et al. 2018).

De acordo com Hutchinson (1957), o nicho ecológico é constituído por um hipervolume *n*-dimensional em que *n* é o número de dimensões que constituem o nicho e define como um organismo se mantém, como, por exemplo, a composição da dieta, os hábitats que ocupa e as condições que tolera. O nicho trófico, uma das principais dimensões do nicho, refere-se ao uso de recursos alimentares mensurado através da análise da dieta e permite estimar a posição das espécies na cadeia trófica (Bearhop et al. 2004). A amplitude de nicho, por sua vez, refere-se ao intervalo de condições ambientais e recursos que uma espécie pode explorar para sobreviver e se reproduzir, representando o modo pelo qual as espécies ocupam esses nichos (Begon & Townsend 2023). A maneira pela qual os organismos compartilham os recursos de um ambiente pode influenciar na amplitude de nicho trófico (Colwell & Futuyma 1971). Nesse caso, o índice de amplitude

de Levins (1968) pode ser utilizado para avaliar a variação na utilização dos recursos através da proporção de itens alimentares na dieta de uma espécie ou população. A equação de Levins utilizada para calcular a amplitude de nicho (*B*) é a seguinte:

$$B = (\sum \mathrm{p_i^2})^{-1} \quad \text{(eq. 1)}$$

Onde p_i é a proporção da contribuição em massa de cada item alimentar. A amplitude de nicho pode ser padronizada pela equação a seguir:

$$B_s = \left(\frac{B-1}{n-1}\right) \quad \text{(eq. 2)}$$

Onde *n* é o número de itens alimentares, os valores de (*Bs*) próximos de 'um' significam que todos os itens alimentares foram usados em proporções semelhantes, enquanto valores próximos de 'zero' significam que uma ou algumas categorias foram usadas com alta frequência e muitas com baixa frequência (Krebs 1989; Barquete et al. 2008b).

Os organismos com nichos estreitos são considerados especialistas, visto que necessitam de condições ambientais e recursos mais específicos. Já os generalistas apresentam nichos mais amplos e são capazes de tolerar uma grande variedade de condições ambientais e utilizar diferentes recursos (Bearhop et al. 2004). Logo, a diversidade de recursos consumida por uma espécie determinará a sua amplitude de nicho trófico e auxiliará na compreensão do papel ecológico desempenhado por ela. O nicho trófico estimado a partir da análise da dieta pode ser complementado através da análise de isótopos estáveis, que permite estimar o nicho isotópico ao determinar os valores isotópicos do organismo (Newsome et al. 2007). Embora o índice de amplitude de Levins (1968) seja útil para informar sobre o nicho trófico através da variedade na proporção de itens alimentares ingeridos, pode não revelar o que o organismo consome em sua dieta diariamente devido às variações que o ambiente está sujeito. Logo, o nicho isotópico estimado através da análise de isótopos estáveis permite inferir o alimento que foi de fato assimilado pelos tecidos do consumidor, e não apenas o que foi ingerido recentemente (Newsome et al. 2007).

Análise da dieta de aves piscívoras

O estudo da dieta das aves pode ser feito através de métodos convencionais de observação direta que incluem análise de conteúdo estomacal de carcaças, regurgitados espontâneos, lavagem estomacal, pellets e fezes (Barret et al. 2007; Karnovsky et al. 2012; Oehm et al. 2017; Yorio 2017). Os métodos convencionais indicam a dieta recente

do organismo, ou seja, aquilo que foi ingerido no mesmo dia ou no dia anterior (Barret et al. 2007). Portanto, deve-se considerar que uma amostragem mais pontual analisada por observação direta pode não refletir a dieta típica daquele animal, já que variações súbitas podem ocorrer sob a influência de vários fatores em um curto período e/ou em longo prazo (Barret et al. 2007; Nielsen et al. 2018). Por isso ressalta-se a importância da obtenção de uma amostragem mais completa com coletas em diferentes períodos e em maiores quantidades para identificar possíveis variações.

A egestão regular de pellets, também chamados de "pelotas" ou "egagrópilas" por Sick (1997), permite que a ave elimine o material não nutritivo indigerível, evitando que este material passe pelo trato digestório (Lovette & Fitzpatrick 2016). As partes não digeridas das presas, geralmente compostas por estruturas rígidas e mais resistentes à digestão, como ossos, conchas, penas, carapaças de insetos, pelos, bicos de lula, sementes e até pedras, são envolvidas em uma camada de muco (Barret et al. 2007; Drewitt 2024) (Figura 1). Os pellets variam em forma e tamanho entre as aves e a sua formação ocorre conforme a digestão acontece, quando o muco composto por um complexo de carboidratos e glicoproteínas, água, sais e íons, é secretado pelas glândulas da parede interna do proventrículo (Grimm & Whitehouse 1963; Marshall 2013; Lovette & Fitzpatrick 2016). O estômago das aves é composto pelo proventrículo (estômago glandular/químico) e pela moela (estômago muscular), também chamada de ventrículo. A digestão tem início no proventrículo, que possui glândulas tubulares responsáveis pela secreção de muco e glândulas gástricas que secretam ácido clorídrico e pepsina (Marshall 2013; Lovette & Fitzpatrick 2016). Sugere-se então que o material indigerível retido na moela seja compactado e receba a camada envoltória de muco pouco antes da egestão, ao passar pelo proventrículo (Grimm & Whitehouse 1963; Naves 1999).

O processo completo da egestão do pellet varia tanto por fatores internos do organismo, relacionados ao metabolismo e massa corporal, quanto fatores externos do ambiente, e pode levar de 8 a 10 h para se formar após uma refeição, até 16 h para ser expelido em corujas e 24 h em falcões (Grimm & Whitehouse 1963; Duke et al. 1976). Geralmente as aves expelem o pellet pela manhã, nas primeiras horas de luz do dia, sendo este um possível fator de estímulo externo para esta atividade (Duke et al. 1976; Naves & Vooren 2006; Barret et al. 2007). No caso de espécies de cormorões, o tempo entre a alimentação e a egestão do pellet dura cerca de 24 h, e geralmente regurgitam um pellet por dia antes do amanhecer (Johnstone et al. 1990; Barret et al. 2007). De acordo com Brugger (1993), a retenção dos itens sólidos no proventrículo pode durar entre um e dois

dias, de maneira que a produção dos pellets varia de acordo com o tipo de peixe consumido. Barquete et al. (2008b) demonstra que para *N. brasilianum* os pellets fornecem uma boa estimativa da ingestão real de peixes e se alinham com as demandas energéticas esperadas para a ave. Já as aves menores com trânsito digestivo mais rápido, como gaivotas, trinta-réis e talha-mar, podem produzir mais de um pellet por dia (Bugoni et al. 2005; Naves & Vooren 2006).

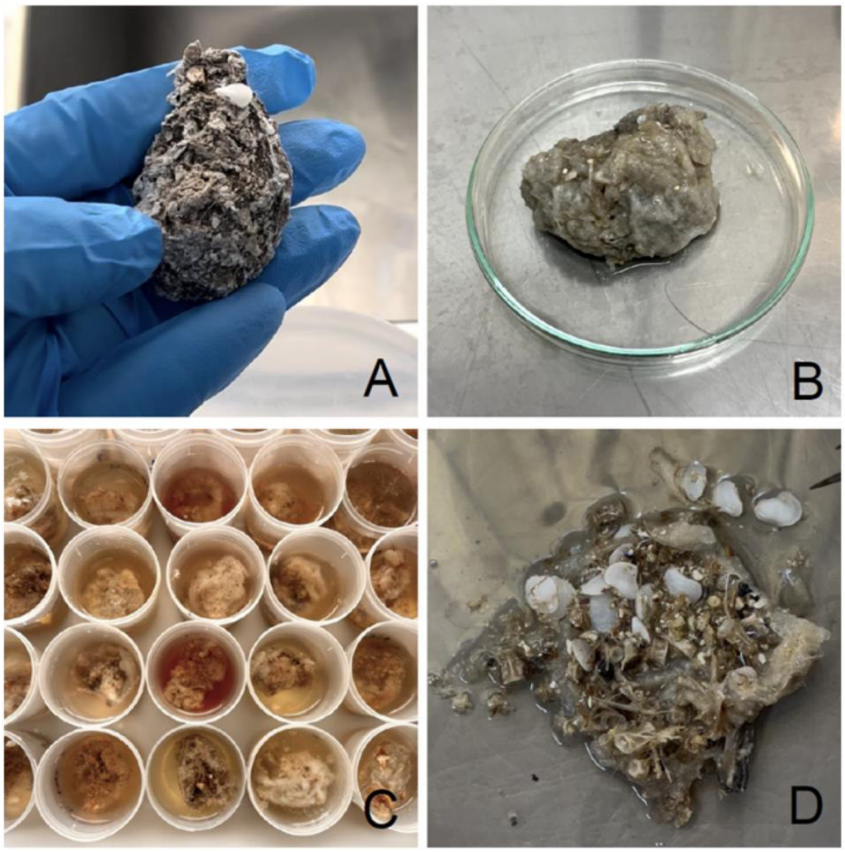


Figura 1. Pellets de biguá (*Nannopterum brasilianum*) em diferentes etapas de processamento: inteiro congelado (A), fresco recém coletado (B), de molho em água com detergente (C) e aberto (D) demonstrando a camada de muco envolvendo o material rígido não digerido – ossos e otólitos de peixes. Fotos: Talita Backhaus.

A técnica da análise de pellets é comumente utilizada pela fácil obtenção da amostra de forma não invasiva, e já demonstrou eficiência para descrever a dieta de aves como as gaivotas (Silva-Costa & Bugoni 2013), biguás (Barquete et al. 2008b; Robinson et al. 2019; Pimenta et al. 2026), talha-mar (Naves & Voreen 2006) e trinta-réis (Bugoni & Vooren 2004) e até em análises de ingestão de microplásticos (Winkler et al. 2020; Borges-Ramírez et al. 2021; Porras-Parra et al. 2024). Deve-se levar em consideração que

os pellets são expelidos regularmente por apenas alguns grupos de aves e geralmente são associados a aves de rapina (Grimm & Whitehouse 1963; Duke et al. 1976; Drewitt 2024), mas sabe-se que uma ampla gama de espécies pode formar pellets, como as piscívoras. Diferentemente dos pellets, os regurgitados espontâneos são compostos por presas parcialmente digeridas, podendo ser expelidos para a alimentação de filhotes ou em situações de estresse com predadores ou até mesmo ao serem manipuladas por humanos (Britto & Bugoni 2015).

A metodologia da análise de pellets consiste na contagem e identificação dos itens alimentares encontrados no conteúdo da amostra e permite descrever a composição da dieta recente (Barret et al. 2007; Drewitt 2024). Neste tipo de análise as presas com parte duras são bem representadas, enquanto as presas com partes moles dificilmente serão detectadas ou estarão subrepresentadas por serem facilmente digeridas (Barret et al. 2007). Nos estudos de dieta com aves piscívoras, os principais itens encontrados são otólitos, cristalinos, escamas, vértebras, conchas de gastrópodes e bivalves (Johnstone et al. 1990; Naves 1999; Robinson et al. 2019). Os otólitos, um dos itens mais frequentes em pellets de aves piscívoras, são estruturas rígidas localizadas no ouvido interno dos peixes ósseos (Jobling & Breiby 1986; Johnstone et al. 1990; Haimovici et al. 2024). A sua formação ocorre pela deposição de camadas concêntricas de carbonato de cálcio na forma de aragonita ou calcita, à medida que o peixe cresce, e uma pequena camada de biomoléculas (proteoglicanos/glicoproteínas) (Schulz-Mirbach et al. 2019). Essas estruturas desempenham um papel importante nos mecanismos de equilíbrio e audição dos peixes, e os permite ajustar a posição no ambiente aquático de acordo com as vibrações sonoras e estímulos sensoriais detectados ao redor (Schulz-Mirbach et al. 2019; Haimovici et al. 2024).

Dentro dos canais semicirculares do labirinto do peixe existem três pares de otólitos simétricos que são denominados *sagitta*, *lapillus* e *asteriscus* (Kalish et al. 1995; Schulz-Mirbach et al. 2019). Os otólitos são espécie-específicos e, dentre eles, principalmente os *sagitta* são usados para a identificação de espécies marinhas/estuarinas e para a determinação do tamanho do peixe através de equações alométricas (Campana 2005; Haimovici et al. 2024) (Figura 2). Os otólitos *sagitta* são frequentemente os maiores entre os três pares e permitem uma distinção nítida em relação aos outros pois apresenta um sulco acústico evidente, uma depressão na superfície do otólito que pode variar em forma, tamanho e profundidade de acordo com a espécie e idade do peixe (Kalish et al. 1995). O *lapillus* é o menor otólito na maioria dos peixes e possui formato mais

arredondado, liso e sem sulco, já o *asteriscus* apresenta estrutura estrelada, levemente circular, lateralmente comprimida e com sulco pequeno (Kalish et al. 1995). Ressalta-se que há uma exceção para os bagres *Genidens* spp. (Ariidae) em que os *sagitta* são muito pequenos e os maiores otólitos são os *lapillus* e, por isso, são identificados apenas através desse par (Santificetur et al. 2017; Haimovici et al. 2024). Em um determinado grupo de peixes, que engloba as ordens Siluriformes e Characiformes, o par de *asteriscus* geralmente é maior em comparação aos outros otólitos (T. Backhaus obs. pessoal).

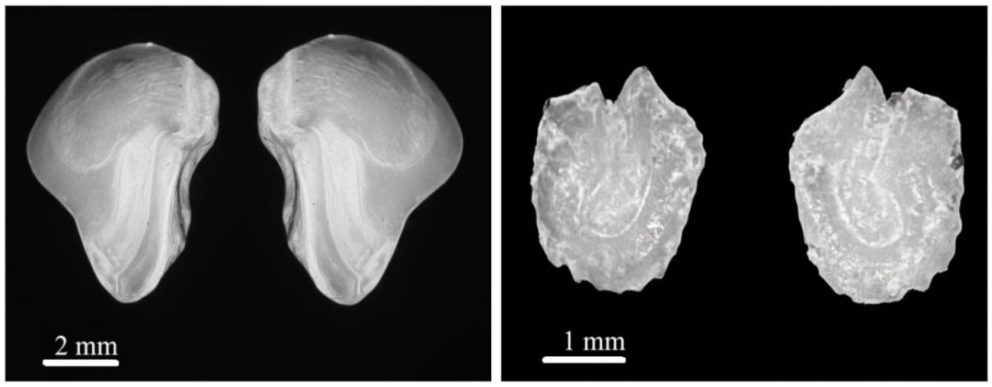


Figura 2. Otólitos *sagitta* de corvina (*Micropogonias furnieri)* (esquerda) e otólitos *asteriscus* do biru (*Cyphocharax voga*) (direita) encontrados em pellets do biguá (*Nannopterum brasilianum*). Fotos: Talita Backhaus.

Outro tipo de estrutura presente nos pellets são os cristalinos do globo ocular que, por serem resistentes à digestão, podem ser utilizados para a quantificação de presas. Estes, no entanto, não permitem a identificação de espécies pois são semelhantes entre si (Naves 1999; Barquete et al. 2008b). Os cristalinos dos peixes são estruturas esféricas levemente translúcidas localizadas atrás da íris e da pupila, cuja função principal é permitir a visão adaptada para a refração da luz no ambiente aquático (Fernald 1990; Muntz 1990) (Figura 3). O cristalino do olho é constituído por lâminas ricas em proteínas que são dispostas em camadas concêntricas à medida que o organismo se desenvolve e, portanto, o núcleo do cristalino é a parte mais antiga e as camadas mais externas são mais recentes (Wallace et al. 2014; Wallace et al. 2023). Inclusive, estudos indicam que as proteínas do cristalino são ricas em carbono e nitrogênio e podem ser usadas em análises de isótopos estáveis para interpretações ecológicas e séries temporais de assimilação de matéria, ao contrário dos otólitos, que são pobres em nitrogênio (Wallace et al. 2023; Bastos et al. 2024).

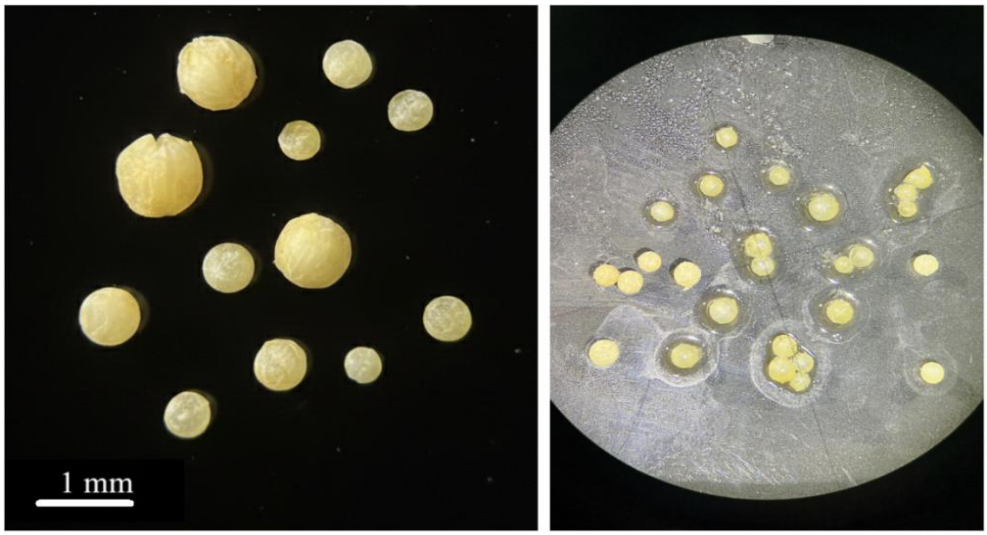


Figura 3. Cristalinos de peixes de diferentes tamanhos encontrados nos pellets de biguá (*Nannopterum brasilianum*) visualizados por uma lupa estereoscópica. Foto: Talita Backhaus.

Geralmente os pellets são coletados manualmente e podem ser encontrados em árvores, bancos de areia, poleiros ou estruturas artificiais sobre a água, como trapiches, torres e atracadores de navios (T. Backhaus, obs. pessoal). Em ambientes dominados por banhados e lagoas, como a Estação Ecológica do Taim, no sul do Rio Grande do Sul (RS), é comum que os pellets caiam diretamente na água e desintegrem-se facilmente. Com esta limitação, uma das soluções neste estudo foi instalar telas abaixo das árvores utilizadas para descanso ou como dormitório pelos biguás. Desta maneira as telas garantiram que os pellets ficassem retidos acima do nível da água, permanecendo íntegros e secos até o momento da coleta manual (Figura 4). No ambiente estuarino, a coleta dos pellets foi realizada em trapiches e estruturas artificiais acima da água e os pellets encontravam-se aderidos a superfície, portanto não houve necessidade de instalar telas. Estratégias similares já foram utilizadas para solucionar dificuldades de amostragem em ambientes aquáticos. Gagliardi et al. (2003), por exemplo, utilizaram plataformas flutuantes para coletar pellets do corvo-marinho-de-faces-brancas (*Phalacrocorax carbo*) abaixo de dormitórios nas árvores de um penhasco, viabilizando o estudo da dieta sem causar perturbação às aves. Enquanto Morgenthaler et al. (2020) utilizou sacos de coleta fixados abaixo de ninhos do corvo-marinho-de-magalhães (*Leucocarbo magellanicus*) para conter os pellets, mostrando-se um método útil para coleta durante a temporada reprodutiva.



Figura 4. Telas instaladas em árvores utilizadas pelos biguás (*Nannopterum brasilianum*) para coleta dos pellets na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Fotos: Natália Gularte (acima) e Talita Backhaus (abaixo).

Análise de isótopos estáveis na ecologia trófica

Os métodos bioquímicos podem ser aliados aos métodos convencionais para a obtenção de informações adicionais em larga escala temporal de assimilação da dieta na síntese de tecidos de um organismo (Fry 2006; Nielsen et al. 2018; Navarro et al. 2022). A utilização de duas técnicas potencializa a obtenção de dados de ecologia trófica ao integrar informações de períodos diferentes em estudos de reconstrução de dieta e caracterização de relações tróficas (Inger & Bearhop 2008; Boecklen et al. 2011). A combinação da análise de isótopos estáveis (IEs) com a análise convencional de material regurgitado é frequentemente utilizada em estudos que abordam a ecologia trófica de aves em ecossistemas aquáticos como, por exemplo, ao comparar a dieta de aves piscívoras em diferentes ambientes, como límnico e marinho/estuarino, e ao comparar a dieta entre

adultos e filhotes ou entre machos e fêmeas (Michalik et al. 2012; Britto & Bugoni 2015; Faria et al. 2016; Morgenthaler et al. 2020).

A análise de IEs é um método bioquímico que permite estimar, a partir de modelos de mistura isotópicos, a contribuição de diferentes fontes na dieta de um organismo, uma vez que a composição isotópica dos tecidos de um consumidor deverá refletir a composição isotópica da sua dieta (Peterson & Fry 1987; Inger & Bearhop 2008; Boecklen et al. 2011). Os isótopos são átomos de um mesmo elemento químico que contém o mesmo número de prótons e diferem no número de nêutrons, resultando em massas atômicas distintas (Fry 2006). Entre eles, os IEs são aqueles cujos núcleos não sofrem decaimento radioativo mensurável ao longo do tempo, diferentemente dos isótopos radioativos, e os mais comuns em estudos ecológicos são os de carbono (δ^{13}C) e os de nitrogênio (δ^{15}N) (Fry 2006).

Com relação a terminologias, o termo "razão isotópica" (R) é utilizado para demonstrar a razão do número de átomos de dois isótopos em um material, onde o átomo mais pesado e raro é escrito primeiro e, em seguida, o mais leve e abundante, e.g. "R =^{13}C/^{12}C ou ^{15}N/^{14}N" (Bond & Hobson 2012). As razões isotópicas de uma amostra são expressas em relação à razão isotópica de um padrão internacional de medida como referência, que para o δ^{13}C é o *Vienna Pee Dee Belemnite* (VPDB) e para o δ^{15}N é o ar atmosférico (N_2) (Bond & Hobson 2012). A análise de IEs é feita por um espectrômetro de massa de razão isotópica e os resultados são expressos pela notação delta δ, cuja unidade de medida é o permil (‰), e refere-se à diferença relativa entre a razão da amostra e a razão do padrão internacional de medida, sendo o valor isotópico de uma amostra determinado através da seguinte equação de Bond & Hobson (2012) onde R = ^{13}C /^{12}C ou ^{15}N/^{14}N:

$$\delta^{13}\text{C ou } \delta^{15}\text{N (‰)} = \left[\left(\mathrm{R_{amostra}}/\mathrm{R_{padrão}}\right) - 1\right] \qquad \text{(eq. 3)}$$

Os IEs de carbono permitem inferências sobre o tipo de ambiente utilizado pelo organismo (ex. ambiente límnico vs. marinho) (Inger & Bearhop 2008). Isso ocorre porque a composição isotópica dos produtores primários, que ocupam a base da cadeia trófica, pode variar de acordo com o ciclo fotossintético e refletir nos demais níveis tróficos daquele ambiente. As plantas C3, mais frequentes em ambientes límnicos, variam entre os valores de δ^{13}C de -24‰ a -38‰, enquanto as plantas C4, presentes em ambientes salinos, variam de -11‰ a -15‰ (Martinelli et al. 2009). Já os IEs de nitrogênio funcionam como marcadores intrínsecos que indicam a posição trófica do organismo

(Garvey & Whiles 2016). As razões isotópicas de δ^{15}N são maiores, entre 3 e 4‰ a cada nível trófico, devido à assimilação de proteínas através da dieta (Post 2002). O ^{14}N é preferencialmente perdido na forma de produtos residuais nitrogenados e, assim, os tecidos do consumidor são enriquecidos com ^{15}N e, consequentemente, isso faz com que predadores de topo da cadeia trófica apresentem valores maiores quando comparados aos consumidores primários ou a níveis tróficos inferiores (Post 2002; Inger & Bearhop 2008).

A análise de IEs é uma ferramenta útil para responder questões sobre o nicho isotópico das espécies (Newsome et al. 2007). O nicho isotópico é representado pela área ocupada pelos organismos (δ-espaço) e é composto por eixos onde os valores isotópicos de cada elemento representam uma dimensão do nicho, como o habitat (δ^{13}C) e a posição trófica (δ^{15}N) (Newsome et al. 2007). A partir da variação dos valores isotópicos é possível determinar se as espécies são generalistas ou especialistas, similar à avaliação do nicho trófico a partir da dieta (Bearhop et al. 2004). Os generalistas apresentam alta variação nos valores de δ^{13}C e δ^{15}N, indicando a capacidade de explorar uma ampla variedade de recursos alimentares e/ou habitats, enquanto os especialistas apresentam baixa variação nos valores isotópicos e são mais restritos quanto à utilização de recursos alimentares e habitats (Bearhop et al. 2004).

A análise de IEs em estudos de dieta visa rastrear a incorporação de elementos químicos, especialmente carbono e nitrogênio, nos tecidos dos consumidores ao longo das cadeias tróficas. Entretanto, a composição bioquímica dos tecidos pode influenciar os valores isotópicos obtidos. Os lipídios, por exemplo, são empobrecidos em ^{13}C em comparação às proteínas e carboidratos, podendo tornar os valores de δ^{13}C mais negativos e introduzir viés nas interpretações tróficas quando o teor lipídico varia entre amostras, consumidores ou fontes alimentares (Post et al. 2007). O fracionamento isotópico (ou discriminação) é uma alteração na proporção de isótopos pesados e leves que ocorre naturalmente conforme os processos químicos e biológicos acontecem (Post 2002). No caso de uma ave piscívora, ao estimar a contribuição de diferentes fontes alimentares em um modelo de mistura deve-se levar em consideração a extração lipídica das presas quando uma amostra de músculo apresentar teor lipídico alto (acima de 5% de lipídios com C:N > 3,5 para animais aquáticos) ou ao comparar espécies com teor lipídico variável (Post et al. 2007; Skinner et al. 2016). O conteúdo lipídico varia entre organismos aquáticos e terrestres, bem como entre tipos de tecidos de um mesmo organismo e, para padronizar as amostras, pode-se realizar uma extração de lipídeo a base de clorofórmio e

metanol ou correção matemática (Sweeting et al. 2006; Skinner et al. 2016; Saini et al. 2021).

A análise de IEs pode ser realizada com diferentes tipos de tecido. O sangue é um tecido bastante utilizado em estudos de ecologia trófica e pode ser separado em células vermelhas e plasma ou soro (Boecklen et al. 2011). A diferença entre plasma e soro se dá pelo modo de tratamento da amostra durante a coleta que, no caso do plasma, é armazenado em tubo com anticoagulante, enquanto o soro é obtido com a coagulação natural do sangue (Hoye 2012). As células vermelhas apresentam alta taxa de renovação isotópica e refletem a dieta recente do animal, abrangendo um período de até 4 semanas, enquanto o soro reflete um período ainda mais recente, de apenas alguns dias (~4 dias) (Hahn et al. 2012). Isso torna possível utilizar a mesma amostra para obter informações sobre a dieta do organismo em dois períodos diferentes (Hoye 2012). Já as penas totalmente crescidas, que são tecidos inertes pois não recebem mais sangue, representam a dieta do período de formação deste tecido, abrangendo um período de semanas até meses anterior à coleta (Bearhop et al. 2002).

Apesar de ser muito comum na análise de IEs, a obtenção desses tipos de amostras biológicas demanda a captura e manipulação do organismo e, por isso, pode não ser viável em determinadas situações por ser uma metodologia invasiva e estressante para o animal (Barret et al. 2007). Foi sugerido que o muco que envolve os pellets de algumas aves, como os biguás, pode funcionar como uma amostra alternativa ao sangue para as análises de isótopos estáveis e, apesar de não se ter conhecimento da sua taxa de renovação, acredita-se que é curta pelo fato de a maioria das aves produzirem apenas um pellet por dia (Morgenthaler et al. 2022). Além de se tratar de uma amostra que pode ser obtida de forma não invasiva e em grande quantidade, é útil para os casos em que não é possível capturar as aves para obter amostras de tecidos biológicos e pode ser utilizada em estudos comparativos de segregação trófica ou estruturação trófica dentro das comunidades (Morgenthaler et al. 2022). A possibilidade de uso do muco tem sido pouco explorada em estudos prévios e, de acordo com Morgenthaler et al. (2022), a membrana coilina é o material que envolve os pellets do cormorão-imperial (*Leucocarbo atriceps*). A membrana coilina (ou cutícula gástrica) é uma camada de revestimento protetor não queratinoso presente no ventrículo e é composta por uma mistura de carboidratos e proteínas. A sua formação se dá pela secreção de glândulas tubulares com células descamadas e detritos celulares, que ocorre de maneira contínua por ser desgastada constantemente pelos ácidos e enzimas provenientes do proventrículo (Marshall 2013;

Kim et al. 2016; Lovette & Fitzpatrick 2016). Porém, o muco que envolve o pellet é composto por secreções para facilitar a egestão das estruturas rígidas não digeridas após cada refeição (Lovette & Fitzpatrick 2016).

Áreas de estudo, aves e ictiofauna da região

A primeira área de estudo, representando o ambiente estuarino, está situada no estuário da Lagoa dos Patos, no Rio Grande do Sul, sul do Brasil (Figura 5, pontos A e B). A Lagoa dos Patos é considerada a maior laguna do tipo estrangulada do mundo (~10.000 km^2) e é conectada ao Oceano Atlântico por um canal estreito de 22 km de comprimento que forma uma região estuarina de águas salobras (~970 km^2) (Seeliger & Odebrecht 2010). O aporte de água doce da lagoa é influenciado principalmente pelo Rio Jacuí, no interior do estado, pelos afluentes da Lagoa Mirim e rios da parte norte da planície costeira do RS (Möller & Fernandes 2010). A hidrodinâmica da lagoa é dependente das interações da descarga fluvial e da ação dos ventos que influenciam as condições físico-químicas da água, o nível, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes das águas da região estuarina (Moller & Fernandes 2010). A variação na descarga de água continental e na precipitação é influenciada pelo fenômeno *El Niño*-Oscilação Sul, que intercala entre fases de *El Niño* com chuvas intensas no verão e outono, e fases de *La Niña* marcadas por condições de estiagem (Seeliger et al. 1998; Seeliger & Odebrecht 2010). Sabe-se que estes eventos climáticos são responsáveis por algumas das alterações que ocorrem na composição de organismos e nos processos ecológicos do estuário (Seeliger et al. 1998; Haimovici & Cardoso 2017; Odebrecht et al. 2017).

Além da hidrodinâmica, a Lagoa dos Patos é um exemplo de ambiente que apresenta grande diversidade na comunidade de produtores primários, que varia ao longo de sua extensão e é influenciada pelas alterações na salinidade devido ao canal estuarino (Garcia et al. 2007; Costa & Marangoni 2010). A zona estuarina da lagoa é dominada pelas marismas (e.g., *Spartina*, *Juncus*, *Scirpus*) que em sua maioria apresentam plantas do ciclo fotossintético C4, enquanto as zonas de água-doce são dominadas por espécies com ciclo C3 (Costa & Marangoni 2010). Logo, espera-se que os ambientes límnicos, que são compostos em maior parte por produtores primários de ciclo fotossintético C3, tenham valores de $\delta^{13}C$ mais baixos quando comparados a ambientes com predominância de produtores primários de ciclo C4 (Garcia et al. 2007; Claudino et al. 2015).

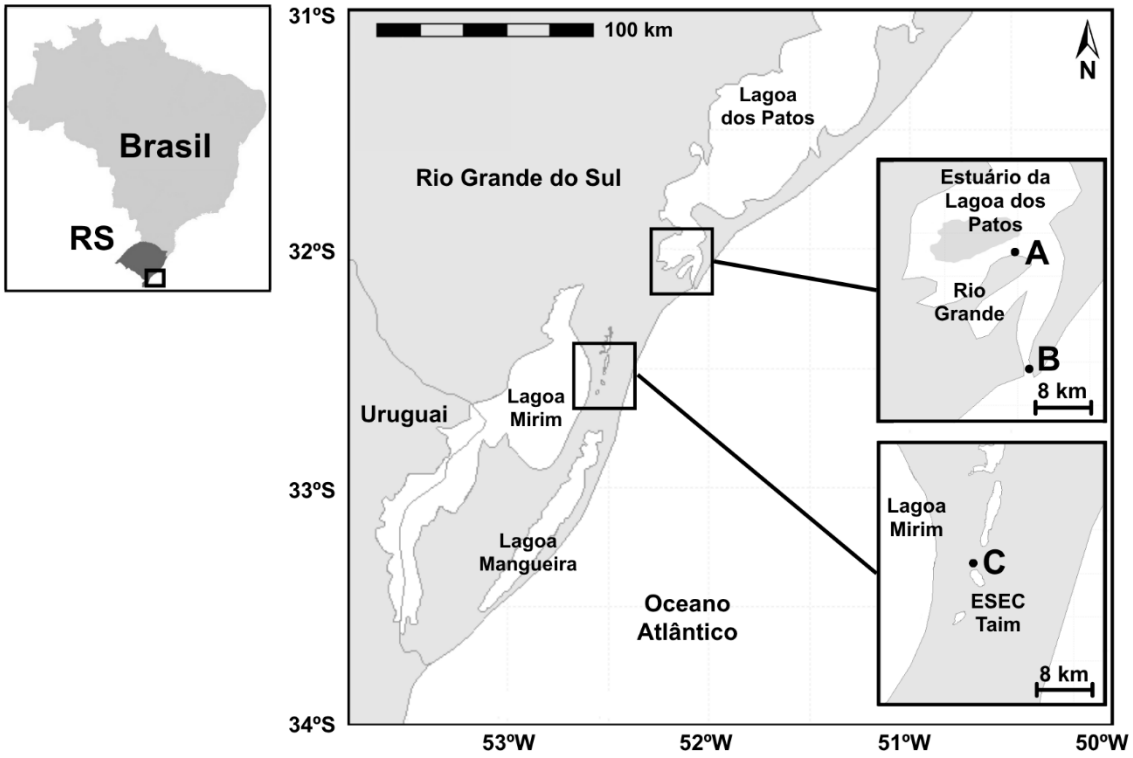


Figura 5. Localização das áreas de estudo destacando os pontos de amostragem no estuário da Lagoa dos Patos (A e B) e na Estação Ecológica do Taim (C), no sul do Brasil. Os pontos indicam os locais de coleta de pellets e captura de biguás (*Nannopterum brasilianum*).

Esta variabilidade ambiental reflete diretamente na fauna aquática. O estuário da Lagoa dos Patos desempenha um papel importante na economia local, sustentando as atividades pesqueiras artesanais e industriais com uma grande biodiversidade de peixes que o utilizam como zona de reprodução, criação e alimentação (Seeliger et al. 1998; Seeliger & Odebrecht 2010; Haimovici & Cardoso 2017). Mais de 150 espécies de peixes utilizam o estuário da Lagoa dos Patos para fins de alimentação, crescimento e refúgio (Fischer et al. 2011). O fluxo de peixes entre a zona marinha estuarina e límnica possibilita uma grande diversidade, mas poucas espécies dominam ao longo do ano todo na zona estuarina. Segundo Vieira et al. (1998), a maior parte da riqueza é composta por visitantes esporádicos. Pelo menos 140 espécies de peixes ósseos utilizam o estuário e a maioria é de origem marinha (58,5%), seguida por espécies de água doce (31,4%), 6,3% de espécies estuarinas (residentes ou dependentes do estuário para completar o ciclo de vida) e as diádromas, que migram entre água doce e salgada, representam 3,8% (Mai & Possamai 2022). Sabe-se que a área funciona como berçário para várias espécies de peixes que foram relatadas como presas dos biguás, como é o caso dos juvenis da corvina

(*Micropogonias furnieri*), da tainha (*Mugil liza*) e do peixe-rei (*Odonthestes argentinensis*). Os bagres marinhos da família Ariidae também utilizam o estuário no estágio juvenil como zona de alimentação e durante o período de reprodução (Fischer et al. 2011).

Nas margens rasas (< 1,5 m) do estuário os peixes são dependentes principalmente do carbono proveniente das macrófitas, enquanto nas zonas mais profundas a matéria orgânica sedimentar é a principal fonte de energia (Mont'Alverne et al. 2016). As assembleias de peixes presentes na área refletem as diferenças nos valores isotópicos citadas anteriormente, com valores de $\delta^{13}C$ mais baixos (de -24,7‰ até -17,8‰) nas zonas de água doce e maiores (de -19,1‰ até -12,3‰) na zona estuarina próximo à desembocadura do estuário da Lagoa dos Patos (Garcia et al. 2007). Porém, deve-se considerar que os valores de $\delta^{13}C$ na base da cadeia alimentar variam ao longo do ano, já que os valores podem ser mais baixos com uma maior quantidade de água doce ou aumentar, com a entrada de água salgada (Claudino et al. 2013).

Consequentemente, o estuário da Lagoa dos Patos torna-se um atrativo natural para uma rica e diversificada avifauna, que inclui espécies residentes, migratórias e endêmicas do Pampa e da Mata Atlântica (Dias et al. 2017). Pode haver variação na riqueza e composição de espécies de aves devido ao gradiente estuarino. As áreas na porção sul do estuário, por exemplo, estão sob forte influência marinha e de fatores abióticos como ventos fortes e flutuações na salinidade, o que limita a ocorrência de algumas espécies (Dias et al. 2017; Odebrecht 2017). As aves piscívoras podem apresentar alterações em sua dieta ao considerar que a ictiofauna do estuário também está sob a influência de alterações climáticas que afetam o regime hidrológico e a biodiversidade (Vieira et al. 2010; Haimovici & Cardoso 2017; Possamai et al. 2018).

A comunidade de aves piscívoras no estuário da Lagoa dos Patos inclui predadores de superfície, como o trinta-réis-de-coroa-branca (*Sterna trudeaui*) e o trinta-réis-boreal (*Sterna hirundo*) (Vooren 1998; Bugoni & Vooren 2004) e os talha-mares (*Rynchops niger*), espécies que consomem peixes pequenos (Naves & Vooren 2006). As gaivotas, como a gaivota-maria-velha (*Chroicocephalus maculipennis*), ocorrem em grandes quantidades ao redor da zona portuária e descargas de esgoto (Vooren 1998), já o gaivotão (*Larus dominicanus*) é mais frequente na praia do Cassino, mas pode utilizar as áreas na desembocadura do estuário, onde consomem os descartes de pesca contendo peixes demersais e bentônicos que não estão naturalmente disponíveis na superfície (Vooren 1998; Silva-Costa & Bugoni 2013). Já as garças forrageiam nas águas rasas das margens

do estuário (Faria et al. 2016). Dentre as aves piscívoras da região, os biguás (*Nannopterum brasilianum*) são abundantes no estuário e representam as principais aves predadoras de peixes demersais e bentônicos neste ambiente, visto que alcançam zonas mais profundas ao mergulhar para caçar as suas presas (Barquete et al. 2008b).

A segunda área de estudo, representando o ambiente límnico, está localizado na Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim) e áreas adjacentes (Figura 5, ponto C), na planície costeira do RS, e encontra-se entre os municípios de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar. A ESEC Taim faz parte da lista de sítios Ramsar da Convenção de Ramsar, reconhecida internacionalmente como uma área úmida de importância para a conservação e uso sustentável de recursos hídricos e ecossistemas aquáticos (Silva et al. 2021; Ramsar 2024). Além disso, é uma unidade de conservação federal do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e é a segunda maior área protegida do bioma Pampa no Brasil. Abrange uma área de ~32.700 hectares com banhados, lagoas, campos, dunas e matas em que as principais atividades econômicas são a orizicultura, pesca, pecuária, silvicultura e plantações de soja (Silva et al. 2021).

A ESEC Taim é composta por uma área em que predominam campos e extensas áreas de banhado influenciadas por lagoas interconectadas como as Lagoas Mirim, Mangueira, Nicola e Jacaré (Motta-Marques et al. 2013). Os corpos d'água são influenciados pela precipitação pluviométrica (1000 a 1500 mm anuais) e pela passagem de frentes frias, fatores determinantes na formação dos banhados e lagoas da região, formando uma extensa planície inundada durante os períodos de cheias (Motta-Marques et al. 2013). A Lagoa Mirim é o principal corpo d'água da parte sul da planície costeira, recebe água das chuvas de uma bacia de drenagem que é dividida em subbacias, sendo a Mangueira-Taim a que descarrega águas através dos arroios para o mar ou através de uma saída controlada por comportas no Banhado do Taim (Seeliger et al. 1998). Há uma interligação com a Lagoa dos Patos, por meio do Canal São Gonçalo, que é essencial para a manutenção da biodiversidade e dos fluxos hídricos entre essas áreas úmidas da região sul do Brasil e do Uruguai (Seeliger & Costa 2010; Oliveira et al. 2015). Tanto a Lagoa Mirim quanto a Lagoa Mangueira estão inseridas na bacia hidrográfica Mirim-São Gonçalo, além de serem influenciadas pelas bacias do Rio Camaquã e do Rio Jaguarão, contribuindo para a formação do complexo lagunar da ESEC Taim (Motta-Marques et al. 2013; Silva et al. 2021). Essas bacias desempenham um papel fundamental no fornecimento de água doce para o sistema de banhados e lagoas da região, além de influenciar diretamente os processos ecológicos da área (Seeliger et al. 1998).

Sabe-se que as áreas úmidas apresentam ecossistemas muito produtivos e são fundamentais por oferecerem habitat para uma grande variedade de espécies (Weller 1999; Accordi 2010). Os reservatórios de água doce da ESEC Taim oferecem um enorme potencial de recursos alimentares que são amplamente utilizados pelas aves aquáticas. Esta é uma área de importância como zonas de alimentação, reprodução e parada migratória com registro de mais de 220 espécies, incluindo espécies que se encontram na lista nacional de espécies ameaçadas de extinção (Mähler et al. 1996; Silva et al. 2021). Na ESEC Taim, grandes grupos de biguás (*N. brasilianum*) forrageiam no canal da Lagoa Mirim e banhados próximos (T. Backhaus, obs. pessoal). Este ambiente é compartilhado principalmente com aves que forrageiam em águas rasas como garças e colhereiros (Britto & Bugoni 2015; Faria et al. 2016), gaivota-maria-velha (*C. maculipennis*), joão-grande (*Ciconia maguari*), e aves herbívoras como cisnes-de-pescoço-preto (*Cygnus melancoryphus*) e capororoca (*Coscoroba coscoroba*) (Silva et al. 2021).

No bioma Pampa a ictiofauna de água doce é dominada pelas ordens Characiformes (lambaris, dourados, traíras e afins), Siluriformes (bagres e cascudos) e Gymnotiformes (peixes-elétricos), que juntos representam mais de 70% das espécies de peixes (Malabarba 2025). A ESEC Taim apresenta uma área úmida com um ecossistema único que sustenta grande diversidade biológica. Entre os peixes dominantes em suas lagoas destacam-se os caracídeos, compostos principalmente por lambaris dos gêneros *Astyanax*, *Cheirodon* e *Psalidodon*, além dos dentudos *Oligosarcus*. Também são abundantes os curimatídeos (birus) e os ciclídeos representados por carás e joanas (*Geophagus* e *Crenicichla*), além de bagres de água doce como mandis, pintados e jundiás (Pimelodidae e Heptapteridae) (Garcia et al. 2006b). Na porção nordeste da Lagoa Mirim, os lambaris *Cyanocharax alburnus* e *Astyanax fasciatus,* a sardinha-de-água-doce *Platanichthys platana*, o peixe-rei *Odontesthes mirinensis* e o biru *C. Voga* foram relatadas como as dominantes (Medvedosvky 2009; Ceni & Vieira 2013).

As principais fontes que sustentam a base da cadeia alimentar nas áreas úmidas são o perifíton, macrófitas, material particulado em suspensão e matéria orgânica do sedimento (Frost et al. 2002; Rodrigues et al. 2014). As macrófitas que compõem grande parte do sistema do Taim são uma importante fonte de carbono e apresentam valores de δ^{13}C de acordo com plantas que utilizam a via fotossintética C3 (entre –25 e –27 ‰) (Garcia et al. 2006a; Rodrigues et al. 2014). Os valores de δ^{13}C nos tecidos dos peixes (-24,30‰ a -28,31‰) também se encontram próximos aos das macrófitas aquáticas,

sugerindo que as plantas aquáticas (e a cadeia de detritos derivada delas) são a principal fonte que sustenta a biomassa de peixes nestes ambientes (Garcia et al. 2006a).

O biguá, *Nannopterum brasilianum*, como espécie desse estudo

A família Phalacrocoracidae é composta por sete gêneros e apresenta cerca de 40 espécies de aves aquáticas essencialmente piscívoras (Kennedy & Spencer 2014), conhecidas como biguás e cormorões ou corvos-marinhos. No Brasil, *Nannopterum brasilianum* (anteriormente *Phalacrocorax brasilianus*) é a única espécie de ave representante desta família. São popularmente conhecidos como biguás na Argentina, Brasil e Bolívia e apresentam ampla distribuição na região Neotropical, por isso o nome popular em inglês 'Neotropic cormorant' (Conde-Tinco & Iannacone 2013). Esta espécie encontra-se distribuída desde o sul dos Estados Unidos até o sul da América do Sul, e é um dos poucos representantes da família que ocupa tanto ambientes aquáticos continentais quanto ambientes marinhos (Telfair & Morrison 2022).

O nome *Nannopterum* originou-se da língua grega, combinando o termo *nannos*, que significa 'anão', com *pteron* que significa 'asa' (Telfair & Morrison 2022). Esse nome foi designado por causa do cormorão-das-galápagos (*N. harrisi*) devido ao pequeno tamanho e à perda da capacidade de voo por esta espécie, caracterizada por apresentar asas pequenas com rêmiges (penas de voo da asa) bem reduzidas (Kennedy et al. 2009). Este grupo monofilético é composto por três espécies que estão confinadas às Américas e Ilhas Galápagos e demonstra ser resultado de especiação alopátrica (Kennedy et al. 2009; Kennedy & Spencer 2014). Anteriormente, tanto *N. brasilianum* quanto *N. auritum* (da América do Norte) estavam classificados dentro do gênero *Phalacrocorax*, mas foram alterados para *Nannopterum* por estarem mais próximos filogeneticamente de *N. harrisi* (Kennedy & Spencer 2014; Chesser et al. 2021).

Em geral, *N. brasilianum* apresenta um porte médio com 63,5 a 68,5 cm de comprimento e ~100 cm de envergadura e pesam cerca de ~1,5 kg (del Hoyo et al. 2015). Os jovens possuem plumagem marrom e bico amarelado, enquanto os adultos apresentam coloração preta com tendência olivácea (Telfair & Morrison 2022). Esta espécie leva de dois a três anos para atingir a maturidade sexual e, em período reprodutivo, aparecem plumas brancas nas laterais da cabeça e as írises azuis tornam-se mais aparentes (del Hoyo et al. 2015).

Os biguás utilizam ambientes marinhos/costeiros, estuarinos e límnicos para forrageio (Sick 1997) e são abundantes em lagoas e banhados da planície costeira do RS

(T. Backhaus, obs. pessoal). O estuário da Lagoa dos Patos (RS) é uma importante área de alimentação para os biguás, que migram gradualmente entre junho e dezembro para se estabelecer na região e partem em meados de fevereiro/março de forma mais abrupta (Barquete et al. 2008a). A chegada gradual das aves está relacionada com o influxo de juvenis e adultos pós-reprodutivos vindos de colônias localizadas no interior do continente, e ocorrem variações mensais no número de indivíduos das populações do estuário (Barquete et al. 2008a). Sugere-se que o período em que as aves estão ausentes na região coincide com o período reprodutivo em abril de uma população dessa espécie em Santa Fé, na Argentina, e no delta do Rio Paraná, que desagua no Rio da Prata (Barquete et al. 2008a).

Ao monitorar biguás com rastreadores de tecnologia GSM (telefonia celular), os dados demonstram que a maioria dos indivíduos mantém-se utilizando amplamente a região estuarina, áreas como a Ilha da Pólvora, Torotama, Marinheiros, Saco da Mangueira, orla da Av. Henrique Pancada, margens de São José do Norte e o canal próximo à Barra de Rio Grande. Existem locais de dormitório conhecidos que são utilizados há muitos anos por *N. brasilianum* como, por exemplo, as árvores de duas pequenas ilhas no lago do Campus Carreiros, da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), a base da antiga torre de energia localizada em frente ao TECON, entre outras estruturas de concreto inativadas e bancos de areia (Barquete et al. 2008a; LAATM dados não publicados; Figura 6). Alguns indivíduos afastam-se mais da área de estudo e deslocam-se de 45 a 130 km para utilizar outras áreas ao longo da planície costeira do RS, como a barra da Lagoa do Peixe em Tavares, a porção oeste da lagoa próximo a São Lourenço do Sul, e o Canal São Gonçalo. Com relação aos movimentos migratórios da espécie, foram observados diferentes padrões durante o período reprodutivo. Os indivíduos que foram classificados como juvenis seguiram utilizando a região estuarina da Lagoa dos Patos, enquanto os adultos deslocaram-se até 200 km da área de estudo, em locais como o Parque Nacional da Lagoa do Peixe e a foz do Rio Camaquã, podendo ser considerados migrantes regionais por permanecer no sistema da Lagoa dos Patos. Ainda, houve indivíduos que migraram longas distâncias, entre 300 e 1400 km da área de estudo, para o Uruguai e Argentina, abandonando a área de estudo no outono e inverno para as suas áreas de reprodução no interior do continente (LAATM, dados não publicados).



Figura 6. Biguás (*Nannopterum brasilianum*) descansando em estrutura de concreto inativada onde os pellets foram coletados no estuário da Lagoa dos Patos em frente ao Molhe Leste em Rio Grande, no Rio Grande do Sul. Foto: Nema.

Sabe-se também que existem grandes populações de *N. brasilianum* utilizando a região da Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim), no sul do estado do RS. Embora não existam dados publicados sobre a distribuição ou dieta desta espécie no local, observou-se que estes grupos exploram diferentes áreas: enquanto alguns buscam alimento nas margens da Lagoa Mirim e canais próximos, outros frequentam a Lagoa Nicola, Lagoa Mangueira e banhados próximos (T. Backhaus e L. Bugoni, obs. pessoal; Figura 7). O início do canal ao lado da sede da ESEC Taim está próximo às comportas que regulam o escoamento de água, interligado com a Lagoa Nicola. Os bandos chegam ao amanhecer e, após os primeiros mergulhos de forrageio, descansam próximos às margens do canal ao longo do dia e utilizam as árvores dos banhados nos arredores como dormitório em alguns períodos do ano (T. Backhaus, obs. pessoal). Na Lagoa Mangueira, em Santa Vitória do Palmar, já foi registrada a nidificação dos biguás em um aglomerado de árvores na Ilha do Cardoso (equipe ESEC Taim, comunicação pessoal).



Figura 7. Biguás (*Nannopterum brasilianum*) alimentando-se no canal da Lagoa Mirim localizado na Estação Ecológica do Taim, no Rio Grande do Sul. Fotos: Márcio Repenning.

Com relação aos indivíduos rastreados na ESEC Taim, a maioria utilizou uma área restrita na região. Ao longo de um ano, indivíduos imaturos permaneceram nas proximidades do canal da Lagoa Mirim, ao lado da sede da ESEC Taim, mesmo durante o período reprodutivo. Outros indivíduos realizaram deslocamentos entre a porção nordeste da zona litorânea da Lagoa Mirim, porção norte da Lagoa Mangueira e arredores do Banhado do Taim. Apenas um indivíduo transmitiu ciclo anual completo, podendo ser considerado um migrante de média/longa distância, e este permaneceu um período na colônia da Lagoa Mangueira e depois deslocou-se pela porção oeste da Lagoa Mirim, em direção à região do Rio Negro no Uruguai (LAATM, dados não publicados).

A estratégia de muda (troca das penas) realizada por *N. brasilianum* é chamada alterna simples. Nesse padrão, o ciclo anual de um indivíduo adulto é composto por dois eventos de muda: uma muda pré-básica (pós-reprodutiva), que resulta na plumagem básica ou de descanso, e uma muda pré-alterna (antes da reprodução) que dá origem a plumagem alterna ou nupcial (Telfair & Morrison 2022). Na muda pré-básica ocorre a troca completa de todas as penas, enquanto na muda pré-alterna ocorre a troca parcial das penas de algumas partes do corpo, de maneira que as penas de voo da plumagem básica se mantêm, mas crescem penas mais pretas nas coberteiras do corpo e penas e fitoplumas predominantemente brancas aparecem nas laterais da cabeça e região auricular (Howell 2010; Telfair & Morrison 2022). O juvenil apresenta as penas com tons marrons claro e peitoral esbranquiçado e a primeira muda pré-básica pode ocorrer no primeiro ou segundo

ciclo de muda da vida do biguá, antes de iniciar esse padrão intercalando entre muda pré-básica e pré-alterna (Telfair & Morrison 2022).

Esta espécie apresenta hábito piscívoro, consumindo principalmente pequenos peixes, além de ocasionalmente consumir crustáceos, anfíbios, bivalves e insetos aquáticos (Sick 1997; del Hoyo et al. 2015). Já foi relatada a importância de peixes estuarinos/marinhos na dieta dessa espécie (Barquete et al. 2008b; Muñoz-Gil et al. 2013; Oliveira et al. 2019; Haubert 2019; Tette-Pomarico et al. 2020; Pimenta et al. 2026). No estuário da Lagoa dos Patos, a alimentação do biguá é composta principalmente pelas espécies demersais mais abundantes do local, como os juvenis de corvina (*Micropogonias furnieri*) e bagres marinhos (Ariidae) (Barquete et al. 2008b). Inclusive, as crescentes populações de aves que pertencem à Phalacrocoracidae trazem preocupação globalmente para a pesca artesanal e industrial, e para a aquicultura, mesmo que muitos estudos tenham sugerido que a predação de peixes pelos biguás não tem efeitos negativos sobre as populações de importância comercial (Zydelis & Kontautas 2008; Hobson 2009; Guevara et al. 2011; Casaux et al. 2012; Pimenta et al. 2024; Pimenta et al. 2026). Dessa forma, deve-se analisar a estrutura da cadeia alimentar e a dieta da espécie para compreender o seu papel e a potencial influência sobre as populações de peixes de um determinado ambiente (Doucette et al. 2011; Alarcón et al. 2012; Pimenta et al. 2024).

Geralmente, os biguás fazem a egestão do pellet uma vez ao dia, na madrugada, pouco antes de deixarem o dormitório para se alimentar e dispersam-se em bandos para as áreas de alimentação no início da manhã (Barquete et al. 2008a; Gheler-Costa et al. 2018). O pellet dos biguás possui formato levemente oval alongado e uma camada envoltória de muco grossa e característica da espécie quando comparada aos pellets de outras aves, podendo ser diferenciado por observação (T. Backhaus obs. pessoal). Esta espécie forrageia sozinha ou em grupos e apresenta pés totipalmados que lhe proporcionam a habilidade de propulsão para mergulhar e capturar as suas presas dentro da água, alcançando até 20 m de profundidade (Gheler-Costa et al. 2018). Após a alimentação, descansa com as asas abertas para auxiliar na secagem da plumagem e nos processos de termorregulação (Silva et al. 2018). Também foi sugerido que a posição de asas abertas ou 'wing spreading' pode ser um comportamento de exibição para demonstrar sucesso de forrageio (Jones 1978). No final de tarde, retornam para os locais de dormitório, geralmente locais de difícil acesso como árvores, torres elétricas, trapiches e rochas (Barquete et al. 2008a).

O biguá é uma ave predadora de topo da cadeia trófica conhecida pela alta plasticidade alimentar e que transita entre os ambientes aquáticos em busca de áreas com maior disponibilidade de presas, demonstrando o hábito oportunista da espécie (Barquete et al. 2008b; Pimenta et al. 2026). Morghenthaler et al. (2025) também descrevem *N. brasilianum* como uma espécie oportunista que ocupa uma posição trófica elevada ao comparar com outras espécies da família (*Poikilocarbo gaimardi*, *Leucocarbo magellanicus*, *L. atriceps*) que coexistem no sul da Patagônia Argentina. Barquete et al. (2008b) considera que os biguás apresentam comportamento generalista ao nível de espécie e um comportamento especialista em nível individual ou da população local. Embora já existam alguns estudos que descrevem a dieta da espécie na região sul do Brasil (Barquete et al. 2008b; Haubert 2019; Oliveira et al. 2019; Pimenta et al. 2026) são poucos dados sobre as grandes populações que utilizam a planície costeira do sul do RS. Além disso, no extremo sul do estado os estudos são baseados em coletas realizadas há 20 anos e são restritos aos ambientes estuarinos (Barquete et al. 2008a).

Devido à elevada abundância e tamanho corporal grande, o biguá tem potencial para desempenhar um papel importante como consumidor ao efetuar o controle das populações de suas presas, assim como no transporte de nutrientes entre os diversos ambientes aquáticos que utiliza (Barquete et al. 2008b; Pimenta et al. 2026). A comparação da dieta de *N. brasilianum* em diferentes ambientes como, por exemplo, estuarino e límnico, pode fornecer informações sobre a ecologia trófica desta ave, as interações ecológicas que ocorrem entre os ecossistemas aquáticos e sua dinâmica, ao demonstrar quais são as espécies predadas. Além disso, é importante compreender como o biguá influencia os processos ecossistêmicos dos ambientes aquáticos ao realizar deslocamentos entre ambientes com assinaturas isotópicas distintas. Nesse contexto, busca-se entender o papel dessa espécie através das diferenças na sua dieta em ambientes distintos, trazendo informações sobre a estrutura trófica e o funcionamento do ecossistema como um todo.

Técnicas utilizadas para a captura das aves

Atualmente existem diferentes métodos de captura de aves e a escolha deve levar em consideração o comportamento da espécie-alvo, o tipo de ambiente e os objetivos da pesquisa (Sousa & Serafini 2020). Ao longo do estudo, as capturas foram realizadas com dois tipos de armadilha: armadilhas de náilon e redes de neblina. As armadilhas de náilon são baseadas no modelo conhecido como “Verbail trap” (Bloom et al. 2007; Jahn et al.

2021), porém foram adaptadas para a captura da espécie deste estudo. Os locais escolhidos para testar as armadilhas foram aqueles utilizados como área de descanso, que foram monitorados previamente, como trapiches e poleiros. Esta armadilha consiste em uma base reta de madeira onde encaixa-se um pequeno gatilho amarrado à um fio de náilon com nós corrediços, de maneira que o laço fecha-se em torno do tarso ou dedo da ave quando esta pousa sobre a armadilha, permitindo sua contenção (Roos 2010; Sousa & Serafini 2020; Figura 8). Os laços foram feitos em tamanhos maiores para garantir o disparo efetivo quando o indivíduo pousa sobre a estrutura, já que estes apresentam pés totipalmados grandes. Frequentemente, os indivíduos permanecem pousados sobre a armadilha por longos períodos e o sucesso da captura é confirmado no momento da tentativa de voo, exigindo horas de observação e monitoramento constante. Além disso, a exposição contínua ao sol e/ou chuva exige a manutenção diária e substituição de elásticos e fios para evitar o rompimento do material.

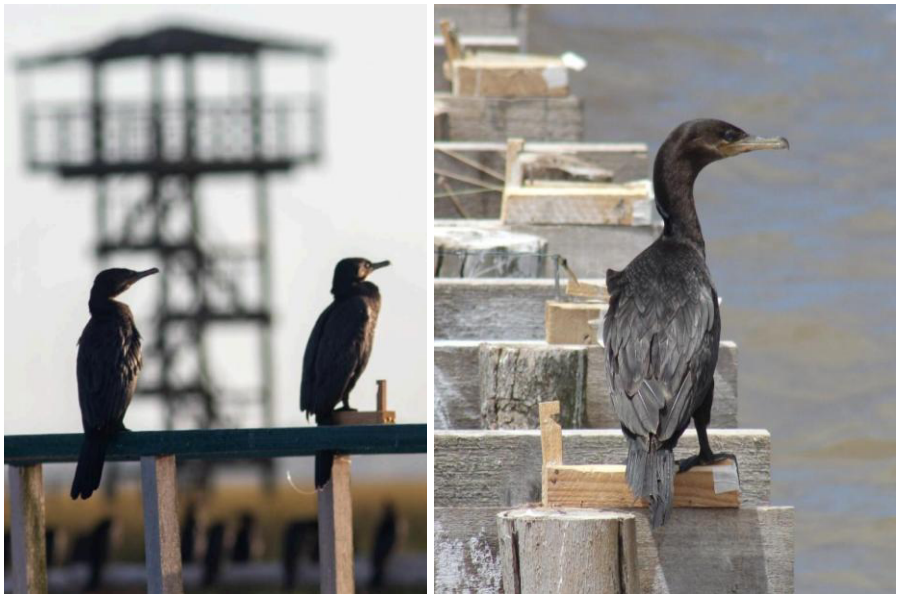


Figura 8. Biguás (*Nannopterum brasilianum*) pousados em armadilhas de náilon adaptadas instaladas em trapiches utilizados para descanso. Fotos: Fernando Faria (esquerda) e Natália Gularte (direita).

As redes de neblina foram utilizadas para captura dos biguás tanto no ambiente estuarino quanto no ambiente límnico. Este método de amostragem é muito utilizado devido à praticidade, eficiência e segurança, porém as taxas de captura variam muito entre as espécies (Roos 2010). O material que compõem as redes de neblina pode ser náilon ou poliéster, e são chamadas assim pois quando montadas corretamente a malha fina torna-

se quase invisível, facilitando a captura. A rede é fixada no chão com cordas amarradas que ligam as suas extremidades a hastes verticais, conferindo-lhe sustentação e formando bolsas onde as aves ficam presas ao bater em voo na rede (Roos 2010; Sousa & Serafini 2020). No estuário da Lagoa dos Patos os esforços foram realizados na Ilha da Pólvora, onde redes adaptadas para a espécie foram instaladas paralelamente ao trapiche em que as aves permanecem ao longo do dia para descanso (Figura 9). Ainda, foram armadas três redes simultaneamente para aumentar a eficiência e o esforço de captura. A baixa profundidade da água no local permitiu o acesso e manuseio das redes a pé, facilitando a instalação e retirada das aves. Na ESEC Taim, as redes foram dispostas transversalmente na parte mais estreita do canal adjacente à Sede da ESEC Taim, que se conecta à Lagoa Mirim (Figura 10). Devido à maior profundidade do canal, foi necessária a utilização de um caiaque para montar as redes e para fazer a remoção das aves capturadas. Em ambos os locais, as redes foram abertas durante a madrugada e revisadas periodicamente, com as capturas ocorrendo em diferentes horários ao longo do dia.



Figura 9. Imagem de satélite da Ilha da Pólvora (A), no estuário da Lagoa dos Patos, sul do Brasil. Os traços vermelhos indicam os pontos em que as redes de neblina (B) foram instaladas. (C) Detalhe de biguá capturado. Fotos: Google Earth (A) e Carlos Eduardo Soares (B, C).



Figura 10. Imagem de satélite (A) e foto (B) do canal da Lagoa Mirim ao lado da sede da Estação Ecológica do Taim, no Rio Grande do Sul. O traço vermelho indica o local em que a rede de neblina foi instalada. Fotos: Google Earth (A) e Talita Backhaus (B).

OBJETIVOS

Objetivo geral

Descrever e comparar a ecologia trófica do biguá, *Nannopterum brasilianum*, em ambiente límnico e estuarino na planície costeira do Rio Grande do Sul.

Objetivos específicos

(1) Identificar as espécies e estimar o comprimento e massa dos peixes encontrados nos pellets do biguá no estuário da Lagoa dos Patos (ambiente estuarino) e na Estação Ecológica do Taim (ambiente límnico);

(2) Determinar os valores de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ nas amostras de sangue e penas totalmente crescidas para estimar a contribuição de diferentes fontes alimentares (marinhas, estuarinas e límnicas) na dieta nos dois ambientes amostrados;

(3) Calcular a amplitude de nicho trófico e isotópico dos biguás em cada ambiente;

(4) Testar o uso do muco dos pellets de *N. brasilianum* como uma alternativa em análises de IEs para a caracterização da dieta de aves piscívoras, comparando-o com os valores de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ das células vermelhas e do soro sanguíneo.

HIPÓTESES

(1) A dieta representada pelos pellets dos biguás será composta pelos peixes mais comuns de cada ambiente. No estuário da Lagoa dos Patos a dieta terá alta proporção de peixes estuarinos e marinhos, como os juvenis da corvina (Sciaenidae), bagres (Ariidae), manjubas (Engraulidae) e tainhas (Mugilidae). Já as amostras do ESEC Taim terão alta proporção de peixes límnicos, como os lambaris (Characidae), jundiás e bagres (Pimelodidae), ciclídeos (Cichlidae) e peixes-rei (Atherinopsiidae);

(2) Em relação às amostras de sangue, espera-se valores de IEs de carbono mais altos para as amostras do estuário da Lagoa dos Patos com maior contribuição de fontes estuarinas e marinhas, enquanto nas amostras da ESEC Taim espera-se maior contribuição de fontes límnicas, com valores de IEs de carbono mais baixos quando comparados aos do estuário. Já para as amostras de penas espera-se valores de IEs de carbono próximos de ambientes límnicos, que refletem a dieta de um período anterior, durante o período pós-reprodutivo dos biguás no interior do continente;

(3) Espera-se que os biguás do ambiente estuarino apresentem maior amplitude de nicho trófico em relação aos do ambiente límnico, devido ao maior fluxo de espécies, marinhas e límnicas, no estuário. Espera-se que vários itens alimentares sejam encontrados na dieta, mas que poucos sejam usados com alta frequência;

(4) Espera-se que os valores de IEs do muco do pellet sejam próximos aos valores dos IEs do soro, já que ambos devem ser representativos da dieta recente da ave.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Accordi, I.A. 2010. Pesquisa e conservação de aves em áreas úmidas. In: Ornitologia e Conservação: Ciência Aplicada, Técnicas de Pesquisa e Levantamento. Von Matter, S., F.C. Straube, I.A. Accordi, V. Piacentini & J.F. Candido-Júnior (Eds.). Technical Books, Rio de Janeiro.

Alarcón P.A.E., P.J. Macchi, A. Trejo & M.F. Alonso MF. 2012. Diet of the Neotropical cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in a Patagonian freshwater environment invaded by exotic fish. Waterbirds 35:149–153.

Barquete, V., C.M. Vooren & L. Bugoni. 2008a. Seasonal abundance of the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) at Lagoa dos Patos Estuary, southern Brazil. Hornero 23: 15–22.

Barquete, V., L. Bugoni & C.M. Vooren. 2008b. Diet of Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in an estuarine environment. Marine Biology 153: 431–443.

Barret, R.T., K. Camphuysen, T. Anker-Nilssen, J.W. Chardine, R.W. Furness, S. Garthe, O. Huppop, M.F. Leopold, W.A. Montevecchi & R.R. Veit. 2007. Diet studies of seabirds: a review and recommendations. ICES Journal of Marine Science 64: 1675–1691.

Bastos, R.F., M.V. Condini, R.F. Barbosa, R.L. Oliveira, L.L. Almeida, A.M. Garcia & M. Hostim-Silva. 2024. Seeing further into the early steps of the endangered Atlantic goliath grouper (*Epinephelus itajara*): eye lenses high resolution isotopic profiles reveal ontogenetic trophic and habitat shifts. Marine Environmental Research 198, 106517.

Bearhop, S., C.E. Adams, S. Waldron, R.A. Fuller & H. Macleod. 2004. Determining trophic niche width: A novel approach using stable isotope analysis. Journal of Animal Ecology 73: 1007–1012.

Bearhop, S., D.R. Thompson, R.A. Phillips, S. Waldron, K.C. Hamer, C.M. Gray, S.C. Votier, B.P. Ross & R.W. Furness. 2001. Annual variation in Great Skua diets: the importance of commercial fisheries and predation on seabirds revealed by combining dietary analyses. Condor 103: 802–809.

Bearhop, S., S. Waldron, S.C. Votier & R.W. Furness. 2002. Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. Physiological and Biochemical Zoology 75: 451–458.

Begon, M. & C.R. Townsend. 2023. Ecologia: de Indivíduos a Ecossistemas - 5ª Edição. Editora Artmed, Porto Alegre.

Bloom, P.H., W.S. Clark & J.W. Kidd. 2007. Capture techniques. In Raptor Research and Management Techniques. Bildstein, K.L. & D.M. Bird (Eds.). Hancock House, Surrey, BC, Canada.

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

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

Borges-Ramírez, M. M., G. Escalona-Segura, E. Huerta-Lwanga, E. Iñigo-Elias & J. Rendón-von Osten. 2021. Organochlorine pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, metals and metalloids in microplastics found in regurgitated pellets of black vulture from Campeche, Mexico. Science of the Total Environment 801: 149674.

Britto, V.O. & L. Bugoni. 2015. The contrasting feeding ecology of great egrets and roseate spoonbills in limnetic and estuarine colonies. Hydrobiologia 744: 187–210.

Brugger, K.E. 1993. Digestibility of three fish species by double-crested cormorants. Condor 95: 25–32.

Bugoni, L. & C.M. Vooren. 2004. Feeding ecology of the common tern *Sterna hirundo* in a wintering area in southern Brazil. Ibis 146: 438–453.

Bugoni L., T.D. Cormons, A.W. Boyne & H. Hays. 2005. Feeding grounds, daily foraging activities, and movements of common terns in southern Brazil, determined by radio-telemetry. Waterbirds 28: 468–477.

Campana, S.E. 2005. Otolith science entering the 21st Century. Marine and Freshwater Research 56: 485–495.

Casaux R., A. Ramón, M.A. Tartara, V. Borrell & R. Gonc. 2012. Diet of breeding Neotropic cormorants at the Carrileufu River, Patagonia: Is there any impact on recreational fish resources? Ardeola 59: 279–289.

Ceni, G., & Vieira, J. P. 2013. Looking through a dirty glass: how different can the characterization of a fish fauna be when distinct nets are used for sampling? Zoologia 30: 499–505.

Chesser, R.T., S.M. Billerman, K.J. Burns, C. Cicero, J.L. Dunn, B.E. Hernández-Baños, A.W. Kratter, I.J. Lovette, N.A. Mason, P.C. Rasmussen, J.V. Remsen, D.F. Stotz & K. Winker. 2021. Sixty-second supplement to the American Ornithological Society's check-list of North American birds. Ornithology 138: ukab037.

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

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

Colwell, R.K. & D.J. Futuyma. 1971. On the measurement of niche breadth and overlap. Ecology 52: 567–576.

Conde-Tinco, M.A. & J. Iannacone. 2013. Bioecology of *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin, 1789) (Pelecaniformes: Phalacrocoracidae) in South America. Biologist 11: 151–166.

Costa, C.S.B. & J.C. Marangoni. 2010. As comunidades das marismas. In: Seeliger, U. & C. Odebrecht (Eds.) 2010. O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. Rio Grande, FURG.

del Hoyo, J., A. Elliott, J. Sargatal, D.A. Christie & E. de Juana. 2015. Handbook of the Birds of the World Alive. Barcelona, Lynx Editions.

Dias, R.A., G.N. Maurício & L. Bugoni. 2017. Birds of the Patos Lagoon estuary and adjacent coastal waters, southern Brazil: Species assemblages and conservation implications. Marine Biology Research 13: 108–120.

Doucette, J.L., B. Wissel & C.M. Somers. 2011. Cormorant-fisheries conflicts: stable isotopes reveal a consistent niche for avian piscivores in diverse food webs. Ecological Applications 21: 2987–3001.

Drewitt, E. 2024. Bird Pellets: A Complete Photographic Guide. London, Pelagic Publishing.

Duke, G.E., O.A. Evanson & A. Jegers. 1976. Meal to pellet intervals in 14 species of captive raptors. Comparative Biochemistry & Physiology 53: 1–6.

Ellis, H.I. & G.W. Gabrielsen. 2002. Energetics of free-ranging seabirds. In Schreiber, E. A. & J. Burger (eds), Biology of Marine Birds. CRC Press, Boca Raton, p. 359–407.

Faria, F.A., A. Silva-Costa, D. Gianuca & L. Bugoni. 2016. Cocoi heron (*Ardea cocoi*) connects estuarine, coastal, limnetic and terrestrial environments: an assessment based on conventional dietary and stable isotope analysis. Estuaries and Coasts 39: 1271–1281.

Fernald, R.D. 1990. The optical system of fishes. In: Douglas, R. & M. Djamgoz (Eds.). The Visual System of Fish. Chapman and Hall, London.

Fischer, L.C., L.E.D. Pereira & J.P. Vieira. 2011. Peixes Estuarinos e Costeiros - 2ª edição. FURG, Rio Grande.

Frost, P.C., R.S. Stelzer, G.A. Lambert & J.J. Elser. 2002. Ecological stoichiometry of trophic interactions in the benthos: understanding the role of C:N:P ratios in lentic and lotic habitats. Journal of the North American Benthological Society 21: 515–528.

Fry, B. 2006. Stable Isotope Ecology. Springer, New York.

Furness, R.W. & J.J.D. Greenwood. 1993. Birds as Monitors of Environmental Change. London, Chapman and Hall.

Gagliardi, A., A. Martinoli, L. Wauters & G. Tosi. 2003. A floating platform: a solution to collecting pellets when cormorants roost over water. Waterbirds 26: 54 –55.

Garcia, A.M., D.J. Hoeinghaus, J.P. Vieira & K.O. Winemiller. 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. Estuarine, Coastal and Shelf Science 73: 399–408.

Garcia, A.M., D.J. Hoeinghaus, J.P. Vieira, K.O. Winemiller, D.M.L. Motta-Marques & M.A. Bemvenuti. 2006a. Preliminary examination of food web structure of Nicola Lake (Taim Hydrological System, south Brazil) using dual C and N stable isotope analyses. Neotropical Ichthyology 4: 279–284.

Garcia, A.M., M.A. Bemvenuti, J.P. Vieira, D.M.L. Motta-Marques, M.D.M. Burns, A. Moresco & M.V.L. Condini. 2006b. Checklist comparison and dominance patterns of the fish fauna at Taim Wetland, South Brazil. Neotropical Ichthyology 4: 261–268.

Garvey, J.E. & M.R. Whiles. 2016. Trophic Ecology. Boca Raton, CRC Press, Taylor & Francis.

Gheler-Costa C., F.H. Comin, L.C. Gilli & L.M. Verdade. 2018. Foraging behavior of Brazilian cormorant, *Nannopterum brasilianus* (Suliformes: Phalacrocoracidae). Zoologia 35: e14664.

Green, A.J. & J. Elmberg. 2014. Ecosystem services provided by waterbirds. Biological Reviews 89: 105–122.

Green, A.J., Á. Lovas-Kiss, C. Reynolds, E. Sebastián-González, G.G. Silva, C.H.A. van Leeuwen & D.M. Wilkinson. 2023. Dispersal of aquatic and terrestrial organisms by waterbirds: a review of current knowledge and future priorities. Freshwater Biology 68: 173–190.

Grimm, R.J. & W.M. Whitehouse. 1963. Pellet formation in a great horned owl: a roentgenographic study. Auk 80: 301–306.

Guevara, E.A., Santander-G T., T. Mueces, K. Terán & P.-Y. Henry. 2011. Population growth and seasonal abundance of the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) at Highland Lakes in Ecuador. Waterbirds 34: 499–503.

Haimovici, M & L.G. Cardoso. 2017. Long-term changes in the fisheries in the Patos Lagoon Estuary and adjacent coastal waters in southern Brazil. Marine Biology Research 13: 135–150.

Haimovici, M., L.S. Rodrigues, S.H.B. Lucato, M.A. Freire, L.G. Fischer & L.G. Cardoso. 2024. Otolith atlas for marine fishes of the southwestern Atlantic occurring along southern Brazil (28° S–34° S). Marine and Fishery Sciences 37: 53–207.

Hahn T.O., B.J. Hoye, H. Korthals & M. Klaassen. 2012. From food to offspring down: tissue-specific discrimination and turnover of stable isotopes in herbivorous waterbirds and other avian foraging guilds. PLoS ONE 7:e30242.

Haubert, G. 2019. Ecologia alimentar do biguá *Nannopterum brasilianus* (Aves:Phalacrocoracidae) em um estuário subtropical do Sul do Brasil. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado. Disponível em: https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/212837/001105704.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Hobson, K.A. 2009. Trophic interactions between cormorants and fisheries: towards a more quantitative approach using stable isotopes. Waterbirds 32: 481–490.

Howell, S. 2010. Molt in North American Birds. Houghton Mifflin Harcourt, Boston, NY, USA.

Hutchinson, G.E. 1957. Concluding remarks. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 22: 415–427.

Hoye, B.J. 2012. Variation in postsampling treatment of avian blood affects ecophysiological interpretations. Methods in Ecology and Evolution 3:162–167.

Inger, R. & S. Bearhop. 2008. Applications of stable isotope analyses to avian ecology. Ibis 150: 447–461.

Jahn, A.E., E. Buechley, L. Bugoni, J. Cereghetti, M. Repenning, P.P. Marra & T.B. Ryder. 2021. Variable seasonal movement dynamics among individual snail kites (*Rostrhamus sociabilis*) in South America. Journal of Raptor Research 55: 151–168.

Jobling, M. & A. Breiby. 1986. The use and abuse of fish otoliths in studies of feeding habits of marine piscivores. Sarsia 71: 265–274.

Johnstone, I.G., M.P. Harris, S. Wanless & J.A. Graves. 1990. The usefulness of pellets for assessing the diet of adult shags *Phalacrocorax aristotelis*. Bird Study 37: 5–11.

Jones, P.J. 1978. A possible function of "wing-drying" posture in the red cormorant *Phalacrocorax africanu*s. Ibis 120: 540–542.

Kalish, J.M., R.J. Beamish, E.B. Brothers, J.M. Casselman, R.I.C.C. Francis, H. Mosegaard, J. Panfili, E.D. Prince, R.E. Thresher, C.A. Wilson & P.J. Wright. 1995. Glossary for otolith studies. In: Secor, D.H., J.M. Dean & S.E. Campana (Eds.). Recent Developments in Fish Otolith Research. University of South Carolina Press, Hilton Head.

Karnovsky, N.J., K.A. Hobson & S.J. Iverson. 2012. From lavage to lipids: estimating diets of seabirds. Marine Ecology Progress Series 451: 263–284.

Kennedy, M. & H.G. Spencer. 2014. Classification of the cormorants of the world. Molecular Phylogenetics and Evolution 79: 249–257.

Kennedy, M., C.A. Valle & H.G. Spencer. 2009. The phylogenetic position of the Galápagos cormorant. Molecular Phylogenetics and Evolution 51: 94–98.

Kim H.K., C.Y. Choi, M.S. Jeong, H.Y. Kang & W.S. Lee. 2016. Regurgitation of the koilin layer in chinstrap penguins (*Pygoscelis antarcticus*) and its association with gastric parasites. Polar Research 35:25966.

Krebs, C.J. 1989. Ecological Methodology. Harper & Row, New York.

Levins, R. 1968. Evolution in Changing Environments. Princeton, Princeton University Press.

Lovette, I. & J.W. Fitzpatrick. 2016. Cornell Lab of Ornithology's Handbook of Bird Biology - Third edition. Wiley-Blackwell, New Jersey.

Mähler JR. J.K.F., A. Kindel & E.A.I. Kindel. 1996. Lista comentada das espécies de aves da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Biologica Leopoldensia 18: 69–103.

Mai, A.C.G. & B. Possamai. 2022. Categorizing estuarine fish assemblages in the Warm Temperate Southwestern Atlantic Province: the case of Patos Lagoon Estuary, Brazil. Regional Studies in Marine Science 54: 102482.

Malabarba, L.R. 2025. Peixes do Pampa. Guias de Espécies da Fauna e Flora do Bioma Pampa. TheMediaGroup, Rio Grande do Sul.

Mansfield, I., S.J. Reynolds, I. Lynch, T.J. Matthews & J.P. Sadler. 2024. Birds as bioindicators of plastic pollution in terrestrial and freshwater environments: a 30-year review. Environmental Pollution 348: 123790.

Marshall, A.J. 2013. Biology and Comparative Physiology of Birds - vol I. Academic Press, Cambridge.

Martinelli, L.A., J.P.H.B. Ometto, E.S. Ferraz, R.L. Victoria, P.B. Camargo & M.Z. Moreira. 2009. Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis. Oficina de textos, São Paulo.

Medvedovsky, I.G. 2009. Análise comparativa da composição de espécies e da estrutura das associações de peixes das zonas rasas das lagoas do Sistema Hidrológico do Taim e da porção nordeste da Lagoa Mirim - RS/Brasil. Rio Grande, Universidade Federal do Rio Grande. Dissertação de Mestrado.

Michalik, A., R.A. McGill, H.J. Van Noordwijk, J.F. Masello, R.W. Furness, T. Eggers & P. Quillfeldt. 2012. Stable isotopes reveal variable foraging behaviour in a colony of the imperial shag *Phalacrocorax atriceps*: differences between ages, sexes and years. Journal of Ornithology 154: 239–249.

Möller, O. & E. Fernandes. 2010. Hidrologia e hidrodinâmica. In: Seeliger, U. & C. Odebrecht (Eds.) 2010. O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. Rio Grande, FURG.

Mont'Alverne, R., P.E.R. Pereyra & A.M. Garcia. 2016. Trophic segregation of a fish assemblage along lateral depth gradients in a subtropical coastal lagoon revealed by stable isotope analyses. Journal of Fish Biology 89: 770–792.

Morgenthaler, A., A. Millones, P. Gandini & E. Frere. 2020. The diet of adult and chick rock shags (*Phalacrocorax magellanicus*) inferred from combined pellet and stable isotope analyses. Polar Biology 43: 511–521.

Morgenthaler, A., A. Millones, P. Gandini & E. Frere. 2022. Diet of adult and immature imperial cormorants, *Leucocarbo atriceps*, from southern Patagonia. A combined dietary approach and an exploratory analysis of stable isotopes of pellet membrane. Polar Biology 45: 1529–1539.

Morgenthaler, A., A. Millones, P. Gandini, D. Procopio & E. Frere. 2025. Sympatric seabirds: exploring multidimensional niche partitioning among four cormorant species. Marine Ecology Progress Series 752: 169–186.

Motta-Marques, D.M., L.R. Rodrigues, C.R.J. Fragoso, L. Crossetti, L.S. Cardoso, W. Collischonn, R. Tassi, N.H. They, M. Bemvenuti, A. Garcia, J.P. Vieira, E.B.

Canterle, M.A. Cardoso, V. Becker, V. Gazulha, J.M. Bravo, R. Souza, C. Volkmer-Ribeiro, V.L. Callegaro, S. Alves-Da-Silva, V. Werner, Z. Rosa, A. Villanueva, A. Moresco, M.V. Condini, M. Burns & N. Würdig. 2013. O sistema hidrológico do Taim. In: Tabarelli, M., C.F.D. Rocha, H.P. Romanowski, O. Rocha & L.D. Lacerda (Eds.). PELD CNPq: Dez Anos do Programa de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração do Brasil: Achados, Lições e Perspectivas. Ed. Universitária da UFPE.

Muñoz-Gil, J., G. Marin-Espinoza, J. Andrade-Vigo, R. Zavala & A. Mata. 2013. Trophic position of the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*): Integrating diet and stable isotope analysis. Journal of Ornithology 154: 13–18.

Muntz, W.R.A. 1990. Stimulus, environment and vision in fishes. In: Douglas, R. & M. Djamgoz (Eds.). The Visual System of Fish. Chapman and Hall, London.

Navarro, A.B., M. Magioli, M.Z. Moreira & L.F. Silveira. 2022. Perspectives and challenges on isotopic ecology of terrestrial birds in Brazil. Zoologia 39: e21023.

Naves, L.C. 1999. Ecologia alimentar do talha-mar *Rhynchops nigra* (Aves: Rhynchopidae) na desembocadura da Lagoa dos Patos. Rio Grande, Universidade Federal do Rio Grande. Dissertação de Mestrado.

Naves, L.C. & C.M. Vooren. 2006. Diet of black skimmers in southern Brazil. Waterbirds 29: 335–344.

Newsome, S.D., C.M. Del-Rio, S. Bearhop, & D.L. Phillips. 2007. A niche for isotopic ecology. Frontiers in Ecology and the Environment 5: 429–436.

Nielsen, J.M., E.L. Clare, B. Hayden, M.T. Brett & P. Kratina. 2018. Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. Methods in Ecology and Evolution 9: 278–291.

Nogueira-Neto, P. 1993. Do Taim ao Chuí – da Barra do Rio Grande as Terras e Águas do Arroio Chuí. Empresas das Artes, São Paulo.

Odebrecht, C., E.R. Secchi, PC. Abreu, J. H. Muelbert, & F. Uiblein. 2017. Biota of the Patos Lagoon estuary and adjacent marine coast: long-term changes induced by natural and human-related factors. Marine Biology Research 13: 3–8.

Oehm, J., B. Thalinger, S. Eisenkolbl & M. Traugott. 2017. Diet analysis in piscivorous birds: What can the addition of molecular tools offer? Ecology and Evolution 7: 1984–1995.

Oliveira, H.A., E.H.L. Fernandes, O.O. Möller Jr. & G.L. Collares. 2015. Processos hidrológicos e hidrodinâmicos da Lagoa Mirim. Revista Brasileira de Recursos Hídricos 20: 34–45.

Oliveira, K.R., L.L.C. Corrêa & M.V. Petry. 2019. Dieta de *Nannopterum brasilianus* (Aves: Phalacrocoracidae) no sul do Brasil. Oecologia Australis 23: 432–439.

Peterson, B.J. & B. Fry. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. Annual Review of Ecology and Systematics 18: 293–320.

Pimenta, V.R.A., J.L. Rodrigues-Filho, J.S. Ataides & J.O. Branco. 2024. Human-wildlife conflict between Neotropic cormorant and artisanal fisheries induces dubious management policies in southern Brazil. Ocean and Coastal Research 72: e24066.

Pimenta, V.R.A., J.L. Rodrigues-Filho, N.K. Toma & J.O. Branco. 2026. Feeding ecology of *Nannopterum brasilianum* (Gmelin, 1789) and its trophic interactions with artisanal fisheries in the Laguna Estuarine System, Southern Brazil. Aquatic Ecology 60: 17.

Porras-Parra, L.C., C.B. Zavalaga & A. Rios. 2024. The COVID-19 pandemic "anthropause" decreased plastic ingestion in Neotropic cormorants *Nannopterum brasilianus* in Lima, Peru. PeerJ 12: e17407.

Possamai, B., J.P. Vieira, A.M. Grimm & A.M. Garcia. 2018. Temporal variability (1997–2015) of trophic fish guilds and its relationships with *El Niño* events in a subtropical estuary. Estuarine, Coastal and Shelf Science 202: 145–154.

Post, D.M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods and assumptions. Ecology 83: 703–718.

Post, D.M., C.A. Layman, D.A. Arrington, G. Takimoto, J. Quattrochi & C.G. Montaña. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. Oecologia 152: 179–189.

Ramsar. 2024. The List of Wetlands of International Importance. Switzerland. Disponível em: https://www.ramsar.org/sites/default/files/2023-08/sitelist.pdf

Ricklefs, R. & R. Relyea 2016. A Economia da Natureza - 7ª edição. Guanabara Koogan, Rio De Janeiro.

Ridgway, M.S. 2010. A review of estimates of daily energy expenditure and food intake in cormorants (*Phalacrocorax* spp.). Journal of Great Lakes Research 36: 93–99.

Ripple, W.J., J.A. Estes, O.J. Schmitz, V. Constant, M.J. Kaylor, A. Lenz, J.L. Motley, K.E. Self, D.S. Taylor & C. Wolf. 2016. What is a trophic cascade? Trends in Ecology & Evolution 31: 842–849.

Robinson, H.J., V.L. Seher & J.A. Thayer. 2019. Novel vs. traditional approaches to sampling seabird diet: nest and pellet analysis of Brandt's cormorants (*Phalacrocorax penicillatus*). Waterbirds 42: 282–293.

Roos, A.L. 2010. Capturando aves. In: Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento. Von Matter, S., F.C. Straube, I.A. Accordi, V. Piacentini & J.F. Candido-Júnior (Eds.). Technical Books, Rio de Janeiro.

Saini, R.K., P. Prasad, X. Shang & Y.-S. Keum. 2021. Advances in lipid extraction methods—a review. International Journal of Molecular Sciences 22: 13643.

Santificetur, C., M.B. Giaretta, V.R.M. Conversani, M.R. Brenha-Nunes, C.C. Siliprandi & C.L.D.B Rossi-Wongtschowski. 2017. Atlas of marine bony fish otoliths of Southeastern-Southern Brazil Part VIII: Siluriformes (Ariidae) and Pleuronectiformes (Achiridae, Paralichthyidae, Cynoglossidae). Brazilian Journal of Oceanography 65: 448–494.

Schulz-Mirbach, T., F. Ladich, M. Plath & M. Hess. 2019. Enigmatic ear stones: What we know about the functional role and evolution of fish otoliths. Biological Reviews 94: 457–482.

Seeliger, U. & C. Odebrecht (Eds.) 2010. O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. Rio Grande, FURG.

Seeliger, U., C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.). 1998. Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande, Editora Ecoscientia.

Sick, H. 1997. Ornitologia Brasileira. Rio de Janeiro, Nova Fronteira.

Silva, D.C.B. et al. 2021. Plano de Manejo da Estação Ecológica do Taim. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade.

Silva, G.G., V. Weber, A.J. Green, P. Hoffmann, V.S. Silva, M.V. Volcan & L. Maltchik. 2019. Killifish eggs can disperse via gut passage through waterfowl. Ecology 100: e02774.

Silva, T.L., R.B.G. Cabral & I. Ferreira. 2018. Behavior and seasonal abundance of Neotropic cormorant *Nannopterum brasilianus* (Gmelin, 1789) in southeastern, Brazil. Revista Brasileira de Ornitologia 26: 219–226.

Silva-Costa, A. & L. Bugoni. 2013. Feeding ecology of kelp gulls (*Larus dominicanus*) in marine and limnetic environments. Aquatic Ecology 47: 211–224.

Skinner, M.M., A.A. Martin & B.C. Moore. 2016. Is lipid correction necessary in the stable isotope analysis of fish tissues? Rapid Communications in Mass Spectrometry 30: 881–889.

Sousa, A.E.B.A & P.P. Serafini. 2020. Técnicas de captura de aves. In: Manual de Anilhamento de Aves Silvestres - 3ª ed. Brasília, ICMBio, Cemave.

Sweeting, C.J., N.V.C. Polunin & S. Jennings. 2006. Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. Rapid Communications in Mass Spectrometry 20: 595–601.

Telfair, R.C. & M.L. Morrison. 2022. Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*), version 2.2. In: Birds of the World. Rodewald, P.G. & B.K. Keeney (Eds.). Cornell Lab of Ornithology, Ithaca.

Tette-Pomarico, A., A. López-Peña, R. Franke-Ante & L. Duarte. 2020. Dieta y amplitud del nicho trófico del cormorán Neotropical [*Nannopterum brasilianus* (Gmelin, 1789)] en el Santuario de Flora y Fauna Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe de Colombia. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras 49: 193–208.

Vieira, J.P., A.M. Garcia & L. Moraes. 2010. A assembleia de peixes. In: Seeliger, U. & C. Odebrecht (Eds.). O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. Rio Grande, FURG.

Vieira, J.P., J.P. Castello, L.E. Pereira. 1998. Ictiofauna. In: Seeliger, U., C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande.

Vooren, C.M. 1998. A fauna de aves. In: Seeliger, U., C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande.

Wallace, A.A., D.J. Hollander & E.B. Peebles. 2014. Stable isotopes in fish eye lenses as potential recorders of trophic and geographic history. PLoS One 9: e108935.

Wallace, A.A., G.S. Ellis & E.B. Peebles. 2023. Reconstructions of individual fish trophic geographies using isotopic analysis of eye-lens amino acids. PLoS ONE 18: e0282669.

Weller, M.W. 1999. Wetland Birds: Habitat Resources and Conservation Implications. Cambridge, Cambridge University Press.

Winkler, A., A. Nessi, D. Antonioli, M. Laus, N. Santo, M. Parolini & P. Tremolada. 2020. Occurrence of microplastics in pellets from the common kingfisher (*Alcedo*

atthis) along the Ticino River, North Italy. Environmental Science and Pollution Research 27: 41731–41739.

Yorio, P., C. Ibarra & C. Marinao. 2017. Induced regurgitation versus stomach sampling: assessing their value for the characterization of imperial cormorant (*Phalacrocorax atriceps*) diet. Waterbirds 40: 162–167.

Zydelis, R. & A. Kontautas. 2008. Piscivorous birds as top predators and fishery competitors in the lagoon ecosystem. Hydrobiologia 611: 45–54.

CAPÍTULO 1

Ecologia trófica do biguá (*Nannopterum brasilianum*), um generalista piscívoro, em ambiente límnico e estuarino

Talita de Alcantara Carneiro Backhaus, Márcio Repenning, Fernando Azevedo Faria, Cínthia Negrine Fernandez e Leandro Bugoni

Artigo formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico *Hydrobiologia*.

Trophic ecology of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*), a piscivorous generalist, in limnetic and estuarine environments

Talita de Alcantara Carneiro Backhaus[1,2]*, Márcio Repenning[2, 3], Fernando Azevedo Faria[2], Cínthia Negrine Fernandez[1,2], Leandro Bugoni[1,2]

[1] Graduate Program in Biology of Continental Aquatic Environments, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Campus Carreiros, 96203-900, Rio Grande, RS, Brazil

[2] Waterbirds and Sea Turtles Laboratory, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Campus Carreiros, 96203-900, Rio Grande, RS, Brazil

[3] Current Address: Department of Ecology, Zoology and Genetics, Institute of Biology, Universidade Federal de Pelotas, 96160-000, Pelotas, RS, Brazil

*Corresponding author: backhaustalita@gmail.com

Abstract The Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) has highly flexible feeding habits; however, previous studies have focused on a single environment across its broad distribution in the Americas. In this study, pellet analysis and multi-tissue stable isotope analysis (SIA) were used to describe and compare the diet of Neotropic cormorants in limnetic (Taim Ecological Station, a Ramsar site) and estuarine (Patos Lagoon) habitats in southern Brazil. The prey-specific index of relative importance (PSIRI%) indicated that estuarine cormorants consumed mainly estuarine-dependent fishes, particularly whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) and mullets (*Mugil* spp.). In limnetic habitats, exclusively freshwater prey were consumed, mainly characids (Characidae) and toothless characin (*Cyphocharax voga*). SIA and isotopic niche analyses of blood indicated that the main food items consumed were also assimilated. Isotopic values in feathers, which reflect the post-breeding period, indicated high intraspecific variation, broader isotopic niche breadth, and increased assimilation of freshwater prey at both sampling sites. Although Neotropic cormorants are generalists, they exhibited local dietary specialization, with a single species or species-group comprising the bulk of the diet in each environment. They appear to use the most abundant resources available in each habitat, highlighting their role as important top predators in aquatic ecosystems.

Keywords: diet, Patos Lagoon, pellets, Ramsar site, stable isotopes, waterbirds

Introduction

Waterbirds use a variety of habitats for foraging, roosting, and/or nesting, such as lagoons, estuaries, and coastal marine waters, and are considered key components of ecosystems because they contribute to the flow of energy and nutrients between aquatic and terrestrial environments (Weller, 1999; Caseiro-Silva et al., 2023; van der Vegt & Bokhorst, 2024). Given their high mobility and ability to travel long distances, waterbirds can influence the primary productivity of water bodies and connect ecosystems through the deposition of excreta, feces, or regurgitated food (Rush et al., 2013; Gaiotto et al., 2022; Tóth et al., 2023). They are sensitive to environmental changes and provide information on ecosystem health and resource availability (Mansfield et al., 2024; Fox et al., 2025). Piscivorous birds, whose diet is rich in protein, occupy higher positions in the food chain because they control prey populations and serve as models for understanding the interactions that occur in aquatic ecosystems (Steinmetz et al., 2003; Klimaszyk & Rzymski, 2016).

For years, there have been concerns that fish-eating birds, such as cormorants and herons, overlap with and affect traditional and industrial fisheries and aquaculture (Zydelis & Kontautas, 2008; Ovegård et al., 2021; Ekblad et al., 2026). Cormorants (Phalacrocoracidae) can consume tons of fish annually; however, to understand the species' ecological role and potential influence on certain environments, it is necessary to analyze prey–predator interactions through diet studies (Doucette et al., 2011; Pimenta et al., 2024; Westerbom et al., 2025), as diet can vary among populations and be influenced by specific habitat characteristics (Michalik et al., 2012; Morgenthaler et al., 2020). In an estuarine environment, for example, which represents a transition zone between freshwater and marine ecosystems, fish species composition is more variable because of marine influence than in limnetic environments, such as coastal plain lagoons, which are predominantly composed of resident freshwater species (Vieira et al., 2010; Moura et al., 2012). In addition to differences in fish composition, these environments are isotopically distinct because they also differ in the types of basal sources that sustain their food webs, with greater variation occurring in estuaries (Garcia et al., 2006a; Garcia et al., 2007; Rodrigues et al., 2014), which could result in a broader isotopic niche for

waterbirds that forage in this type of environment (Britto & Bugoni, 2015; Travessa et al., 2026).

In this context, the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) is remarkable because of its flexible foraging habits and high dietary plasticity, and it serves as a good model for studies on trophic plasticity and foraging adjustments in response to environmental conditions (Barquete et al., 2008a, b). It is distributed throughout the Neotropical region, from northwestern Mexico and the southern United States to Chile and southern South America (Telfair & Morrison, 2022). This species is abundant in a variety of aquatic environments, including estuarine, coastal, and strictly freshwater areas, ranging from anthropogenically impacted areas to protected ecological reserves (Gheler-Costa et al., 2018; Kantek et al., 2020; Tette-Pomarico et al., 2020). As a large bird with a wingspan of about 100 cm and a body mass of about 1.5 kg, its diet consists primarily of fish, although it occasionally consumes crustaceans, amphibians, bivalves, and aquatic insects (del Hoyo et al., 2015). Moreover, its ability to migrate long distances and shift foraging sites highlights its opportunistic behavior, making it a consumer with the potential to cause substantial conflicts (Barquete et al., 2008b; Pimenta et al., 2024).

In southern Brazil, the species is an important predator of commercially significant fish, such as the whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) and mullets (*Mugil* spp.), in the Patos Lagoon estuary, where it occurs in greater numbers during the austral spring and summer following the breeding season (Barquete et al., 2008a, b). Although the species is abundant in the large lagoons of the southern coastal plain, previous studies have been limited to estuarine and coastal environments (Barquete et al., 2008b; Oliveira et al., 2019; Pimenta et al., 2026), and there are no data on its diet in limnetic ecosystems in the region. Therefore, comparing the diet of the Neotropic cormorant across different environments will provide insights into its trophic ecology and role in ecosystem processes within isotopically distinct aquatic environments.

The study of trophic ecology using different techniques can provide information on patterns of food resource use and predator–prey interactions (Nielsen et al., 2018). Descriptions of waterbird diets reveal which species are consumed and the potential impacts on those species, while also informing estimates of the birds' energy requirements (Bearhop et al., 2001; Zydelis & Kontautas, 2008). Daily food intake and daily energy expenditure are among the parameters that can be determined from field metabolic rates (FMRs), prey energy density, and assimilation rates, allowing estimation of population-level consumption (Ellis & Gabrielsen, 2002; Ridgway, 2010).

Conventional pellet analysis, based on the identification of hard structures such as fish otoliths, spurs, scales, shells, and other materials, is commonly used to describe recent diet; pellets are composed of regurgitated indigestible, non-nutritive material mixed with mucus (Barrett et al., 2007; Drewitt, 2024). This technique is useful because it is noninvasive, easily applied, and enables species-level identification and quantification, estimation of prey size classes and seasonal variations, and even estimation of niche breadth based on the proportion of food items (Votier et al., 2003; Naves & Vooren, 2006; Weiser & Powell, 2011). However, it has limitations, such as the underestimation of soft-bodied prey and fish with small otoliths, in addition to representing only the recent diet of the bird, typically its last meal (Votier et al., 2001; Barrett et al., 2007).

On the other hand, biochemical methods complement conventional dietary analyses and enhance data collection on the trophic ecology of birds (Barrett et al., 2007; Boecklen et al., 2011). Stable isotope analysis (SIA) of the commonly used carbon ($\delta^{13}C$) and nitrogen ($\delta^{15}N$) isotopes provides information from biological samples, such as blood and feathers, based on the principle that the isotopic composition of consumer tissues reflects diet (Fry, 2006). Thus, $\delta^{13}C$ values provide information on habitat use, such as limnetic versus estuarine environments, because these values tend to reflect the basal sources of the environment, which are generally lower in limnetic systems and show limited variation across trophic levels (Inger & Bearhop, 2008). By contrast, $\delta^{15}N$ values are used to infer the trophic position of organisms because they tend to increase at each trophic level due to protein assimilation through the diet (Post, 2002). By using isotopic mixing models, this method estimates the contribution of different dietary sources to consumer tissues, providing information integrated over different time periods and reflecting assimilation over broader temporal scales (Inger & Bearhop, 2008). Whereas blood reflects up to 4 weeks of a bird's recent diet because of its high isotopic turnover rate, grown feathers are inert tissues that reflect the period during which they were formed, ranging from weeks to months before sampling (Bearhop et al., 2002; Hahn et al., 2012). Thus, the trophic niche inferred from the proportion of food items in pellets is complemented by the isotopic niche derived from isotope ratios, revealing what was assimilated over both short- and long-term periods (Newsome et al., 2007; Boecklen et al., 2011).

In this study, the diet of the Neotropic cormorant was described in limnetic and estuarine environments in southern Brazil by identifying the species and estimating the body length and mass of fish consumed, as well as the size classes of the main prey;

137 estimating daily food intake; estimating the contribution of estuarine and limnetic sources
138 to tissues with different turnover rates (blood versus feathers); and determining trophic
139 and isotopic niche breadth. We hypothesized that the diet would be dominated by the
140 most frequent fish species in each environment: in the estuarine environment, a higher
141 proportion of estuarine and marine fish and, occasionally, freshwater fish; whereas in the
142 limnetic environment, only freshwater prey would be expected. The $\delta^{13}C$ values in blood
143 were expected to reflect the basal sources of each environment, with lower values in the
144 limnetic habitat. Feathers were expected to exhibit greater variation in $\delta^{13}C$ values and
145 broader isotopic niche breadth due to movements during the inland post-breeding period.
146 Furthermore, isotopic niche breadth was expected to be greater for cormorants in the
147 estuarine environment.
148
149 **Materials and methods**
150
151 Study area
152
153 This study was conducted in estuarine and limnetic environments on the coastal plain of
154 Rio Grande do Sul (RS), southern Brazil. The estuarine environment is located in Patos
155 Lagoon (31°57'S; 52°06'W) (Fig. 1), the world's largest choked lagoon (approximately
156 10,000 km^2), which connects to the Atlantic Ocean via a narrow channel and forms an
157 approximately 970-km^2 brackish-water estuarine region (Asmus, 1998; Seeliger &
158 Odebrecht, 2010). The mean depth of the estuarine area is 5 m, with a maximum depth of
159 18 m (Calliari et al., 2010). This region is characterized by strong winds and salinity
160 fluctuations resulting from marine influence, which may affect species distribution and
161 alter ecological processes (Garcia et al., 2007; Costa & Marangoni, 2010; Dias et al.,
162 2017; Haimovici & Cardoso, 2017). The estuary serves as a nursery and feeding ground
163 for species targeted by fisheries (Vieira et al., 2010) that are also reported as important
164 prey for Neotropic cormorants. These include the whitemouth croaker (*Micropogonias*
165 *furnieri*), mullets (*Mugil* spp.), Argentine silverside (*Odonthestes argentinensis*), and sea
166 catfish (Ariidae) (Vieira et al., 2010; Haimovici & Cardoso, 2017). Cormorants reach
167 peak abundance in the estuary during January and February and have used certain resting
168 sites for years, such as power towers, piers, and inactive concrete structures (Barquete et
169 al., 2008a; authors' personal observation).
170

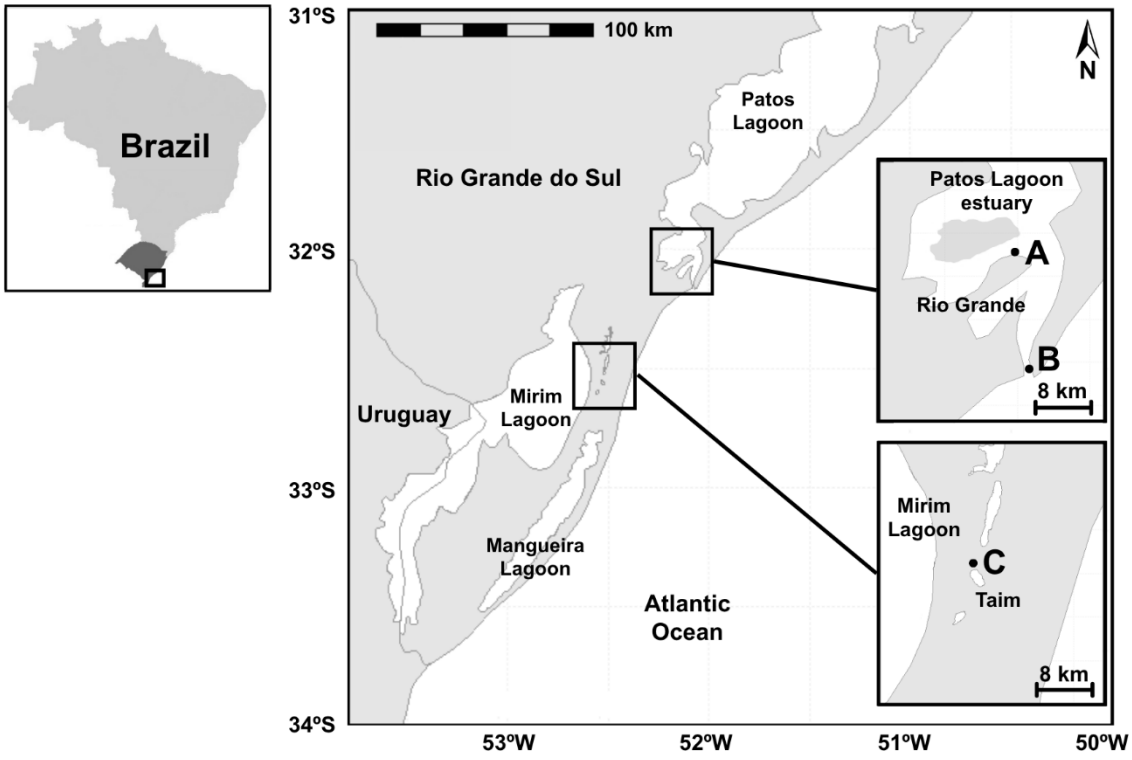


Fig. 1 Study areas in the Patos Lagoon estuary, including Pólvora Island (A) and a concrete structure (B), and at Taim Ecological Station (C), southern Brazil. Black dots indicate sampling sites where pellets were collected (A, B, C) and Neotropic cormorants (*Nannopterum brasilianum*) were captured (A, C)

The limnetic environment is located within the Taim Ecological Station (hereafter ESEC Taim) (32°32'S; 52°32'W) (Fig. 1), between the municipalities of Rio Grande and Santa Vitória do Palmar. ESEC Taim is included on the Ramsar List of Wetlands of International Importance under the Ramsar Convention (Kotzian & Marques, 2004; Silva et al., 2021). It is also the second-largest protected area in the Pampa biome in Brazil, covering 32,797 ha and adjacent to the recently created Albardão Marine National Park, which protects 1 million ha of adjacent marine waters (Decree No. 12,868, March 6, 2026). The region consists of a complex limnetic system with interconnected lagoons, such as Mirim, Nicola, and Mangueira, and extensive wetland areas (Kotzian & Marques, 2004; Motta-Marques et al., 2013). Rainfall and cold fronts are among the main factors shaping the water bodies in the region (Motta-Marques et al., 2013). ESEC Taim serves as a feeding, breeding, and migratory area for 220 bird species, including threatened species (Mähler et al., 1996; Silva et al., 2021). The Mirim and Mangueira lagoons, as well as smaller lagoons such as Nicola and Jacaré and nearby channels, are important foraging areas for the Neotropic cormorant, which uses sandbanks and nearby trees for

192 roosting (authors' personal observation). On Cardoso Island, located in the northern
193 portion of Mangueira Lagoon, colony formation by Neotropic cormorants has been
194 documented (ESEC Taim team, personal communication).
195
196 Pellet sampling and analysis
197
198 Cormorant pellets were collected manually between August 2024 and March 2025. Along
199 the margins of lakes and channels at Taim, nets were installed on tree branches beneath
200 roosting sites to retain pellets (n = 74) until sampling (Gagliardi et al., 2003). In the
201 estuarine environment, pellets (n = 75) were collected from a wooden pier on Pólvora
202 Island (32°01'S; 52°06'W) and a concrete structure (32°09'S; 52°05'W) at the mouth of
203 the estuary, both of which were accessed by motorboat. Only well-preserved pellets (i.e.,
204 those completely covered in mucus) were collected to prevent material loss. Pellets were
205 stored individually in plastic bags for transport and frozen for subsequent laboratory
206 analysis.
207 The frozen pellets were soaked in a solution of water and detergent (4 L of water:
208 3 mL of liquid soap) for 24 h to dissolve the mucus and separate rigid structures (Barquete
209 et al., 2008b). Samples were washed through a 0.125-mm steel sieve, and food items were
210 examined under a stereoscopic microscope for quantification and identification to the
211 lowest possible taxonomic level. Each item was separated by category and stored in
212 plastic tubes, considering that each taxon present in a pellet was referred to as a "food
213 item", whereas each food item representing a preyed individual was termed "prey",
214 according to Bugoni & Vooren (2004).
215 Fish were identified using *sagitta* and/or *asteriscus* otoliths, with the exception of
216 marine catfish (Ariidae), for which *lapillus* otoliths were used, allowing identification
217 only to the genus level. Otoliths were separated into pairs and identified by comparison
218 with a reference collection maintained in the laboratory and with otolith identification
219 guides (Bremm & Schulz, 2014; Haimovici et al., 2024). In addition, fish specimens not
220 listed in the guides were collected for otolith extraction to aid in identification (Table 1).
221 In the limnetic environment, most otoliths were small and morphologically similar,
222 making it impossible to differentiate among characid species because they had been worn
223 by digestion. Therefore, the category "characids" was created for the family Characidae,
224 which includes the taxa *Astyanax* spp., *Bryconamericus* spp., *Charax* spp., *Cheirodon*
225 spp., *Cyanocharax* spp., *Hyphessobrycon* spp., *Mimagoniates* spp., *Oligosarcus* spp., and

Psalidodon spp., all of which have previously been recorded in the area (Garcia et al., 2006b; Ceni & Vieira, 2013).

The highest number of otolith or crystalline lens pairs was used to represent the minimum total number of fish in each pellet. Otolith length (OtL) was measured using a micrometer scale attached to the stereoscopic microscope, and allometric equations were used to estimate fish total length (TL) and BM (Table 1). An index of digestion (ID) was used according to Bugoni & Vooren (2004) to determine the degree of otolith wear: ID (0), no signs of wear or digestion; ID (1), slightly worn edges, but the *sulcus acusticus* still well defined; ID (2), extremely worn edges, with the *sulcus acusticus* becoming vague; and ID (3), the *sulcus acusticus* completely worn away. To estimate mass contribution, only otoliths with ID (0) and ID (1) were used in the equations to avoid underestimation due to digestive wear. For fish represented by otoliths with ID (2) and ID (3), the mean BM of fish from the same taxon was used. The mean BM of all fish was used for species for which no allometric equations were available, as well as for "unidentified fish". The quantification of pink shrimp (*Penaeus paulensis*), the only crustacean present in the pellets, was based on the number of cephalothoraxes and pairs of eyes. Each cephalothorax was measured with a caliper, and BM was assigned based on the mean mass of individuals of equivalent size. Shrimp were considered prey intentionally ingested by cormorants because they were occasionally the only item found in pellets, whereas other invertebrates were treated as evidence of indirect or secondary ingestion, following Barquete et al. (2008b).

Blood and feather sampling for SIA

Cormorants were captured between August 2024 and February 2025 using adapted mist nets in roosting or feeding areas. In the estuarine environment (n = 17), sampling took place on Pólvora Island, whereas in the limnetic environment (n = 26), it was conducted in the Mirim Lagoon channel (Fig. 1). Blood samples (approximately 2.5 mL) were collected from the brachial vein using sterile syringes and needles. Fully grown contour feathers from the belly and back (n = 8–10 per individual) were collected manually by quickly pulling the feathers while holding the skin to induce the growth of new feathers. Birds were aged based on plumage, and BM was measured using a spring scale. All captured individuals were banded to prevent recapture and released nearby after biological sampling.

Table 1 Relationships between otolith length (OtL) and total length (TL) and body mass (BM) of fish consumed by the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments of southern Brazil

Species	TL (Total Lenght)	BM (Body Mass)
Atherinella brasiliensis[a]	$TL = 34.173 \cdot OtL^{1.056}$	$BM = 0.234 \cdot OtL^{3.325}$
Odontesthes argentinensis[a]	$TL = 52.432 \cdot OtL^{0.987}$	$BM = 0.753 \cdot OtL^{3.048}$
Porichthys porosissimus[a]	$TL = 24.395 \cdot OtL^{1.019}$	$BM = 0.082 \cdot OtL^{3.301}$
Australoheros facetus[b]	$TL = -6.345 + 27.627 \cdot OtL$	$BM = 0.225 \cdot OtL^{3.508}$
Saxatilia lepidota[b]	$TL = 37.519 \cdot e^{0.384OtL}$	$BM = 0.350 \cdot e^{1.286OtL}$
Cyphocharax voga[c]	$TL = 38.283 \cdot OtL + 19.861$	$BM = 1.089 \cdot OtL^{3.023}$
Platanichthys platana[c]	$TL = 0.020 \cdot OtL + 0.097$	$BM = 1.109 \cdot OtL^{0.309}$
Lycengraulis grossiden[a]	$TL = 42.557 \cdot OtL^{0.980}$	$BM = 0.351 \cdot OtL^{3.215}$
Cynoscion guatucupa[a]	$TL = 13.799 \cdot OtL^{1.201}$	$BM = 0.018 \cdot OtL^{3.739}$
Micropogonias furnier[a]	$TL = 19.198 \cdot OtL^{1.081}$	$BM = 0.042 \cdot OtL^{3.546}$
Menticirrhus sp.[d]	$TL = 16.842 \cdot OtL^{1.288}$	$BM = 0.000006 \cdot TL^{3.089}$
Pachyurus bonariensi[c]	$TL = 24.639 \cdot OtL - 7.337$	$BM = 0.131 \cdot OtL^{3.109}$
Stellifer rastrifer[a]	$TL = 14.621 \cdot OtL^{1.431}$	$BM = 0.018 \cdot OtL^{4.769}$
Mugil sp.[d]	$TL = 23.332 \cdot e^{0.345OtL}$	$BM = 0.00005 \cdot TL^{2.702}$
Pimelodus pintado[b]	$TL = 1 + 78.5 \cdot OtL$	$BM = 1.473 \cdot OtL^{3.845}$

TL = Total Length (in mm); BM = Body Mass (in g); OtL = Otolith length (in mm)
Sources: [a]Haimovici et al. (2024); [b] This study; [c] Sassi (2013); [d] Barquete et al. (2008b)

In the laboratory, feathers were washed repeatedly with a sodium hydroxide solution and distilled water to remove adhered particles, placed in a drying oven at 60°C for 48 h, and then cut with scissors. Blood samples were freeze-dried for 8 h, ground, and homogenized. In each environment, fish and regurgitates containing whole fish were collected for muscle SIA and use in Bayesian isotope mixing models (see below). Lipids were extracted from muscle samples prior to SIA using a chloroform:methanol (2:1) solvent mixture in a Soxhlet apparatus to prevent changes in $\delta^{13}C$ values (Post et al., 2007).

All samples were weighed on a precision balance, and approximately 0.7 mg was placed in tin capsules for analysis using an isotope ratio mass spectrometer coupled to an elemental analyzer at the Integrated Analysis Center of the Federal University of Rio

Grande (CIA/FURG). Stable isotope results were expressed using delta notation (δ) and referenced to the international standards Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) for $\delta^{13}C$ and atmospheric air for $\delta^{15}N$ (Bond & Hobson, 2012). The isotopic composition was determined using equation (1) from Bond & Hobson (2012), where the unit of measurement is per mille (‰) and R = $^{13}C/^{12}C$ or $^{15}N/^{14}N$ of the sample:

$$\delta^{13}\text{C or } \delta^{15}\text{N (‰)} = \left[\left(R_{sample}/R_{standard}\right) - 1\right] \quad (1)$$

Internal laboratory standards (caffeine, acetanilide, and glutamic acid), calibrated according to international standards, were analyzed every 12 samples to correct for instrumental drift. The standard deviation indicated a precision of ±0.1‰ for both $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$.

Data analysis

The importance of each food item in the diet was calculated from pellet data using the prey-specific index of relative importance (PSIRI%) (Brown et al., 2012). The parameters used in this calculation included frequency of occurrence (FO%), referring to the occurrence of a food item as a percentage of the total pellets examined; prey-specific numerical abundance (PN%), referring to the numerical proportion of a given food item in the diet, excluding samples in which that item did not occur; and prey-specific mass contribution (PM%), referring to the mass proportion of the food item relative to the total sample mass, excluding samples in which the item was absent. PSIRI% was calculated using equation (2):

$$PSIRI\% = (PN\% + PM\%) \times FO\% \quad (2)$$

Trophic niche breadth (B) was calculated using Levins' equation (1968), based on the proportional mass contribution of each food item (p_i) found in the pellets, as shown in equation (3):

$$B = \left(\sum p_i^2\right)^{-1} \quad (3)$$

The standardized niche breadth (B_s), on a scale from 0 to 1, was calculated using equation (4):

$$B_s = \left(\frac{B-1}{n-1}\right) \quad (4)$$

where B_s values near 1 indicate that all food items (n) were consumed in similar proportions, whereas values near 0 indicate that one or a few categories were consumed at high frequencies and many others at low frequencies (Krebs, 1989; Barquete et al., 2008b).

Using bioenergetic models, daily energy expenditure (kJ/day) and prey consumption (g/day) were estimated. Equation (5) from Ellis & Gabrielsen (2002) was used to calculate the FMR:

$$FMR = 16.69 \times m^{0.651} \quad (5)$$

where m is BM in grams, which in this study was 1,491 g, based on the mean mass measured for 72 individuals captured during the study. To estimate individual daily food intake, an assimilation efficiency of 80% and a prey caloric density of 5.42 kJ/g were used, following values reported for cormorants (Barquete et al., 2008b; Ridgway, 2010; White et al., 2011).

Isotopic niche width was determined using standard ellipse areas corrected for small sample sizes (SEAc) with SIBER (Stable Isotope Bayesian Ellipses in R) in R software (R Core Team, 2025), which estimates isotopic niche width based on $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values by calculating the δ-space occupied by Bayesian ellipses for each sample group (Jackson et al., 2011). The relative contributions of assimilated prey sources were estimated using Bayesian mixing models implemented in the simmr package, with 95% credibility intervals reported (Parnell & Inger, 2023). Sources included in the models were selected based on food items identified in pellets and the most common species in each environment. The same source groups were used in both blood and feather mixing models within each environment to facilitate comparisons. Isotopic values for prey were obtained from the laboratory database, collected samples, and bibliographic sources (Table 2). In the absence of studies experimentally determining tissue–consumer trophic discrimination factors (TDFs) for the Neotropic cormorant, TDF values obtained for the

344 double-crested cormorant (*Nannopterum auritum*) by Craig et al. (2015), a closely related
345 taxon, were used. The TDF values applied to feathers were $\delta^{13}C = 0.2 \pm 1.3‰$ and $\delta^{15}N = 4.8 \pm 0.8‰$, whereas those applied to blood were $\delta^{13}C = -1.1 \pm 1.1‰$ and $\delta^{15}N = 2.9 \pm 0.6‰$.

348 Statistical analyses were performed to test for differences between the two
349 environments in ingested prey values, reconstructed mass per pellet, TL of all fish, and
350 $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in both blood and feathers of cormorants. Independent-samples *t*
351 tests and Mann–Whitney U tests were applied after testing the data for normality and
352 homoscedasticity (Sokal & Rohlf, 2012). Statistical analyses were performed using
353 BioEstat software version 5.0 (Ayres-Jr. et al., 2007).

354

355 **Results**

356

357 Diet and trophic niche inferred from pellet analysis

358

359 In total, 4,353 prey items were found in 75 pellets from the estuarine environment, of
360 which 14 food items belonged to 9 families of fish and one family of crustaceans (Table
361 3). The most important food items in the diet of estuarine cormorants were the
362 whitemouth croaker (PSIRI% = 79.8), Ariidae catfish (PSIRI% = 9.3), and mullets
363 (PSIRI% = 2.2). In the limnetic environment, 2,679 prey items were found in 74 pellets,
364 of which 16 food items belonged to nine families of fish (Table 3). The most important
365 food items were characid fishes (PSIRI% = 61.9), followed by the toothless characin
366 (PSIRI% = 12.7) and the pintado catfish (PSIRI% = 3.1). The only food items found in
367 common between the two environments were characids, toothless characin, and pintado
368 catfish, and no estuarine prey was found in the limnetic pellets (Table 3). “Unidentified
369 fish” accounted for 8.6% and 25.8% of PN% in the estuarine and limnetic environments,
370 respectively, and referred to otoliths with IDs 2 and 3, whose degree of deterioration
371 prevented species identification.

372 Regarding the size classes of the most important prey in the estuary, whitemouth
373 croakers were mainly represented by individuals between 20 and 50 mm, whereas mullets
374 were most frequently represented by individuals between 80 and 120 mm (Fig. 2). In the
375 limnetic environment, toothless characin and pintado catfish were most frequently
376 represented by individuals between 80 and 120 mm (Fig. 3). The size classes of sea catfish
377 (Ariidae) and characids (Characidae) could not be estimated.

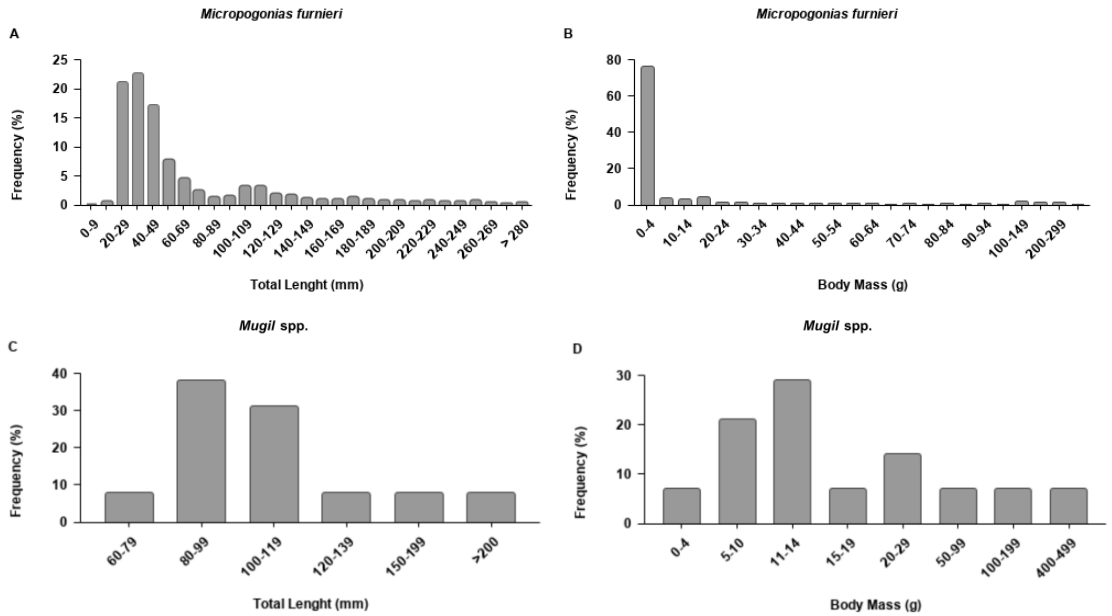


Fig. 2 Size-class frequencies of total length (TL) and body mass (BM) of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) (A, B) and mullets (*Mugil* spp.) (C, D), the main prey of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the estuarine environment of Patos Lagoon, southern Brazil

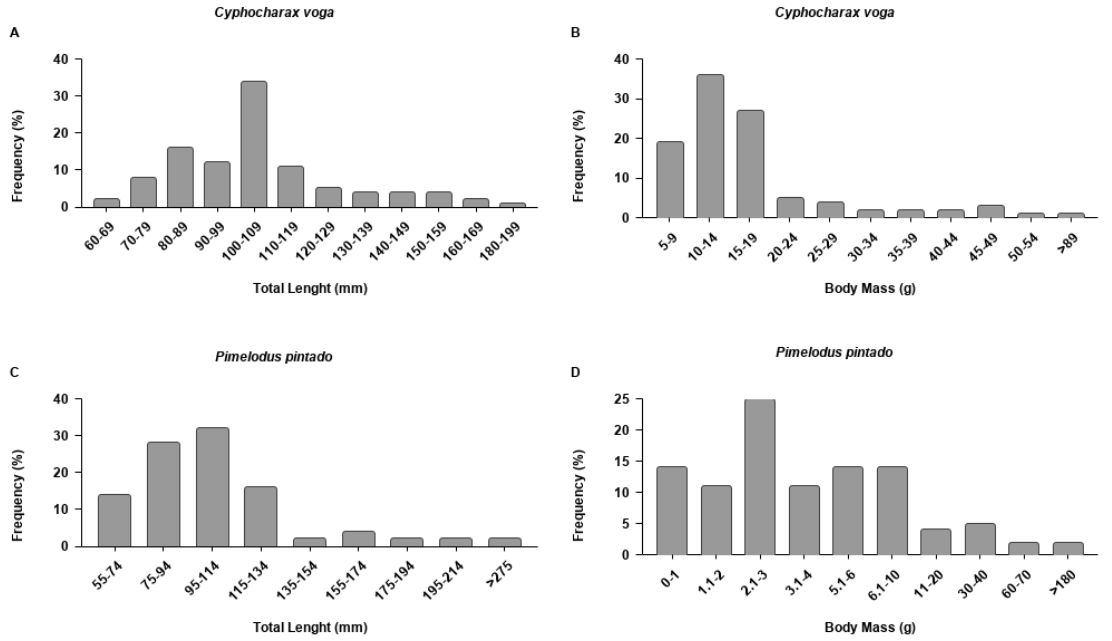


Fig. 3 Size-class frequencies of total length (TL) and body mass (BM) of toothless characin (*Cyphocharax voga*) (A, B) and pintado catfish (*Pimelodus pintado*) (C, D), the main prey of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the limnetic environment of Taim Ecological Station, southern Brazil

391 **Table 2** Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (mean ± standard deviation) in blood and feathers of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) and
392 its potential prey in limnetic and estuarine environments of southern Brazil

Tissue	Species	$\delta^{13}C$ (‰)	$\delta^{15}N$ (‰)	*n*	Reference
	Estuarine environment				
Blood	*Nannopterum brasilianum*	-16.38 ± 1.17	14.00 ± 1.16	15	This study
Feathers	*Nannopterum brasilianum*	-19.33 ± 4.12	14.91 ± 2.10	16	This study
Mucle	*Micropogonias furnieri*	-14.86 ± 0.76	13.86 ± 0.53	3	This study
Muscle	*Mugil liza*	-14.51 ± 1.10	8.54 ± 0.40	2	Garcia et al. (2007)
Muscle	*Psalidodon eigenmanniorum*	-23.94	7.65	11*	Garcia et al. (2007)
Muscle	*Penaeus paulensis*	-8.80 ± 0.20	9.91 ± 2.22	4	Britto & Bugoni (2015)
	Limnetic environment				
Blood	*Nannopterum brasilianum*	-25.38 ± 1.03	10.58 ± 0.48	26	This study
Feathers	*Nannopterum brasilianum*	-26.86 ± 2.92	10.94 ± 1.47	26	This study
Muscle	*Cyphocharax voga*	-24.09 ± 1.47	9.61 ± 0.19	3	This study
Muscle	*Psalidodon eigenmanniorum*	-29.75 ± 1.09	7.88 ± 0.23	3	This study
Muscle	*Hoplias malabaricus*	-27.68 ± 2.24	11.51 ± 0.42	3	This study
Muscle	*Pimelodus pintado*	-25.34 ± 0.23	10.78 ± 1.00	4	This study
Muscle	*Bryconamericus iheringii*	-22.10 ± 0.30	9.30 ± 0.20	4	Rodrigues et al. (2014)

393 * Composite samples of muscle tissue from individuals of similar size; a technique used for small fish when it was not possible to obtain the
394 minimum amount of tissue from a single individual.

395 **Table 3** Diet of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in estuarine and limnetic environments of southern Brazil, as determined
396 from pellet samples collected during 2024–2025

Food Item	Estuarine environment (*n* = 75)				Limnetic environment (*n* = 74)			
	FO%	PN%	PM%	PSIRI%	FO%	PN%	PM%	PSIRI%
Atherinopsidae								
Atherinella brasiliensis	4.00	16.82	15.82	0.65	–	–	–	–
Odontesthes argentinensis	4.00	10.77	6.92	0.35	–	–	–	–
Odontesthes sp.	–	–	–	–	13.51	8.92	8.76	1.19
Ariidae (*Genidens* spp.)	46.67	26.77	12.97	**9.27**	–	–	–	–
Batrachoididae								
Porichthys porosissimus	1.33	5.26	4.33	0.06	–	–	–	–
Characidae								
Characids	12.00	6.63	2.44	0.54	95.95	68.56	60.41	**61.87**
Cichlidae								
Australoheros facetus	–	–	–	–	2.70	2.81	5.39	0.11
Cichlasoma portalegrense	–	–	–	–	1.35	4.55	4.60	0.06
Geophagus iporangensis	–	–	–	–	10.81	3.91	2.53	0.35
Saxatilia lepidota	–	–	–	–	5.41	9.11	26.91	0.97
Unidentified Cichlidae	–	–	–	–	4.05	5.56	5.87	0.23
Curimatidae								

Cyphocharax voga	5.33	19.71	8.42	0.75	78.38	12.54	19.94	**12.73**
Dorosomatidae								
Platanichthys platana	–	–	–	–	16.22	4.27	0.03	0.35
Engraulidae								
Lycengraulis grossidens	9.33	9.32	2.49	0.55	–	–	–	–
Erythrinidae								
Hoplias malabaricus	–	–	–	–	5.41	4.51	3.08	0.21
Heptapteridae								
Pimelodella australis	–	–	–	–	14.86	8.59	5.36	1.04
Rhamdia quelen	–	–	–	–	5.41	5.76	4.22	0.27
Unidentified Heptapteridae	–	–	–	–	1.35	50.00	42.66	0.63
Sciaenidae								
Cynoscion guatucupa	8.00	23.50	0.39	0.96	–	–	–	–
Micropogonias furnieri	98.67	73.82	87.88	**79.77**	–	–	–	–
Menticirrhus sp.	8.00	3.40	11.68	0.60	–	–	–	–
Pachyurus bonariensis	–	–	–	–	14.86	7.05	25.61	2.43
Stellifer rastrifer	12.00	6.15	1.87	0.48	–	–	–	–
Mugilidae								
Mugil sp.	9.33	23.38	22.96	2.16	–	–	–	–
Pimelodidae								

Parapimelodus nigribarbis	–	–	–	–	13.51	8.85	8.02	1.14
Pimelodus pintado	4.00	12.61	3.57	0.32	13.51	20.39	25.31	3.09
Unidentified fish	38.67	8.62	4.06	2.45	54.05	25.80	24.00	**13.40**
Crustacea								
Penaeus paulensis	10.67	17.59	1.68	1.03	–	–	–	–
Total	272.00	264.35	187.48	99.97	351.34	251.18	272.70	100.10

FO% = frequency of occurrence, PN% = relative numerical contribution, PM% = relative mass contribution, PSIRI% = prey-specific index of relative importance. Contribution above 5% are highlighted in bold

399 The mean number of prey ingested per pellet did not differ between the two
400 environments (t = 1.96, df = 87.07, p = 0.053), although the result was close to statistical
401 significance, whereas the mean reconstructed mass per pellet was higher in the estuarine
402 environment than in the limnetic environment (774.91 vs. 336.90 g; t = 8.29, df = 117.22, $p <$
403 0.001) (Table 4). The estimated FMR for the Neotropic cormorant was 1,942.63 kJ/day,
404 resulting in a daily food intake of 448.02 g per individual, equivalent to 30.05% of its BM. The
405 mean TL of all fish was lower in the estuarine environment (t = −21.54, df = 496.52, $p <$ 0.0001)
406 (Table 4). The standardized Levins niche breadth (B_s) was higher for cormorants from the
407 limnetic environment (Table 5).
408
409 **Table 4** Mean number ± standard deviation (minimum–maximum) of ingested prey,
410 reconstructed mass, and total length found in pellets of the Neotropic cormorant (*Nannopterum*
411 *brasilianum*) in limnetic and estuarine environments of southern Brazil

Pellet samples	Mean N ± sd (Min–Max)	Mean M ± sd (Min–Max)	Mean TL ± sd (Min–Max)
Estuarine (n = 75)	58.04 ± 92.51 (4–347)	774.91 ± 397.50 (42–1954)	65.59 ± 55.46 (14–330)
Limnetic (n = 74)	36.20 ± 27.42 (4–131)	336.90 ± 224.63 (33–1169)	113.00 ± 28.91 (56–276)

412 N = number of ingested prey, M = mass (in g), TL = total length (in mm)
413
414 **Table 5** Standardized Levins niche breadth (B_s) determined from pellet data and isotopic niche
415 width (SEAc) determined from δ^{13}C and δ^{15}N values in blood and feathers of the Neotropic
416 cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the estuarine environment of Patos Lagoon and the
417 limnetic environment of Taim Ecological Station, southern Brazil

	Environment	
Niche breadth	Estuarine	Limnetic
Bs (Pellets)	0.014	0.058
SEAc (Blood)	4.49	1.52
SEAc (Feathers)	27.93	7.86

418

Prey assimilation and isotopic niche

Mean $\delta^{13}C$ values in blood were higher in cormorants from the estuarine environment than in those from the limnetic environment (−16.38‰ vs. −25.38‰; $U = 0$, $Z = 5.28$, $p < 0.0001$). A similar pattern was observed in feathers (−19.33‰ vs. −26.86‰; $U = 34.50$, $Z = 4.49$, $p < 0.0001$). In both environments, feathers were the tissue exhibiting greater variation in $\delta^{13}C$ values (standard deviation ± 2.92‰ and ± 4.12‰, respectively) (Table 2). Mean $\delta^{15}N$ values were also higher for cormorants from the estuarine environment, both in blood (14.00‰ vs. 10.58‰; $t = 9.09$, $df = 17.09$, $p < 0.0001$) and feathers (14.91‰ vs. 10.94‰; $U = 34.00$, $Z = 4.51$, $p < 0.0001$) (Table 2).

Stable isotope mixing models for blood samples from the estuarine environment indicated the whitemouth croaker as the main assimilated source, followed by mullet (*Mugil liza*) and characid (*P. eigenmanniorum*) (95% CI = 40.3–66.3%, 3.2–44.8%, and 4.7–21.8%, respectively) (Fig. 4a, b). In feathers, the main contribution was also from whitemouth croaker, followed by characid (*P. eigenmanniorum*) and mullet (95% CI = 37.7–77.8%, 4.5–42.1%, and 1.4–31.1%, respectively) (Fig. 4c, d). In the limnetic environment, the main contributions to blood were from characids (*B. iheringii* and *P. eigenmanniorum*) and toothless characin (*C. voga*) (95% CI = 39.9–70.1%, 12.9–32.0%, and 0.9–33.6%, respectively) (Fig. 5a, b). In feathers, the main contributions were from characids (*P. eigenmanniorum*, followed by *B. iheringii*) and toothless characin (95% CI = 40.8–83.1%, 1.9–33.0%, and 1.2–33.0%, respectively) (Fig. 5c, d). According to the SEAc analysis, isotopic niche width was greater for cormorants from the estuarine environment. Feathers from both environments also exhibited a broader isotopic niche than blood (Fig. 6, Table 5).

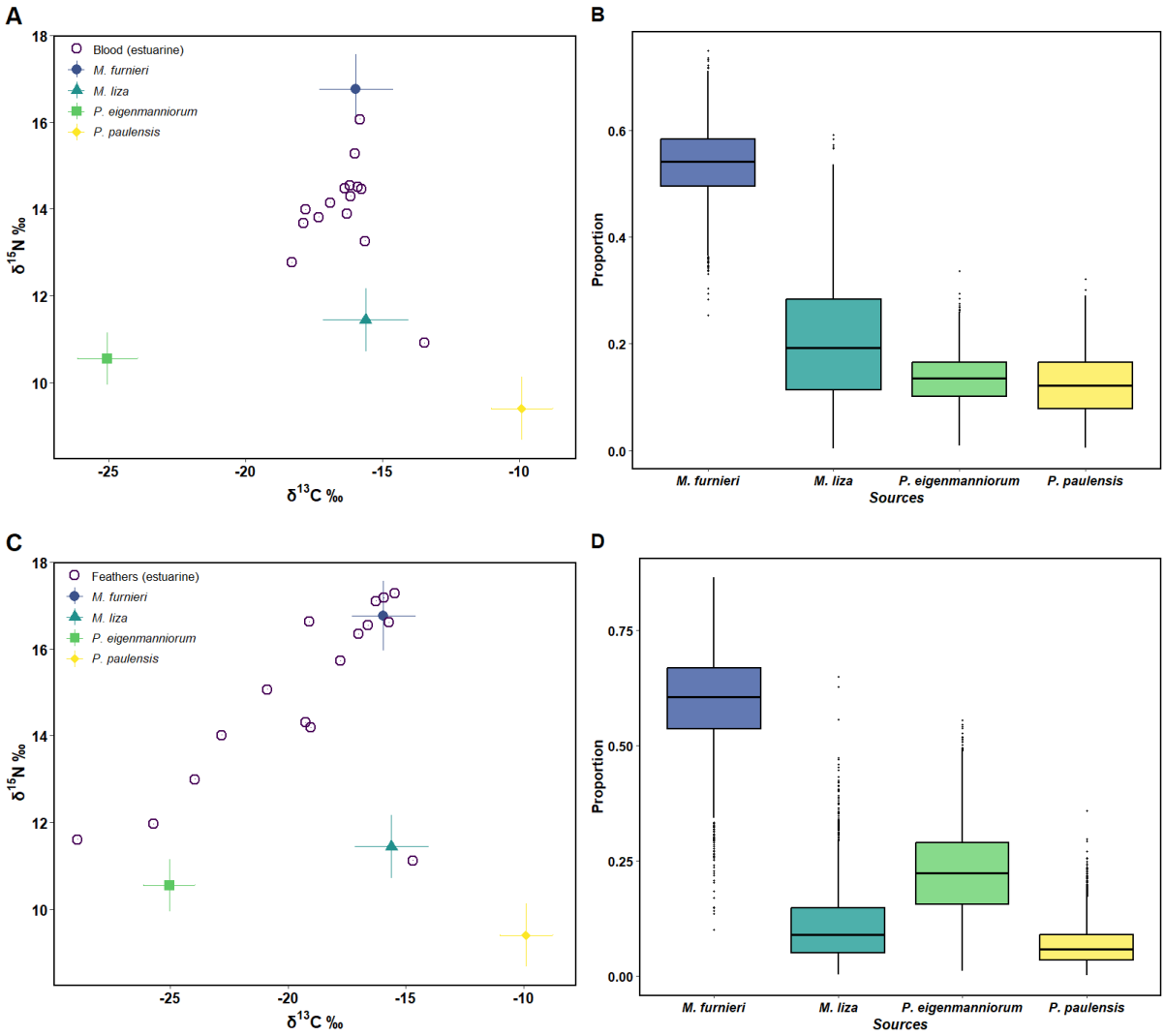


Fig. 4 Values of δ^{13}C and δ^{15}N (‰) in blood (A) and feathers (C) of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) and potential prey, and the estimated proportional contribution of each source (B and D, respectively), in the estuarine environment of Patos Lagoon, southern Brazil. Ninety-five percent credibility intervals were used for the mixing models in the 'simmr' package

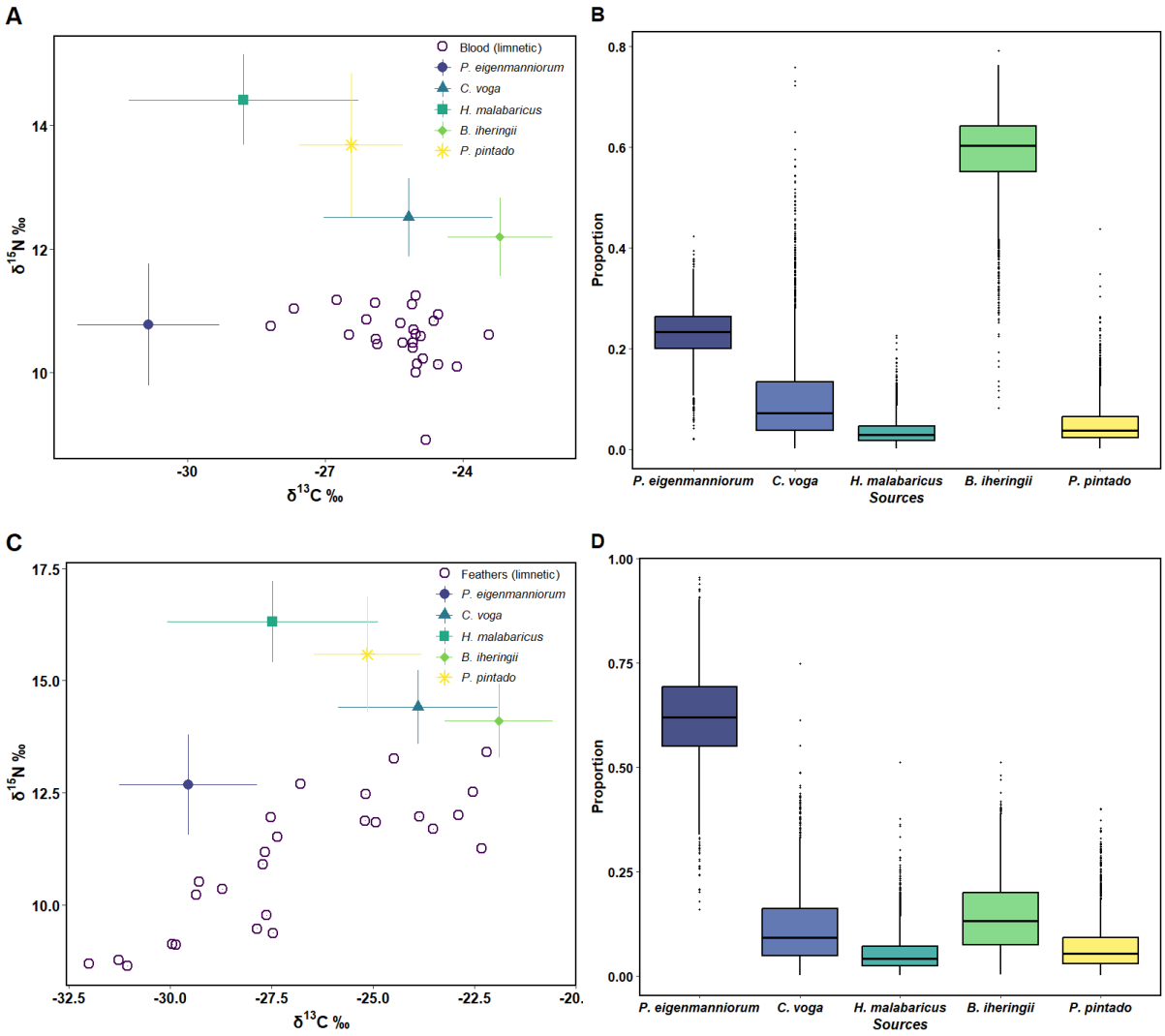


Fig. 5 Values of δ^{13}C and δ^{15}N (‰) in blood (A) and feathers (C) of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) and potential prey, and the estimated proportional contribution of each source (B and D, respectively), in the limnetic environment of Taim Ecological Station, southern Brazil. Ninety-five percent credibility intervals were used for the mixing models in the 'simmr' package

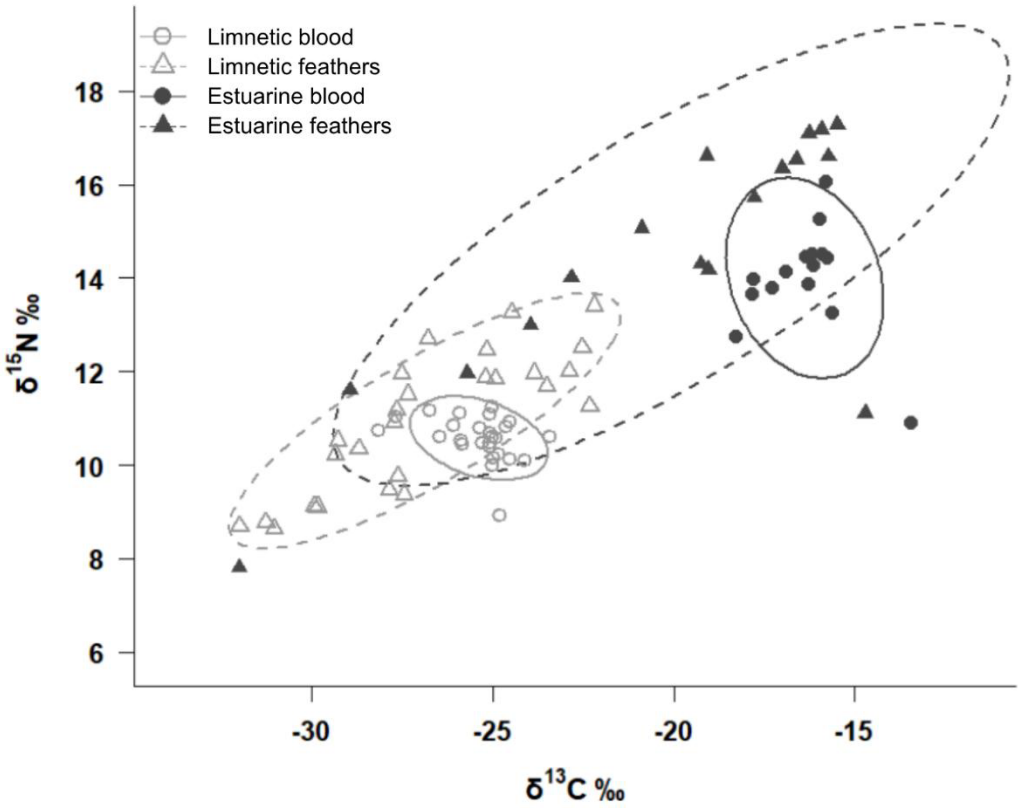


Fig. 6 Isotopic niche width based on $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in blood (circle, solid line) and feathers (triangle, dashed line) of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) from limnetic (light gray) and estuarine (dark gray) environments in southern Brazil

Discussion

This study was the first to describe the diet of the Neotropic cormorant in limnetic habitats in southern Brazil and the first to compare diet in limnetic and estuarine environments across the species' broad distribution. The results obtained through the conventional dietary method and SIA indicated that diet composition and prey assimilation reflected differences in fish fauna between the two environments, with a single fish species or group comprising the bulk of the diet in each habitat. According to PSIRI%, a single main taxon accounted for more than 50% of the diet in each environment, indicating local dietary specialization and habitat fidelity. Furthermore, by providing information on prey assimilation not only within the study area but also during the period preceding sampling, with greater assimilation of freshwater prey by cormorants from both environments, our results confirm the opportunistic piscivorous feeding habits of the Neotropic cormorant and its role as a generalist top predator in aquatic food webs.

Diet composition and prey size classes

In the limnetic environment, only freshwater prey occurred, and according to PSIRI%, the most important prey were characids (Characidae), accounting for 62% of the diet, followed by toothless characin (Curimatidae) and pintado catfish (Pimelodidae). In the estuarine environment, whitemouth croaker (Sciaenidae) accounted for 80% of dietary importance, followed by sea catfish (Ariidae) and mullets (Mugilidae). Similar patterns have been reported in other freshwater environments, where the main prey consumed were also the most abundant species during the study period. In the Paraná River, Brazil, the armored catfish *Hoplosternum littorale* represented more than 50% of the diet, with smaller contributions from pimelodids, cichlids, and characids (Dias et al., 2025), whereas in lakes of Argentine Patagonia, the invasive salmonids *Oncorhynchus mykiss* and *Salmo trutta* and the kingfish *Odontesthes hatcheri* were the most important prey (Casaux et al., 2009; Alarcón et al., 2012; Casaux et al., 2012). Compared with a study conducted two decades earlier in the same estuarine environment, the same commercially important species were consumed, reinforcing the role of the cormorant as an important predator of the most abundant demersal fishes in this location, such as juvenile croakers and sea catfishes (Barquete et al., 2008b). The high abundance of juvenile croakers in this environment has also been reported in studies of fisheries bycatch discards (Haimovici & Cardoso, 2017). Furthermore, estuarine and marine fishes have regularly been reported as important prey in the diet of the Neotropic cormorant in other regions of Brazil, such as the coast of Rio Grande do Sul (Haubert, 2019; Oliveira et al., 2019) and, 500 km from the study area, in the state of Santa Catarina (Branco et al., 2009; Pimenta et al., 2026), as well as in other South American countries, including Venezuela (Gil-Weir et al., 2011; Muñoz-Gil et al., 2013) and Colombia (Tette-Pomarico et al., 2020).

Among the 16 food items identified in the limnetic environment, the high importance of characids in the diet of cormorants (PSIRI% = 61.9) is likely related to the high richness of Characidae within the Taim hydrological system, where small characids such as *Diapoma alburnus*, *Bryconamericus iheringii*, *Deuterodon luetkenii*, and *Cheirodon interruptus* are among the most abundant fishes in shallow-margin habitats (Garcia et al., 2006b; Artioli et al., 2009; Medvedovsky, 2009). Although the size classes of characids were not estimated in this study, the lengths of individuals inhabiting shallow margins can range from 34 to 44 mm (Garcia et al., 2006b). Juveniles and subadults of toothless characin, the second most important prey item according to PSIRI% (12.7%), were most frequently represented by individuals up to 120 mm in length. Juvenile toothless characins and other small-bodied fishes frequently use shallow margins protected by vegetation, whereas larger fishes, such as adult toothless

characins and American tetras (*Oligosarcus* spp.), are more abundant in limnetic zones (Garcia et al., 2006b; Artioli et al., 2009). Siluriform catfishes also occurred in the diet, with pintado catfish being the most important (PSIRI% = 3.1), followed by mandi catfishes (*Pimelodella australis* and *Parapimelodus nigribarbis*) and jundiás (*Rhamdia quelen*), all with PSIRI% values of <1.15%. These species are benthic or demersal fishes that inhabit lagoon bottoms (Medvedovsky, 2009). In this case, cormorants may prey opportunistically on individuals occurring in shallow margins or actively consume them in open and deeper areas of the lagoon. Although the Neotropic cormorant feeds primarily on demersal fishes in the Patos Lagoon estuary, it is able to shift its diet among different food items and habitats in response to environmental fluctuations (Barquete et al., 2008b). In the freshwater areas of ESEC Taim, cormorants appear to forage in shallower waters (<5 m), which constitute most of the limnetic environment examined in this study. This pattern suggests considerable flexibility in the species' foraging habits, as it consumes fishes occupying different portions of the water column, including benthic, demersal, and pelagic prey (Quintana et al., 2004; Morgenthaler et al., 2025; Pimenta et al., 2026).

In the estuarine environment, juvenile and subadult demersal fishes dominated the diet of the Neotropic cormorant. Whitemouth croakers between 20 and 50 mm were the most frequent prey in this study because they use the estuary as a feeding and nursery area (Costa et al., 2014). Their abundance is explained by early maturation and high fecundity, resulting in multiple cohorts and size classes, with peak spawning occurring during spring and summer (Bruno & Muelbert, 2009; Costa et al., 2014; Haimovici et al., 2021), which coincides with the period of greatest abundance of Neotropic cormorants in the region. This likely explains the predominance of croakers in the diet across successive studies (Barquete et al., 2008b; Backhaus 2023 unpublished data; present study). According to Costa et al. (2014), individuals ranging from 30 to 90 mm occupy all estuarine habitats, including both shallow and deep waters, throughout the year. The juvenile mullets frequently found in the diet are pelagic species that spend part of their life cycle in the estuary and dominate shallow-water communities (<1.5 m) (Vollrath et al., 2021). *Mugil liza* occurs year-round in the estuary, whereas *Mugil curema* and *Mugil brevirostris* occur only during the juvenile stage, primarily between summer and autumn (Vieira, 1991; Haimovici & Cardoso, 2017; Vollrath et al., 2021). These findings support the view that cormorants feed mainly on demersal prey in deeper estuarine waters but may shift to pelagic prey when they become abundant, as reported by Barquete et al. (2008b). Although the size classes of sea catfish were not estimated, the preyed individuals were likely juveniles represented by *Genidens barbus*, *G. planifrons*, and *G. genidens*, anadromous species

544 that inhabit marine environments and spawn within the estuary (Araújo, 1988; Haimovici &
545 Cardoso, 2017).
546 Three food items were found in common in pellets from both environments: characids,
547 toothless characin, and pintado catfish. Freshwater fishes can occur in the estuarine portion,
548 mainly during periods of higher freshwater discharge, which may explain the occasional
549 presence of these species in the diet (Garcia et al., 2003; Possamai et al., 2018). For example,
550 in April and May 2024, excessive rainfall increased water levels and kept the lower portions of
551 the Patos Lagoon estuary under freshwater influence for an extended period (Cárdenas et al.,
552 2026; SiMCosta., 2026), potentially resulting in changes in the biota and influencing the prey
553 available to cormorants (Garcia et al., 2003; Odebrecht et al., 2017). Furthermore, nearby
554 limnetic water bodies, such as small lakes at the Federal University of Rio Grande, Marinheiros
555 Island, the Lagoa Verde Environmental Protection Area, and connected streams, may also be
556 used as feeding grounds (Barquete et al., 2008a; Quintela et al., 2018; authors' personal
557 observation).
558
559 Trophic niche in estuarine and limnetic environments
560
561 The trophic niche was smaller for cormorants in the estuarine environment because of the high
562 contribution of whitemouth croaker in the diet (PSIRI% = 79.8, PM% = 87.9). In the limnetic
563 environment, although characids also represented a high proportion of the diet, the mass
564 contribution was more evenly distributed among other taxa, resulting in a higher B_s. The B_s
565 values reflected the diet in both environments, indicating that although several food items were
566 identified, only a few were consumed at high frequencies. The B_s values in both environments
567 were close to 0 and, according to Krebs (1989), values below 0.6 are typical of specialists.
568 Although the cormorant is able to shift prey consumption over time, whitemouth croaker is
569 abundant in the estuary and remains dominant in the diet throughout the year (Barquete et al.,
570 2008b). Small characids are more abundant in the limnetic environment during spring and
571 summer, when water temperature is higher and coincides with the reproductive period of fishes,
572 the same period during which pellets were collected. However, during colder months, species
573 composition can change substantially and richness may decrease (Medvedovsky, 2009; Moura
574 et al., 2012). In general, differences in trophic niche reflect changes in diet according to prey
575 composition in each environment. The B_s calculated in a previous study in the Patos Lagoon
576 estuary was 0.056, also with a high proportion of whitemouth croaker among 20 food items
577 (Barquete et al., 2008b). A higher value was reported for cormorants in another estuarine

environment (B_s = 0.287), located 500 km north of the study area, due to the high diversity of prey available throughout the year, with 31 food items identified (Pimenta et al., 2026). The Neotropic cormorant has also exhibited greater niche breadth in other types of environments when compared with herons and other cormorant species, indicating that it occupies a higher position in the food web (Dias et al., 2025; Morgenthaler et al., 2025). Furthermore, because it forages at different depths in marine waters and estuaries, the Neotropic cormorant was found to be more generalist in terms of habitat use than other cormorant species (Morgenthaler et al., 2025). According to Barquete et al. (2008b), Neotropic cormorants are generalists at the species level, considering the wide variety of habitats used and food items reported in their diet throughout the Americas, but exhibit specialist behavior at the individual or local population level, corroborating the differences in B_s values found in the present study.

Pellet analysis limitations and daily intake

The mean reconstructed mass in pellets, or meal size, was more than double in the estuarine environment compared with the limnetic environment, although both are within the range of values reported for species of the family (Ridgway, 2010). Regarding the daily intake of the Neotropic cormorant calculated using the metabolic equation, the value obtained in this study was 448 g (30.05% of BM), which is close to the value of 429 g reported by Barquete et al. (2008b) for the estuarine environment and the daily intake of 383 g calculated by Pimenta et al. (2026) in another estuarine system. The difference in reconstructed pellet mass between the two environments may be related to the underestimation of fish with small otoliths that are lost during passage through the gastrointestinal tract (Johnstone et al., 1990). Otolith recovery rates vary among species, and fish with larger otoliths have a greater probability of recovery (Johnstone et al., 1990; McKay et al., 2003; Ridgway, 2010). In the limnetic environment, length estimates from larger fish influenced the mean TL of prey, which was used to replace fish whose mass could not be estimated, such as small characids, thereby increasing the mean TL of all fish. In fact, it was observed during this study that even larger freshwater fish (TL = 275 mm, OtL = 4 mm) had smaller otoliths than estuarine fish of similar size (TL = 300 mm, OtL = 11.5 mm).

Although the mean number of prey ingested per pellet did not differ between the estuarine and limnetic environments, there was a greater number of unidentified fish in the limnetic environment because of otoliths worn by digestion (PN% = 25.8). In general, otoliths of freshwater fish are smaller, more fragile, and more susceptible to digestion than those of

612 marine and estuarine species, which may be related to the lower availability of calcium in
613 freshwater environments such as Mirim Lagoon (Coradi et al., 2009; Silva-Costa & Bugoni,
614 2013). Otoliths are composed of calcium carbonate, and lower Ca concentrations may influence
615 otolith resistance (Farrell & Campana, 1996; Campana, 1999; Silva-Costa & Bugoni, 2013).
616 Thus, the loss of small prey may have inflated the mean size and mass of freshwater fish, leading
617 to a greater estimated consumption than the actual consumption. Daily intake values can also
618 vary according to factors such as habitat type, life-cycle stage, prey energy density, and
619 individual BM (Ridgway, 2010). For example, in the midwestern United States, daily intake of
620 the double-crested cormorant (*N. auritum*) was influenced by fluctuations in fish fauna among
621 years (Göktepe et al., 2012). The breeding period may also affect daily intake because of
622 increased energetic demands, as reported for the imperial cormorant (*Leucocarbo atriceps*)
623 (Gómez-Laich et al., 2013). Therefore, daily intake estimates can be influenced both by
624 environmental variation and by the analytical methods used.
625
626 Prey assimilation and isotopic niche
627
628 The comparison between the two environments revealed that mean $\delta^{13}C$ values in blood were
629 higher in the estuarine environment. The $\delta^{13}C$ values of consumers in the estuarine environment
630 reflected the assimilation of estuarine-resident or estuarine-dependent prey, which have higher
631 $\delta^{13}C$ values because of the basal sources present in that environment (Garcia et al., 2007;
632 Claudino et al., 2013), corroborating our hypothesis. In general, the carbon sources supporting
633 fish in the estuarine zone are derived from primary producers with a C4 photosynthetic
634 pathway, which have higher $\delta^{13}C$ values, such as salt marsh vegetation in shallow-margin
635 habitats and marine phanerogams (*Ruppia maritima*) used by juvenile fish, as well as benthic
636 microalgae and marine phytoplankton (Garcia et al., 2007). In the limnetic environment, carbon
637 is derived from plants with a C3 photosynthetic pathway, such as the macrophytes that dominate
638 ESEC Taim, and their low $\delta^{13}C$ values are reflected in consumers at higher trophic levels,
639 supporting the hypothesis that $\delta^{13}C$ values would be lower in this environment (Garcia et al.,
640 2006a; Rodrigues et al., 2014). The lower $\delta^{15}N$ values of Neotropic cormorants in the limnetic
641 environment, in addition to reflecting distinct isotopic baselines between habitats, may be
642 associated with the greater consumption of detritivorous fish, such as toothless characin, and
643 omnivorous fish with a tendency toward herbivory and detritivory, such as small characids
644 (Corrêa & Piedras, 2008; González-Sagrario & Ferrero, 2013; Neves et al., 2024). In general,
645 fish that assimilate larger amounts of detritus occupy lower trophic positions in the lagoons of

646 the region, which influences the δ^{15}N values of their consumers (Garcia et al., 2006a; Rodrigues
647 et al., 2014). In the estuary, the higher δ^{15}N values reflect the consumption of marine and
648 estuarine fishes with a tendency toward carnivory, such as whitemouth croakers and sea catfish,
649 which occupy higher trophic positions than small characids (Garcia et al., 2007; Claudino et
650 al., 2013).
651 Blood mixing models indicated that whitemouth croaker was the main source
652 assimilated by cormorants in the estuary, followed by mullet and characid, whereas in the
653 limnetic environment, characids and toothless characin made the greatest contributions. These
654 results corroborate the recent diet described through pellet analysis and indicate that the most
655 frequent food items in the diet were also assimilated into the blood of Neotropic cormorants.
656 The isotopic niche inferred from blood was broader in the estuarine environment, which may
657 be explained by the estuary being a transition zone with a greater flow of estuarine-resident,
658 marine estuarine-dependent, and occasionally freshwater species (Vieira et al., 2010; Possamai
659 et al., 2018). The more restricted assimilation of freshwater prey in the limnetic environment
660 resulted in a narrower niche because there are no major variations in the sources supporting the
661 lagoons and channels of ESEC Taim, and the resident freshwater species are well established
662 (Rodrigues et al., 2014). Furthermore, the data obtained through pellet analysis and blood SIA
663 demonstrate that there was no evidence of displacement between the two environments for
664 feeding, suggesting fidelity to foraging areas during the temporal window represented by blood
665 samples. Estuarine prey were absent from pellet samples collected in the limnetic environment,
666 and the use of nearby limnetic water bodies appears advantageous given that the nearest beach
667 is approximately 14 km away. Remote-tracking data from estuarine and limnetic environments
668 also indicated fidelity to each environment, with limited movement between estuarine and
669 limnetic systems (authors' personal observation).
670 In contrast to blood, feather data revealed that estuarine cormorants may have
671 assimilated prey with lower δ^{13}C values in greater proportions, represented in the mixing model
672 by characids, while estuarine prey continued to contribute to the diet. In the limnetic
673 environment, prey with lower δ^{13}C values contributed most strongly, and the assimilation of
674 freshwater sources remained consistent. In both environments, the isotopic niche inferred from
675 feathers was broader, and δ^{13}C values showed greater variation than those observed in blood.
676 These results indicate that during feather molt prior to sampling, there was greater assimilation
677 of freshwater prey, possibly reflecting intraspecific variation associated with post-breeding
678 dispersal movements. By using the same sources in both isotopic models (blood and feathers),
679 it was demonstrated that the sources represented in feather models are primarily indicative of

680 the type of environment used by cormorants, because different prey species may be consumed
681 during dispersal by each individual throughout the feather growth period (authors' personal
682 observation). This interpretation is supported by different movement patterns observed through
683 tracking of Neotropic cormorants. During the breeding period, some adults from the estuarine
684 environment migrated regionally and continued to use the Patos Lagoon system north of the
685 study area, whereas others migrated long distances inland toward regions near Uruguay and
686 Argentina, resulting in greater assimilation of freshwater prey from different locations (authors'
687 personal observation). Areas such as Santa Fe and the Paraná River Delta in Argentina, for
688 example, have been documented as breeding areas and coincide with the period when
689 cormorants are absent from the Patos Lagoon estuary (Olrog, 1975; De la Peña, 1980; Barquete
690 et al., 2008a). Meanwhile, cormorants from the limnetic environment continued to use the
691 northeastern portion of Mirim Lagoon, the Taim wetland, and the northern portion of
692 Mangueira Lagoon, where colony formation has been recorded on Cardoso Island (ESEC Taim
693 team, personal communication). Therefore, the dispersal of individuals and the use of inland
694 aquatic environments support the hypothesis of greater variation in $\delta^{13}C$ values in feathers and
695 a broader isotopic niche, explaining the assimilation of freshwater prey during an earlier period.
696
697 **Conclusion**
698
699 In this study, blood SIA complemented the conventional dietary analysis and confirmed that
700 the recent diet described through pellet analysis was also reflected in assimilated prey. In the
701 Patos Lagoon estuary, a diet composed mainly of estuarine, marine, and occasionally freshwater
702 fish explains the broader isotopic niche. The first description of the diet in a limnetic
703 environment in southern Brazil, provided by this study, indicated predation on freshwater
704 species occurring in the shallow margins of the lagoons and channels of ESEC Taim,
705 confirming the hypothesis that the diet would be composed of the dominant taxa in each
706 environment and that the isotopic niche in blood would be narrower. Feather data provided
707 information on prey assimilation during the post-breeding period and demonstrated that the
708 Neotropic cormorant maintains its generalist character at the species level, consistent with its
709 flexibility in diet and habitat use throughout the Neotropical region. Furthermore, the
710 comparison of the trophic ecology of the Neotropic cormorant in isotopically distinct
711 environments indicated local specialization in response to the most abundant prey, highlighting
712 its opportunistic behavior and its role as a top predator in aquatic food webs. Future studies
713 should integrate dietary analyses and SIA with tracking data to investigate migration routes,

foraging dynamics, and ecological and dietary interactions in breeding areas. Such studies represent important steps toward understanding the functional role of the Neotropic cormorant in connecting aquatic environments throughout its life cycle.

Acknowledgments The authors are grateful to all colleagues and friends at the Waterbirds and Sea Turtles Laboratory for their contributions to field and laboratory work, as well as for their valuable guidance. We extend our gratitude to technician Leonardo Furlanetto for his comprehensive support and assistance with transportation, laboratory procedures, and all the additional work associated with this research. We also thank technician Marcio de Araújo Freire from the Demersal Fisheries and Cephalopods Laboratory (IO-FURG) for his assistance in identifying marine fish, and Roberta Araújo Barutot from the Decapod Crustacean Laboratory (IO-FURG) for identifying the shrimps. Drs. Pablo Alarcón and Alexandre M. Garcia provided valuable feedback on a previous version of the current mansucript. Furthermore, we appreciate the assistance with fish collection and identification provided by Yan Gowert and our colleagues from the Ichthyology Laboratory (IO-FURG). We also thank the Museu Oceanográfico Prof. Eliézer de Carvalho Rios and the Centro de Reabilitação de Animais Marinhos (CRAM-FURG) for assistance with logistics, sampling, and processing. We thank the team from the Núcleo de Educação e Monitoramento Ambiental (NEMA) for allowing participation in monitoring activities for pellet collection. Finally, we are grateful to the dedicated team at ICMBio/ESEC Taim for their logistical support and assistance.

Funding This research is linked to the *Programa de Monitoramento Ambiental Continuado do Porto do Rio Grande: Monitoramento da Ornitofauna*, with funding from the PORTOS RS agency used for field activities and bird sampling. In addition, this research was financially supported by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil* (CAPES) through an MSc fellowship awarded to T.A.C. Backhaus (process number: 88887.959084/2024-00). L. Bugoni is a research fellow of the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq Grant No. 310145/2022-8).

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Declaration on the use of LLM An LLM was used for formatting the bibliographic reference list, and DeepL was used for translation. All outputs were carefully reviewed for correctness.

Ethical and sampling approval This study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Rio Grande (CEUA-FURG) (Pq019/2022 and Pq008/2025) and by the *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade through the Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade* (ICMBio/SISBIO) (Licenses No. 85705-3 and 100211-1). Identification bands were provided by the *Centro Nacional de Pesquisa e Conservação das Aves Silvestres* (CEMAVE/ICMBio) (Project No. 4545, License No. 324701).

Data availability statement Raw data analysed in this study are available upon reasonable request.

References

Alarcón, P. A. E., P. J. Macchi, A. Trejo & M. F. Alonso, 2012. Diet of the Neotropical cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in a Patagonian freshwater environment invaded by exotic fish. Waterbirds 35: 149–153. https://doi.org/10.1675/063.035.0115.

Araújo, F. G., 1988. Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Revista Brasileira de Zoologia 5: 509–543. https://doi.org/10.1590/S0101-81751988000400002.

Artioli, L. G. S., J. P. Vieira, A. M. Garcia & M. A. Bemvenuti, 2009. Distribuição, dominância e estrutura de tamanhos da assembleia de peixes da Lagoa Mangueira, sul do Brasil. Iheringia, Série Zoologia 99: 409–418. https://doi.org/10.1590/S0073-47212009000400011.

Asmus, M. L., 1998. A planície costeira e a lagoa dos Patos. In Seeliger, U., C. Odebrecht & J. P. Castello (eds). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Editora Ecoscientia, Rio Grande: 9–12.

Ayres, M., M. Ayres-Júnior, D. L. Ayres, & A. A. S. Santos, 2007. BioEstat 5.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Instituto Mamirauá, Belém, PA. Available at: https://mamiraua.org.br/downloads/programas/.

Barquete, V., C. M. Vooren & L. Bugoni, 2008a. Seasonal abundance of the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) at Lagoa dos Patos Estuary, southern Brazil. Hornero 23: 15–22. https://doi.org/10.56178/eh.v23i1.745.

780 Barquete, V., L. Bugoni & C. M. Vooren, 2008b. Diet of Neotropic cormorant (*Phalacrocorax*
781 *brasilianus*) in an estuarine environment. Marine Biology 153: 431–
782 443.https://doi.org/10.1007/s00227-007-0824-8.
783 Barrett, R. T., K. Camphuysen, T. Anker-Nilssen, J. W. Chardine, R. W. Furness, S. Garthe, O.
784 Huppop, M. F. Leopold, W. A. Montevecchi & R. R. Veit, 2007. Diet studies of seabirds:
785 a review and recommendations. ICES Journal of Marine Science 64: 1675–1691.
786 https://doi.org/10.1093/icesjms/fsm152.
787 Bearhop, S., C. E. Adams, S. Waldron, R. A. Fuller & H. Macleod, 2004. Determining trophic
788 niche width: a novel approach using stable isotope analysis. Journal of Animal Ecology 73:
789 1007–1012. https://doi.org/10.1111/j.0021-8790.2004.00861.x.
790 Bearhop, S., D. R. Thompson, R. A. Phillips, S. Waldron, K. C. Hamer, C. M. Gray, S. C.
791 Votier, B. P. Ross & R. W. Furness, 2001. Annual variation in great skua diets: the
792 importance of commercial fisheries and predation on seabirds revealed by combining
793 dietary analyses. Condor 103: 802–809. https://doi.org/10.1093/condor/103.4.802.
794 Bearhop, S., S. Waldron, S. C. Votier& R. W. Furness, 2002. Factors that influence assimilation
795 rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers.
796 Physiological and Biochemical Zoology 75: 451–458. https://doi.org/10.1086/342800.
797 Boecklen, W. J., C. T. Yarnes, B. A. Cook & A. C. James, 2011. On the use of stable isotopes
798 in trophic ecology. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 42: 411–440.
799 https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144726.
800 Bond, A. L. & K. A. Hobson, 2012. Reporting stable-isotope ratios in ecology: recommended
801 terminology, guidelines and best practices. Waterbirds 35: 324–331.
802 https://doi.org/10.1675/063.035.0213.
803 Branco, J. O., C. L. Evangelista, M. J. Lunardon-Branco, S. M. Azevedo-Júnior & M. E.
804 Larrazábal, 2009. Atividade diária de *Phalacrocorax brasilianus* (Aves,
805 Phalacrocoracidae), na região do Saco da Fazenda, Itajaí, SC, Brasil. Ornithologia 3: 73–
806 82.
807 Bremm, C. Q. & U. H. Schulz, 2014. Otolith atlas of fish of the Sinos River. Brazilian Journal
808 of Biology 74: 274-282. https://doi.org/10.1590/1519-6984.11612.
809 Britto, V. O. & L. Bugoni, 2015. The contrasting feeding ecology of great egrets and roseate
810 spoonbills in limnetic and estuarine colonies. Hydrobiologia 744: 187–210.
811 https://doi.org/10.1007/s10750-014-2076-1.
812 Brown, S., J. Bizarro, G. Cailliet & D. Ebert, 2012. Breaking with tradition: redefining
813 measures for diet description with a case study of the Aleutian skate *Bathyraja aleutica*

(Gilbert 1896). Environmental Biology of Fishes 95: 3–20. https://doi.org/10.1007/s10641-011-9959-z.

Bruno, M. A. & J. H. Muelbert, 2009. Distribuição espacial e variações temporais da abundância de ovos e larvas de *Micropogonias furnieri*, no estuário da Lagoa dos Patos: registros históricos e forçantes ambientais. Atlântica 31: 51–68. https://doi.org/10.5088/atl.2009.31.1.51.

Bugoni, L. & C. M. Vooren, 2004. Feeding ecology of the common tern *Sterna hirundo* in a wintering area in southern Brazil. Ibis 146: 438–453. https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2004.00277.x.

Calliari, L. J., R. P. Cunha & J. A. F. Antiqueira, 2010. Características geológicas. In Seeliger, U. & C. Odebrecht (eds), O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. FURG, Rio Grande: 31–39. Available at: https://peld.furg.br/2011-08-05-19-20-58/livros.

Campana, S. E., 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Marine Ecology Progress Series 188: 263–297. https://doi.org/10.3354/meps188263.

Cárdenas, S. M. M., J. Tavora, M. L. C. Rosa, H. L. Wilson, E. H. Fernandes & J. Weschenfelder, 2026. Earth observation records of extreme sediment mobilization in the world's largest choked lagoon during the 2024 southern Brazil flood catastrophe. Estuaries and Coasts 49: 77. https://doi.org/10.1007/s12237-026-01701-w.

Casaux, R. J., C. Y. Di Prinzio, M. L. Bertolin & M. Tartara, 2009. Diet of the Neotropic cormorant *Phalacrocorax olivaceus* at West Chubut, Patagonia, Argentina. Waterbirds 32: 444–449. https://doi.org/10.1675/063.032.0310.

Casaux, R., A. Ramón, M. A. Tartara, V. Borrell & R. Gonc, 2012. Diet of breeding Neotropic cormorants at the Carrileufu River, Patagonia: Is there any impact on recreational fish resources? Ardeola 59: 279–289. https://doi.org/10.13157/arla.59.2.2012.279.

Caseiro-Silva, F., F. A. Faria, C. T. Barreto, C. N. Fernandez & L. Bugoni, 2023. Colonial waterbirds provide persistent subsidies to swamp forests along an estuarine island food chain. Oecologia 202: 113–127. https://doi.org/10.1007/s00442-023-05377-y.

Ceni, G. & J. P. Vieira, 2013. Looking through a dirty glass: how different can the characterization of a fish fauna be when distinct nets are used for sampling? Zoologia 30: 499–505. https://doi.org/10.1590/S1984-46702013000500005.

Claudino, M. C., P. C. Abreu & A. M. Garcia, 2013. Stable isotopes reveal temporal and between-habitat changes in trophic pathways in a southwestern Atlantic estuary. Marine Ecology Progress Series 489: 29–42. https://doi.org/10.3354/meps10400.

Coradi, P. C., O. Pereira-Ramirez, R. Fia & A. T. Matos, 2009. Qualidade da água superficial da Bacia Hidrográfica da Lagoa Mirim. Revista de Ciências Ambientais 3: 53–64.

Corrêa, F. & S. R. N. Piedras, 2008. Alimentação de *Cyphocharax voga* (Hensel, 1869) (Characiformes, Curimatidae) no arroio Corrientes, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Biotemas 21: 117–122. https://doi.org/10.5007/2175-7925.2008v21n4p117.

Costa, C. S. B. & J. C. Marangoni, 2010. As comunidades das marismas. In Seeliger, U. & C. Odebrecht (eds), O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. FURG, Rio Grande: 125–133. Available at: https://peld.furg.br/2011-08-05-19-20-58/livros.

Costa, M. D. P., J. H. Muelbert, L. E. Moraes, J. P. Vieira & J. P. Castello, 2014. Estuarine early life stage habitat occupancy patterns of white croaker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1830) from the Patos Lagoon, Brazil. Fisheries Research 160: 77–84. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2013.10.025.

Craig, E., B. S. Dorr, K. C. Hanson-Dorr et al., 2015. Isotopic discrimination in the double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*). PLoS ONE 10: e0140946. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140946.

de la Peña, M. R., 1980. Notas nidológicas sobre biguaes y cormoranes (Aves: Anhingidae y Phalacrocoracidae). Historia Natural 1: 109–112.

del Hoyo, J., A. Elliott, J. Sargatal, D. A. Christie & E. de Juana, 2015. Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona.

Dias, R. A., G. N. Maurício & L. Bugoni, 2017. Birds of the Patos Lagoon estuary and adjacent coastal waters, southern Brazil: species assemblages and conservation implications. Marine Biology Research 13: 108–120. https://doi.org/10.1080/17451000.2016.1209525.

Dias, R. M., E. A. L. Kashiwaqui, J. C. B. da Silva, H. Ortêncio-Filho, L. C. Gomes, G. T. R. Souza, R. M. Tófoli, M. H. Machado & A. A. Agostinho, 2025. Feeding ecology of the sympatric waterbirds in Neotropical floodplain. Hydrobiologia 852: 751–763. https://doi.org/10.1007/s10750-024-05674-4.

D'Incao, F. & L. F. C. Dumont, 2010. A comunidade de crustáceos decápodes. In Seeliger, U. & C. Odebrecht (eds), O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. FURG, Rio Grande: 117–122. Available at: https://peld.furg.br/2011-08-05-19-20-58/livros.

Doucette, J. L., B. Wissel & C. M. Somers, 2011. Cormorant-fisheries conflicts: stable isotopes reveal a consistent niche for avian piscivores in diverse food webs. Ecological Applications 21: 2987–3001. https://doi.org/10.1890/10-2384.1.

Drewitt, E., 2024. Bird Pellets: a Complete Photographic Guide. London, Pelagic Publishing.

882 Ekblad, C., M. Westerbom, T. Laaksonen, M. Kankainen, A. Ovaskainen, S. Sinisalo & V.
883 Jormalainen, 2026. Great cormorants and grey herons depredating at finfish aquaculture:
884 factors affecting the human-wildlife conflict. Ambio 55: 164–175.
885 https://doi.org/10.1007/s13280-025-02218-5.
886 Ellis, H. I. & G. W. Gabrielsen, 2002. Energetics of free-ranging seabirds. In Schreiber, E. A.
887 & J. Burger (eds), Biology of Marine Birds. CRC Press, Boca Raton, p. 359–407.
888 Farrell, J. & S. E. Campana, 1996. Regulation of calcium and strontium deposition on the
889 otoliths of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and
890 Physiology 115: 103–109. https://doi.org/10.1016/0300-9629(96)00015-1.
891 Fox, A. D., H. E. Jørgensen, E. Jeppesen, T. L. Lauridsen, M. Søndergaard, K. Fugl, P. P.
892 Myssen, T. J. S. Balsby, P. Clausen, P. Musil & Z. Musilová, 2025. Breeding waterbird
893 species as ecological indicators of shifts from turbid to clear water conditions in northwest
894 European shallow eutrophic lakes. Hydrobiologia 852: 411–423.
895 https://doi.org/10.1007/s10750-024-05549-8.
896 Fry, B., 2006. Stable Isotope Ecology. Springer, New York.
897 Gagliardi, A., A. Martinoli, L. Wauters & G. Tosi, 2003. A floating platform: a solution to
898 collecting pellets when cormorants roost over water. Waterbirds 26: 54–55.
899 https://doi.org/10.1675/1524-4695(2003)026[0054:AFPAST]2.0.CO;2
900 Gaiotto, J. V., G. T. Nunes & L. Bugoni, 2022. Dissipation of seabird-derived nutrients in a
901 terrestrial insular trophic web. Austral Ecology 47: 1037–1048.
902 https://doi.org/10.1111/aec.13196.
903 Garcia, A. M., D. J. Hoeinghaus, J. P. Vieira & K. O. Winemiller, 2007. Isotopic variation of
904 fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. Estuarine,
905 Coastal and Shelf Science 73: 399–408. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.02.003.
906 Garcia, A. M., D. J. Hoeinghaus, J. P. Vieira, K. O. Winemiller, D. M. L. Motta-Marques & M.
907 A. Bemvenuti, 2006a. Preliminary examination of food web structure of Nicola Lake (Taim
908 Hydrological System, south Brazil) using dual C and N stable isotope analyses. Neotropical
909 Ichthyology 4: 279–284. https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200014.
910 Garcia, A. M., M. A. Bemvenuti, J. P. Vieira, D. M. L. Motta-Marques, M. D. M. Burns, A.
911 Moresco & M. V. L. Condini, 2006b. Checklist comparison and dominance patterns of the
912 fish fauna at Taim Wetland, South Brazil. Neotropical Ichthyology 4: 261–268.
913 https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200012.
914 Garcia, A. M., M. B. Raseira, J. P. Vieira, K. O. Winemiller & A. M. Grimm, 2003.
915 Spatiotemporal variation in shallow-water freshwater fish distribution and abundance in a

large subtropical coastal lagoon. Environmental Biology of Fishes 68: 215–228. https://doi.org/10.1023/A:1027366101945.

Gheler-Costa, C., F. H. Comin, L. C. Gilli & L. M. Verdade, 2018. Foraging behavior of Brazilian cormorant, *Nannopterum brasilianus* (Suliformes: Phalacrocoracidae). Zoologia 35: e14664. https://doi.org/10.3897/zoologia.35.e14664.

Gil-Weir, K., E. Weir, C. L. Casler & S. Aniyar, 2011. Ecological functions and economic value of the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in Los Olivitos Estuary, Venezuela. Environmental and Development Economics 16: 553–572. https://doi.org/10.1017/S1355770X11000179.

Göktepe, Ö., P. Hundt, W. Porter & D. Pereira, 2012. Comparing bioenergetics models of double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*) fish consumption. Waterbirds 35: 91–102. https://doi.org/10.1675/063.035.sp110.

Gómez-Laich, A., R. P. Wilson, E. L. C. Shepard & F. Quintana, 2013. Energy expenditure and food consumption of foraging Imperial cormorants in Patagonia, Argentina. Marine Biology 160: 1697–1707. https://doi.org/10.1007/s00227-013-2222-8.

González-Sagrario, M. A. & L. Ferrero, 2013. The trophic role of *Cyphocharax voga* (Hensel 1869) according to foraging area and diet analysis in turbid shallow lakes. Fundamental and Applied Limnology 183: 75–88. https://doi.org/10.1127/1863-9135/2013/0385.

Hahn, T. O., B. J. Hoye, H. Korthals & M. Klaassen, 2012. From food to offspring down: tissue-specific discrimination and turnover of stable isotopes in herbivorous waterbirds and other avian foraging guilds. PLoS ONE 7: e30242. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030242.

Haimovici, M. & L. G. Cardoso, 2017. Long-term changes in the fisheries in the Patos Lagoon Estuary and adjacent coastal waters in southern Brazil. Marine Biology Research 13: 135–150. https://doi.org/10.1080/17451000.2016.1228978.

Haimovici, M., L. M. Cavole, J. M. Cope & L. G. Cardoso, 2021. Long-term changes in population dynamics and life history contribute to explain the resilience of a stock of *Micropogonias furnieri* (Sciaenidae, Teleostei) in the SW Atlantic. Fisheries Research 237: 105878. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2021.105878.

Haimovici, M., L. S. Rodrigues, S. H. B. Lucato, M. A. Freire, L. G. Fischer & L. G. Cardoso, 2024. Otolith atlas for marine fishes of the southwestern Atlantic occurring along southern Brazil (28° S–34° S). Marine and Fishery Sciences 37: 53–207. https://doi.org/10.47193/mafis.3712024010101.

Haubert, G., 2019. Ecologia alimentar do biguá *Nannopterum brasilianus* (Aves: Phalacrocoracidae) em um estuário subtropical do Sul do Brasil. MSc. Dissertation, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Available at: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/212837.

Hutchinson, G. E., 1957. Concluding remarks. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 22: 415–427. https://doi.org/10.1101/SQB.1957.022.01.039.

Inger, R. & S. Bearhop, 2008. Applications of stable isotope analyses to avian ecology. Ibis 150: 447–461. https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2008.00839.x.

Jackson, A. L., R. Inger, A. C. Parnell & S. Bearhop, 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian ellipses in R. Journal of Animal Ecology 80: 595–602. https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x.

Johnson, J. H., R. M. Ross & D. R. Smith, 1997. Evidence of secondary consumption of invertebrate prey by double-crested cormorants. Colonial Waterbirds 20: 547–551. https://doi.org/10.2307/1521608.

Johnstone, I. G., M. P. Harris, S. Wanless & J. A. Graves, 1990. The usefulness of pellets for assessing the diet of adult shags *Phalacrocorax aristotelis*. Bird Study 37: 5–11. https://doi.org/10.1080/00063659009477030.

Kantek, D. L. Z., R. C. de Melo, S. S. Miyazaki, W. F. F. Castilheiro & M. dos Santos Filho, 2020. Aquatic birds at the Taiamã Ecological Station: seasonal variation of community structure and the importance of protected areas in the Pantanal. Biodiversidade Brasileira 10: 24–40. https://doi.org/10.37002/biobrasil.v10i3.1513.

Klimaszyk, P. & P. Rzymski, 2016. The complexity of ecological impacts induced by great cormorants. Hydrobiologia 771: 13–30. https://doi.org/10.1007/s10750-015-2618-1.

Kotzian, H. B. & D. M. Marques, 2004. Lagoa Mirim e a Convenção Ramsar: um modelo para ação transfronteiriça na conservação de recursos hídricos. Revista de Gestão de Água da América Latina 1: 101–111. Available at: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/279709.

Krebs, C. J., 1989. Ecological Methodology. Harper & Row, New York.

Lehikoinen, A., O. Heikinheimo, H. Lehtonen & P. Rusanen, 2017. The role of cormorants, fishing effort and temperature on the catches per unit effort of fisheries in Finnish coastal areas. Fisheries Research 190: 175–182. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.02.008.

Levins, R., 1968. Evolution in Changing Environments: Some Theoretical Explorations. Princeton University Press, Princeton.

Mähler Jr., J. K. F., A. Kindel & E. A. I. Kindel, 1996. Lista comentada das espécies de aves da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Biologica Leopoldensia 18: 69–113.

Mansfield, I., S. J. Reynolds, I. Lynch, T. J. Matthews & J. P. Sadler, 2024. Birds as bioindicators of plastic pollution in terrestrial and freshwater environments: a 30-year review. Environmental Pollution 348: 123790. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123790.

McKay, H. V., K. A. Robinson, D. N. Carss & D. Parrott, 2003. The limitations of pellet analysis in the study of cormorant *Phalacrocorax* spp. diet. Vogelwelt 124: 227–236.

Medvedovsky, I. G., 2009. Análise comparativa da composição de espécies e da estrutura das associações de peixes das zonas rasas das lagoas do Sistema Hidrológico do Taim e da porção nordeste da Lagoa Mirim - RS/Brasil. MSc. Dissertation, Universidade Federal do Rio Grande. Available at: https://repositorio.furg.br/items/a6fd9ced-f99a-4a5d-958f-1a761fd60fb0.

Michalik, A., R. A. R. McGill, H. J. van Noordwijk, J. F. Masello, R. W. Furness, T. Eggers & P. Quillfeldt, 2012. Stable isotopes reveal variable foraging behaviour in a colony of the imperial shag *Phalacrocorax atriceps*: differences between ages, sexes and years. Journal of Ornithology 154: 239–249. https://doi.org/10.1007/s10336-012-0890-7.

Morgenthaler, A., A. Millones, P. Gandini, D. Procopio & E. Frere, 2025. Sympatric seabirds: exploring multidimensional niche partitioning among four cormorant species. Marine Ecology Progress Series 752: 169–186. https://doi.org/10.3354/meps14751.

Morgenthaler, A., A. Millones, P. Gandini, D. Procopio & E. Frere, 2020. The diet of adult and chick rock shags (*Phalacrocorax magellanicus*) inferred from combined pellet and stable isotope analyses. Polar Biology 43: 511–521. https://doi.org/10.1007/s00300-020-02653-y.

Motta-Marques, D. M., L. R. Rodrigues, C. R. J. Fragoso, et al., 2013. O sistema hidrológico do Taim. In Tabarelli, M., C. F. D. Rocha, H. P. Romanowski, O. Rocha & L. D. Lacerda (eds), PELD CNPq: Dez Anos do Programa de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração do Brasil: Achados, Lições e Perspectivas. Editora Universitária da UFPE, Recife. Available at: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/104869.

Moura, P. M., J. P. Vieira & A. M. Garcia, 2012. Fish abundance and species richness across an estuarine-freshwater ecosystem in the Neotropics. Hydrobiologia 696: 107–122. https://doi.org/10.1007/s10750-012-1187-9.

1014 Muñoz-Gil, J., G. Marin-Espinoza, J. Andrade-Vigo, R. Zavala & A. Mata, 2013. Trophic
1015 position of the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*): integrating diet and
1016 stable isotope analysis. Journal of Ornithology 154: 13–18.
1017 https://doi.org/10.1007/s10336-012-0863-x.
1018 Naves, L.C.& C.M. Vooren, 2006. Diet of black skimmers in southern Brazil. Waterbirds 29:
1019 335–344. https://doi.org/10.1675/1524-4695(2006)29[335:DOBSIS]2.0.CO;2.
1020 Neves, M. P., J. P. A. Amorim, R. L. Delariva, P. Kratina & C. B. Fialho, 2024. Linking
1021 anatomical and histological traits of the digestive tract to resource consumption and
1022 assimilation of omnivorous tetra fishes. Ecology and Evolution 14: e11375.
1023 https://doi.org/10.1002/ece3.11375.
1024 Newsome, S. D., C. Martinez del Rio, S. Bearhop & D. L. Phillips, 2007. A niche for isotopic
1025 ecology. Frontiers in Ecology and the Environment 5: 429–436.
1026 https://doi.org/10.1890/060150.1.
1027 Nielsen, J. M., E. L. Clare, B. Hayden, M. T. Brett & P. Kratina, 2018. Diet tracing in ecology:
1028 method comparison and selection. Methods in Ecology and Evolution 9: 278–291.
1029 https://doi.org/10.1111/2041-210X.12869.
1030 Odebrecht, C., E. R. Secchi, P. C. Abreu, J. H. Muelbert, & F. Uiblein, 2017. Biota of the Patos
1031 Lagoon estuary and adjacent marine coast: long-term changes induced by natural and
1032 human-related factors. Marine Biology Research 13: 3–8.
1033 https://doi.org/10.1080/17451000.2016.1258714.
1034 Oliveira, K. R., L. L. C. Corrêa & M. V. Petry, 2019. Dieta de *Nannopterum brasilianus* (Aves:
1035 Phalacrocoracidae) no sul do Brasil. Oecologia Australis 23: 432–439.
1036 https://doi.org/10.4257/oeco.2019.2303.03.
1037 Olrog, C. C., 1975. Vagrancy of Neotropical cormorant, egrets, and white-faced ibis. Bird-
1038 Banding 46: 207–212. https://doi.org/10.2307/4512136.
1039 Ovegård, M. K., N. Jepsen, M. B. Nord & E. Petersson, 2021. Cormorant predation effects on
1040 fish populations: a global meta-analysis. Fish and Fisheries 22: 605–622.
1041 https://doi.org/10.1111/faf.12540.
1042 Parnell, A. & R. Inger, 2023.simmr: a Stable Isotope Mixing Model. R package version 0.5.1.
1043 https://CRAN.R-project.org/package=simmr.
1044 Pimenta, V. R. A., J. L. Rodrigues-Filho, J. S. Ataides& J. O. Branco, 2024. Human-wildlife
1045 conflict between Neotropic cormorant and artisanal fisheries induces dubious management
1046 policies in southern Brazil. Ocean and Coastal Research 72: e23193.
1047 https://doi.org/10.1590/2675-2824072.23193.

Pimenta, V. R. A., J. L. Rodrigues-Filho, N. K. Toma & J. O. Branco, 2026. Feeding ecology of *Nannopterum brasilianum* (Gmelin, 1789) and its trophic interactions with artisanal fisheries in the Laguna Estuarine System, Southern Brazil. Aquatic Ecology 60: 17. https://doi.org/10.1007/s10452-025-10257-z.

Possamai, B., J. P. Vieira, A. M. Grimm, & A. M. Garcia, 2018. Temporal variability (1997–2015) of trophic fish guilds and its relationships with *El Niño* events in a subtropical estuary. Estuarine, Coastal and Shelf Science 202: 145–154. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.12.019.

Post, D. M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. Ecology 83: 703–718. https://doi.org/10.2307/3071875.

Post, D. M., C. A. Layman, D. A. Arrington, G. Takimoto, J. Quattrochi & C. G. Montaña, 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. Oecologia 152: 179–189. https://doi.org/10.1007/s00442-006-0630-x.

Quintana, F., P. Yorio, N. Lisnizer, A. Gatto & G. Soria, 2004. Diving behavior and foraging areas of the Neotropic cormorant at a marine colony in Patagonia, Argentina. Wilson Bulletin 116: 83–88. https://doi.org/10.1676/0043-5643(2004)116[0083:DBAFAO]2.0.CO;2.

Quintela, F., F. Corrêa, R. M. Pinheiro & D. Loebmann, 2018. Ichthyofauna of Marinheiros Island, Patos Lagoon estuary, southern Brazil. Biota Neotropica 18: e20170430. https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2017-0430.

R Core Team, 2025. R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org/

Ridgway, M. S., 2010. A review of estimates of daily energy expenditure and food intake in cormorants (*Phalacrocorax* spp.). Journal of Great Lakes Research 36: 93–99. https://doi.org/10.1016/j.jglr.2009.10.002.

Rodrigues, L. R., N. F. Fontoura & D. M. Marques, 2014. Food-web structure in a subtropical coastal lake: how phylogenetic constraints may affect species linkages. Marine and Freshwater Research 65: 453–465. https://doi.org/10.1071/MF12259.

Ruas, V. M., M. A. Rodrigues, L. F. C. Dumont & F. D'Incao, 2014. Habitat selection of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* and the blue crab *Callinectes sapidus* in an estuary in southern Brazil: influence of salinity and submerged seagrass meadows. Nauplius 22: 113–125. https://doi.org/10.1590/S0104-64972014000200005.

1081 Rush, S. A., T. Dobbie & A. T. Fisk, 2013.Quantification of cormorant litter and nutrient
1082 deposition to Great Lakes island ecosystems. Journal of Great Lakes Research 39: 303–
1083 307. https://doi.org/10.1016/j.jglr.2013.03.002.
1084 Sassi, B.S., 2013. Morfologia e relações biométricas de otólitos de peixes estuarinos e límnicos
1085 da planície costeira do Rio Grande do Sul. Bachelor's Monograph, Universidade Federal
1086 do Rio Grande.
1087 Seeliger, U. & C. Odebrecht (eds), 2010. O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de
1088 Transformações. FURG, Rio Grande. Available at: https://peld.furg.br/2011-08-05-19-20-
1089 58/livros.
1090 Silva, D. C. B., A. C. C. M. Canary & C. C. D. Eichenberger, 2021. Plano de Manejo da Estação
1091 Ecológica do Taim. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio),
1092 Brasília. Available at: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-
1093 de-conservacao/unidades-de-biomas/marinho/lista-de-ucs/esec-do-taim/arquivos.
1094 Silva-Costa, A. & L. Bugoni, 2013. Feeding ecology of kelp gulls (*Larus dominicanus*) in
1095 marine and limnetic environments. Aquatic Ecology 47: 211–224.
1096 https://doi.org/10.1007/s10452-013-9436-1.
1097 Sistema de Monitoramento da Costa Brasileira (SiMCosta)., 2026. Retrieved from:
1098 https://www.simcosta.furg.br/home
1099 Sokal, R. R. & F. J. Rohlf, 2012. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in
1100 Biological Research. 4ed. W.H. Freeman and Company, New York.
1101 Steinmetz, J., S. L. Kohler & D. A. Soluk, 2003. Birds are overlooked top predators in aquatic
1102 food webs. Ecology 84: 1324–1328. https://doi.org/10.1890/0012-
1103 9658(2003)084[1324:BAOTPI]2.0.CO;2.
1104 Telfair II, R. C. & M. L. Morrison, 2022. Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*),
1105 version 2.2. In Birds of the World (P. G. Rodewald & B. K. Keeney, eds). Cornell Lab of
1106 Ornithology, Ithaca, NY. https://doi.org/10.2173/bow.neocor.02.2.
1107 Tette-Pomarico, A., A. López-Peña, R. Franke-Ante & L. Duarte, 2020. Dieta y amplitud del
1108 nicho trófico del cormorán Neotropical [*Nannopterum brasilianus* (Gmelin, 1789)] en el
1109 Santuario de Flora y Fauna Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe de Colombia. Boletín
1110 de Investigaciones Marinas y Costeras 49: 193–208.
1111 https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2020.49.SuplEsp.1072.
1112 Tóth, P., B. L. Tarcsay, Z. Kovács, D. T. Ionescu, S. Németh & E. Domokos, 2023. Assessment
1113 of the correlation between the nutrient load from migratory bird excrement and water

quality by principal component analysis in a freshwater habitat. Environmental Science and Pollution Research 30: 66033–66049. https://doi.org/10.1007/s11356-023-27065-3.

Travessas, A. O., C. T. Barreto, C. N. Fernandez, D. C. Chaves & L. Bugoni, 2026. Diet and resource partitioning between egrets and herons in an estuarine colony in southern Brazil. Hydrobiologia 853(11):3303–3319. https://doi.org/10.1007/s10750-026-06144-9.

van der Vegt, W., & S. Bokhorst, 2024. Bird traits and their nutrient impact on terrestrial invertebrate populations. Polar Biology 47: 821–832. https://doi.org/10.1007/s00300-023-03161-5.

Vieira, J. P., 1991. Juvenile mullets (Pisces: Mugilidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, RS, Brazil. Copeia 1991: 409–418. https://doi.org/10.2307/1446590.

Vieira, J. P., A. M. Garcia & L. Moraes, 2010. A assembleia de peixes. In Seeliger, U. & C. Odebrecht (eds), O Estuário da Lagoa dos Patos: Um Século de Transformações. FURG, Rio Grande: 79–90. Available at: https://peld.furg.br/2011-08-05-19-20-58/livros.

Vollrath, S. R., B. Possamai, F. Schneck, D. J. Hoeinghaus, E. F. Albertoni & A. M. Garcia, 2021. Trophic niches and diet shifts of juvenile mullet species coexisting in marine and estuarine habitats. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 101: 431–441. https://doi.org/10.1017/S0025315421000242.

Votier, S. C., S. Bearhop, A. MacCormick, N. Ratcliffe & R. W. Furness, 2003. Assessing the diet of great skuas, *Catharacta skua*, using five different techniques. Polar Biology 26: 20–26. https://doi.org/10.1007/s00300-002-0446-z.

Votier, S. C., S. Bearhop, N. Ratcliffe & R. W. Furness, 2001. Pellets as indicators of diet in great skuas *Catharacta skua*. Bird Study 48: 373–376. https://doi.org/10.1080/00063650109461237.

Weiser, E. L. & A. N. Powell, 2011. Evaluating gull diets: a comparison of conventional methods and stable isotope analysis. Journal of Field Ornithology 82: 297–310. https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2011.00333.x.

Weller, M. W., 1999. Wetland Birds: Habitat Resources and Conservation Implications. Cambridge University Press, Cambridge.

Westerbom, M., C. Ekblad, J. Hopkins, T. Laaksonen, M. Olin, A. Ovaskainen & V. Jormalainen, 2025. Cormorant predation in fyke net fishing: the direct effects of a protected bird on coastal commercial fishing. Fisheries Research 281: 107234. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2024.107234.

White, C. R., D. Grémillet, J. A. Green, G. R. Martin & P. J. Butler, 2011. Metabolic rate throughout the annual cycle reveals the demands of an Arctic existence in great cormorants. Ecology 92: 475–486. https://doi.org/10.1890/09-1951.1.

Zydelis, R. & A. Kontautas, 2008. Piscivorous birds as top predators and fishery competitors in the lagoon ecosystem. Hydrobiologia 611: 45–54. https://doi.org/10.1007/s10750-008-9460-7.

CAPÍTULO 2

A análise de isótopos estáveis em muco de pellets representa a dieta recente de biguás: uma alternativa não invasiva e de fácil coleta

Talita de Alcantara Carneiro Backhaus e Leandro Bugoni

Artigo formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico *Rapid Communications in Mass Spectrometry*.

Stable isotope analysis in the mucus of pellets represents the recent diet of cormorants: a non-invasive and easy-sampling alternative

Short title: Stable isotope analysis in cormorant pellets

Talita de Alcantara Carneiro Backhaus[1,2]* & Leandro Bugoni[1,2]

[1]Graduate Program in Biology of Continental Aquatic Environments, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Campus Carreiros, Rio Grande, RS 96203-900, Brazil

[2]Waterbirds and Sea Turtles Laboratory, Institute of Biological Sciences, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Campus Carreiros, Rio Grande, RS 96203-900, Brazil

*Corresponding author: backhaustalita@gmail.com

ABSTRACT

Rationale: The mucus from regurgitated pellets of cormorants has been suggested as a non-invasive alternative to blood sampling for stable isotope analysis. However, its suitability, time-window and what pellets truly represent remain to be tested. This study analysed pellet mucus of Neotropic cormorants (*Nannopterum brasilianum*) and compared to blood components to infer recent diet assimilation between isotopically distinct estuarine and freshwater environments.

Methods: Pellet mucus (n = 48), serum (n = 39), and red blood cells – RBCs (n = 39) were analyzed in isotope ratio mass spectrometer coupled to elemental analyser to obtain stable isotopic values of carbon and nitrogen. Statistical tests were applied to compare δ^{13}C and δ^{15}N values between sample types. Bayesian isotopic mixing models of blood components and mucus were used to compare estimates of prey source contributions to the inferred diet of cormorants from the Patos Lagoon estuary and the limnetic (Taim Ecological Station) environments, in southern Brazil.

Results: Mucus δ^{13}C values differed markedly according to the environment sampled. In the estuarine environment, δ^{13}C values were similar to serum and RBCs, whereas in the limnetic environment greater variation was detected and values from different matrices differed statistically. The δ^{15}N values of mucus reflected expected differences for both environments, but differed from blood components. In the mixing models there was a

continuum variation in the assimilated proportions of prey, from RBCs to serum and mucus, indicating it might be more similar to serum and potentially have rapid turnover. **Conclusions:** Pellet mucus does reflect differences in food sources assimilated by cormorants in isotopically distinct environments and may represent a shorter time-window than blood components for diet assimilation. Therefore, it may be useful for indicating recent diet changes due to its fast turnover rate, suitable for populational long-term monitoring and changes in the environment.

Keywords: low-cost method, mixing models, *Nannopterum brasilianum*, trophic ecology, turnover rate.

1. Introduction

Stable isotope analysis (SIA) is widely used as a tool to complement traditional methods in dietary avian studies, as it encompasses short and long-term scale of diet assimilation in tissues with distinct turnover rates [1]. SIA method assumes that tissues of a consumer reflect the isotopic ratios of food consumed due to the assimilation of proteins [2]. Among the most common isotopes are carbon (δ^{13}C), which assess the type of habitat used, such as limnetic or marine environment, and nitrogen (δ^{15}N), which infer the consumer's trophic position; and together, they can inform on the trophic interactions of the organism [3], also analyzed at once from a single encapsulated tiny sample. By using different tissues, one can estimate diet assimilation over distinct periods for birds, such as blood, feathers, bones, liver, muscle, and claws [4]. The use of blood in SIA, for example, provides information about the recent diet and, when separated into red blood cells (RBCs) and serum, informs on different temporal windows scales, from weeks to days, respectively [5]. However, the sampling of biological tissues requires the capture and handling of birds, which is invasive and stressful for the organism [6], and could limit the number of samples obtained. On the other hand, it has been suggested that the mucus enveloping bird pellets can be an alternative material to infer recent diet through SIA, as it can be obtained with minimum or none disturbance to birds, and in large numbers in roosting and nesting sites [7].

The regurgitated pellets of birds, commonly used in traditional diet studies, contain rigid and indigestible structures wrapped in mucus [6]. They are produced by several groups of birds – raptors, passerines, petrels, terns and gulls, shorebirds and cormorants – varying in shape, size, and amount of mucus among species [8]. In the

proventriculus, the mucus secretions are produced by tubular glands, meanwhile gastric glands secrete hydrochloric acid and pepsin for digestion processes [9, 10]. The mucus is composed mostly of water, a complex of carbohydrates and glycoproteins, salts, and ions [11]. The formation of pellets occurs as the indigestible material is retained in the proventriculus or gizzard and the mucus layer is formed before egestion, as the pellet passes through the proventriculus [12, 13, 14]. The use of mucus has been scarcely explored in previous studies, restricted to the recent paper on imperial cormorants (*Leucocarbo atriceps*), which refers to the koilin membrane as the material that envelops the cormorant pellet [7]. However, the koilin membrane is a non-keratinous protective lining layer, with perpendicular striations, inside the gizzard, and it is constantly synthesized as it is worn out by digestive acids [10, 11, 15]. In fact, this membrane can be expelled by the organism and is occasionally found deposited at roosting sites and colonies of some birds, such as chinstrap penguins (*Pygoscelis antarcticus*), as a removal tissue mechanism, rather than for regular (e.g. daily) egestion of undigested material [16]. Thus, the mucus is composed by secretions that envelop the regurgitated undigested material and facilitate egestion after each meal [10]. As long as we known, the only previous study measuring stable isotopes in mucus of egested bird pellets is from Morgenthaler et al. [7].

Most birds produce pellets regularly; thus isotopic turnover rates of mucus are inferred to be short [7]. Pellets are eliminated daily by cormorants and owls [8, 17], twice a day in terns (Sternidae), which feed in two shifts every day [18, 19] or even multiple times a day in smaller birds with faster metabolism, such as Passeriformes as the great kiskadee (*Pitangus sulphuratus*) (L. Bugoni, pers. obs.). For the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*), the comparison of prey remains found in pellets, their measurement and application of allometric equations for fish mass result in daily ingested meals. This, usually match with distinct estimates based on energy demands determined through field metabolic rates, caloric value of prey, and their assimilation rates, which also results in estimates of daily food consumption [17]. Therefore, pellets provide a good indication of the actual fish intake per meal, as well as their role on the mortality of juvenile fishes of economic importance, and corroborates the regurgitation of a single pellet everyday [17].

The Neotropic cormorant is an abundant piscivorous waterbird in the Americas, from southern United States of America to Argentina, with flexible feeding habits and inhabits coastal, estuarine, and limnetic waters [20, 21]. It is part of a large family

(Phalacrocoracidae), with 34 species in seven genera, widely distributed in all continents, from Antarctica to the Arctic, from marine to inland ecosystems [21]. Given the usefulness of mucus in trophic ecology studies and the scarcity of isotopic data available, there is a need to determine if its use in SIA is equivalent to blood for diet characterization. The use of samples from a species that exploits resources from isotopically distinct aquatic environments could help understand how $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values of mucus varies, and potentially represent the isotopic signatures of each environment, which makes the Neotropic cormorant an excellent model. Therefore, the aims of this study is to determine if mucus can be used to assess recent diet assimilation by: (1) testing the differences in $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values of mucus and blood components of Neotropic cormorants in freshwater and estuarine environments, places with distinct isotopic values at the base of the food web; and (2) estimating different source contributions in mucus and comparing with serum and red blood cells, for each environment, as an alternative in trophic modelling.

2. Material and Methods

2.1. Pellet and Blood Sampling

Neotropic cormorant pellets, which have a characteristic thick layer of mucus, were manually collected at roosting sites in freshwater (Taim Ecological Station) and estuarine (Patos Lagoon estuary), areas with about 70 km distance from each other, and both approximately 14 km from the nearest marine beach, in Rio Grande do Sul state, the southernmost in Brazil. In the estuarine environment, pellet sampling was carried out in February and March 2026 (n = 17) on a pier at Pólvora Island and concrete structures in the Patos Lagoon estuary. Instead of only fresh pellets usually selected for diet studies, some pellets were collected as dried remains of the mucus layer adhering to the surface, as we intended to obtain material from a variable and long previous period. In the freshwater environment, samples were collected beneath trees used as roosts near the Mirim Lagoon channel from January to March 2025 (n = 31). Samples were individually stored in plastic bags and frozen in laboratory until processing.

Additionally, cormorants were captured with mist nets setted up in areas used for foraging or resting. In the estuarine environment, cormorant blood sampling also occurred at Pólvora Island between October and December 2025 (n = 14), while at Taim freshwater habitat, captures were conducted in the Mirim Lagoon channel between September and November 2024 (n = 25). Blood was collected from the brachial vein with sterilized

137 syringes and needles (~2.5 mL), transferred from the syringe to plastic tubes after needle
138 removal, and kept at room temperature until the end of the sampling for subsequent
139 processing [22]. All captured individuals were banded (metal band with a unique
140 alphanumeric code provided by CEMAVE/ICMBio) to avoid resampling, and after
141 biological sampling, birds were released near the capture site.
142
143 **2.2. Sample Processing and Stable Isotope Analysis**
144 In laboratory, dry samples were hydrated in distilled water (~1 h) to ensure they were
145 indeed pellet mucus from cormorants, whereas intact pellets were washed in a sieve and
146 the mucus was separated from prey remains. All samples were repeatedly washed with
147 distilled water to remove any adhered particles and food remains [7].
148 Tubes with blood samples were placed in a water bath at 37°C for 30 min. They
149 were then centrifuged at 2500 RPM for 5 min to separate RBCs and serum, instead of
150 plasma, as we avoided the use of anticoagulants to prevent alterations in carbon values
151 [23]. Following this procedure, all samples were frozen.
152 Prior to SIA, RBCs, serum, and mucus samples were freeze-dried for 8 h, crushed
153 and homogenized. They were weighed on a digital microbalance (XPR10 Mettler Toledo)
154 and ~0.7 mg was packed into tin capsules (5 × 9 mm) for analysis in an isotope ratio mass
155 spectrometer coupled to an elemental analyzer (EA Flash 2000 Delta V Advantage and
156 TC/EA, ThermoFisher Scientific™) at the Integrated Analysis Center (CIA-FURG). The
157 isotopic ratios of the samples are expressed relative to the isotopic ratio of an international
158 measurement standard as a reference, which for δ^{13}C is the Vienna Pee Dee Belemnite
159 (VPDB) and for δ^{15}N is atmospheric air (N_2) [24]. The isotopic composition was
160 determined using equation (1) from Bond and Hobson [24], and the unit of measurement
161 is per mille (‰), where R = $^{13}C/^{12}C$ or $^{15}N/^{14}N$ of the sample:
162
163 $$\delta^{13}\mathrm{C} \text{ or } \delta^{15}\mathrm{N}\ (‰) = \left[\left(\mathrm{R}_{\mathrm{sample}}/\mathrm{R}_{\mathrm{standard}}\right) - 1\right] \quad (1)$$
164
165 Internal laboratory standards (caffeine, acetanilide and glutamic acid) calibrated
166 according to international standards were analyzed every 12 samples to correct for drift.
167 The standard deviation of the internal laboratory standards indicated a precision of ±0.1‰
168 for both δ^{13}C and δ^{15}N.
169
170 **2.3. Data Analysis**

171 Statistical analyses were used to test for differences between values of each stable isotope
172 (carbon and nitrogen, separately) between materials – mucus, serum and blood– and
173 separated by environment. The Student's *t*-test and the Mann-Whitney test for
174 independent samples were applied after testing for normality and homoscedasticity, and
175 the Bonferroni correction for continuity was applied [25]. The software BioEstat 5.0 was
176 used for statistical analyses [26].
177 To test whether prey source contributions are similar in mixing models varying
178 the three sample types, Bayesian isotopic mixing models were generated using 'simmr'
179 package in Rstudio, with 95% credibility intervals [27, 28]. Experimental values of the
180 source-consumer trophic discrimination factor (TDF) in Neotropic cormorant tissues are
181 unavailable, as had not been measured for pellet mucus of any bird species [7]. Therefore,
182 TDF values from Double-Crested cormorant (*Nannopterum auritum*), a consumer
183 taxonomically close to the Neotropic cormorant, were used; for RBCs, these were $\delta^{13}C$ =
184 -0.8 ± 1.1 ‰ and $\delta^{15}N$ = 3.0 ± 0.6 ‰, and for serum and mucus, they were $\delta^{13}C$ = -0.6 ±
185 1.1 ‰ and $\delta^{15}N$ = 3.9 ± 0.7 ‰ [29]. The same TDF was used for serum and mucus because
186 both should present higher isotopic turnover rates than RBCs or whole blood [5, 7]. A
187 biplot with raw values was generated to show the distribution of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in
188 samples, with a null TDF, but including mean values of potential Neotropic cormorant
189 prey from each environment, for comparative purposes, according to data on the diet of
190 the cormorant [17, Chapter 1 Backhaus & Bugoni unpublished data] (Table 1).

TABLE 1 Values of δ^{13}Cand δ^{15}N (mean ± standard deviation, in ‰) of prey consumed by the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil, used in Bayesian isotopic mixing models; *n* = sample size.

Fish and shrimp species	δ^{13}C (‰)	δ^{15}N (‰)	*n*	Reference
Bryconamericus iheringii[a]	-22.10 ± 0.30	9.30 ± 0.20	4	[30]
Psalidodon eigenmanniorum[a]	-29.75 ± 1.09	7.88 ± 0.78	3	Chapter 1
Cyphocharax voga[a]	-24.09 ± 1.47	9.61 ± 0.19	3	Chapter 1
Hoplias malabaricus[a]	-27.68 ± 2.24	11.51 ± 0.42	3	Chapter 1
Pimelodus pintado[a]	-25.34 ± 0.23	10.78 ± 1.00	4	Chapter 1
Genidens barbus[b]	-15.27 ± 0	15.51 ± 0	4*	[31]
Mugil liza[b]	-14.51 ± 1.1	8.54 ± 0.4	2	[31]
Psalidodon eigenmanniorum[b]	-23.94 ± 0	7.65 ± 0	11*	[31]
Penaeus paulensis (shrimp)[b]	-8.8 ± 0.2	6.5 ± 0.4	4	[32]
Micropogonias furnieri[b]	-14.86 ± 0.76	13.86 ± 0.53	3	Chapter 1

*Composite samples of muscle tissue from individuals of similar size. Habitat: [a]limnetic environment; [b]estuarine environment.

3. Results

Values of $\delta^{13}C$ in mucus samples collected in the Patos Lagoon estuary did not differ from serum (Mann-Whitney test, $U = 100.0$, $p = 0.451$) and RBCs ($U = 87.5$, $p = 0.211$) of cormorants from the estuarine environment (Table 2). However, mucus from the Taim limnetic environment differed statistically from blood components, with greater variation in $\delta^{13}C$ values (SD ± 2.20; Table 2). The $\delta^{15}N$ values in mucus differed between blood components in both environments (Table 2). Mean $\delta^{13}C$ values in mucus were higher in the estuarine environment compared to the limnetic environment ($t_{(42.97)} = 24.61$, $p < 0.001$), similar to $\delta^{15}N$ values ($t_{(46)} = 12.90$, $p < 0.001$) (Figure 1, Table 2). In the biplot, the values of mucus samples are clustered with prey and other blood components of their respective environments (Figure 2).

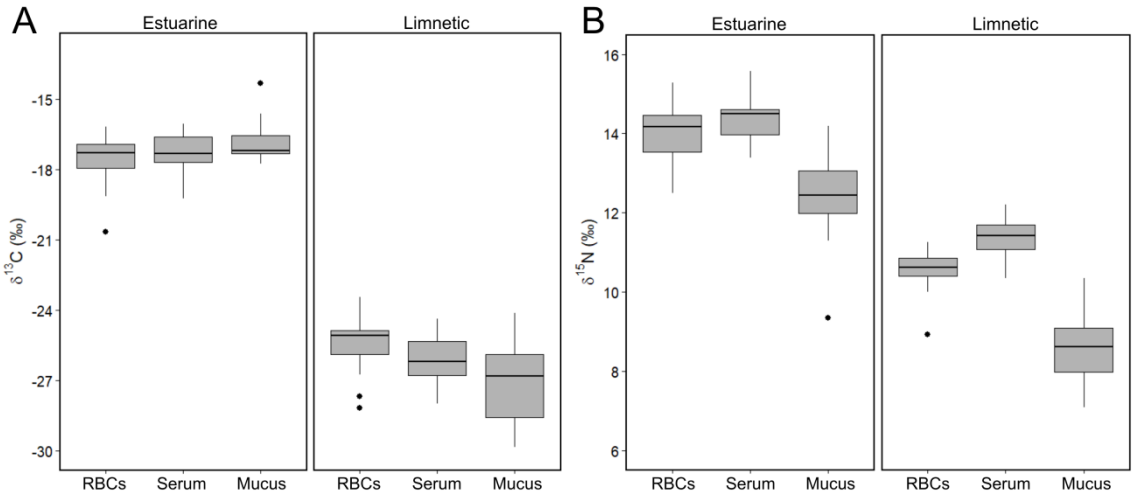


FIGURE 1 Mean and standard deviation values of $\delta^{13}C$ (A) and $\delta^{15}N$ (B), in ‰, in red blood cells (RBCs), blood serum and pellet mucus of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil.

TABLE 2 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (mean ±1 standard deviation) in mucus, red blood cells (RBCs), and serum samples of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil. Statistical comparisons were carried out between materials, with Bonferroni correction ($p< 0.00625$), separated by isotope and environment; same letter within the same comparative group indicates non-significantly differences.

Sample (size)	$\delta^{13}C$ (‰)	$\delta^{15}N$ (‰)
Limnetic samples		
Mucus (31)	-27.89 ± 2.20[a]	8.58 ± 0.84[a]
Serum (25)	-26.03 ± 0.96[b]	11.44 ± 0.46[b]
RBCs (25)	-25.39 ± 1.05[c]	10.57 ± 0.49[c]
Estuarine samples		
Mucus (17)	-16.83 ± 0.87[a]	12.48 ± 1.13[a]
Serum (14)	-17.25 ± 0.89[a]	14.61 ± 0.87[b]
RBCs (14)	-17.59 ± 1.16[a]	14.02 ± 0.79[c]

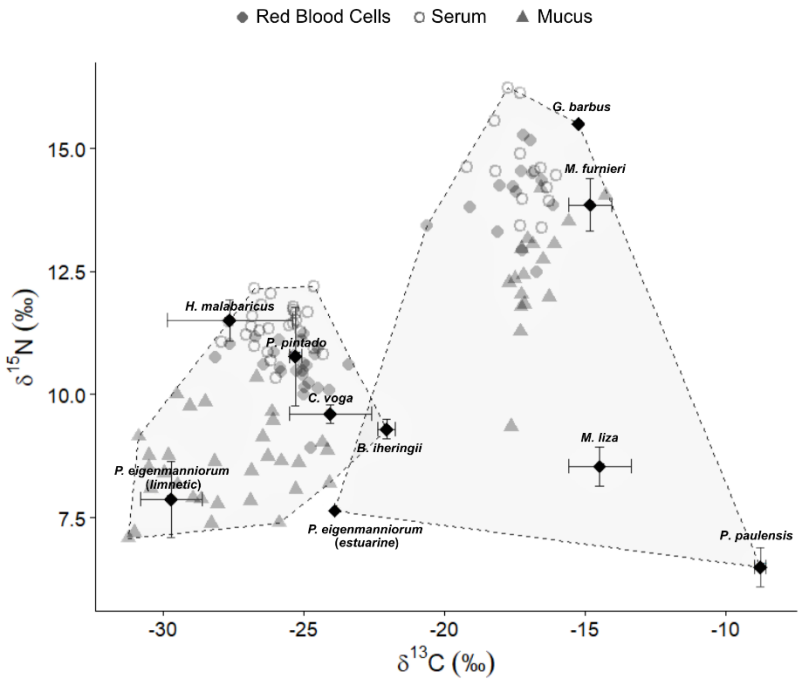
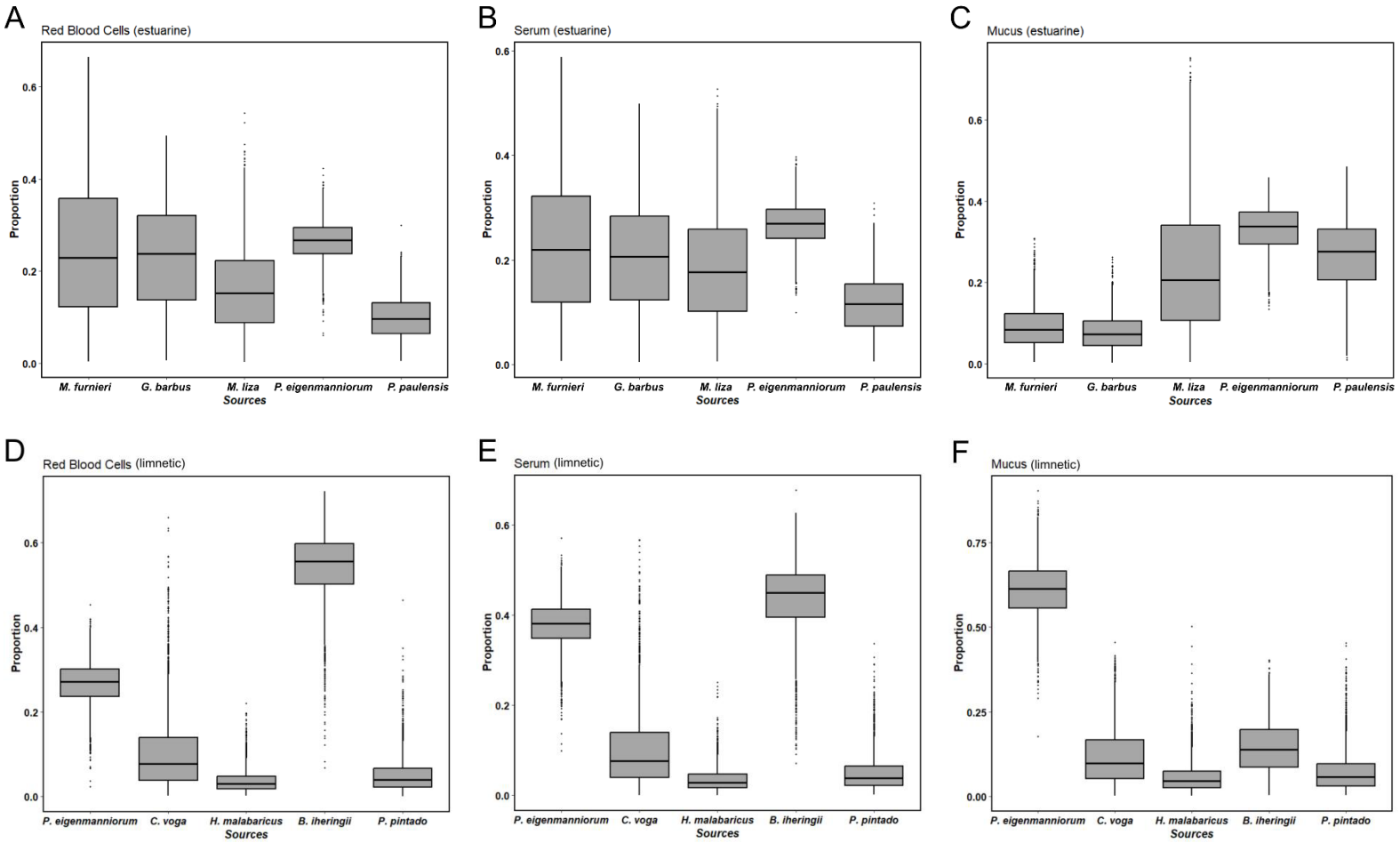


FIGURE 2 Values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ in red blood cells, serum, and pellet mucus of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) collected in limnetic (lower left) and estuarine (upper right) environments in southern Brazil, with potential prey sources indicated.

The mixing models for estuarine cormorant samples indicated the freshwater fish *Psalidodon eigenmanniorum* as the main dietary source for RBCs, serum, and mucus. Compared to the RBCs model, mullets (*Mugil liza*) and the pink-shrimp *Penaeus paulensis* gradually increased their contribution in serum and mucus, respectively, while the marine catfish (*Genidens barbus*) and the whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) decreased (Figure 3; Table 1). The inclusion of several estuarine prey (whitemouth croaker *M. furnieri*, Ariidae catfish, mullets and shrimp) as potential sources could had result in shared contributions. In the limnetic environment, the RBCs and serum mixing models indicated *Bryconamericus iheringii* as the main dietary source (Figure 3; Table S1). The characid fish *P. eigenmanniorum* exhibited an increase in contribution across sample types, with the lowest contributions in RBCs, intermediate in serum, and the highest in mucus, where it represented the main source, replacing *B. iheringii* (Figure 3; Table S1). The fish sources pintado catfish (*Pimelodus pintado*) and the trahira (*Hoplias malabaricus*) also increased their contributions in smaller proportions in the mucus models, while toothless characin (*C. voga*) decreased its contribution (Figure 3; Table S1).

239



240

241 **FIGURE 3** Proportion of estimated contribution of each potential prey source in Bayesian stable isotope mixing models in red blood cells, serum,
242 and pellet mucus of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in the estuarine (A, B, C) and limnetic (D, E, F) environment, southern
243 Brazil. 95% credibility intervals were used for the mixing models in the 'simmr' package.

4. Discussion

Pellet mucus shows potential to be used as an alternative sample in SIA to interpret and characterize the diet of birds in trophic ecology studies. Our results indicate that, similar to blood components, mucus does reflect the differences in the type of habitat used by the consumer for both $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$, grouping with potential prey sources. The Bayesian isotopic mixture models revealed that mucus is more similar to serum and could represent assimilation in a shorter time-window than blood components, which could be useful to investigate recent diet changes. However, the use of mucus in isotopic modelling seemed to be more accurate for the estuarine environment than for limnetic, which were more variable, thus there is a need determine TDF values to strengthen its use in studies of trophic ecology.

Overall, the values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ in mucus and blood components were lower in the limnetic environment compared to the estuarine, indicating that the isotopic values in mucus samples can be used to trace primary food sources, and thus identify foraging habitats. The foodweb isotopic baselines vary across different habitats, which is an important factor to be considered when estimating the trophic position of organisms [33]. Estuarine environments usually have higher isotopic values, as we confirmed for the estuarine mucus and blood samples in this study, due to abundant primary producers using C4 photosynthetic pathways and the marine influence [31, 34, 35]. In freshwater environments, however, the isotopic values tend to be lower, mostly because plants that use the C3 photosynthetic pathway are predominant in the area [30].

Values of $\delta^{13}C$ in mucus were similar to blood components in the estuarine environment, while in the limnetic area larger variation was detected. The Neotropic cormorants can alternate its foraging dynamics and rapidly switch habitats, including freshwater areas nearby the estuary and the marine beach near the Taim site [17, LAATM, unpublished data]. The more homogeneous $\delta^{13}C$ values in limnetic blood components, for example, could be a result of intense use of the freshwater prey in the area the days or weeks before, which was expected to be reflected also in mucus samples. Because pellets were sampled in a different period than blood, they could be reflecting a recent change in diet. Regarding values of $\delta^{15}N$ in mucus, which were lower than serum and RBCs in both places, may be related to the recent predation of prey occupying lower trophic levels, which are demonstrated with the higher contribution of sources with lower values of $\delta^{15}N$ in mixture models built with mucus values. The assimilation of proteins in diet has an important role in $\delta^{15}N$ values, which tend to present more variation than $\delta^{13}C$ values among different tissues of the consumer [36, 37, 38]. This could suggest that mucus reflects the individual variability more rapidly than other tissues, thus, a shorter time

window that integrates only a few prey in diet. Alternatively, metabolic routing could result in distinct values in mucus, a topic not yet addressed in experimental studies with controled diet in captivity.

A continuum variation in the proportion of source contributions from RBCs to serum and mucus was observed in the isotopic mixing models. It seems that estuarine mucus models were more accurate with blood components, while the main contributions differed for mucus and blood components in the limnetic models. This could be related to the prey sources used in the models, which may not be representative of the variation in diet, or the use of a TDF that differs from the actual TDF of mucus. As expected, mucus seems more similar to serum, which could be due to similarly fast isotopic turnover rates for both materials. It is known that blood components have different isotopic turnover rates: while RBCs or whole blood reflect the sources assimilated over a period of 3 to 4 weeks, thus an earlier period of the recent diet [5], serum or plasma reflects sources assimilated ~4 days before [39]. Thus, distinct models obtained with RBCs and serum could be due to recent changes in diet. For the mucus models, which had an even higher proportion of sources that were altering increased contribution in serum, it is suggested that it has an even shorter temporal window, and possibly reflects the diet of the day before the pellet was regurgitated, or their last meals. If this is proven true, which requires experimental studies with controlled feeding trials on captive birds [40], it could explain the higher variability in isotopic values in mucus, demonstrated by larger standard deviations.

In this context, the use of mucus in pellets of cormorants for SIA can be useful for investigating species that rapidly switch prey. In general, fast changes in the type of prey assimilated can occur, as the Neotropic cormorant deals with diet shifts according to prey availability and environmental fluctuations [17]. Results obtained here are aligned with the expected high plasticity of Neotropical cormorant feeding habits. Furthermore, pellet production by birds is regular, meaning that the isotopic turnover rate of mucus must be high, since it is constantly synthesized as digestion and pellet egestion occurs [7, 10]. All this reinforces the need for TDF values, which has not been determined for pellet mucus of any bird species. This would make values of mucus accurate and appropriately comparable in terms of consumers' diet and trophic position.

The avian diet studies usually aim for the collection of non-destructive samples, such as blood and metabolic inert tissues (once fully formed) such as feathers and claws, as they are less invasive options available to date and provide insights on SIA [41]. Some studies use lethal methods, in the past even for collection of stomach contents of birds, which raise moral and

ethical questions, while other studies choose non-invasive traditional approaches [6] or even alternative tools such as photo-sampling to avoid contact with birds [42]. For long-term or monitoring studies, lethal sampling is not an option. On their turn, pellets can be collected in large numbers in breeding colonies or roosting sites of cormorants, black skimmers, gulls, terns, and many other birds [6]. For this reason, mucus analysis offers a low-cost and easy sampling alternative, making it possible to explore diet assimilation over short-term periods (or long-term, with continued sampling) without disturbance for birds and even estimate patterns in diet during an entire season, year-round or in different years, if collected regularly.

Previous studies have suggested that other types of mucus, which vary in physiological functions, could also be used in SIA to assess diet assimilation in other taxa, e.g. skin ray, catfish and earthworm mucus [43, 44, 45, 46, 47]. Interestingly, in some of these studies the mucus presents a fast response to diet switching when compared to other tissues, although it may present a faster turnover for $\delta^{13}C$ than for $\delta^{15}N$ [45, 48]. These demonstrate the attempt and effort of researchers to increase the options available for SIA by exploring minimally invasive alternatives and reinforce the importance of exploring mucus for this purpose.

5. Conclusions and Recommendations

In summary, the pellet mucus does reflect the differences in diet assimilation by the Neotropic cormorant in isotopically distinct environments and represented results similar to serum. Results also indicated that mucus might be useful to assess short-term diet due to its fast isotopic turnover rate, which could explain variations found and the distinct contributions in the mixture models built with identical parameters. For this reason, the use of mucus in SIA requires further studies, including experimental determination of diet-mucus TDF values for appropriate use in modelling. Furthermore, the mucus is advantageous when aiming for a less invasive and low-cost alternative, of which blood, feathers, and nails are the most commonly used, but refers to a longer time-window. Overall, the use of mucus should be explored as it shows great potential for application in avian diet studies, trophic inferences and long-term monitoring of environmental changes in aquatic food webs.

Acknowledgements We acknowledge the colleagues and friends at the Waterbirds and Sea Turtles Laboratory for their contributions in field and laboratory work. We thank Márcio Repenning for leading the cormorant samplings, Fernando Faria and Cínthia Fernandez for their important role in fieldwork, and to technician Leonardo Furlanetto for his support and assistance. We thank Centro de Reabilitação de Animais Marinhos (CRAM-FURG) and boat

operator Giovanni for helping with logistics and sampling at Pólvora Island. We acknowledge the team from Núcleo de Educação e Monitoramento Ambiental (NEMA) and the team at ICMBio/ESEC Taim and boat operator Alexandre for assistance during pellet collection.

Permits This research was approved by *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade*, through *Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (ICMBio/SISBIO)* (Licenses no. 85705-3 and 100211-1) and by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Rio Grande (CEUA-FURG) (Pq019/2022 and Pq008/2025). The identification metal bands were provided by the *Centro Nacional de Pesquisa e Conservação das Aves Silvestres* (*CEMAVE/ICMBio*) (Project no. 4545, License no. 324701).

Author Contributions

Talita Backhaus: Writing – Original Draft Preparation; Project Administration; Methodology; Investigation; Formal Analysis; Data Curation. **Leandro Bugoni:** Conceptualization; Writing – Review & Editing; Supervision; Resources; Methodology.

Funding This research work was financially supported by the Portos RS agency through the *Programa de Monitoramento Ambiental Continuado do Porto do Rio Grande: Monitoramento da Ornitofauna*. L. Bugoni is a research fellow of *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq* (Grant no 310145/2022-8) and T.A.C. Backhaus was provided a MSc Fellowship (Process no 88887.959084/2024-00) by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

Data Availability Statement Raw data analysed in this study are available upon reasonable request.

Declaration on the use of LLM

LMM was used for formatting the bibliographic reference list and translation was performed using DeepL, all of which were carefully reviewed for correcteness.

References

1. Inger R, Bearhop S. Applications of stable isotope analyses to avian ecology. *Ibis*. 2008;150(3):447–461. doi:10.1111/j.1474-919X.2008.00839.x.

2. Fry B. *Stable Isotope Ecology*. 1st ed. New York, NY: Springer; 2006.
3. Nielsen JM, Clare EL, Hayden B, Brett MT, Kratina P. Diet tracing in ecology: method comparison and selection. *Methods Ecol Evol*. 2018;9(2):278–291. doi:10.1111/2041-210X.12869.
4. Navarro AB, Magioli M, Moreira MZ, Silveira LF. Perspectives and challenges on isotopic ecology of terrestrial birds in Brazil. *Zoologia*. 2022;39(1):e21023. doi:10.1590/S1984-4689.v39.e21023.
5. Boecklen WJ, Yarnes CT, Cook BA, James AC. On the use of stable isotopes in trophic ecology. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2011;42(1):411–440. doi:10.1146/annurev-ecolsys-102209-144726.
6. Barrett RT, Camphuysen CJ, Anker-Nilssen T, et al. Diet studies of seabirds: a review and recommendations. *ICES J Mar Sci*. 2007;64(9):1675–1691. doi:10.1093/icesjms/fsm152.
7. Morgenthaler A, Millones A, Gandini P, Frere E. Diet of adult and immature imperial cormorants, *Leucocarbo atriceps*, from southern Patagonia. A combined dietary approach and an exploratory analysis of stable isotopes of pellet membrane. *Polar Biol*. 2022;45(10):1759–1772. doi:10.1007/s00300-022-03086-5.
8. Drewitt E. *Bird Pellets: A Complete Photographic Guide*. Exeter: Pelagic Publishing; 2024.
9. Langlois I. The anatomy, physiology, and diseases of the avian proventriculus and ventriculus. *Vet Clin Exot Anim*. 2003;6(1):85–111.doi:10.1016/s1094-9194(02)00027-0.
10. Lovette IJ, Fitzpatrick JW, Eds. *The Cornell Lab of Ornithology's Handbook of Bird Biology*. 3rd edn. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons; 2016.
11. Marshall AJ. *Biology and Comparative Physiology of Birds*. Vol 1. Cambridge, MA: Academic Press; 2013.
12. Grimm RJ, Whitehouse WM. Pellet formation in a great horned owl: a roentgenographic study. *Auk*. 1963;80(3):301–306. doi:10.2307/4082889.
13. Duke GE, Evanson AO, Jegers A. Meal to pellet intervals in 14 species of captive raptors. *Comp Biochem Physiol*. 1976;53(1):1–6. doi:10.1016/S0300-9629(76)80001-1.
14. Naves LC, Vooren CM. Diet of black skimmer in southern Brazil. *Waterbirds*. 2006;29(3):335–344. doi:10.1675/1524-4695(2006)29[335:DOBSIS]2.0.CO;2.
15. Akester AR. Structure of the glandular layer and koilin membrane in the gizzard of the adult domestic fowl (*Gallus gallusdomesticus*). *J Anat*. 1986;147:1–25. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3693065/ Acessed April 12, 2026.

16. Kim HK, Choi CY, Jeong MS, Kang HY, Lee WS. Regurgitation of the koilin layer in chinstrap penguins (*Pygoscelis antarcticus*) and its association with gastric parasites. *Polar Res*. 2016;35(1):25966. doi:10.3402/polar.v35.25966.

17. Barquete V, Bugoni L, Vooren CM. Diet of Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in an estuarine environment. *Mar Biol*. 2008;153(3):431–443. doi:10.1007/s00227-007-0824-8.

18. Bugoni L, Cormons TD, Boyne AW, Hays H. Feeding grounds, daily foraging activities, and movements of common terns in southern Brazil, determined by radio-telemetry. *Waterbirds*. 2005;28(4):468–477. doi:10.1675/1524-4695(2005)28[468:FGDFAA]2.0.CO;2.

19. Dutra A. Plasticidade alimentar de *Sterna hirundo* no sul do Brasil determinada através da variação circadiana na dieta. Bachelor's Monograph. Rio Grande, RS: Universidade Federal do Rio Grande; 2008.

20. del Hoyo J, Elliot A, Sargatal J, Christie DA, Juana D. Handbook of the Birds of the World Alive. Barcelona: Lynx Editions, 2015.

21. Winkler DW, Billerman SM, Lovette IJ. Cormorants and shags (Phalacrocoracidae), version 1.0. In *Birds of the World* (Billerman SM, Keeney BK, Rodewald PG, Schulenberg TS, Eds). Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, 2020. doi:10.2173/bow.phalac1.01.

22. Hoye BJ. Variation in postsampling treatment of avian blood affects ecophysiological interpretations. *Methods Ecol Evol*. 2012;3(1)162–167.doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00135.x.

23. Lato KA, Thorne LH. Effects of sodium heparin on δ^{13}C and δ^{15}N values in avian whole blood. *Ibis*. 2023;165(4):1414–1422. doi:10.1111/ibi.13195.

24. Bond AL, Hobson KA. Reporting stable-isotope ratios in ecology: recommended terminology, guidelines and best practices. *Waterbirds*. 2012;35(2):324–331. doi:10.1675/063.035.0213.

25. Sokal RR, Rohlf FJ. *Biometry: the Principles and Practice of Statistics in Biological research*. 4ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2012.

26. Ayres M, Ayres-Júnior M, Ayres DL, Santos AAS. *Bio Estat 5.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas*. Belém,: Instituto Mamirauá; 2007.

27. Govan E, Parnell A. *Simmr: a Stable Isotope Mixing Model*. R packageversion 0.5.1.217. 2024. doi:10.32614/CRAN.package.simmr.

28. R Core Team. *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2025. RStudio version 2026.01.0. Available: http://www.R-project.org/

446 29. Craig EC, Dorr BS, Hanson-Dorr KC, Sparks JP, Curtis PD. Isotopic discrimination in the
447 double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*). *PLoS ONE*. 2015;10(10):e0140946.
448 doi:10.1371/ journal.pone.0140946.
449 30. Rodrigues LR, Fontoura NF, Marques DM. Food-web structure in a subtropical coastal
450 lake: how phylogenetic constraints may affect species linkages. *Mar Freshw Res*.
451 2014;65(5):453–465. doi:10.1071/MF12259.
452 31. Garcia AM, Hoeinghaus DJ, Vieira JP, Winemiller KO. Isotopic variation of fishes in
453 freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuar Coast Shelf Sci*.
454 2007;73(3–4):399–408. doi:10.1016/j.ecss.2007.02.003.
455 32. Britto VO, Bugoni L. The contrasting feeding ecology of great egrets and roseate spoonbills
456 in limnetic and estuarine colonies. *Hydrobiologia*. 2015;744(1):187–210. doi:10.1007/s10750-
457 014-2076-1.
458 33. Layman CA, Araujo MS, Boucek R, et al. Applying stable isotopes to examine food-web
459 structure: an overview of analytical tools. *Biol Rev*. 2012;87(3):545–562. doi:10.1111/j.1469-
460 185X.2011.00208.x.
461 34. Hoeinghaus DJ, Vieira JP, Costa CS, Bemvenuti CE, Winemiller KO, Garcia AM. Estuary
462 hydrogeomorphology affects carbon sources supporting aquatic consumers within and among
463 ecological guilds. *Hydrobiologia*. 2001;673:79–92. doi:10.1007/s10750-011-0751-z.
464 35. Garcia AM, Claudino MC, Mont'Alverne R, Pereyra PER, Copertino M, Vieira JP.
465 Temporal variability in assimilation of basal food sources by an omnivorous fish at Patos
466 Lagoon estuary revealed by stable isotopes. *Mar Biol Res*. 2016;13(1):98–107.
467 doi:10.1080/17451000.2016.1206939.
468 36. Caut S, Ângulo E, Courchamp F. Variation in discrimination factors (δ^{15}N and δ^{13}C): the
469 effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *J Appl Ecol*.
470 2009;46(2):443–453. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01620.x.
471 37. Hobson KA. Stable isotopes and a changing world. *Oecologia*. 2023;203(3–4):223–250.
472 doi:10.1007/s00442-023-05387-w.
473 38. Stephens RB, Shipley ON, Moll RJ. Meta-analysis and critical review of trophic
474 discrimination factors (δ^{13}C and δ^{15}N): importance of tissue, trophic level and diet source. *Funct*
475 *Ecol*. 2023;37(9):2535–2548. doi:10.1111/1365-2435.14403.
476 39. Hahn S, Hoye BJ, Korthals H, Klaassen M. From food to offspring down: tissue-specific
477 discrimination and turn-over of stable isotopes in herbivorous waterbirds and other avian
478 foraging guilds. *PLoS ONE*. 2012;7(2):e30242. doi:10.1371/journal.pone.0030242.

40. Martínez del Rio C, Wolf N, Carleton AS, Gannes LZ. Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biol Rev*. 2009;84(1):91–111. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00064.x.

41. Hoenig BD, Snider AM, Forsman AM, et al. Current methods and future directions in avian diet analysis. *Ornithology*. 2022;139(1):ukab077. doi:10.1093/ornithology/ukab077.

42. Gaglio D, Cook TR, Connan M, Ryan PG, Sherley RB. Dietary studies in birds: testing a non-invasive method using digital photography in seabirds. *Methods Ecol Evol*. 2017;8(2):214–222. doi:10.1111/2041-210X.12643.

43. Schmidt O, Scrimgeour CM, Curry JP. Carbon and nitrogen stable isotope ratios in body tissue and mucus of feeding and fasting earthworms (*Lumbricus festivus*). *Oecologia*. 1999;118(1):9–15. doi:10.1007/s004420050697.

44. Dyckmans J, Scrimgeour CM, Schmidt O. A simple and rapid method for labelling earthworms with ^{15}N and ^{13}C. *Soil Biol Biochem*. 2005;37(5)989–993. doi:10.1016/j.soilbio.2004.10.017.

45. Church MR, Ebersole JL, Rensmeyer KM, Couture RB, Barrows FT, Noakes DLG. Mucus: a new tissue fraction for rapid determination of fish diet switching using stable isotope analysis. *Can J Fish Aquat Sci*. 2009;66(1):1–5. doi:10.1139/F08-206.

46. Maruayama A, Tanahashi E, Hirayama T, Yonekura R. A comparison of changes in stable isotope ratios in the epidermal mucus and muscle tissue of slow-growing adult catfish. *Ecol Freshw Fish*. 2016;26(4)636–642. doi:10.1111/eff.12307.

47. Burgess KB, Guerrero M, Richardson AJ, Bennett MB, Marshall AD. Use of epidermal mucus in elasmobranch stable isotope studies: a pilot study using the giant manta ray (*Manta birostris*). *Mar Freshw Res*. 2018;69(3):336–342. doi:10.1071/MF16355.

48. Winter ER, Nolan ET, Busst GMA, Britton JR. Estimating stable isotope turnover rates of epidermal mucus and dorsal muscle for an omnivorous fish using a diet-switch experiment. *Hydrobiologia*. 2019; 828(1):245–258.doi:10.1007/s10750-018-3816-4.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

TABLE S1 Median and 95% credibility intervals (95% CI) of contribution of each prey source in Bayesian stable isotope mixing models in pellet mucus, red blood cells (RBCs), and serum samples of the Neotropic cormorant (*Nannopterum brasilianum*) in limnetic and estuarine environments in southern Brazil.

		Median (CI 95%)		
Habitat	**Source**	**RBCs**	**Serum**	**Mucus**
Estuarine	*Psalidodon eigenmanniorum*	26.7% (17.2 – 34.6%)	26.9% (18.5 – 34.3%)	33.7% (21.3 – 42.0%)
	Genidens barbus	23.8% (2.9 – 42.4%)	20.6% (3.3 – 38.8%)	7.2% (1.4 – 17.1%)
	Micropogonias furnieri	22.9% (2.8 – 51.4%)	21.9% (3.1 – 46.8%)	8.4% (1.6 – 20.5%)
	Mugil liza	15.2% (2.4 – 35.8%)	17.7% (2.7 – 39.5%)	20.6% (2.5 – 60.6%)
	Penaeus paulensis	9.7% (1.9 – 19.8%)	11.5% (2.4 – 21.9%)	27.6% (7.3 – 39.8%)
Limnetic	*Bryconamericus iheringii*	55.8% (30.4 – 66.0%)	44.7% (21.9 – 54.3%)	14.0% (2.5 – 28.8%)
	Psalidodon eigenmanniorum	27.1% (15.0 – 36.0%)	38.0% (26.6 – 46.7%)	61.3% (44.4 – 76.3%)
	Cyphocharax voga	7.3% (1.0 – 38.7%)	7.9% (1.0 – 36.2%)	9.9% (1.5 – 31.7%)
	Pimelodus pintado	4.0% (0.7 – 16.1%)	4.0% (0.7 – 15.0%)	5.7% (1.0 – 22.1%)
	Hoplias malabaricus	3.0% (0.6 – 11.0%)	3.0% (0.6 – 10.8%)	4.4% (0.8 – 17.0%)

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

No primeiro capítulo deste estudo foi realizada a primeira comparação da ecologia trófica do biguá (*N. brasilianum*) em ambientes que diferem na base da cadeia trófica. Ao trazer informações sobre a dieta desta espécie, contribui-se não apenas para a compreensão da sua influência sobre a ictiofauna e demais organismos do ecossistema (Pimenta et al. 2026), mas também para a conservação de uma ave que representa um importante predador de topo da cadeia trófica em diversos ambientes aquáticos americanos. Os dados demonstraram que a dieta, bem como o tipo de presa assimilada pelos tecidos, varia de acordo com o tipo de ambiente utilizado pelo organismo. A primeira descrição da dieta do biguá em um ambiente límnico na Estação Ecológica do Taim, um sítio Ramsar de importância internacional, demonstrou que as espécies exclusivamente de água-doce foram consumidas. Por outro lado, no ambiente estuarino da Lagoa dos Patos, a dieta foi composta pelos peixes demersais mais abundantes e de importância comercial, como os juvenis de corvina e bagres, as mesmas espécies relatadas há quase duas décadas em estudo prévio (Barquete et al. 2008). A análise convencional utilizada neste estudo permitiu identificar, quantificar e estimar a massa das principais espécies consumidas e confirmar que nos dois locais do estudo a dieta é dominada por peixes e pelas espécies mais comuns de cada ambiente, confirmando a hipótese 1 deste estudo.

Além disso, a análise de pellets permitiu inferir dados que formaram a base para a construção dos modelos de mistura isotópicos, apesar de apresentar algumas limitações. Desta forma, a utilização de uma metodologia convencional complementou a análise de isótopos estáveis no sangue, e confirmou que as presas mais importantes na dieta recente determinada pelo PSIRI% também foram assimiladas em grande quantidade pelos tecidos do biguá. Ainda, a utilização das penas na análise de isótopos estáveis trouxe dados sobre a dieta assimilada em um período anterior, com aumento na contribuição de presas límnicas para os biguás de ambos os locais, confirmando a hipótese 2. Estes resultados foram importantes pois além de confirmar a alimentação piscívora e oportunista do biguá, trouxeram novas informações sobre a ecologia trófica no período pós-reprodutivo da espécie em ambientes aquáticos no interior do continente.

Com relação à hipótese 3, foi confirmada parcialmente. De fato, vários itens alimentares foram encontrados na dieta e poucos foram usados com alta frequência, indicando hábitos típicamente especialistas, como determinado por Krebs (1989). Porém, os biguás do ambiente límnico apresentaram maior amplitude de nicho trófico em comparação aos biguás estuarinos, uma diferença sutil relacionada com a grande proporção de corvina na dieta no ambiente estuarino e maior distribuição da contribuição em massa dos itens alimentares do ambiente límnico.

Juntos, os dados deste capítulo trazem duas conclusões principais sobre a ecologia do biguá: (1) pode ser considerado um generalista em nível de espécie devido à ampla distribuição, uso de habitat e dietas variadas relatadas ao longo da região Neotropical, conclusão reforçada pela confirmação da maior assimilação de presas de água doce em um período anterior pelos indivíduos amostrados em ambos os ambientes; (2) possui hábito especialista quando analisado localmente, por ter a dieta dominada por uma espécie ou um grupo de peixes que parecem ser os mais abundantes em cada ambiente, por não demonstrar deslocar-se entre os dois ambientes para se alimentar e apresentar certo grau de fidelidade as áreas de forrageio durante o período do estudo.

No segundo capítulo, o muco que envolve o pellet do biguá foi testado como material alternativo ao soro e células vermelhas na análise de isótopos estáveis. Este trabalho demonstrou que o muco possui potencial para avaliar alterações na dieta recente da ave, indicando o tipo de habitat utilizado para forrageio pelo organismo. A hipótese 4 deste estudo foi confirmada, visto que o muco indicou ser mais próximo do soro ao avaliar os modelos de mistura isotópicos, devido à rápida renovação isotópica de ambos os materiais. O muco do pellet foi pouco explorado até o momento e o único trabalho conhecido foi realizado por Morgenthaler et al. (2022). Há anos os pesquisadores buscam por opções de materiais alternativos menos invasivos em estudos de ecologia trófica (Hoenig et al. 2022). Em comparação a amostras de sangue e penas frequentemente utilizadas, o uso do muco surge como uma proposta vantajosa devido à facilidade de coleta em grandes quantidades, com baixo custo e de modo não invasivo para o organismo. Porém, para tornar-se de uso regular e com maior precisão em modelagens tróficas, é necessário determinar experimentalmente o fator de discriminação trófica do muco, que não foi testado para nenhuma espécie de ave até o momento. Desta forma, o muco poderia ser utilizado para monitorar a dieta de populações e as variações do ambiente em curto e longo prazo.

Como perspectivas futuras pretende-se integrar os dados de dieta obtidos através da análise de pellets e isótopos estáveis com dados de rastreamento para complementar as informações sobre a ecologia trófica do biguá, bem como compreender os deslocamentos que os indivíduos de diferentes ambientes realizam em um ciclo anual. Ainda, seria importante ampliar os estudos para os ambientes utilizados como áreas de reprodução para descrever as interações tróficas e o papel que o biguá desempenha nos diversos ambientes aquáticos que utiliza em seu ciclo de vida. Com relação ao muco, sugere-se que seja explorado de maneira mais ampla na análise de isótopos estáveis, visto que apenas um trabalho anterior a este utilizou o material. A descrição detalhada de sua composição bioquímica também pode fornecer dados úteis, visto que na bibliografia refere-se ao muco como uma secreção de glândulas das paredes do esôfago que facilita a egestão dos pellets (Lovette & Fitzpatrick 2016), enquanto outros o consideram como parte da membrana coilina, um

tecido de revestimento da moela (Morgenthaler et al. 2022). Além disso, deve-se ampliar as coletas do muco para testar a aplicabilidade e avaliar diferenças entre estações e anos e, principalmente, determinar o fator de discriminação trófica. Assim, será possível compreender o que o material representa e como pode ser utilizado de maneira mais precisa em estudos de ecologia trófica, não apenas para os biguás, mas também para outras espécies de aves.

Referências

Barquete, V., L. Bugoni & C.M. Vooren. 2008. Diet of Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in an estuarine environment. Marine Biology 153: 431–443.

Hoenig, B.D., Snider, A.M., Forsman, A.M., et al. 2022. Current methods and future directions in avian diet analysis. Ornithology 139: ukab077.

Krebs, C.J. 1989. Ecological Methodology. Harper & Row, New York.

Lovette, I. & J.W. Fitzpatrick. 2016. Cornell Lab of Ornithology's Handbook of Bird Biology - Third edition. Wiley-Blackwell, New Jersey.

Morgenthaler, A., A. Millones, P. Gandini & E. Frere. 2022. Diet of adult and immature imperial cormorants, *Leucocarbo atriceps*, from southern Patagonia. A combined dietary approach and an exploratory analysis of stable isotopes of pellet membrane. Polar Biology 45: 1529–1539.

Ovegård, M.K., J. Jepsen, M.B. Nord & E. Petersson. 2021. Cormorant predation effects on fish populations: a global meta-analysis. Fish and Fisheries 22: 605–622.

Pimenta, V.R.A., J.L. Rodrigues-Filho, N.K. Toma & J.O. Branco. 2026. Feeding ecology of *Nannopterum brasilianum* (Gmelin, 1789) and its trophic interactions with artisanal fisheries in the Laguna Estuarine System, Southern Brazil. Aquatic Ecology 60: 17.

ANEXOS

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
PROPESP - COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL

PARECER Nº 23, DE 25 DE FEVEREIRO DE 2026

PROCESSO Nº	23116.005722/2024-34
CEUA Nº	Pq019/2022
COLABORADORES AUTORIZADOS A MANIPULAR OS ANIMAIS	Cínthia Negrine Fernandez, Márcio Repenning
TÍTULO DO PROJETO	Programa de Monitoramento da Ornitofauna
VIGÊNCIA DO PROJETO	30/03/2027
ESPÉCIE/ LINHAGEM / RAÇA	*Nannopterum brasilianus* (Biguá)
NÚMERO DE ANIMAIS	60 (30 machos e 30 fêmeas) + 30
PESO/ IDADE	-
SEXO	-
ORIGEM	Região estuarina da Lagoa dos Patos e Estação Ecológica do Taim- ESEC - Taim
ENVIO DO RELATÓRIO PARCIAL	Janeiro de 2026; Janeiro de 2027
ENVIO DO RELATÓRIO FINAL	Abril de 2027
RESPONSÁVEL	Leandro Bugoni

PARECER DA CEUA:

Após a análise de sua solicitação de utilização de mais 30 animais , apresentada em 10 de fevereiro de 2026, seu pedido foi considerado **APROVADO**, pois cumpre o disposto na Lei no 11.794, nas demais normas aplicáveis e nas Resoluções Normativas e Diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Documento assinado eletronicamente por **Marcio de Azevedo Figueiredo**, **Servidor**, em 25/02/2026, às 10:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.furg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&acao_origem=documento_conferir&lang=pt_BR&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **0561604** e o código CRC **BC4CEA95**.

Referência: Caso responda este documento Parecer, indicar o Processo nº 23116.005722/2024-34 SEI nº 0561604

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
PROPESP - COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL

PARECER Nº 116, DE 04 DE NOVEMBRO DE 2025

Certificamos que o projeto intitulado "Ecologia trófica do biguá, *Nannopterum brasilianum*, em ambiente límnico e estuarino na planície costeira do sul do Brasil", protocolo nº 23116.013272/2025-34, sob a responsabilidade de Leandro Bugoni - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADO pela COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE (CEUA-FURG), em reunião de 29 de outubro de 2025 (Ata 012/2025).

A CEUA lembra aos pesquisadores que qualquer alteração no protocolo experimental ou na equipe deve ser encaminhada à comissão para avaliação e aprovação. Um relatório final deve ser enviado à CEUA no término da vigência do seu projeto.

CEUA Nº	Pq008/2025
COLABORADORES AUTORIZADOS A MANIPULAR OS ANIMAIS	Yan Gonçalves Gowert, Talita de Alcantara Carneiro Backhaus
VIGÊNCIA DO PROJETO	15/10/2026
ESPÉCIE / GRUPOS TAXONÔMICOS	*Astyanax lacustris, Cheirodon eigenmanni, Cyphocharax voga, Deuterodon sp., Geophagus iporangensis, Gymnogeophagus gymnogenys, Hoplias malabaricus, Hyphessobrycon anisitsi, Hyphessobrycon igneus, Jenynsia lineata, Loricariichthys anus, Oligosarcus jenynsi, Pachyurus bonariensis, Parapimelodus nigribarbis, Pimelodus pintado, Platanichthys platana, Psalidodon fasciatus, Rhamdia quelen e as invasoras recém registradas Pygocentrus nattereri e Serrasalmus maculatus*
NÚMERO DE ANIMAIS	20 de cada espécie

N° SOLICITAÇÃO / AUTORIZAÇÃO SISBIO	100211
ATIVIDADE(S)	(X) CAPTURA (X) COLETA DE ESPÉCIMES ( ) MARCAÇÃO ( ) OUTRAS:
LOCAL(is) REALIZAÇÃO ATIVIDADES	Reserva Ecológica do Taim
ENVIO DE RELATÓRIO PARCIAL	Janeiro de 2026
ENVIO DO RELATÓRIO FINAL	Novembro de 2026

Documento assinado eletronicamente por **Marcio de Azevedo Figueiredo, Servidor**, em 04/11/2025, às 17:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.furg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&acao_origem=documento_conferir&lang=pt_BR&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **0506137** e o código CRC **72DC3770**.

Referência: Caso responda este documento Parecer, indicar o Processo nº 23116.013272/2025-34 SEI nº 0506137