

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

**O FITOPLÂNCTON DA PENÍNSULA
ANTÁRTICA E PATAGÔNIA E SUA
RELAÇÃO COM VARIÁVEIS ABIÓTICAS
(PRIMAVERA E VERÃO)**

MÁRCIO SILVA DE SOUZA

RIO GRANDE
Janeiro, 2012

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

O FITOPLÂNCTON DA PENÍNSULA
ANTÁRTICA E PATAGÔNIA E SUA
RELAÇÃO COM VARIÁVEIS ABIÓTICAS
(PRIMAVERA E VERÃO)

MÁRCIO SILVA DE SOUZA

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Oceanografia
Biológica da Universidade Federal do
Rio Grande, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Doutor em Oceanografia Biológica

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Virgínia Maria Tavano

RIO GRANDE
Janeiro, 2012

AGRADECIMENTOS

Sou muitíssimo grato a várias pessoas para a finalização deste trabalho. A primeira da lista é a minha orientadora Professora Virgínia Tavano, que me supervisionou durante anos, desde os trabalhos técnicos até esta interação mais próxima de discussão e reflexão de ideias. Aprendi com ela vários aspectos do que é ser pesquisador, principalmente da necessidade de ter-se disciplina, seriedade, responsabilidade e, o que precisamos exercitar dia-a-dia, bom-humor e enlevo.

Diretamente ligados à apreciação desta tese, agradeço os professores Luciano Fernandes, Carlos Garcia, José Muelbert, João Sarkis Yunes e Clarisse Odebrecht pelas contribuições, críticas e sugestões dadas para a melhora substancial do documento final. Por estar no Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos, nossa “segunda-casa”, não esquecerei do aprendizado com os demais professores Clarisse Odebrecht, Paulo Abreu e Marli Bergesch, dos quais tirei bons exemplos também de como exercer esse ofício de pesquisador. Inesquecíveis, também, são o coleguismo, bom-convívio, conversas às vezes intermináveis e boas risadas com o Valnei e Bia assim como as conversas sérias, científicas e polêmicas com todos os colegas alunos/pesquisadores que estão e já passaram pelo laboratório.

Lembro, logicamente, do acolhimento justo e franco concedido pelo PPGOB, pelos coordenadores e a Vera, que facilitou bastante minha vida em muitos momentos.

Desde que embarcamos nos cruzeiros organizados pelo GOAL e outros, tive a sorte de interagir com os colegas e profissionais Rafael Mendes, Rafael Gonçalves-Araújo, Luciano Azevedo, Márcio Tenório, Amália Detoni, Rubens Comin, Fernanda Giannini, enfim, a turma comandada pela Virgínia. Os três primeiros, para uma maioria Rafael, Cors e Luti, foram muito importantes para a construção dos “produtos finais” desta tese e efervescência de outras ideias que originaram os trabalhos, resumos e painéis; eu simplesmente não tenho palavras e nem muito papel para escrever mais... Obrigado, galera!

Uma parte da tese foi conduzida em Lisboa, onde fui ao encontro de minhas raízes parciais. De lá, agradeço a atenção concedida pela Professora Vanda Brotas, representando o Centro de Oceanografia, e pela camaradagem formada com a malta: Carolina Sá, Ana Sousa, Tania Diniz, Bruno Jesus, Paulo Cartaxana, João Costa, Mickael Ruivo, Bernardo Duarte e Rute Henriques. Agradeço também a ajuda em microscopia eletrônica dada pelo técnico Telmo Nunes, pela doutora Alexandra Silva e pela técnica Vera Veloso.

No último suspiro, surgiu-me o LEOC. Agradeço à professora Rosane Ito e ao professor Carlos Garcia pelo apoio, permitindo que eu continuasse a labuta e finalizasse o doutorado. Tenho a agradecer também o coleguismo do laboratório e apoio de Carlos Fujita, Arnaldo Russo, Ella Pereira e Renato Lopes (Scubê).

E, para finalizar e já uma dedicatória a ela, cheguei até aqui graças ao apoio incondicional da família, meus pais, irmãos e sobrinhos que ainda conseguem tolerar a distância sem par que nos separa.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ANEXOS	XIII
RESUMO	1
ABSTRACT	3

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL	6
1.1 Mar Argentino	6
1.2 Península Antártica	9
1.3 Características Oceanográficas das áreas de estudo: Oceano Atlântico Sudoeste e Oceano Austral	11
1.4 Hipóteses	17
1.5 Objetivo Geral	18
<i>1.5.1 Objetivos Específicos</i>	18

CAPÍTULO 2

2 METODOLOGIA GERAL	20
2.1 Amostragem	20
2.2 Parâmetros físicos e químicos	24
2.3 Composição taxonômica, densidade, biovolume e biomassa dos organismos	25

2.4 Identificação em microscopia eletrônica por varredura (MEV)	28
2.5 Concentração de clorofila-a (fluorimetria)	29
2.6 Análise de pigmentos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	30
2.7 Análise quimio-taxonômica dos pigmentos fotossintéticos diagnósticos (CHEMTAX)	32
2.8 Análise estatística	35

CAPÍTULO 3

3 FITOPLÂNCTON EM REGIÕES DISTINTAS DO ATLÂNTICO SUDOESTE (MAR ARGENTINO, 36–38°S E 48–50°S), NA PRIMAVERA E VERÃO	39
3.1 Introdução	39
3.2 Síntese de Resultados e Discussão	41
<i>3.2.1 Plataforma continental da Patagônia (48–50°S) (Anexo I)</i>	41
<i>3.2.2 Região próxima da Confluência Brasil-Malvinas (36–38°S) (Anexo II)</i>	44
3.3 Conclusões	51

CAPÍTULO 4

4 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO FITOPLÂNCTON EM TORNO DA PENÍNSULA ANTÁRTICA (VERÕES 2008 E 2009)	54
4.1. Introdução	54
4.2 Síntese de Resultados e Discussão (Anexo III)	56
<i>4.2.1 Composição e distribuição espacial do fitoplâncton baseadas em pigmentos fotossintéticos diagnósticos (CLAE)</i>	56
<i>4.2.2 Distribuição espacial do fitoplâncton e parâmetros oceanográficos</i>	58
<i>4.2.3 Comparação entre dados de microscopia e aplicação da ferramenta CHEMTAX</i>	60
<i>4.2.4 Caracterização das sub-regiões de estudo</i>	61
4.2.4.1 Passagem de Drake	61
4.2.4.2 Estreito de Bransfield	61
4.2.4.3 Mar de Weddell	62
4.2.4.4 Arredores da Ilha James Ross	63
<i>4.2.5 Outros índices pigmentares</i>	63
4.2.5.1 Produtos de degradação	63
4.2.5.2 Pigmentos foto-adaptativos	64
4.3 Conclusão	65

CAPÍTULO 5**5 FITOPLÂNCTON E VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA PENÍNSULA ANTÁRTICA****(VERÃO) E NA PATAGÔNIA (PRIMAVERA-VERÃO)67****5.1 Síntese de Resultados e Discussão (Anexo IV)67***5.1.1 Caracterização ambiental67**5.1.2 Composição fitoplanctônica nas áreas de estudo68**5.1.3 Espécies comuns ao Oceano Austral e Mar Argentino70**5.1.4 Distribuição espacial do fitoplâncton e parâmetros oceanográficos**.....71***5.2 Conclusão74****6 CONCLUSÕES GERAIS76****7 BIBLIOGRAFIA CITADA80**

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1- Cruzeiros oceanográficos realizados no âmbito do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR), com os projetos “PATagonian EXperiment” (PATEX I, IV–VII) e “Southern Ocean for Understanding Global Climate Issues” (SOS-Climate I e II), respectivos períodos de coleta, coordenadas geográficas e número de estações com dados de microscopia ótica.	23
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1- Mapa da América do Sul e Península Antártica. Os quadros inclusos referentes às regiões de estudo mostram o padrão de circulação oceânica em superfície: (A) ao longo da margem continental da Argentina, com suas principais correntes – das Malvinas e do Brasil – e a sua interação, a Confluência Brasil-Malvinas (CBM) (modificado de Matano *et al.*, 2010); (B) ao redor da Península Antártica e das Ilhas Shetland do Sul (modificado de Hewes *et al.*, 2009), indicando determinados pontos geográficos de referência e as principais águas encontradas no Estreito de Bransfield – Águas Zonais de Transição sob influência do Mar de Bellingshausen (AZTB) e Águas Zonais de Transição sob influência do Mar de Weddell (Sangrà *et al.*, 2011). Escalas (à direita) denotam a batimetria nas respectivas regiões: tonalidades azuladas a arroxeadas indicam setores de mar-aberto, principalmente na região da Passagem de Drake, da Corrente Circumpolar Antártica e da sua ramificação, a Corrente das Malvinas; tonalidades esverdeadas a amareladas indicam os setores de plataforma.12

Figura 2.1- Localização geográfica dos cruzeiros oceanográficos realizados nos setores do Mar Argentino – PATagonian EXperiment (I, IV, V, VI e VII) – no âmbito das atividades do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Escala (paleta de cores à direita) indica a batimetria local.21

Figura 2.2- Localização geográfica dos cruzeiros oceanográficos realizados na Passagem de Drake (Drake), no Estreito de Bransfield (Bransfield) e próximo à Ilha James Ross (Ross) – projeto SOS-Climate (I e II) – no âmbito das atividades do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Escala (paleta de cores à direita) indica a batimetria local.22

Figura 3.1- Contribuição relativa dos grupos fitoplanctônicos para (a) a clorofila-a total através da aplicação do CHEMTAX e (b) para o biovolume total obtido com as contagens em microscopia e conforme Hillebrand *et al.* (1999). As linhas tracejadas mostram a clorofila-a total (a) e o biovolume total (b) nos respectivos eixos da direita.42

Figura 3.2- Diagrama de ordenação da Análise de Correspondência Canônica relativa aos dados em superfície da abundância do fitoplâncton (taxa menos frequentes foram excluídos [$<10\%$]). Os dois primeiros eixos representaram 73% das relações entre os grupos fitoplanctônicos e o ambiente físico. Setas referem-se às variáveis ambientais explicativas. Estações amostrais são representadas pelos rótulos. Triângulos referem-se à abundância absoluta dos principais grupos/espécies representados pelas seguintes abreviações: Flagelados I (2-5 μm ; incluem *Phaeocystis antarctica* – FlagI), Flagelados II ($>5 \mu\text{m}$ – FlagII), Classe Cryptophyceae (Crypt), *Ceratium* spp. (Cer), *Cochlodinium* sp. (Coch), *Dinophysis* spp. (Dinph), *Gonyaulax* cf. *scrippsae* (Gony), *Gymnodinium* spp. I ($<20 \mu\text{m}$ – GymnI), *Gymnodinium* spp. II ($>20 \mu\text{m}$ – GymnII), *Gyrodinium* sp. I ($<20 \mu\text{m}$ – GyroI), *Oxytoxum* spp. (Oxyt), Peridinales

I (<20 µm – Perl), Peridinales II (>20 µm – PerII), <i>Prorocentrum micans</i> (Pmic), <i>P. minimum</i> (Pmin), <i>P. minimum</i> II (~20 µm – PminII), <i>P. rostratum</i> (Prost), <i>P.</i> <i>aff. scutellum</i> (Pscut), <i>Scrippsiella</i> cf. <i>trochoidea</i> (Scripp), <i>Torodinium robustum</i> (Torod), outros dinoflagelados (Dinof), <i>Asteromphalus sarcophagus</i> (Asarco), <i>Chaetoceros</i> spp. I (<10 µm – ChaetI), <i>Chaetoceros</i> spp. II (>10 µm – ChaetII), <i>Cylindrotheca closterium</i> (Cylclo), <i>Guinardia delicatula</i> (Gdelic), <i>Guinardia</i> spp. (Gspp), <i>Hemiaulus</i> spp. (Hspp), <i>Meuniera membranaceae</i> (Mmembr), <i>Nitzschia</i> <i>longissima</i> (Nlong), <i>Pseudonitzschia</i> spp. (Pseudo), <i>Rhizosolenia</i> spp. (Rhizo), <i>Thalassionema nitzschioides</i> (Tnitz), Thalassionemataceae (Tnema), <i>Thalassiosira</i> spp. I (<20 µm – Thal), <i>Thalassiosira</i> spp. II (>20 a 50 µm – ThaII), <i>Thalassiosira</i> spp. III (> 50 a 100 µm – ThaIII), Outras cêntricas (Centr), Outras penadas (Penn), <i>Myrionecta rubra</i> (Mrub).	48
--	----

Figura 4.1- Relação entre clorofila- <i>c</i> ₃ e fucoxantina nas diferentes regiões e períodos de amostragem.	58
---	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo I: Souza, M.S.de, Mendes, C.R.B., Garcia, V.M.T., Pollery, R. e Brotas, V. (2012) Phytoplankton community during a coccolithophorid bloom in the Patagonian shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment analyses. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, **92**: 13–27. doi:10.1017/S0025315411000439101

Anexo II: Gonçalves-Araújo, R., **Souza, M.S.de**, Mendes, C.R.B., Tavano, V.M., Pollery, R.C. e Garcia, C.A.E. Brazil-Malvinas confluence: effects of environmental variability on phytoplankton community structure. Artigo submetido (em revisão) ao periódico *Journal of Plankton Research*. 35p.117

Anexo III: Mendes, C.R.B., **Souza, M.S.de**, Garcia, V.M.T., Leal, M.C., Brotas, V. e Garcia, C.A.E. Dynamics of phytoplankton communities during late summer around the tip of the Antarctic Peninsula. Artigo submetido (em revisão) ao *Deep-Sea Research I*. 57p.153

Anexo IV: Souza, M.S.de, Tavano, V.M., Mendes, C.R.B. e Garcia, C.A.E. Fitoplâncton e variáveis abióticas na Península Antártica (verão) e na Patagônia (Primavera-Verão) (manuscrito).211

Anexo V: Listas de espécies/grupos taxonômicos, apenas os autotróficos, identificados na Patagônia e Antártica, acrônimos correspondentes utilizados nas análises estatísticas de agrupamentos e de correspondência canônica e seus respectivos biovolume (μm^3) e biomassa em carbono (pg C) (Anexo IV)	271
--	-----

Anexo VI: Prancha com fotografias de microscopia eletrônica de varredura de algumas espécies ou grupos taxonômicos da Patagônia e Antártica	275
--	-----

RESUMO

Esta tese teve como objetivo principal a descrição e a caracterização da variabilidade da biomassa e composição de grupos taxonômicos de fitoplâncton na primavera e verão austrais em relação a parâmetros ambientais, em duas regiões de estudo: a Península Antártica e setores do Mar Argentino. As amostragens foram conduzidas a bordo do Navio de Apoio Oceanográfico *Ary Rongel* durante os cruzeiros à Patagônia (projeto PATEX) e à Península Antártica (projeto SOS-Climate). Amostras superficiais (250 mL) foram coletadas com garrafa Van Dorn para análise do fitoplâncton e de seus pigmentos. Análises estatísticas multivariadas foram aplicadas para sintetizar os dados biológicos e/ou abióticos e para relacionar a variabilidade da composição fitoplanctônica com determinados parâmetros oceanográficos. Sobre a plataforma da Patagônia no verão, o cocolitoforídeo *Emiliana huxleyi* foi mais abundante ($0,05$ a 11×10^6 células L^{-1}) na maioria das estações e sua distribuição foi associada com baixas razões Si:N. Na região da Confluência Brasil-Malvinas as variáveis abióticas explicaram 44% da variabilidade da composição e distribuição do fitoplâncton: (1) águas de plataforma/mistura com concentrações moderadas de nutrientes tiveram dominância de *Phaeocystis antarctica*; (2) águas tropicais (oligotróficas) e subantárticas ($<2,3$ μM de Si) com assembléias de diatomáceas e diatomáceas/dinoflagelados, respectivamente; e (3) águas costeiras com camada de mistura profunda e diatomáceas. Na quebra de plataforma da Patagônia, a primavera caracterizou-se por dominância do nanoplâncton, especialmente *Thalassiosira* spp.,

associado com concentrações relativamente altas de nutrientes (influência da Corrente das Malvinas). O verão, na porção sul, foi representado por cocolitoforídeos (2008) e camadas de mistura rasas ou pela diatomácea microplanctônica *Rhizosolenia crassa* (2009) com camada de mistura profunda. O verão antártico foi também caracterizado por grandes diatomáceas (regiões de alta concentração de clorofila-*a*, $>1 \text{ mg m}^{-3}$) e camada de mistura rasa/forte estratificação da coluna d'água causada por processos de degelo marinho e continental (próximo à Ilha James Ross). Em outras áreas houve dominância de células nanoplanctônicas, como a haptofícea *P. antarctica* e criptofíceas (regiões profundas de baixa concentração de clorofila-*a*, $<1 \text{ mg m}^{-3}$) e coluna d'água estratificada/camada de mistura profunda (Passagem de Drake e partes do Estreito de Bransfield). Esse trabalho demonstrou a influência da camada de mistura/estratificação da coluna d'água na composição do fitoplâncton de todos os setores amostrados e o efeito da limitação por Si em setores do Mar Argentino na primavera e no verão.

ABSTRACT

The main objective of this thesis was to describe and characterize the variability in biomass and composition of phytoplankton taxonomic groups in austral spring and summer periods, in relation to environmental parameters. All sampling efforts were carried out on board the R/V Brazilian Navy *Ary Rongel* during cruises to the Patagonian Sea (PATEX project) and the cruises to the Antarctic Peninsula (SOS-Climate project). Surface samples (250 mL) were collected with a Van Dorn bottle for phytoplankton counting and identification and analysis of their pigments. Multivariate statistical analyses were performed in order to summarize the biological/abiotic data sets and to explain the variability of phytoplankton communities due to variation in some oceanographic parameters. In the southern Patagonian shelf during summer, the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* was the most abundant organism (0.05 to 11×10^6 cells L^{-1}) and its distribution was associated with low Si:N ratios. In the Brazil-Malvinas Confluence region, abiotic variables explained (44%) the variation in composition and distribution of the phytoplankton: (1) shelf and mixing waters with moderate nutrient concentrations were dominated by the haptophyte *Phaeocystis antarctica*; (2) tropical (oligotrophic) and subantarctic (with less than $2.3 \mu M$ of Si) waters were composed basically by diatoms or diatom/dinoflagellate species, respectively; and (3) coastal waters comprised deep UMLD with a diatom-dominated assemblage. At the Patagonian shelf-break in springtime, the high abundance of nanoplankton cells, especially *Thalassiosira* spp., was associated with relatively high nutrient concentrations.

(Malvinas Current influence). The summer period (southern sector) was represented either by coccolithophorids (2008) in shallow mixed layers or the large diatom *Rhizosolenia crassa* ($>20\ \mu\text{m}$), which was able to thrive in deep mixed layers. The summer period in the Antarctic Peninsula also exhibited a region with high chl-*a* biomass ($>1\ \text{mg m}^{-3}$) dominated by microplanktonic diatom cells in shallow UMLD/strong water column stratification, which was related to glacial and sea-ice melting processes (near James Ross Island). In other areas, there was dominance of nanoplanktonic cells, mainly the haptophyte *P. antarctica* and cryptophytes, among other flagellates, coupled with low chl-*a* biomass ($<1\ \text{mg m}^{-3}$) and deeper mixed layer. (in the Drake Passage and parts of the Bransfield Strait). This work demonstrated a marked influence of water column physical structure on phytoplankton communities throughout the study areas. Also, Si limitation was an important factor affecting the phytoplankton composition over the Patagonian sites, both in spring and summer.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO GERAL

O fitoplâncton é reconhecido como o principal grupo que realiza fotossíntese em ambientes marinhos, sobretudo em regiões oceânicas, normalmente determinando a biomassa dos níveis tróficos subsequentes e as trocas biogeoquímicas entre os ecossistemas (Falkowski e Knoll, 2007). O fitoplâncton reúne um grupo polifilético de organismos fotossintéticos aquáticos unicelulares e coloniais (Falkowski e Raven, 2007) e inclui taxa facultativamente autótrofos tais como algumas espécies alorizadas de ciliados (Petz, 1999) e de dinoflagelados, que são representados por 50% de organismos heterótrofos (Steidinger e Tangen, 1997). O fitoplâncton inclui também procariotas (cianobactérias), demonstrando que o termo está relacionado principalmente com a função trófica dos microorganismos que vivem à mercê da hidrodinâmica na coluna d'água.

1.1 Mar Argentino

Nos setores da plataforma e quebra de plataforma da Patagônia, são encontradas regiões com concentrações moderadas ou altas de biomassa fitoplanctônica, que são influenciadas pelas concentrações de nutrientes associados à dinâmica da Corrente das Malvinas (CM) (Signorini *et al.*, 2009), ao aporte do Río de La Plata (Carreto *et al.*, 2008) e à influência de ondas de maré sobre a plataforma (Bianchi *et al.*, 2009). No entanto, o efeito da herbivoria exercida pelo microzooplâncton (Santoferrara e Alder, 2009) e pelo

mesozooplâncton (Sabatini *et al.*, 2004) pode ter influência importante sobre a biomassa e a estrutura das comunidades fitoplanctônicas na região. Além disso, outras interações biológicas como ação viral, de bactérias ou de fungos podem promover a dominância de algumas espécies ou ainda atuar no controle do fitoplâncton.

A frente oceanográfica na quebra da plataforma continental da Patagônia (Argentina) apresenta frequentemente concentrações altas de fitoplâncton, principalmente na primavera e verão, denotando uma área de produtividade primária alta (Fernandes e Brandini, 1999; Romero *et al.*, 2006; Signorini *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2008). Este sistema representa um elo importante entre o oceano Austral e o Atlântico Sul Ocidental, em termos físicos e biológicos, sendo fortemente influenciado pela dinâmica da Corrente Circumpolar Antártica (CCA) e o seu ramo ao longo da margem continental da Argentina, a CM (Saraceno *et al.*, 2004). Análises de frústulas de diatomáceas nos sedimentos superficiais desta região mostraram a presença de grupos de espécies tipicamente antárticas (Romero e Hensen, 2002), assim como grupos típicos de áreas subtropicais, expressando o caráter transicional da região. Esta frente oceânica produtiva está relacionada também com abundância de recursos pesqueiros (Bertolotti *et al.*, 1996) e variabilidade sazonal considerável de fatores físicos e químicos (Helbling *et al.*, 1992). Outros trabalhos indicam que a plataforma continental adjacente também apresenta variações na concentração e na composição taxonômica do fitoplâncton (Barbieri *et al.*, 2002).

No talude da Patagônia, com base em sensoriamento remoto, alguns trabalhos sugerem que cocolitoforídeos sejam dominantes nas florações de primavera e verão (Brown e Podestá, 1997). Contudo, dados *in situ* mostram que diatomáceas e outros flagelados podem ser os mais abundantes e dinoflagelados autotróficos e mixotróficos podem apresentar maior biomassa em carbono, durante a primavera nessa região (Garcia *et al.*, 2008). Outro estudo, utilizando sensoriamento remoto e diferentes bases de dados, sugere que os cocolitoforídeos dominem a comunidade fitoplanctônica no talude a partir de meados de verão, associados com a profundidade mínima da camada de mistura e os níveis mais baixos de nutrientes, exauridos pelas florações anteriores de diatomáceas (Signorini *et al.*, 2006). Alguns trabalhos sugerem a influência do transporte de massas d'água originadas no oceano Austral, refletido pela direção e intensidade da CM, sobre o sudoeste do Atlântico, principalmente em relação às espécies de cocolitoforídeos (Boeckel *et al.*, 2006) e de diatomáceas (Romero e Hensen, 2002). Esses autores ilustraram quais espécies de ambos os grupos são mais importantes na formação de sedimentos superficiais ricos, respectivamente, em calcita ou em sílica biogênica, sugerindo-as como indicadores a serem utilizados em estudos paleoceanográficos e paleoclimatológicos. Romero *et al.* (2001) realizaram estudos semelhantes na costa chilena e, ao observarem densidade alta de frústulas de diatomáceas tipicamente antárticas nos sedimentos, verificaram a influência das águas frias e ricas em macronutrientes da CCA.

1.2 Península Antártica

No Oceano Austral, a biomassa fitoplanctônica é relativamente baixa (geralmente $<1 \text{ mg m}^{-3}$ de clorofila-*a*) em quase toda a sua extensão, devido principalmente à carência do elemento essencial ferro, apesar de conter concentrações altas dos macronutrientes (nitrogênio, fósforo e silício) (Ducklow *et al.*, 2007). No entanto, observa-se incremento significativo na biomassa do fitoplâncton próximo às zonas marginais de gelo e nos sistemas de frentes oceânicas e costeiras (Priddle *et al.*, 1994, Constable *et al.*, 2003). A estrutura e dinâmica do fitoplâncton no oceano Austral tem recebido atenção especial por sua importância ecológica e biogeoquímica e, especialmente, em função de drásticas mudanças de temperatura relacionadas ao aquecimento global (Ducklow *et al.*, 2007; Montes-Hugo *et al.*, 2009).

A Península Antártica é caracterizada pelas mudanças sazonais de avanço e/ou derretimento do gelo, que alteram a estrutura da coluna d'água através do estabelecimento de uma camada de mistura rasa/estratificação forte (Ducklow *et al.*, 2007). Essa estrutura permite que o fitoplâncton permaneça na camada eufótica e com o aporte de ferro oriundo do degelo, e favorece uma assembléia de diatomáceas controlada por ferro em setores relativamente rasos e costeiros (Garibotti *et al.*, 2005a). Por outro lado, setores oceânicos podem exibir camada de mistura profunda, conferindo limitação por luz em profundidade mesmo com disponibilidade do micronutriente ferro, o que favorece uma assembléia de nanoflagelados controlada por luz (Hewes, 2009). A biomassa e a composição fitoplanctônica podem ser controladas também pela pressão de herbivoria, particularmente a ação de microheterótrofos

(ciliados, dinoflagelados) sobre nanoflagelados (Smith Jr. e Lancelot, 2004), permitindo que células $>20\ \mu\text{m}$ escapem do controle por esta força ambiental (Smetacek *et al.*, 2004). Contudo, o padrão e a intensidade dessas características sazonais podem ser alterados em função do aquecimento global (Oppenheimer e Alley, 2004; Montes-Hugo *et al.*, 2009), aumentando o interesse sobre a variabilidade inter-anual da composição e abundância do fitoplâncton nesta área.

A composição do fitoplâncton nas regiões costeira e de frente oceânica em torno da Península Antártica caracteriza-se principalmente pela presença de nano- e picoplâncton (Azam *et al.*, 1991). Adicionalmente, sob efeito de variabilidade ambiental e sazonal, ocorrem diatomáceas (Garibotti *et al.*, 2005), haptofíceas (*Phaeocystis antarctica*; Baumann *et al.*, 1994), prasinofíceas (*Pyramimonas* sp.; Bird e Karl, 1991) e criptofíceas (*Cryptomonas* sp.; Vernet, 1992) que sobrepõem-se ocasionalmente em abundância, na primavera e verão austrais. Por exemplo, Rodríguez *et al.* (2002) verificaram duas assembléias distintas (verão 1995/1996): uma composta por diatomáceas microplanctônicas e *Pyramimonas* sp., associada com águas estratificadas pelo degelo, e outra que agrupava criptofíceas e *Phaeocystis* cf. *antarctica* associando-se com águas oligotróficas. Inicialmente, o degelo proporcionaria condições para o estabelecimento e crescimento de células grandes ($>20\ \mu\text{m}$), devido à estratificação da coluna d'água, com a concentração elevada de nutrientes típica da região antártica (Garibotti *et al.*, 2005a); mais tarde, estas células sedimentariam passivamente ou seriam consumidas pelo zooplâncton

(por ex., o krill antártico *Euphausia superba*), permitindo acumular uma maior biomassa de células pequenas ($<20\ \mu\text{m}$) (Smith Jr. e Lancelot, 2004).

1.3 Características oceanográficas das áreas de estudo: Oceano Atlântico Sudoeste e Oceano Austral

O padrão de circulação do oceano Atlântico Sudoeste está, de certa forma, conectado com o Oceano Austral pela proximidade da América do Sul com a Península Antártica, e ilustrado pelo fluxo forte da Corrente Circumpolar Antártica. O Oceano Austral ou Antártico é delimitado pela Zona da Frente Polar Antártica (antigamente denominada Convergência Antártica) ao norte e pelo continente antártico ao sul (Simões, 2011).

A CCA gera uma corrente de sentido norte ao longo da margem continental oriental da Terra do Fogo e da plataforma continental das Ilhas Malvinas (= Falklands), a Corrente das Malvinas (Fig. 1.1A). Essas feições compõem uma província biogeográfica, Plataformas do Atlântico Sudoeste (FKLD = Falklands; Longhurst, 1998; pp: 268–273), que apresenta as seguintes características oceanográficas, geomorfológicas e topográficas: (i) uma plataforma continental estreita no setor norte, próximo ao estuário do Río de La Plata, e que torna-se extensa no setor sul e une-se à plataforma continental das Ilhas Malvinas; (ii) a quebra de plataforma acompanha a variabilidade de extensão espacial da plataforma continental; e (iii) regiões costeiras pontuadas por cabos, baías, o Estreito de Magalhães (e seus canais e fiordes) e o estuário do Río de La Plata, que é o segundo maior contribuinte de fluxo de água doce

para o oceano, na América do Sul. A descarga continental de água doce é influenciada também pelo degelo na região da Terra do Fogo, contribuindo para as baixas salinidades encontradas no extremo sul (55° – 57° S) da plataforma continental da Patagônia Atlântica (Acha *et al.*, 2004).

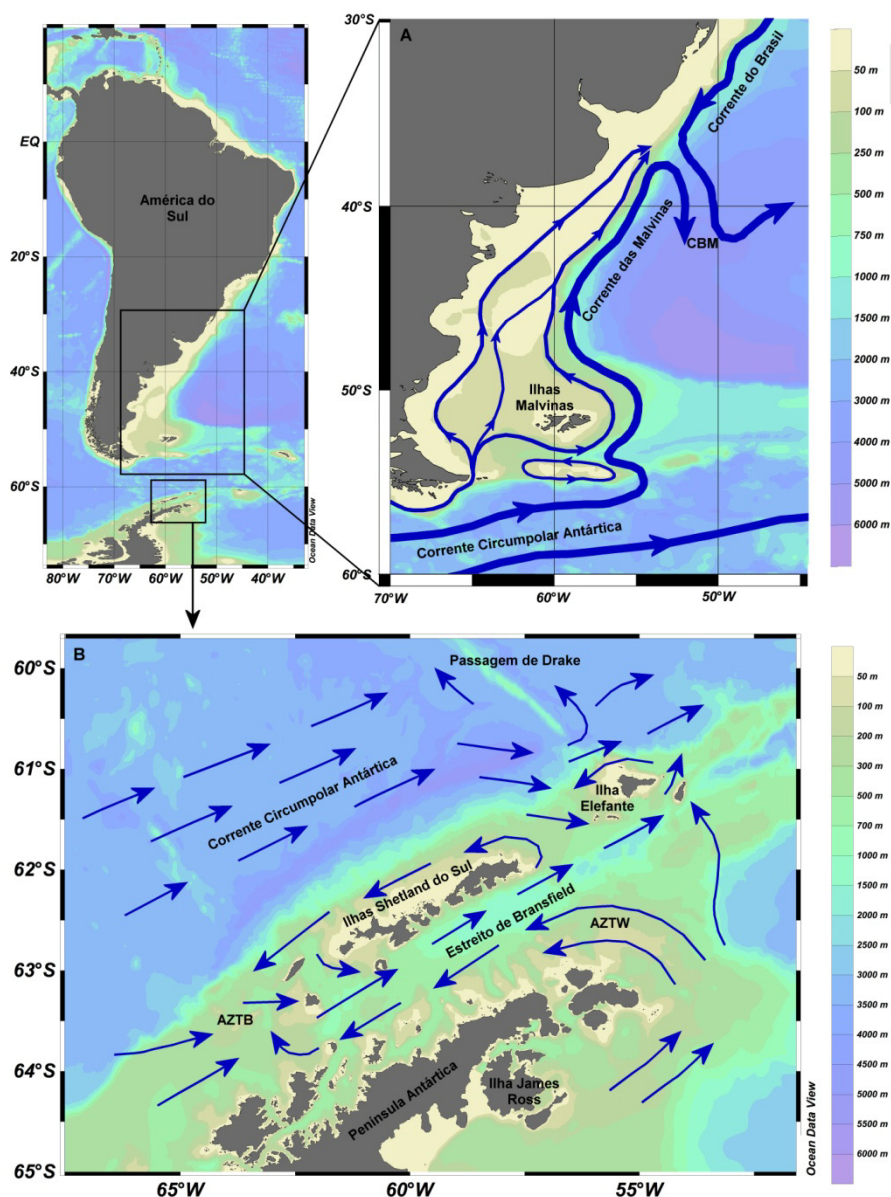


Figura 1.1- Mapa da América do Sul e Península Antártica. Os quadros inclusos referentes às regiões de estudo mostram o padrão de circulação oceânica em superfície: (A) ao longo da margem continental leste da América do Sul, com suas principais correntes – das Malvinas e do Brasil – e a sua interação, a Confluência Brasil-Malvinas (CBM) (modificado de Matano *et*

al., 2010); (B) ao redor da Península Antártica e das Ilhas Shetland do Sul (modificado de Hewes *et al.*, 2009), indicando determinados pontos geográficos de referência e as principais águas encontradas no Estreito de Bransfield – Águas Zonais de Transição sob influência do Mar de Bellingshausen (AZTB) e Águas Zonais de Transição sob influência do Mar de Weddell (Sangrà *et al.*, 2011). Escalas à direita denotam a batimetria nas respectivas regiões: tonalidades azuladas a arroxeadas indicam setores de mar-aberto, principalmente na região da Passagem de Drake, da Corrente Circumpolar Antártica e da sua ramificação, a Corrente das Malvinas; tonalidades esverdeadas a amareladas indicam os setores de plataforma.

A circulação oceânica no setor do Atlântico Sudoeste pode ser assim resumida: a Corrente das Malvinas transporta águas subantárticas frias e ricas em nutrientes ao largo da margem continental da bacia argentina. Neste processo, uma feição conspícua é a forte ressurgência de quebra de plataforma, ocasionada pela interação da CM com a topografia do talude, favorecendo uma produtividade biológica importante (Signorini *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2008; Matano *et al.*, 2010; Piola *et al.*, 2010). Mais ao norte, a CM encontra a corrente do Brasil, quente, salina e relativamente oligotrófica, em direção oposta, próximo ao estuário do Río de La Plata (Spadone e Provost, 2009; Matano *et al.*, 2010; e referências inclusas). Esta área de contato entre ambas as correntes forma a chamada Zona da Confluência Brasil-Malvinas (30°–48°S), com acamadamentos e misturas de águas subantárticas e subtropicais e eventos fortes de mesoescala, por exemplo, frentes termohalinas, filamentos e vórtices (Mata e Garcia, 1996; Wilson e Rees, 2000).

Entre os setores antárticos (ao sul de 60°S), as áreas ao redor da Península Antártica têm sido alvo de estudos recentes, devido a sua susceptibilidade a processos climáticos de aquecimento (por exemplo,

Smetacek e Nicol, 2005; Ducklow *et al.*, 2007; Montes-Hugo *et al.*, 2009). Nesta região (Fig. 1.1B), o padrão de circulação oceânica, sobretudo na área do Estreito de Bransfield, pode ser resumido basicamente em: (1) um fluxo para leste relativamente quente e menos salino originário do Mar de Bellingshausen, do Estreito de Gerlache e da Corrente Circumpolar Antártica e (2) um fluxo para oeste relativamente frio e mais salino vindo do Mar de Weddell. O fluxo para leste vai em direção nordeste ao longo da metade norte do Estreito de Bransfield, enquanto que o fluxo para oeste circula em direção sudoeste ao longo da metade sul do mesmo estreito. Duas massas d'águas são identificadas na região: Águas Zonais de Transição sob influência de Bellingshausen e Águas Zonais de Transição sob influência de Weddell, formando uma frente entre elas ao longo do Estreito de Bransfield (García *et al.*, 1994; Sangrà *et al.*, 2011). Esta frente pode funcionar como uma barreira para o plâncton, limitando a ocorrência de algumas espécies à porção sul desse estreito, sob maior influência do Mar de Weddell. A Passagem de Drake, particularmente, possui águas com concentração alta de nutrientes e concentração baixa de clorofila-*a* (High-Nutrient, Low-Chlorophyll ou HNLC) e é composta por águas menos salinas e de deriva leste (principalmente no oceano profundo) da Corrente Circumpolar Antártica, que influenciam o Estreito de Bransfield, durante o verão austral (Hewes *et al.*, 2009). Mais próximo à costa das Ilhas Shetland do Sul, geralmente há a formação de uma corrente costeira que vai em direção sudoeste, influenciada por águas do degelo e ventos de direção sul (Hofmann *et al.*, 1996). As cercanias da Ilha James Ross têm sido caracterizadas pela produção de florações fitoplanctônicas (Detoni, 2011),

relacionada com o aporte de nutrientes (provavelmente ferro) oriundo do fluxo de degelo das geleiras para a costa e o oceano adjacente (Hawes e Brazier, 1991; Sone *et al.*, 2007).

As regiões de estudo incluídas nesta tese possuem uma conexão, através da CM derivada da CCA, podendo influenciar a composição do fitoplâncton, sobretudo da Patagônia. Esta influência deve ser mais importante na primavera do que no verão, pois a penetração da CM é mais intensa no inverno/primavera do que no verão, quando atinge regiões mais ao norte (Saraceno *et al.*, 2004). Organismos comuns ao ambiente antártico foram identificados no talude da Patagônia (*Phaeocystis* cf. *antartica* e a diatomácea *Corethron pennatum*) em meados de primavera (Garcia *et al.*, 2008), em contraste com o observado no fim do verão, março de 2007 (Comin, 2009).

A composição e a abundância do fitoplâncton no Oceano Austral (ao sul da Frente Polar), mesmo nas estações 'quentes' (primavera e verão), têm sido relacionadas principalmente com a disponibilidade de luz (através de estratificação da coluna d'água) e com o aporte de ferro (Boyd, 2002; Constable *et al.*, 2003), pois os macro-nutrientes são normalmente encontrados em concentrações altas (Hewes *et al.*, 2009). Sob estas condições, o fitoplâncton é composto principalmente de diatomáceas >20 µm (Rodríguez *et al.*, 2002). No talude da Patagônia, como é típico para regiões temperadas, a estratificação também é importante para o estabelecimento das florações de primavera e para a manutenção das células nano- e microplanctônicas na camada eufótica (Podestá, 1990; Garcia *et al.*, 2008). No entanto, macro-nutrientes, como o silicato, podem também ser limitantes em certos setores do

Mar Argentino como a quebra de plataforma, tanto na primavera quanto no verão (Garcia *et al.*, 2008), provavelmente favorecendo a dominância de cocolitoforídeos (Signorini *et al.*, 2006).

Trabalhos de paleo-oceanografia têm demonstrado que algumas espécies fósseis de diatomáceas em sedimentos refletem a distribuição na superfície do Oceano Austral (ainda no Holoceno). Ao mesmo tempo, esses trabalhos podem auxiliar na compreensão da atual distribuição espacial e biogeografia de diatomáceas (Olguín e Alder, 2011) e, provavelmente, de outros organismos tipicamente antárticos/subantárticos transportados para o Mar Argentino. As diatomáceas do Oceano Austral, particularmente próximo da Península Antártica, contribuem para sedimentos ricos em espécies estreitamente associadas ao gelo marinho (Armand *et al.*, 2005) e ao mar adjacente à borda de gelo (Crosta *et al.*, 2005).

A presença de frentes oceanográficas, como a da quebra de plataforma da Patagônia (Signorini *et al.*, 2006) e a frente de Bransfield que separa as águas originárias do Mar de Weddell daquelas derivadas do Mar de Bellingshausen (Sangrà *et al.*, 2011), reflete-se em concentrações altas de clorofila-*a* associadas com a mistura entre duas massas d'água adjacentes promovendo as condições ótimas para o crescimento do fitoplâncton, tais como disponibilidade de nutrientes e irradiância luminosa em camada de mistura rasa, o que nenhuma das massas d'água oferece isoladamente (Saraceno *et al.*, 2005). Assim, esses processos físicos podem condicionar o acúmulo e a distribuição espacial do fitoplâncton ao favorecer geralmente diatomáceas (Saraceno *et al.*, 2005, 2006). Contudo, os processos biológicos, tais como a

ação de herbivoria, podem controlar e alterar a composição fitoplanctônica: por exemplo, meso- e macrozooplâncton que consomem seletivamente diatomáceas/células $>20\ \mu\text{m}$ (Smetacek *et al.*, 2004) e microzooplâncton que mantêm uma cadeia microbiana baseada em produção regenerada (Smith Jr. e Lancelot, 2004).

1.4 Hipóteses

A abrangência geográfica do presente estudo, as variações oceanográficas e biológicas nessa extensão espacial e as interações ecológicas potenciais entre os organismos fitoplanctônicos contribuíram para a formulação das seguintes hipóteses de trabalho:

Hipótese 01: Os fatores estabilidade/camada de mistura são mais importantes para o início das florações, na primavera (Mar Argentino) e/ou no verão (cercanias da Península Antártica).

Hipótese 02: Os níveis de nutrientes determinam a composição de espécies no verão (no Mar Argentino).

Hipótese 03: O predomínio de cocolitoforídeos no verão e de diatomáceas na primavera caracterizam o fitoplâncton da Patagônia enquanto que diatomáceas dominam na Península Antártica, no verão.

1.5 Objetivo Geral

Descrever e caracterizar a distribuição espacial da biomassa e composição de grupos taxonômicos do fitoplâncton e sua variabilidade em função de parâmetros ambientais na primavera e verão austrais, na região da Península Antártica e em setores diferentes do mar Argentino (plataforma e quebra de plataforma da Patagônia; sul de 35° S).

1.4.1 Objetivos específicos

- Indicar as principais espécies/grupos taxonômicos do fitoplâncton do Mar Argentino e próximo à Península Antártica através da identificação, ao menor táxon possível, e da quantificação em microscopia;
- Verificar a influência temporal (primavera e verão) sobre a composição, biomassa, e estrutura de tamanho do fitoplâncton, correlacionando esses fatores biológicos com fatores físicos (temperatura, estabilidade de coluna d'água, camada de mistura) e químicos (salinidade, nutrientes dissolvidos) nas regiões de estudo;
- Caracterizar a composição do fitoplâncton das duas regiões de estudo.

CAPÍTULO 2

METODOLOGIA GERAL

2 METODOLOGIA GERAL

2.1 Amostragem

Esta tese reúne dados correspondentes a sete cruzeiros oceanográficos a bordo do Navio de Apoio Oceanográfico *Ary Rongel* (Marinha do Brasil), sob a responsabilidade do Grupo de Oceanografia de Altas Latitudes (GOAL) e no âmbito das atividades do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR) (Figs. 2.1 e 2.2). Os cruzeiros oceanográficos foram realizados na primavera e/ou verão de 2004, 2007/2008 e 2008/2009, de acordo com a programação na Tabela 2.1. Não foram realizadas amostragens durante a primavera austral (setembro-dezembro) ao redor da Península Antártica.

Para a coleta dos dados (físicos, químicos e biológicos), foi empregado um sistema carrossel de 12 ou 24 garrafas Niskin (5 L de capacidade em cada garrafa), acoplada a um CTD Seabird SBE 911+®. A Tabela 2.1 apresenta o número de estações ocupadas ao longo dos cruzeiros oceanográficos, onde foram realizadas as análises de amostras do fitoplâncton.

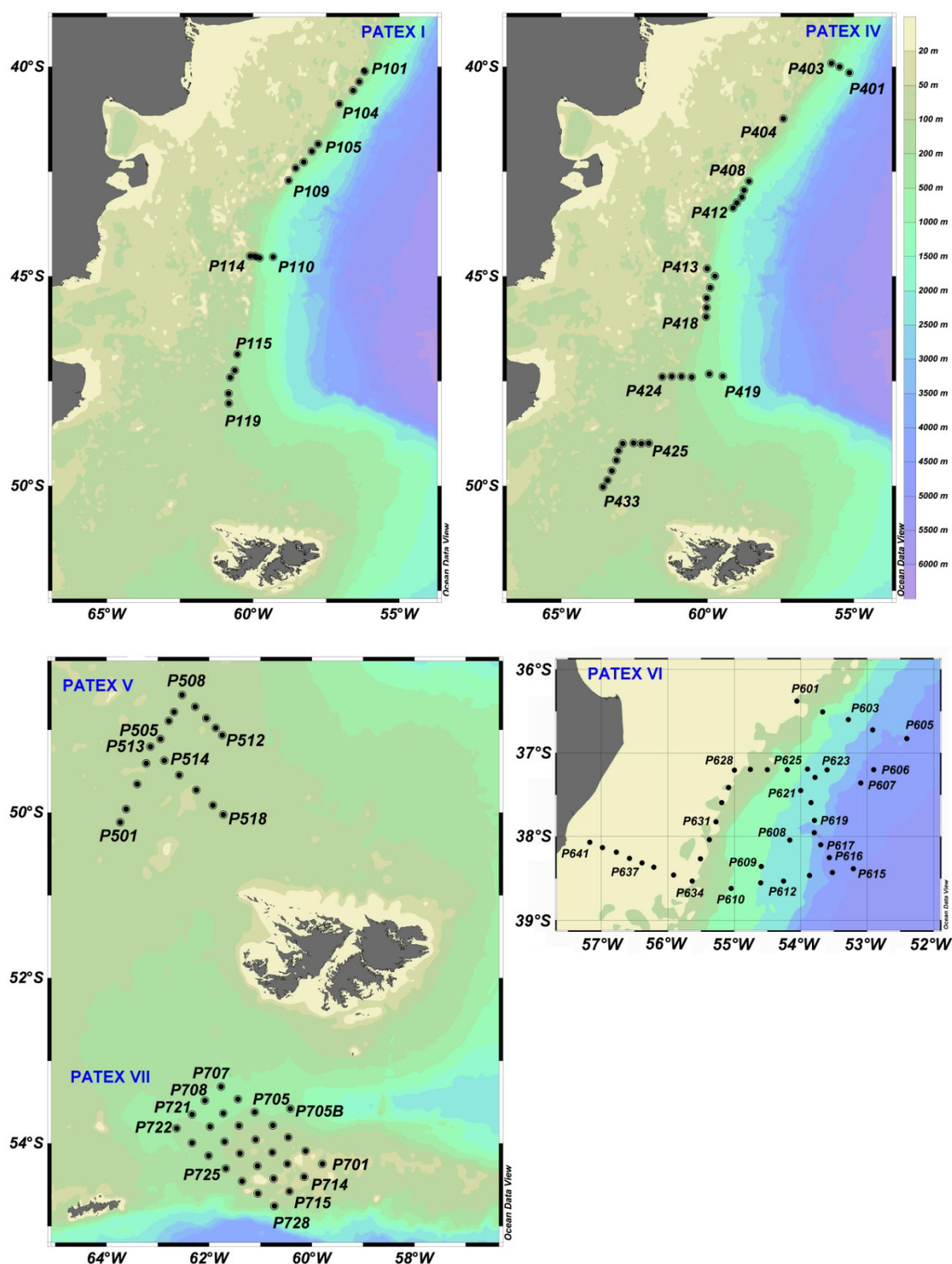


Figura 2.1- Localização geográfica dos cruzeiros oceanográficos realizados nos setores do Mar Argentino – PATagonian EXperiment (I, IV, V, VI e VII) – no âmbito das atividades do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Escala indica a batimetria local.

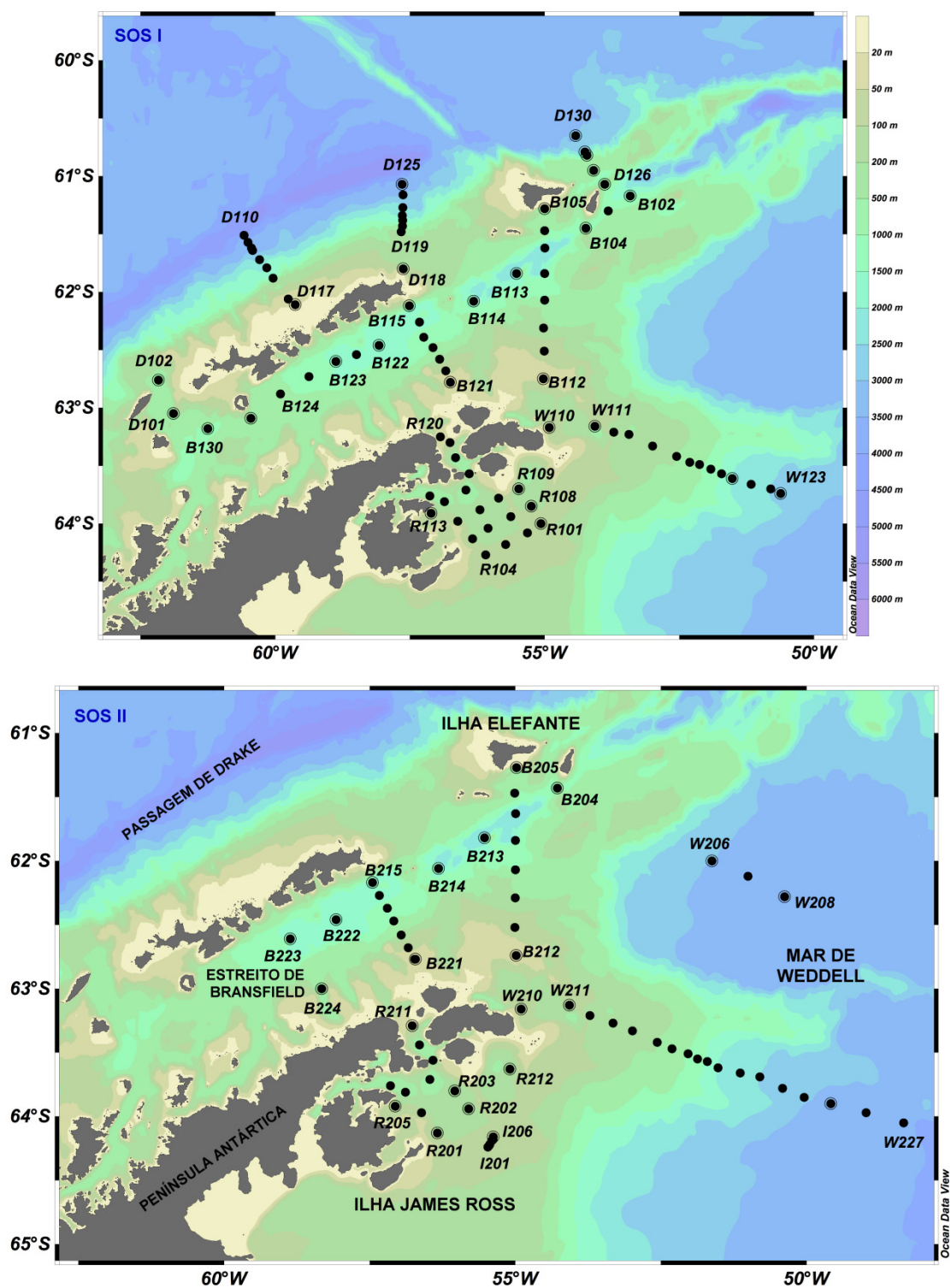


Figura 2.2- Localização geográfica dos cruzeiros oceanográficos realizados na Passagem de Drake (Drake), no Estreito de Bransfield (Bransfield), próximo à Ilha James Ross (Ross) e Mar

de Weddell (Weddell) – projeto SOS-Climate (I e II) – no âmbito das atividades do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Escala indica a batimetria local.

Tabela 2.1- Cruzeiros oceanográficos realizados no âmbito do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR), com os projetos “PATagonian EXperiment” (PATEX I, IV–VII) e “Southern Ocean for Understanding Global Climate Issues” (SOS-Climate I e II), respectivos períodos de coleta, coordenadas geográficas e número de estações com dados de microscopia ótica.

Cruzeiro	Período de coleta	Latitude (S)	Longitude (W)	Número de estações
PATEX I	novembro/2004	40°06.6' - 48°01.8'	56°10.8' - 60°49.8'	15
PATEX IV	outubro/2007	39°55.2' - 50°01.8'	55°09.0' - 63°34.2'	30
PATEX V	janeiro/2008	48°36.0' - 50°08.4'	61°45.6' - 63°42.0'	18
PATEX VI	outubro/2008	36°22.8' - 38°37.2'	52°24.0' - 56°58.8'	37
PATEX VII	janeiro/2009	53°18.6' - 54°45.6'	59°47.4' - 62°37.8'	29
SOS I	fevereiro-março/2008	60°39.0' - 64°16.2'	53°24.6' - 62°10.2'	67
SOS II	fevereiro-março/2009	61°16.2' - 64°14.4'	54°16.8' - 58°51.6'	39

2.2 Parâmetros físicos e químicos

Foram coletados na coluna d'água os dados de temperatura, condutividade, pressão, fluorescência induzida da clorofila-*a* (fluorímetro SeaTech® ou WetLabs®).

A densidade potencial e a estabilidade da coluna d'água foram calculadas a partir dos dados de temperatura e salinidade (potenciais) derivados do CTD. A estabilidade (E) foi baseada em variações verticais de densidade, como função da flutuabilidade ou frequência de Brünt-Väisälä (N^2) a qual é definida por

$$N^2 = -g\delta\rho/\rho\delta z \text{ (rad}^2 \text{ s}^{-2}\text{)}$$

$$\text{e } E = N^2/g \text{ (10}^{-8} \text{ rad}^2 \text{ m}^{-1}\text{)},$$

onde g é a gravidade ($9,80665 \text{ m s}^{-2}$), $\delta\rho$ é a variação de densidade (kg m^{-3}), δz é a variação de profundidade (m), ρ é a densidade potencial (kg m^{-3}) da parcela de água e rad significa radianos.

De maneira geral, os valores de E nos primeiros 100 m de profundidade foram considerados para o cálculo da média nesta camada, representando a estabilidade da coluna d'água superficial. A profundidade da camada de mistura superficial foi determinada a partir de perfis da variação de densidade (potencial) em função da profundidade (ou seja, $\delta\rho/\delta z$). Aquela profundidade, onde as variações foram maiores que 0,05 em um intervalo de um metro de profundidade (cruzeiros PATEX) ou, maiores que ou iguais a 0,02 no mesmo intervalo de um metro (cruzeiros SOS), foi considerada como o limite da profundidade da camada de mistura superficial (adaptado de Mitchell e Holm-

Hansen, 1991). Esta diferença no cálculo entre as regiões é devida ao fato de que as variações de temperatura na coluna d'água são muito pequenas na Antártica e, portanto, um valor menor (0,02) se mostrou mais sensível para a determinação da camada de mistura. A classificação termo-halina das massas d'águas (particularmente para o segundo manuscrito com os dados do PATEX VI; ver **Anexo II**) foi realizada conforme uma adaptação dos intervalos termo-halinos utilizados por Möller *et al.* (2008) e Bianchi *et al.* (2005).

Amostras para a análise de nutrientes dissolvidos, a saber nitrato(NO_3^-)+nitrito(NO_2^-)+amônia(NH_3) (nitrogênio inorgânico dissolvido), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4^{4-}), foram tomadas de profundidades discretas conforme uma seleção baseada no perfil de fluorescência durante as coletas. A concentração desses nutrientes inorgânicos foi determinada de acordo com Aminot e Chaussepied (1983) pelo pesquisador R. Pollery (UFRJ). Detalhes sobre a metodologia utilizada encontram-se em Garcia *et al.* (2008). As razões (molar N:P e Si:N) entre esses nutrientes foram calculadas.

2.3 Composição taxonômica, densidade, biovolume e biomassa dos organismos

Alíquotas de aproximadamente 250 mL foram retiradas das garrafas Niskin (diversas profundidades) e de aproximadamente 2 m de profundidade com uma garrafa Van Dorn (de 5 L). Essas amostras foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e fixadas em solução alcalina de Lugol 2% para a identificação e a quantificação posteriores dos organismos do nano- (2–20 μm)

e microfitoplâncton ($>20\ \mu\text{m}$) (Utermöhl, 1958; Sieburth *et al.*, 1978; Sournia, 1978). A solução alcalina de Lugol foi preparada a partir de modificação do método em Utermöhl (1958), com a seguinte composição: 200 ml de água destilada, 20 g de iodeto de potássio (KI), 10 g de iodo (I_2) e 50 g de acetato de sódio (CH_3COONa). Para a categorização dos organismos em classes de tamanho, foi considerado o maior eixo ou dimensão linear (GALD – greatest axial linear dimension) em microscopia (Reynolds, 2006).

A identificação taxonômica (até o menor táxon possível) e a estimativa da densidade (número de células por litro) foram realizadas com o auxílio de microscópio ótico de luz invertida ZEISS Axiovert 135 ou Olympus IX51 (IO-FURG), equipados com contraste de fase e de interferência diferencial, em aumento de 200 a 1000 vezes. O fitoplâncton foi identificado conforme Balech (1988), Chrétiennot-Dinet (1990), Scott e Marchant (2005), Steidinger e Tangen (1997) e Thronsen (1997). Os ciliados foram identificados conforme os trabalhos de Alder (1999) e Petz (1999).

A densidade foi estimada em câmaras de sedimentação (diâmetro igual a 26 mm; área igual a $530,9\ \text{mm}^2$) de diferentes volumes (10, 50 ou 100 ml), de acordo com a análise visual prévia do material particulado em suspensão ou conforme a concentração de clorofila-*a*. A sedimentação foi estabelecida segundo o intervalo de tempo correspondente ao volume utilizado (Sournia, 1978). Ressalta-se que a haptofícea *Phaeocystis antarctica* apresenta ciclo de vida complexo, no qual há alternância de indivíduos unicelulares haplóides e diplóides, incluindo fases de formas flageladas 'livres' ou em colônias, que podem alcançar até 3 cm de diâmetro (Schoemann *et al.*,

2005 e referências inclusas no próprio artigo). Neste trabalho, embora tenham sido observadas numerosas colônias destes organismos em amostras vivas, nas amostras fixadas foram apenas observadas e contadas células isoladas, já que provavelmente o fixador utilizado deve ter rompido as colônias. As células constituintes de colônias de diatomáceas e demais grupos fitoplanctônicos foram também computadas individualmente para a estimativa da densidade. A contagem de cada táxon foi efetuada em campos ou até toda a área da câmara de sedimentação, a fim de assegurar um número mínimo de 400 células com uma margem de erro de aproximadamente 10% (Lund *et al.*, 1958).

A partir dos valores de densidade, da mensuração dos principais eixos lineares dos organismos e da utilização de formas geométricas aproximadas, o biovolume celular (em μm^3) foi manualmente calculado (Hillebrand *et al.*, 1999) e utilizado para a conversão em valores de biomassa em carbono (Eppley *et al.*, 1970; Putt e Stoecker, 1989; Montagnes *et al.*, 1994; Menden-Deuer e Lessard, 2000). Para a mensuração dos organismos, foram capturadas imagens em câmera digital – Spot Insight QE e programas associados – acoplada ao microscópio invertido, dos principais organismos identificados. Estas imagens complementaram a mensuração, durante as rotinas de contagem, de no mínimo 30 indivíduos de cada espécie ou táxon.

Muitos taxa foram agrupados para compensar as dificuldades inerentes à identificação de organismos $<20\ \mu\text{m}$ em microscopia ótica, em classes de tamanho, gênero ou maior categoria taxonômica (Ordem, no caso de dinoflagelados e diatomáceas), e função trófica (autotrofia *versus* heterotrofia/mixotrofia). Quando não foi mencionado, o grupo Flagelados I (<5

µm) incluiu todos os flagelados não distinguíveis durante as contagens, tais como prasinofíceas, *Phaeocystis antarctica* e outros (particularmente no cruzeiro PATEX VI); Flagelados II (5–10 µm) incluíram criptofíceas e crisofíceas (cruzeiros SOS I e II); entre os dinoflagelados, alguns gêneros englobaram vários morfotipos (*Gymnodinium* spp., *Gyrodinium* spp., *Prorocentrum* spp. exceto, *P. minimum* e *P. rostratum*, e *Protoperidinium* spp.), e outros dinoflagelados foram mantidos no nível de ordem (Peridinales). Alguns espécimes de diatomáceas foram agrupados e apresentados também no nível de ordem (Centrales ou Pennales), além de serem categorizados em classes de tamanho, tais como Thal (*Thalassiosira* spp. <20 µm de diâmetro), ThalI (*Thalassiosira* spp. entre 20 e 50 µm), ThalII (principalmente *Thalassiosira* spp. entre 50 e 100 µm), ThalIV (*Thalassiosira* sp. e outras cêntricas >100 µm de diâmetro), Cent5 e Cent10 (cêntricas <5 e entre 5 e 10 µm de diâmetro, respectivamente), e P20, P50 e P100 que corresponderam respectivamente a penadas <20, entre 20 e 50, e entre 50 e 100 µm de eixo apical. Com exceção dos ciliados que foram geralmente agrupados em gênero, foi identificado o autotrófico *Myrionecta rubra* (= *Mesodinium rubrum*).

2.4 Identificação em microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Algumas amostras, escolhidas quase aleatoriamente mas que representassem cada cruzeiro tratado nesta tese, foram utilizadas para observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Brasil e Faculdade de Ciências da

Universidade de Lisboa – FCUL, Portugal). O MEV geralmente permite a visualização de estruturas externas ou endoesqueletos desprovidos do protoplasma, tais como frústulas de diatomáceas, tecas de dinoflagelados, escamas de crisofíceas, cocólitos de cocolitoforídeos e outros (Boltovskoy, 1995).

Alíquotas de 50 mL de amostras recém-coletadas ou de amostras já fixadas com formalina foram filtradas em seringa com aparato de filtração contendo filtros de membrana Nuclepore de 0,2 μm , preferencialmente com mínima pressão com o êmbolo. O filtrado foi fixado indiretamente com papel-filtro embebido levemente com formol neutralizado ou com solução alcalina de Lugol, em placas de Petri pequenas. Cada filtro foi lavado com 5 mL de água doce (novamente em seringas e com o aparato de filtração) para evitar a formação de cristais de sal e, depois, mantido em dessecador até a observação em MEV (Scanning Electronic Microscope JEOL, JSM-5200LV). Metade do material (na FCUL, Portugal) foi, adicionalmente, desidratado por banhos sucessivos em etanol a 30%, 50%, 70%, 90% e 100% até ponto crítico; finalmente, todos os filtros foram aderidos em suportes e metalizados para observação (Charles *et al.*, 2005).

2.5 Concentração de clorofila-a (fluorimetria)

A concentração de clorofila-a foi estimada em amostras de várias profundidades, em volume variado (de 500 a 2000 mL) conforme a concentração de material particulado em suspensão. Esse volume foi retirado

da garrafa de Niskin correspondente a cada profundidade (ou da Van Dorn, em superfície) e foi filtrado em filtros de fibra de vidro Whatman GF/F de 25 mm de diâmetro (em duplicata), por meio de sistema de filtração a vácuo. Após a filtração, todos os filtros foram acondicionados em papel alumínio e colocados imediatamente em nitrogênio líquido. Em laboratório (IO-FURG), as amostras de clorofila-*a* foram extraídas em acetona a 90%, mantidas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 horas e então analisadas através de método fluorimétrico sem acidificação (Welschmeyer, 1994), com um fluorímetro Turner Designs TD-700. A concentração de clorofila-*a* foi expressa em mg m^{-3} .

2.6 Análise de pigmentos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Foram realizadas coletas de água para análise detalhada das concentrações dos principais pigmentos fitoplanctônicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE ou HPLC (clorofilas, carotenóides e seus derivados) em profundidades escolhidas de forma a caracterizar a distribuição destes pigmentos na coluna de água. Para esta finalidade, foi adotado o mesmo procedimento (coleta, filtração, acondicionamento das amostras) aplicado para o método fluorimétrico. As análises de cromatografia foram efetuadas no Centro de Oceanografia (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Portugal). As amostras de pigmentos dos cruzeiros PATEX V e VI foram utilizadas nos manuscritos correspondentes (**Anexos I e II**) e as

amostras oriundas da Antártica (cruzeiros SOS I e II) foram analisadas por R. Mendes (FCUL, Lisboa) e constam de outro manuscrito (**Anexo III**).

Os pigmentos fotossintéticos foram extraídos com 2 mL de metanol a 95%, tamponado (com acetato de amônio a 2%), durante 30 minutos e a -20°C , no escuro. As amostras foram submetidas a ultrassom (Branson, modelo 1210, W: 80, Hz: 47) durante aproximadamente 1 minuto, no início do período de extração; as mesmas foram centrifugadas a 1100 g por 15 minutos, sob refrigeração a 4°C . Os extratos foram passados por filtros de membrana Fluoropore PTFE ($0.2\text{ }\mu\text{m}$ de porosidade) e, imediatamente, injetados em um aparelho de cromatografia líquida (Shimadzu) composto por um módulo injetor do solvente de extração (LC-10ADVP), um módulo controlador do sistema (SCL-10AVP), um detector do fotodiodo (SPD-M10ADVP) e um detector de fluorescência (RF-10AXL). A separação cromatográfica dos pigmentos foi obtida usando-se uma coluna monomérica OS C8 (simetria C8; 15 cm de comprimento; 4,6 mm de diâmetro; e $3,5\text{ }\mu\text{m}$ de poro separador das partículas). As fases móveis foram as seguintes: (A) metanol:acetonitrilo:solução aquosa de piridina (0,25 M, com pH ajustado a 5,0 com ácido acético) na proporção 50:25:25 (v/v/v), e (B) metanol:acetonitrilo:acetona na proporção 20:60:20 (v/v/v). O gradiente de solventes foi conforme o utilizado por Zapata *et al.* (2000), com uma taxa de fluxo igual a 1 mL min^{-1} , um volume de injeção de 100 μL e uma corrida de 40 minutos de duração. O limite de detecção e o limite de quantificação deste método foram calculados e discutidos em Mendes *et al.* (2007).

Para identificar os pigmentos, foram necessários os respectivos espectros de absorvância e tempo de retenção, sendo que suas concentrações foram calculadas a partir dos sinais capturados pelo detector de fotiodo e/ou pelo detector de fluorescência (clorofilas: excitação a 430 nm, emissão a 670 nm). O aparelho de CLAE (HPLC) foi previamente calibrado com pigmentos-padrões da Sigma (clorofila-*a*, *b* e β -caroteno) e do Institute for Water and Environment, Denmark – DHI (os demais pigmentos).

Com o intuito de investigar o estado de estresse por ferro do fitoplâncton, exclusivamente em torno da Península Antártica, foi calculada a razão do carotenóide 19'-hexanoiloxifucoxantina sobre a clorofila-*c*₃ (Hex-fuco:Chl-*c*₃). A aplicação desta razão foi baseada nos resultados obtidos com o cultivo de *Phaeocystis antarctica* sob concentrações variáveis do micronutriente ferro (DiTullio *et al.*, 2007).

2.7 Análise quimio-taxonômica dos pigmentos fotossintéticos diagnósticos (CHEMTAX)

A abundância relativa dos grupos fitoplanctônicos que contribuíram para a clorofila-*a* total foi derivada da matriz das concentrações de pigmentos obtidos por CLAE, usando-se o programa de análise quimio-taxonômica CHEMTAX versão 1.95 (Mackey *et al.*, 1996; Wright *et al.*, 1996; Wright *et al.*, 2009). O CHEMTAX utiliza uma análise fatorial e um algoritmo que considera o declive mais abrupto para encontrar o melhor ajuste dos dados a uma matriz inicial (“input matrix”) com as razões entre os pigmentos e a clorofila-*a*. A base

para os cálculos e demais procedimentos são completamente apresentados em Mackey *et al.* (1996).

As razões para os pigmentos da matriz inicial, correspondentes aos maiores agrupamentos/classes de algas, foram obtidas a partir de Rodríguez *et al.* (2002) e Kozłowski *et al.* (2011) os quais trabalharam em locais próximos da Península Antártica (**Anexo III**). Ou, na Patagônia, foram usadas de acordo com Carreto *et al.* (2003) e Zapata *et al.* (2004) (**Anexo I**) ou Carreto *et al.* (2003) e de Souza *et al.* (2011) (**Anexo II**). Baseando-se nos pigmentos diagnósticos e na confirmação dos maiores grupos taxonômicos determinados pelas análises em microscópio, seis grupos de fitoplâncton foram usados no CHEMTAX: diatomáceas, dinoflagelados-1 (possuidores do carotenóide peridinina), “*Phaeocystis antarctica*”, criptofíceas, flagelados verdes (exclusivamente com clorofila-*b*) e “grupo quimio-taxonômico”. Os pigmentos utilizados foram clorofila-*c*₃ (Chl-*c*₃), clorofila-*c*₂ (Chl-*c*₂), peridinina (Perid), 19'-butanoiloxifucoxantina (But-fuco), fucoxantina (Fuco), 19'-hexanoiloxifucoxantina (Hex-fuco), aloxantina (Allo), clorofila-*b* (Chl-*b*) e clorofila-*a* (Chl-*a*). O “grupo quimio-taxonômico” foi caracterizado por uma assinatura pigmentar incluindo Chl-*c*₃, Chl-*c*₂, But-fuco, Fuco e Hex-fuco para descrever um grupo fitoplanctônico que pudesse representar a contribuição conjunta de outros dinoflagelados autotróficos sem-peridinina (Wright e Jeffrey, 2006) e de outros organismos cuja composição pigmentar ainda não foi analisada completamente (por exemplo, Parmales e outras crisófitas). Para fins de comparação entre a análise pigmentar e os dados de microscopia, a maioria

destes organismos foi artificialmente agrupada em uma categoria chamada, então, de Outros Flagelados.

A mesma matriz de entrada de razões dos pigmentos diagnósticos foi utilizada para os dois anos de estudo na Antártica (SOS I e II), assim como para os cruzeiros PATEX V e VI, mas cada ano (isto é, o conjunto de dados por ano) foi analisado separadamente, para permitir que uma variabilidade potencial do processo de otimização do CHEMTAX fosse de fato expressa no final da análise. Em adição, para ser considerada a variação das razões de pigmentos em função da irradiância e/ou em função da disponibilidade de nutrientes, cada conjunto de dados por ano foi dividido em três intervalos, conforme a profundidade de coleta (0–50 m, 50–100 m e >100 m). Para a otimização da matriz de entrada (“input matrix”), uma série de 60 matrizes de razões de pigmentos foram geradas através da multiplicação de cada razão de pigmento da matriz de entrada por uma função aleatória ($\pm 75\%$ de erro aleatório adicional ao valor da razão inicial). Durante esse processo de otimização da análise, o CHEMTAX determina a concentração não-explicada de pigmento na solução final de cada corrida (residual ou root mean square error – RMSE). Os resultados finais (razões e abundâncias) foram, enfim, calculados como o valor médio das seis melhores matrizes finais/de saída (“output matrix”), ou seja, com os menores valores de RMSE. As matrizes (otimizadas) de razões de pigmento derivadas do CHEMTAX para 0–50 m (Antártica) ou intervalos correspondentes (Patagônia) são apresentadas em tabelas (ver nos manuscritos respectivos, **Anexos**). No final, os resultados de saída do CHEMTAX representaram a contribuição de cada grupo

fitoplanctônico, em termos absolutos (mg m^{-3}), para a clorofila-a e/ou foram traduzidos também em valores percentuais (relativos) de contribuição em uma amostra determinada (Schlüter *et al.*, 2000).

2.8 Análise estatística

Primeiramente, os fatores bióticos – dados de contagem, biovolume e biomassa em carbono – foram organizados de acordo com as estações de coleta dos cruzeiros oceanográficos correspondentes, para cada táxon/espécie identificada (casos); da mesma maneira, os parâmetros (fatores) abióticos foram organizados como variáveis ambientais para cada ponto de amostragem (casos).

Para cada artigo/manuscrito (**Anexos**), foi aplicado um certo conjunto de análises uni- e multivariadas, além do próprio uso do CHEMTAX já mencionado anteriormente (análise fatorial). Os dados derivados da CLAE foram comparados com os dados de microscopia (número de células, biovolume e biomassa em carbono dos principais taxa fitoplanctônicos) através de correlação paramétrica (r de Pearson), em todos os cruzeiros que apresentaram essas informações e especialmente nos cruzeiros SOS I e II, a fim de verificar o grau de concordância entre as duas abordagens sobre o fitoplâncton. Quando houve um número pequeno de amostras (por exemplo, PATEX V), foram aplicadas correlações não-paramétricas (r de Spearman) entre as variáveis bióticas e abióticas para verificar associações entre elas. Somente correlações significativas ($p < 0,05$) foram consideradas.

As análises multivariadas foram escolhidas para sintetizar a quantidade de informação e procurar agrupamentos de amostras e/ou grupos de espécies/maiores taxa (Gauch, 1982) e de descrever gradientes ambientais explicativos para a distribuição espacial do fitoplâncton (McGarigal *et al.*, 2000).

Análises de classificação hierárquica (de Agrupamentos) foram aplicadas, usando o índice de similaridade de Bray-Curtis (Clarke e Warwick, 1994) e o algoritmo de ligação UPGMA (distância média não-ponderada entre grupos), para descrever similaridades espaciais entre estações de coleta (análise do tipo R) ou assembléias de espécies/maiores taxa (análise do tipo Q). A contribuição absoluta (ou a própria densidade) em biovolume/biomassa em carbono (ou densidade) total dos grupos fitoplanctônicos mais freqüentes (>10% em todas as amostras), em cada estação de coleta, foi transformada logaritmicamente (Zar, 1999) e usada em uma matriz de entrada no programa PAST versão 1.81 (Hammer *et al.*, 2008). As categorias fitoplanctônicas foram geralmente resultantes da combinação de espécies/taxa de tamanho similar ou do mesmo gênero e as categorias menos abundantes foram reunidas em maior nível taxonômico (ordem, por exemplo).

A análise de ordenação, Análise de Correspondência Canônica (ACC), foi utilizada para identificar os padrões principais da variabilidade do fitoplâncton, conforme as variáveis ambientais explicativas (Ter Braak e Prentice, 1988). As variáveis bióticas foram representadas pela densidade ou biomassa em carbono dos principais grupos taxonômicos. As variáveis explicativas (ambientais) incluíram temperatura, salinidade, nitrogênio inorgânico dissolvido (NID: nitrato, nitrito e amônia), fosfato, silicato,

profundidade da camada de mistura e estabilidade da coluna d'água. Todas as variáveis foram transformadas logaritmicamente antes da análise. Para verificar a significância do modelo da ACC que explicou a variabilidade do fitoplâncton, o teste de Monte-Carlo foi efetuado baseando-se em 499 permutações considerando o modelo reduzido ($p < 0,05$). Mais detalhes sobre as análises estatísticas foram abordados em cada artigo/manuscrito (**Anexos**).

CAPÍTULO 3

FITOPLÂNCTON EM REGIÕES DISTINTAS

DO ATLÂNTICO SUDOESTE (MAR

ARGENTINO, 36–38°S E 48–50°S), NA

PRIMAVERA E VERÃO

3 FITOPLÂNCTON EM REGIÕES DISTINTAS DO ATLÂNTICO SUDOESTE (MAR ARGENTINO, 36–38°S E 48–50°S), NA PRIMAVERA E VERÃO

3.1 Introdução

O oceano Atlântico Sudoeste engloba várias frentes neríticas e oceânicas, as quais apresentam-se em escalas espacial e temporal variadas. Todavia, esta região tem sido pouco estudada de um ponto de vista sistêmico (Acha *et al.*, 2004). Um dos principais elos que determinam a estrutura e dinâmica das cadeias tróficas nessas frentes oceanográficas é o fitoplâncton, como já demonstrado em outras partes do globo, como na plataforma continental sob influência da corrente da Califórnia (Kudela *et al.*, 2008 e 2010).

Garcia *et al.* (2008) relacionaram os grupos taxonômicos do fitoplâncton e os níveis de clorofila-*a* com parâmetros ambientais ao longo da quebra de plataforma continental da Patagônia e Lutz *et al.* (2010) investigaram as variações espaciais da produção primária em uma área extensa do mar Argentino, usando parâmetros fotossintéticos *in-situ* aplicados a modelos por sensoriamento remoto. Ambos os trabalhos foram realizados na primavera e concluíram que o mar Argentino apresenta uma rica biomassa fitoplanctônica com florações intensas neste período do ano (Lutz *et al.*, 2010) e que as diatomáceas e dinoflagelados são sustentados pelo suprimento de nutrientes

oriundo da ressurgência da CM na quebra de plataforma e mantidos em camadas de até 50 m de profundidade (Garcia *et al.*, 2008).

Visando a uma melhor compreensão da estrutura e dinâmica do fitoplâncton, são necessários trabalhos abrangentes espacial e temporalmente nesta região do globo, visto que é composta por sub-regiões condicionadas por características atmosféricas/oceanográficas tais como frentes de marés (Sabatini *et al.*, 2004), a pluma do Río de La Plata (Acha *et al.*, 2008), a confluência Brasil-Malvinas (Saraceno *et al.*, 2004), as frentes termais sobre a plataforma continental (Rivas *et al.*, 2006) e a frente oceânica de quebra de plataforma (Garcia *et al.*, 2008).

Neste estudo, exploramos sucintamente as seguintes questões: (1) quais espécies ou grupos taxonômicos do fitoplâncton predominam na primavera/verão e (2) qual é a sua relação com determinados parâmetros ambientais. Os resultados de verão – cruzeiro PATEX V – estão apresentados no artigo: “Phytoplankton community during a coccolithophorid bloom in the Patagonian shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment analyses”, publicado no *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, **92**: 13–27, 2012 (**Anexo I**). Este trabalho foi inteiramente escrito pelo primeiro autor/doutorando, com contribuições de R. Mendes na parte de análises de pigmentos por CLAE e outras sugestões e contribuições dos demais autores.

Os resultados de primavera – cruzeiro PATEX VI – estão apresentados no manuscrito: “Brazil-Malvinas Confluence: effects of environmental variability on phytoplankton community structure”, submetido (em

revisão) ao periódico *Journal of Plankton Research* (**Anexo II**). Este artigo foi redigido primariamente por R. Gonçalves-Araujo, com importante contribuição do segundo autor/doutorando na redação, nas análises de fitoplâncton por microscopia e de CLAE, e na interpretação de resultados e análises estatísticas. Contou, ainda, com importante aporte de R. Mendes nas análises de pigmentos por quimio-taxonomia.

3.2 Síntese de Resultados e Discussão

3.2.1 Plataforma continental da Patagônia (48–50°S) (Anexo I)

O principal grupo taxonômico na região de estudo (sul da plataforma da Patagônia) foi o dos cocolitoforídeos, com dominância massiva de *Emiliana huxleyi*. O teor de clorofila-*a* variou entre 0,3 e 1,5 mg m⁻³ e o principal pigmento fotossintético foi o carotenóide 19'-hexanoiloxifucoxantina ou Hex-fuco (0,1 a 0,7 mg m⁻³) associado aos cocolitoforídeos. Outros carotenóides foram detectados esparsamente tais como peridinina ou Perid dos dinoflagelados e fucoxantina ou Fuco atribuída às diatomáceas (0,96 mg m⁻³). Baseando-se na análise quimio-taxonomica destes pigmentos (CHEMTAX), o cocolitoforídeo "*Emiliana huxleyi*" foi dominante na região (0-83% da clorofila-*a* total), seguido pelos dinoflagelados (0-37%) e por "*Phaeocystis antarctica*" (6-36%). Os grupos taxonômicos restantes: diatomáceas, criptofíceas, prasinofíceas e cianobactérias foram menos importantes.

Os cocolitoforídeos foram mais abundantes ($50.000 \text{ células L}^{-1}$ a $11 \times 10^6 \text{ células L}^{-1}$) enquanto que certos dinoflagelados autotróficos (*Ceratium lineatum* e *C. pentagonum*, *Prorocentrum* spp. gimnodinióides e peridinióides), a haptofícea *Phaeocystis antarctica*, a diatomácea *Cylindrotheca closterium* e o ciliado autotrófico *Myrionecta rubra* (= *Mesodinium rubrum*) ilustraram uma assembléia de espécies fitoplanctônicas organizadas em mosaico (Fig. 3.1).

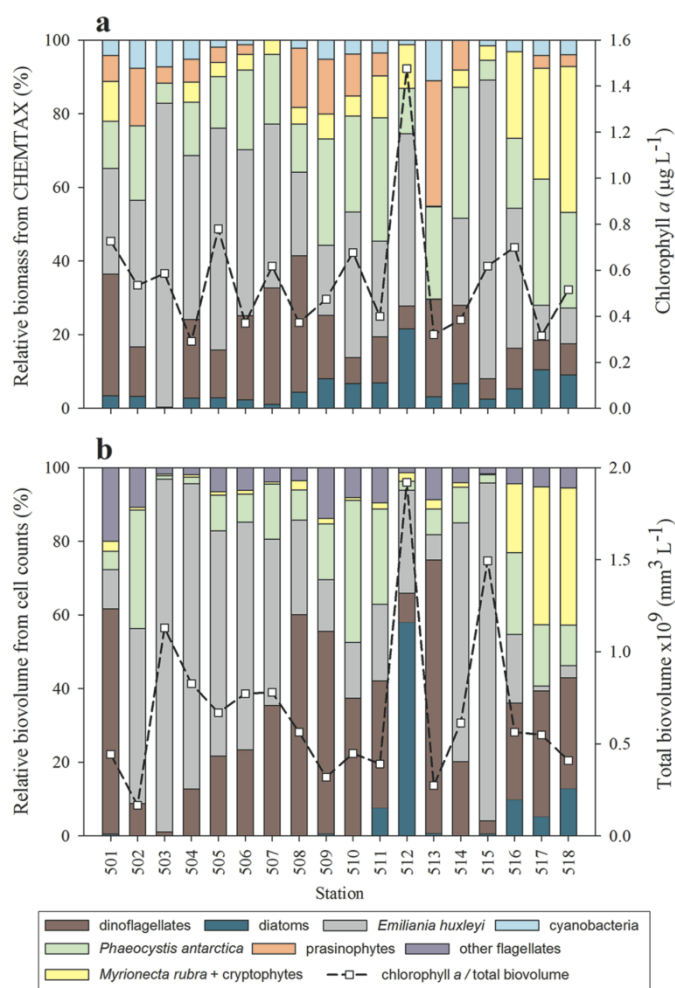


Figura 3.1- Contribuição relativa dos grupos fitoplanctônicos para (a) a clorofila-a total através da aplicação do CHEMTAX e (b) para o biovolume total obtido com as contagens em microscopia e conforme Hillebrand *et al.* (1999). As linhas tracejadas mostram a clorofila-a total (a) e o biovolume total (b) nos respectivos eixos da direita.

A presença de cocolitoforídeos, principalmente no verão na quebra de plataforma do mar Argentino, havia sido apontada através de dados satelitais usando-se um algoritmo indicador da concentração de calcita, composto da parede celular desses organismos (Signorini *et al.*, 2006). No presente trabalho, a presença importante de outros grupos fitoplânctônicos indicou a complexidade da distribuição espacial do fitoplâncton durante as florações de cocolitoforídeos. Alguns processos físicos como mistura causada por ventos ou correntes de maré podem ter contribuído para o crescimento de dinoflagelados e diatomáceas (Bianchi *et al.*, 2005 e 2009; Romero *et al.*, 2006), o que explicaria parcialmente a distribuição espacial em mosaico dos taxa fitoplânctônicos. Ao mesmo tempo, a floração de cocolitoforídeos estava, aparentemente, em um estágio fisiológico relativamente avançado, indicado por um estudo baseado em parâmetros óticos e bioquímicos na coluna d'água (Garcia *et al.*, 2011). Este fato sugere que o fitoplâncton sofre mudanças de composição relacionadas com certos parâmetros ambientais e processos intrínsecos a uma sucessão de espécies, sobre esse setor do mar Argentino.

Durante o verão austral (4 a 7 de janeiro de 2008), a plataforma sul da Patagônia foi representada por gradientes ambientais moderados (norte-sul) em termos de temperatura, salinidade e concentração de nutrientes. Quanto a estes últimos, destacaram-se os nitrogenados com 0,2 μM no sul e 4,17 μM no norte e fosfato com valores indetectáveis na maioria das estações e um valor máximo de 0,33 μM na porção sul. Em geral, o silicato apresentou valores menores que 2,0 μM por toda a região e, conseqüentemente, a razão Si:N foi geralmente menor que 1. Essa razão Si:N foi considerada como um parâmetro

ambiental importante para explicar a distribuição espacial do fitoplâncton, associando-se negativamente com os cocolitoforídeos ($r_s = -0,49$, $p < 0,05$) e positivamente com as diatomáceas ($r_s = 0,54$, $p < 0,05$). Essa relação demonstra que cocolitoforídeos são favorecidos sob menor concentração de silicato e menor razão Si:N, indicando que a contribuição relativa de diatomáceas, provavelmente antecedentes aos cocolitoforídeos na região, depende da concentração de silicato (Egge e Aksnes, 1992) durante o verão sobre a plataforma da Patagônia. A ocorrência/dominância de cocolitoforídeos encontrada no verão, nesta área do mar Argentino, confirmou estudos prévios por sensoriamento remoto (por exemplo, Signorini *et al.*, 2006), que sugeriam esta sucessão.

Em geral, houve uma concordância boa ($p < 0,05$) entre os dados derivados do CHEMTAX e as estimativas de biovolume baseadas nas análises microscópicas, realçando que o uso simultâneo das duas abordagens enriquece os estudos do fitoplâncton (Llewellyn *et al.*, 2005) e esclarece as inconsistências eventuais encontradas com o uso exclusivo de uma ou outra técnica (Wright e Jeffrey, 2006).

3.2.2 Região próxima da confluência Brasil-Malvinas (36–38°S) (Anexo II)

O teor de clorofila-*a* em superfície, nesta região e durante a primavera (13 a 18 de outubro de 2008), variou entre 0,13 e 2,46 mg m⁻³. Os menores valores (<1 mg m⁻³) foram encontrados em águas tropicais e sub-antárticas e os maiores valores (>1 mg m⁻³ de clorofila-*a*), em águas de

plataforma e costeiras. Baseando-se em CLAE/CHEMTAX, as diatomáceas foram ubíquas contribuindo >50% para a clorofila-a em águas sub-antárticas e costeiras. Todavia, elas contribuíram <10% da biomassa em clorofila-a em águas sub-antárticas de plataforma e mistura entre águas sub-antárticas e tropicais, onde “*Phaeocystis antarctica*” (40–70%) e/ou o grupo quimio-taxonômico (38–68%) foram dominantes. Os dinoflagelados contendo peridina mostraram contribuições altas (17–42%) apenas em águas sub-antárticas, enquanto que as picocianobactérias e prasinofíceas foram importantes apenas em águas tropicais contribuindo, respectivamente, com o valor máximo de 44% e 36% para a clorofila-a. As criptofíceas (20% da clorofila-a) foram notadas apenas em águas costeiras. Um estudo anterior, que ocupou setores mais oceânicos (30–60°S) na primavera de três anos consecutivos, encontrou maiores concentrações de clorofila-a (>1 mg m⁻³) na Confluência Brasil-Malvinas e relacionou as biomassas baixas (<1 mg m⁻³) com as águas oligotróficas da Corrente do Brasil ou com as águas ricas em nutrientes, mas turbulentas da Corrente das Malvinas (Brandini *et al.*, 2000). O presente trabalho, entretanto, ocupou um maior número de estações em uma área latitudinalmente menor (36–38°S), mas sobre as regiões oceânica, de quebra de plataforma e nerítica próximas da Confluência Brasil-Malvinas. Portanto, foi possível investigar a distribuição espacial do fitoplâncton em função de gradientes perpendiculares às isóbatas. Essa distribuição espacial foi similar a outras (Carreto *et al.*, 2003, 2008), embora não tenha sido possível determinar a contribuição de cocolitoforídeos, provavelmente inclusos no grupo quimio-taxonômico, durante a primavera de 2008 do estudo atual.

Os flagelados (2 a 5 μm), que incluíram a haptofícea *Phaeocystis antarctica*, foram os mais abundantes em todas as estações de coleta (águas de plataforma – $7,7 \times 10^6$ células L^{-1} , águas tropicais – $2,9 \times 10^6$ células L^{-1} , águas sub-antárticas – 0,05 a $0,2 \times 10^6$ células L^{-1} e costeiras – 0,08 a $0,2 \times 10^6$ células L^{-1}). Houve uma associação entre espécies de diatomáceas e os tipos de águas: (a) *Chaetoceros* spp. I (<10 μm de diâmetro), *Thalassiosira* spp. I (<20 μm de diâmetro) e *Pseudonitzschia* spp. foram importantes em águas sub-antárticas, (b) *Cylindrotheca closterium* em águas de plataforma e de mistura, (c) *Guinardia* spp. e *Thalassionema nitzschioides* em águas tropicais, enquanto que (d) *Asteromphalus sarcophagus*, *Guinardia delicatula* e *Rhizosolenia* spp. (por exemplo, *R. setigera*) foram importantes em águas costeiras. Os dinoflagelados mais representativos foram tanto os espécimes autotróficos/mixotróficos (*Gymnodinium* spp., *Ceratium lineatum/pentagonum*, peridinióides e *Prorocentrum minimum*) quanto os espécimes heterotróficos (*Amphidinium sphenoides*, *Gyrodinium fusiforme* e *Protoperidinium* spp.). Entre os ciliados, o fotossintético *Myrionecta rubra* e a presença de tintinídeos (*Dadayiella ganymedes*, *Dictyocysta elegans speciosa* e *Salpingella* spp.) foram marcantes em águas tropicais e oligotríquídeos alorícos predominaram nas demais estações de coleta. A presença e a abundância de diatomáceas têm sido geralmente indicadas em águas sub-antárticas, assim como *Phaeocystis* aff. *globosa* e *Emiliania huxleyi* foram encontradas em águas da Confluência Brasil-Malvinas (Fernandes e Brandini, 1999). Contudo, a predominância de *P. antarctica* em águas sub-antárticas de plataforma e naquelas resultantes da mistura entre águas tropicais e sub-antárticas sugere a

importância da variação inter-anual e da necessidade de mais trabalhos visando à determinação de padrões de distribuição temporal do fitoplâncton.

Foram encontradas uma variabilidade espacial considerável, em superfície, e uma frente termo-halina nesta região de estudo: a temperatura variou de 8,1 °C a 18,8 °C e a salinidade variou de 33,04 a 35,98. Baseando-se no diagrama T-S, as massas d'água determinadas permitiram a divisão da região de estudo em zonas: (a) tropical (águas tropicais), (b) sub-antártica (águas sub-antárticas), (c) intermediária (águas de plataforma e mistura) e (d) costeira. Essas zonas foram também discriminadas pela distribuição superficial dos fatores químicos: maiores concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido – NID (11,62 μM) e fosfato (0,89 μM) foram observados na zona sub-antártica, enquanto que suas menores concentrações (0,94 μM de NID e 0,18 μM de fosfato) foram determinados na zona tropical. A maior concentração de silicato (7,33 μM) foi encontrada na zona tropical e sua menor concentração foi encontrada na zona costeira (<3 μM). A razão N:P foi menor que 10 na maioria das estações, exceto na zona sub-antártica que apresentou razão N:P igual a 14,3 e razão Si:N igual a 0,3, em média.

Em função desses parâmetros ambientais, incluindo camada de mistura e estabilidade da coluna d'água, o teste de Monte-Carlo sobre uma análise de correspondência canônica mostrou que o ambiente físico e químico contribuiu significativamente para a variabilidade da distribuição espacial dos grupos taxonômicos ($p < 0,01$) (Fig. 3.2). A variabilidade ambiental explicou 44% da variação espacial das espécies/grupos planctônicos: os dois primeiros eixos ou raízes canônicas somaram 73% de explicação dessa variabilidade

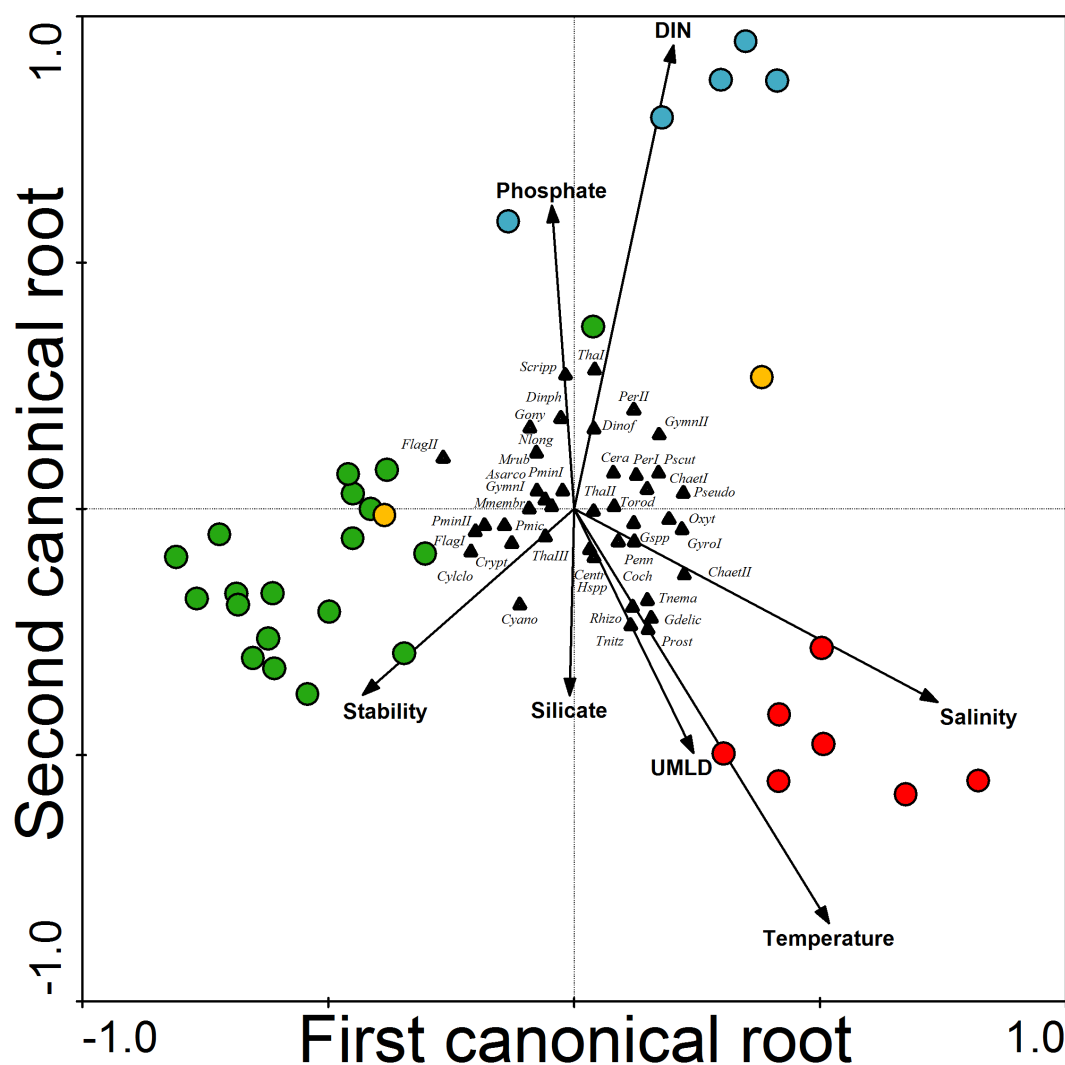


Figura 3.2- Diagrama de ordenação da Análise de Correspondência Canônica relativa aos dados em superfície da abundância do fitoplâncton (taxa menos freqüentes foram excluídos [$<10\%$]). Os dois primeiros eixos representaram 73% das relações entre os grupos fitoplanctônicos e o ambiente físico. Setas referem-se às variáveis ambientais explicativas.

Estações amostrais são representadas pelos círculos coloridos: vermelhos para a zona tropical, azuis para a zona sub-antártica, verdes para a zona intermediária e amarelos para a zona costeira. Triângulos referem-se à abundância absoluta dos principais grupos/espécies representados pelas seguintes abreviações: Flagelados I (2-5 μm ; incluem *Phaeocystis antarctica* – FlagI), Flagelados II (>5 μm – FlagII), Classe Cryptophyceae (Crypt), *Ceratium* spp. (Cer), *Cochlodinium* sp. (Coch), *Dinophysis* spp. (Dinph), *Gonyaulax* cf. *scrippsae* (Gony), *Gymnodinium* spp. I (<20 μm – GymnI), *Gymnodinium* spp. II (>20 μm – GymnII), *Gyrodinium* sp. I (<20 μm – GyroI), *Oxytoxum* spp. (Oxyt), Peridinales I (<20 μm – PerI), Peridinales II (>20 μm – PerII), *Prorocentrum micans* (Pmic), *P. minimum* (Pmin), *P. minimum* II (~20 μm – PminII), *P. rostratum* (Prost), *P. aff. scutellum* (Pscut), *Scrippsiella* cf. *trochoidea* (Scripp), *Torodinium robustum* (Torod), outros dinoflagelados (Dinof), *Asteromphalus sarcophagus* (Asarco), *Chaetoceros* spp. I (<10 μm – ChaetI), *Chaetoceros* spp. II (>10 μm – ChaetII), *Cylindrotheca closterium* (Cylclo), *Guinardia delicatula* (Gdelic), *Guinardia* spp. (Gspp), *Hemiaulus* spp. (Hspp), *Meuniera membranacea* (Mmembr), *Nitzschia longissima* (Nlong), *Pseudonitzschia* spp. (Pseudo), *Rhizosolenia* spp. (Rhizo), *Thalassionema nitzschioides* (Tnitz), *Thalassionemataceae* (Tnema), *Thalassiosira* spp. I (<20 μm – Thal), *Thalassiosira* spp. II (>20 a 50 μm – ThalII), *Thalassiosira* spp. III (> 50 a 100 μm – ThalIII), Outras cêntricas (Centr), Outras penadas (Penn), *Myrionecta rubra* (Mrub).

A influência das águas sub-antárticas frias e ricas em nutrientes, principalmente na zona sub-antártica, foi importante para a composição do fitoplâncton. Enquanto Garcia *et al.* (2008) encontraram dominância de *P. antarctica* em águas sub-antárticas oceânicas associadas à CM, diatomáceas e dinoflagelados destacaram-se na zona sub-antártica identificada no trabalho atual e com camada de mistura relativamente rasa (8–13 m), realçando diferenças inter-anuais.

Assim como no trabalho referente a janeiro de 2008 (verão, PATEX V), foi possível constatar a variabilidade da razão Si:N e sua provável relação com a composição fitoplanctônica, apesar da distância latitudinal considerável entre os dois períodos de estudo. A zona tropical, com razão N:P baixa (5,9) e razão Si:N alta (2,5), deve ser limitante para o crescimento fitoplanctônico pela concentração relativamente baixa de nitrogenados (Barlow *et al.*, 2002). Temperatura e salinidade foram os parâmetros ambientais mais importantes para explicar a distribuição espacial do fitoplâncton, apontando a influência dos processos físicos sobre os biológicos (Saraceno *et al.*, 2006). Por exemplo, a zona costeira, representada por apenas duas estações com dados de composição do fitoplâncton, caracterizou-se por temperatura moderada (11,7–13,7 °C), salinidade baixa (33,47–33,91) resultante da diluição por águas continentais, concentração alta de fosfato (0,53–0,79) e camada de mistura relativamente profunda (9–25). Nesta zona, o fitoplâncton foi similar ao da zona intermediária que foi caracterizada por estabilidade alta (média igual a 1392,7) e pela concentração de haptófitas e outros flagelados englobando provavelmente cocolitoforídeos e crisófitas, conforme observado na plataforma continental da Patagônia por Carreto *et al.* (2003). A zona sub-antártica apresentou concentrações altas de NID (6,52–10,92 µM) e baixas de clorofila-*a* (0,30–0,90 mg m⁻³) e razão relativamente alta de produtos de degradação (da clorofila-*a*) sobre clorofila-*a* (média igual a 0,046). Esses parâmetros podem indicar que o fitoplâncton desta zona sub-antártica estava sob pressão de herbivoria de dinoflagelados heterotróficos/mixotróficos (*Gyrodinium* spp.) e dos ciliados *Didinium* spp., *Strombilidium* spp. e

Strombidium spp. Fernandes e Brandini (1999) descreveram várias espécies de dinoflagelados heterotróficos, além de *Gyrodinium* spp., e formas autotróficas em águas sub-antárticas próximas da Confluência Brasil-Malvinas. É provável que a abundância de dinoflagelados autotróficos, no presente trabalho, pode estar relacionada com a concentração baixa de Si, limitando o desenvolvimento de diatomáceas nessa zona.

3.3 Conclusões

- (01) Na área sul da plataforma continental da Patagônia, o verão austral foi caracterizado pelo predomínio de cocolitofórideos. Esses organismos estiveram associados com baixa concentração de silicato e razão Si:N e com *Phaeocystis antarctica* e dinoflagelados. Houve ainda uma associação entre diatomáceas e *Myrionecta rubra*/criptofíceas.
- (02) Na confluência Brasil-Malvinas, processos físicos dominaram a influência sobre a composição e estrutura do fitoplâncton. Águas sub-antárticas foram uma fonte importante de nitrogenados e fosfato para o crescimento do fitoplâncton. Diatomáceas e dinoflagelados estiveram associados com camada de mistura mais rasa (8–13 m), enquanto que flagelados (incluindo *Phaeocystis antarctica*) estiveram associados com camada de mistura mais profunda (9–25 m). A concentração baixa de clorofila-*a* e valores relativamente altos de produtos de degradação da clorofila-*a* podem indicar o controle exercido por consumidores primários (microplâncton – dinoflagelados e ciliados heterotróficos; e/ou

mesoplâncton – principalmente copépodos) sobre a biomassa fitoplanctônica.

CAPÍTULO 4

DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO

FITOPLÂNCTON EM TORNO DA

PENÍNSULA ANTÁRTICA (VERÕES DE 2008

E 2009)

4 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO FITOPLÂNCTON EM TORNO DA PENÍNSULA ANTÁRTICA (VERÕES DE 2008 E 2009)

4.1 Introdução

A Península Antártica tem sido apontada como uma das áreas do globo que está sob efeito acentuado de mudanças climáticas (Clarke *et al.*, 2007; Montes-Hugo *et al.*, 2009; Smetacek e Nicol, 2005). Este efeito foi nitidamente detectado através de análises de testemunhos referentes ao período inter-glacial anterior (McKay *et al.*, 2011; Siddall e Valdes, 2011). O fitoplâncton é um dos componentes da trama trófica do Oceano Austral que pode ser influenciado por essas mudanças climáticas e que, por compor a base alimentar desta teia, merece atenção sobre os possíveis efeitos causados por estas mudanças na composição taxonômica, sobretudo na primavera e verão, que são os períodos mais produtivos na região.

Estudos dos padrões de distribuição espacial e temporal do fitoplâncton, geralmente, têm apontado as diatomáceas como o grupo dominante durante o período de crescimento (primavera-verão) em torno da Península Antártica (Annett *et al.*, 2010), indicando que esses mobilizadores da sílica são consistentemente substituídos pelas criptofíceas no período final do verão (Moline *et al.*, 2008). A dominância relativa de diferentes grupos taxonômicos (em tamanho, função trófica) deve ser considerada, pois pode

implicar no destino final da produção primária, do fluxo dessa produção ora pela cadeia trófica clássica (por exemplo, a herbivoria exercida pelo krill antártico *Euphausia superba*) ora pela cadeia microbiana, e na importância da sedimentação/ exportação de matéria orgânica (Rodríguez *et al.*, 2002a).

O uso da CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência; por exemplo, Veldhuis e Kraay, 2004) e as análises quimio-taxonômicas (CHEMTAX [Mackey *et al.*, 1996]) têm permitido uma descrição detalhada, ainda que complementar com os resultados da microscopia ótica e eletrônica, da comunidade fitoplanctônica do Oceano Austral (Rodríguez *et al.*, 2002b; Kowzlosky *et al.*, 2011).

O trabalho relativo a este capítulo da tese tem como objetivo principal descrever a composição do fitoplâncton em torno da Península Antártica (com base principalmente na abordagem CLAE/CHEMTAX) em relação a parâmetros físicos da coluna d'água, nos verões de fevereiro-março de 2008 e 2009. Além disto, foram utilizados índices derivados de razões entre pigmentos específicos, em particular, razões indicadoras de senescência (Wright e Jeffrey, 2006), de pressão de herbivoria (Moline, 1998) e/ou do estresse por limitação do micronutriente ferro (DiTullio *et al.*, 2007) para explicar a distribuição espacial do fitoplâncton.

Os resultados deste capítulo se referem ao manuscrito “Dynamics of phytoplankton communities during late summer around the tip of the Antarctic Peninsula”, submetido ao periódico *Deep-Sea Research part I* (em revisão) por Mendes, C.R.B., **de Souza, M.S.**, Garcia, V.M.T., Leal, M.C., Brotas, V. e Garcia, C.A.E. (**Anexo III**). A participação do segundo autor/doutorando na

elaboração deste manuscrito foi na redação (juntamente com R. Mendes), na interpretação de resultados e análises de dados taxonômicos complementares por microscopia.

4.2 Síntese de Resultados e Discussão (Anexo III)

4.2.1 Composição e distribuição espacial do fitoplâncton baseadas em pigmentos fotossintéticos diagnósticos (CLAE)

A concentração de clorofila-*a* (Chl-*a*), em superfície, ao redor da Península Antártica (fevereiro-março de 2008 e 2009) foi variável espacialmente, permitindo a separação de três sub-regiões: (1) concentrações altas nas proximidades da Ilha James Ross (7 mg m^{-3} de clorofila-*a*), especialmente no verão de 2009; (2) concentrações intermediárias ($0,5\text{--}2 \text{ mg m}^{-3}$) no Estreito de Bransfield e região costeira da Passagem de Drake; e (3) concentrações mínimas ($<0,5 \text{ mg m}^{-3}$) no Mar de Weddell e estações oceânicas da Passagem de Drake. Os pigmentos mais representativos na região foram fucoxantina (Fuco), clorofila-*c*₂ (Chl-*c*₂), diadinoxantina e alguns produtos de degradação da própria Chl-*a*, com concentrações máximas $>0,5 \text{ mg m}^{-3}$ próximo da Ilha James Ross. O Estreito de Bransfield e a Passagem de Drake apresentaram concentrações consideráveis de clorofila-*c*₃ (Chl-*c*₃), 19'-hexanoiloxifucoxantina (Hex-fuco) e 19'-butanoiloxifucoxantina (But-fuco), especialmente em 2008.

A razão Chl- c_3 :Fuco indicou o grupo taxonômico dominante em algumas sub-regiões: maior valor ($>0,16$) foi associado com o predomínio de flagelados e menor valor ($0,037$) foi associado com o predomínio de diatomáceas (Fig. 4.1). A razão Hex-fuco:Chl- c_3 , baseada em experimentos sobre o efeito do ferro em *Phaeocystis antarctica* (DiTullio *et al.*, 2007), foi usada para verificar os níveis de limitação por ferro, que também influencia a composição do fitoplâncton: maior razão Hex-fuco:Chl- c_3 (>3), indicando limitação mais severa por ferro, foi registrada no Mar de Weddell (em ambos os verões) e nas estações oceânicas da Passagem de Drake, coincidindo com as concentrações mínimas de Chl- a ($<0,5$, mg m^{-3}) e abundância de *P. antarctica*, enquanto que menor razão Hex-fuco:Chl- c_3 (<3) foi determinada em locais de maior biomassa fitoplanctônica, onde houve domínio de diatomáceas (próximo à Ilha James Ross). Holm-Hansen e Hewes (2004) indicaram que na Passagem de Drake e parte oeste do Mar de Weddell há concentrações baixas de ferro.

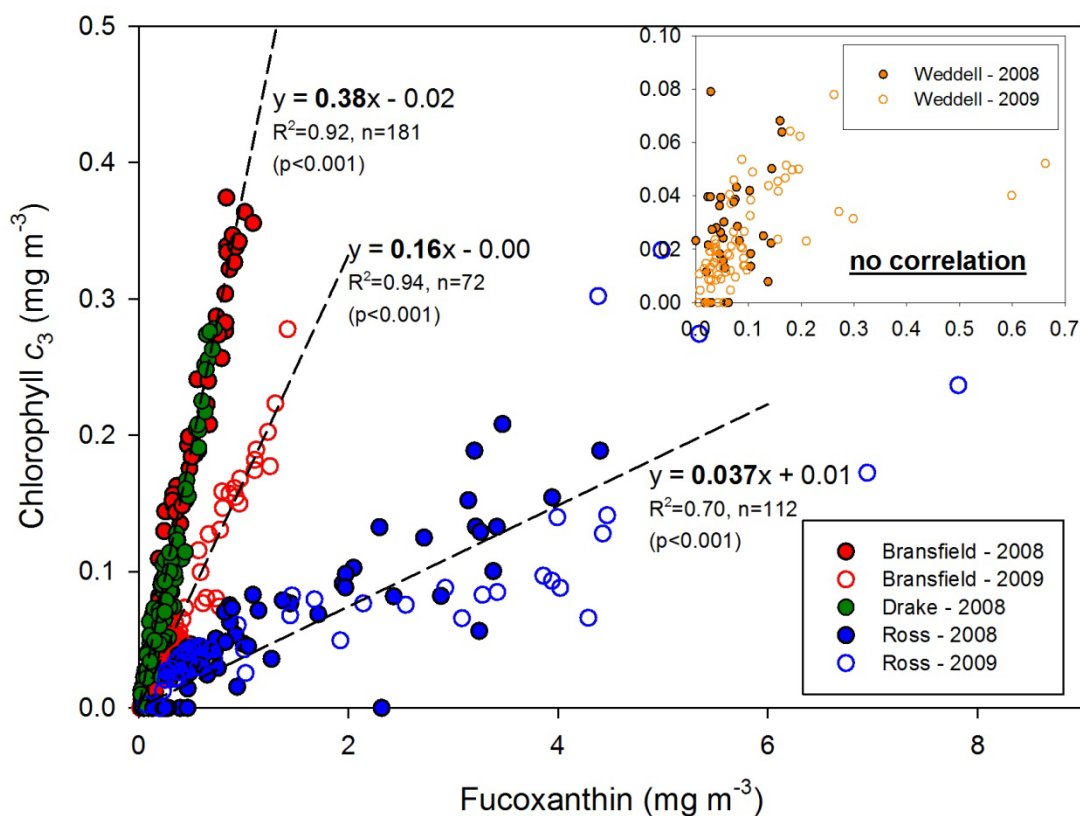


Figura 4.1- Relação entre clorofila- c_3 e fucoxantina nas diferentes regiões e períodos de amostragem.

4.2.2 Distribuição espacial do fitoplâncton e parâmetros oceanográficos

A contribuição relativa de diatomáceas foi acima de 90% do total de Chl- a , próximo à Ilha James Ross, enquanto que criptofíceas dominaram no Mar de Weddell, onde houve menor contribuição relativa de diatomáceas. A haptofícea *Phaeocystis antarctica* mostrou contribuições relativas maiores para a clorofila- a na Passagem de Drake e alguns locais do Mar de Weddell, associadas com concentrações baixas de clorofila- a . O “grupo quimio-

taxonômico” foi importante no Estreito de Bransfield. Esses padrões de distribuição espacial foram relacionados com a estrutura da coluna d’água, a qual pode determinar a disponibilidade de radiação solar e/ou a limitação por ferro na camada de mistura: (a) processos físicos associados com o degelo costeiro (dos glaciares nos arredores da Ilha James Ross) que explicam as águas bem estratificadas/camada de mistura rasa na costa e, provavelmente, uma fonte de ferro para o estabelecimento e a concentração de diatomáceas microplanctônicas (Moline e Prézelin, 1996; Garibotti *et al.*, 2003); (b) o aquecimento sazonal das águas superficiais (evidenciado no mar de Weddell e Passagem de Drake), onde a baixa concentração de clorofila-*a* e a predominância de flagelados (*P. antarctica*, criptofíceas) (Montes-Hugo *et al.*, 2008) em superfície caracterizam um estágio de pós-floração que é frequentemente observado durante o verão (com águas oceânicas estratificadas e suposta limitação por ferro) (Ducklow *et al.*, 2007); (c) ainda no mar de Weddell e Passagem de Drake, a maior concentração relativa de clorofila-*a* estava em profundidade, associada a forte estratificação da coluna d’água; (d) processos advectivos e camada de mistura profunda em locais de composição fitoplanctônica similar mas com biomassa fitoplanctônica total baixa (no Canal Antártico, adjacente à Ilha James Ross); (e) possível efeito da herbivoria e/ou senescência do fitoplâncton podem ter contribuído para a concentração baixa de clorofila-*a* (Passagem de Drake, Mar de Weddell e estações profundas em torno da Ilha James Ross).

As concentrações altas de diatomáceas foram também relacionadas com camada de mistura rasa causada por degelo (Mitchell e Holm-Hansen

1991; Garibotti et al. 2005b) em regiões costeiras protegidas dos fortes ventos antárticos. Esses mesmos autores indicaram que os flagelados (entre eles, *Phaeocystis antarctica*) estão conectados à forte estratificação e baixas concentrações de ferro. A pressão de herbivoria foi provavelmente um fator estruturador do fitoplâncton, alternando entre o domínio por diatomáceas e a predominância de flagelados, com a concomitante redução dos níveis de biomassa (Ross et al., 1998).

4.2.3 Comparação entre dados de microscopia e aplicação da ferramenta CHEMTAX

A correlação significativa ($r = 0,86$; $p < 0,001$) entre os dados derivados da microscopia e da biomassa relativa de diatomáceas derivada do CHEMTAX foi muito próxima da correlação ($r = 0,83$; $p < 0,001$) considerando todos os grupos fitoplanctônicos, o que realçou o domínio das diatomáceas. No Estreito de Bransfield, foi observada uma associação entre a concentração do “grupo quimio-taxonômico” (derivado do CHEMTAX) com os dinoflagelados estimados por microscopia. Esse fato sugere a presença de outros tipos de dinoflagelados, que possuem outros pigmentos acessórios em lugar da peridininina (Perid). Como observado por outros autores (Rodríguez et al., 2002a; Kozłowski et al., 2011), a complementaridade entre as duas abordagens, microscopia e CLAE/CHEMTAX, promovem uma caracterização mais detalhada do fitoplâncton na região antártica.

4.2.4 Caracterização das sub-regiões de estudo

4.2.4.1 Passagem de Drake

Maior concentração de Chl-*a* ($0,6 \text{ mg m}^{-3}$) e predominância de diatomáceas foram observadas na região costeira, com coluna d'água pouco estratificada. Por outro lado, uma menor concentração de Chl-*a* ($0,1 \text{ mg m}^{-3}$) e domínio por nanoflagelados (*Phaeocystis antarctica*, “grupo quimo-taxonômico” e criptofíceas) foram observados em coluna d'água fortemente estratificada, em águas oceânicas.

4.2.4.2 Estreito de Bransfield

Esta sub-região apresentou maior variabilidade espacial em termos de contribuição dos principais grupos taxonômicos para a concentração de Chl-*a* e uma diferença significativa entre os dois verões. Em 2009, a biomassa mais elevada ($\sim 1,5 \text{ mg m}^{-3}$) foi associada com maior contribuição relativa de diatomáceas (*Thalassiosira* spp., *Corethron pennatum* e células nanoplanctônicas de *Chaetoceros neglectus* assim como das penadas *Pseudonitzschia* spp.). Os maiores níveis de biomassa foram registrados nas estações do canal central profundo do Estreito de Bransfield, caracterizado pela contribuição relativamente alta do “grupo quimo-taxonômico” (dinoflagelados autotróficos com e sem peridinina) e de diatomáceas. O “grupo quimo-taxonômico” foi relacionado com densidade de *Gymnodinium* spp. e

Pseudonitzschia spp., determinados através de microscopia ótica. Os níveis de biomassa reduziram relativamente em direção às estações próximas da costa, onde diatomáceas e/ou criptofíceas foram os organismos fitoplanctônicos principais. Em águas menos estratificadas, ao longo da costa, as diatomáceas representaram até 75% da Chl-*a* total. Dinoflagelados alcançaram contribuição relativa similar, com o aumento da estratificação. Em situações intermediárias de estratificação da coluna d'água, as criptofíceas contribuíram >80% para a Chl-*a* total ou foram co-dominantes juntamente com as diatomáceas. Em 2008, uma relação negativa entre Chl-*a* superficial e profundidade da camada de mistura ($r^2 = -0,50$, $p < 0,01$) foi encontrada, particularmente próximo à Ilha Elefante, onde nanoflagelados substituíram diatomáceas. Contudo, em 2009 a camada de mistura foi <100 m e os níveis de biomassa fitoplanctônica foram caracterizados pela dominância de diatomáceas. A acentuada hidrodinâmica no Estreito de Bransfield (Sangrà *et al.*, 2011) pode explicar a variação encontrada na composição fitoplanctônica.

4.2.4.3 Mar de Weddell

O padrão de distribuição espacial do fitoplâncton foi similar em ambos os anos de coleta: diatomáceas, criptofíceas e *Phaeocystis antarctica* foram os representantes principais em águas com concentração baixa de Chl-*a* (<0,5 mg m⁻³). Ao longo de um gradiente de estratificação da coluna d'água, da costa para mar-aberto, foi registrada uma sucessão do fitoplâncton: diatomáceas dominaram nas estações costeiras, com coluna d'água bem

misturada e criptofíceas foram substituindo-as em coluna d'água com nível intermediário de estratificação. A biomassa fitoplanctônica decresceu e a razão Hex-fuco:Chl- c_3 aumentou em direção ao mar-aberto.

4.2.4.4 Arredores da Ilha James Ross

Houve um domínio absoluto de diatomáceas (>90% de contribuição para a biomassa) em todas as estações. Entre as diatomáceas que mais contribuíram para a biomassa total, destacaram-se *Odontella weissflogii*, cêntricas de 20 a 100 μm de diâmetro e *Eucampia antarctica*. Esta sub-região foi caracterizada por estratificação marcante em estações costeiras. Não houve diferenças significativas em relação à distribuição relativa do fitoplâncton, entre os dois verões estudados. Contudo, a concentração máxima de Chl-*a* em 2009 ($\sim 6 \text{ mg m}^{-3}$) foi duas vezes a concentração máxima de Chl-*a* em 2008.

4.2.5 Outros índices pigmentares

4.2.5.1 Produtos de degradação

Excetuando-se os arredores da Ilha James Ross, representados por florações de diatomáceas, as concentrações dos produtos de degradação foram sempre $< 0,1 \text{ mg m}^{-3}$, sendo que o feoforbídeo-*a* foi o produto de degradação principal da Chl-*a* em todo o período de estudo. Em torno daquela

ilha, os produtos de degradação foram determinados em maiores concentrações, destacando-se o clorofilídeo-*a* ($\sim 1 \text{ mg m}^{-3}$). Foi observada uma diferença significativa em relação à contribuição relativa dos produtos de degradação (sobre a soma de Chl-*a* + produtos de degradação). Em 2008, estes estavam presentes em contribuições relativas maiores: 14% em clorofilídeo-*a*, 11% em feoforbídeo-*a* e 4% em feofitina-*a* do que em 2009, com contribuições relativas iguais a 9%, 7% e 2%, respectivamente. Os produtos de degradação deram indícios do efeito de herbivoria (Jeffrey *et al.*, 1997), mais forte em 2008 do que em 2009. Ambos períodos de estudo podem ser associados, inclusive, a um estágio de pós-floração (meio a fim do verão antártico, principalmente no verão de 2008).

4.2.5.2 Pigmentos foto-adaptativos

A razão da soma de carotenóides foto-protetores (PPC: aloxantina, diadinoxantina, diatoxantina e zeaxantina neste estudo) sobre a soma de todos os pigmentos (TP) foi usada como um índice do estado fisiológico do fitoplâncton sob a condição prevalecente de luminosidade. Foi possível demonstrar uma diferença significativa entre estações noturnas e diurnas durante todo o período de estudo, próximo à Ilha James Ross. A razão PPC:TP nas estações noturnas foi cerca de duas vezes mais baixa que nas diurnas, especialmente em superfície. A soma dos carotenóides fotossintéticos (PPS: But-fuco, Hex-fuco, Fuco e Perid) sobre a soma de todos os pigmentos não apontaram diferenças entre a amostragem diurna e noturna entre as estações.

As razões de pigmentos fotoprotetores/pigmentos totais e de pigmentos fotossintéticos/pigmentos totais reafirmaram que os primeiros podem indicar respostas rápidas do fitoplâncton aos efeitos ambientais, como foi observado próximo à Ilha James Ross. Além disso, os pigmentos acessórios mostraram-se como biomarcadores taxonômicos consistentes.

4.3 Conclusão

As diatomáceas foram dominantes nos dois verões austrais (fevereiro-março de 2008 e 2009), próximo à Ilha James Ross e no Estreito de Bransfield, devido provavelmente ao aporte de ferro oriundo do degelo. A camada de mistura e estabilidade foram associadas às mudanças da estrutura de tamanho e composição do fitoplâncton. Houve boa concordância entre os dados derivados da CLAE/CHEMTAX (químio-taxonomia) e os dados de microscopia ótica (número de células por litro, biomassa em carbono). Os dados de CLAE/CHEMTAX indicaram que a ação de herbívoros, a limitação por ferro e a estratégia foto-adaptativa do fitoplâncton foram importantes para a variabilidade taxonômica desses organismos autotróficos na região de estudo.

CAPÍTULO 5

FITOPLÂNCTON E VARIÁVEIS ABIÓTICAS
NA PENÍNSULA ANTÁRTICA (VERÃO) E NA
PATAGÔNIA (PRIMAVERA-VERÃO)

5 FITOPLÂNCTON E VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA PENÍNSULA ANTÁRTICA (VERÃO) E NA PATAGÔNIA (PRIMAVERA-VERÃO)

Este capítulo é resultante da análise e interpretação de dados de microscopia ótica realizados pelo primeiro autor/doutorando, que são apresentados em forma de manuscrito. Esse manuscrito ainda receberá a contribuição dos demais co-autores.

5.1 Síntese de Resultados e Discussão (Anexo IV)

5.1.1 Caracterização ambiental

As duas regiões de estudo, Patagônia e Antártica, foram caracterizadas por uma variação latitudinal, em superfície, de parâmetros ambientais. Os maiores valores médios de temperatura, entre 7,36 °C e 8,19 °C, foram determinados ao longo da quebra de plataforma da Patagônia, na primavera e os menores valores médios, entre 0,19 °C e 0,47 °C, foram determinados em torno da Península Antártica, no verão. A concentração média de nutrientes foi geralmente menor na Patagônia, 2,82 µM de nitrogenados e 0,50 µM de silicato, do que na Antártica com 29,42 µM de nitrogenados e 51,92 µM de silicato. Em relação aos parâmetros biológicos, as maiores concentrações média e máxima de clorofila-*a* foram estimadas no

talude da Patagônia durante a primavera, respectivamente, $9,84 \text{ mg m}^{-3}$ em outubro de 2004 e $22,30 \text{ mg m}^{-3}$ em novembro de 2007. A Península Antártica apresentou valores intermediários de clorofila-*a* com média e máxima iguais a, respectivamente, $1,83 \text{ mg m}^{-3}$ e $10,13 \text{ mg m}^{-3}$ no verão de 2008 e $2,34 \text{ mg m}^{-3}$ e $11,08 \text{ mg m}^{-3}$ no verão de 2009. As menores concentrações de clorofila-*a* foram estimadas no verão de 2009 ao sul das Ilhas Malvinas, com média de $0,63 \text{ mg m}^{-3}$ e máxima de $2,72 \text{ mg m}^{-3}$. O nanofitoplâncton contribuiu mais para a clorofila-*a* ao longo da quebra de plataforma da Patagônia na primavera, considerando a biomassa em carbono. O microfitoplâncton foi mais importante, em valores de biomassa em carbono, nas águas sub-antárticas no verão de 2009 e em águas antárticas nos dois verões, fevereiro-março de 2008 e 2009.

A concentração de clorofila-*a* deve ter sido influenciada por fatores físicos, tais como a frente de quebra de plataforma da Patagônia que fornece nutrientes oriundos da CM (Garcia *et al.*, 2008; Signorini *et al.*, 2009), a frente oceanográfica de Bransfield que se estende ao sul das Ilhas Shetland do Sul e a frente baroclínica próxima da Península Antártica (Sangrà *et al.*, 2011), o degelo continental próximo à Ilha James Ross e, eventualmente, intrusões de Água Circumpolar Profunda Superior sobre a plataforma continental a oeste das Ilhas Shetland do Sul (Prézelin *et al.*, 2000, 2004).

5.1.2 Composição fitoplanctônica nas áreas de estudo

Baseando-se nas análises de agrupamentos a partir da concentração de células, a quebra de plataforma da Patagônia (primavera de

2004 e 2007) formou um agrupamento caracterizado por uma maior concentração de nanoplâncton, especialmente de *Thalassiosira* spp. <20 µm. O verão de 2009 na plataforma sul da Patagônia formou outro agrupamento com três sub-divisões (VII-a, VII-b e VII-c), separando-se dos agrupamentos compostos por estações antárticas, onde o microfitoplâncton foi dominante e incluiu espécies exclusivas: *Odontella weissflogii* e algumas espécies de *Chaetoceros* (por exemplo, *C. bulbosus*). O dendrograma foi quase idêntico ao obtido com os dados de biomassa em carbono, embora aquelas três sub-divisões do verão de 2009 na Patagônia tenham separado primeiro dos demais agrupamentos. Nessa região subantártica, a diatomácea *Rhizosolenia crassa*, >100 µm de diâmetro e >500 µm de comprimento, contribuiu para o maior valor médio de biomassa da fração microfitoplanctônica (109,26 mg m⁻³, desvio-padrão de 376,15 mg m⁻³). Esta espécie e/ou espécies taxonomicamente relacionadas fazem parte da flora de águas antárticas e subantárticas (Sundström, 1986; Medlin & Priddle, 1990), especificamente em mar aberto.

O predomínio de diatomáceas >20 µm em torno da Península Antártica foi associado com o processo de degelo e retração de geleiras que ocasiona uma camada de mistura rasa durante o maior fotoperíodo na região e, provavelmente, o aporte do micronutriente ferro (Ducklow *et al.*, 2007; Holm-Hansen e Hewes, 2004; Montes-Hugo *et al.*, 2009). A composição fitoplanctônica foi, também, relacionada com o efeito da herbivoria que pode controlar o nanofitoplâncton na Patagônia (Santoferrara e Alder, 2009) e na Antártica (Smetacek *et al.*, 2004; Smith Jr. e Lancelot, 2004).

A predominância de nanofitoplâncton durante a primavera na Patagônia pode também estar relacionada com habilidades ecofisiológicas diferenciadas e dependentes do tamanho celular (Edwards *et al.*, 2011). Células grandes (>20 μm) podem ter vantagem em ambientes com um suprimento flutuante, com pulsos de nutrientes (Litchman *et al.*, 2009). Este deve ser o caso do crescimento fitoplanctônico em torno da Península Antártica, que é dependente do aquecimento e derretimento de geleiras e, em consequência, da disponibilidade do micronutriente ferro no verão austral (Garibotti *et al.*, 2005a). Esse microfitoplâncton parece ter maior taxa máxima de absorção de carbono por célula (Litchman *et al.*, 2007) e maior capacidade de armazenamento de nutrientes (Litchman *et al.*, 2009), sugerindo que essas características possam ser aplicáveis em relação ao metabolismo do ferro. É provável que a predominância de nanofitoplâncton na quebra de plataforma não seja resultante apenas da interação do fitoplâncton com o ambiente físico, que gera heterogeneidade espacial e temporal. Este poderia explicar a variabilidade em número de espécies ou grupos fitoplanctônicos no gradiente latitudinal estudado. No entanto, a heterogeneidade pode também ser resultante das interações biológicas, promovendo estratégias ecológicas distintas e a coexistência de várias taxa (Klausmeier e Tilman, 2002).

5.1.3 Espécies comuns ao Oceano Austral e Mar Argentino

Três espécies de diatomáceas, *Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* e *Thalassiothrix antarctica* permitiram a sugestão de que há um elo

entre os arredores da Península Antártica e o Mar Argentino. *Corethron pennatum* apresentou concentrações consideráveis, máximo de $1,2 \times 10^5$ células L^{-1} , ao longo da quebra de plataforma, indicando sua tolerância a temperatura mais elevada. *Eucampia antarctica* e *T. antarctica* apresentaram menores concentrações na Patagônia, $<2 \times 10^3$ células L^{-1} , em comparação com a concentração na Antártica, onde *E. antarctica* alcançou 25×10^3 células L^{-1} . Essas espécies de diatomáceas são indicadas como comuns na região antártica (Medlin e Priddle, 1990).

Por outro lado, *Hemiaulus* spp. foram identificadas apenas na Patagônia, chegando a $1,2 \times 10^5$ células L^{-1} e os dinoflagelados *Ceratium lineatum/pentagonum* foram identificados na primavera e verão na Patagônia alcançando aproximadamente 600 células L^{-1} . As espécies *H. hauckii* e *H. membranaceus* foram identificadas em águas subtropicais (Olguín *et al.*, 2006) e ao norte da Confluência Brasil-Malvinas (Fernandes e Brandini, 1999), distante da nossa região de estudo, sugerindo uma área de distribuição mais ampla no Atlântico Sudoeste para essas espécies.

5.1.4 Distribuição espacial do fitoplâncton e parâmetros oceanográficos

O conjunto de parâmetros ambientais: temperatura, salinidade, nitrogenados, fosfato, silicato, camada de mistura e clorofila-a explicaram razoavelmente o padrão de distribuição do fitoplâncton nas duas áreas de estudo. Houve uma melhor separação entre os agrupamentos da região antártica: (a) verão de 2009 e arredores da Ilha James Ross em 2008 foram

representados pela predominância de diatomáceas *Chaetoceros* spp., *Eucampia antarctica*, *Thalassiosira* spp., *Odontella weissflogii* e *Plagiotropis gaussii* em águas relativamente mais frias, camada de mistura mais rasa e maiores concentrações de silicato e fosfato, associados com uma maior biomassa fitoplanctônica; (b) Estreito de Bransfield e Passagem de Drake em 2008 foram caracterizados pela abundância de dinoflagelados gimnodinióides de vários tamanhos, *Prorocentrum minimum* e *Torodinium robustum*, da haptofícea *Phaeocystis antarctica* e de outras diatomáceas, por exemplo, *Proboscia alata* e *Pseudonitzschia* spp., relacionados com águas relativamente menos frias, menos teor de macronutrientes dissolvidos e camada de mistura profunda.

Na região patagônica ao sul, a diatomácea *Rhizosolenia crassa* foi fortemente associada com camada de mistura profunda. Essa relação com profundidade da camada de mistura foi observada para outra espécie de tamanho similar, *Rhizosolenia formosa*, e atribuída ao metabolismo das proteínas flavodoxina e ferredoxina condicionando um controle relativo de flutuabilidade dessa espécie na coluna d'água (McKay *et al.*, 2000). A presença constante de várias espécies de dinoflagelados, por exemplo, *Ceratium lineatum/pentagonum*, *Gonyaulax* spp. e *Torodinium robustum*, na frente oceanográfica de quebra de plataforma da Patagônia pode ser explicada pelas estratégias intrínsecas ao grupo para tolerar os efeitos da turbulência em zonas de ressurgência (Smayda, 2010a,b).

Na região próxima à Ilha James Ross, confirmou-se a associação entre diatomáceas >20 µm ou formadoras de colônias e o processo de degelo

continental, o qual ocasiona a formação de camada de mistura rasa e águas bem estratificadas e, provavelmente, o aporte de ferro (Hewes, 2009), explicando a concentração alta de clorofila-*a*. Na maior parte do Estreito de Bransfield e na região da Passagem de Drake, houve a associação de *Phaeocystis antarctica*, criptofíceas e outros flagelados com camada de mistura profunda e concentração baixa de clorofila-*a* ($<1 \text{ mg m}^{-3}$). Alguns trabalhos já indicaram a capacidade de desenvolvimento de *P. antarctica* em camada de mistura profunda em comparação com outros grupos fitoplanctônicos (Arrigo *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2010), o que justificaria seu desenvolvimento sob essa característica da coluna d'água.

A presença de algumas espécies de diatomáceas no verão antártico já foi atribuída com algumas características da coluna d'água ou com o período do verão, por exemplo, *Chaetoceros* spp. e *Plagiotropis gaussii* são relacionadas com forte estratificação da coluna d'água e aporte de ferro (Denis *et al.*, 2006) e *Odontella weissflogii* é geralmente encontrada no meio/fim do verão (Annett *et al.*, 2010). Este fato sugere que o fitoplâncton da Antártica, contemplado por esta tese, foi representado por um conjunto de espécies relacionado a condições ambientais físicas específicas, realçando uma heterogeneidade espacial. Todavia, é possível que não apenas alguns parâmetros isolados (temperatura, salinidade, nutrientes, camada de mistura/estratificação) expliquem o crescimento e acumulação daquelas diatomáceas próximo da Península Antártica (Annett *et al.*, 2010 e referências inclusas), mas sim a interação entre eles e outros parâmetros (por exemplo, radiação solar, concentração de herbívoros) não analisados neste trabalho.

5.2 Conclusão

O fitoplâncton dos cruzeiros de primavera (Patagônia) foi dominado pelas diatomáceas nanoplanctônicas, *Thalassiosira* spp., enquanto que o fitoplâncton dos cruzeiros de verão foi caracterizado pelas diatomáceas microfitoplanctônicas *Rhizosolenia crassa* na região subantártica e *Odontella weissflogii*, *Eucampia antarctica* e variadas cêntricas tipo *Thalassiosira* em torno da Península Antártica. Temperatura e nutrientes inorgânicos dissolvidos, especialmente silicato, foram importantes para a variabilidade do fitoplâncton nas regiões de estudo. Diatomáceas como *Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* e *Thalassiothrix antarctica* ocorreram em ambos os domínios estudados, sugerindo a influência de águas (sub)antárticas oriundas da Corrente Circumpolar Antártica ao longo da quebra de plataforma da Patagônia. A distribuição espacial do fitoplâncton foi condicionada pelos processos físicos: frente da quebra de plataforma na região patagônica e degelo próximo à Ilha James Ross, estratificação da coluna d'água e camada de mistura profunda no Estreito de Bransfield e Passagem de Drake na região antártica, os quais mantêm o fitoplâncton na camada eufótica e com concentrações altas de nutrientes. Além do ambiente físico, o efeito da herbivoria foi sugerido como outro fator que controlou a composição fitoplanctônica nas áreas de estudo.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES GERAIS

6 CONCLUSÕES GERAIS

Esta tese abrangeu estudos sobre o fitoplâncton em duas regiões, o Mar Argentino e os arredores da Península Antártica, que estão parcialmente conectadas através da Corrente das Malvinas-Corrente Circumpolar Antártica. Os seguintes ambientes e feições oceanográficas foram analisados: Confluência Brasil-Malvinas, plataforma e quebra de plataforma continental da Patagônia (Mar Argentino) e, Passagem de Drake, Estreito de Bransfield e cercanias da Ilha James Ross localizada no Mar de Weddell, na Península Antártica.

Com relação ao objetivo principal da tese, este trabalho contribuiu com os resultados apresentados em cada artigo/manuscrito (em **Anexos**):

- (1) A plataforma sul da Patagônia foi caracterizada, durante o verão de 2008, por uma “mancha” de alta concentração ($>10^6$ células L^{-1}) de cocolitoforídeos dominada por *Emiliania huxleyi*. O padrão em mosaico do fitoplâncton, entretanto, foi pontuado por uma abundância notável de outras espécies: a diatomácea *Cylindrotheca closterium*, a haptofícea *Phaeocystis antarctica*, dinoflagelados (*Ceratium lineatum/pentagonum*, *Prorocentrum minimum*) e o ciliado *Myrionecta rubra*. Isso indica uma complexa distribuição espacial do fitoplâncton durante as florações de cocolitoforídeos. A razão Si:N foi o parâmetro oceanográfico positivamente associado com a abundância dos cocolitoforídeos e negativamente relacionado com a abundância de diatomáceas.

Processos de mistura causados por ventos/correntes de maré foram sugeridos como forçantes ambientais sobre o fitoplâncton (Artigo 1).

- (2) Durante a primavera e próximo à Confluência Brasil-Malvinas, quatro zonas foram separadas pelas diferenças de composição fitoplanctônica e pelos parâmetros físicos e químicos. A Zona Sub-Antártica foi caracterizada pelas diatomáceas e dinoflagelados, associados a altos teores de nutrientes e camada de mistura rasa. A Zona Tropical foi caracterizada por águas oligotróficas e quentes (Corrente do Brasil), dominadas por cianobactérias identificadas por CLAE/CHEMTAX e flagelados. A Zona Intermediária teve predomínio de haptofíceas e outros flagelados, presumivelmente cocolitoforídeos e crisofíceas, enquanto que a Zona Costeira foi caracterizada pelas diatomáceas, associadas com camada de mistura profunda. A concentração de silicato, razão Si:N, temperatura e salinidade explicaram razoavelmente as diferenças de composição fitoplanctônica entre as zonas. A pressão de herbivoria, contudo, foi sugerida como outro fator controlador do fitoplâncton, principalmente na Zona Sub-Antártica, em virtude da concentração baixa de clorofila-*a* e concentração relativamente alta de produtos de degradação deste pigmento (Manuscrito 2).
- (3) Na região da Península Antártica, o domínio de diatomáceas microplanctônicas próximo à Ilha James Ross, particularmente na região costeira, foi relacionado com estabilidade da coluna d'água e camada de mistura rasa, associadas, presumivelmente, ao aporte do micronutriente ferro. A abundância de nanoflagelados (*Phaeocystis antarctica*,

criptofíceas e outros flagelados) nas regiões profundas (Passagem de Drake, Estreito de Bransfield e Mar de Weddell) foi associada com camada de mistura relativamente profunda e concentração baixa de ferro. A pressão de herbivoria foi sugerida como outro fator controlador da composição fitoplanctônica (Manuscrito 3).

- (4) Os cruzeiros de primavera foram representados por nanofitoplâncton caracterizado por flagelados e *Thalassiosira* spp. Estes estiveram associados com concentrações relativamente altas de nutrientes, por influência da Corrente das Malvinas, mas em camada de mistura rasa. Células formadoras de colônia (*Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp. e *Pseudonitzschia* spp.) e microplâncton (*Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* e *Thalassiothrix antarctica*) foram importantes em biomassa (carbono) na porção sul em outubro/2004 e novembro/2007. Essas três últimas diatomáceas foram comuns aos dois ambientes de estudo, indicando sua habilidade fisiológica de desenvolver-se em ambientes sub-antárticos ou temperados. A plataforma localizada mais a sul, entre 53° e 55 °S, foi representada principalmente pela diatomácea microplanctônica *Rhizosolenia crassa* associada com camada de mistura profunda e responsável pela concentração alta de clorofila-*a* ($>1 \text{ mg m}^{-3}$). Em torno da Península Antártica, próximo da Ilha James Ross, houve a predominância de microfitoplâncton ($>20 \text{ }\mu\text{m}$), com diatomáceas associadas com processos de degelo. Em outras áreas (Passagem de Drake e Estreito de Bransfield), houve predomínio de

nanoplâncton: *Phaeocystis antarctica*, criptofíceas e outros flagelados, associados com baixa biomassa fitoplanctônica (Manuscrito 4).

7 BIBLIOGRAFIA CITADA

- Acha, E.M., Mianzan, H., Guerrero, R., Favero, M. e Bava, J. (2004) Marine fronts at the continental shelves of austral South America: physical and ecological processes. *Journal of Marine Systems*, **44**: 83–05.
- Acha, E.M., Mianzan, H., Guerrero, R., Carreto, J., Giberto, D., Montoya, N. E Carignan, M. (2008) An overview of physical and ecological processes in the Rio de La Plata Estuary. *Continental Shelf Research*, **28**: 1579–1588.
- Alder, V.A. (1999) Tintinnoinea. In: Boltovskoy, D. (ed.) *South Atlantic Zooplankton* Vol. 1. Backhuys Publishers, Leiden. p: 321–384.
- Aminot, A. e Chaussepied, M. (1983) *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest: Centre National pour l'Exploration des Océans, 395 p.
- Armand, L.K., Crosta, X., Romero, O. e Pichon, J.-J. (2005) The biogeography of major diatom taxa in Southern Ocean sediments: 1. Sea ice related species. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **223**: 93–126.
- Annett, A.L., Carson, D.S., Crosta, X., Clarke, A. e Ganeshram, R.S. (2010) Seasonal progression of diatom assemblages in surface waters of Ryder Bay, Antarctica. *Polar Biology*, **33**: 13–29.
- Arrigo, K.R., Robinson, D.H., Worthen, D.L., Dunbar, R.B., DiTullio, G.R., VanWoert, M. e Lizotte, M.P. (1999) Phytoplankton community structure and the drawdown of nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science*, **283**: 365–367.

- Azam, F., Smith, D.C. e Hollibaugh, J.T. (1991) The role of microbial loop in Antarctic pelagic ecosystems. *Polar Research*, **10**: 239–243.
- Balech, E. (1988) *Los dinoflagelados del Atlantico Sudoccidental y Alimentacion*, (Publicaciones Especiales) Madrid, 310p.
- Barbieri, E.S., Villafañe, V.E. e Helbling, E.W. (2002) Experimental assessment of UV effects on temperate marine phytoplankton when exposed to variable radiation regimes. *Limnology and Oceanography*, **47**: 1648–1655.
- Barlow, R. G., Aiken, J., Holligan, P. M., Cummings, D. G., Maritorena, S. e Hooker, S. (2002) Phytoplankton pigment and absorption characteristics along meridional transects in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research I*, **47**: 637–660.
- Baumann, M., Goeyens, L., Jesse, S., Riegger, L., Röttgers, R., Tibcken, M., Brandini, F. (1994) Phytoplankton blooms and species composition in the Weddell Gyre. *Reports on Polar Research*, **135**: 172–176.
- Brandini, F.P., Boltovskoy, D., Piola, A., Kocmur, S., Röttgers, R., Abreu, P.C. e Lopes, R.M. (2000) Multiannual trends in fronts and distribution of nutrients and chlorophyll in the southwestern Atlantic (30–62° S). *Deep-Sea Research I*, **47**: 1015–1033.
- Bertolotti, M.I., Brunetti, N.E. *et al.* (1996) Influence of Shelf-Break Fronts on Shellfish and Fish Stocks off Argentina, INIDEP, *International Council for the Exploration of the Sea*, CM 1996/S: 41: 23.
- Bianchi, A. A., Bianucci, L., Piola, A. R.; Pino, R. D.; Poisson, A. & Balestrini, C. F. (2005) Vertical stratification and air-sea CO₂ fluxes in the Patagonian shelf. *Journal Geophysical Research*, **110**: 1–10.

- Bianchi, A.A., Pino, D.R., Perlender, H.G.I., Osiroff, A.P., Segura, V., Lutz, V., Clara, M.L., Balestrini, C.F. e Piola, A.R. (2009) Annual balance and seasonal variability of sea–air CO₂ fluxes in the Patagonia Sea: their relationship with fronts and chlorophyll distribution. *Journal of Geophysical Research*, **114**: C03018.
- Bird, D.F. e Karl, D.M. (1991). Massive prasinophyte bloom in Northern Gerlache Strait. *Antarctic Journal of the United States*, **26**: 152–154.
- Boeckel, B., Baumann, K.H., Henrick, R. e Kinkel, H. (2006) Coccolith distribution patterns in South Atlantic and Southern Ocean surface sediments in relation to environmental gradients. *Deep-Sea Research I*, **53**: 1073–1099.
- Boltovskoy, A. (1995) Técnicas de microscopia eletrónica de barrido: aplicación a las microalgas. In: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C. e Sar, E. (eds.). *Manual de Métodos Ficológicos*. pp: 119-138. Universidad de Concepción, Chile.
- Boyd, P.W. (2002) Environmental factors controlling phytoplankton processes in the Southern Ocean. *Journal of Phycology*, **38**: 844–861.
- Brandini, F. P., Boltovskoy, D., Piola, A., Kocmur, S., Röttgers, R., Abreu, P. C. e Lopes, R. M. (2000) Multiannual trends in fronts and distribution of nutrients and chlorophyll in the southwestern Atlantic (30-62°S). *Deep-Sea Research I*, **47**: 1015–1033.
- Brown, C.W. e Podestá, G.P. (1997) Remote sensing of coccolithophore blooms in the western South Atlantic Ocean. *Remote Sensing of Environment*, **60**: 83–91.

- Carreto, J. I., Lutz, V. A., Carignan, M. O., Colleoni, A. D. C. e De Marco, S. G. (1995) Hydrography and chlorophyll *a* in a transect from the coast to the shelf-break in the Argentinean Sea. *Continental Shelf Research*, **15**: 315–336.
- Carreto, J.I., Montoya, N.G., Benavides, H.R., Guerrero, R. e Carignan, M.O. (2003) Characterization of spring phytoplankton communities in the Río de La Plata maritime front using pigment signatures and cell microscopy. *Marine Biology*, **143**: 1013–1027.
- Carreto, J.I. *et al.* (2006) Patrones pigmentarios y comunidades fitoplanctónicas en diferentes masas de agua del frente marítimo del río de La Plata. *Resumos do XI Congresso Brasileiro de Ficologia & Simpósio Latino-americano sobre Algas Nocivas*. Itajaí-Santa Catarina, Brasil. pp: 108.
- Carreto, J.I., Montoya, N.G., Akselman, R., Carignan, M.O., Silva, R.I. e Colleoni, D.A.C. (2008) Algal pigment patterns and phytoplankton assemblages in different water masses of Río de La Plata maritime front. *Continental Shelf Research*, **28**: 1589–1606
- Charles, F., Lantoiné, F., Brugel, S., Chrétiennot-Dinet, M.J., Quiroga, I. e Rivière, B. (2005) Seasonal survey of the phytoplankton biomass, composition and production in a littoral NW Mediterranean site, with special emphasis on the picoplankton contribution. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **65**: 199–212.
- Clarke, K.R. e Warwick, R.M. (1994) *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth. 144p.
- Clarke, A., Murphy, E.J., Meredith, M.P., King, J.C., Peck, L.S., Barnes, D.K.A. e Smith, R.C. (2007) Climate change and the marine ecosystem of the

- western Antarctic Peninsula. *Philosophical Transactions of Royal Society B*, **362**: 149–166.
- Comin, R. (2009) *Composição e biomassa do fitoplâncton no talude da Patagônia, na primavera de 2006 e verão de 2007*. Monografia de Graduação FURG, Rio Grande. 41p.
- Constable, A.J., Nicol, S. e Strutton, P.G., 2003. Southern Ocean productivity in relation to spatial and temporal variation in the physical environment. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, **108**(C4), 21p.
- Crosta, X., Romero, O., Armand, L.K. e Pichon, J.-J. (2005) The biogeography of major diatom taxa in Southern Ocean sediments: 2. Open ocean related species. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **223**: 66–92.
- Denis, D., Crosta, X., Zaragosi, S., Romero, O., Martin, B. e Mas, V. (2006) Seasonal and subseasonal climate changes recorded in laminated diatom ooze sediments, Adélie Land, East Antarctica. *The Holocene*, **16**: 1137–1147.
- Detoni, A.M.S. (2011) *Fatores ambientais durante florações fitoplanctônicas próximas à Ilha James Ross, Península Antártica (verão- 2008 e 2009)*. Dissertação de Mestrado FURG, Rio Grande. 102p.
- DiTullio, G.R., Garcia, N., Riseman, S.F. e Sedwick, P.N. (2007) Effects of iron concentration on pigment composition in *Phaeocystis antarctica* grown at low irradiance. *Biogeochemistry*, **83**; 71–81.
- Ducklow, H.W., Baker, K., Martinson, D.G., Quetin, L.B., Ross, R.M., Smith, R.C., Stammerjohn, S.E., Vernet, M. e Fraser, W. (2007) Marine pelagic ecosystems: the West Antarctic Peninsula. *Philosophical Transactions of Royal Society B*, **362**: 67–94.

- Edwards, K.F., Klausmeier, C.A. e Litchman, E. (2011) Evidence for a three-way trade-off between nitrogen and phosphorus competitive abilities and cell size in phytoplankton. *Ecology*, **92**: 2085–2095.
- Egge, J.K. e Aksnes, D.L. (1992) Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Marine Ecology Progress Series*, **83**: 281–289.
- Eppley, R.W., Reid, F.M.H. e Strickland, J.D.H. (1970) Estimates of phytoplankton crop size, growth rate, and primary production, pp. 33-42. *In*: Strickland, J.D.H. (ed.) The ecology of the plankton off La Jolla, California, in the period April through September 1967. *Bulletim of Scripps Institute of Oceanography*, **17**.
- Falkowski, P.G. e Knoll, A.H. (2007) *Evolution of Primary Producers in the Sea*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 441 pp.
- Falkowski, P.G. e Raven, J.A. (2007) *Aquatic photosynthesis*. 2nd edition. Princeton, NJ: Princeton University Press, 500 pp.
- Fernandes, L.F. e Brandini, F.P. (1999) Microplankton communities in the Southwestern Atlantic Ocean: biomass and distribution in November/1992. *Revista Brasileira de Oceanografia*, **47**: 189–205.
- García, M.A., López, O., Sospedra, J., Espino, M., Gracia, V., Morrison, G., Rojas, P., Figa, J., Puigdefàbregas, J.S. e Arcilla, A. (1994) Mesoscale variability in the Bransfield Strait region (Antarctica) during Austral summer. *Annales Geophysicae*, **12**: 856–867.
- Garcia, C.A.E., Garcia, V.M.T., Dogliotti, A.I., Ferreira, A., Romero, S.I., Mannino, A., Souza, M.S. e Mata, M. (2011) Environmental conditions and bio- optical signature of a coccolithophorid bloom in the Patagonian shelf.

Journal of Geophysical Research, **116**: C03025. 17p.
doi:10.1029/2010JC006595.

Garcia, V.M.T., Garcia, C.A.E., Mata, M.M., Pollery, R.C., Piola, A.R., Signorini, S.R., McClain, C.R. e Iglesias-Rodríguez, M.D. (2008) Environmental factors controlling the phytoplankton blooms at the Patagonia shelf-break in spring. *Deep-Sea Research Part I*, **55**: 1150–1166.

Garibotti, I.A., Vernet, M., Kozlowski, W. e Ferrario, M. (2003) Composition and biomass of phytoplankton assemblages in coastal Antarctic waters: a comparison of chemotaxonomic and microscopic analyses. *Marine Ecology Progress Series*, **247**: 27–42.

Garibotti, I.A., Vernet, M. e Ferrario, M.E. (2005a) Annually recurrent phytoplanktonic assemblages during summer in the seasonal ice zone west of the Antarctic Peninsula (Southern Ocean). *Deep-Sea Research I*, **52**: 1823–1841.

Garibotti, I.A., Vernet, M., Smith, R.C. e Ferrario, M.E. (2005b) Interannual variability in the distribution of the phytoplankton standing stock across the seasonal sea-ice zone west of the Antarctic Peninsula. *Journal of Plankton Research*, **27**: 825–843.

Gauch Jr., H.G. (1982) *Multivariate Analysis in Community Ecology*. Cambridge University Press, 298p.

Hammer, O., Harper, D.A.T. e Ryan, P.D. (2008) PAST – PAleontological STatistics, ver. 1.81. Brief notes. 88p. <http://folk.uio.no/ohammer/past>

Hasle, G.R. e Syvertsen, E.E. (1997) Marine Diatoms. *In*: Tomas, C.R. (ed.). *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. Academic Press, Inc. San Diego, California. 5–385.

- Hawes, I. e Brazier, P. (1991) Freshwater stream ecosystems of James Ross Island, Antarctica. *Antarctic Science*, **3**: 265–271.
- Helbling, E.W., Santamarina, J.M. e Villafañe, V.E. (1992) Chubut river estuary (Argentina): estuarine variability under different conditions of river discharge. *Rev. Biol. Mar. (Valparaíso)*, **27**: 73–90.
- Hewes, C.D. (2009) Cell size of Antarctic phytoplankton as a biogeochemical condition. *Antarctic Science*, 14p.
- Hewes, C.D., Reiss, C.S. e Holm-Hansen, O. (2009) A quantitative analysis of sources for summertime phytoplankton variability over 18 years in the South Shetland Islands (Antarctica) region. *Deep-Sea Research I*, **56**: 1230–1241.
- Hillebrand, H., Dürselen, C.D., Kirschtel, D., Pollingher, U. e Zohary, T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, **35**: 403–424.
- Hoffmann, E.E., Klinck, J.M., Lascara, C.M. e Smith, D.A. (1996) Water mass distribution and circulation west of the Antarctic Peninsula and including Bransfield Strait. In: Ross, R., Hoffmann, E.E. e Quetin, L. (Eds.) *Antarctic Research Series*, **70**. American Geophysical Union, Washington, DC. 61–80.
- Holm-Hansen, O. e Hewes, C.D. (2004) Deep chlorophyll-a maxima (DCMs) in Antarctic waters. I. Relationships between DCMs and the physical, chemical, and optical conditions in the upper water column. *Polar Biology*, **27**: 699–710.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. e Wright, S.W. (1997) *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*. UNESCO, Paris.

- Klausmeier, C.A. e Tilman, D. (2002) Spatial Models of Competition. *In*: Sommer, U. e Worm, B. (eds.). *Competition and coexistence*. pp: 43–78. Springer, Berlin, Germany.
- Kozłowski, W.A., Deutschman, D., Garibotti, I., Trees, C. e Vernet, M. (2011) An evaluation of the application of CHEMTAX to Antarctic coastal pigment data. *Deep-Sea Research I*, **58**: 350–364.
- Kudela, R.M., Banas, N.S., Barth, J.A., Frame, E.R., Jay, D.A., Largier, J.L., Lessard, E.J., Peterson, T.D. e Woude, A.J.V. (2008) New insights into the controls and mechanisms of plankton productivity in coastal upwelling waters of the Northern California Current system. *Oceanography*, **21**: 46–59.
- Kudela, R.M. (2010) Does horizontal mixing explain phytoplankton dynamics? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**: 18235–18236.
- Litchman, E., Klausmeier, C.A., Schofield, O.M. e Falkowski, P. G. (2007) The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters*, **10**: 1170–1181.
- Litchman, E., Klausmeier, C.A. e Yoshiyama, K. (2009) Contrasting size evolution in marine and freshwater diatoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **106**: 2665–2670.
- Llewellyn, C.A., Fishwick, J.R. e Blackford, J.C. (2005) Phytoplankton community assemblage in the English Channel: a comparison using chlorophyll *a* derived from HPLC-CHEMTAX and carbon derived from microscopy cell counts. *Journal of Plankton Research*, **27**: 103–119.

- Longhurst, A.R. (2007) Atlantic Ocean. *In*: Longhurst, A. R. *Ecological Geography of the Sea*. 2nd edition. Academic Press, San Diego. Chapter 9, pp: 131–273.
- Lund, J.W.G., Kipling, C. e Cren, E.D. (1958) The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimating by counting. *Hydrobiologia*, **11**: 143–170.
- Lutz, V. A., Segura, V., Dogliotti, A. I., Gagliardini, D. A., Bianchi, A. A. e Balestrini, C. F. (2010) Primary production in the Argentine Sea during spring estimated by field and satellite models. *Journal of Plankton Research*, **32**: 181–195.
- McGarigal, K., Cushman, S. e Stafford, S. (2000) *Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research*. Springer-Verlag, New York, 283p.
- Mackey, M.D., Mackey, D.J., Higgins, H.W. e Wright, S.W. (1996) CHEMTAX – a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, **144**: 265–283.
- Mata, M. M. e Garcia, C. A. E. (1996) Variabilidade da topografia oceânica superficial no Atlântico Sul Ocidental observada pela altimetria TOPEX/POSEIDON. *Anais do VIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, **T67**, Salvador, Bahia, Brasil.
- Matano, R.P., Palma, E.D. e Piola, A.R. (2010) The influence of the Brazil and Malvinas Currents on the Southwestern Atlantic Shelf circulation. *Ocean Science*, **6**: 983–995.

- McKay, N.P., Overpeck, J.T. e Otto-Bliesner, B.L. (2011) The role of ocean thermal expansion in Last Interglacial sea level rise. *Geophysical Research Letters*, **38**: L14605, 6pp.
- Medlin, L.K. e Priddle, J. (1990) *Polar Marine Diatoms*. British Antarctic Survey, Cambridge.
- Menden-Deuer, S. e Lessard, E.J. (2000) Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, **45**: 569–579.
- Mendes, C.R., Cartaxana, P. e Brotas, V. (2007) HPLC determination of phytoplankton and microphytobenthos pigments: comparing resolution and sensitivity of a C18 and a C8 method. *Limnology and Oceanography: Methods*, **5**: 363–370.
- Mills, M.M., Kropuenske, L.R., van Dijken, G.L., Alderkamp, A.C., Berg, G.M., Robinson, D.H., Welschmeyer, N.A. e Arrigo, K.R. (2010) Photophysiology in two Southern Ocean taxa: photosynthesis of *Phaeocystis antarctica* (Prymnesiophyceae) and *Fragilariopsis cylindrus* (Bacillariophyceae) under simulated mixed-layer irradiance. *Journal of Phycology*, **46**: 1114–1127.
- Mitchell, B.G. e Holm-Hansen, O. (1991) Observations and modelling of the Antarctic phytoplankton crop in relation to mixing depth. *Deep-Sea Research II*, **38**: 981–1007.
- Moline, M.A. (1998) Photoadaptive response during the development of a coastal Antarctic diatom bloom and relationship to water column stability. *Limnology and Oceanography*, **43**: 146–153.
- Moline, M.A., Karnovsky, N.J., Brown, Z., Divoky, G.J., Frazer, T.K., Jacoby, C.A., Torres, J.J. e Fraser, W.R. (2008) High latitude changes in ice

- dynamics and their impact on polar marine ecosystems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1134**: 267–319.
- Möller, O.O., Piola, A.R., Freitas, A.C. e Campos, J.D. (2008) The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. *Continental Shelf Research*, **28**: 1607–1624.
- Montagnes, D.J.S., Berges, J.A., Harrison, P.J. e Taylor, F.J.R. (1994) Estimating carbon, nitrogen, protein, and chlorophyll *a* from volume in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, **39**: 1044–1060.
- Montes-Hugo, M., Doney, S.C., Ducklow, H.W., Fraser, W., Martinson, D., Stammerjohn, S.E. e Schofield, O. (2009) Recent changes in phytoplankton communities associated with rapid regional climate change along the western Antarctic Peninsula. *Science*, **323**: 1470–1473.
- Olguín, H.F., Boltovskoy, D., Lange, C.B. e Brandini, F. (2006) Distribution of spring phytoplankton (mainly diatoms) in the upper 50m of the Southwestern Atlantic Ocean (30–61 °S). *Journal of Plankton Research*, **28**: 1107–1128.
- Olguín, H.F. e Alder, V.A. (2011) Species composition and biogeography of diatoms in antarctic and subantarctic (Argentine shelf) waters (37–76°S). *Deep-Sea Research II*, **58**: 139–152.
- Oppenheimer, M. e Alley, R.B. (2004) The West Antarctic Ice Sheet and long term climate policy: an editorial comment. *Climate Change*, **64**: 1–10.
- Painter, S. C., Poulton, A. J., Allen, J. T., Pidcock, R. e Balch, W.M. (2010) The COPAS'08 expedition to the Patagonian Shelf: Physical and environmental conditions during the 2008 coccolithophore bloom. *Continental Shelf Research*, **30**: 1907–1923.

- Piola, A.R., Martínez-Avellaneda, N., Guerrero, R.A., Jardón, F.P., Palma, E.D. e Romero, S.I. (2010) Malvinas-slope water intrusions on the northern Patagonia continental shelf. *Ocean Sci.*, **6**: 345–359.
- Petz, W. (1999) Ciliophora. In: Boltovskoy, D. (ed.) South Atlantic Zooplankton Vol. 1. Backhuys Publishers, Leiden. p: 265–319.
- Podestá, G.P. (1990). Migratory pattern of Argentine Hake *Merluccius hubbsi* and oceanic processes in the Southwestern Atlantic Ocean. *Fisheries Bulletin*, **88**: 167–177.
- Prézelin, B.B., Hofmann, E.E., Mengelt, C. e Klinck, J.M. (2000) The linkage between Upper Circumpolar Deep Water (UCDW) and phytoplankton assemblages on the west Antarctic Peninsula continental shelf. *Journal of Marine Research*, **58**: 165–202.
- Prézelin, B.B., Hofmann, E.E., Moline, M. e Klinck, J.M. (2004) Physical forcing of phytoplankton community structure and primary production in continental shelf waters of the Western Antarctic Peninsula. *Journal of Marine Research*, **62**: 419–460.
- Priddle, J., Brandini, F., Lipski, M. e Thorley, M.R. (1994) Pattern and variability of phytoplankton biomass in the Antarctic Peninsula region: an assessment of the BIOMASS cruises. In: El-Sayed, S.Z. (ed.). *Southern Ocean Ecology: The BIOMASS Perspective*. Cambridge University Press, UK. pp: 49–61.
- Putt, M. e Stoecker, D.K. (1989) An experimentally determined carbon:volume ratio for marine ‘oligotrichous’ ciliates from estuarine and coastal waters. *Limnology and Oceanography*, **34**: 1097–1103.

- Reynolds, C.S. (2006) *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Ecology, Biodiversity and Conservation. Cambridge University Press, Cambridge. 551p.
- Rivas, A.L., Dogliotti, A.I. e Gagliardini, D.A. (2006) Seasonal variability in satellite-measured surface chlorophyll in the Patagonian Shelf. *Continental Shelf Research*, **26**: 703–720.
- Rodríguez, J., Jiménez-Gómez, F.; Blanco, J.M. e Figueroa, F.L. (2002a) Physical gradients and spatial variability of the size structure and composition of phytoplankton in the Gerlache Strait (Antarctica). *Deep-Sea Research II*, **49**: 693–706.
- Rodríguez, F., Varela, M. e Zapata, M. (2002b) Phytoplankton assemblages in the Gerlache and Bransfield straits (Antarctic Peninsula) determined by light microscopy and CHEMTAX analysis of HPLC pigment data. *Deep-Sea Research II*, **49**: 723–747.
- Romero, O. e Hensen, C. (2002) Oceanographic control of biogenic opal and diatoms in surface sediments of the Southwestern Atlantic. *Marine Geology* **186**: 263–280.
- Romero, O., Hebbeln, D. e Wefer, G. (2001) Temporal and spatial variability in export production in the SE Pacific Ocean: evidence from siliceous plankton fluxes and surface sediment assemblages. *Deep-Sea Research I*, **48**: 2673–2697.
- Romero, S.I., Piola, A., Charo, M. e Garcia, C.A.E. (2006) Chlorophyll a variability off Patagonia based on SeaWiFS data. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, **111**: C05021.

- Ross, R.M., Quetin, L.B. e Haberman, K.L. (1998) Interannual and seasonal variability in short-term grazing impact of *Euphausia superba* in nearshore and offshore waters west of the Antarctic Peninsula. *Journal of Marine Systems*, **17**: 261–273.
- Sabatini, M., Reta, R. e Matano, R. (2004) Circulation and zooplankton biomass distribution over the southern Patagonian shelf during late summer. *Continental Shelf Research*, **24**: 1359–1373.
- Sangrà, P., Gordo, C., Hernández-Arencibia, M., Marrero-Díaz, A., Rodríguez-Santana, A., Stegner, A., Martínez-Marrero, A., Pelegrí, J.L. e Pichon, T. (2011) The Bransfield current system. *Deep-Sea Research*, **58**: 390–402.
- Santoferrara, L. e Alder, V.A. (2009) Abundance trends and ecology of planktonic ciliates of the south-western Atlantic (35–36°S): a comparison between neritic and oceanic environments. *Journal of Plankton Research*, **31**: 837–851.
- Saraceno, M., Provost, C., Piola, A.R., Bava, J. e Gagliardini, A. (2004) Brazil Malvinas Frontal System as seen from 9 years of advanced very high resolution radiometer data. *Journal of Geophysical Research*, **109** (C05027), doi: 10.1029/2003JC002127
- Saraceno, M., Provost, C. e Piola, A.R. (2005) On the relationship between satellite-retrieved surface temperature fronts and chlorophyll *a* in the western South Atlantic. *Journal of Geophysical Research*, **110**, C11016.
- Saraceno, M., Provost, C. e Lebbah, M. (2006) Biophysical regions identification using an artificial neuronal network: A case study in the South Western Atlantic. *Advances in Space Research*, **37**: 793–805.

- Scott, F.J. e Marchant, H.J. (2005) *Antarctic Marine Protists*. Australian Biological Resources Study and Australian Antarctic Division. Canberra, 563p.
- Schlüter, L., Møhlenberg, F., Havskum, H. e Larsen, S. (2000) The use of phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/chlorophyll a ratios. *Marine Ecology Progress Series*, **192**: 49–63.
- Schoemann, V., Becquevort, S., Stefels, J., Rousseau, V. e Lancelot, C. (2005) *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review. *Journal of Sea Research*, **53**: 43–66.
- Siddall, M. e Valdes, P.J. (2011) Palaeoclimate: Implications of ocean expansion. *Nature*, **1**: 299–300.
- Sieburth, J.Mc.N., Smetacek, V. e Lenz, J. (1978) Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*, **23**: 1256–1263.
- Signorini, S.R., Garcia, V.M.T., Piola, A.R., Garcia, C.A.E., Mata, M.M., e McClain, C.R. (2006) Seasonal and interannual variability of calcite in the vicinity of the Patagonian Shelf Break (38°S – 52°S). *Geophysical Research Letters*, **33**: L16610.
- Signorini, S.R., Garcia, V.M.T., Piola, A.R., Evangelista, H., McClain, C.R., Garcia, C.A.E. e Mata, M.M. (2009) Further studies on the physical and biogeochemical causes for large interannual changes in the Patagonian Shelf spring-summer phytoplankton bloom biomass. *NASA/TM-214176*, Maryland. 50p.

- Simões, J.C. (2011) O ambiente antártico: domínio de extremos. *In*: Goldemberg, J. (coordenador). *Antártica e as Mudanças Globais: um desafio para a humanidade*. v. 9. Ed. Blucher, São Paulo. pp: 15–27.
- Smayda, T.J. (2010a) Adaptations and selection of harmful and other dinoflagellate species in upwelling systems 1. Morphology and adaptive polymorphism. *Progress in Oceanography*, **85**: 53–70.
- Smayda, T.J. (2010b) Adaptations and selection of harmful and other dinoflagellate species in upwelling systems 2. Motility and migratory behaviour. *Progress in Oceanography*, **85**: 71–91.
- Smetacek, V., Assmy, P. e Henjes, J. (2004) The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science*, **16**: 541–558.
- Smetacek, V. e Nicol, S. (2005) Polar ocean ecosystems in a changing world. *Nature*, **437**: 362–368.
- Smith Jr., W.O. e Lancelot, C. (2004) Bottom-up versus top-down control in phytoplankton of the Southern Ocean. *Antarctic Science*, **16**: 531–539.
- Sone, T., Fukui, K., Strelin, J. A., Torielli, C. A. e Mori, J. (2007) Glacier lake outburst flood on James Ross Island, Antarctic Peninsula region. *Polish Polar Research*, **28**: 3–12.
- Sournia, A. (ed.) (1978) *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris. 337p.
- Souza, M. S.de, Mendes, C. R. B., Garcia, V. M. T., Pollery, R. e Brotas, V. (2012) Phytoplankton community during a coccolithophorid Bloom in the Patagonian shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography

- pigment analyses. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, **92**: 13–27. doi:10.1017/S0025315411000439.
- Spadone, A. e Provost, C. (2009) Variations in the Malvinas Current volume transport since October 1992. *Journal of Geophysical Research*, **114**, C02002.
- Steidinger, K.A. e Tangen, K. (1997) Dinoflagellates. In: Tomas, C.R. (ed.) *Identifying Marine Phytoplankton*. Academic Press, Inc. San Diego, California. pp: 387–584.
- Stuart, V., Sathyendranath, S., Platt, T., Maass, H., Irwin, B.D. (1998) Pigments and species composition of natural phytoplankton populations: effect on the absorption spectra. *Journal of Plankton Research*, **20**: 187–217.
- Sundstrom, B. G. (1986) The marine diatom genus *Rhizosolenia*. Doctoral Dissertation. Lund University, Lund, Sweden. 117p., 39 plates.
- Ter Braak, C.J.F. e Prentice, I.C. (1988) A theory of gradient analysis. *Advances in Ecological Research*, **18**: 271–317.
- Utermöhl, H. (1958) Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, **9**: 1–38.
- Veldhuis, M.J.W. e Kraay, G.W. (2004) Phytoplankton in the subtropical Atlantic Ocean: towards a better assessment of biomass and composition. *Deep-Sea Research I*, **51**: 507–530.
- Vernet, M. (1992) Racer: predominance of cryptomonads and diatoms in Gerlache Strait. *Antarctic Journal of the United States*, **27**: 157–158.

- Welschmeyer, N.A. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *c* and phaeopigments. *Limnology and Oceanography*, **39**: 1985–1992.
- Whitfield, M. (2001) Interactions between phytoplankton and trace metal in the ocean. *Advances in Marine Biology*, **41**: 1–128.
- Wilson, H.R. e Rees, N.W. (2000) Classification of mesoscale features in the Brazil-Falkland Current confluence zone. *Progress in Oceanography*, **45**: 415–426.
- Wright, S.W., Ishikawa, A., Marchant, H.J., Davidson, A.T., van den Enden, R.L. e Nash, G.V. (2009) Composition and significance of picophytoplankton in Antarctic waters. *Polar Biology*, **32**: 797–808.
- Wright, S.W. e Jeffrey, S.W. (2006) Pigment markers for phytoplankton production. In: Volkmann, J.K. (Ed.) *Marine Organic Matter: Biomarkers, Isotopes and DNA*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 71–104.
- Wright, W., Thomas, D.P., Marchant, J., Higgins, H.W., Mackey, M.D. e Mackey, D.J. (1996) Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigment HPLC data using the 'CHEMTAX' matrix factorisation program. *Marine Ecology Progress Series*, **144**: 285–298.
- Zapata, M., Rodriguez, F. e Garrido, J.L. (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series*, **195**: 29–45.
- Zapata, M., Jeffrey, S.W., Wright, S.W., Rodríguez, F., Garrido, J.L. e Clementson, L. (2004) Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of

Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy. *Marine Ecology Progress Series*, 270: 83–102.

Zar, J.H. (1999) *Biostatistical analysis*. 4th edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 663 pp.

ANEXOS

ANEXO I

Souza, M.S.de, Mendes, C.R.B., Garcia, V.M.T., Pollery, R. e Brotas, V. (2012) Phytoplankton community during a coccolithophorid bloom in the Patagonian shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment analyses. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, **92**: 13–27. doi:10.1017/S0025315411000439.

Este trabalho foi inteiramente escrito pelo primeiro autor/doutorando, com contribuições de R. Mendes na parte de análises de pigmentos por CLAE e outras sugestões e contribuições dos demais autores.

Phytoplankton community during a coccolithophorid bloom in the Patagonian Shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment analyses

MÁRCIO SILVA DE SOUZA¹, CARLOS RAFAEL BORGES MENDES^{1,2}, VIRGÍNIA MARIA TAVANO GARCIA¹, RICARDO POLLERY³ AND VANDA BROTA²

¹Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos, Instituto de Oceanografia (FURG), PO Box 474, Campus Carreiros, 96201-900, Rio Grande, Brazil, ²Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Centro de Oceanografia, Campo Grande, 1749-016, Lisbon, Portugal, ³Laboratório de Biogeoquímica, Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia (UFRJ), Cidade Universitária, 21941-590, Rio de Janeiro, Brazil

*We describe the phytoplankton community and biomass during a summer coccolithophorid bloom sampled over the Patagonian shelf (48.5°S–50.5°S). Those phytoplankton species can contribute to the flux of calcium carbonate out of surface waters. Results from both microscope and high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis are shown to complement information on the phytoplankton community. From CHEMTAX analysis of HPLC data, the most important organisms and groups identified were the coccolithophorid *Emiliania huxleyi*, the haptophyte *Phaeocystis antarctica*, dinoflagellates, diatoms, cryptophytes, prasinophytes and cyanobacteria. Phytoplankton microscope counts were converted into phytoplankton group-specific biovolume estimates. Although some microscope-identified taxa could not be determined by CHEMTAX, e.g. the autotrophic ciliate *Myrionecta rubra*, cluster analyses from both techniques showed similar results for the main groups. Both *Emiliania huxleyi* cell concentration and biomass, and the pigment 19'-hexanoyloxyfucoxanthin were the most important biological features during the sampling period. At surface, nitrate was moderately high (0.2–4.2 µM) in coccolithophorid-dominated samples, whereas phosphate (<0.33 µM) and silicate (<1.35 µM) concentrations were low. Among the environmental factors low Si:N ratios were mainly associated with the dominance of *E. huxleyi*. Competition and probably differential grazing could also promote a coccolithophorid outgrowth over other photoautotrophs during the summer season in the Patagonian shelf.*

Keywords: coccolithophorids, Patagonian shelf, phytoplankton community, CHEMTAX, pigments, taxonomy

Submitted 17 September 2010; accepted 16 February 2011; first published online 4 May 2011

INTRODUCTION

Coccolithophorids (Haptophyta) are a major component of phytoplankton communities in the open ocean and play a pivotal role in biogeochemical cycles, predominantly through global ocean calcification (Westbroek *et al.*, 1993) and influence on the Earth's climate by production of dimethylsulphonium propionate (DMSP) (Malin & Steinke, 2004). From this group, *Emiliania huxleyi* (Lohmann) Hay and Mohler has been the most ubiquitous and abundant species. This organism shows overcalcification, playing an important role, along with other coccolithophorids, in controlling the alkalinity and carbonate chemistry in the photic zone of the world ocean and also promoting CO₂ sequestration to the deeper regions and to the seafloor (Westbroek *et al.*, 1993; Iglesias-Rodríguez *et al.*, 2002; De Vargas *et al.*, 2007).

Emiliania huxleyi blooms can be easily detected by satellite imagery and have been usually reported in the North Atlantic, at lesser extent in the North Pacific Ocean and recorded in the Patagonia shelf as a frequent feature, in SeaWiFS images during November and December (Tyrrell & Merico, 2004).

Over the last years, some studies have suggested that the surface waters of the Patagonian continental shelf and slope (Argentinean Sea) act as sink of CO₂ (Bianchi *et al.*, 2009). Recent works have reported water masses and air–sea CO₂ flux patterns in that region (Bianchi *et al.*, 2005, 2009 and references therein), remote sensing-retrieved chlorophyll-*a* and calcite variability (Romero *et al.*, 2006; Signorini *et al.*, 2006) and primary production rates (Lutz *et al.*, 2010). However, there are few studies focusing on phytoplankton communities and their relation with environmental parameters (Garcia *et al.*, 2008; Signorini *et al.*, 2009).

As a ubiquitous bloom-forming coccolithophorid in the world ocean (Brown, 1995; Paasche, 2001), *Emiliania huxleyi* appears in the Patagonian continental shelf and slope in late spring, according to remote sensing information, as previously mentioned for the south-western Atlantic Ocean (Mostajo, 1985, 1986). On the other hand, the occurrence of

Corresponding author:

M.S. de Souza

Email: souza_msilva@yahoo.com.br

coccolithophorid blooms *in situ* in the region has only been reported for *Emiliania huxleyi* in the northern Argentine Sea (Gayoso, 1995), recently in the Patagonian shelf and slope (Painter *et al.*, 2010) and for *Gephyrocapsa oceanica* (Negri *et al.*, 2003). *Emiliania huxleyi* often dominates over other autotrophs under suitable environmental conditions, such as shallow mixed layer depth (MLD), high irradiance levels and low nutrient concentrations (Andruleit *et al.*, 2003; De Vargas *et al.*, 2007), which are typically found during summertime, especially at temperate regions.

Several tools can be applied to study phytoplankton communities in the environment. The classical microscope counts and biometrics can be combined with other recent techniques to provide a more comprehensive picture of taxonomic groups and their relative contribution to total plankton biomass. Some studies conducted in the south-western Atlantic, near Río de La Plata mouth, have used both microscopic techniques and pigment analyses by high-performance liquid chromatography (HPLC) (Carreto *et al.*, 2003, 2008) and found a good agreement between microscope and HPLC-derived phytoplankton community assemblages. The first work showed a complex community structure that comprised occasional blooms of diatoms, cryptophytes and haptophytes overlapping small sized cells in the background (Carreto *et al.*, 2003). In general, microscope analyses allow species identification and biometrics of each specimen, which can be converted into species-specific biovolume or biomass (Sournia, 1978). On the other hand, the HPLC approach and use of CHEMTAX software (Mackey *et al.*, 1996) provide best results on those organisms not easily identified by light microscope and, consequently, both techniques can be complementary in the study of phytoplankton community ecology.

The present work describes the phytoplankton community associated with a bloom of *Emiliania huxleyi* during a summer period, in a region under the influence of sub-Antarctic waters at the southern Patagonian continental shelf. Results from both microscope counts and HPLC analyses on the phytoplankton community are shown and related to environmental factors.

MATERIALS AND METHODS

Study area and sampling procedure

The sampling region was selected after examination of MODIS images of the Patagonian shelf to reveal patches of coccolithophorids. A total of eighteen stations were sampled over a high reflectance patch in the region 48.5° to 50.5° S (Figure 1), from 4–7 January 2008. Details of dates, station positions and some measured parameters can be seen in Table 1. Vertical profiles of temperature and salinity were obtained with a SeaBird® 911+ conductivity–temperature–depth (CTD) system and data were calibrated and reduced to 1-m bins. More details about physical and optical features during the cruise can be seen in Garcia *et al.* (in press). Surface water samples were collected with a Van Dorn bottle, and discrete sampling of the water column was carried out using Niskin bottles attached to the CTD rosette. Samples for both microscope and pigment analyses were taken at surface and at the depth of apparent fluorescence peak. However, a later examination of physical and biological

data showed that the apparent fluorescence peak was an artefact of fluorescence quenching by light towards the surface (Falkowski & Raven, 2007). Furthermore, the apparent peaks were located within the upper mixed layer (except for Station 508, where the peak was below the mixed layer) and, therefore, can be considered as homogeneous with surface samples.

Nutrient determination

Water samples for dissolved inorganic nutrients (nitrate, nitrite, ammonium, phosphate and silicate) were filtered on cellulose acetate membrane filters. Nutrients were analysed on-board ship, following the processing recommendations in Aminot & Chaussepied (1983). Ammonium was measured by the method of Koroleff (1969) following modifications in Aminot & Chaussepied (1983) and absorbance readings at 630 nm. Orthophosphate was measured by reaction with ammonium molybdate and absorption reading at 885 nm. Silicate measurements in the form of reactive Si were corrected for sea salt interference following Aminot & Chaussepied (1983). Absorbance values for all nutrients were measured in a FEMTO® spectrophotometer.

HPLC pigment analysis

Seawater samples of 0.5–1 l were filtered onto Whatman GF/F filters (nominal pore size 0.7 µm and 25 mm diameter), under vacuum pressure lower than 500 mbar. The filters were immediately stored in liquid nitrogen. Photosynthetic pigments were extracted with 2 ml of 95% cold-buffered methanol (2% ammonium acetate) for 30 minutes at –20°C, in the dark. Samples were sonicated (Bransonic, model 1210) for 1 minute at the beginning of the extraction period. The samples were centrifuged at 1100 g for 15 minutes, at 4°C. Extracts were filtered (Fluoropore PTFE filter membranes, 0.2-µm pore size) and immediately injected in the HPLC.

Pigment extracts were analysed using a Shimadzu HPLC that comprised a solvent delivery module (LC-10ADVP) with system controller (SCL-10AVP), a photodiode array (SPD-M10ADVP) and a fluorescence detector (RF-10AXL). The chromatographic separation of pigments was achieved using a monomeric OS C8 column (Symmetry C8, 15-cm long, 4.6 mm in diameter and 3.5-µm particle size). Mobile phases were: (A) methanol:acetonitrile:aqueous pyridine solution (0.25 M, pH adjusted to 5.0 with acetic acid) (50:25:25, v/v/v); and (B) methanol:acetonitrile:acetone (20:60:20, v/v/v). The solvent gradient followed Zapata *et al.* (2000) with a flow rate of 1 ml min^{–1}, an injection volume of 100 µl and run duration of 40 minutes.

Pigments were identified from absorbance spectra and retention times and concentrations were calculated from the signals in the photodiode array detector or fluorescence detector (Ex. 430 nm; Em. 670 nm). The HPLC system was calibrated with pigment standards from Sigma (chlorophyll-*a*, chlorophyll-*b* and β-carotene) and DHI (for other pigments).

Pigment data processing (CHEMTAX)

The relative abundance of microalgal classes contributing to total chlorophyll-*a* (Chl *a*) biomass was calculated by pigment concentration data using version 1.95 of CHEMTAX software (Mackey *et al.*, 1996). CHEMTAX uses

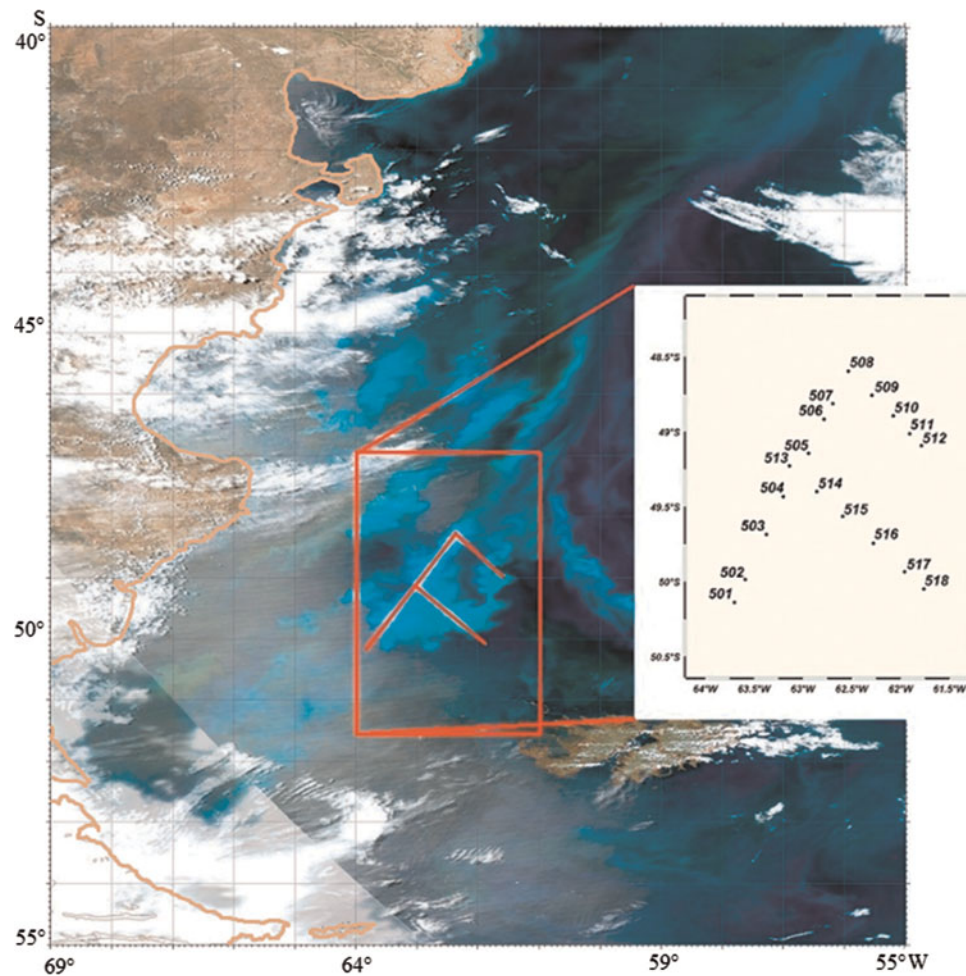


Fig. 1. MODIS-Aqua 'quasi true-color' image of the study region on 31 December 2007, showing the turquoise water typical of coccolithophorid patch, and location of the 18 occupied stations during the PATEX V cruise (4–7 January 2008) at the southern Patagonian shelf.

a factor analysis and steepest-descent algorithm to find the best fit of the data on to an initial pigment ratio matrix. The basis of calculations and procedures used are fully described in Mackey *et al.* (1996).

The pigments and microscopic analyses revealed that 2 types of haptophytes were present: Type 6 with 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (*Emiliania huxleyi*) and Type 8 with both 19'-hexanoyloxyfucoxanthin and

Table 1. Details of sampling stations and some environmental parameters during the PATEX V cruise (4 – 7 January 2008).

Station	Date (mm/dd/yy)	Local time (hh/mm)	Latitude (S)	Longitude (W)	Local depth (m)	SST (°C)	Secchi depth (m)
P501	01/04/08	17:40	50.14	63.70	136	11.02	7.5
P502	01/04/08	20:42	49.98	63.59	140	11.16	6
P503	01/05/08	06:13	49.68	63.37	143	10.94	5
P504	01/05/08	09:56	49.43	63.20	148	10.99	5
P505	01/05/08	12:45	49.14	62.94	140	11.17	6
P506	01/05/08	15:50	48.92	62.78	140	11.15	4
P507	01/06/08	06:12	48.81	62.69	137	11.15	5.5
P508	01/06/08	10:05	48.60	62.53	140	11.37	7
P509	01/06/08	13:00	48.76	62.29	143	11.30	6
P510	01/06/08	15:38	48.89	62.07	143	11.29	6
P511	01/06/08	18:02	49.01	61.91	144	11.06	4.5
P512	01/06/08	19:54	49.09	61.79	145	10.79	4
P513	01/07/08	07:07	49.22	63.14	138	11.04	6.5
P514	01/07/08	10:19	49.40	62.86	142	11.11	3
P515	01/07/08	12:18	49.57	62.59	147	11.13	4
P516	01/07/08	14:33	49.74	62.27	154	10.87	7
P517	01/07/08	16:56	49.93	61.96	155	10.66	6
P518	01/07/08	19:03	50.05	61.76	160	10.47	5

19'-butanoyloxyfucoxanthin (*Phaeocystis antarctica*) (Zapata *et al.*, 2004). These will be referred to as their respective species names with quotes, in the groups' output results of the CHEMTAX program. Based on these considerations and the diagnostic pigments detected, 7 algal groups were loaded into CHEMTAX: diatoms, dinoflagellates, '*Emiliania huxleyi*', '*Phaeocystis antarctica*', cryptophytes, prasinophytes and cyanobacteria (see Table 2). The pigments loaded were alloxanthin (Allo), fucoxanthin (Fuco), peridinin (Perid), prasinoxanthin (Prasino), zeaxanthin (Zea), 19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco), 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco), chlorophyll-*c*₃ (Chl *c*₃), chlorophyll-*b* (Chl *b*) and Chl *a*.

Initial pigment:Chl *a* input ratios were derived from the literature (Carreto *et al.*, 2003—a study near the geographical study region; and Zapata *et al.*, 2004 for *E. huxleyi* and *P. antarctica* ratios) (Table 2). For optimization of that input matrix, a series of 60 pigment ratio tables were generated by multiplying each ratio of the initial table by a random function as described in Wright *et al.* (2009). The best six output results (with the smallest residual) were then selected to apply a further fourteen successive CHEMTAX runs in order to check final ratios convergence, according to Latasa (2007). Using the output pigment:Chl *a* ratios matrix of each run as input for the following run, ratios should stabilize towards their most probable values (Latasa, 2007). The Hex-fuco:Chl *a* ratios evolution for '*P. antarctica*' and '*E. huxleyi*', important similar-sized nanoflagellates that share the Hex-fuco pigment, showed a convergence at 0.668 ± 0.008 (mean $\pm$ SD) and 1.152 ± 0.002 (mean $\pm$ SD), respectively (Figure 2). The final results (ratios and abundances) were then calculated as the average of the final six outputs obtained after the processing described above. The optimized pigment ratio matrix derived by CHEMTAX is presented in Table 2. This matrix was generated by pooling samples data from both the surface and the apparent fluorescence peak, since the latter was contained within the upper mixed layer, as stated previously.

Phytoplankton counting and identification

For phytoplankton identification and counting, water samples were preserved in amber glass flasks (~250 ml) with 2%

alkaline Lugol's iodine solution. Settling chambers from 10 to 50 ml volume were used under the inverted microscope (Utermöhl, 1958; Sournia, 1978). Species composition was determined with an Axiovert 135 ZEISS microscope, at 200 $\times$, 400 $\times$ and 1000 $\times$ magnification, according to specific literature.

Each of all species abundance (expressed in 10^6 cells l^{-1}) was converted to biovolume ($mm^3 l^{-1}$ in the figures) using two or three linear dimensions from captured images by a camera (Spot Insight QE) attached to the microscope or during observation. At least 30 specimens were randomly chosen for metrics of each species or major taxa and, then, biovolume was estimated using the most similar geometric shape (Hillebrand *et al.*, 1999). Due to its symbiotic relationship with cryptophytes which contain alloxanthin, *Myrionecta rubra* (known autotrophic ciliate) was considered as *Myrionecta rubra* + cryptophytes in the figures. Except for dinoflagellates, flagellates were combined and are referred to as 'Other Flagellates', due to difficulties in discriminating them by microscopy. A scanning electron microscope (SEM) was used to confirm the identification of coccolithophorids.

Statistical analysis

In order to determine a relationship between the HPLC-derived data and biovolume estimates using cell counts, Pearson-*r* parametric correlation coefficients were calculated between both methods used in this study.

Cluster analysis using group average linkage and the Bray–Curtis similarity index (Clarke & Warwick, 1994) was used to describe spatial similarities between sites at the level of algal division, genus or species. The absolute contribution of the more frequent (>10% in all samples) algal category to the total biovolume at each site was transformed using the square root equation (Zar, 1999) and used as the input data.

Finally, for every pair of biotic and environmental parameters, non-parametric statistical analysis was applied using Spearman's rank correlations, due to small number of sampling stations ($N = 18$ for biological features or $N = 17$ for physical and chemical parameters). In order to verify the

Table 2. Marker pigment to Chl *a* ratios. Input ratios were obtained from the literature (Carreto *et al.*, 2003; Zapata *et al.*, 2004) and output ratios (after 14 runs) were estimated with the CHEMTAX program as mean values of six best final matrices.

	Allo	Fuco	Perid	Prasino	Zea	But-fuco	Hex-fuco	Chl <i>c</i> ₃	Chl <i>b</i>	Chl <i>a</i>
(a) Input matrix										
Diatoms	0	0.863	0	0	0	0	0	0	0	1
Dinoflagellates	0	0	0.800	0	0	0	0	0	0	1
<i>Emiliania huxleyi</i>	0	0.212	0	0	0	0	0.739	0.181	0	1
<i>Phaeocystis antarctica</i>	0	0.174	0	0	0	0.105	0.396	0.154	0	1
Cryptophytes	0.700	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Prasinophytes	0	0	0	0.372	0	0	0	0	1.156	1
Cyanobacteria	0	0	0	0	1.115	0	0	0	0	1
(b) Output matrix										
Diatoms	0	3.368	0	0	0	0	0	0	0	1
Dinoflagellates	0	0	1.943	0	0	0	0	0	0	1
<i>Emiliania huxleyi</i>	0	0.021	0	0	0	0	1.152	0.304	0	1
<i>Phaeocystis antarctica</i>	0	0.241	0	0	0	0.587	0.669	0.415	0	1
Cryptophytes	0.607	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Prasinophytes	0	0	0	0.199	0	0	0	0	0.796	1
Cyanobacteria	0	0	0	0	1.417	0	0	0	0	1

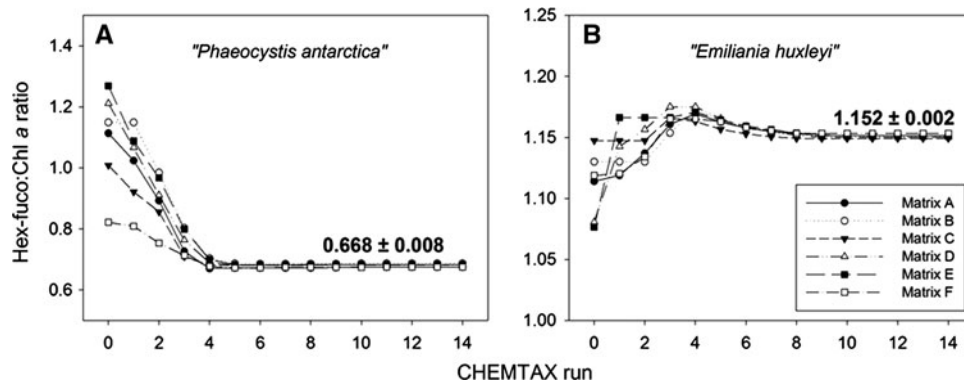


Fig. 2. Evolution of Hex-fuco:Chl *a* ratios of the six input matrices (A–F), after successive runs of CHEMTAX for (A) '*Phaeocystis antarctica*' and (B) '*Emiliana huxleyi*', with mean and standard deviation shown for the final run. See text for initial matrices (A–F) calculation method.

relationships between the biota and environmental features, only the significant correlations at $P < 0.05$ were taken into account.

RESULTS

Environmental setting

The study region was characterized by a slightly north–south surface gradient regarding temperature, salinity and nutrients concentration, namely nitrate and phosphate (Figures 3A–D, respectively). Nitrate concentration was variable and ranged from 0.2 μM at the south-eastern Station 518 to a moderately high concentration of 4.17 μM at Station 509, located in the northernmost part of the study area (Figure 3C). Phosphate showed an opposite distribution pattern with higher values at the southernmost part, reaching 0.33 μM at Station 501 but with values below the detection limit at Stations 507, 508 and 512 (Figure 3D). Silicate levels were lower than 2 μM throughout the study area, with highest concentration at Station 518 (1.35 μM ; Figure 3E). Consequently, the nutrient ratios were variable in the sampling stations and these ratios departed from the Redfield–Brzezinski ratio of 15Si:16N:1P (Brzezinski, 1985). The N:P ratio oscillated between 5:1 (Stations 517 and 518) and 48:1 (at the northernmost area), while the Si:N ratio was generally lower than 1, except at Station 518 where it reached 2:1.

Based on water column measurements of light in the photosynthetic active radiation (PAR) region, the euphotic layer depth was estimated between 20 m (Station 512) and 43 m (Stations 517 and 518), being mostly shallower than the averaged mixed layer depth of ~ 37 m at all stations (Garcia *et al.*, in press). The difference between MLD and euphotic depth was between 2 and 19 m, except at Stations 516, 517 and 518, where the euphotic layer was deeper than the MLD, coinciding with lower coccolithophorid abundance at those stations (see Figure 9).

Pigment concentrations and CHEMTAX analysis

Chlorophyll-*a* concentrations (biomass index) at each station during the sampling period, both at surface and at the apparent fluorescence peak, are shown in Figure 4. Surface values varied between 0.3 and 1.5 $\mu\text{g l}^{-1}$. Highest Chl *a* was detected

at Station 512 (north-eastern part of study area) and lowest at Stations 504, 513 and 517. In general, Chl *a* values were very similar between surface and apparent peaks, confirming the homogeneity of the mixing layer. The exception was Station 508, where Chl *a* concentration at the fluorescence peak, which was below the mixed layer, was three-fold that at surface (Figure 4).

High-performance liquid chromatography analyses resulted in identification of a variety of pigments. Two typical chromatograms were selected to show a contrast between stations and to display the diversity of pigments recorded in the study area (Figure 5). Besides Chl *a*, Hex-fuco was the main accessory photosynthetic pigment, with concentrations ranging from 0.1 to 0.7 $\mu\text{g l}^{-1}$. This is a major pigment for coccolithophorids and highest concentrations were observed at Stations 503 (Figure 5A), 515 and 505 (0.60, 0.65 and 0.69 $\mu\text{g l}^{-1}$, respectively). Other carotenoids were sparsely detected in high concentrations, such as Perid, assigned to dinoflagellates, at Stations 501, 507 and 508 ($> 0.3 \mu\text{g l}^{-1}$) and Fuco at Station 512 (0.96 $\mu\text{g l}^{-1}$; Figure 5B). The pigments Allo, Zea, But-fuco, Prasino, Chl *b*, diatoxanthin and diadinoxanthin were also quantified, but were found in concentrations lower than 0.1 $\mu\text{g l}^{-1}$.

The CHEMTAX-derived distribution of phytoplankton groups (Figure 6) showed a general dominance of '*Emiliana huxleyi*' (0–83% of total Chl *a*), dinoflagellates (0–37%) and '*Phaeocystis antarctica*' (6–36%), with a minor contribution of diatoms, cryptophytes, prasinophytes and cyanobacteria. '*Emiliana huxleyi*' was the major contributor in almost all sampling stations, with values higher than 80% determined at Stations 503 and 515 (Figure 6B). Dinoflagellates were important at Stations 501, 507 and 508, where they contributed with 30% to 40% to Chl *a* concentration (Figure 6C). '*Phaeocystis antarctica*' represented between 10% and 40% at almost all stations, except at those with maximum '*E. huxleyi*' contribution (503 and 515) (Figure 6D). The highest values of Chl *a* attributed to diatoms were obtained at Stations 512 (21%), 517 and 518 ($\sim 10\%$) (Figure 6E). Cryptophytes (here considering also *Myrionecta rubra*) were the main contributors at Stations 516, 517 and 518 with 24%, 30% and 40% of Chl *a* biomass, respectively (Figure 6F). Prasinophytes (34%; Figure 6G) and cyanobacteria (11%; Figure 6H) were more pronounced at the lowest phytoplankton biomass surface sample (Station 513).

Phytoplankton assemblages, based on CHEMTAX results, were similar at surface and apparent fluorescence peak for

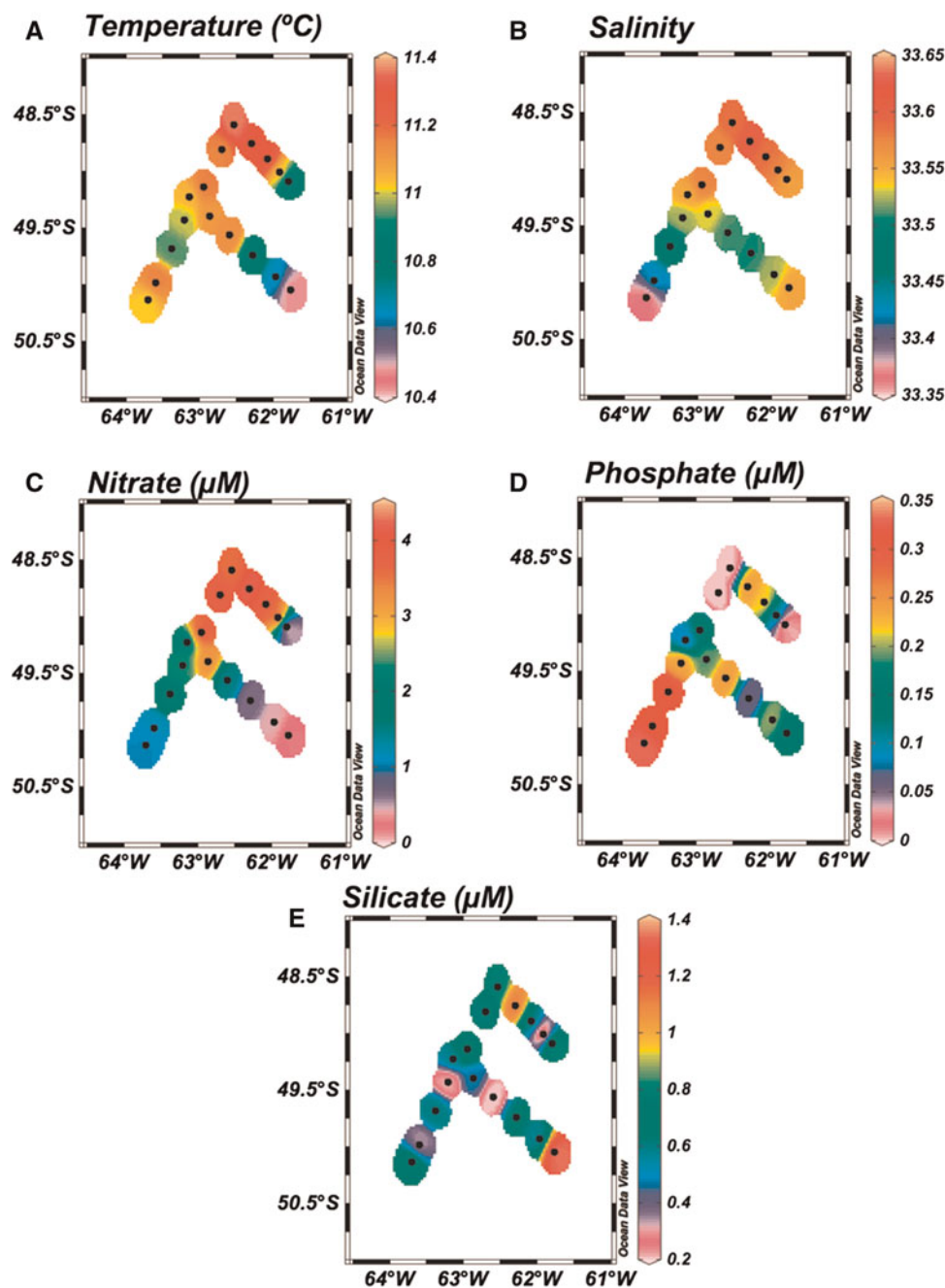


Fig. 3. Surface distribution of environmental variables: (A) temperature (°C); (B) salinity; (C) nitrate (μM); (D) phosphate (μM); (E) silicate (μM). Note the missing data at Station 506.

all samples, even for Station 508, where a peak was actually detected (Figure 7). Thus, results in this study were mainly focused on describing the phytoplankton community of the surface samples, as representative of the MLD assemblage.

Phytoplankton community composition based on microscopy

Considering both autotrophic and mixotrophic/heterotrophic organisms, at least 45 species or higher taxa were identified comprising the phytoplankton assemblages, and 13 ciliates, including the autotroph *Myrionecta rubra* (= *Mesodinium rubrum*) (Table 3).

Dinoflagellates were the most diverse taxonomic group, comprising 14 autotrophic taxa among species and/or genera, the largest in size being *Ceratium lineatum/pentagonum*, *Prorocentrum* spp., gymnodinioids and peridinioids. All of those were more important at the northernmost stations.

The coccolithophorid *E. huxleyi*, probably type B/C (Figure 8), outnumbered other organisms at all stations, with a range of 50,000 cells l⁻¹ at Station 517 to 11 × 10⁶ cells l⁻¹ at Station 515 (see Figure 4). Another haptophyte, *Phaeocystis antarctica*, was found at all stations; while diatoms were more abundant at Station 512, almost exclusively represented by the opportunistic nano-sized pennate *Cylindrotheca closterium*. The least represented organisms

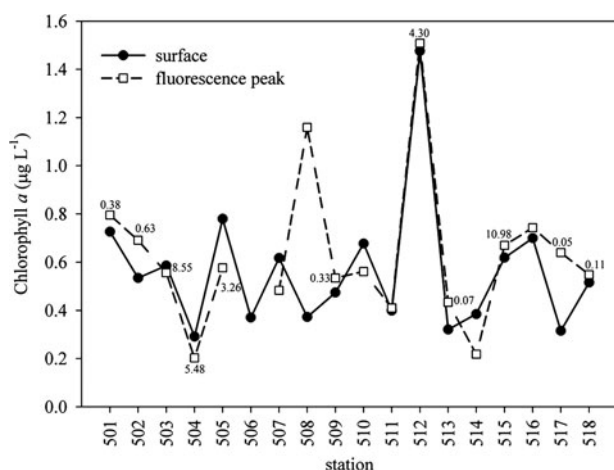


Fig. 4. Chlorophyll-*a* concentrations for each sampling station both at the surface (continuous line) and at the apparent fluorescence peak (dashed line). Numbers next to points indicate surface cell abundance of *Emiliania huxleyi* ($\times 10^6$ cells L^{-1}), ranging from 0.05 at Station 517 to 10.98 at Station 515.

were cryptophytes, the euglenophyte *Eutreptiella* sp. and the heterotrophic flagellate *Rhizomonas setigera*. The majority of identified ciliates were heterotrophic aloricate oligotrichs, but at Stations 516, 517 and 518 at the south-eastern section of the study area *Myrionecta rubra* (having symbiosis with cryptophytes) had an important relative contribution to total biovolume.

Biomass derived by both CHEMTAX and algal biovolume

The surface phytoplankton assemblage derived from CHEMTAX analysis was in agreement with the species-specific biovolume data obtained by microscope counts (Figure 9). Similar results were found by both techniques for some groups, such as the ubiquity and relative abundance of dinoflagellates, while some discrepancies were found for others, such as the general although small presence of diatoms and the determination of cyanobacteria and prasinophytes by the CHEMTAX analysis, which were not identified by microscopy (Figure 9A). Flagellates including identified and non-identified organisms, were not very significant in numbers and in biomass, but were found throughout the sampling stations by microscopy and grouped under the category 'Other Flagellates' (Figure 9B).

Figure 10 shows relationships between microscope (as biovolume) and CHEMTAX (as chlorophyll biomass) analysis of the different groups or organisms. A positive and significant relationship was found between total Chl *a* biomass derived from the CHEMTAX analysis and total biovolume ($r^2 = 0.40$; Figure 10A). Biovolume of dinoflagellates, *E. huxleyi*, *P. antarctica*, diatoms and *Myrionecta rubra* + cryptophytes showed significant relationships to their relative contribution to the Chl *a* (Figure 10B–F, respectively). Note the two outliers at the *E. huxleyi* and *P. antarctica* data (Figure 10C, D), which corresponded to samples with highest fucoxanthin concentration, at Station 512. At this

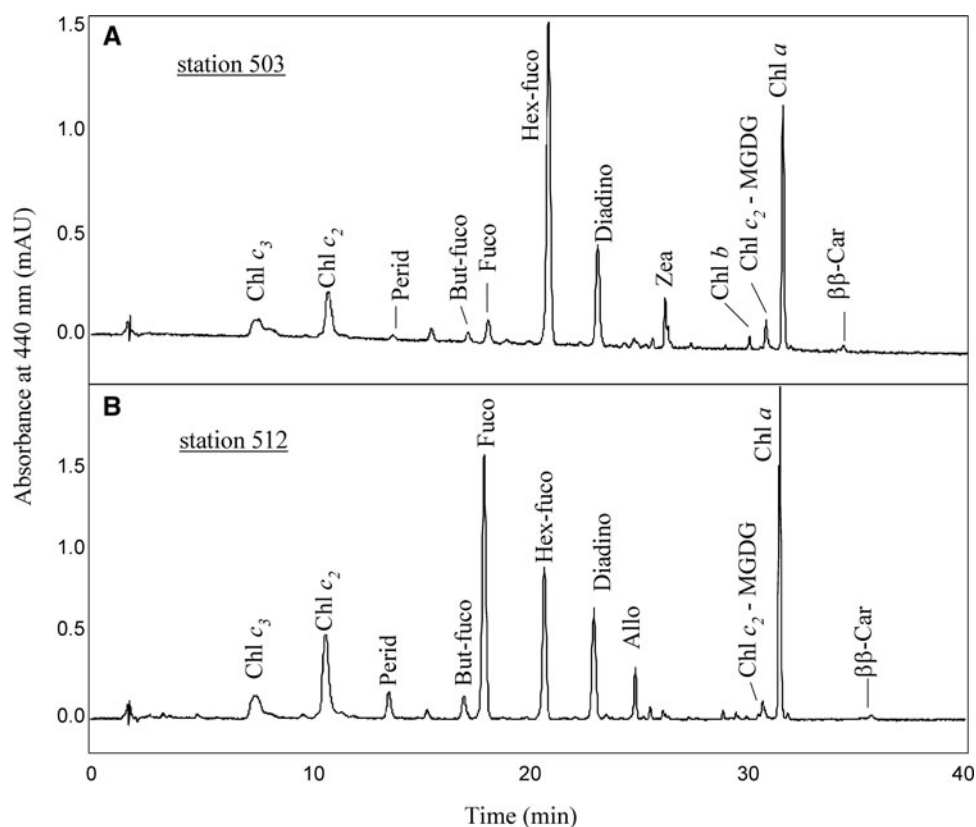


Fig. 5. Selected high-performance liquid chromatography chromatograms showing pigment patterns associated with the main phytoplankton assemblages during PATEX V cruise: (A) sample with dominance of 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco; Station 503); (B) sample with a higher concentration of fucoxanthin (Fuco; Station 512).

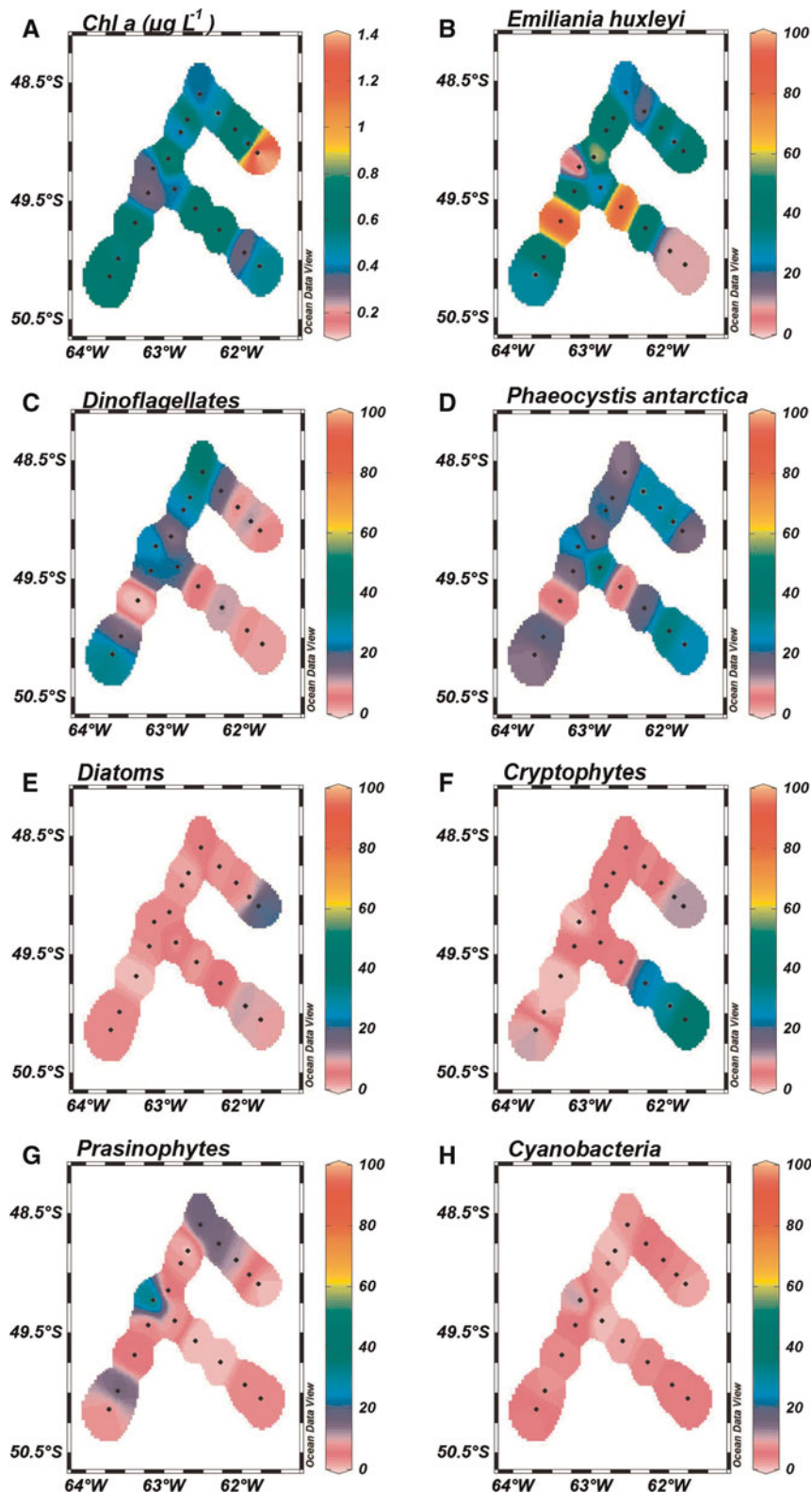


Fig. 6. Surface distributions of (A) chlorophyll-*a* and, fraction of different phytoplankton groups contributing to total chlorophyll-*a* concentration, estimated by interpretation of high-performance liquid chromatography-derived pigment data using CHEMTAX program: (B) *Emiliana huxleyi*; (C) dinoflagellates; (D) *Phaeocystis antarctica*; (E) diatoms; (F) cryptophytes; (G) prasinophytes; (H) cyanobacteria.

site, diatoms were relatively abundant, resulting in a poor correlation between CHEMTAX and microscope data and a clear overestimation by the former.

Other statistical analysis

Figure 11 shows results of the cluster analysis, based on the total biovolume of the main phytoplankton groups

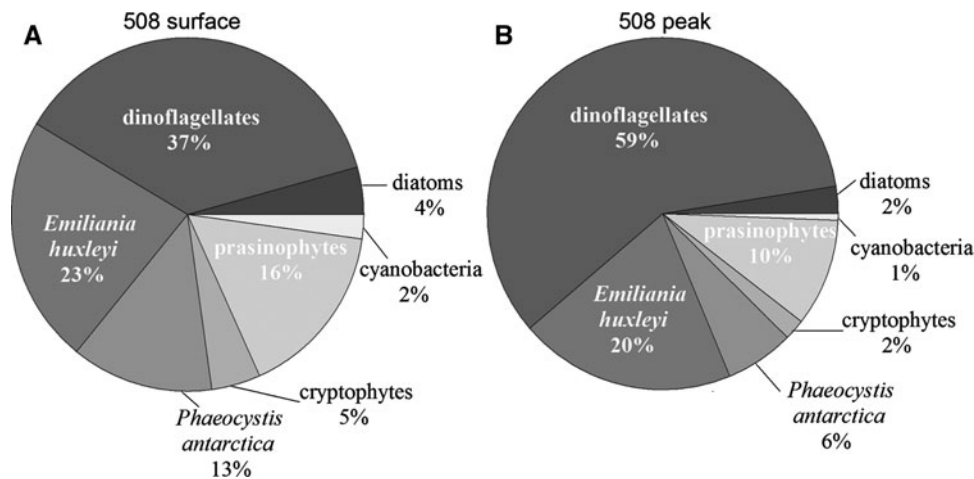


Fig. 7. Percentage contribution of phytoplankton groups (CHEMTAX-allocated) to the total Chl *a* at Station 508: (A) surface; (B) fluorescence peak. Note that Station 508 showed three-fold Chl *a* at the peak, as compared to the surface (see Figure 3).

from surface samples. The analysis separated sampling sites into 3 groups (60% similarity). A first and main cluster assembled samples with coccolithophorid dominance (60–80%) (empty squares), comprising Stations 503, 504, 505 and 515. A second cluster (black squares) was characterized by *Myrionecta rubra* + cryptophytes (Stations 516, 517 and 518), associated with the lowest total biovolume of *E. huxleyi*. The third cluster (half-filled squares) presented conditions of intermediate biovolume values of *E. huxleyi*, relevant concentrations of gymnodinioids, peridinioids and large cells of *Ceratium lineatum/pentagonum* and *P. antarctica* (Stations 506–511). Finally, four sampling points were not grouped with the identified clusters (black-filled circles), corresponding to Station 512, with maximum contribution of the diatom *C. closterium*, Station 513, with the highest dinoflagellate biovolume, Station 501, with extremely low biovolume values and Station 502, also with low biovolumes but still a considerable relative contribution of *E. huxleyi* (see also Figure 9B).

DISCUSSION

Results of phytoplankton community composition by both HPLC pigment and microscope analysis in this work have confirmed the occurrence of coccolithophorid blooms in summer at the study region, as predicted in satellite studies (e.g. Signorini *et al.*, 2006), with the species *Emiliana huxleyi* dominating the phytoplankton assemblage in almost all sampling stations. However, the importance of other phytoplankton taxa, mainly dinoflagellates, *Phaeocystis antarctica* and even the diatom *Cylindrotheca closterium* was observed at some sampling sites. This demonstrates the complexity and patchy spatial distribution of coccolithophorid blooms (Signorini *et al.*, 2006 and references therein).

Comparisons between microscope-derived biovolume and percentage contribution to HPLC-derived Chl *a* biomass showed positive correlations for all studied groups. The correlations for *E. huxleyi* and *P. antarctica* were not as high as for dinoflagellates and diatoms. This can probably be related to a misidentification of the flagellate stages of *P. antarctica* and similar-sized coccolithophorids without coccoliths under the microscope (De Vargas *et al.*, 2007). Other studies have also pointed out the difficulty in determining picoflagellates and

cryptophytes that are close to the resolution limits of the light microscope, as compared with the HPLC technique, which can detect diagnostic pigments at relatively low concentrations (Llewellyn *et al.*, 2005 and references therein). Another cause for discrepancies between both methods can be partly attributed to the precision of cell counts. This is particularly relevant for those groups characterized by low cell numbers. Nevertheless, with the Utermöhl method, both the quantity and diversity of phytoplankton can be determined in water samples, making it a widely used method for the quantitative analysis of phytoplankton (IOC UNESCO, 2010).

Diatoms were present at almost all sampling stations according to HPLC data, but this was not detected by microscopy, probably due to higher sampling volumes used for HPLC analysis (filtering volumes of about one litre). It should be noted that the presence of rare and large diatom species not visible in the relatively small volume analysed by microscope could have been detected in the pigment analyses. However, a fraction of the measured fucoxanthin could be due to haptophytes (Wright & Jeffrey, 2006), which were the dominant group in this study. Consequently, at a few samples (especially at Station 512), *E. huxleyi* and *P. antarctica* seemed to be overestimated by CHEMTAX. On the other hand, we have found a strong correlation between fucoxanthin concentration and diatom abundance ($r^2 = 0.95$) and a weak correlation with *P. antarctica* abundance ($r^2 = 0.25$), indicating that diatoms were the main contributors to measured fucoxanthin. *Emiliana huxleyi* abundance did not show any correlation with fucoxanthin concentration.

The main phytoplankton group observed in the sampling sites in this work was coccolithophorids, massively dominated by *E. huxleyi*, with cell numbers between 50,000 cells l^{-1} and 11×10^6 cells l^{-1} . The species was probably the cold-water morphotype B/C, found in high latitudes. Other studies, in the Eastern Bering Sea (North Pacific), have found similar or lower *E. huxleyi* concentrations (up to $2.1\text{--}2.8 \times 10^6$ cells l^{-1}) (Sukhanova & Flint, 1998; Merico *et al.*, 2006). However, the authors mentioned that the relatively high concentrations found in those blooms would be an unusual phenomenon when compared to events found in sub-Arctic North Atlantic and adjacent seas. This highlights the potential importance of *E. huxleyi* blooms at the southern Patagonian shelf, regarding DMSP production and downward fluxes of

Table 3. Checklist of species or higher taxa identified during the 'PATEX V' cruise. The photosynthetic organisms were labelled (a) and those used in the cluster analysis were labelled (b).

Class Dinophyceae	Ciliophora
<i>Amphidinium</i> aff. <i>carterae</i>	Class Kinetofragminophora
<i>Amphidinium</i> cf. <i>crassum</i>	<i>Lacrymaria</i> sp.
<i>Amphidinium</i> <i>sphenoides</i>	<i>Myrionecta rubra</i> (a, b)
<i>Ceratium fusus</i> (a, b)	Unidentified spathidiid ciliates
<i>Ceratium lineatum</i> (a, b)	
<i>Ceratium pentagonum</i> (a, b)	Class Oligohymenophora
<i>Ceratium lineatum/pentagonum</i> (a, b)	Unidentified philasterine scuticociliates
<i>Cochlodinium</i> spp.	
<i>Dinophysis</i> cf. <i>okamurai</i>	Class Oligotrichea
<i>Dinophysis</i> sp.	<i>Laboea</i> cf. <i>strobila</i>
<i>Gonyaulax</i> cf. <i>scrippsae</i> (a, b)	<i>Leegaardiella sol</i>
<i>Gonyaulax</i> sp. (a)	<i>Salpingella</i> sp.
<i>Gymnodinium galeatum</i> (a, b)	<i>Strobilidium neptuni</i>
<i>Gymnodinium splendens</i> (a, b)	<i>Strobilidium</i> spp.
<i>Gymnodinium</i> spp. (a, b)	<i>Strombidium acutum</i>
<i>Gyrodinium lachryma</i>	<i>Strombidium capitatum</i>
<i>Gyrodinium spirale</i>	<i>Strombidium conicum</i>
<i>Gyrodinium</i> spp.	<i>Strombidium</i> spp.
<i>Gymnodinium/Gyrodinium</i>	<i>Tontonia</i> cf. <i>gracilima</i>
<i>Katodinium</i> cf. <i>glaucum</i>	<i>Undella</i> sp.
<i>Oxytoxum variabile</i> (a)	Unidentified oligotrich ciliates
Peridinids (a, b)	
<i>Phalacroma</i> sp.	<i>Rhizomonas setigera incertae sedis</i>
<i>Polykrikos</i> sp.	
<i>Prorocentrum balticum/antarcticum</i> (a, b)	
<i>Prorocentrum minimum</i> (a, b)	
<i>Prorocentrum</i> sp. (a, b)	
<i>Protoperidinium depressum</i>	
<i>Protoperidinium pyrum</i>	
<i>Protoperidinium</i> spp.	
<i>Torodinium robustum</i> (a, b)	
Unidentified athecates (a, b)	
Unidentified thecate (a, b)	
<i>Warnowia</i> cf. <i>polyphemus</i>	
Class Haptophyceae – Prymnesiophyceae	
<i>Coccolithus pelagicus</i> (a)	
<i>Emiliania huxleyi</i> (a, b)	
<i>Phaeocystis Antarctica</i> (a, b)	
Class Bacillariophyceae	
<i>Chaetoceros</i> sp. (a)	
<i>Cylindrotheca closterium</i> (a, b)	
<i>Dactyliosolen</i> sp. (a)	
<i>Fragilariopsis</i> sp. (a)	
<i>Leptocylindrus minimus</i> (a)	
<i>Thalassiosira</i> sp. (a)	
Class Cryptophyceae	
Cryptophytes (a, b)	
Other cryptophytes	
Class Euglenophyceae	
<i>Eutreptiella</i> sp. (a)	

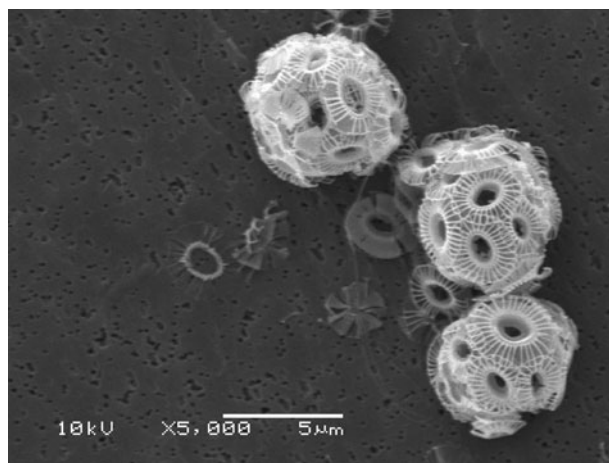


Fig. 8. Photomicrograph of *Emiliania huxleyi* probably type B/C, which occurred throughout the sampling stations. Scale bar: 5 μ m.

represented by dinoflagellates, diatoms or a mixture of taxa (see Figure 9). According to non-parametric correlations (Spearman r) possible explanations for this mosaic-like distribution pattern of phytoplankton communities could be nutrient availability. For instance, nitrate concentration was positively associated with temperature and salinity ($r_s = 0.79$ and 0.58 , respectively, $P < 0.05$), but negatively correlated with diatoms and *Myrionecta rubra* + cryptophytes ($r_s = -0.71$ and -0.54 , respectively). Those organisms were generally found together (0.58) at the easternmost colder part of the study area, with smaller contribution of coccolithophorids, being assembled as a separate cluster. Some studies have demonstrated that coccolithophorids usually have an important contribution to the phytoplankton biomass during summer, along with dinoflagellates, as partners in oceanic areas (Falkowski *et al.*, 2004; Turkoglu, 2008). This is in agreement with the high and constant presence of dinoflagellates in the same samples characterized by elevated *E. huxleyi* abundance in the present study.

Merico *et al.* (2004) suggested that a shallow mixed layer depth, and lack of photoinhibition of *E. huxleyi* in the environment, would represent favourable conditions for bloom development of this organism in the Bering Sea shelf. However, differently from other studies, they did not find a clear relationship between those blooms and high N:P ratio. In the present work, we could not associate the coccolithophorid abundance with any absolute nutrient concentration, but there was indication of an association between high abundance of *E. huxleyi* with low Si:N ratio ($r_s = -0.49$, $P < 0.05$), which was the opposite situation found for high concentration of diatoms and high Si:N ratio (0.54 , $P < 0.05$). According to Egge & Aksnes (1992), waters with very low silicate concentrations ($< 2 \mu\text{mol l}^{-1}$) are thought to represent a favourable condition to coccolithophorids in competition with diatoms. Putland *et al.* (2004) found surprising correlations between *E. huxleyi* and some environmental factors (temperature and nutrient concentrations) suggesting that this species would have a distinct ecological niche in the north-eastern Pacific in relation to its counterpart in the North Atlantic.

In our study, the sampled *E. huxleyi* bloom was in a late developmental stage, as indicated by optical and biochemical measurements during the same cruise (see Garcia *et al.*, in press). Both relatively high ratios of PIC:POC (particulate

calcium carbonate and particulate organic matter. In fact, there were indications that significant amounts of calcite from coccoliths were associated with the *E. huxleyi* patch sampled in this work (see Garcia *et al.*, in press).

The patchy distribution of the phytoplankton community in the study region was demonstrated by a major dominance of coccolithophorids at some stations, while others were better

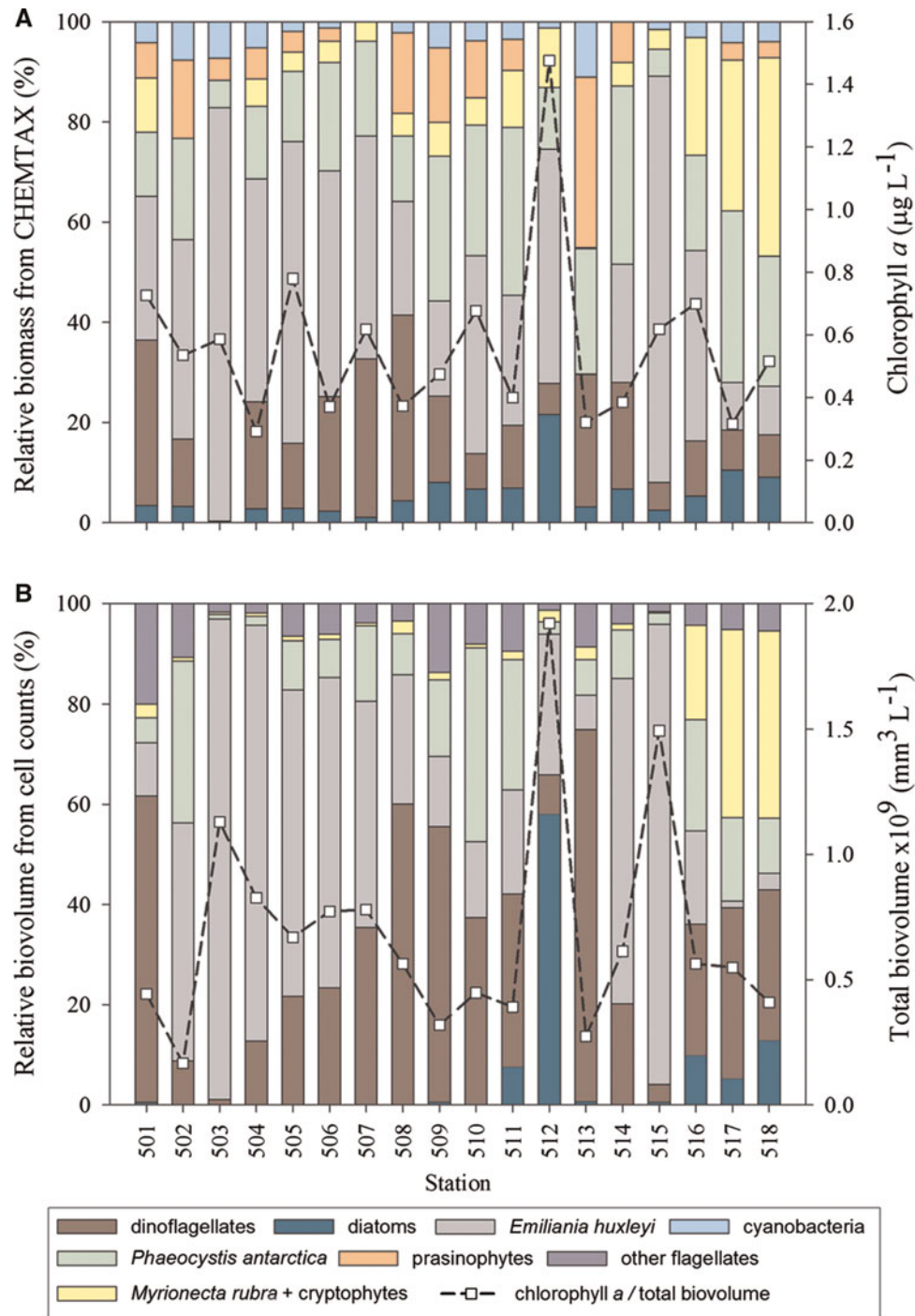


Fig. 9. Percentage contribution of (A) CHEMTAX-allocated Chl *a* of each phytoplankton group to total Chl *a* and (B) biovolume of respective phytoplankton groups to total biovolume. The dashed line shows total Chl *a* (A) and total biovolume (B) on the right axes scales.

inorganic to organic carbon) and high light backscattering found in the study region, were associated with presumably large concentrations of detached coccoliths in the water column.

We can speculate that during the summer season coccolithophorids would flourish in a shallow mixed layer, which is nutrient-depleted due to the precedent spring diatom blooms, when deeper MLD and high nutrient levels prevail, associated with upwelled waters (Signorini *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2008). Other previous works suggested that

shallow MLD (< 20 m) would be better suited for a long persistence of coccolithophorid blooms (Andrzejewski *et al.*, 2003), a situation not registered in our case, where MLD were not particularly shallow (approximately 40 m; Garcia *et al.*, in press). We suggest that *E. huxleyi* can still grow and flourish within a MLD around 40 m in the Patagonian continental shelf, which would extend the ecological ability of this species to a new environmental realm. However, typical environmental conditions for *E. huxleyi* blooms such as a shallow MLD and low nutrient concentrations (conferring them a competitive

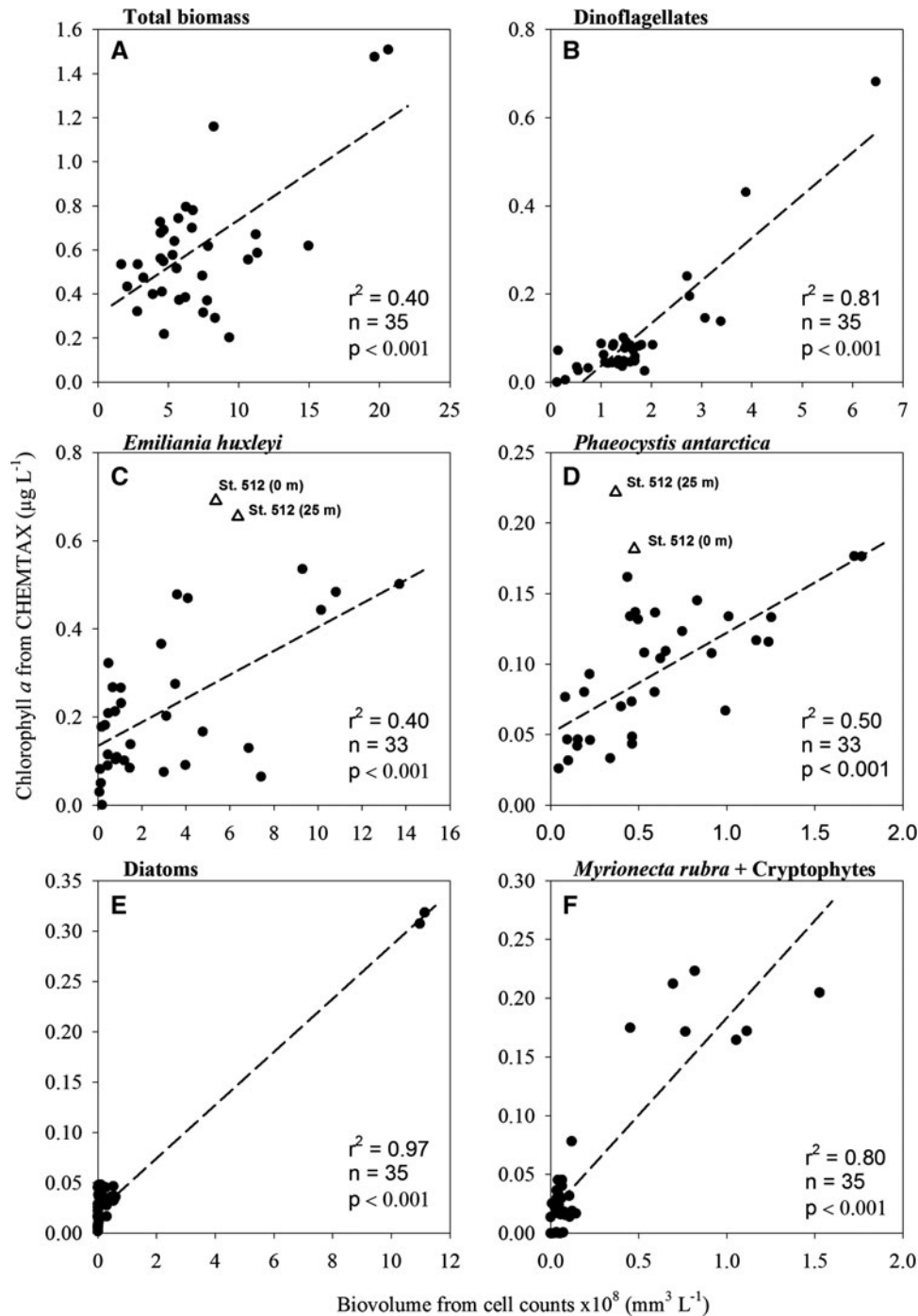


Fig. 10. Linear regressions between estimated Chl *a* and calculated biovolume from cell counts for the phytoplankton groups: (A) total biomass; (B) dinoflagellates; (C) *Emiliania huxleyi*; (D) *Phaeocystis antarctica*; (E) diatoms; (F) *Myrionecta rubra* + cryptophytes. For *E. huxleyi* and *P. antarctica*, the Station 512 (surface and peak) was excluded from the regression analysis due to evident overestimation by CHEMTAX (see text for details).

advantage) are subject to short-term changes, i.e. at daily or weekly scales, imposing new conditions for the phytoplankton community. For instance, some investigations in the study area have shown that stronger tidal currents often cause shifts in the water column stability, increasing the mixing layer depth, providing a major environmental factor affecting phytoplankton community structure (Acha *et al.*, 2004; Bianchi *et al.*, 2005, 2009; Romero *et al.*, 2006). In fact, apart from the known seasonal phytoplankton succession (Margalef, 1958; Reynolds, 1997; Smayda & Reynolds, 2001),

stochastic environmental shifts could promote the particular optimal environment for growth of opportunistic phytoplankton species, such as *Cylindrotheca closterium* and gymnodinoid dinoflagellates, found in this work. Processes such as wind-driven mixing or tidal currents disrupting a stable water column and enhancing the mixing layer depth, could provide temporary favourable conditions for some diatom and dinoflagellate species to dominate over *E. huxleyi*.

Apart from physical and chemical constraints, another driving force that could exert influence on phytoplankton

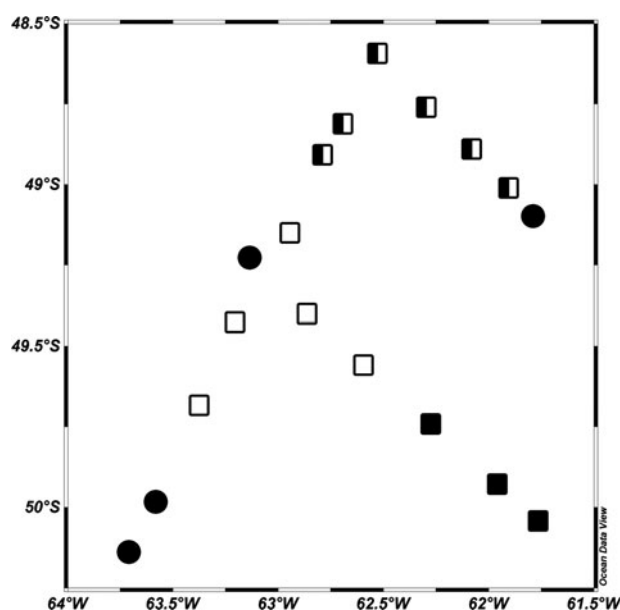


Fig. 11. Schematic representation of phytoplankton assemblages along the region surveyed as defined by a cluster analysis based on biovolume data (less frequent taxa (<10%) were excluded) for all surface samples (Bray–Curtis similarity index and group average linkage clustering method, cf. Clarke & Warwick 1994). Symbols: open squares (□) refer to the highest abundance of *Emiliana huxleyi* (Stations 503, 504, 505, 514 and 515); half-filled squares (◐) refer to high biovolumes of dinoflagellates (Stations 506, 507, 508 and 509) and/or the haptophyte *Phaeocystis antarctica* (Stations 510 and 511); black-filled squares (■) are related to the main contributions of *Myrionecta rubra* + cryptophytes (Stations 516, 517 and 518); and black-filled circles (●) refer to mixed assemblages (Stations 501, 502, 512 and 513; see more in the text).

community is the top-down control, when selective grazing over other phytoplankton groups can lead to increasing and persistence of *E. huxleyi* abundance (Fileman *et al.*, 2002; Olson & Strom, 2002; Putland *et al.*, 2004). In our study, there was not a good correlation between the microheterotrophs and any phytoplankton group (data not shown), although there was no survey of large heterotrophs such as copepods that could indicate their grazing pressure upon the phytoplankton community. Nevertheless, Sabatini *et al.* (2004) identified high zooplankton abundance during summer in the southern Patagonian shelf (between 48° and 54.5° S), at onshore and offshore sites, with copepods, euphausiids and amphipods as the main groups. Also, these authors indicated that this ‘zooplankton hot spot’ could be related to retention of phytoplankton biomass following the nutrient entrainment from the south nutrient-rich waters after shifts in the water column stabilization, mainly north of 51° S. Therefore, grazing processes may have also contributed to the observed patterns in the phytoplankton assemblages in the present work.

CONCLUSION

A bloom of coccolithophorids, massively dominated by *Emiliana huxleyi*, was sampled in summer at the southern Patagonian shelf. The relatively high concentrations of *E. huxleyi* indicate their potential relevance in biogeochemical cycles in the region. The phytoplankton community associated with the coccolithophorid bloom comprised

dinoflagellates (mainly Gymnodiniales), the haptophyte *Phaeocystis antarctica*, cryptophytes and diatoms, particularly the pennate species *Cylindrotheca closterium*. The relative contribution of the different groups varied markedly between sampling stations. A cluster analysis based on biovolume estimates of phytoplankton groups showed one group dominated by coccolithophorids (*E. huxleyi*), associated with low Si:N ratio, another group where *Myrionecta rubra* + cryptophytes dominated and a third group dominated by dinoflagellates and *P. antarctica*. Comparisons between microscope-derived biovolume and HPLC/CHEMTAX-derived results showed that both techniques provided complementary information, proving useful to understand the phytoplankton community distribution in the region.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Captain of Navy RV ‘Ary Rongel’, Arlindo Moreira Serrado, and his officers and crew as well as SECIRM’s officer on-board for all their support and help during the field survey. Laboratory facilities were provided by the Centro de Oceanografia da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (Portugal) for HPLC analyses, and by the Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos (Institute of Oceanography, FURG, Brazil) for microscopic analyses. We are grateful to M.D. Mackey for a copy of the CHEMTAX software. The present work was carried out as part of the SOS-Climate project inserted in the Brazilian Antarctic Program under the auspices of the CIRM/SECIRM. This work was supported by financial resources from both the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Brazilian Ministry of Environment (MMA), as well as by the program FCT-GRICES/CAPES. C.R.M. was funded by a PhD grant from FCT, Portugal [SFRH/BD/36336/2007]. A PhD fellowship from CAPES (Brazil) was granted to M.S.deS.

REFERENCES

- Acha E.M., Mianzan H.W., Guerrero R.A., Favero M. and Bava J. (2004) Marine fronts at the continental shelves of austral South America: physical and ecological processes. *Journal of Marine Systems* 44, 83–105.
- Aminot A. and Chaussepied M. (1983) *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest: Centre National pour l’Exploration des Océans, 395 pp.
- Andrulleit H., Stäger S., Rogalla U. and Ceppek P. (2003) Living coccolithophores in the Northern Arabian Sea: ecological tolerances and environmental control. *Marine Micropaleontology* 49, 157–181.
- Bianchi A.A., Bianucci L., Piola A.R., Pino D.R., Schloss I., Poisson A. and Balestrini C.F. (2005) Vertical stratification and sea-air CO₂ fluxes in the Patagonian shelf. *Journal of Geophysical Research*, 110, C07003.
- Bianchi A.A., Pino D.R., Perlender H.G.I., Osiroff A.P., Segura V., Lutz V., Clara M.L., Balestrini C.F. and Piola A.R. (2009) Annual balance and seasonal variability of sea–air CO₂ fluxes in the Patagonia Sea: their relationship with fronts and chlorophyll distribution. *Journal of Geophysical Research* 114, C03018.

- Brzezinski M.A. (1985) The Si:C:N ratio of marine diatoms: interspecific variability and the effect of some environmental variables. *Journal of Phycology* 21, 347–357.
- Brown C.W. (1995) Global distribution of coccolithophore blooms. *Oceanography* 8, 59–60.
- Carreto J.I., Montoya N.G., Benavides H.R., Guerrero R. and Carignan M.O. (2003) Characterization of spring phytoplankton communities in the Río de La Plata maritime front using pigment signatures and cell microscopy. *Marine Biology* 143, 1013–1027.
- Carreto J.I., Montoya N.G., Akselman R., Carignan M.O., Silva R.I. and Colleoni D.A.C. (2008) Algal pigment patterns and phytoplankton assemblages in different water masses of Río de La Plata maritime front. *Continental Shelf Research* 28, 1589–1606.
- Clarke K.R. and Warwick R.M. (1994) *Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth: Natural Environmental Research Council, 234 pp.
- De Vargas C., Aubry M.-P., Probert I. and Young J. (2007) Origin and evolution of coccolithophores: from coastal hunters to oceanic farmers. In Falkowski P. and Knoll A.H. (eds) *Evolution of primary producers in the sea*. San Diego, CA: Academic Press, pp. 251–286.
- Egge J.K. and Aksnes D.L. (1992) Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Marine Ecology Progress Series* 83, 281–289.
- Falkowski P.G. and Raven J.A. (2007) *Aquatic photosynthesis*. 2nd edition. Princeton, NJ: Princeton University Press, 500 pp.
- Falkowski P.G., Katz M.E., Knoll A.H., Quigg A., Raven J.A., Schofield O. and Taylor F.J.R. (2004) The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305, 354–360.
- Fileman E.S., Cummings D.G. and Llewellyn C.A. (2002) Microzooplankton community structure and the impact of microzooplankton grazing during an *Emiliana huxleyi* bloom, off the Devon coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82, 359–368.
- García V.M.T., García C.A.E., Mata M.M., Pollery R.C., Piola A.R., Signorini S.R., McClain C.R. and Iglesias-Rodríguez M.D. (2008) Environmental factors controlling the phytoplankton blooms at the Patagonia shelf-break in spring. *Deep-Sea Research I* 55, 1150–1166.
- García C.A.E., García V.M.T., Dogliotti A.I., Ferreira A., Romero S.I., Mannino A., de Souza M.S. and Mata M.M. (in press) Environmental conditions and bio-optical signature of a coccolithophorid bloom in the Patagonian Shelf. *Journal of Geophysical Research—Oceans* (doi: 10.1029/2010JC006595).
- Gayoso A.M. (1995) Bloom of *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) in the western South Atlantic Ocean. *Journal of Plankton Research*, 17, 1717–1722.
- Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschtel D., Pollinger U. and Zohary T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35, 403–424.
- Iglesias-Rodríguez M.D., Brown C.W., Doney S.C., Kleypas J., Kolber D., Kolber Z., Hayes P.K. and Falkowski P.G. (2002) Representing key phytoplankton functional groups in ocean carbon cycle models: Coccolithophorids. *Global Biogeochemical Cycles* 16, 1100.
- IOC UNESCO (Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO) (2010) Karlson B., Cusack C. and Bresnan E. (eds) *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Paris: UNESCO (IOC Manuals and Guides, no. 55) (IOC/2010/MG/55) 110 pp.
- Koroleff F. (1969) *Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue*. International Council for the Exploration of the Sea (CM Documents) C: 9, Hydrological Communication.
- Latasa M. (2007) Improving estimations of phytoplankton class abundances using CHEMTAX. *Marine Ecology Progress Series* 329, 13–21.
- Llewellyn C.A., Fishwick J.R. and Blackford J.C. (2005) Phytoplankton community assemblage in the English Channel: a comparison using chlorophyll *a* derived from HPLC-CHEMTAX and carbon derived from microscopy cell counts. *Journal of Plankton Research* 27, 103–119.
- Lutz V.A., Segura V., Dogliotti A.I., Gagliardini D.A., Bianchi A.A. and Balestrini C.F. (2010) Primary production in the Argentine Sea during spring estimated by field and satellite models. *Journal of Plankton Research* 32, 181–195.
- Mackey M.D., Mackey D.J., Higgins H.W. and Wright S.W. (1996) CHEMTAX—a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144, 265–283.
- Malin G. and Steinke M. (2004) Dimethyl sulfide production: what is the contribution of the coccolithophores? In Thierstein H.R. and Young J.R. (eds) *Coccolithophores: from molecular processes to global impact*. Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 127–164.
- Margalef R. (1958) Temporal succession and spatial heterogeneity in phytoplankton. In Buzzati-Traverso A.A. (ed.) *Perspectives in marine biology*. Los Angeles: University of California Press, pp. 323–349.
- Merico A., Tyrrell T., Lessard E.J., Oguz T., Stabeno P.J., Zeeman S.I. and Whitley T.E. (2004) Modelling phytoplankton succession on the Bering Sea shelf: role of climate influences and trophic interactions in generating *Emiliana huxleyi* blooms 1997–2000. *Deep-Sea Research I* 51, 1803–1826.
- Merico A., Tyrrell T., Lessard E.J. and Cokacar T. (2006) Is there any relationship between phytoplankton seasonal dynamics and the carbonate system? *Journal of Marine Systems* 59, 120–142.
- Mostajo E.L. (1985) Nanoplankton calcareo del Océano Atlántico Sur. *Revista Española de Micropaleontología* 17, 261–280.
- Mostajo E.L. (1986) La tanatocenosis de cocolitofóridos como indicadores biológicos de masas de agua superficiales. *Neotropica* 32, 167–170.
- Negri R.M., Silva R.I. and Valiñas M. (2003) Distribución de *Gephyrocapsa oceanica* (Haptophyta) en un sector de la Plataforma Argentina (Atlántico Sudoccidental, 37°–40°S). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 38, 131–137.
- Olson M.B. and Strom S.L. (2002) Phytoplankton growth, microzooplankton herbivory and community structure in the southeast Bering Sea: insight into the formation and temporal persistence of an *Emiliana huxleyi* bloom. *Deep-Sea Research II* 49, 5969–5990.
- Paasche E. (2001) A review of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) with particular reference to growth, coccolith formation and calcification–photosynthesis interactions. *Phycologia* 40, 503–529.
- Painter S.C., Poulton A.J., Allen J.T., Pidcock R. and Balch W.M. (2010) The COPAS'08 expedition to the Patagonian Shelf: physical and environmental conditions during the 2008 coccolithophore bloom. *Continental Shelf Research* 30, 1907–1923.
- Putland J.N., Whitney F.A. and Crawford D.W. (2004) Survey of bottom-up controls of *Emiliana huxleyi* in the Northeast Subarctic Pacific. *Deep-Sea Research I* 51, 1793–1802.
- Reynolds C.S. (1997) Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystem theory. In Kinne O. (ed.) *Excellence in ecology*. Oldendorf: Ecology Institute Publisher, 371 pp.
- Romero S.I., Piola A., Charo M. and García C.A.E. (2006) Chlorophyll *a* variability off Patagonia based on SeaWiFS data. *Journal of Geophysical Research* 111, C05021.

- Sabatini M., Reta R. and Matano R. (2004) Circulation and zooplankton biomass distribution over the southern Patagonian shelf during late summer. *Continental Shelf Research* 24, 1359–1373.
- Signorini S.R., Garcia V.M.T., Piola A.R., Garcia C.A.E., Mata M.M. and McClain C.R. (2006) Seasonal and interannual variability of calcite in the vicinity of the Patagonia shelf break (38°S–52°S). *Geophysical Research Letters*, 33, L16610.
- Signorini S.R., Garcia V.M.T., Piola A.R., Evangelista H., McClain C.R., Garcia C.A.E. and Mata M.M. (2009) *Further studies on the physical and biogeochemical causes for large interannual changes in the Patagonian shelf spring–summer phytoplankton bloom biomass*. NASA Goddard Space Flight Center, TM-2009-214176, Greenbelt, 43 pp.
- Smayda T.J. and Reynolds C.S. (2001) Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of Plankton Research* 23, 447–461.
- Sournia A. (ed.) (1978) *Phytoplankton manual*. Paris: UNESCO, Muséum National d'Histoire Naturelle, 337 pp.
- Sukhanova I.N. and Flint M.V. (1998) Anomalous blooming of coccolithophorids over the eastern Bering Sea shelf. *Oceanology* 38, 502–505.
- Turkoglu M. (2008) Synchronous blooms of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* and three dinoflagellates in the Dardanelles (Turkish Straits System). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88, 433–441.
- Tyrrell T. and Merico A. (2004) *Emiliania huxleyi*: bloom observations and the conditions that induce them. In Thierstein H.R. and Young J.R. (eds) *Coccolithophores: from molecular processes to global impact*. Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 75–97.
- Utermöhl H. (1958) Zur Vervollkommenung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9, 1–38.
- Westbroek P., Brown C.W., Bleijswijk J., Brownlee C., Brummer G.J., Conte M., Egge J., Fernández E., Jordan R., Knappertsbusch M., Stefels J., Veldhuis M., van der Wal P. and Young J. (1993) A model system approach to biological climate forcing: the example of *Emiliania huxleyi*. *Global Planet Change* 8, 27–46.
- Wright S.W. and Jeffrey S.W. (2006) Pigment markers for phytoplankton production. In Volkmann J.K. (ed.) *Marine organic matter: biomarkers, isotopes and DNA*. Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 71–104 [*The Handbook of Environmental Chemistry*, Volume 2, Part 2N].
- Wright S.W., Ishikawa A., Marchant H.J., Davidson A.T., van den Enden R.L. and Nash G.V. (2009) Composition and significance of picophytoplankton in Antarctic waters. *Polar Biology* 32, 797–808.
- Zapata M., Rodríguez F. and Garrido J.L. (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195, 29–45.
- Zapata M., Jeffrey S.W., Wright S.W., Rodríguez F., Garrido J.L. and Clementson L. (2004) Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy. *Marine Ecology Progress Series* 270, 83–102.
- and
- Zar J.H. (1999) *Biostatistical analysis*. 4th edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 663 pp.

Correspondence should be addressed to:

M.S. de Souza
Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos
Instituto de Oceanografia (FURG)
PO Box 474, Campus Carreiros, 96201-900, Rio Grande, Brazil
email: souza_msilva@yahoo.com.br

ANEXO II

Gonçalves-Araújo, R., **Souza, M.S.de**, Mendes, C.R.B., Tavano, V.M., Pollery, R.C. e Garcia, C.A.E. Brazil-Malvinas confluence: effects of environmental variability on phytoplankton community structure. Artigo submetido (em revisão) ao periódico *Journal of Plankton Research*. 35p

Este artigo foi redigido primariamente por R. Gonçalves-Araujo, com importante contribuição do segundo autor/doutorando na redação, nas análises de fitoplâncton por microscopia e de CLAE, e na interpretação de resultados e análises estatísticas. Contou, ainda, com importante aporte de R. Mendes nas análises de pigmentos por quimio-taxonomia.

**BRAZIL-MALVINAS CONFLUENCE: EFFECTS OF ENVIRONMENTAL
VARIABILITY ON PHYTOPLANKTON COMMUNITY STRUCTURE**Rafael Gonçalves-Araujo^{1*}Márcio Silva de Souza¹Carlos Rafael Borges Mendes^{1,2}Virgínia Maria Tavano¹Ricardo Cesar Pollery³Carlos Alberto Eiras Garcia¹

¹Instituto de Oceanografia (FURG), P.O. Box 474, Campus Carreiros
96201-900 Rio Grande, Brazil, telephone number: +55 53 32336855

*CORRESPONDING AUTHOR: rafaelgoncalvesaraujo@gmail.com

²Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Centro de Oceanografia,
Campo Grande, 1749-016, Lisbon, Portugal

³Laboratório de Biogeoquímica, Departamento de Ecologia,
Instituto de Biologia (UFRJ), Cidade Universitária, 21941-590, Rio de Janeiro, Brazil

Keywords: Brazil-Malvinas Confluence, Physical structure, Nutrients, Phytoplankton, HPLC-CHEMTAX.

ABSTRACT

This study investigates the relationships between spring phytoplankton community and environmental factors in the Brazil-Malvinas Confluence region. Phytoplankton community composition was determined by the HPLC/CHEMTAX approach, complemented with microscopic examination. Abiotic factors consisted of temperature, salinity, dissolved inorganic macronutrients (ammonium, nitrite, nitrate, phosphate and silicate), water column stability and upper mixed layer depth (UMLD). These environmental variables were reasonably informative to explain the variability of phytoplankton communities (44% of variation explained). Cluster and canonical correspondence analyses allowed discrimination of four zones (Coastal, Subantarctic, Tropical and Intermediate Zone), also identifiable in the T-S diagrams and in the nutrient spatial distribution patterns. The presence of nutrient-rich subantarctic waters was a major oceanographic feature, associated with diatoms and dinoflagellates. However, in the Subantarctic Zone, biomass was particularly low, probably as result of grazing pressure, as suggested by chemical and biological indicators. Contrarily, in oligotrophic tropical waters, phytoplankton was mainly composed by small nanoflagellates and cyanobacteria. A large Intermediate Zone was also dominated by nanoflagellates, mainly *Phaeocystis antarctica*, probably favored by strong water column stability. The Coastal Zone exhibited conditions fairly similar to those in the Intermediate Zone, but with a deeper UMLD, a condition adequate for diatom growth. Those results emphasize the importance of water masses properties and also biological processes such as grazing, on the structure of phytoplankton communities in the region.

INTRODUCTION

The Brazil-Malvinas Confluence (BMC) region (Fig. 1) is located around 38°S at the southwestern Atlantic Ocean, encompassing mainly a pelagic domain with dynamic interaction between Brazil and Malvinas currents (Gordon 1989; Chelton et al. 1990). These currents flow in opposite directions and their mixing generate a marked thermohaline frontal zone (Peterson and Stramma, 1991; Souza and Robinson, 2004; Pezzi et al., 2009) recognized as one of the most energetic of the world oceans (Gordon, 1989). Brazil Current (BC) is generated near 10°S and flows southwards carrying tropical waters with high temperature (greater than 26°C) and salinity (between 34.0 and 36.7) (Stramma and England, 1999). The northward Malvinas Current (MC) is formed from a ramification of the Antarctic Circumpolar Current (ACC) due to topographic effects (Matano, 1993) and transports subantarctic waters with surface temperatures lower than 8°C in the austral winter and salinity values between 33.7 and 36.0 (Jullion, 2010).

Despite the large number of studies carried out within the BMC region (e.g. Provost et al., 1996, Bianchi et al., 2002; Pezzi et al., 2005; Matano et al., 2010), only a few were concerned with the distribution of phytoplankton assemblages and their association with environmental factors (e.g. Gayoso and Podestá, 1996; Fernandes and Brandini, 1999; Brandini et al., 2000; Olguín et al., 2006; Painter et al., 2010). Based on analysis of *in situ* data, it has been shown that the BMC is an area of enhanced chlorophyll *a* concentration promoted by the contrasting characteristics of the two currents, allowing phytoplankton growth in the surface layers (Brandini et al., 2000). This enhancement can stimulate the development of subsequent food web trophic levels in the BMC region, from copepods to elephant seals (Berasategui et al., 2005; Campagna et al., 2006). Some studies in the region have reported distribution patterns of phytoplankton communities and biomass either at spatial or temporal scales. For instance, distinct zones have been recognized in the BMC region based on chlorophyll *a* levels (Carreto et al., 1995) and specific phytoplankton groups were shown to be associated to particular hydrographic features, along cross-shelf sections between the Río de la Plata and the oceanic waters of the Subtropical Convergence (Carreto et al., 2008). Those authors have identified a *Phaeocystis* sp.-dominated community associated to the MC, while another report has described an assemblage composed mainly by diatoms and dinoflagellates at the shelf-break, under influence of subantarctic waters (Garcia et al., 2008). By using a chemical taxonomic approach derived from pigment data, different haptophyte populations have also been described along the SW Atlantic, associated with particular hydrographic features of the BMC and the outer estuary of Río de La Plata: Haptophytes B (represented by *Emiliania* spp. and *Chrysochromulina* spp.) were associated to coastal waters; Haptophytes C (mainly the coccolithophorid *Emiliania huxleyi*) were linked to the continental shelf domain; Haptophytes D (mainly *Phaeocystis antarctica*) were more related to the cold waters of MC; and Haptophytes E (composed by other coccolithophorid species) predominated within the BC domain (Carreto et al., 2003). Thus, the diverse physical environments associated with the BMC at both spatial and time scales impose the development of distinct phytoplankton assemblages, which, in turn, can influence the trophic web structure in the region.

This study aims to investigate the relationship between some physical and chemical parameters with the spatial distribution of the phytoplankton community in the BMC region, using the HPLC-CHEMTAX approach as well microscopic phytoplankton observations.

METHODS

Sampling

Data were collected at 41 oceanographic stations across the study area (Fig. 1) visited during 13-18 October 2008 on board the Brazilian Navy RV *Ary Rongel*. The sampling was carried out during the springtime operation of the PATEX (PATagonian EXperiment) program, named as 'PATEX VI'. Surface water was sampled using a Van Dorn bottle and water samples from discrete depths were collected using Niskin bottles attached to a combined rosette-CTD (conductivity-temperature-depth) SeaBird® 911+ carousel system. The instrument was also equipped with an *in vivo* chlorophyll fluorescence sensor (SeaTech fluorometer). The vertical fluorescence profile was used as a guide to select sampling depths for biological and chemical measurements.

Physical parameters

Potential density and stability (E) of the water column were calculated from the potential temperature and salinity data obtained by CTD casts. Stability is based on vertical density variations, as a function of the buoyancy or Brunt-Väisälä frequency (N^2), which is defined by:

$$N^2 = -\frac{g}{\rho} \frac{\partial \rho}{\partial z} \text{ (rad}^2 \text{ s}^{-2}\text{)} \text{ leading to } E = \frac{N^2}{g} \text{ (10}^{-8} \text{ rad}^2 \text{ m}^{-1}\text{)}, \text{ where } g \text{ is gravity and } \rho \text{ is the potential water}$$

density. In this study, E values in the upper 100 m for all occupied stations were averaged in order to represent the stability of the upper surface layer. Upper mixed layer depth (UMLD) was determined from $\partial \rho / \partial z$ profiles. The depth where variations were greater than 0.05 over 1 m interval was considered the UMLD (m) (adapted from Mitchell and Holm-Hansen, [Mitchell and Holm-Hansen, 1991]). Classification of water masses was made based on an adaptation of the thermohaline intervals used by Möller et al. (Möller et al., 2008) and Bianchi et al. (Bianchi et al., 2005) (Table 1).

Nutrient analysis

Water samples for dissolved inorganic nutrients measurements (nitrate, nitrite, ammonium, phosphate and silicate) were filtered on cellulose acetate membrane filters. Nutrients were analyzed on board ship, following the processing recommendations in Aminot and Chaussepied (Aminot and Chaussepied, 1983). Ammonium was measured by the method of Koroleff (Koroleff, 1969) following modifications in Aminot and Chaussepied (Aminot and Chaussepied, 1983) and absorbance readings at 630 nm. Orthophosphate was measured by reaction with ammonium molybdate and absorption reading at 885 nm. Silicate measurements in the form of reactive Si were corrected for sea salt interference following Aminot and Chaussepied (Aminot and Chaussepied, 1983). Absorbance values for all nutrients were measured in a FEMTO® spectrophotometer.

Phytoplankton pigment analysis

Samples for phytoplankton pigment analyses were collected from the surface and from fluorescence peak depths, where peaks were actually detected. Sample volumes ranging from 0.5 to 2 L (depending on concentration of material) were immediately filtered (filtration not longer than one hour) onto Whatman GF/F filters (nominal pore size 0.7 μm and 25 mm diameter) under vacuum pressure lower than 5 inch Hg, and kept in liquid nitrogen until analysis. Pigment concentrations were determined by the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique following the procedure in Zapata et al. (Zapata et al., 2000) and modifications in Mendes et al. (Mendes et al., 2007). Chlorophyll *a* (Chl *a*) concentration data from HPLC analysis was used as a phytoplankton biomass index in this work, as it is a photosynthetic pigment common to all autotrophic phytoplankton.

CHEMTAX analysis

The relative abundance of microalgal classes contributing to total Chl *a* biomass was calculated by pigment concentration data using version 1.95 of CHEMTAX software (Mackey et al., 1996).

CHEMTAX uses a factor analysis and steepest-descent algorithm to find the best fit of the data on to an initial pigment ratio matrix. The basis of calculations and procedures used are fully described in Mackey et al. (Mackey et al., 1996).

Based on microscopic observations and detected diagnostic pigments, 7 algal groups were loaded into CHEMTAX: diatoms, dinoflagellates-1 (peridinin containing species), “chemotaxonomic group”, “*Phaeocystis antarctica*”, cryptophytes, prasinophytes and cyanobacteria (see Table 2). The pigments loaded were alloxanthin (Allo), fucoxanthin (Fuco), peridinin (Perid), prasinoxanthin (Prasino), zeaxanthin (Zea), 19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco), 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco), chlorophyll *c*₃ (Chl *c*₃), chlorophyll *b* (Chl *b*) and chlorophyll *a* (Chl *a*). The “chemotaxonomic group” was defined as having a pigment signature including Fuco, But-fuco, Hex-fuco and Chl *c*₃, relative to a group that includes peridinin-lacking autotrophic dinoflagellates (Wright and Jeffrey, 2006) and other algal groups whose pigment composition has not yet been exhaustively analyzed (e.g. Parmales and Chrysophytes).

Initial pigment:Chl *a* input ratios were derived from the literature (Carreto et al., 2003; de Souza et al., 2011) (Table 2). The same initial ratio matrix was used for both depths (surface and fluorescence peak depth), but data from each layer was run separately. For optimization of input matrices, a series of 60 pigment ratio tables were generated by multiplying each ratio of the initial table by a random function as described in Wright et al. (Wright et al., 2009). The average of the best six output matrices (with the lowest residual root mean square errors – RMSE) were taken as the optimized results. The optimized pigment ratio output matrix for surface samples derived by CHEMTAX is presented in Table 2.

Phytoplankton microscopy analysis

For counting and identifying phytoplankton, surface sea water samples were preserved in amber glass flasks (~250 mL) with 2% alkaline Lugol's iodine solution. Settling chambers of 50 mL volume were examined under the inverted microscope (Utermöhl, 1958; Sournia, 1978).

Phytoplankton composition was determined with an Axiovert 135 ZEISS microscope, at 200×, 400× and 1000× magnification, according to specific literature (mainly, Hasle and Syvertsen, 1996; Dodge, 1982). Identified species (or groups) were classified as Flagellates I (< 5 µm) probably including mainly prasinophytes while Flagellates II (5–10 µm) include cryptophytes as well as chrysophytes. Among the dinoflagellates, some genera include several forms and were, for instance, represented as *Gymnodinium* spp., *Gyrodinium* spp. and *Protoperidinium* spp. Other dinoflagellates were identified at order level (Peridinales). When genus or species identification of diatoms was not possible they were grouped at order level (Centrales and/or Pennales). Except for the identification of the autotrophic *Myrionecta rubra*, other ciliates were generally identified at genus level.

Statistical analysis

Considering that more details on phytoplankton composition are provided by microscopy data, multivariate statistics were run based on microscopic analysis.

Cluster analysis using group average linkage and Bray-Curtis similarity index (Clarke and Warwick, 1994) was used to describe the surface spatial distribution of major phytoplankton species' abundance (derived from microscopic analysis) over the survey area. The contribution of the more frequent (> 10% in all samples) algal category to total abundance at each site was log-transformed to suppress the scale variability (Zar, 1999) and used as input data. Algal categories were combinations of species of the same genus or similar size. Less abundant categories were grouped at higher taxonomic levels.

Canonical correspondence analysis (CCA) was performed in order to identify the main patterns of community and species variability, with respect to environmental variables (Ter Braak and Prentice, 1988). The analysis was carried out in order to corroborate the assumption that the water masses (through their conservative and non-conservative properties) along the region directly influenced the phytoplankton community structure. Biotic variables were represented by abundances of main phytoplankton taxonomic groups determined from microscopic analysis, except for cyanobacteria contribution, which was only identified by the CHEMTAX analysis. Environmental variables included surface temperature, salinity, dissolved inorganic nitrogen (DIN: nitrate, nitrite and ammonium), phosphate, silicate, UMLD and stability. All variables were log-transformed previous

to the analysis to reduce the influence of the different scales in the sets of analyzed variables. In order to test the significance of the CCA, Monte-Carlo tests were run based on 499 permutations under reduced model ($p < 0.05$). Some sampling stations were excluded from the statistical analyses because no chemical data was available (St. P611 and P627); no microscopic observations (St. P602, P604, P638, P640) or no HPLC data (St. P601, P602, P636, P640). The two first significant canonical roots are used to produce the canonical diagram. The canonical roots are the weighted sums of the phytoplankton variables, which are used to calculate the position of the stations in the diagram according to their algae composition and abundance. Thus, the distances between stations in the ordination diagram reflect the degree of similarity among their phytoplankton assemblages (short distances indicate high similarity). Canonical factor loadings are the simple correlations between the environmental variables and the canonical roots, and are considered as a measure of the importance of the different environmental variables determining phytoplankton variability within the area.

RESULTS

Physical setting

Surface distribution of temperature (Fig. 2a) and salinity (Fig. 2b) evidenced a great spatial variability and a thermohaline front over the sampling area. Temperature ranged from 8.1 (St. P611) to 18.8°C (St. P615), displaying a strong horizontal thermal gradient over the shelf break region, reaching 0.173°C km⁻¹ (from St. P613 to St. P615). Salinity ranged from 33.04 (St. P614) to 35.98 (St. P615) (Fig. 2b). A T-S diagram from the upper 100 m (Fig. 3) shows the presence of six water masses (see Table 1): Sub-Antarctic Shelf Water (SASW), Sub-Antarctic Water (SAW), Tropical Water (TW), Sub-Tropical Shelf Water (STSW), South Atlantic Central Water (SACW) and Low Salinity Coastal Water (LSCW) (Fig. 3). Some points in the T-S diagram (Fig. 3) were result of mixing between water masses and were not classified.

Surface distribution of inorganic nutrients

The highest surface values of DIN (11.62 µM) and phosphate (0.89 µM) concentrations were found at station P611, dominated by SAW (Fig. 4a,b, respectively), while the lowest concentrations (0.94 µM of DIN and 0.18 µM of phosphate) were found at St. P605, under TW influence (Fig. 4a,b). In addition, phosphate was higher towards coastal stations, reaching 0.79 µM at St. P641 (Fig. 4b). On the opposite, silicate levels were higher at the northeastern part of the study area, mainly associated with TW (maximum 7.33 µM at St. P604), and were low at coastal sites, with values lower than 3 µM (Fig. 4c). Consequently, the nutrient ratios (N:P and Si:N) showed a distribution pattern that

reflected the zonation adopted in this study (see Fig. 7). Overall, N:P ratios close to the Redfield-Brzezinski ratio (15Si:16N:1P) were only found associated with the SAW, whereas values below 10 N:P were found throughout the rest of the sampling area (Fig. 4d). Si:N ratios were mostly between 1 and 3, except a highest value at St. P605 in the TW regime and the particularly low values at south, under SAW influence (Fig. 4e).

Phytoplankton community and chlorophyll *a* distribution

Surface Chl *a* concentration varied between 0.13 and 2.46 mg m⁻³ (Fig. 5a), with lowest values associated with the TW and SAW and highest within the shelf and coastal waters. Concerning phytoplankton distributions, the haptophyte “*Phaeocystis antarctica*” was present at all stations, but was mainly associated with the shelf and mixing waters, particularly at northern stations and almost absent in the SAW (Fig 5b). Diatoms were also ubiquitous, with the highest contributions (>50%) within stations under influence of SAW and LSCW (Fig. 5c). Additionally, diatoms showed lowest contributions (below 10%) in the shelf stations, where “*P. antarctica*” was important.

Dinoflagellates-1 showed high contributions (between 17 and 42%), only at stations under SAW regime (Fig. 5d). The highest contributions of “chemotaxonomic group” (ranging from 38 to 68%) were found in the shelf, sharing importance with “*P. antarctica*” at some stations (Fig. 5e).

Cyanobacteria and prasinophytes were particularly important in the warmer TW, with a maximum contribution of 44% and 36%, respectively (Fig. 5f, g), but unimportant at the other stations.

Cryptophytes were only noticeable at coastal stations under LSCW influence (Fig. 5h).

Results of phytoplankton microscopic analyses, including data on heterotrophic species and also on ciliates, are shown in Table 3. Small flagellates (or Flagellates I, 2 to 5 µm) including the haptophyte *P. antarctica* (the only identifiable small flagellate during the lab routine), dominated in abundance across all water masses. Those organisms were more abundant in the shelf and mixing waters (up to 7.7×10^6 cells L⁻¹) but high concentrations of nanoflagellates (reaching 2.9×10^6 cells L⁻¹) were also found in TW; their lowest concentrations were estimated for stations located at the SAW regime (between 0.05 and 0.2×10^6 cells L⁻¹) and for the coastal stations (ranging from 0.08 to 0.2×10^6 cells L⁻¹) (Table 3). Significant diatom concentrations were found within the following water masses/zones: *Chaetoceros* spp. I (< 10 µm), *Thalassiosira* spp. I (< 20 µm) and *Pseudonitzschia* spp. showed higher numbers within SAW while *Cylindrotheca closterium* was representative in shelf and mixing waters of the Intermediate Zone; *Guinardia* spp. and *Thalassionema nitzschioides* were important in TW's diatom assemblage and *Asteromphalus sarcophagus*, *Guinardia delicatula* and *Rhizosolenia* spp. (e.g. *R. setigera*) were almost exclusively found in the coastal portion of the survey area. Regarding dinoflagellates, the Subantarctic Zone exhibited the highest abundance of auto-/mixotrophic (basically *Gymnodinium* spp., *Ceratium*

lineatum/pentagonum, Peridinids and *Prorocentrum minimum*) and heterotrophic dinoflagellates species (*Amphidinium sphenoides*, *Gyrodinium fusiforme* and *Proto-peridinium* spp.). Among the ciliates, a high abundance of the autotrophic *Myrionecta rubra* and the presence of tintinids (*Dadayiella ganymedes*, *Dictyocysta elegans speciosa* and *Salpingella* spp.) were conspicuous within TW, but a predominance of aloricate oligotrichids was observed across the remaining area.

Statistical analyses

Both total Chl *a* biomass index and relative contribution of taxonomic groups by CHEMTAX showed no significant differences (based on t-tests; data not shown) between the surface and the fluorescence peak depth at most sampling stations. The only exception was found at stations located under the TW influence, where conspicuous fluorescence peaks were observed and significant differences between the surface and the fluorescence peak were found mainly for dinoflagellates and “chemotaxonomic group” (no microscopic data was available for those depths). Thus, only the surface phytoplankton distribution data was used in the statistical analyses for describing the study area.

Cluster analysis results based on the absolute abundance of major phytoplankton groups (Fig. 6) showed four clusters, at 0.68 similarity level (cophenetic correlation coefficient: $c = 0.92$), in reasonable agreement with the water masses distribution from the T-S diagram (see Fig. 3). The four clusters displayed in Fig. 6 were used to divide the study area into four distinct zones, as follows: a Coastal Zone (CZ) represented by the LSCW; a Sub-Antarctic Zone (SAZ) including stations under the SAW regime of low temperature values; a Tropical Zone (TZ) represented by TW-dominated stations of high temperature and salinity values; and an Intermediate Zone (IZ) associated with the presence of shelf waters (SASW and STSW) and mixing waters (see Fig. 7 for zones location). Those zones could also be discriminated in the surface distribution patterns of the environmental factors (both physical and chemical). Average values of the main variables in each zone are shown in Table 4.

Results of the CCA analysis (Table 5 and Fig. 8) were used to investigate the association of species or higher taxonomic categories to environmental variables. A Monte Carlo test of F-ratio, applied during the CCA analysis, showed that the seven environmental variables (temperature, salinity, DIN, phosphate, silicate, UMLD and water column stability) contributed significantly to the observed spatial distribution of phytoplankton groups ($p < 0.01$). In fact, environmental variability explained 44% of the spatial variability in phytoplankton communities and the first two significant canonical roots cumulatively explained 73% of the observed variance. The first canonical root (which explained 47% of variation) clearly distinguished species/groups (triangles in Fig. 8) most positively related to salinity and temperature, while the second (26%) suggested that the

species/groups were more related to temperature (negatively) and to DIN and phosphate (positively) (see the factor loadings in Table 5 and Fig. 8). Ordination of the samples in the first two canonical roots shows a clear separation of the Tropical, Subantarctic, Intermediate and (not so clearly) Coastal Zone stations (Fig. 8), which were distributed in straight relation to the surface water masses distribution. Since distance between stations in the ordination diagram correspond to the level of similarity among stations (ter Braak, 1994), the second canonical root can be interpreted as indicating a gradual change in phytoplankton structure from the Tropical to the Subantarctic Zones, with high variability associated to the Coastal Zone stations. In addition, there is also a high variability within the Tropical and Subantarctic Zones along the first canonical root. This possibly represents the large spatial variability found in phytoplankton abundance and community composition along the survey area, as noted in the cluster analysis (Fig. 6) and as seen in the mosaic-like spatial structure of the zones (Fig. 7).

The high factor loadings found in association to temperature and salinity (Table 5; Fig. 8) reflect the strong association between phytoplankton variability and water masses distribution. High factor loadings were also observed for the dissolved inorganic nutrients (mainly DIN and phosphate). This agrees with the hypothesis that water masses influence phytoplankton variability, since dissolved macronutrients are known as non-conservative properties of water masses and can be used to characterize some of them (Niencheski and Fillmann, 1997).

Regarding phytoplankton taxa, small (<20 µm) diatoms (*Thalassiosira* spp. and *Chaetoceros* spp., and the pennate *Nitzschia longissima*) and large (> 20 µm) dinoflagellates (*Gymnodinium* spp., *Ceratium* spp., *Gonyaulax* cf. *scrippsae*) were more associated to the Subantarctic Zone.

Conversely, cyanobacteria, other diatoms (e.g. *Hemiaulus* spp., *Rhizosolenia* spp., *Guinardia delicatula*, *Thalassionema nitzschioides*) and the dinoflagellate *Prorocentrum rostratum* were highly related to the Tropical Zone (Fig. 8). Within the Intermediate Zone, an assemblage of flagellates was important (comprising a wide size spectrum, from 2 to 10 µm in length) that included FlagI (mostly the haptophyte *Phaeocystis antarctica*), FlagII and cryptophytes. The dinoflagellates *Prorocentrum minimum* and *P. micans* and the nano-pennate diatom *Cylindrotheca closterium* were also found in that zone. The Coastal Zone did not present a marked pattern, but was characterized by some unique diatoms (e.g. *Asteromphalus sarcophagus*) and neritic dinoflagellates.

DISCUSSION

Several studies have described the spatial phytoplankton distribution based on *in situ* data (Carreto et al., 1995, 2003 and 2008; Brandini et al., 2000; Olguín et al., 2006) as well as variability of

phytoplankton biomass and primary production based on satellite images, near the BMC region (Garcia et al., 2004; González-Silvera et al., 2006; Romero et al., 2006; Lutz et al., 2010). This area has also been pointed out as having conspicuous biological gradients in which subtropical and subantarctic plankton species are found (e.g. Boltovskoy, 1981). In the present work, four zones were identified in the study area, based on phytoplankton distribution and these were clearly discriminated according to physical features (conservative and non-conservative properties of water masses). On the eastern section of the study area, the Tropical Zone was influenced only by TW, although the influence of BC was also observed in the northeastern part of the Intermediate Zone, dominated by STSW. A similar classification scheme has also been adopted in other investigations over and/or near that region (Carreto et al., 2003 and 2008), including a wider coverage of coastal and estuarine areas. Nonetheless, the authors did not identify STSW along the continental shelf, since their sampling sites were located further south in comparison to our sampling grid, which covered northernmost shelf sites in the Argentine Sea. Additionally, a stronger thermal gradient ($0.173\text{ }^{\circ}\text{C km}^{-1}$) found between the Tropical and Subantarctic Zone was computed in our study as compared to other front studies with values of 0.065, 0.1 and $0.144\text{ }^{\circ}\text{C km}^{-1}$ (Bianchi et al., 1993; Souza and Robinson, 2004; and Berasategui et al., 2005, respectively). This highlights the strong physical barrier established between the TW and SAW sub-domains during our study period.

Regarding the nutrients distribution pattern, a marked reflection of the physical zonation was observed: the highest N and P concentrations (up to $11.62\text{ }\mu\text{M}$ of DIN and $0.89\text{ }\mu\text{M}$ of phosphate) were determined in the Subantarctic Zone, while the highest (maximum of $7.33\text{ }\mu\text{M}$) silicate level was determined in the Tropical Zone. Relatively higher silicate levels have been attributed to TW (with values $> 4\text{ }\mu\text{M}$) in relation to nitrogen and phosphate in the southern Brazilian shelf (Niencheski and Fillmann, 1997). Intermediate values of all nutrients were found in both the Intermediate and Coastal Zone (except for phosphate in the Coastal Zone; see Fig. 4). Similar patterns of nutrient distributions have been found close to the region, with high nitrogen and phosphate associated to SAW (Subantarctic Zone) in contrast to oligotrophic TW (Brandini et al., 2000; Painter et al., 2010). The silicate-rich TW observed in the present study are in contrast to low silicate levels within the SAW (Subantarctic Zone) as previously observed (Garcia et al., 2008). Consequently, average N:P values close to Redfield (14.3) and low (0.3) average Si:N ratios were found in the Subantarctic Zone, suggesting a phytoplankton community under a progressive Si limitation (Egge and Aksnes, 1992). On the other hand, low (5.9) N:P and high (2.5) Si:N in the Tropical Zone could indicate a N-limited phytoplankton community (e.g. Barlow et al., 2002). However, phytoplankton growth has been demonstrated to occur over a wide range of N:P ratios, ranging from 5 to 34, indicating a plastic biochemical feature (Geider and La Roche, 2002). The wide range of environmental N:P ratios in which phytoplankton can grow is a reflection of the

highly variable elemental stoichiometry of marine phytoplankton species/groups (e.g., Ho et al., 2003; Quigg et al., 2003; Klausmeier et al., 2004a; Arrigo, 2005). This variability is determined by particular nutrient requirements of each species/group and to the flexibility in their overall stoichiometry, often matching their nutrient supply at low growth rates (Rhee, 1978; Klausmeier et al., 2004b). Laboratory studies have shown that the canonical Redfield N:P ratio of 16 is not a universal biochemical optimum, but instead represents an average of species-specific N:P ratios (e.g., Klausmeier et al., 2004a). Finally, in the Intermediate and Coastal Zones there was not a clear indication of a particular nutrient limitation, based on nutrient ratios.

Many studies on phytoplankton growth have shown that, in most frontal zones of the global oceans, phytoplankton blooms are generally distributed along narrow bands (Laubsher et al., 1993; Olson et al., 1994; Longhurst, 1998). However, the BMC region represents a large scale phenomenon with a vast area of relatively high phytoplankton biomass, due to the extensive frontal zone generated by the confluence of BC and MC (Brandini et al., 2000; Barré et al., 2006). In our study, higher Chl *a* concentrations ($\geq 1 \text{ mg m}^{-3}$) were observed across the Intermediate and Coastal Zone (see Table 4), including both shelf and mixing waters (between BC and MC). This pattern has also been observed during springtime, where highest Chl *a* concentrations were found associated with a coastal front close to our southernmost cross-shelf transect (Carreto et al., 1995).

The occurrence of major phytoplankton groups, determined from the CHEMTAX analysis, within the study region, can be summarized as follows: diatoms, “*Phaeocystis antarctica*” and “chemotaxonomic group” were more frequent than dinoflagellates-1, prasinophytes, cyanobacteria and cryptophytes in the whole study area. The patchy distribution of those groups closely reflected the physical zonation identified in this study. The set of abiotic factors was reasonably informative (44% of variation explained) of the spatial variability in phytoplankton communities. Salinity and temperature showed the highest correlations with the first canonical root (see CCA in Fig. 8), indicating the importance of the water mass signal on the species spatial distribution within the BMC, mainly through their influence on nutrient supply. In fact, nutrients (basically DIN and phosphate) were major factors affecting the phytoplankton community, particularly within the colder SAW, as displayed in the second canonical root. Water column stability and silicate showed lower and negative correlations with this canonical root and were mostly associated with stations in the Intermediate Zone (see Fig. 8). UMLD presented similar (but opposing) correlations with the two significant canonical roots, denoting its less important influence on phytoplankton variability in this study (see Table 5).

The Subantarctic Zone was characterized by relatively low values of temperature, stability, silicate and UMLD, but high DIN and phosphate as well as moderate Chl *a* concentrations (see Table 4). In this zone, many species of dinoflagellates and diatoms were the main phytoplankton organisms. The

predominance of subantarctic water-related diatoms has already been described near our Subantarctic Zone (e.g. many small [$< 10 \mu\text{m}$] *Chaetoceros* spp.) (Fernandes and Brandini, 1999; Olguín et al., 2006). Garcia et al. (Garcia et al., 2008) found a remarkable bloom composed mainly by diatoms and dinoflagellates further south, along the Patagonia shelf-break front. However, low phytoplankton biomass and high macronutrient levels were found on the eastern side of that front, associated with typical Malvinas Current waters and a deeper UMLD. Under those conditions, a different phytoplankton community, mainly composed by very small flagellates (particularly *Phaeocystis* sp.), dominated. In the present study, the Subantarctic Zone under influence of SAW exhibited high concentration of nitrogen coupled with a shallow UMLD, which might have favored phytoplankton growth. However, Chl *a* levels were not particularly high and this is probably due to loss processes as grazing. This is suggested by the comparatively higher abundances of potential grazers such as mixotrophic/heterotrophic dinoflagellates (large *Gyrodinium* spp.) and ciliates such as *Didinium* spp., *Strombilidium* spp. and *Strombidium* spp. at this zone (see Table 3).

Mixotrophic/heterotrophic dinoflagellates dominance have already been reported in SAW closer to the BMC region with a contribution of *Gyrodinium* spp. together with large autotrophic species, such as *Ceratium lineatum*, *C. pentagonum grande*, *Dinophysis okamurai*, *Gymnodinium* spp. and *Prorocentrum* sp. (Fernandes and Brandini, 1999). The dominance of dinoflagellates along the Subantarctic Zone could be related to a possible Si limitation of diatoms growth (mean Si:N= 0.3) in this area (see Table 4).

On the eastern side of the study area, the Tropical Zone was represented by high values of silicate concentrations, temperature and salinity coupled with low DIN, phosphate and Chl *a* concentrations, on average (Table 4). This combination of factors seemed to favor a significant contribution of cyanobacteria and prasinophytes (determined by CHEMTAX) and of other distinct diatoms, such as *Hemiaulus* spp. and *Thalassionema nitzschioides*. Again, those diatoms have been found before in subtropical waters (Gayoso and Podestá, 1996; Fernandes and Brandini, 1999; Olguín et al., 2006) as well as cyanobacteria and small flagellates, which were usually abundant within the BC (Fernandes and Brandini, 1999; Carreto et al., 2008). The dominance of cyanobacteria in subtropical waters was also observed along the geostrophic front in the Eastern Alboran Sea (Claustre et al., 1994) while a dominance of cryptophytes and prasinophytes (in 2000 and 2001, respectively) was found in eastern New Zealand waters (Delizo et al., 2007). In oligotrophic waters, such small cells (particularly prokaryotes) thrive because they have low requirements for nutrients when compared to larger cells (Whitfield, 2001). However, the presence of relatively large diatoms in TW in this work is fairly unexpected, taking into account the relatively low nutrient concentrations (mainly DIN and phosphate), since diatoms are poor competitors at low phosphate concentrations (Egge, 1998). Stations located at the Intermediate

Zone represented a transition between the two sub-domains (Subantarctic Zone and Tropical Zone) of contrasting characteristics (Table 4). Besides the important presence of the small-sized pennate diatom *Cylindrotheca closterium* and the dinoflagellates *Prorocentrum minimum* and *Gymnodinium* spp. (< 20 µm), mainly small flagellates dominated over this region, grouped as “chemotaxonomic group” (see Fig. 6). Among those flagellates, *Phaeocystis antarctica* was dominant in most sites and, generally, under influence of subantarctic waters. This haptophyte has been previously observed in subantarctic waters of the Malvinas Current while other haptophytes were associated with a continental shelf community (Carreto et al., 2003). In our study, besides *P. antarctica*, other nanoflagellates (FlagI and FlagII determined by microscopic observations) probably included coccolithophores and chrysophytes, as previously observed along the shelf-break (Carreto et al., 2003), but not clearly identified in our study either by microscopy or by CHEMTAX. The similar pattern of enhanced Chl *a* concentration along the frontal (mixing) zone was found in studies developed in the Eastern Alboran Sea (Claustre et al., 1994) and along the Subtropical Convergence east of New Zealand (Delizo et al., 2007); however, both works have detected a diatom dominance associated to those high Chl *a* zones in contrast with the pattern of *Phaeocystis antarctica* dominance found in our study.

The Coastal Zone was marked by moderate temperature and low salinity, probably due to dilution by continental waters. Also, high phosphate levels and a deeper UMLD were found within that zone. However, the phytoplankton community was similar to the Intermediate Zone, but included some typical neritic dinoflagellates such as *Noctiluca scintillans* and *Ceratium tripos*, previously described by Balech (1988).

Apart from the physical and chemical factors controlling the development and distribution of phytoplankton communities, the role of microzooplankton (ciliates and heterotrophic dinoflagellates) and mesozooplankton (e.g. copepods) grazing on phytoplankton blooms has to be considered. This has been mentioned particularly for the SAW, across the Argentine Sea, when fast growth of primary producers in spring and summer were associated with high abundances of grazers such as copepods (Sabatini et al., 2004). Ammonium concentration can be an indicator of grazing pressure, since it is a common excretion product derived from heterotrophic metabolism (e.g. Pernthaler, 2005). High levels of ammonium along the Patagonian shelf-break were suggested as indication of grazing pressure controlling the phytoplankton biomass (Garcia et al., 2008; Painter et al., 2010). In the present study, ammonium reached up to 50% of surface DIN, mainly within the Intermediate Zone and Tropical Zone, while the lowest ammonium proportions were observed in the Coastal Zone (13–24%) and Subantarctic Zone (1–7%) (data not shown). At the same time, a higher proportion of chlorophyll *a* degradation products, which are usually associated with grazing processes, were found in the Subantarctic Zone, as compared to the other zones (see Table 4), but it

was only statistically different from the average proportion of the Tropical Zone (Kruskal-Wallis test H, $p < 0.05$). In fact, a rich zooplankton community, including meso-zooplankton groups, has been shown to occur at the BMC region (Berasategui *et al.*, 2005). It is possible that in the SAW there was a tight coupling between the growth of phytoplankton, based on consumption of ammonium and other nutrients and a concurrent high grazing pressure, constraining the accumulation of phytoplankton biomass (average 0.53 mg m^{-3}) in the Subantarctic Zone.

CONCLUSION

The BMC region studied in this work showed a complex distribution of phytoplankton communities, due to environmental forcing. High Chl *a* was associated with shelf and mixed waters, under strong water column stability and moderate nutrients concentration, favoring mainly the growth of *Phaeocystis antarctica*. Coastal waters presented moderate Chl *a* associated with the presence of typical neritic dinoflagellate species and deep UMLD. Tropical and Subantarctic waters showed relatively low Chl *a*, related to low nutrient levels (N and P) and strong stability (Tropical) and Si limitation (Subantarctic). The patchy distribution of phytoplankton communities followed mainly the water masses distribution in the study region. These results emphasize the importance of both conservative and non-conservative properties of water masses on the structure of phytoplankton communities.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the crew of the Brazilian Navy RV *Ary Rongel* for their assistance during the field sampling. We also acknowledge the Servicio de Hidrografía Naval (Argentina) for their cooperation in obtaining clearance for carrying out field work within Argentinean EEZ. The cruise 'PATEX VI' was conducted under the umbrella of the project "Southern Ocean Studies for Understanding Climate Changes Issues" (SOS-CLIMATE), a Brazilian contribution to the International Polar Year. Laboratory facilities were provided by the Center of Oceanography of FCUL (Lisbon, Portugal) for HPLC analyses, and by the Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos (Institute of Oceanography, FURG, Brazil) for microscopic analyses. We are grateful to Simon Wright, from the Australian Antarctic Division, for providing a copy of the CHEMTAX software v.1.95. This work was supported by financial resources from the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, grant 520189/2006-0), the Ministry of Science and Technology (MCT) and the Brazilian Ministry of Environment (MMA) to the Brazilian Antarctic Program (PROANTAR).

REFERENCES

- Aminot, A. and Chaussepied, J. (1983) *Manuel des Analyses Chimiques en Milieu Marin*. C.N.E.X.O. Brest, 230 pages.
- Arrigo, K. R. (2005) Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature*, **437**, 349–355.
- Balech, E. (1988) Los dinoflagelados del Atlantico Sudoccidental. *Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr.*, **1**, 1–310. Madrid.
- Barlow, R. G., Aiken, J., Holligan, P. M., Cummings, D. G., Maritorena, S., Hooker, S. (2002) Phytoplankton pigment and absorption characteristics along meridional transects in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res. I*, **47**, 637–660.
- Barré, N., Provost, C., Saraceno, M. (2006) Spatial and temporal scales of the Brazil-Malvinas Current confluence documented by simultaneous MODIS Aqua 1.1-km resolution SST and color images. *Adv. Space Res.*, **37**, 770–786.
- Berasategui, A. D., Ramírez, F. C., Schiariti, A. (2005) Patterns in diversity and community structure of epipelagic copepods from the Brazil-Malvinas Confluence area, south-western Atlantic. *J. Marine Syst.*, **56**, 309–316.
- Bianchi, A. A., Giulivi, C. F., Piola, A. R. (1993) Mixing in the Brazil-Malvinas Confluence. *Deep-Sea Res. I*, **40**, 1345–1358.
- Bianchi, A. A., Piola, A. R., Collino, G. J. (2002) Evidence of double diffusion in the Brazil-Malvinas Confluence. *Deep-Sea Res. I*, **49**, 41–52.
- Bianchi, A. A., Bianucci, L., Piola, A. R.; Pino, R. D.; Poisson, A. & Balestrini, C. F. (2005) Vertical stratification and air-sea CO₂ fluxes in the Patagonian shelf. *J. Geophys. Res.*, **110**, 1–10.
- Boltovskoy, D. (1981) Características biológicas del Atlántico Sudoccidental. In Boltovskoy, D. (ed.), *Atlas del Zooplancton del Atlantico Sudoccidental y Métodos de Trabajo con el Zooplancton Marino*. INIDEP, Mar del Plata, pp. 239–251.

- Brandini, F. P., Boltovskoy, D., Piola, A., Kocmur, S., Röttgers, R., Abreu, P. C., Lopes, R. M. (2000) Multiannual trends in fronts and distribution of nutrients and chlorophyll in the southwestern Atlantic (30–62°S). *Deep-Sea Res. I*, **47**, 1015–1033.
- Campagna, C., Piola, A. R., Marin, M. R., Lewis, M., Fernández, T. (2006) Southern elephant Seal trajectories, fronts and eddies in the Brazil/Malvinas Confluence. *Deep-Sea Res. I*, **53**, 1907–1924.
- Carreto, J. I., Lutz, V. A., Carignan, M. O., Colleoni, A. D. C., De Marco, S. G. (1995) Hydrography and chlorophyll *a* in a transect from the coast to the shelf-break in the Argentinean Sea. *Cont. Shelf Res.*, **15**, 315–336.
- Carreto, J. I., Montoya, N. G., Benavides, H. R., Guerrero, R., Carignan, M. O. (2003) Characterization of spring phytoplankton communities in the Río de La Plata maritime front using pigment signatures and cell microscopy. *Mar. Biol.*, **143**, 1013–1027.
- Carreto, J. I., Montoya, N., Akselman, R., Carignan, M. O., Silva, R. I., Colleoni, D. A. C. (2008) Algal pigments patterns and phytoplankton assemblages in different water masses of the Río de la Plata maritime front. *Cont. Shelf Res.*, **28**, 1589–1606.
- Chelton, D. B., Schlax, M. G., Witter, D. L., Richman, J. G. (1990) Geosat Altimeter Observations of the Surface Circulation of the Southern Ocean. *J. Geophys. Res.*, **95**, 17877–17903.
- Clarke, K. R. and Warwick, R. M. (1994) *Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Natural Environmental Research Council, Plymouth, UK, 234p.
- Claustre, H., Kerhervé, P., Marty, J. C., Prieur, L., Videau, C., Hecq, J. H. (1994) Phytoplankton dynamics with a geostrophic front: Ecological and biogeochemical implications. *J. Mar. Res.*, **52**, 711–742.
- De Souza, M. S., Mendes, C. R. B., Garcia, V. M. T., Pollery, R., Brotas, V. (2011) Phytoplankton community during a coccolithophorid Bloom in the Patagonian shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment analyses. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, doi:10.1017/S0025315411000439.

- Delizo, L., Smith, W. O., Hall, J. (2007) Taxonomic composition and growth rates of phytoplankton assemblages at the Subtropical Convergence east of New Zealand. *J. Plankton Res.*, **29**, 655–670.
- Dodge, J. D. (1982) Marine Dinoflagellates of the British Isles. *Her Majesty's Stationary Office*, London.
- Egge, J. K. (1998) Are diatoms poor competitors at low phosphate concentrations? *J. Marine Syst.*, **16**, 191–198.
- Egge, J. K. & Aksnes, D. L. (1992) Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, **83**, 281–289.
- Fernandes, L. F. and Brandini, F. P. (1999) Comunidade microplanctônica no Oceano Atlântico Sul Ocidental: biomassa e distribuição em novembro de 1992. *Rev. bras. oceanogr.*, **47**, 189–205.
- Garcia, C. A. E., Sarma, Y. V. B., Mata, M. M., Garcia, V. M. T. (2004) Chlorophyll variability and eddies in the Brazil-Malvinas Confluence region. *Deep-Sea Res. II*, **51**, 159–172.
- Garcia, C. A. E. and Garcia, V. M. T. (2008) Variability of chlorophyll-*a* from ocean color images in the La Plata continental shelf region. *Cont. Shelf Res.*, **28**, 1568–1578.
- Garcia, V. M. T., Garcia, C. A. E., Mata, M. M., Pollery, R. C., Piola, A. R., Signorini, S. R., McClain, C. R., Iglesias-Rodriguez, M. D. (2008) Environmental factors controlling the phytoplankton blooms at the Patagonia shelf-break in spring. *Deep-Sea Res. I*, **55**, 1150–1166.
- Gayoso, A. M. and Podestá, G. P. (1996) Surface hydrography and phytoplankton of the Brazil-Malvinas currents confluence. *J. Plankton Res.*, **18**, 941–951.
- Geider, R. J. and La Roche, J. (2002) Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur. J. Phycol.*, **37**, 1–17.
- Gonzalez-Silvera, A., Santamaria-del-Angel, E., Millán-Núñez, R. (2006) Spatial and temporal variability of the Brazil-Malvinas Confluence and the La Plata Plume as seen by SeaWiFS and AVHRR imagery. *J. Geophys. Res.*, **11**, C06010, doi:10.1029/2004JC002745.

- Gordon, A. L. (1989) Brazil-Malvinas Confluence – 1984. *Deep-Sea Res.*, **36**, 359–384.
- Hasle, G. R. and Syvertsen, E. E. (1996) Marine diatoms. In: Tomas, C.R. (Ed), *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. Academic Press Inc., London, pp. 5–385.
- Ho, T., Quigg, A., Finkel, Z. V., Milligan, A. J., Wyman, K., Falkowski, P. G., Morel, F. M. M. (2003) The elemental composition of some marine phytoplankton. *J. Phycol.*, **39**, 1145–1159.
- Jullion, L., Heywood, K. J., Garabato, A. C. N., Stevens, D. P. (2010) Circulation and Water Mass Modification in the Brazil–Malvinas Confluence. *J. Phys. Oceanogr.*, **40**, 845–864.
- Klausmeier C. A., Litchman, E., Daufresne, T., Levin, S. A. (2004a) Optimal nitrogen-to-phosphorus stoichiometry of phytoplankton. *Nature*, **429**, 171–174.
- Klausmeier C. A., Litchman, E., Levin, S. A. (2004b) Phytoplankton growth and stoichiometry under multiple nutrient limitation. *Limnol. Oceanogr.*, **49**, 1463–1470.
- Koroleff, F. (1969) Direct determination of ammonia in natural waters as indophenols blue. ICES C.M. 1969/C: 9. *Hydrology Communication*, p. 4.
- Laubsher, R. K., Perissinoto, R., McQuaid, C. D. (1993) Phytoplankton production and biomass at frontal zones in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Polar Biol.*, **13**, 471–481.
- Longhurst, A., 1998. *The Ecological Geography of the Sea*. Academic Press, Elsevier, Amsterdam, New York, 424 pages.
- Lutz, V. A., Segura, V., Dogliotti, A. I., Gagliardini, D. A., Bianchi, A. A., Balestrini, C. F. (2010) Primary production in the Argentine Sea during spring estimated by field and satellite models. *J. Plankton Res.*, **32**, 181–195.
- Mackey, M. D., Mackey, D. J., Higgins, H. W., Wright, S.W. (1996) CHEMTAX – a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, **144**, 265–283.

- Matano, R. P. (1993) On the Separation of the Brazil Current from the Coast. *J. Phys. Oceanogr.*, **23**, 79–90.
- Matano, R. P., Palma, E. D., Piola, A. R. (2010) The influence of the Brazil and Malvinas Currents on the southwestern Atlantic shelf circulation. *Ocean Sci. Discuss.*, **7**, 837–871.
- Mendes, C. R., Cartaxana, P., Brotas, V. (2007) HPLC determination of phytoplankton and microphytobentos pigments: comparing resolution and sensitivity of a C₁₈ and a C₈ method. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, **5**, 363–370.
- Mitchell, B. G. and Holm-Hansen, O. (1991) Observations and modelling of the Antarctic phytoplankton crop in relation to mixing depth. *Deep-Sea Res. II*, **38**, 981–1007.
- Möller, O. O., Piola, A. R., Freitas, A. C., Campos, J. D. (2008) The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. *Cont. Shelf Res.*, **28**, 1607–1624.
- Niencheski, L. F. and Fillmann, G. (1997) Chemical Characteristics. In: Seeliger, U., Odebrecht, C. and Castello, J. P. (Ed.), *Subtropical Convergence Environments: The Coast and Sea in the Southwestern Atlantic*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 96–98.
- Olguín, H. F., Boltovskoy, D., Lange, C. B., Brandini, F. (2006) Distribution of spring phytoplankton (mainly diatoms) in the upper 50 m of the Southwestern Atlantic Ocean (30–61°S). *J. Plankton Res.*, **28**, 1107–1128.
- Olson, D. B., Hitchcock, G. L., Mariano, A. J., Ashjian, C. J., Peng, G., Nero, R. W., Podestá, G. P. (1994) Life on the edge: marine life and fronts. *Oceanography*, **7**, 52–60.
- Painter, S. C., Poulton, A. J., Allen, J. T., Pidcock, R., Balch, W.M. (2010) The COPAS'08 expedition to the Patagonian Shelf: Physical and environmental conditions during the 2008 coccolithophore bloom. *Cont. Shelf Res.*, **30**, 1907–1923.
- Pernthaler, J. (2005) Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat. Rev. Microbiol.*, doi:10.1038/nrmicro1180.

- Peterson, R. G. and Stramma, L. (1991) Upper-level circulation in the South Atlantic Ocean. *Prog. Oceanogr.*, **26**, 11044–11054.
- Pezzi, L. P., Souza, R. B., Dourado, M. S., Garcia, C. A. E., Mata, M. M., Silva-Dias, M. A. F. (2005) Ocean-atmosphere in situ observations at the Brazil- Malvinas Confluence region. *Geophys. Res. Lett.*, **32**, L22603, doi:10.1029/2005GL023866.
- Pezzi, L. P., Souza, R. B., Acevedo, O., Wainer, I., Mata, M. M., Garcia, C. A. E, Camargo, R. (2009) Multiyear measurements of the oceanic and atmospheric boundary layers at the Brazil-Malvinas confluence region. *J. Geophys. Res.*, **114**, D19103, doi:10.1029/2008JD011379.
- Provost, C., Garçon, V., Falcon, L. M. (1996) Hydrographic conditions in the surface layers over the slope-open ocean transition area near the Brazil-Malvinas Confluence during austral summer 1990. *Cont.Shelf Res.*, **16**, 215–235.
- Quigg, A., Finkel, Z. V., Irwin, A. J., Rosenthal, Y., Ho, T., Reinfelder, J. R., Schofield, O., Morel, F. M. M., Falkowski, P. G. (2003) The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature*, **425**, 291–294.
- Rhee, G.-Y. (1978) Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition and nitrate uptake. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 10–25.
- Romero, S. I., Piola, A. R., Charo, M., Garcia, C. A. E. (2006) Chlorophyll-a variability off Patagonia based on SeaWiFS data. *J. Geophys. Res.*, **111**, C05021, doi: 10.1029/2005JC003244.
- Sabatini, M., Reta, R., Matano, R. (2004) Circulation and zooplankton biomass distribution over the southern Patagonian shelf during late summer. *Cont. Shelf Res.*, **24**, 1359–1373.
- Sournia, A. (Ed.) (1978) *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris. 337 pages.
- Souza, R. B. and Robinson, I. S. (2004) Satellite and Lagrangian observations of the Brazilian Coastal Current. *Cont. Shelf Res.*, **24**, 241– 262.

Stramma, L. and England, M. (1999) On the water masses and mean circulation of the South Atlantic Ocean, *J. Geophys. Res.*, **104**, 20863–20883.

ter Braak, C. J. F. and Prentice, I. C. (1988) A theory of gradient analysis. *Adv. Ecol. Res.*, **18**, 271–317.

ter Braak, C. J. F. (1994) Canonical community ordination. Part I. Basic theory and linear methods. *Ecoscience*, **1**, 127–140.

Utermöhl, H. (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, **9**, 1–38.

Whitfield, M. (2001) Interactions between phytoplankton and trace metal in the ocean. *Adv. Mar. Biol.*, **41**, 1–128.

Wright, S. W. and Jeffrey, S. W. (2006) Pigment markers for phytoplankton production. In: Volkmann J. K. (Ed.), *Marine Organic Matter: Biomarkers, Isotopes and DNA*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 71–104 [The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2, Part 2N].

Wright, S. W., Ishikawa, A., Marchant, H. J., Davidson, A. T., van den Enden, R. L., Nash, G. V. (2009) Composition and significance of picophytoplankton in Antarctic waters. *Polar Biol.*, **32**, 797–808.

Zapata, M., Rodríguez, F. and Garrido, J. L. (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, **195**, 29–45.

Zar, J. H. (1999) *Biostatistical Analysis*. Simon and Schuster, New Jersey, 663p.

TABLES

Table 1: Thermohaline ranges used to characterize water masses in the region (adapted from Bianchi et al., 2005 and Möller et al., 2008).

Water mass	Temperature (°C)	Salinity
Tropical Water (TW)	≥ 18.5	> 36
Subtropical Shelf Water (STSW)	> 14	$33.5 < S < 35.3$
	> 18.5	$35.3 < S < 36$
South Atlantic Central Water (SACW)	≤ 18.5	≥ 35.3
Subantarctic Shelf Water (SASW)	$9 < T \leq 11.5$	$33.5 \leq S \leq 34$
Subantarctic Water (SAW)	$9 \leq T \leq 14$	$33.5 \leq S \leq 34.2$
Low Salinity Coastal Water (LSCW)	-	< 33.5

Table 2. Output ratios of marker pigment to Chl a for surface and fluorescence peak (FP) samples. Input ratios were obtained from the literature (Carreto et al., 2003; de Souza et al., 2011) and output ratios according to procedure in the methods section.

	Allo	Fuco	Perid	Prasino	Zea	But-fuco	Hex-fuco	Chl <i>c</i> ₃	Chl <i>b</i>	Chl <i>a</i>
Input matrix										
Diatoms	0	0.863	0	0	0	0	0	0	0	1
Dinoflagellates	0	0	0.8	0	0	0	0	0	0	1
Chemotaxonomic group	0	0.313	0	0	0	0.28	0.491	0.243	0	1
<i>Phaeocystis antarctica</i>	0	0.174	0	0	0	0.105	0.396	0.154	0	1
Cryptophytes	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Prasinophytes	0	0	0	0.372	0	0	0	0	1.156	1
Cyanobacteria	0	0	0	0	1.115	0	0	0	0	1
Output matrix (surface)										
Diatoms	0	0.954	0	0	0	0	0	0	0	1
Dinoflagellates	0	0	0.704	0	0	0	0	0	0	1
Chemotaxonomic group	0	0.330	0	0	0	0.440	0.613	0.367	0	1
<i>Phaeocystis antarctica</i>	0	0.276	0	0	0	0.098	0.874	0.495	0	1
Cryptophytes	0.458	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Prasinophytes	0	0	0	0.111	0	0	0	0	0.806	1
Cyanobacteria	0	0	0	0	0.931	0	0	0	0	1
Output matrix (FP)										
Diatoms	0	1.009	0	0	0	0	0	0	0	1
Dinoflagellates	0	0	0.681	0	0	0	0	0	0	1
Chemotaxonomic group	0	0.379	0	0	0	0.283	0.696	0.440	0	1
<i>Phaeocystis antarctica</i>	0	0.477	0	0	0	0.237	0.877	0.615	0	1
Cryptophytes	0.503	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Prasinophytes	0	0	0	0.168	0	0	0	0	0.811	1
Cyanobacteria	0	0	0	0	0.913	0	0	0	0	1

Table 3. Checklist of main species or higher level taxa identified in surface waters during the ‘PATEX VI’ cruise and ranges of cell abundance (cells L⁻¹) for respective zones identified in this work. The autotrophic organisms were labeled (a) and those used in the cluster and canonical correspondence analyses were labeled (b).

Taxonomic groups	Coastal Zone	Sub-antarctic Zone	Tropical Zone	Intermediate Zone
Flagellates				
Flagellates I (a, b) (2-5 µm; including <i>Phaeocystis antarctica</i>)	75842 - 176965	52367 - 191411	65008 - 2900061	151684 - 7746739
Flagellates II (> 5 µm) (a, b)	1803 - 13526	0 - 19682	0 - 191167	0 - 26150
Class Cryptophyceae (a, b)	902 - 15329	0 - 15329	0 - 4960	0 - 42381
Class Dinophyceae				
<i>Amphidinium spheonoides</i>		0 - 922		
<i>Ceratium furca</i> (a, b)			0 - 20	
<i>Ceratium fusus</i> (a, b)		0 - 40	0 - 20	
<i>Ceratium lineatum/pentagonum</i> (a, b)	0 - 360	0 - 1920	0 - 400	
<i>Ceratium pentagonum</i> (a, b)		0 - 620	0 - 40	
<i>Ceratium tripos tripos</i> (a, b)	20 - 40		0 - 20	0 - 20
<i>Cochlodinium</i> spp.		0 - 280	0 - 180	
<i>Dinophysis</i> spp. (a, b)		0 - 140	0 - 20	
<i>Gonyaulax scrippsae</i> (a, b)	0 - 100	0 - 380		
<i>Gymnodinium</i> spp. I (< 20 µm) (a, b)	902 - 6312	6763 - 59064	4960 - 45988	0 - 14428
<i>Gymnodinium</i> spp. II (> 20 µm) (a, b)	0 - 160	2580 - 25920	80 - 3040	0 - 20
<i>Gymnodinium filum</i>		0 - 40		
<i>Gymnodinium splendens</i>		80 - 22080	0 - 160	0 - 20
<i>Gyrodinium fusiforme</i>		0 - 3520	0 - 40	
<i>Gyrodinium</i> sp. (< 20 µm) (a, b)	0 - 902	0 - 2254	0 - 4960	
<i>Gyrodinium</i> spp. (> 20 µm)	0 - 2300	520 - 3000	0 - 540	
<i>Katodinium</i> spp.		0 - 1803	0 - 1803	0 - 451
<i>Noctiluca scintillans</i>	20 - 60			
<i>Oblea baculifera</i>	0 - 20	0 - 40		
<i>Oxytoxum</i> spp. (a, b)		0 - 3156	0 - 4058	0 - 451
Peridinales I (< 20 µm) (a, b)	902 - 1803	1803 - 29306	0 - 13075	0 - 902
Peridinales II (> 20 µm) (a, b)	1011 - 4007	451 - 2400	0 - 1803	
<i>Polykrikos</i> sp.			0 - 140	
<i>Prorocentrum micans</i> (a, b)	20 - 460		0 - 120	0 - 20
<i>Prorocentrum minimum</i> (a, b)	1353 - 1803	2254 - 9468	0 - 7214	0 - 3607
<i>Prorocentrum minimum</i> (~ 20 µm) (a, b)	80 - 1420		0 - 60	0 - 20
<i>Prorocentrum rostratum</i> (a, b)			0 - 380	
<i>Prorocentrum</i> aff. <i>scutellum</i> (a, b)		340 - 1620	60 - 500	0 - 20
<i>Protoperidinium</i> spp.	440 - 780	300 - 8180	40 - 902	0 - 20
<i>Scrippsiella</i> cf. <i>trochoidea</i> (a, b)		0 - 200		
<i>Torodinium robustum</i> (a, b)	100 - 240	0 - 180	0 - 120	0 - 20
Other autotrophic dinoflagellates (a, b)	0 - 40	0 - 920	0 - 40	
Class Bacillariophyceae				
<i>Asteromphalus sarcophagus</i> (a, b)	0 - 2254			
<i>Chaetoceros</i> spp. I (< 10 µm) (a, b)		0 - 293965	0 - 22543	
<i>Chaetoceros</i> spp. II (> 10 µm) (a, b)	0 - 6312	0 - 14777	0 - 25051	
<i>Cylindrotheca closterium</i> (a, b)		0 - 4509	0 - 4058	0 - 115569
<i>Guinardia delicatula</i> (a, b)	902 - 26601		0 - 19838	
<i>Guinardia striata</i> (a, b)			0 - 400	
<i>Guinardia tubiformis</i> (a, b)		0 - 902		
<i>Guinardia</i> spp. (a, b)	160 - 180	0 - 200	0 - 6843	
<i>Hemiaulus</i> spp. (a, b)		0 - 1353	0 - 180	
<i>Meuniera membranaceae</i> (a, b)	0 - 180			
<i>Nitzschia</i> cf. <i>longissima</i> (a, b)	120 - 902	0 - 120		
<i>Pseudonitzschia</i> spp. (a, b)	0 - 10370	0 - 65827	0 - 31561	
<i>Rhizosolenia</i> spp. (a, b)	400 - 5280		20 - 620	0 - 20
<i>Thalassionema nitzschiioides</i> (a, b)			0 - 8110	
<i>Thalassionemataceae</i> (a, b)		0 - 240	0 - 1500	
<i>Thalassiosira</i> spp. I (< 20 µm) (a, b)	15780 - 22543	451 - 132555	0 - 962	0 - 451
<i>Thalassiosira</i> spp. II (> 20 to 50 µm) (a, b)	120 - 400	0 - 1000	0 - 100	0 - 20
<i>Thalassiosira</i> spp. III (> 50 to 100 µm) (a, b)		0 - 20	0 - 60	
Other centrics (a, b)	6332 - 20289	0 - 160	0 - 1353	0 - 5417
Other pennates (a, b)	0 - 300	0 - 200	20 - 1453	
Ciliophora				
<i>Didinium</i> spp.		0 - 1140	0 - 40	0 - 40
<i>Monodinium</i> sp.			0 - 80	
<i>Lacrymaria</i> sp.		0 - 80		
<i>Myrionecta rubra</i> (a, b)	200 - 831	0 - 360	0 - 5169	0 - 902
<i>Dadayiella ganymedes</i>			0 - 220	
<i>Dictyocysta elegans speciosa</i>			0 - 40	
<i>Salpingella</i> spp.		0 - 40	0 - 140	
<i>Laboea strobila</i>	0 - 160	0 - 20	0 - 20	0 - 20
<i>Strobilidium</i> spp.	180 - 200	80 - 480	40 - 320	0 - 20
<i>Strombidium</i> spp.	60 - 120	20 - 600	120 - 500	0 - 40
<i>Tontonia gracilima</i>		0 - 40	0 - 20	
Vorticelids		0 - 520	0 - 20	
Oligotrichids (< 20 µm)	60 - 260	451 - 3847	1353 - 6312	0 - 902
Other ciliates		0 - 200	0 - 20	

Table 4. Mean and minimum-maximum values of environmental variables at surface (or water column for UMLD and stability) for each zone within the study region, discriminated by the Cluster analysis. DegP: degradation products of Chl *a* (chlorophyllide *a*, pheophytin *a* and pheophorbide *a*).

	CZ	SAZ	TZ	IZ
Temperature (°C)	12.7 (11.7–13.7)	8.4 (8.1–8.7)	17.6 (16.9–18.8)	11.4 (9.9–13.9)
Salinity	33.69 (33.47–33.91)	33.92 (33.85–34.02)	34.75 (33.84–35.98)	33.62 (33.04–33.89)
Chl <i>a</i> (mg m ⁻³)	0.92 (0.29–1.98)	0.53 (0.30–0.90)	0.22 (0.13–0.36)	1.11 (0.39–2.27)
DIN (µm)	3.22 (1.88–4.67)	9.22 (6.52–10.92)	2.04 (0.94–3.62)	2.78 (1.24–6.64)
Phospahte (µm)	0.66 (0.53–0.79)	0.66 (0.55–0.76)	0.40 (0.18–0.63)	0.48 (0.34–0.89)
Silicate (µm)	2.33 (1.53–3.15)	2.27 (0.61–5.18)	4.35 (1.83–7.33)	3.14 (1.69–6.41)
N:P	4.8 (3.5–6.3)	14.3 (10.7–19.8)	5.9 (2.3–11.8)	6.4 (1.5–14.0)
Si:N	0.8 (0.5–1.3)	0.3 (0.06–0.8)	2.5 (0.7–5.7)	1.6 (0.4–4.8)
UMLD (m)	15 (9–25)	9 (8–13)	14 (8–20)	12 (7–20)
Stability (10 ⁻⁸ rad ² m ⁻¹)	1153.2 (893.2–1716.1)	885.1 (611.1–1085.9)	1392.7 (318.2–2622.7)	1846.9 (1129.2–4421.2)
DegP: Chl <i>a</i>	0.017 (0.006–0.025)	0.046 (0.016–0.074)	0.011 (0–0.028)	0.03 (0.006–0.078)

Table 5. Factor loadings (correlation coefficients) of environmental variables with canonical roots estimated by canonical correspondence analysis in Fig. 7.

Parameter	1 st canonical root	2 nd canonical root
Temperature	0.445	-0.780
Salinity	0.634	-0.363
DIN	0.173	0.873
Phosphate	-0.039	0.571
Silicate	-0.008	-0.350
UMLD	-0.369	-0.350
Stability	0.201	-0.459

FIGURES

Fig. 1

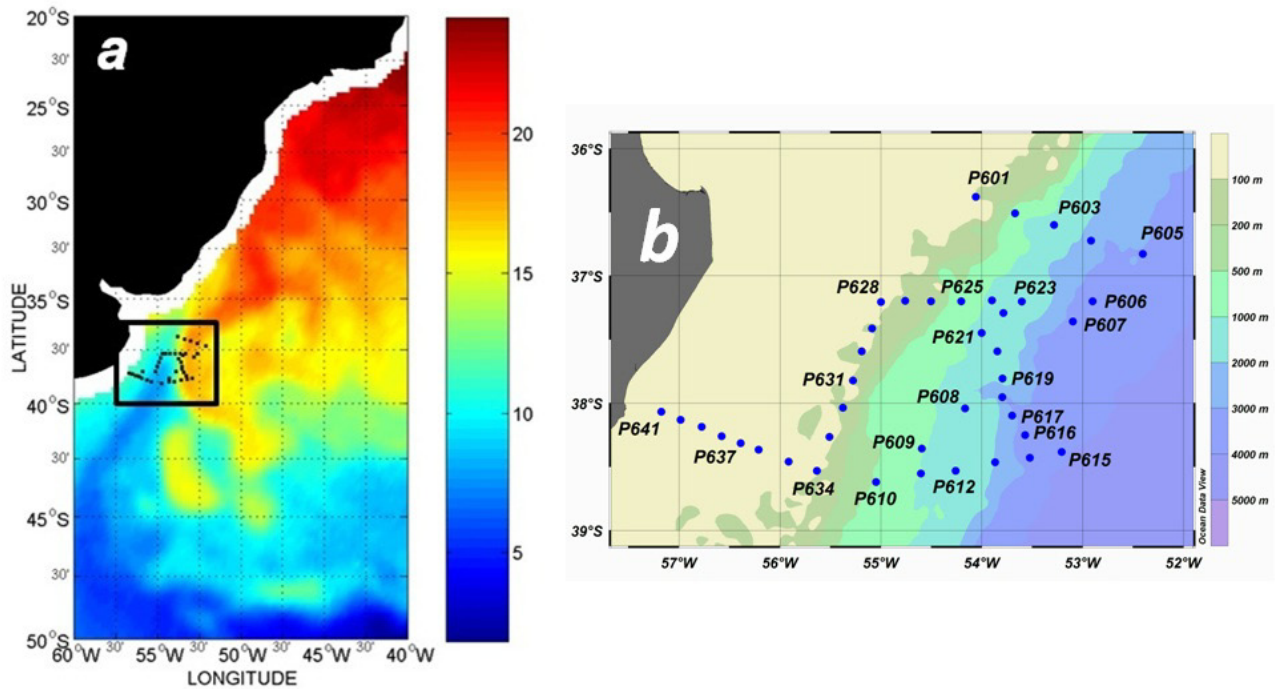


Fig. 1. AMSR-E 8-day Sea Surface Temperature (SST) (°C) composite map for 11-17 October 2008, showing the location of 41 oceanographic stations occupied at the Brazil-Malvinas Confluence region during the 'PATEX VI' cruise (a) and a detailed map (b) showing some station labels over the cruise track.

Fig. 2

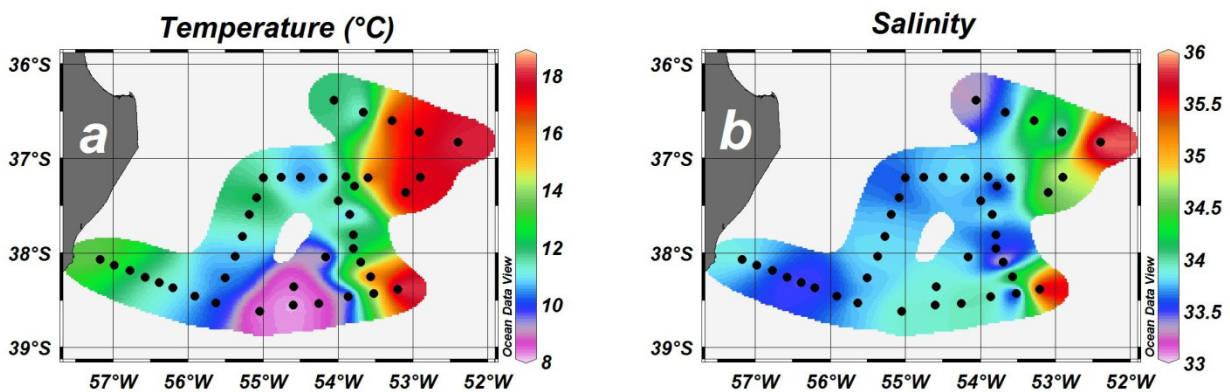


Fig. 2. Surface distributions of temperature (°C) (a) and salinity (b) over the study area.

Fig. 3

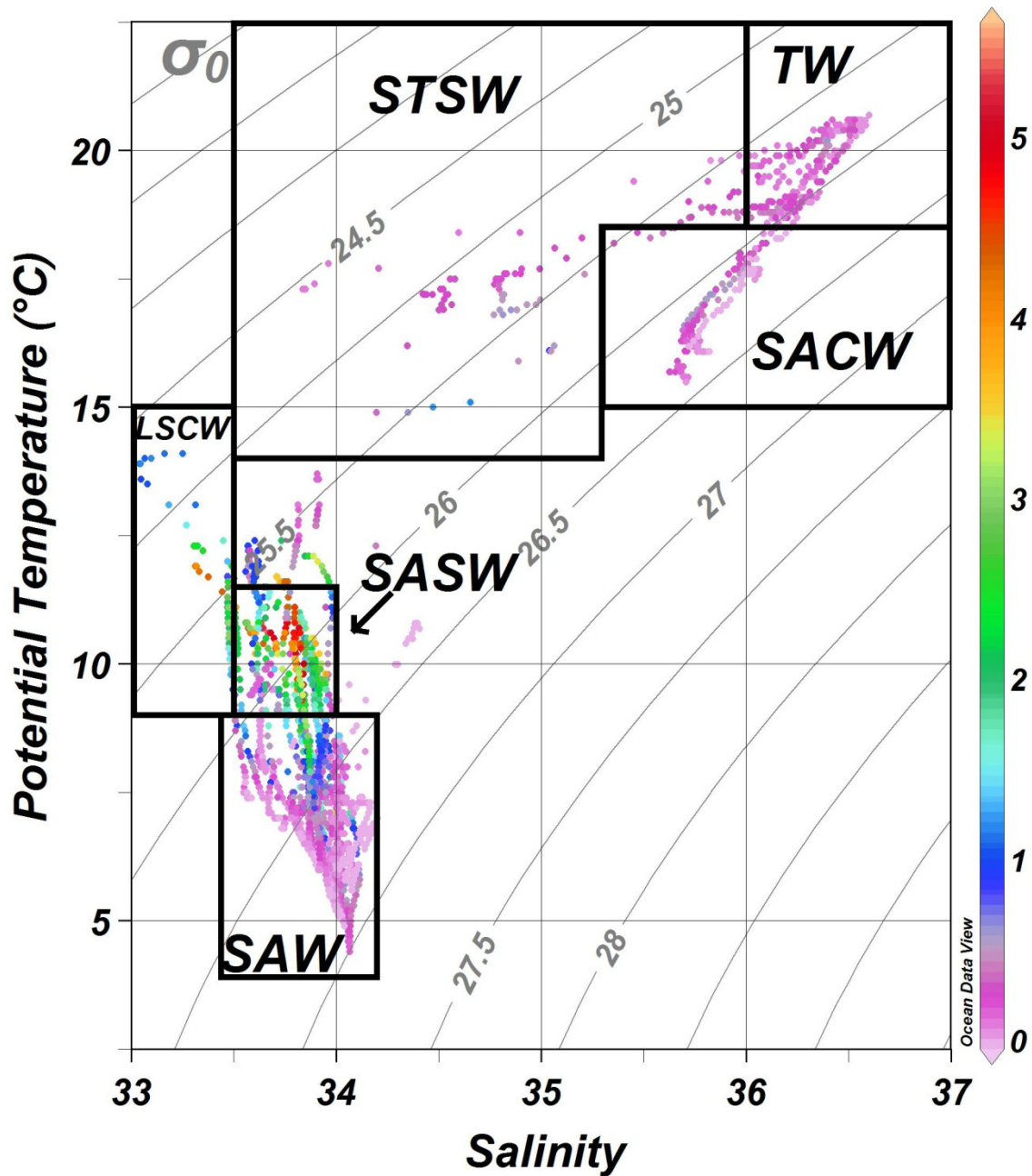


Fig. 3. T-S diagram for the first 100 m of all stations occupied during the 'PATEX VI' cruise. Dot colors indicate Chl *a* concentration (mg m^{-3} on the color bar) obtained from Chl *a* versus fluorescence profile relationships. Dots that are not classified as a specific water mass are represented by mixing of SAW and TW. SASW: Sub-Antarctic Shelf Water; SAW: Sub-Antarctic

Water; TW: Tropical Water; STSW: (TW), Sub-Tropical Shelf Water; SACW: South Atlantic Central Water; LSCW: Low Salinity Coastal Water.

Fig. 4

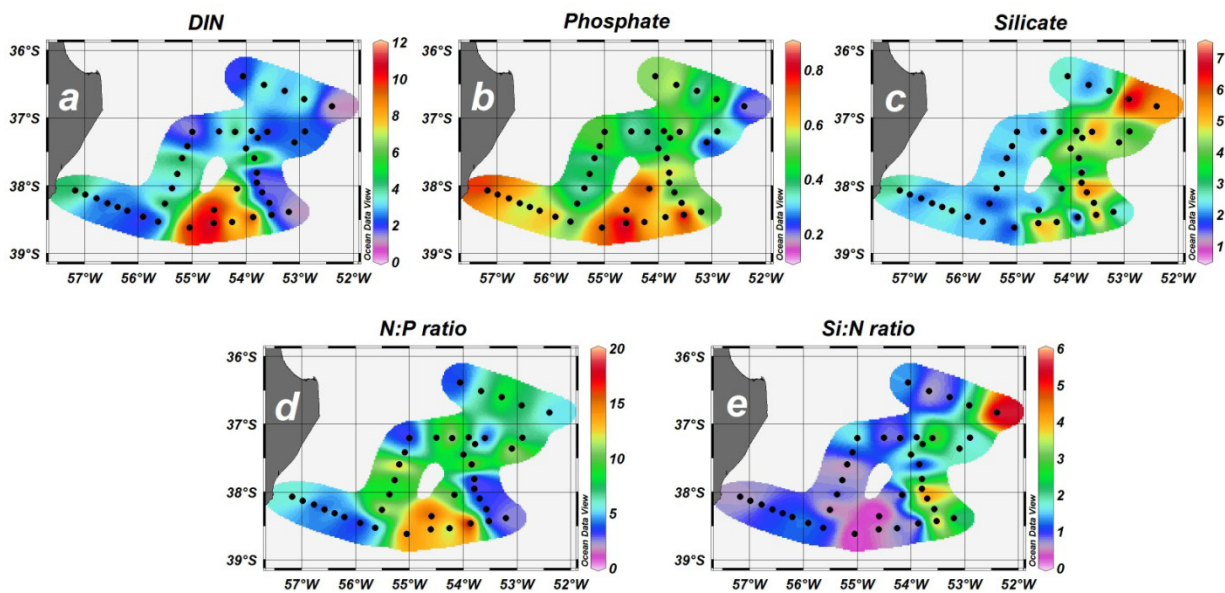


Fig. 4. Surface distribution of DIN (a), phosphate (b) and silicate (c), in μM , along with N:P (d) and Si:N (e) ratios in the study area.

Fig. 5

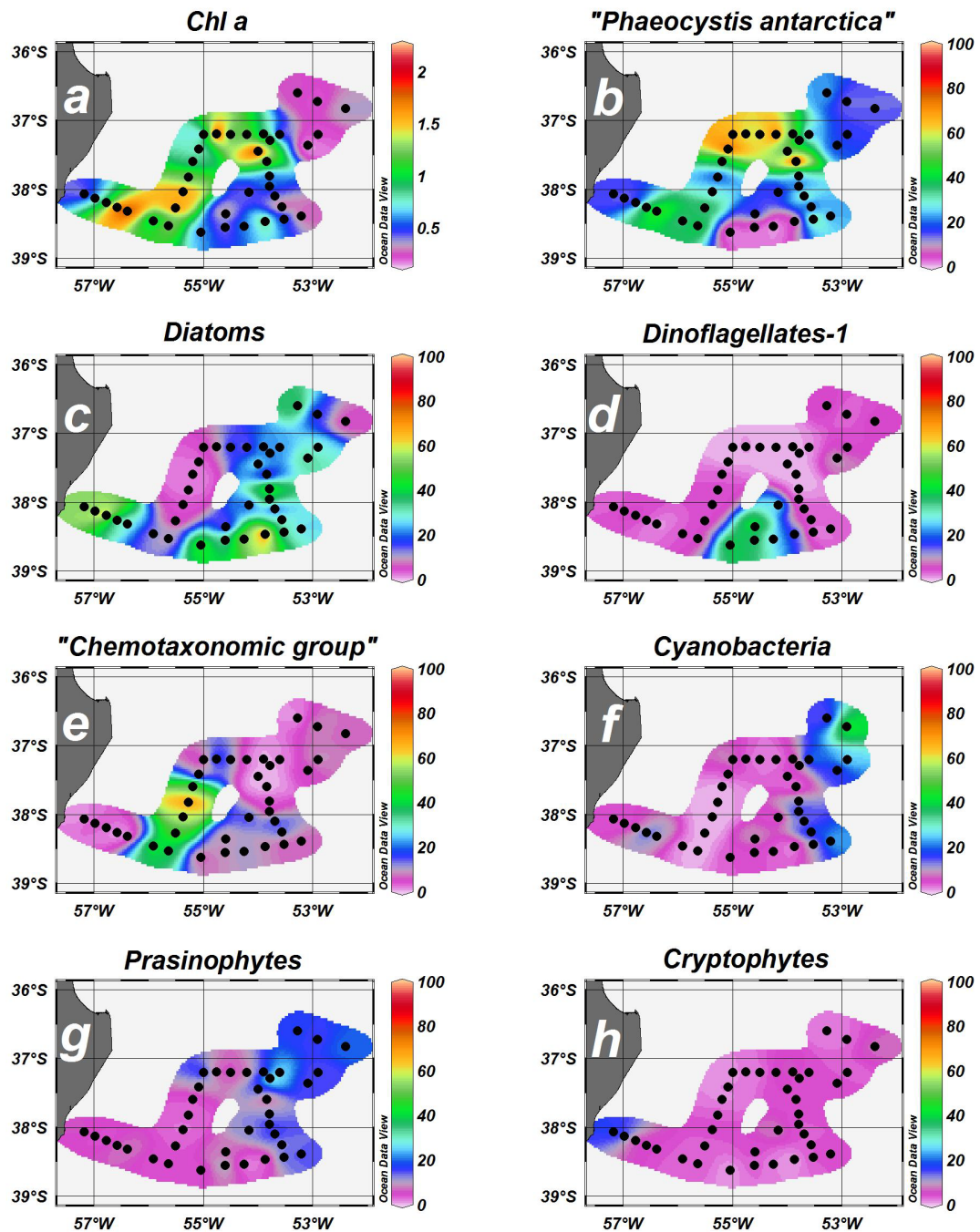


Fig. 5. Surface distributions of Chl *a* concentration (mg m⁻³) (a) and relative contribution of phytoplankton groups to total Chl *a*, according to interpretation of HPLC-derived pigment data

using CHEMTAX program: “*P. antarctica*” (b); Diatoms (c); Dinoflagellates-1 (d); “Chemotaxonomic group” (e); Cyanobacteria (f); Prasinophytes (g); and Cryptophytes (h).

Fig. 6

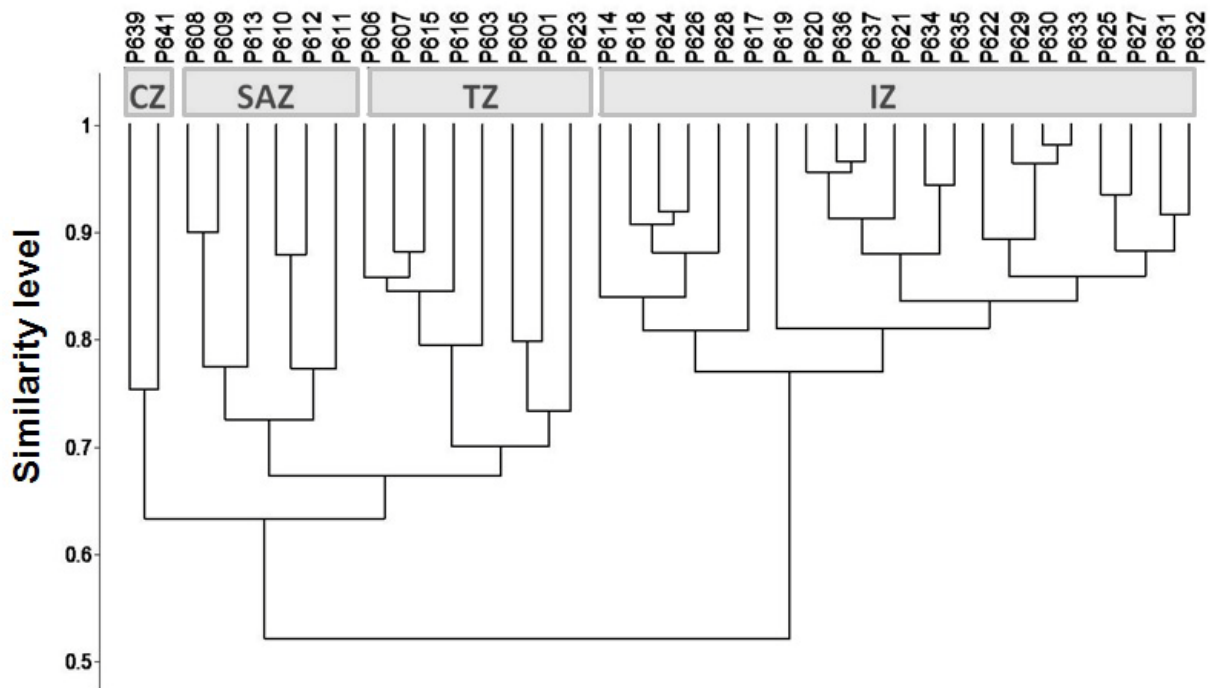


Fig. 6. Dendrogram for sampling stations based on absolute abundance of major phytoplankton groups at surface (less frequent taxa [$<10\%$] were excluded) from microscopic analysis, using Bray-Curtis similarity index and group average linkage. The clusters were named according to four similarity zones as follows: Coastal Zone (CZ), Subantarctic Zone (SAZ), Tropical Zone (TZ) and Intermediate Zone (IZ).

Fig. 7

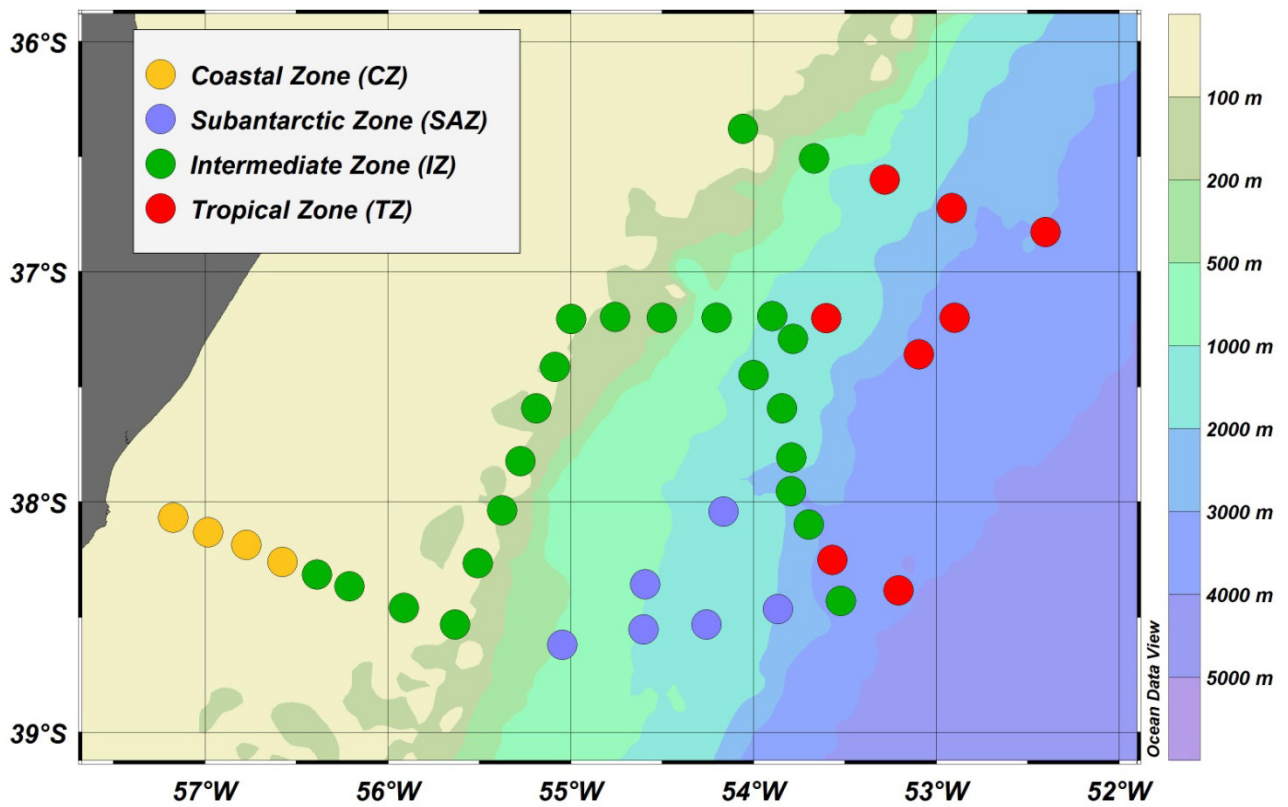


Fig. 7. Schematic map of the four zones classified based on phytoplankton distribution. Inset shows the labels for the respective zones and color bar indicates isobaths (m).

surface absolute abundance of major species/groups, whose abbreviations are as follows: Flagellates I (2-5 μm ; including *Phaeocystis antarctica* – FlagI), Flagellates II (>5 μm - FlagII), Class Cryptophyceae (Crypt), *Ceratium* spp. (Cer), *Cochlodinium* sp. (Coch), *Dinophysis* spp. (Dinph), *Gonyaulax* cf. *scrippsae* (Gony), *Gymnodinium* spp. I (< 20 μm - GymnI), *Gymnodinium* spp. II (> 20 μm - GymnII), *Gyrodinium* sp. I (< 20 μm - GyroI), *Oxytoxum* spp. (Oxyt), Peridinales I (< 20 μm - PerI), Peridinales II (> 20 μm - PerII), *Prorocentrum micans* (Pmic), *P. minimum* (Pmin), *P. minimum* II (~20 μm - PminII), *P. rostratum* (Prost), *P. aff. scutellum* (Pscut), *Scrippsiella* cf. *trochoidea* (Scripp), *Torodinium robustum* (Torod), other dinoflagellates (Dinof), *Asteromphalus sarcophagus* (Asarco), *Chaetoceros* spp. I (< 10 μm - ChaetI), *Chaetoceros* spp. II (> 10 μm – ChaetII), *Cylindrotheca closterium* (Cylclo), *Guinardia delicatula* (Gdelic), *Guinardia* spp. (Gspp), *Hemiaulus* spp. (Hspp), *Meuniera membranacea* (Mmembr), *Nitzschia longissima* (Nlong), *Pseudonitzschia* spp. (Pseudo), *Rhizosolenia* spp. (Rhizo), *Thalassionema nitzschioides* (Tnitz), *Thalassionemataceae* (Tnema), *Thalassiosira* spp. I (< 20 μm - ThaI), *Thalassiosira* spp. II (> 20 to 50 μm - ThaII), *Thalassiosira* spp. III (> 50 to 100 μm - ThaIII), Other Centrics (Centr), Other Pennates (Penn), *Myrionecta rubra* (Mrub).

ANEXO III

Mendes, C.R.B., **Souza, M.S.de**, Garcia, V.M.T., Leal, M.C., Brotas, V. e Garcia, C.A.E. Dynamics of phytoplankton communities during late summer around the tip of the Antarctic Peninsula. Artigo submetido (em revisão) ao *Deep-Sea Research I*. 57p.

A participação do segundo autor/doutorando na elaboração deste manuscrito foi na redação (juntamente com R. Mendes), na interpretação de resultados e análises de dados taxonômicos complementares por microscopia.

Dynamics of phytoplankton communities during late summer around the tip of the Antarctic Peninsula

Carlos Rafael Borges Mendes^{a,b*}, Márcio Silva de Souza^b, Virginia Maria Tavano Garcia^b, Miguel Costa Leal^c, Vanda Brotas^{a,d}, Carlos Alberto Eiras Garcia^b

^a Centro de Oceanografia, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 1749-016 Lisboa, Portugal

^b Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Av. Itália, km 8, Rio Grande, RS 96201-900, Brazil

^c Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro, Campus de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal

^d Plymouth Marine Laboratory, Prospect Place, PL1 3DH, Plymouth, United Kingdom

*Corresponding author: Tel. + 351217500000; Fax. + 351217500009; Email rmendes@fc.ul.pt

ABSTRACT

The composition and distribution of phytoplankton assemblages around the tip of the Antarctic Peninsula were studied during two summer cruises carried out in February/March 2008 and February/March 2009. Water samples were collected for HPLC/CHEMTAX pigment analysis and microscopic observations. A great spatial variability in chlorophyll *a* (Chl *a*) was observed in the study area: highest levels in the vicinity of the James Ross Island (exceeding 7 mg m⁻³ in 2009), intermediate values (0.5 to 2 mg m⁻³) in the Bransfield Strait, and low concentrations in the Weddell Sea and Drake Passage (below 0.5 mg m⁻³). Phytoplankton assemblages were generally dominated by diatoms, especially at coastal stations with high Chl *a* concentration, where diatom contribution was above 90% of total Chl *a*. Nanoflagellates, such as cryptophytes and/or *Phaeocystis antarctica*, replaced diatoms in open-ocean areas (e.g., Weddell Sea). Many species of peridinin-lacking autotrophic dinoflagellates (e.g., *Gymnodinium* spp.) were also important to total Chl *a* biomass at well-stratified stations of Bransfield Strait. Iron limitation, inferred from a Fe-nutritional state index (19'-hexanoyloxyfucoxanthin:chlorophyll *c*₃ ratio), and water column structure were the most important environmental factors determining phytoplankton communities' biomass and distribution. The HPLC pigment data also allowed an assessment of different physiological responses of phytoplankton to ambient light variation. The present study provides new insights about the dynamics of phytoplankton in an undersampled region of the Southern Ocean highly susceptible to global climate change.

- 1 KEY WORDS: Antarctic Peninsula, Phytoplankton, Pigments, HPLC,
- 2 CHEMTAX
- 3

1. Introduction

The Antarctic Peninsula (AP) is experiencing one of the fastest rates of regional climate change on Earth, as ocean surface temperatures at the continental margin of the western AP have undergone a pronounced warming (3-4°C) over the past century (Turner et al., 2005; Steig et al., 2009). Such changes promote the collapse of ice shelves, retreat of glaciers and exposure of new terrestrial habitats (Clarke et al., 2007). Environmental features, as regional circulation system, seasonal changes in the light regime and sea ice cover, have been shown to determine a latitudinal variation in phytoplankton productivity along the western AP (Garibotti et al., 2003). Moreover, recent studies have shown that changes in phytoplankton biomass and composition along the western shelf of the AP are associated with regional long-term climate alterations (Montes-Hugo et al., 2009).

The Southern Ocean is generally a high-nutrient and low-chlorophyll (HNLC) area, mainly due to the limitation of micronutrients, such as iron. However, high phytoplankton biomass has been observed in particular regions, especially at oceanic fronts, marginal ice zones and nearshore straits, bays, and lees of islands (Prézelin et al., 2000 and references therein). These high biomass regions are considered critical feeding sites for higher trophic levels and play a crucial role on biogeochemical cycling of nutrients. Phytoplankton blooms in those regions (usually dominated by diatoms or haptophytes, such as *Phaeocystis antarctica*) are generally associated with the development of a shallow mixed layer (with increased light levels that enhance phytoplankton growth) and/or iron availability (Prézelin et al., 2000). On the other hand, recent

1 studies have shown an increasing dominance of cryptophytes in the AP region,
2 particularly in areas with glacial melt water (Moline and Prézelin, 1996; Moline
3 et al., 2004). The dominance of cryptophytes instead of diatoms may influence
4 the trophic web, as cryptophytes are more efficiently grazed by salps than by
5 antarctic krill (Moline et al., 2004). Therefore, studies on phytoplankton and the
6 influence of environmental constraints in species/groups composition are
7 relevant for evaluation of ecosystem changes, both at short and long-term
8 scales.

9 The study of phytoplankton community composition has been classically
10 performed with light microscope examination. An alternative way to study
11 phytoplankton community structure is through chemotaxonomic methods based
12 on High Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis, which rely on
13 the presence and relative concentration of pigments that are characteristic of
14 distinct algal taxonomic groups (Wright and Jeffrey, 2006). Nevertheless, the
15 use of phytoplankton pigments in chemotaxonomic methods has drawbacks,
16 such as non-unique pigment markers and/or potential fluctuations in pigment
17 ratios with physiological stressors, both at species and at cellular level (e.g.,
18 irradiance and nutrients) (Wright and Jeffrey, 2006). On the other hand,
19 variations in the relative concentration of those pigments may be used as
20 indicators of the physiological state of phytoplankton communities (Moline,
21 1998; DiTullio et al., 2007). One of the chemotaxonomic tools that has been
22 developed and continuously improved to minimize errors inherent to fluctuations
23 of pigment ratios is CHEMTAX (Mackey et al., 1996). This approach involves an
24 iterative process of matrix factorization to optimize pigment ratios in order to
25 estimate the contribution of phytoplankton groups to total chlorophyll *a* (Chl *a*).

CHEMTAX has been extensively used in phytoplankton communities in the Australian sector of the Southern Ocean (Wright et al., 1996; Wright and van den Enden, 2000; Wright et al., 2009; 2010) but only few studies have applied this approach to the AP region (Rodriguez et al., 2002; Kozlowski et al., 2011). In the present work, the spatial pattern of phytoplankton communities was studied around the tip of the AP, encompassing the Bransfield Strait, part of the Drake Passage and a northwestern section in the Weddell Sea. On the eastern side of the AP, particularly in the ice edge zone of the Weddell Sea, extensive phytoplankton blooms have been detected during spring and summer (Sullivan et al., 1993; Park et al., 1999; Kang et al., 2001), which form an important feeding ground for grazers. In addition, the shallows and bays of southwestern Bransfield Strait are breeding grounds for a host of biota, especially krill (Zhou et al., 1994), as a result of high surface phytoplankton biomass associated with seasonal blooms (Karl et al., 1991; Castro et al., 2002). The main objective of the present study was to understand phytoplankton biomass variation and assemblage distribution during two late summers around the tip of AP by chemotaxonomic analysis complemented with microscopic observations. The specific questions addressed in this study were: (1) what is the relationship between the thermohaline structure, water-column physico-chemical properties and the phytoplankton communities in different areas of the study region?; and (2) can photosynthetic pigments be used as indices (proxies) that reflect physiological state and adaptations of phytoplankton communities to environmental constraints (e.g., iron-limitation and light availability)?

2. Material and Methods

2.1. Study area and sampling collection

Oceanographic cruises were conducted in the adjacent waters of the tip of AP, from 60.6°S to 64.3°S and from 48.3°W to 62.2°W (Fig. 1), during late summer of 2008 (February/March 2008) and 2009 (February/March 2009) and as part of the SOS-CLIMATE (Southern Ocean Studies for Understanding Global-CLIMATE Issues) project. Surface water samples were taken in all CTD (conductivity-temperature-depth) stations for phytoplankton pigments and microscopic analyses (phytoplanktonic cell abundance and carbon biomass). No microscopic analyses were made for the Weddell Sea samples due to very low phytoplankton concentrations. Both physical data (conductivity, temperature and salinity) and water samples were collected using a combined Sea-Bird CTD/Carrousel 911+system® equipped with 24 five-liter Niskin bottles. Density (kg m^{-3}) was calculated for evaluation of the water column physical structure based on temperature, salinity and pressure data. The upper mixed layer (UML) depth was determined as the depth where a change of 0.05 kg m^{-3} occurred over a 5 m depth interval (Mitchell and Holm-Hansen, 1991). At some stations, chosen according with the fluorescence profiles (WetLabs® profiling fluorometer), water samples were taken from several depths for phytoplankton pigment analysis. Phytoplankton cell abundance and carbon biomass data were calculated for surface samples, as they are representative of the UML (Garibotti et al., 2003).

2.2. HPLC pigment analysis

1
2 Immediately after sampling, seawater samples (1-2 L) were filtered onto
3 Whatman GF/F filters (nominal pore size 0.7 μm and 25 mm in diameter), under
4 vacuum pressure (< 500 mbar) and filters were immediately stored in liquid
5 nitrogen. Phytoplankton pigments were extracted in the dark with 2 mL of 95%
6 cold-buffered methanol (2% ammonium acetate) for 30 min at -20°C . Samples
7 were sonicated (Bransonic, model 1210, w: 80, Hz: 47) for 1 min at the
8 beginning of the extraction period. Samples were then centrifuged at 1100 g for
9 15 min at 4°C . Extracts were filtered (Fluoropore PTFE membrane filters, 0.2
10 μm pore size) and immediately injected in the HPLC instrument. Pigment
11 extracts were analyzed using a Shimadzu HPLC comprised of a solvent delivery
12 module (LC-10ADVP) with system controller (SCL-10AVP), a photodiode array
13 (SPD-M10ADVP), and a fluorescence detector (RF-10AXL). The
14 chromatographic separation of pigments was achieved using a monomeric OS
15 C8 column (Symmetry C8, 15 cm long, 4.6 mm in diameter, and 3.5 μm particle
16 size). Mobile phases were: (A) methanol:acetonitrile:aqueous pyridine solution
17 (0.25 M, pH adjusted to 5.0 with acetic acid) (50:25:25, v/v/v), and (B)
18 methanol:acetonitrile:acetone (20:60:20, v/v/v). The solvent gradient followed
19 Zapata et al. (2000) with a flow rate of 1 mL min^{-1} , with an injection volume of
20 100 μL , and 40 minute runs. The limit of detection and limit of quantification of
21 this method were calculated and discussed in Mendes et al. (2007). Pigments
22 were identified from both absorbance spectra and retention times and
23 concentrations calculated from the signals in the photodiode array detector or
24 fluorescence detector (Ex. 430 nm; Em. 670 nm). The HPLC system was
25 previously calibrated with pigment standards from Sigma (chlorophyll *a*, *b* and

β-carotene) and DHI (for other pigments). Table 1 lists all pigments detected above the limit of quantification and that were considered in this study.

2.3. CHEMTAX analysis of pigment data

The relative abundance of microalgal groups contributing to total Chl *a* biomass was calculated by pigment concentration data using CHEMTAX v1.95 chemical taxonomy software (Mackey et al., 1996; Wright et al., 1996; Wright et al., 2009). CHEMTAX uses a factor analysis and steepest-descent algorithm to best fit the data on to an initial pigment ratio matrix. The basis for calculations and procedures are fully described in Mackey et al. (1996). The initial pigment ratios of major algal classes were based on pigment matrices used in studies from the western AP region (Rodríguez et al., 2002; Kozłowski et al., 2011) (Table 2a). Based on the identified diagnostic pigments and confirmation of the higher taxonomic groups by microscopic analysis, 6 algal groups were loaded on CHEMTAX: diatoms, dinoflagellates-1 (peridinin-containing dinoflagellates), "*Phaeocystis antarctica*", cryptophytes, green flagellates (with Chl *b*) and "chemotaxonomic group". The loaded pigments were chlorophyll *c*₃ (Chl *c*₃), chlorophyll *c*₂ (Chl *c*₂), peridinin (Perid), 19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco), fucoxanthin (Fuco), 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco), alloxanthin (Allo), chlorophyll *b* (Chl *b*) and chlorophyll *a* (Chl *a*) (see Table 2a). The "chemotaxonomic group" was characterized by a pigment signature that includes Chl *c*₃, Chl *c*₂, But-fuco, Fuco and Hex-fuco, relative to a group including peridinin-lacking autotrophic dinoflagellates and diatoms with Chl *c*₃

(Wright and Jeffrey, 2006), and other algal groups whose pigment composition has not yet been exhaustively analyzed (e.g., Parmales and Chrysophytes). The same initial ratio was used in data from both study years. Data from each cruise were run separately in order to detect potential variations in optimization of CHEMTAX procedures. In order to account for pigment ratios' variation with irradiance and/or nutrient availability, data from each cruise were also split into three groups according to sample depth (0-50 m, 50-100 m and >100 m). A series of 60 pigment ratio matrices were generated by multiplying each ratio from the initial matrix by a random function, as described by Kozłowski et al. (2011) to optimize the input matrix. The average of the best six output matrices (with the lowest residual or root mean square error) were taken as the optimized results. The optimized pigment ratio matrix derived by CHEMTAX for the 0-50 m group is presented in Tables 2b and 2c (data from 2008 and 2009, respectively). The output data are presented as absolute amounts (mg m^{-3}) of Chl *a* attributed to each phytoplankton group, and as a relative amount (percentage) of the total Chl *a* in a sample.

2.4. Microscopic analysis

In order to determine the species composition, water samples were preserved in amber glass flasks (~250 mL) with 2% alkaline Lugol's iodine solution for phytoplankton identification and counting. Settling chambers (from 50 to 100 mL settling volume) were inspected on an Axiovert 135 ZEISS inverted microscope (Utermöhl, 1958; Sournia, 1978) at 200×, 400× and 1000× magnification, according to specific literature (mainly, Hasle and Syvertsen, 1996; Scott and

Marchant, 2005). Staining cells with Lugol's solution allows recognition of chloroplasts and pyrenoids and provides a clear picture of the cell outline, which favors recognition of shape and size under the microscope (Sournia, 1978). Distinction between autotrophic and heterotrophic dinoflagellates was made on either the known taxonomic trophic mode or the presence/absence of chloroplasts. Species-specific cell biovolumes were estimated by measuring cell dimensions (from microscope images - Spot Insight QE camera) and by applying volume calculations based on the most similar geometric shapes as in Hillebrand et al. (1999). At least 30 specimens of each species or major taxa were randomly chosen for measurements. Cell carbon content (carbon biomass) was then calculated using different carbon-to-volume ratios for diatoms and dinoflagellates according to Montagnes et al. (1994), and for all other algae groups according to Menden-Deuer and Lessard (2000).

3. Results

3.1. Spatial distribution of phytoplankton pigments

Figure 2 shows Chl *a* distribution along with Hex-fuco:chl *c*₃ ratio (higher Hex-fuco:chl *c*₃ ratio associates with iron limitation). Three spatial features are observed in Chl *a* distribution around tip of the AP: (i) a high Chl *a* region (exceeding 7 mg m⁻³ in 2009) in the vicinities of James Ross Island; (ii) a region with intermediate Chl *a* levels (0.5 to 2 mg m⁻³) in the Bransfield Strait, and (iii) two areas with very low Chl *a* concentrations (below 0.5 mg m⁻³), comprising the Weddell Sea section and stations located mainly offshore in the Drake Passage

(only sampled in 2008). Both highest values of Hex-fuco:Chl c_3 ratios (>3) and lowest phytoplankton biomass were observed in the Weddell Sea (in both years) and offshore in the Drake Passage (Fig. 2).

Besides Chl a , the most abundant pigments (with maximum concentrations $> 0.5 \text{ mg m}^{-3}$) were Fuco, Chl c_2 , diadinoxanthin (Diadino) and some degradation products of Chl a (see Table 1). The highest concentrations of these pigments were observed near James Ross Island. Bransfield Strait (particularly in 2008) and Drake Passage also presented relatively high values ($> 0.05 \text{ mg m}^{-3}$) of Chl c_3 , Hex-fuco and But-fuco. In the Weddell Sea region, where the lowest pigment concentrations were observed, Fuco was the main accessory pigment at coastal stations, while Allo and Hex-fuco appeared as the major carotenoids at some offshore stations.

Relationships between particular accessory pigments can be used to reveal the dominance of specific taxonomic groups. As observed in Figure 3, the highest values of Chl c_3 :Fuco (slope = 0.38) were registered in 2008 for the Bransfield Strait and Drake Passage. Intermediate values (slope = 0.16) were recorded in 2009 for the Bransfield Strait and the lowest values (slope = 0.037), for both years, were observed near James Ross Island. The different slopes of this ratio were associated with relative diatom contribution to phytoplankton community, as observed in Ross stations where higher diatom contributions were associated with a lower slope (further information on next section).

3.2. Distribution of taxonomic groups in relation to oceanography

3.2.1. Spatial distribution

The relative contribution of the main phytoplankton groups to surface Chl *a*, calculated by CHEMTAX, is shown in Figure 4. Phytoplankton assemblages were generally dominated by diatoms in both years (Fig. 4a and b), especially at stations with high Chl *a* concentration (mainly near James Ross Island) where diatom contribution was above 90% of total Chl *a*. Other groups were also abundant at distinct areas around the tip of the AP. Cryptophytes dominated the Weddell Sea region, particularly stations with low diatom contribution, and at one station in the Bransfield Strait, in 2008 (Fig. 4c and d). The haptophyte *P. antarctica* showed the greatest contributions to total biomass in the Drake Passage region (only sampled in 2008) and at some Weddell Sea stations (Fig. 4e and f). The “chemotaxonomic group” was more dominant in the Bransfield Strait comparing to other regions (Fig. 4g and h). Dinoflagellates-1, which were more abundant in the Bransfield Strait, were always below 10% of total Chl *a*, and green flagellates never represented more than 8% of biomass (data not shown).

3.2.2. Microscopy vs. CHEMTAX

Direct comparisons of the estimated biomass using microscopy data and CHEMTAX showed significant relationships for total phytoplankton (Fig. 5a) and diatom biomass (Fig. 5b). The significant correlation between microscope-derived carbon biomass and diatom-allocated Chl *a* calculated through CHEMTAX (Fig. 5b) mirrored the correlation for the total autotrophic community (Fig. 5a), which denotes a clear dominance of diatoms. A conspicuous

dominance of diatom carbon biomass was observed in both years, with higher values ($> 100 \mu\text{g C l}^{-1}$, in average) found near James Ross Island and in agreement with CHEMTAX results (see Fig. 4a and b). Differences for the haptophyte *P. antarctica* varied with the study period. In 2009 this organism was rarely recorded in microscope observations, partly due to the lack of microscope data from Weddell Sea, where the contribution of *P. antarctica* to Chl *a* was 20-40% (determined by CHEMTAX). In 2008, with the additional data of Drake Passage, a significant correlation was observed between the two methods (Fig. 5c). Other groups (not shown in figure 5), such as cryptophytes, were barely separated from other small flagellates by microscopic analysis, except at one station in the Bransfield Strait (in 2008), where CHEMTAX data also showed a higher contribution of cryptophytes to biomass. The "chemotaxonomic group" was correlated with small flagellate biomass in the Drake Passage ($R^2=0.52$; $p<0.05$). In the Bransfield Strait significant correlations were observed between the "chemotaxonomic group" and dinoflagellates for both years ($R^2=0.62$; $p<0.05$). The correlations found in the Bransfield Strait may indicate the presence of other types of dinoflagellates that contain combinations of pigments without peridinin.

3.2.3. Drake Passage (DRAKE)

Figure 6 shows the vertical profiles of Chl *a* biomass of the taxonomic groups determined by CHEMTAX at a typical coastal and offshore station from DRAKE. An increase in water column stratification was generally observed from coastal to offshore stations, as observed in Figure 6. A coastal-offshore gradient was

also observed for biomass and relative distribution of taxonomic groups, with higher Chl *a* concentration at the coastal stations decreasing towards offshore. At the coastal station (Fig. 6a), a dominance of diatoms was observed but no deep chlorophyll maximum (DCM), which was present at the offshore station (Fig. 6b). Relatively low diatom contributions were found at the surface layers of offshore stations (below 60 m diatoms became dominant) as they were replaced by nanoplankton (<20 µm in greatest axial linear dimension), such as *P. antarctica*, cryptophytes and green flagellates (Fig. 6b). Although many flagellates could not be identified by microscope observations, the most representative phytoplankton species in DRAKE were the large centric diatom *Corethron pennatum*, the haptophyte *P. antarctica* and nanoflagellates, comprising dinoflagellates (e.g., *Gymnodinium* spp.).

3.2.4. Bransfield Strait (BRANSFIELD)

Great spatial and temporal variability were observed for both biomass and distribution of taxonomic groups and between the two surveyed years (Fig. 7). Higher biomass was observed in 2009 (see also Fig. 2) compared with 2008, coupled with an increase in the relative contribution of diatoms (mainly the centric *Thalassiosira* spp., *Corethron pennatum*, the nano-sized *Chaetoceros neglectus* and the pennate *Pseudonitzschia* spp.). The highest biomass levels within the UML were generally registered at the deep stations in the central basin and characterized by a major contribution of the "chemotaxonomic group" (associated with high densities of *Gymnodinium* spp.) and diatoms (Fig. 7b and e). Biomass levels decreased from offshore to coastal stations, where diatoms

and/or cryptophytes dominated the phytoplankton community (Fig. 7a and d). In 2008, a negative relationship was found between surface Chl *a* and the UML depth ($R^2 = 0.50$, $p < 0.01$), and the deepest UML reached 155 m near the Elephant Island (station B104). Lower biomass and an increase of small flagellates over diatoms were observed at stations with deeper UML (see Fig. 7c). This physical feature was not observed in 2009 (UML was always less than 100 m) and biomass levels were similar to those observed at other BRANSFIELD stations, which were characterized by diatoms dominance (see Fig. 7f).

Generally, biomass levels of the main taxonomic groups were associated with water column stratification, particularly in 2008 (Fig. 8). At stations with deep UML (stations B119, B120 and B121), mainly along the coast, diatoms reached up to 0.4 mg m^{-3} of total Chl *a* (inset in Fig. 8), which represented over 75% of total biomass. On the other hand, other taxonomic groups (mainly dinoflagellates) reached a similar or higher relative contribution at shallow UML stations (e.g., stations B117, B125 and B126). At intermediate stratification conditions (station B124) cryptophytes became the dominant group (more than 80% of total Chl *a*). A slight stratification and low biomass, with a co-dominance of diatoms and cryptophytes was observed at the nearshore station B115 (Figs. 7a and 8).

3.2.5. Weddell Sea (WEDDELL)

The phytoplankton community was mainly composed by diatoms, cryptophytes and *P. antarctica* (see Fig. 4), and was associated with low biomass values

1 during both years (Chl *a* always below 0.5 mg m^{-3} ; see Fig. 2). A particular
 2 strong coastal-offshore gradient in water column stratification was observed at
 3 DRAKE (Fig. 9). The phytoplankton community composition displayed a neat
 4 succession along this gradient (insets in Fig. 9). Diatoms were dominant in the
 5 well-mixed water column at coastal stations, associated with highest biomass ($>$
 6 0.2 mg m^{-3}), and were gradually replaced by cryptophytes at stations with
 7 intermediate stratification. During both studied years, offshore stations were
 8 strongly stratified, which was associated with very low biomass ($< 0.1 \text{ mg m}^{-3}$).
 9 Figure 10 shows the vertical profiles of the phytoplankton community
 10 composition at six stations (Fig. 10a-f) and their density profiles (insets in Fig.
 11 10). For station W211 (Fig. 10d), samples from only two depths (including
 12 surface) are available. The vertical distribution of the Hex-fuco:Chl c_3 ratio (Fe-
 13 index) is also shown. Surface Hex-fuco:Chl c_3 ratio values increased from
 14 approximately 2 at coastal station (Fig. 10a and d) to nearly 7 at the most
 15 offshore 2008 station (Fig. 10c), dominated by *P. antarctica*. At stations with
 16 intermediate ratio values at surface (station W114, Fig. 10b), a major
 17 contribution of cryptophytes was observed within the upper 20 m. Moreover,
 18 depth profiles showed that at stratified stations Hex-fuco:Chl c_3 ratios were
 19 higher at surface and decreased with depth (Fig. 10b,c,f). Although both
 20 stations were located in a similar position and showed a similar density profile,
 21 the intermediate stratified station W215 (Fig. 10e) showed a different biomass
 22 profile than the station W114 (Fig. 10b). Despite the similar biological pattern
 23 between sampling years, there was an evident interannual difference in the
 24 Weddell Sea region, as higher biomass was observed in 2009 (Fig. 10d-f),
 25 which was coupled with a lower Hex-fuco:Chl c_3 ratio.

3.2.6. Vicinity of James Ross Island (ROSS)

High Chl *a* concentration was generally recorded around ROSS. On the other hand, at the Antarctic Sound stations (e.g., stations R118 and R210; see Fig. 1 for their location) surface Chl *a* was always below 0.5 mg m⁻³ (see Fig. 2). Figure 11 shows the vertical profiles of the phytoplankton community at six stations (Fig. 11a-f) that represent high (Fig. 11a and d), intermediate (Fig. 11b and e) and low (Fig. 11c and f) Chl *a* values during both years. Despite this relatively large biomass range, there was an absolute dominance of diatoms at all stations (>90 % contribution to total biomass). On a decreasing level of importance, the main diatom species were *Odontella weissflogii* (> 70 µm in length), an assembly of moderately large centric diatoms (from 20 to 100 µm in diameter) and *Eucampia antarctica*. Areas with relatively high biomass were associated with a shallow UML, and generally comprised the stations nearest to land (e.g., Fig. 11a and d; stations R113 and R208, respectively). On the other hand, relatively low biomass (Fig. 11c and f; stations R118 and R210, respectively) was observed at deep UML (insets in Fig. 11c and f) Antarctic Sound stations. Maximum and average Chl *a* levels in 2009 were twofold greater than those observed in 2008 (see Table 1).

3.3. Other pigment indices

3.3.1. Pigment degradation products

The HPLC analysis allowed the separation, identification and quantification of three types of Chl *a* degradation products: chlorophyllide *a* (Chlide *a*), pheophytin *a* (Phytin *a*) and pheophorbide *a* (Phide *a*). Apart from the area around ROSS, where a typical diatom-bloom situation was observed, the concentration of the degradation products were always below 0.1 mg m^{-3} . The main degradation product of Chl *a* for the whole surveyed region was pheophorbide *a* (see Table 1). The concentrations of degradation products, particularly chlorophyllide *a*, were higher at ROSS than in other areas. Figure 12 shows the linear relationships observed between degradation products and total Chl *a* in this region, and indicates a significant difference between both study years. In 2008 all degradation products were present at significantly higher concentrations than in 2009, with an average proportion (degradation product/total degradation products plus Chl *a*) of 11% for chlorophyllide *a*, 9% for pheophorbide *a* and 3% for pheophytin *a*. In 2009 the average proportions were 7%, 6% and 2%, respectively.

3.3.2. Photosynthetic and photoprotective pigments

The array of phytoplankton pigments found in this study include photosynthetic and photoprotective carotenoids. The ratio of the sum of photoprotective carotenoids (PPC; alloxanthin, diadinoxanthin and diatoxanthin in our study) to the sum of total pigments (TP) indicated the physiological adaptation of the phytoplankton community to the prevailing ambient light. An evident difference in those indices was found between samples taken during day and at nighttime in the diatom-dominated ROSS region. For instance, Figure 13 shows vertical

profiles of PPC:TP for ROSS and DRAKE regions. The PPC:TP ratios at the nighttime stations in ROSS were about twofold smaller than those at daytime, especially on the surface layer (Fig. 13a and b), which indicates that relative PPC concentrations may change over a day. In the stratified water column conditions observed at DRAKE the PPC:TP ratios within the upper mixed layer were five-times higher than those at or below the pycnocline during daytime (Fig. 13c). However, no noteworthy differences were found at stratified stations between day and nighttime stations or with depth variation for the ratio of pooled photosynthetic carotenoids (PSC; 19'-butanoyloxyfucoxanthin, 19'-hexanoyloxyfucoxanthin, fucoxanthin and peridinin) to TP (insets in Fig. 13).

4. Discussion

4.1. Application of CHEMTAX in the study of phytoplankton communities

Several studies in the western AP region have already suggested that both microscopy and HPLC techniques should be simultaneously used (e.g., Rodríguez et al., 2002; Kozłowski et al., 2011). Microscope observations provide important taxonomical information (to species or genus), which provides a better taxonomic resolution than HPLC, particularly for large and recognizable organisms. Small-sized organisms, such as nanoplanktonic cells that were common in low biomass areas of the studied region, are often difficult to preserve and recognize by light microscopy. HPLC-CHEMTAX provides valuable information about the whole phytoplankton community, including small-size groups. The good relationship observed between HPLC-CHEMTAX and microscope derived biomass of representative taxonomic groups (diatoms and

1 *P. antarctica*) (Fig. 5) supports the reliability of the HPLC. Additionally, a high
2 number of pigment samples were analyzed with HPLC-CHEMTAX during these
3 oceanographic surveys, which would be impractical to study only by
4 microscopic analysis.

5 The CHEMTAX software (Mackey et al., 1996) has been successfully used in
6 many worldwide investigations (e.g., Mackey et al., 1998; Schlüter et al., 2000;
7 Carreto et al., 2008; Wright et al., 2009; 2010). When using the CHEMTAX tool
8 it is recommended to apply different approaches for matrix optimization
9 procedures, as described by Latasa (2007) and Wright et al. (2009). Other
10 possibility is the combination of different approaches in order to improve the
11 results (Mendes et al., 2011; Schlüter et al., 2011; de Souza et al., 2011). In the
12 present study, we used the Wright's method to obtain the output data from
13 CHEMTAX. This method is appropriate for regions with low pigment
14 concentrations (Wright et al., 2009), which was observed in the Weddell Sea
15 and Drake Passage.

16 The output pigment ratios (see Table 2b and c) were generally equivalent to
17 values available in literature (e.g., Rodríguez et al., 2002; Kozłowski et al.,
18 2011) for the AP region. The average Fuco:Chl *a* (diatom) output ratio was
19 lower in Rodríguez et al. (2002) (0.425 in 1995/1996) as compared to our study
20 (0.940 for 2008 and 0.822 for 2009), but it was above the maximum value
21 (0.714 ± 0.160 from 1995 to 2007) observed by Kozłowski et al. (2011). The
22 cryptophyte Allo:Chl *a* ratio (0.428 for 2008 and 0.362 for 2009) was also higher
23 than the observations made by Rodríguez et al. (2002) (0.228 in 1995/1996),
24 but again within the range observed by Kozłowski et al. (2011) (0.443 ± 0.125
25 from 1995 to 2007). On the other hand, we have observed negligible variations

between our study and results presented by both Rodríguez et al. (2002) and Kozłowski et al. (2011) for the ratios Hex-fuco:Chl *a* and But-fuco:Chl *a* of *P. antarctica*. These differences may be associated with a light regime variation, nutrients availability and changes in algal populations (Schlütter et al., 2000). The different CHEMTAX approaches used by the different authors may also affect these final ratios. The output ratios for that we observe for the "chemotaxonomic group" varied between the two sampling years and also with the literature previously mentioned. Such differences are associated with the structure of the "chemotaxonomic group", which is composed of different taxa. For instance, the high Chl *c*₃:Chl *a* ratio (0.501) observed in 2008 may be related to the presence of *Gymnodinium* spp. (detected by microscopy), as higher concentrations of Chl *c*₃ were registered only at stations with high dinoflagellates abundance. Moreover, the high abundance of *c*₃ -containing *Pseudonitzschia* spp. may have contributed to this ratio, particularly in the Bransfield Strait.

4.2. Phytoplankton communities and oceanographic parameters

A great spatial variability (horizontal and vertical) in the phytoplankton community was observed in the AP for both biomass and composition. This variation was mainly associated with water column structure, which can determine light availability and/or iron limitation within the UML. Stratification was associated with several physical processes in the study area, such as coastal ice melting (characteristic of ROSS region) and seasonal warming of surface layers (evident in WEDDELL and DRAKE regions). For instance, a

remnant cold and salty Winter water is usually found below warmer and fresher Antarctic Surface Water commonly formed during summer (Gordon and Huber, 1984), particularly in offshore areas.

We sampled during the late summer, when the existing phytoplankton community result from the succession associated with timing and extent of ice melting during the summer (Garibotti et al., 2005 and references therein).

Although in the present study a temporal variation was not evaluated, the great spatial heterogeneity allowed us to understand some processes related to the distribution of phytoplankton communities around the tip of the AP. For

instance, the low phytoplankton biomass observed in WEDDELL may be associated with a post bloom stage, as frequent blooms are often observed in this region during summer (Sullivan et al., 1993; Park et al., 1999; Kang et al., 2001). On the other hand, a clear diatom bloom situation was observed in ROSS. In this region we also observed reasonably well-stratified water column due to ice melt and runoff from glaciers at James Ross Island. Both ice melt and runoff are a likely source of iron that may have triggered the diatom-dominated (e.g., *Odontella weissflogii*) phytoplankton bloom. Moreover, a biological-

physical gradient was observed, as higher diatom biomass was generally associated with stratified nearshore areas (see Fig. 11). This scenario was already described, highlighting the importance of a shallow UML depth (Mitchell and Holm-Hansen, 1991; Garibotti et al., 2005) and associated stratification as a result of ice melting on phytoplankton development. This feature has been observed predominantly in coastal areas, as these regions are apparently protected from strong winds (Ducklow et al., 2007). Even though the lowest biomass levels in ROSS were measured in the Antarctic Sound area

(associated with a deep UML), the phytoplankton composition was similar to other stations of the same region. This could be associated with advection processes in the Antarctic Sound, which prevented the accumulation of phytoplankton biomass (e.g., Moline and Prézelin, 1996).

The phytoplankton community in WEDDELL and DRAKE regions was characterized by low biomass and dominated by flagellates, including *P. antarctica* and cryptophytes at the stratified offshore stations. These stratification situations were probably a major physical feature affecting phytoplankton assemblages by a supposed limitation of Fe input into the upper surface layer, leading to development of a deep chlorophyll maximum (Ducklow et al., 2007). Other factors, such as senescence and/or grazing, may have also contributed to the low biomass observed in those regions. The dominance of *P. antarctica* at shallow UML stations was not observed in other Antarctic regions, such as the Ross Sea (Arrigo et al., 1999, 2000), where this organism is commonly associated with deep UML due to photophysiological abilities (Kropuenske et al., 2010; Mills et al., 2010). In this study, this haptophyte was found in very low biomass at shallow UML layers and therefore was able to thrive under apparently low iron conditions. Those oligotrophic conditions (mainly in WEDDELL) may reflect the timing of our sampling period (late summer).

The BRANSFIELD region is hydrographically complex, comprising water masses that progressively change from Bellingshausen Sea to Weddell Sea influence (Sangrà et al., 2011 and references therein). This complexity may explain the great temporal (interannual) and spatial variability in phytoplankton biomass and composition. Briefly, higher biomass levels were recorded in 2009

mainly associated with diatoms and a shallower UML. At the northernmost part of this region (near Elephant Island), particularly in 2008, a low-biomass community composed by small flagellates was observed, coupled with a UML deeper than in 2009 (presumably leading to light limitation; see Fig. 7c and f). At coastal sites, diatoms and/or cryptophytes were the major groups contributing to phytoplankton biomass. On the other hand, the “chemotaxonomic group” was very important at the central channel (in the southernmost portion of the Strait). This group was dominated by *Gymnodinium* spp., which is known to contain carotenoids other than peridinin (Carreto et al., 2001). As demonstrated by classical ecological theories (Margalef, 1958; Smayda and Reynolds, 2001), we found the high abundance of *Gymnodinium* spp. and other dinoflagellates correlated with well-stratified water masses at the central channel in BRANSFIELD. Another interesting feature was the conspicuous dominance of cryptophytes at station B124, characterized by an intermediate stratification condition (see Fig. 8). One possible explanation for this particular area is the occurrence of a topographically induced upwelling of Weddell Sea water, inferred from the temperature-salinity profile (data not shown). Indeed, cryptophytes were a relatively important group at the WEDDEL region. Few studies have reported episodic upwelling caused by topographic characteristics in other regions close to AP (Ducklow et al., 2007 and references therein) as well as intrusions of Weddell Sea water from the southwest into the Bransfield Strait (Sangrà et al., 2011).

4.3. Pigments as indicators of community physiological state

1 Pigment information can be used not only as a taxonomic tool to describe the
2 phytoplankton community but also as a proxy for physiological responses to
3 distinct environmental factors, such as nutrient stress, light availability and
4 grazing pressure. This study tested the Hex-fuco:Chl c_3 ratio as an index of Fe-
5 nutritional state of the phytoplankton community. This approach was based on
6 the experimental work developed and validated by DiTullio et al. (2007) for *P.*
7 *antarctica* cultures and on iron enrichment field studies and its effect on the
8 phytoplankton community (e.g., Hoffmann et al., 2006; Wong and Crawford,
9 2006). In Fe-stress conditions, *P. antarctica* (present at most sampling stations,
10 mainly in DRAKE and WEDDELL) is able to convert fucoxanthin into 19'-
11 hexanoyloxyfucoxanthin (Van Leeuwe and Stefels, 1998, 2007) and increase
12 the Hex-fuco:Chl c_3 ratio (DiTullio et al., 2007). Moreover, experimental in-situ
13 studies (e.g., Hoffmann et al., 2006; Wong and Crawford, 2006) reported
14 important shifts in phytoplankton communities and their pigments in iron-
15 fertilized areas. According to these studies, diatoms dominated (increase in
16 fucoxanthin concentrations) when iron was supplied, while nanoflagellates,
17 dominated mainly by haptophytes, dominated when iron was presumably less
18 supplied. The Hex-fuco-containing nanoflagellates, which were probably not
19 stimulated by iron supply, were controlled by grazing pressure (Hoffmann et al.,
20 2006). Moreover, upon iron enrichment, there was a slight increase in Chl c_3
21 (Hoffmann et al., 2006; Wong and Crawford, 2006). Although these studies
22 associated Chl c_3 with haptophytes, the increase of this pigment could be also
23 coupled with higher abundance of Chl c_3 -containing diatoms, such as
24 *Pseudonitzschia* spp. observed in naturally iron-enriched environments (Wright
25 and Jeffrey, 2006). Iron enrichment would thus change the phytoplankton

1 community with a decrease in the Hex-fuco:Chl c_3 ratio. The Hex-fuco:Chl c_3
2 ratio may therefore reflect the physiological response of *P. antarctica* to iron
3 availability, particularly in regions dominated by this species. This ratio can also
4 provide information about changes in phytoplankton communities associated
5 with this important micronutrient, regardless the presence of *P. antarctica*. In
6 this view, we assume that the Hex-fuco:Chl c_3 ratio can provide a suitable index
7 of the Fe-nutritional state of the whole phytoplankton community. Our results
8 shown a high ratio (> 3), indicating Fe-limitation, in the WEDDELL region and
9 offshore DRAKE, particularly at the surface layer where the lowest biomass
10 levels were recorded. A strong association was found between the pattern of
11 Hex-fuco:Chl c_3 ratio and the Fe spatial distribution pattern previously reported
12 for this AP region. For instance, in the northernmost sector of the studied
13 region, which encompasses Drake Passage and the western Weddell Sea
14 (where high Hex-fuco:Chl c_3 ratios were observed), previous studies report a
15 limitation of primary production and biomass associated with low iron
16 concentration (Holm-Hansen and Hewes, 2004). Additionally, Sañudo-Wilhelmy
17 et al. (2002) described a coastal-offshore gradient in trace metal concentration
18 (including Fe) in the AP region, from coastal waters with high metal
19 concentrations to offshore waters with low metal levels. This pattern was also
20 evident in this study, particularly along the WEDDEL transect, from low (coast)
21 to high (offshore) surface Hex-fuco:Chl c_3 ratio. This onshore-offshore gradient
22 in Hex-fuco:Chl c_3 ratio was accompanied by changes in the phytoplankton
23 community: a dominance of diatoms along with low Hex-fuco:Chl c_3 ratio was
24 observed in coastal regions, cryptophytes dominated when intermediate Hex-
25 fuco:Chl c_3 ratios were found in middle sites, and very low biomass (dominated

by smaller flagellates such as *P. antarctica*) was detected at far offshore stations, associated with the highest Hex-fuco:Chl c_3 ratios (see Fig. 10). These composition shifts are possibly related to competition for nutrient resources, especially iron, including different nutrient-uptake abilities of distinct phytoplankton groups found across the WEDDELL transect. We also observed a variation of the Fe-index between the studied years. Hex-fuco:Chl c_3 ratios were generally higher in 2008 (indicating a stronger limitation) and associated with lower biomass levels, as compared to 2009 (see Fig. 2).

Among other environmental factors controlling the phytoplankton community, grazing pressure must also be considered (Ross et al., 1998; Anadón et al., 2002). Despite the lack of zooplankton data in this work, the relative content of Chl *a* degradation products can be used as a proxy for grazing pressure and for senescence of phytoplankton cells (Jeffrey et al., 1997). Apart from ROSS, where a diatom bloom was observed, low concentrations of these degradation products were generally observed (see Table 1). Higher proportions of all those products were observed in ROSS in 2008 than in 2009, which may suggest that the 2008 diatom-bloom was in an advanced senescence stage and under higher grazing pressure relatively to the scenario found in 2009 (see Fig. 12).

Considerable differences were observed for the proportions of specific (photosynthetic or photoprotective) carotenoids over the total amount of pigments. Contrasting differences between the response of PPC and PSC to irradiance variation were detected across vertical profiles within the diatom-bloom at ROSS and at well-stratified offshore DRAKE stations (see Fig. 13).

While a noteworthy difference in PPC:TP ratios were observed between day (higher values) and night (lower values) stations at ROSS, no detectable

differences were found between day and night PSC:TP ratios. In addition, the PPC:TP proportion was significantly higher in the upper surface layer than in depth at the well-stratified DRAKE stations, although this pattern was again not evident for the PSC:TP ratios. These results may be explained by the carotenoids' key functions in photosynthesis: (i) PSC have a significant role in extending the phytoplankton light-harvesting spectrum, thus ensuring optimal absorption efficiencies and (ii) PPC acts as a protector of microalgal cells against high irradiances that may damage the photosynthetic apparatus (Kirk, 1994). Furthermore, the ratios of PPC:TP and PSC:TP have been considered remarkably robust for assessing the physiological state of a phytoplankton community (Barlow et al., 2008 and references therein). Information on PPC:TP ratios may thus indicate phytoplankton light histories (e.g., day vs. night, as in our study) and water column stability (Moline, 1998). Nonetheless, the PSC:TP ratios did not show an apparent response to short-term light changes, associated with neither daily-varying light field nor depth profiles or water column stratification. Our results support the assumption that photosynthetic pigments and respective ratios are rather adequate as taxonomic biomarkers.

5. Concluding remarks

This study shows that the spatial distribution of phytoplankton communities around the AP, particularly in the northernmost regions, is very complex and subject to several environmental factors, which may determine their composition and succession stage. Diatoms were the main contributors to Chl *a* biomass in areas presumably affected by ice melting processes, as observed at ROSS. Ice melting processes probably enhance iron input into seawater,

triggering growth of large diatoms (both isolated cells and colonies). In open-ocean areas such as DRAKE and WEDDELL, where iron-limited conditions were observed in stratified waters, nanoflagellates replaced diatoms as the dominant phytoplankton group. *P. antarctica* was the dominant organism among flagellates. Cryptophytes were persistently found at intermediate stratification conditions and associated with intermediate Hex-fuco:Chl c_3 values, i.e., between diatom-dominated and offshore low biomass stations. At both BRANSFIELD and DRAKE coastal stations, many species of dinoflagellates (dominant taxa of the “chemotaxonomic group” that contain carotenoids rather than peridinin) were also important to total Chl *a*. Based on the spatial distribution of phytoplankton community composition and associated environmental factors, it seems that flagellates may replace diatoms in particular conditions (intermediate to strong stratification leading to iron limitation). Finally, this study highlights the usefulness of HPLC pigment data as biotic indicators of physiological responses to environmental conditions, such as Fe-nutritional state, ambient light and/or grazing pressure.

Acknowledgements

This study was conducted within the activities of the SOS-CLIMATE (Southern Ocean Studies for Understanding Climate Changes Issues) project. This is a multidisciplinary program as part of the GOAL (Group of High Latitude Oceanography) activities in the Brazilian Antarctic Program, coordinated by SECIRM. Financial support was provided by CNPq (National Council for Research and Development).

The authors thank the crew of the Brazilian Navy RV "Ary Rongel" and several investigators participating in the cruises for their valuable help during the collection of samples. We are grateful to Simon Wright, from the Australian Antarctic Division, for providing CHEMTAX v.1.95 and to Megan Thompson, for manuscript revision and helpful comments. C.R. Mendes and M.C. Leal were funded by a PhD grant from FCT (SFRH/BD/36336/2007 and SFRH/BD/63783/2009, respectively). A PhD fellowship from CAPES (Brazil) was granted to M.S.de Souza. V.M. Garcia and C.A. Garcia are granted with science fellowships from CNPq. We are thankful for the constructive criticism of three anonymous reviewers, which helped to improve the manuscript.

References

- Anadón, R., Alvarez-Marques, F., Fernandez, E., Varela, M., Zapata, M., Gasol, J.M., Vaque, D., 2002. Vertical biogenic particle flux during austral summer in the Antarctic Peninsula area. *Deep-Sea Res II* 49, 883-901.
- Arrigo, K.R., DiTullio, G.R., Dunbar, R.B., Robinson, D.H., VanWoert, M., Worthen, D.L., Lizotte, M.P., 2000. Phytoplankton taxonomic variability in nutrient utilization and primary production in the Ross Sea. *J Geophys Res* 105, 8827-8846.
- Arrigo, K.R., Robinson, D.H., Worthen, D.L., Dunbar, R.B., DiTullio, G.R., VanWoert, M., Lizotte, M.P., 1999. Phytoplankton community structure and the drawdown of nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science* 283, 365-367.

Barlow, R., Kyewalyanga, M., Sessions, H., van den Berg, M., Morris, T., 2008. Phytoplankton pigments, functional types, and absorption properties in the Delagoa and Natal Bights of the Agulhas ecosystem. *Est Coast Shelf Sci* 79, 230-238.

Carreto, J.I., Montoya, N., Akselman, R., Carignan, M.O., Silva, R.I., Colleoni, D.A.C., 2008. Algal pigment patterns and phytoplankton assemblages in different water masses of the Río de la Plata maritime front. *Cont Shelf Res* 28, 1589-1606.

Carreto, J.I., Seguel, M., Montoya, N.G., Clément, A., Carignan, M.O., 2001. Pigment profile of the ichthyotoxic dinoflagellate *Gymnodinium* sp. from a massive bloom in southern Chile. *J Plankton Res* 23, 1171-1175.

Castro, C.G., Rios, A.F., Doval, M.D., Perez, F.F., 2002. Nutrient utilisation and chlorophyll distribution in the Atlantic sector of the Southern Ocean during Austral summer 1995-96. *Deep-Sea Res II* 49, 623-641.

Clarke, A., Murphy, E.J., Meredith, M.P., King, J.C., Peck, L.S., Barnes, D.K.A., Smith, R.C., 2007. Climate change and the marine ecosystem of the western Antarctic Peninsula. *Phil Trans R Soc B* 362, 149-166.

de Souza, M.S., Mendes, C.R.B., Garcia, V.M.T., Pollery, R., Brotas, V., 2011. Phytoplankton community during a coccolithophorid bloom in the Patagonian

shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment
analyses. J Mar Biol Assoc UK (doi:10.1017/S0025315411000439).

DiTullio, G.R., Garcia, N., Riseman, S.F., Sedwick, P.N., 2007. Effects of iron
concentration on pigment composition in *Phaeocystis antarctica* grown at low
irradiance. Biogeochemistry 83, 71-81.

Ducklow, H.W., Baker, K., Martinson, D.G., Quetin, L.B., Ross, R.M., Smith,
R.C., Stammerjohn, S.E., Vernet, M., Fraser, W., 2007. Marine pelagic
ecosystems: the West Antarctic Peninsula. Phil Trans R Soc B 362, 67-94.

Garibotti, I., Vernet, M., Kozłowski, W., Ferrario, M., 2003. Composition and
biomass of phytoplankton assemblages in coastal Antarctic waters: a
comparison of chemotaxonomic and microscopic analyses. Mar Ecol Prog Ser
247, 27-42.

Garibotti, I.A., Vernet, M., Smith, R.C., Ferrario, M.E., 2005. Interannual
variability in the distribution of the phytoplankton standing stock across the
seasonal sea-ice zone west of the Antarctic Peninsula. J Plankton Res 27, 825-
843.

Gordon, A.L., Huber, B.A., 1984. Thermohaline stratification below the Southern
Ocean sea ice. J Geophys Res 89, 641-648.

- 1 Hasle, G.R., Syvertsen, E.E., 1996. Marine diatoms. In: Tomas, C.R. (Ed),
2 Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press Inc., London,
3 pp. 5-385.
4
- 5 Hillebrand, H., Dürselen, C.D., Kirschtel, D., Pollinger, U., Zohary, T., 1999.
6 Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. J Phycol 35, 403-424.
7
- 8 Hoffmann, L.J., Peeken, I., Lochte, K., Assmy, P., Veldhuis, M., 2006. Different
9 reactions of Southern Ocean phytoplankton size classes to iron fertilization.
10 Limnol Oceanogr 51, 1217-1229.
11
- 12 Holm-Hansen, O., Hewes, C.D., 2004. Deep chlorophyll-a maxima (DCMs) in
13 Antarctic waters. I. Relationships between DCMs and the physical, chemical,
14 and optical conditions in the upper water column. Polar Biol 27, 699-710.
15
- 16 Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W., 1997. Phytoplankton pigments in
17 oceanography: guidelines to modern methods. UNESCO, Paris.
18
- 19 Kang, S.H., Kang, J.S., Lee, S., Chung, K.H., Kim, D., Park, M.G., 2001.
20 Antarctic phytoplankton assemblages in the marginal ice zone of the
21 northwestern Weddell Sea. J Plankton Res 23, 333-352.
22
- 23 Karl, D.M., Holm-Hansen, O., Taylor, G.T., Tien, G., Bird, D.F., 1991. Microbial
24 biomass and productivity in the western Bransfield Strait, Antarctica during the
25 1986-87 austral summer. Deep-Sea Res I 38, 1029-1055.

Kirk, J.T.O., 1994. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems, 2nd edn.
Cambridge University Press, Cambridge.

Kozlowski, W.A., Deutschman, D., Garibotti, I., Trees, C., Vernet, M., 2011. An
evaluation of the application of CHEMTAX to Antarctic coastal pigment data.
Deep-Sea Res I 58, 350-364.

Kropuenske, L.R., Mills, M.M., van Dijken, G.L., Alderkamp, A.C., Berg, G.M.,
Robinson, D.H., Welschmeyer, N.A., Arrigo, K.R., 2010. Strategies and rates of
photoacclimation in two major Southern Ocean phytoplankton taxa: *Phaeocystis*
antarctica (Haptophyta) and *Fragilariopsis cylindrus* (Bacillariophyceae). J
Phycol 46, 1138-1151.

Latasa, M., 2007. Improving estimations of phytoplankton class abundances
using CHEMTAX. Mar Ecol Prog Ser 329, 13-21.

Mackey, D.J., Higgins, H.W., Mackey, M.D., Holdsworth, D., 1998. Algal class
abundances in the western equatorial Pacific: estimation from HPLC
measurements of chloroplast pigments using CHEMTAX. Deep-Sea Res I 45,
1441-1468.

Mackey, M.D., Mackey, D.J., Higgins, H.W., Wright, S.W., 1996. CHEMTAX – a
program for estimating class abundances from chemical markers: application to
HPLC measurements of phytoplankton. Mar Ecol Prog Ser 144, 265-283.

- 1
2 Margalef, R., 1958. Temporal succession and spatial heterogeneity in
3 phytoplankton. In: Buzzati-Traverso, A.A. (Ed), Perspectives in marine biology.
4 University of California Press, Los Angeles, pp. 323-349.
5
6 Menden-Deuer, S., Lessard, E.J., 2000. Carbon to volume relationships for
7 dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. Limnol Oceanogr 45, 569-
8 579.
9
10 Mendes, C.R., Cartaxana, P., Brotas, V., 2007. HPLC determination of
11 phytoplankton and microphytobenthos pigments: comparing resolution and
12 sensitivity of a C18 and a C8 method. Limnol Oceanogr: Methods 5, 363-370.
13
14 Mendes, C.R., Sá, C., Vitorino, J., Borges, C., Garcia, V.M.T., Brotas, V., 2011.
15 Spatial distribution of phytoplankton assemblages in the Nazaré submarine
16 canyon region (Portugal): HPLC-CHEMTAX approach. J Marine Syst 87, 90-
17 101.
18
19 Mills, M.M., Kropuenske, L.R., van Dijken, G.L., Alderkamp, A.C., Berg, G.M.,
20 Robinson, D.H., Welschmeyer, N.A., Arrigo, K.R., 2010. Photophysiology in two
21 Southern Ocean taxa: photosynthesis of *Phaeocystis antarctica*
22 (Prymnesiophyceae) and *Fragilariopsis cylindrus* (Bacillariophyceae) under
23 simulated mixed-layer irradiance. J Phycol 46, 1114-1127.
24

1 Mitchell, B.G., Holm-Hansen, O., 1991. Observations and modeling of the
2 Antarctic phytoplankton crop in relation to mixing depth. *Deep-Sea Res* 38, 981-
3 1007.

4
5 Moline, M.A., 1998. Photoadaptive response during the development of a
6 coastal Antarctic diatom bloom and relationship to water column stability. *Limnol*
7 *Oceanogr* 43, 146-153.

8
9 Moline, M.A., Claustre, H., Frazer, T.K., Schofield, O., Vernet, M., 2004.
10 Alteration of the food web along the Antarctic Peninsula in response to a
11 regional warming trend. *Glob Change Biol* 10, 1973-1980.

12
13 Moline, M.A., Prézelin, B.B., 1996. Palmer LTER 1991–1994: longterm
14 monitoring and analyses of physical factors regulating variability in coastal
15 Antarctic phytoplankton biomass, in situ productivity and taxonomic composition
16 over subseasonal, seasonal and interannual time scales. *Mar Ecol Prog Ser*
17 145, 143-160.

18
19 Montagnes, D.J.S., Berges, J.A., Harrison, P.J., Taylor, F.J.R., 1994. Estimating
20 carbon, nitrogen, protein, and chlorophyll *a* from volume in marine
21 phytoplankton. *Limnol Oceanogr* 39, 1044-1060.

22
23 Montes-Hugo, M., Doney, S.C., Ducklow, H.W., Fraser, W., Martinson, D.,
24 Stammerjohn, S.E., Schofield, O., 2009. Recent changes in phytoplankton

1 communities associated with rapid regional climate change along the western
2 Antarctic Peninsula. Science 323, 1470-1473.

3
4 Park, M.G., Yang, S.R., Kang, S.H., Chung, K.H., Shim, J.H., 1999.
5 Phytoplankton biomass and primary production in the marginal ice zone of the
6 northwestern Weddell Sea during austral summer. Polar Biol 21, 251-261.

7
8 Prézelin, B.B., Hofmann, E.E., Mengelt, C., Klinck, J.M., 2000. The linkage
9 between Upper Circumpolar Deep Water (UCDW) and phytoplankton
10 assemblages on the west Antarctic Peninsula continental shelf. J Mar Res 58,
11 165-202.

12
13 Rodriguez, F., Varela, M., Zapata, M., 2002. Phytoplankton assemblages in the
14 Gerlache and Bransfield Straits (Antarctic Peninsula) determined by light
15 microscopy and CHEMTAX analysis of HPLC pigment data. Deep-Sea Res I
16 49, 723-747.

17
18 Ross, R.M., Quetin, L.B., Haberman, K.L., 1998. Interannual and seasonal
19 variability in short-term grazing impact of *Euphausia superba* in nearshore and
20 offshore waters west of the Antarctic Peninsula. J Mar Syst 17, 261-273.

21
22 Sangrà, P., Gordo, C., Hernández-Arencia, M., Marrero-Díaz, A., Rodríguez-
23 Santana, A., Stegner, A., Martínez-Marrero, A., Pelegrí, J.L., Pichon, T., 2011.
24 The Bransfield current system. Deep-Sea Res I 58, 390-402.

1 Sañudo-Wilhelmy, S.A., Olsen, K.A., Scelfo, J.M., Foster, T.D., Flegal, A.R.,
2 2002. Trace metal distributions off the Antarctic Peninsula in the Weddell Sea.
3 Mar Chem 77, 157-170.

4
5 Schlüter, L., Henriksen, P., Nielsen, T.G., Jakobsen, H.H., 2011. Phytoplankton
6 composition and biomass across the Southern Indian Ocean. Deep-Sea Res I
7 58, 546-556.

8
9 Schlüter, L., Møhlenberg, F., Havskum, H., Larsen, S., 2000. The use of
10 phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in
11 coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/chlorophyll
12 a ratios. Mar Ecol Prog Ser 192, 49-63.

13
14 Scott, F.J., Marchant, H.J., 2005. Antarctic marine protists. Australian Biological
15 Resources Study and Australian Antarctic Division, Canberra.

16
17 Smayda, T.J, Reynolds, C.S., 2001. Community assembly in marine
18 phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. J
19 Plankton Res 23, 447-461.

20
21 Sournia, A., 1978. Phytoplankton manual. Muséum National d'Histoire
22 Naturelle, UNESCO, Paris.

23

- 1 Steig, E.J., Schneider, D.P., Rutherford, S.D., Mann, M.E., Comiso, J.C.,
2 Shindell, D.T., 2009. Warming of the Antarctic ice-sheet surface since the 1957
3 International Geophysical Year. *Nature* 457, 459-463.
- 4
- 5 Sullivan, C.W., Arrigo, K.R., McClain, C.R., Comiso, J.C., Firestone, J., 1993.
6 Distributions of Phytoplankton Blooms in the Southern-Ocean. *Science* 262,
7 1832-1837.
- 8
- 9 Turner, J., Colwell, S.R., Marshall, G.J., Lachlan-Cope, T.A., Carleton, A.M.,
10 Jones, P.D., Lagun, V., Reid, P.A., Iagovkina, S., 2005. Antarctic Climate
11 Change during the last 50 years. *Int J Climatol* 25, 279-294.
- 12
- 13 Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton
14 Methodik. *Mitt Int Ver Theor Angew Limnol* 9, 1-38.
- 15
- 16 Van Leeuwe, M.A., Stefels, J., 1998. Effects of iron and light stress on the
17 biochemical composition of Antarctic *Phaeocystis* sp. (Prymnesiophyceae). II.
18 Pigment composition. *J Phycol* 34, 496-503.
- 19
- 20 Van Leeuwe, M.A., Stefels, J., 2007. Photosynthetic responses in *Phaeocystis*
21 *antarctica* towards varying light and iron conditions. *Biogeochemistry* 83, 61-70.
- 22
- 23 Wong, C.S., Crawford, D.W., 2006. Evolution of phytoplankton pigments in an
24 in-situ iron enrichment experiment in the subarctic NE Pacific. *Deep-Sea Res II*
25 53, 2152-2167.

1
2 Wright, S.W., Ishikawa, A., Marchant, H.J., Davidson, A.T., van den Enden,
3 R.L., Nash, G.V., 2009. Composition and significance of picophytoplankton in
4 Antarctic waters. *Polar Biol* 32, 797-808.

5
6 Wright, S.W., Jeffrey, S.W., 2006. Pigment markers for phytoplankton
7 production. In: Volkmann, J.K. (Ed.), *Marine Organic Matter: Biomarkers,*
8 *Isotopes and DNA.* Springer-Verlag, Berlin, pp. 71-104.

9
10 Wright, W., Thomas, D.P., Marchant, J., Higgins, H.W., Mackey, M.D., Mackey,
11 D.J., 1996. Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern
12 Ocean: comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations
13 of pigment HPLC data using the 'CHEMTAX' matrix factorisation program. *Mar*
14 *Ecol Prog Ser* 144, 285-298.

15
16 Wright, S.W., van den Enden, R.L., 2000. Phytoplankton community structure
17 and stocks in the East Antarctic marginal ice zone (BROKE survey, January
18 March 1996) determined by CHEMTAX analysis of HPLC pigment signatures.
19 *Deep-Sea Res II* 47, 2363-2400.

20
21 Wright, S.W., van den Enden, R.L., Pearce, I., Davidson, A.T., Scott, F.J.,
22 Westwood, K.J., 2010. Phytoplankton community structure and stocks in the
23 Southern Ocean (30–801E) determined by CHEMTAX analysis of HPLC
24 pigment signatures. *Deep-Sea Res II* 57, 758-778.

25

1 Zapata, M., Rodriguez, F., Garrido, J.L., 2000. Separation of chlorophylls and
2 carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed
3 phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. Mar Ecol Prog Ser
4 195, 29-45.

5
6 Zhou, M., Nordhausen, W., Huntley, M., 1994. ADCP measurements of the
7 distribution and abundance of Euphausiids near the Antarctic Peninsula in
8 Winter. Deep-Sea Res I 41, 1425-1445.

9
10

Tables

Table 1: Concentrations (mg m^{-3}) of pigments (average and minimum-maximum concentrations for each geographic region). Chl *a* = chlorophyll *a*; Chlide *a* = chlorophyllide *a*; Phytin *a* = pheophythin *a*; Phide *a* = pheophorbide *a*; Chl *b* = chlorophyll *b*; Chl *c*₂ = chlorophyll *c*₂; Chl *c*₃ = chlorophyll *c*₃; Allo = alloxanthin; Fuco = fucoxanthin; Hex-fuco = 19'-hexanoyloxyfucoxanthin; But-fuco = 19'-butanoyloxyfucoxanthin; Diadino = diadinoxanthin; Diato = diatoxanthin; Perid = peridinin.

Pigment	2008				2009		
	Drake	Bransfield	Ross	Weddell	Bransfield	Ross	Weddell
Chl <i>a</i>	0.39 (0.04-0.89)	0.55 (0.12-1.08)	1.76 (0.25-4.50)	0.15 (0.04-0.15)	0.92 (0.35-1.98)	3.73 (0.36-7.61)	0.27 (0.02-0.27)
Chlide <i>a</i>	0.01 (0.00-0.03)	0.02 (0.00-0.05)	0.24 (0.00-0.87)	0.01 (0.00-0.01)	0.03 (0.00-0.14)	0.33 (0.00-0.90)	0.01 (0.00-0.03)
Phytin <i>a</i>	0.02 (0.00-0.05)	0.02 (0.01-0.05)	0.07 (0.01-0.26)	0.01 (0.00-0.01)	0.04 (0.01-0.07)	0.08 (0.01-0.18)	0.01 (0.00-0.03)
Phide <i>a</i>	0.04 (0.00-0.10)	0.08 (0.01-0.22)	0.19 (0.02-0.61)	0.01 (0.00-0.03)	0.09 (0.01-0.29)	0.26 (0.03-0.55)	0.01 (0.00-0.04)
Chl <i>b</i>	0.01 (0.00-0.02)	0.01 (0.00-0.04)	0.03 (0.02-0.09)	0.01 (0.00-0.03)	0.01 (0.00-0.03)	0.02 (0.00-0.03)	0.01 (0.00-0.03)
Chl <i>c</i> ₂	0.07 (0.01-0.20)	0.11 (0.03-0.24)	0.50 (0.03-1.27)	0.02 (0.01-0.05)	0.13 (0.03-0.28)	0.73 (0.03-1.71)	0.04 (0.00-0.13)
Chl <i>c</i> ₃	0.10 (0.00-0.28)	0.15 (0.00-0.37)	0.06 (0.00-0.21)	0.01 (0.00-0.03)	0.09 (0.01-0.28)	0.11 (0.00-0.30)	0.02 (0.00-0.05)
Allo	0.01 (0.00-0.07)	0.02 (0.00-0.23)	0.00 (0.00-0.00)	0.02 (0.00-0.06)	0.01 (0.00-0.03)	0.00 (0.00-0.01)	0.03 (0.00-0.13)
Fuco	0.31 (0.03-0.72)	0.44 (0.10-0.96)	1.60 (0.17-3.47)	0.05 (0.02-0.14)	0.59 (0.10-1.42)	3.00 (0.2-6.95)	0.11 (0.02-0.60)
Hex-fuco	0.07 (0.02-0.12)	0.08 (0.02-0.14)	0.02 (0.00-0.07)	0.05 (0.02-0.08)	0.02 (0.01-0.06)	0.01 (0.00-0.03)	0.06 (0.01-0.14)
But-fuco	0.06 (0.01-0.19)	0.07 (0.01-0.18)	0.01 (0.00-0.02)	0.01 (0.00-0.02)	0.02 (0.01-0.06)	0.00 (0.00-0.01)	0.01 (0.00-0.02)
Diadino	0.10 (0.01-0.23)	0.13 (0.02-0.29)	0.13 (0.02-0.28)	0.02 (0.01-0.03)	0.09 (0.01-0.22)	0.29 (0.02-0.60)	0.03 (0.00-0.09)
Diato	0.01 (0.00-0.04)	0.02 (0.00-0.06)	0.02 (0.00-0.05)	0.00 (0.00-0.00)	0.02 (0.00-0.06)	0.06 (0.00-0.16)	0.00 (0.00-0.01)
Perid	0.02 (0.00-0.05)	0.05 (0.00-0.13)	0.06 (0.00-0.17)	0.00 (0.00-0.00)	0.03 (0.00-0.09)	0.03 (0.00-0.06)	0.01 (0.00-0.02)

Figure captions

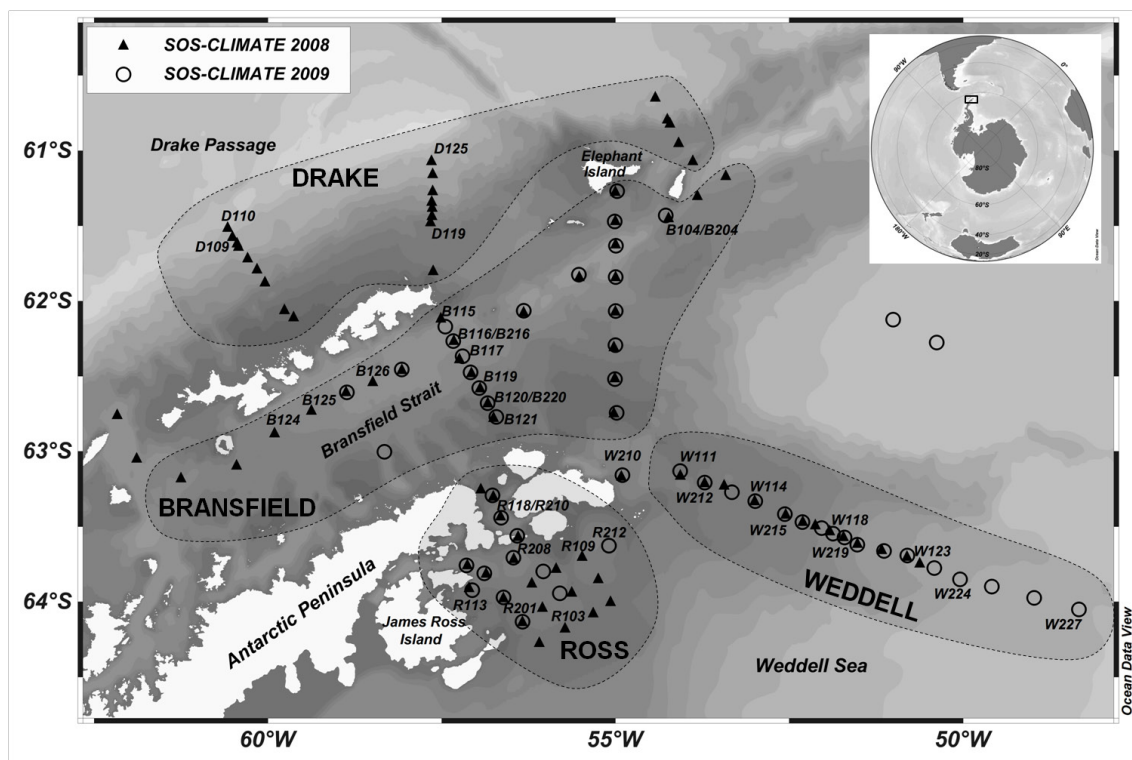


Figure 1. Study area and stations' locations during SOS-CLIMATE 2008 and 2009 summer cruises. Bounded stations (dashed line) represent the geographical zonation used in this study (non-bounded stations were not used in the discussion of the results). The first letter of the stations' label is related to the surveyed region (D = DRAKE, B = BRANSFIELD, W = WEDDELL, R = ROSS). The number following that letter refers to the sampling period (1 = 2008 cruise, 2 = 2009 cruise). Inset map includes the South Polar orthographic projection and the box indicates the magnified region.

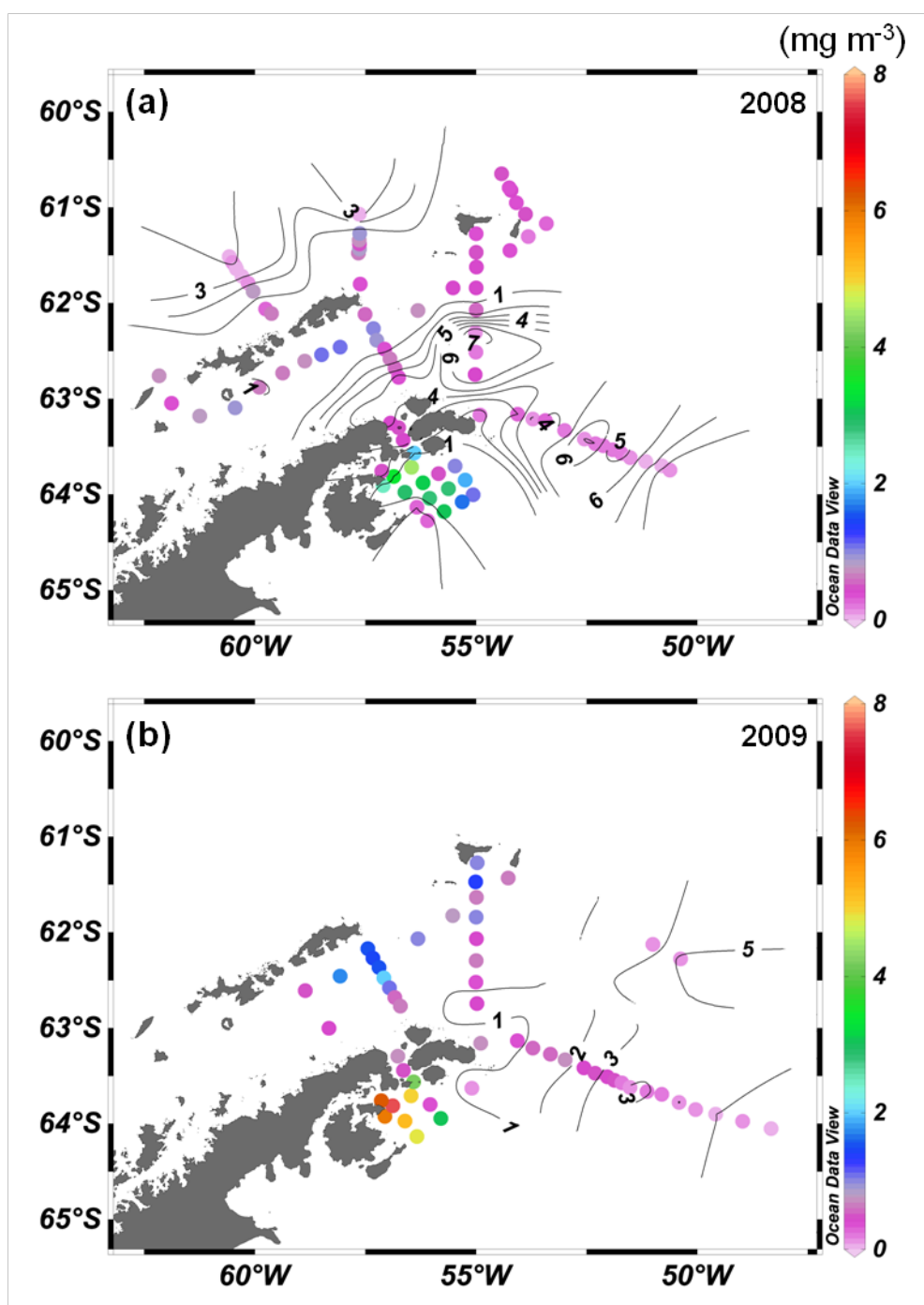


Figure 2. Surface distribution of total chlorophyll *a* (mg m⁻³) (color scale) and Hex-fuco:Chl *c*₃ ratio (isolines) for SOS-CLIMATE 2008 (a) and 2009 (b).

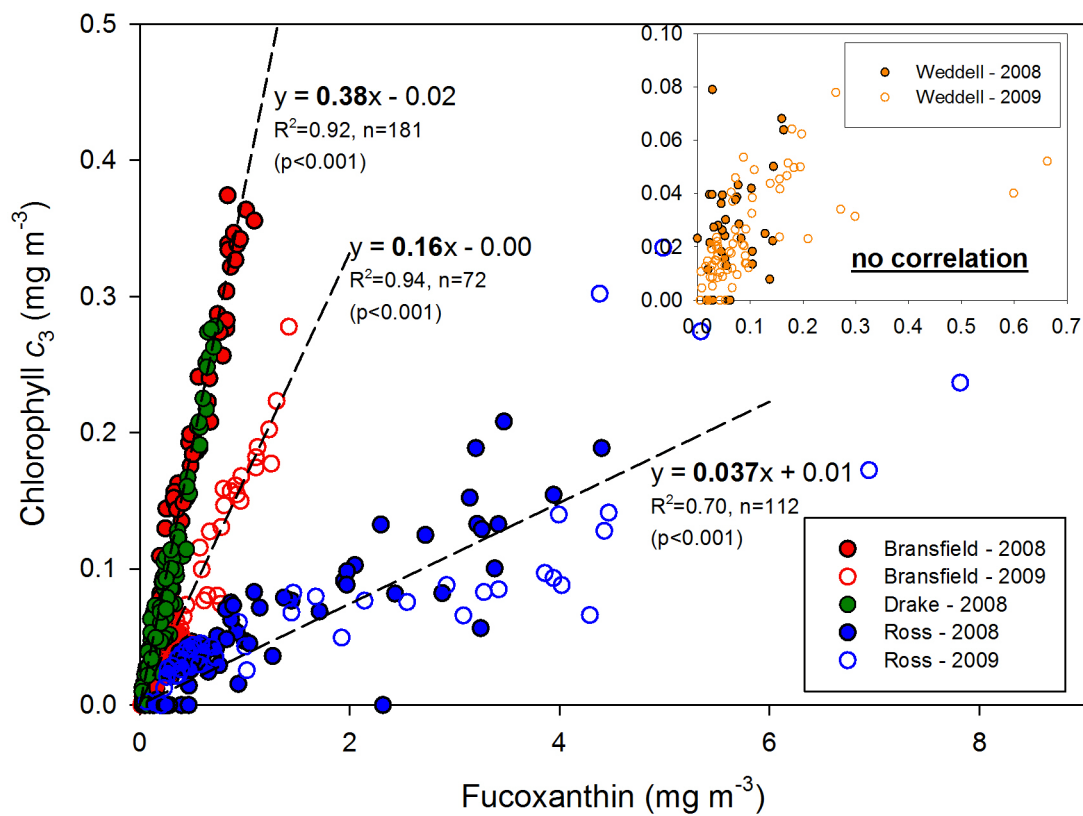


Figure 3. Relationship between chlorophyll c_3 and fucoxanthin for the different regions and sampling periods.

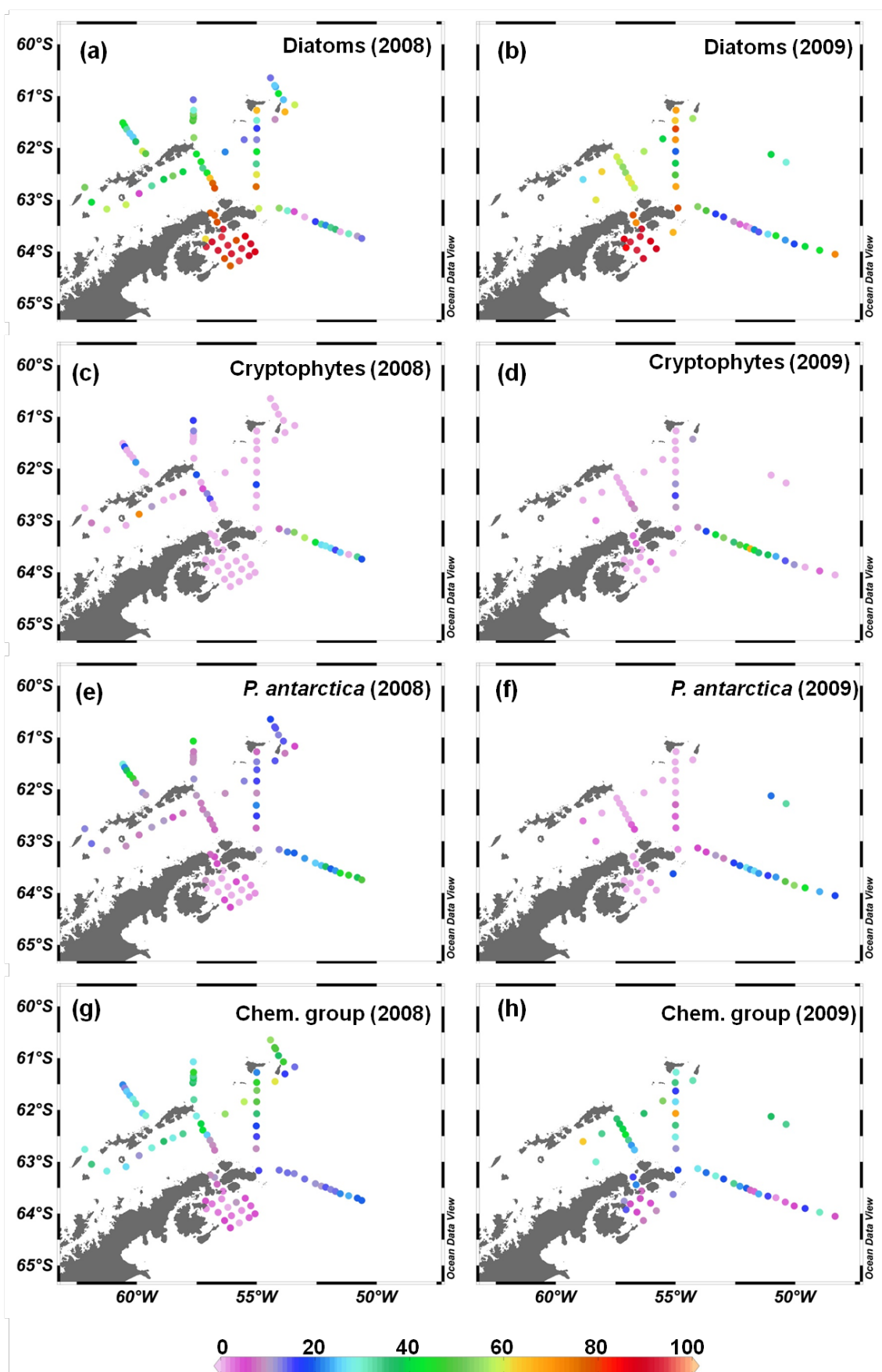


Figure 4. Surface distribution of the relative contribution (%) of main phytoplankton groups to total Chlorophyll *a* estimated by CHEMTAX using HPLC pigment data: diatoms in 2008 (a) and 2009 (b); cryptophytes in 2008 (c) and 2009 (d); *Phaeocystis antarctica* in 2008 (e) and 2009 (f); "Chemotaxonomic group" in 2008 (g) and 2009 (h).

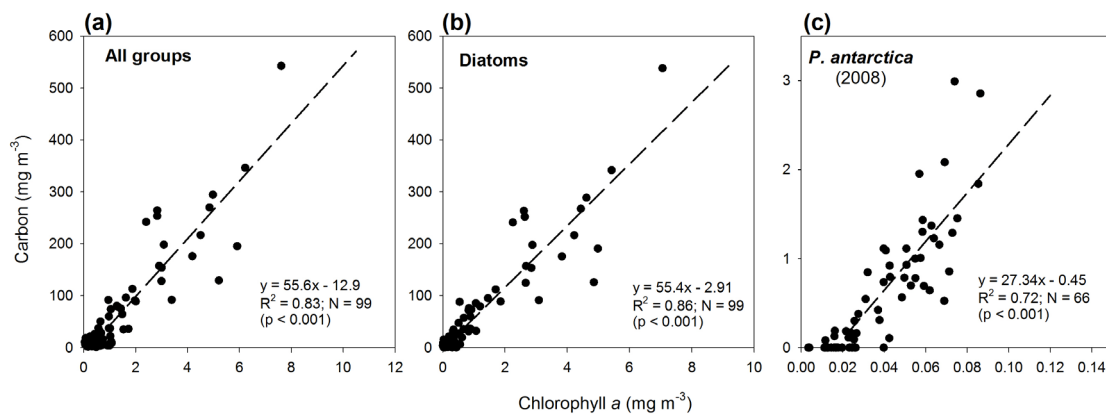


Figure 5. Relationship between Chlorophyll *a* biomass estimated from CHEMTAX/HPLC pigment data and carbon biomass obtained from microscopy data. (a) All groups (2008 and 2009), (b) diatoms (2008 and 2009) and (c) *Phaeocystis antarctica* (only 2008).

DRAKE

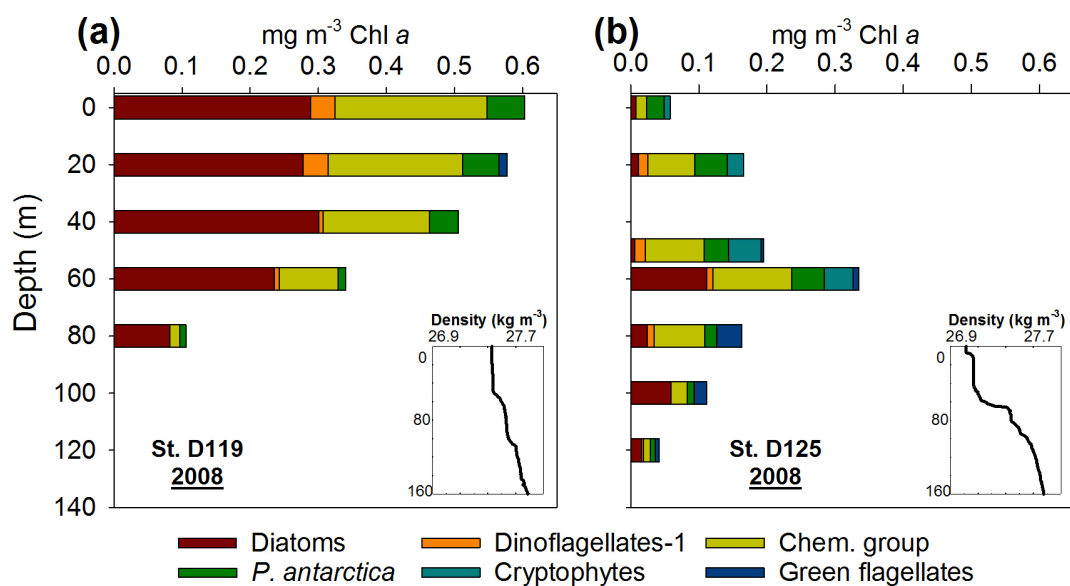


Figure 6. Depth distribution of phytoplankton groups' biomass (as Chlorophyll *a* concentration) calculated by CHEMTAX at: (a) a coastal station (D119) and (b) offshore station (D125) in the Drake Passage region. Insets: density profiles of the respective stations (see Fig. 1 for stations' locations).

BRANSFIELD

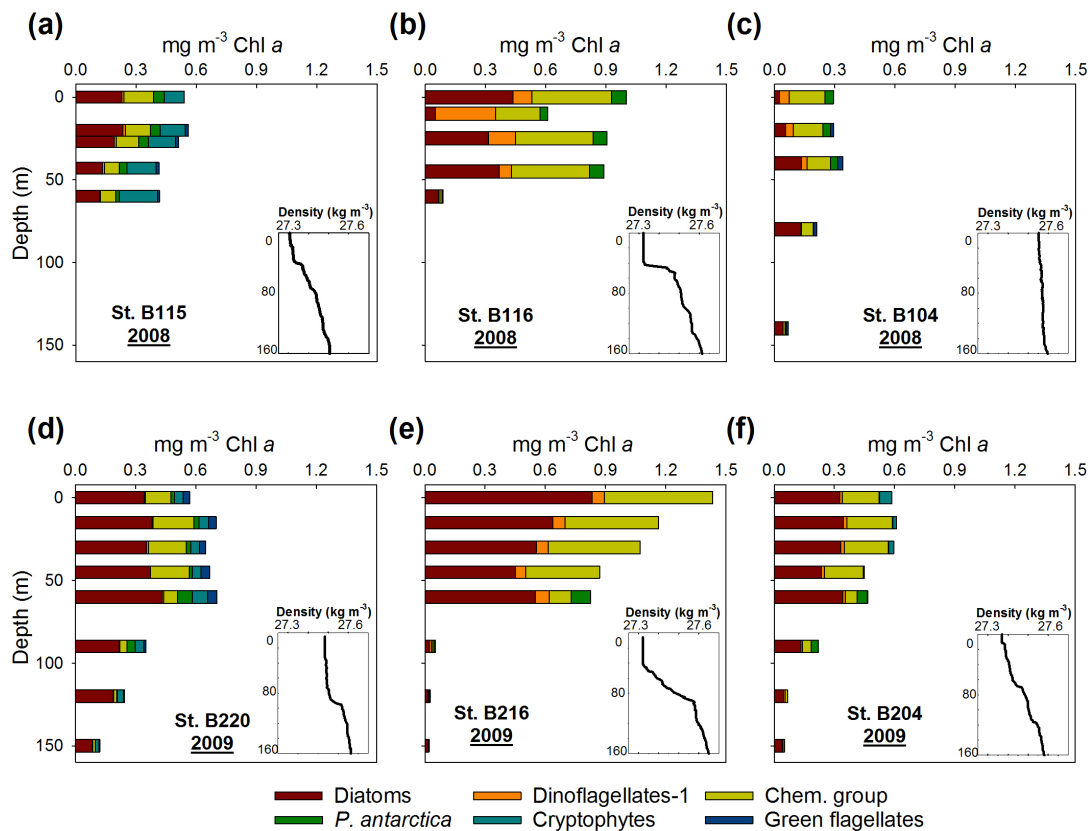


Figure 7. Depth distribution of phytoplankton groups' biomass (as Chlorophyll *a* concentration) calculated by CHEMTAX at stations (a) B115, (b) B116 and (c) B104 (occupied in 2008); and at stations (d) B220, (e) B216 and (f) B204 (occupied in 2009) in the Bransfield Strait. Insets: density profiles of the respective stations (see Fig. 1 for stations' locations).

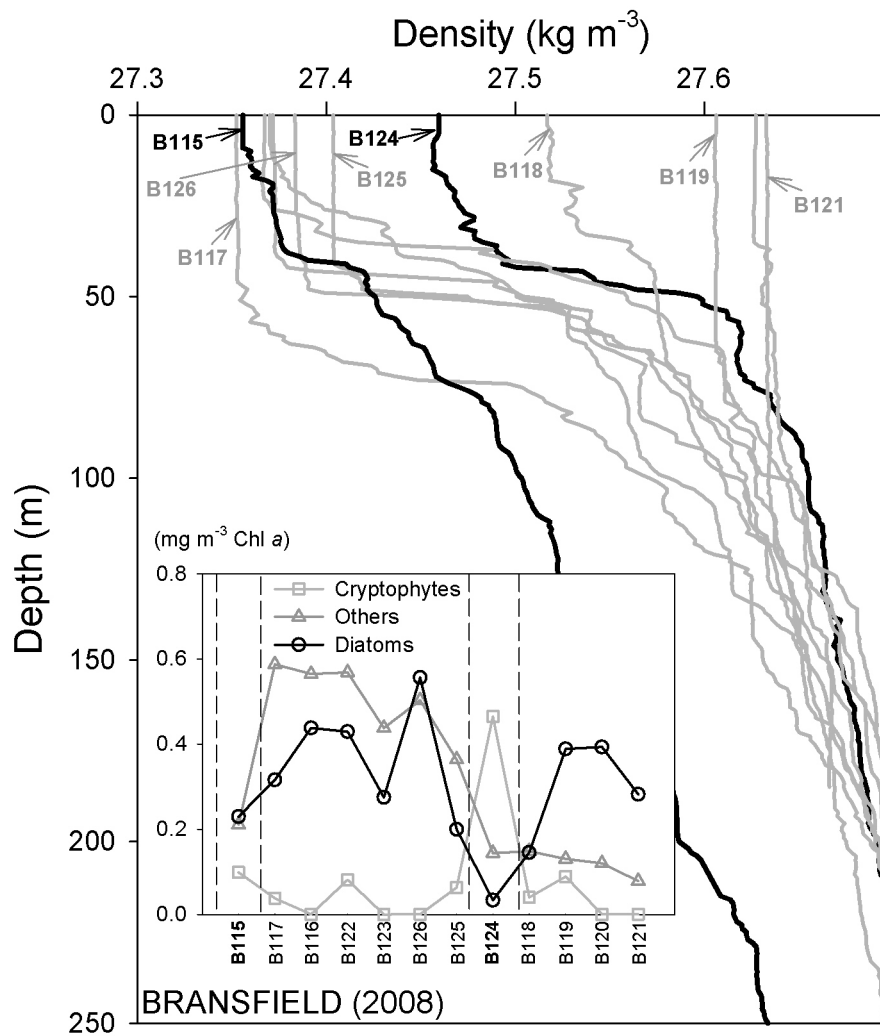


Figure 8. Density vertical profiles at stations from Bransfield Strait with surface chlorophyll *a* values above 0.5 mg m⁻³, during the 2008 cruise. Inset: absolute contribution (mg m⁻³ of chlorophyll *a*) of major taxonomic groups at same stations shown on the main graph. Labels of some stations are displayed in order to associate with the graph inset. Density profiles of stations B115 and B124 are highlighted in black lines (see Fig. 1 for stations' locations).

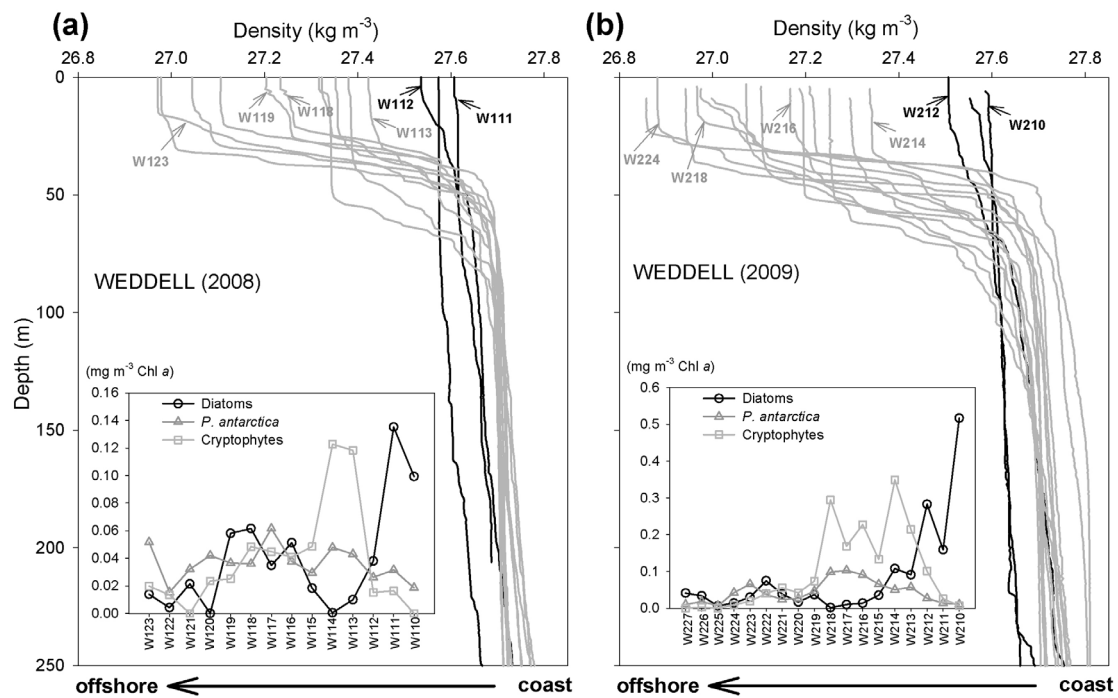


Figure 9. Vertical profiles of water column density for the Weddell Sea transect during (a) 2008 and (b) 2009. Insets: absolute contribution (mg m^{-3} of chlorophyll *a*) of major taxonomic groups along the longitude W (coastal-offshore gradient displayed by arrows) for the same stations on the main graphs (see Fig. 1 for stations' location). Labels of some stations are displayed in order to assist the geographical localization. Density profiles of more coastal stations are highlighted in black lines.

WEDDELL

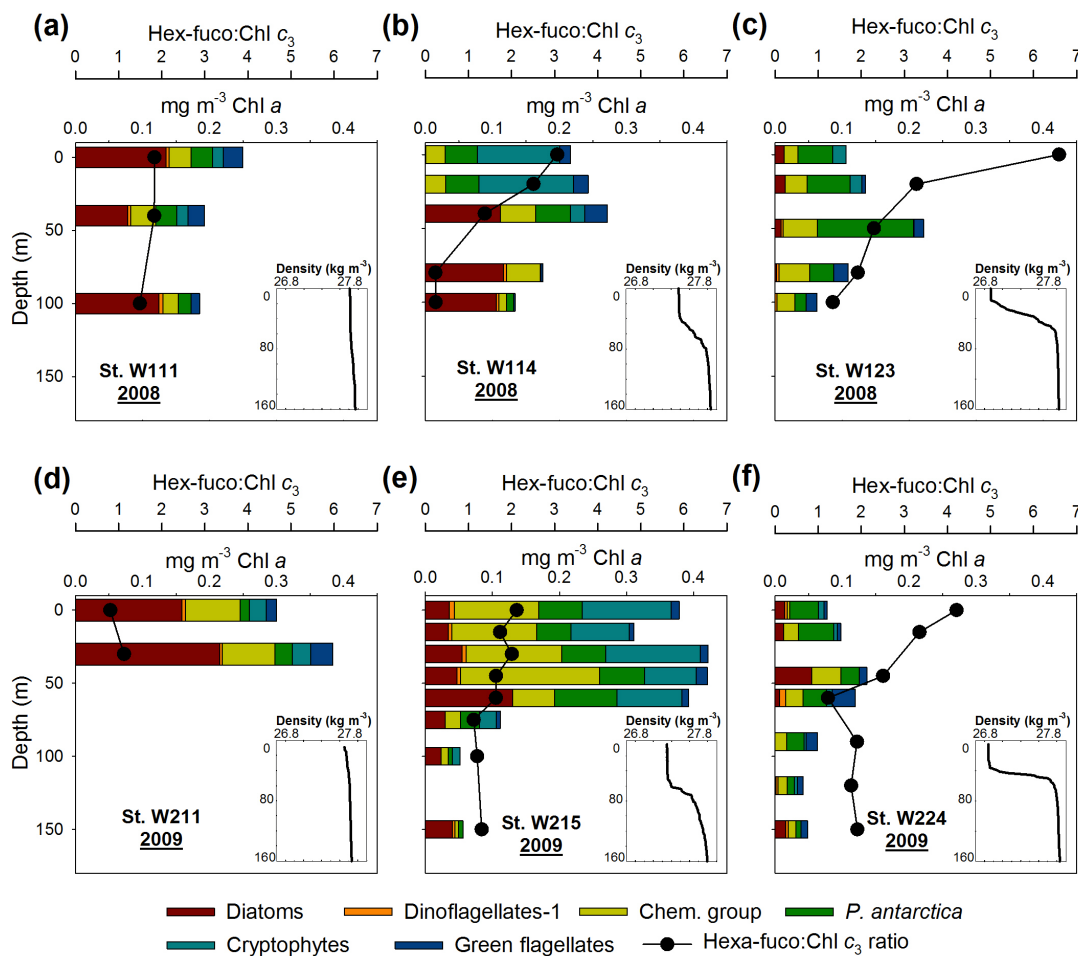


Figure 10. Depth distribution of phytoplankton groups' biomass (as chlorophyll *a* concentration) calculated by CHEMTAX (bars), and Hex-fuco:Chl *c*₃ ratio (marked line) at the selected stations from the Weddell Sea. The order of appearance of stations corresponds to the onshore-offshore gradient in 2008 (a-c) and 2009 (d-f) along with the Hex-fuco:Chl *c*₃ ratio profiles. Insets: density profiles of the respective stations (see Fig 1. for stations' locations).

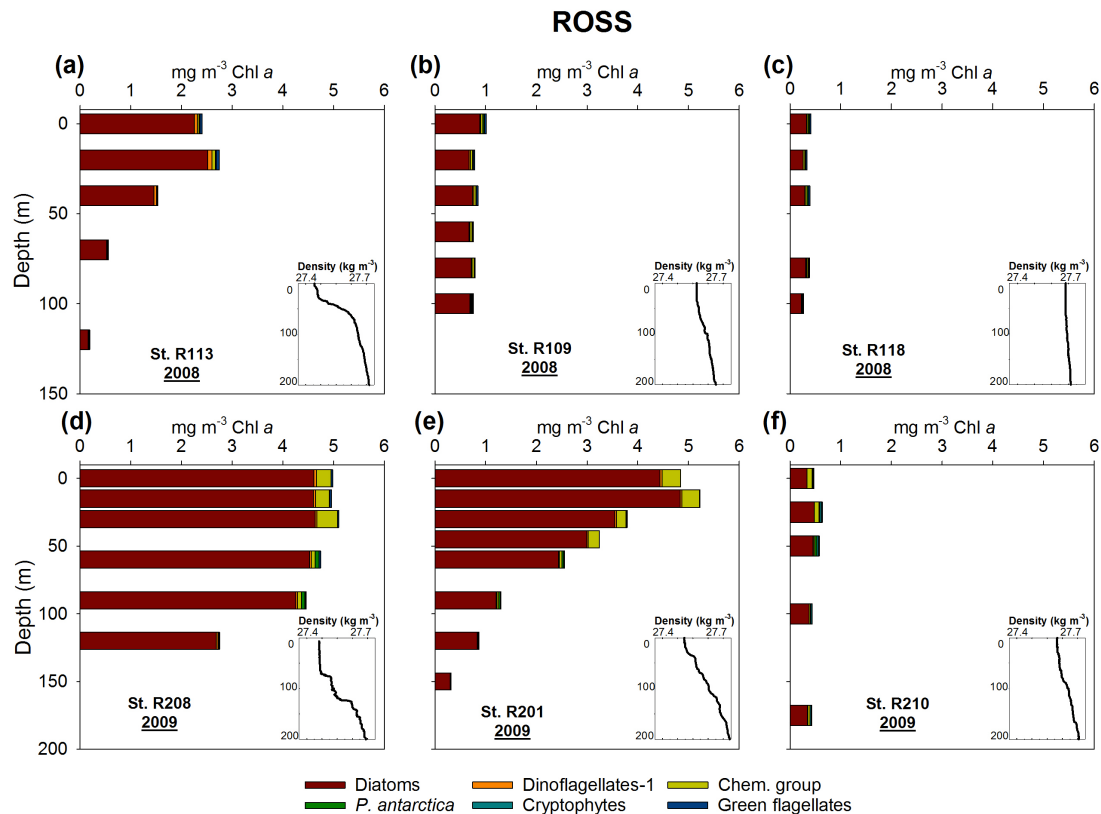


Figure 11. Depth distribution of phytoplankton groups' biomass (as chlorophyll *a* concentration) calculated by CHEMTAX at the selected stations in the vicinities of James Ross Island (a-f). (a) Coastal station, 2008; (b) Non-coastal station, 2008; (c) Antarctic Sound station, 2008; (d) Coastal station, 2009; (e) Non-coastal station, 2009 and (f) Antarctic Sound station, 2009. Insets: density profiles of the respective stations (see Fig. 1 for stations' locations).

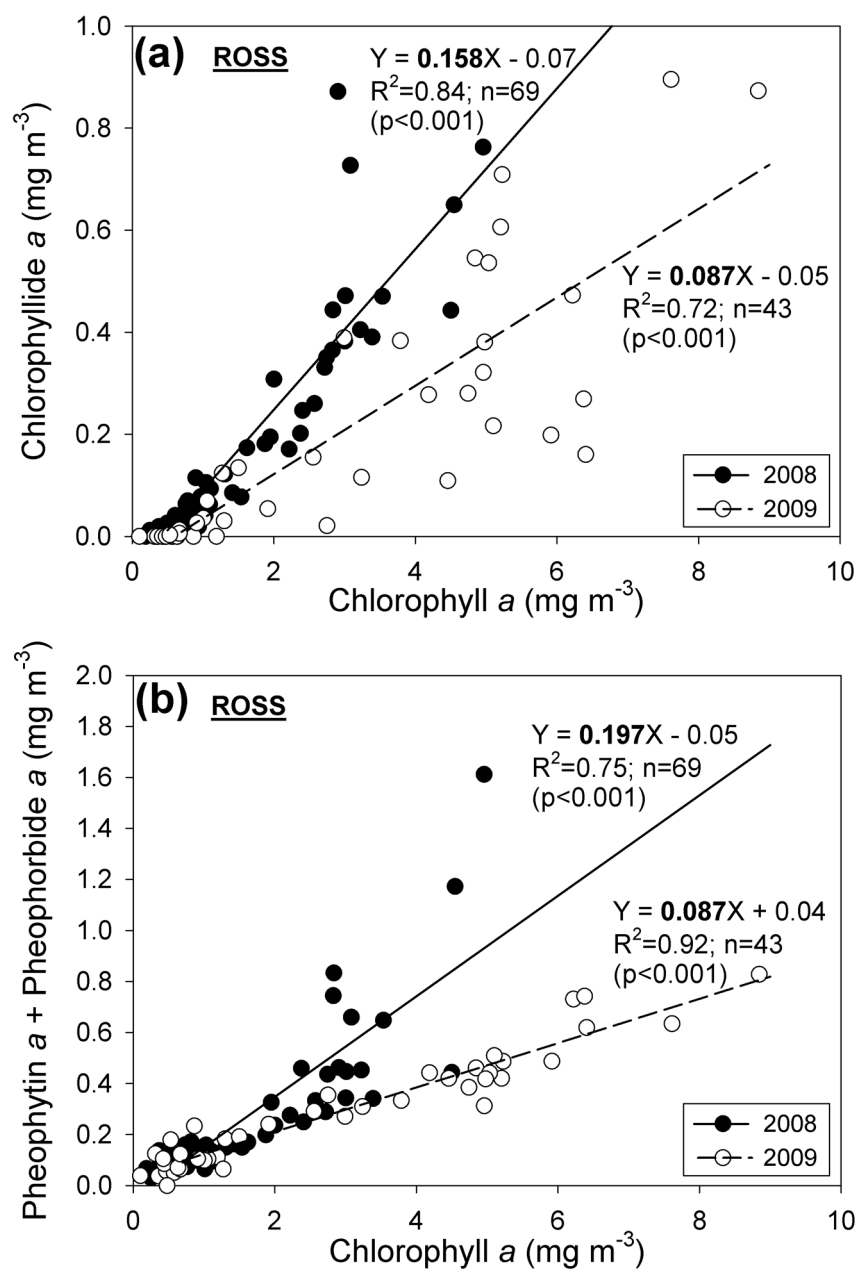


Figure 12. Relationship between chlorophyll a concentration and (a) chlorophyllide a concentration and (b) pheophytin a plus pheophorbide a concentration, for stations near James Ross Island.

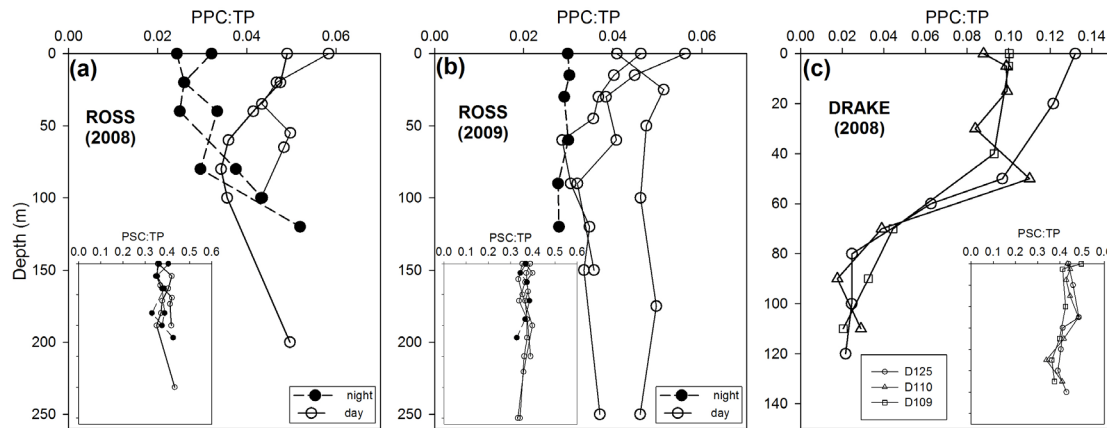


Figure 13. Vertical profiles of photoprotective carotenoids (PPC) to total pigments (TP) ratios for available night (R103 and R109) and day (R113 and R118) stations at Ross region in 2008 (a); night (R208) and day (R201, R210 and R212) stations at Ross region in 2009 (b) and stratified daytime stations in Drake Passage (c). Insets: Profiles of the PSC:TP ratios for the same stations. Note the different scales between main graphs and insets.

ANEXO IV

Souza, M.S.de, Tavano, V.M., Mendes, C.R.B., e Garcia, C.A.E. (em preparação) Fitoplâncton e variáveis abióticas na Península Antártica (verão) e na Patagônia (primavera-verão).

Este manuscrito é resultante da análise e interpretação de dados de microscopia ótica realizados pelo primeiro autor/doutorando e ainda receberá a contribuição dos demais co-autores.

FITOPLÂNCTON E VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA PENÍNSULA ANTÁRTICA (VERÃO) E NA PATAGÔNIA (PRIMAVERA-VERÃO), Souza, M.S.de, Tavano, V.M., Mendes, C.R.B. e Garcia, C.A.E.

Resumo

O objetivo deste trabalho é relacionar o fitoplâncton ao redor da Península Antártica e da quebra de plataforma continental da Patagônia com fatores físicos e químicos, durante o período de maior desenvolvimento fitoplanctônico (primavera-verão austrais) e determinar possíveis relações entre o fitoplâncton nos dois ambientes. Amostras de superfície foram coletadas em cinco cruzeiros oceanográficos (em outubro de 2004, novembro de 2007 e janeiro de 2009 na Patagônia e fevereiro-março de 2008 e 2009 na Antártica) a bordo do Navio de Apoio Oceanográfico *Ary Rongel*. Contagem, identificação e medidas de dimensões do fitoplâncton foram realizadas em câmaras de sedimentação sob microscópio ótico invertido. A densidade celular e os respectivos biovolumes foram convertidos em níveis de biomassa em carbono, de acordo com a literatura específica para cada grupo taxonômico. Dados de temperatura e salinidade foram utilizados para cálculo da profundidade da camada de mistura. Foram aplicadas análises estatísticas multivariadas para síntese dos dados biológicos e para a determinação da relação entre parâmetros físicos e químicos e o fitoplâncton. Espécies de *Thalassiosira* spp. e flagelados <20 µm foram predominantes nos cruzeiros de primavera contribuindo 60,77% de

dissimilaridade cumulativa para a formação de quatro agrupamentos que compreenderam: 1) dois cruzeiros de primavera na Patagônia; 2) um cruzeiro de verão na Patagônia, com 3 subgrupos; 3) o cruzeiro de 2008 na Antártica; 4) o cruzeiro de 2009 na Antártica. As diatomáceas microplanctônicas, *Odontella weissflogii* na Antártica e *Rhizosolenia crassa* próximo às Ilhas Malvinas, reforçaram a separação dos agrupamentos. Foi identificada a ocorrência, tanto na quebra de plataforma da Patagônia quanto na Península Antártica, de algumas diatomáceas como *Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* e *Thalassiothrix antarctica*. Temperatura, nutrientes inorgânicos dissolvidos e profundidade da camada de mistura foram as variáveis que explicaram melhor a variabilidade do fitoplâncton na região antártica. Este trabalho mostrou que diatomáceas foram os componentes principais do fitoplâncton no verão na Antártica e na primavera na Patagônia, embora representada por espécies nanoplanctônicas. O verão na Patagônia apresentou uma composição complexa e distinta, dependendo da região considerada. Além disso, foi demonstrado que algumas espécies de diatomáceas comuns na Antártica também ocorrem em menores latitudes no Atlântico Sudoeste, principalmente na primavera austral, sugerindo sua adaptação fisiológica e/ou ecológica a ambientes de temperatura mais elevada.

Abstract

The objective of this work is to relate the phytoplankton communities from the Antarctic Peninsula and from the Patagonian shelf break with some physical and chemical variables, during the phytoplankton's growth seasons (southern spring and summer) and to identify possible relationships between the phytoplankton in the two environments. Surface samples were collected during five oceanographic cruises (in October 2004 and 2007, and January 2009 in the Patagônia and February-March 2008 and 2009 in the Antarctic Peninsula) on board the Brazilian Navy ship *Ary Rongel*. Counting, identification and measurement of linear dimensions of the phytoplankton species were made in settling chambers under the inverted microscope. The number of cells per liter (density) and concurrent biovolume estimates were transformed into phytoplankton carbon biomass, using taxa-specific conversion factors derived from the literature. Temperature and salinity data were used to calculate the upper mixed layer depth. Multivariate statistical analyses were applied in order to summarize the biological data and to examine the relationship between environmental factors and major phytoplankton species. *Thalassiosira* spp. and flagellates <20 µm were dominant in the spring sampling period, contributing 60.77% of cumulative dissimilarity to the identification of four clusters as followed: 1) two spring cruises to the Patagonia; 2) one summer cruise to the Patagônia, with three sub-groups; 3) the 2008 summer cruise to the Antarctica; 4) the 2009 summer cruise to the Antarctica. Large microplankton diatom cells, *Odontella weissflogii* in the Antarctic Peninsula and *Rhizosolenia crassa* near the Malvinas Islands, also contributed to the separation of clusters. Three

diatom species, *Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* and *Thalassiothrix antarctica* occurred in both the Patagonian shelf break and the Antarctic Peninsula. Temperature, dissolved inorganic nutrients and upper mixed layer depth contributed to explain the variability of the phytoplankton spatial distribution around the Antarctica Peninsula. This work showed that diatoms were the main phytoplankton component in summer in the Antarctic Peninsula and in spring in the Patagonia, although with nanoplankton species, whereas the Patagonian summer showed a complex and distinct phytoplankton composition, depending on the region considered. In addition, it was demonstrated that some diatom species common in the Antarctica also occur in lower latitudes in the southwestern Atlantic Ocean, mainly in the austral spring, suggesting their physiological and/or ecological adaptation to higher temperature environments.

5.1 Introdução

O Atlântico Sudoeste é caracterizado pela presença marcante da Corrente das Malvinas (CM), que é resultante da ramificação da Corrente Circumpolar Antártica (CCA) nas proximidades da Passagem de Drake. A CM carrega, em direção ao norte, águas frias e ricas em nutrientes ao longo da margem continental da Argentina (Piola *et al.*, 2010). Esse aporte importante de macronutrientes inorgânicos oriundo da CM influencia o desenvolvimento do fitoplâncton, embora os aportes e os níveis de ferro (micronutriente essencial) na região, ainda não tenham sido detalhadamente determinados. Ao mesmo tempo, a concentração de nutrientes na zona eufótica, influenciados por forçantes físicas, por exemplo, estratificação da coluna d'água, profundidade da camada de mistura, pode influenciar a estrutura e composição do fitoplâncton (Signorini *et al.*, 2009, e as referências inclusas).

No Mar Argentino, conforme mostrado em estudos clássicos de ecologia fitoplanctônica (Margalef, 1978; Smayda e Reynolds 2001), geralmente, há uma associação entre a abundância de diatomáceas, associadas com concentração alta de clorofila-*a*, e a estação quente (primavera e verão), quando há aumento na radiação solar e estabelecimento de uma camada de mistura rasa. Por outro lado, os flagelados ganham importância, progressivamente, sob concentrações reduzidas de nutrientes dissolvidos e a permanência da camada de mistura rasa em partes do Mar Argentino, após as florações de diatomáceas (Garcia *et al.*, 2008; Signorini *et al.*, 2006 e 2009; Souza *et al.*, 2011). Em torno da Península Antártica e, da

mesma maneira, no Mar Argentino, esse padrão de sucessão de diatomáceas – flagelados é controlado pela profundidade da camada de mistura (Garibotti *et al.*, 2003, 2005a,b), pela pressão de herbivoria (Smetacek *et al.*, 2004; Smith Jr. e Lancelot, 2004), pela irradiância luminosa (Holm-Hansen e Hewes, 2004; Montes-Hugo *et al.*, 2009) e pela variação da concentração do metal-traço Ferro (Smetacek *et al.*, 2004; Smetacek e Nicol, 2005).

Embora haja uma teleconexão física entre águas antárticas e águas da margem continental argentina através da CM e sua interação com a plataforma, há poucos estudos que demonstrem o grau de similaridade entre o fitoplâncton da Patagônia e da Antártica. As frústulas de diatomáceas (Romero e Hensen, 2002) e cocólitos de cocolitoforídeos (Boeckel *et al.*, 2006) depositados em sedimentos oceânicos permitiram confirmar a influência do transporte de fitoplâncton encontrado no Oceano Austral que é conduzido pela CM para a bacia argentina. Uma região central, entre 46°S–54°S, do Atlântico Sudoeste foi caracterizada por concentração alta de clorofila-*a* (0,65 a 2,46 $\mu\text{g L}^{-1}$) acompanhando a concentração de diatomáceas, por exemplo, *Eucampia antarctica* e *Fragilariopsis kerguelensis*, comuns na Antártica (Fernandes e Brandini, 1999). Por outro lado, é comumente difícil abranger maiores escalas temporais (mais de 1 ano de amostragem) que permitam verificar a semelhança entre as assembléias de fitoplâncton durante o período de maior crescimento (primavera e verão austrais).

A frente polar tem sido apontada como uma barreira importante para a expatriação de espécies de diatomáceas tipicamente antárticas para latitudes mais baixas da plataforma e regiões profundas da bacia argentina (Olguín e

Alder, 2011). Fernandes e Brandini (1999) observaram que florações de espécies fitoplanctônicas distintas, uma comunidade dominada por diatomáceas pouco silicificadas ao norte da Confluência Brasil-Malvinas e outra com diatomáceas fortemente silicificadas na Frente Polar com características hidrográficas diferentes, podem resultar em mesma magnitude de biomassa em clorofila-*a*. Olguín *et al.* (2006) identificaram cinco áreas discretas entre 30–61°S no Atlântico Sudoeste, de acordo com um conjunto de espécies típicas, principalmente diatomáceas, embora a diversidade ao longo do extenso transecto estudado tenha sofrido poucas mudanças. Esses estudos, localizados em estações mais afastadas e a leste da quebra de plataforma da Patagônia, verificaram que dinoflagelados foram mais abundantes nas estações ocupadas mais ao norte (Fernandes e Brandini, 1999) enquanto que diatomáceas e silicoflagelados caracterizaram um pico próximo à frente polar (Olguín *et al.*, 2006).

Este trabalho pretende contribuir com dados sobre a caracterização das comunidades fitoplanctônicas na quebra de plataforma do Mar Argentino e nos arredores da Península Antártica e sua relação com variáveis ambientais. O trabalho pretende, também, detectar espécies ou grupos taxonômicos antárticos/subantárticos que ocorrem nos dois domínios estudados.

5.2 Materiais e Métodos

5.2.1 Área de estudo

Os cruzeiros oceanográficos cobriram setores do Oceano Atlântico Sudoeste e do Oceano Austral (Fig. 5.1). Os cruzeiros PATEX I e PATEX IV foram conduzidos predominantemente sobre a região de quebra de plataforma da Patagônia, durante a primavera de outubro de 2004 e novembro de 2007, respectivamente. O PATEX VII, realizado no verão de janeiro de 2009, abrangeu uma área de plataforma ao sul das Ilhas Malvinas e próxima do banco submarino de Burdwood. Os cruzeiros de verão (fevereiro-março de 2008 e 2009) em torno da Península Antártica (SOS I e II) ocuparam estações costeiras, próximas da Ilha James Ross e do arquipélago Shetlands do Sul (próximo à Ilha Elefante) e estações oceânicas na região próxima da Passagem de Drake e no canal central do Estreito de Bransfield (Fig. 5.1).

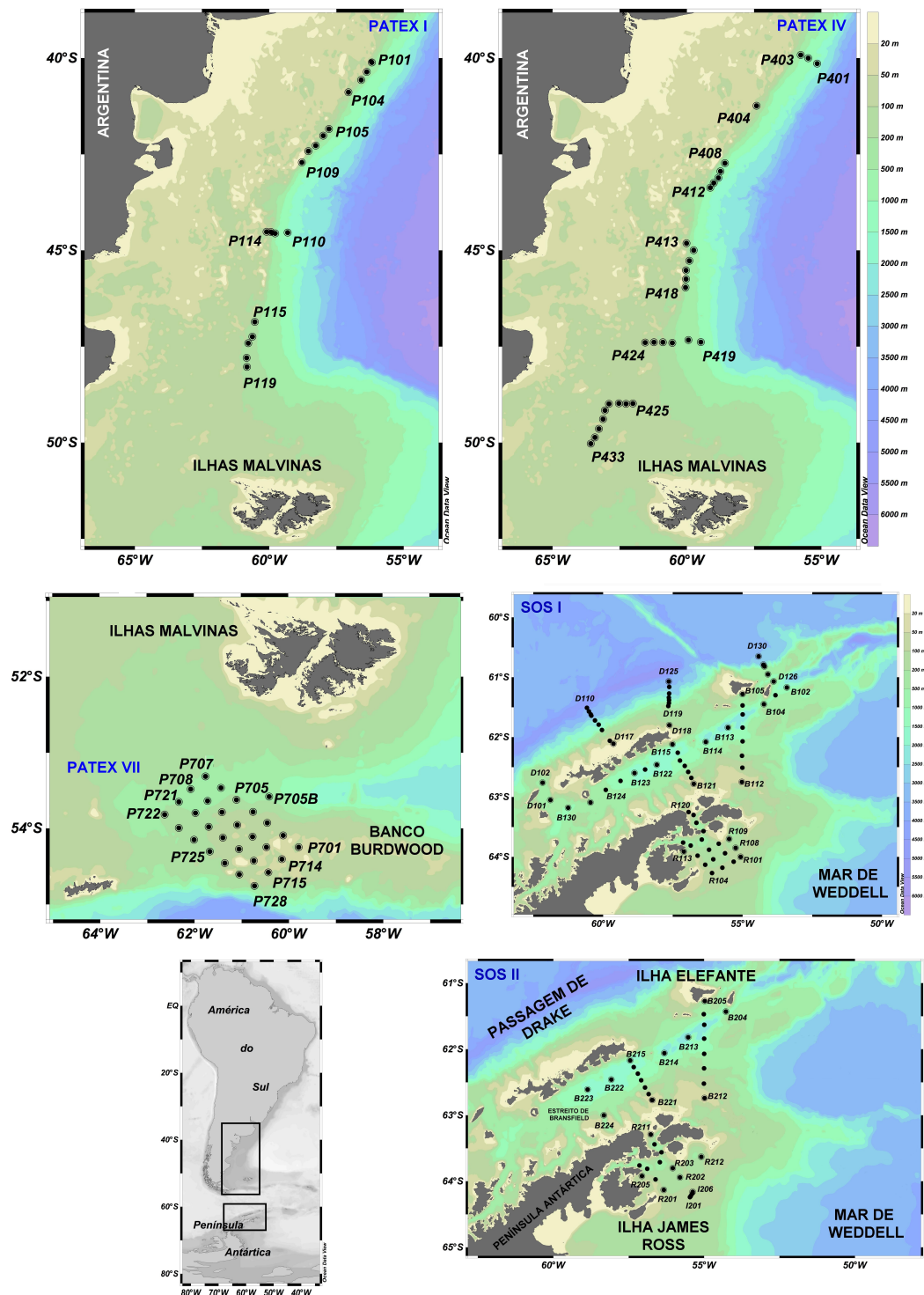


Figura 5.1- Localização geográfica das estações de coleta dos cruzeiros oceanográficos: PATEX I (outubro de 2004), PATEX IV (novembro de 2007), PATEX VII (janeiro de 2009); (B) SOS I (círculos pretos) e SOS II (círculos abertos).

5.2.2 Parâmetros físicos e químicos

Para a coleta dos dados físicos e químicos, foi empregado um sistema carrossel de 12 (ou 24) garrafas Niskin (5 L de capacidade em cada garrafa) e de CTD SBE 911+ acoplada. Foram coletados na coluna d'água os dados de temperatura, condutividade, pressão (CTD) e amostras discretas para determinação de nutrientes inorgânicos. Os dados biológicos são referentes apenas à superfície do mar (em torno de 5 m). A profundidade da camada de mistura superficial foi determinada a partir de perfis da variação de densidade potencial em função da profundidade (ou seja, dp/dz). Aquela profundidade, onde as variações foram maiores que 0,05 em um intervalo de um metro de profundidade (cruzeiros PATEX) ou, maiores que ou iguais a 0,02 no mesmo intervalo de um metro (cruzeiros SOS), foi considerada como o limite da profundidade da camada de mistura superficial (adaptado de Mitchell e Holm-Hansen, 1991). Esta diferença de cálculo entre as regiões é devida ao fato de que as variações de temperatura na coluna d'água são muito pequenas na Antártica e, portanto, um valor menor (0,02) se mostrou mais sensível para a determinação da camada de mistura. A concentração de nutrientes dissolvidos (nitrato[NO₃⁻]+nitrito[NO₂⁻+amônia[NH₃] ou nitrogênio inorgânico dissolvido – NID, fosfato [PO₄⁻³] e silicato [Si(OH)₄⁻⁴]) foi determinada, basicamente, de acordo com Aminot e Chaussepied (1983) (dados cedidos pelo Prof. Dr. Ricardo Pollery – UFRJ). As razões molares entre esses nutrientes (N:P e Si:N) foram também utilizadas como fatores abióticos nas análises estatísticas.

5.2.3 Composição taxonômica, número de células, biovolume e biomassa dos organismos

As amostras biológicas (250 mL) foram coletadas em superfície com o uso de garrafa Van Dorn (5 L), acondicionadas em frascos âmbar com solução alcalina de Lugol (2%) para posterior contagem e identificação do fitoplâncton em microscópio invertido (Utermöhl, 1958).

A identificação taxonômica, até o menor nível taxonômico possível e a estimativa da densidade em número de células por litro foram realizadas com o auxílio de câmaras de sedimentação e microscópio ótico de luz invertida ZEISS Axiovert 135 ou Olympus IX51 (Lab. de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos, IO-FURG), equipados com contraste de fase e de interferência diferencial, em aumento de 200 a 1000 vezes, segundo a literatura especializada (Balech, 1988; Chrétiennot-Dinet, 1990; Scott e Marchant, 2005; Steidinger e Tangen, 1997; Throndsen, 1997). Os ciliados foram identificados segundo os trabalhos de Alder (1999) e Petz (1999).

A contagem de cada táxon foi efetuada em campos ou até toda a área da câmara de sedimentação a fim de assegurar um número mínimo de 400 células fitoplanctônicas, com uma margem de erro de 10% (Lund *et al.*, 1958). A partir dos valores de densidade, da mensuração dos principais eixos lineares dos organismos e da utilização de formas geométricas aproximadas, o biovolume celular, em μm^3 , foi calculado (Hillebrand *et al.*, 1999) e utilizado para a conversão em valores de biomassa em carbono (Eppley *et al.*, 1970;

Putt e Stoecker, 1989; Montagnes *et al.*, 1994; Menden-Deuer e Lessard, 2000). Para a mensuração dos organismos, foram capturadas imagens em câmera digital – Spot Insight QE e programas associados – acoplada ao microscópio invertido, dos principais organismos identificados. As medidas foram efetuadas, durante as rotinas de contagem, no mínimo em 30 indivíduos de cada espécie ou táxon.

Muitos taxa foram agrupados devido às dificuldades inerentes à identificação dos organismos. Para esses agrupamentos, foi considerada a classe de tamanho, o gênero ou a maior categoria taxonômica (ordem, no caso de dinoflagelados e diatomáceas) e função trófica (autotrofia *versus* heterotrofia/mixotrofia). O grupo dos flagelados (Flag) incluiu todos os flagelados não distinguíveis durante as contagens, tais como prasinofíceas, crisofíceas e outras células nano-eucarióticas, entre 2 e 10 µm. Entre os dinoflagelados, alguns gêneros englobaram vários morfotipos e foram representados por *Gymnodinium* spp., *Gyrodinium* spp., *Prorocentrum* spp. (exceção, *P. minimum*) e *Protoperidinium* spp. enquanto outros dinoflagelados foram mantidos no nível de ordem (Peridinales). As diatomáceas foram também agrupadas no nível de gênero ou ordem (Centrales ou Pennales), e em classes de tamanho, tais como Thal (*Thalassiosira* spp. <20 µm de diâmetro), ThalI (*Thalassiosira* spp. entre 20 e 50 µm), ThalII (principalmente *Thalassiosira* spp. entre 50 e 100 µm), ThalIV (*Thalassiosira* sp. e outras cêntricas >100 µm de diâmetro), Cent5 e Cent10 (cêntricas <5 e entre 5 e 10 µm de diâmetro, respectivamente), e P20, P50 e P100 que corresponderam respectivamente às penadas <20, entre 20 e 50, e entre 50 e 100 µm de eixo

apical. Com exceção dos ciliados heterótrofos que foram geralmente agrupados em gênero, foi identificado o autotrófico *Myrionecta rubra* (= *Mesodinium rubrum*).

5.2.4 Concentração de clorofila-a

Um volume de amostra de superfície, de 500 a 2000 mL, conforme a concentração de material particulado em suspensão, foi retirado da garrafa Van Dorn e filtrado em filtros de fibra de vidro GF/F Whatman de 25 mm de diâmetro (em duplicata), por meio de sistema de filtração a vácuo. Após a filtração, os filtros foram acondicionados em papel alumínio e colocados imediatamente em nitrogênio líquido. Em laboratório (IO-FURG), as amostras de clorofila-a foram extraídas em acetona a 90% (mantidas a -20°C , por 24 horas) e analisadas através de método fluorimétrico sem acidificação (Welschmeyer, 1994) com um fluorímetro Turner Designs TD-700. A concentração de clorofila-a foi expressa em mg m^{-3} .

5.2.5 Análises estatísticas

As análises multivariadas de agrupamentos e de correspondência canônica foram escolhidas com o objetivo principal de sintetizar a informação e procurar agrupamentos de amostras e/ou grupos de espécies/maiores taxa (Gauch, 1982) e gradientes ambientais explicativos para a distribuição espacial do fitoplâncton (McGarigal *et al.*, 2000).

Análises de classificação hierárquica (de Agrupamentos) foram aplicadas, usando o índice de similaridade de Bray-Curtis (Clarke & Warwick, 1994) e o algoritmo de ligação UPGMA (distância média não-ponderada entre grupos), para descrever a similaridade espacial entre estações de coleta (análise do tipo R) ou assembléias de espécies (análise do tipo Q). A contribuição para a biomassa em carbono total ou densidade total dos grupos fitoplanctônicos mais freqüentes (>10% em todas as amostras), em cada estação de coleta, foi transformada logaritmicamente (Zar, 1999) e usada como matriz de entrada no programa PAST versão 1.81 (Hammer *et al.*, 2008). As categorias fitoplanctônicas foram resultantes da combinação de espécies/taxa de tamanho similar ou do mesmo gênero e as categorias menos abundantes foram reunidas em maior nível taxonômico (ver seção 5.2.3 para mais detalhes).

Uma análise de ordenação foi adotada, Análise de Correspondência Canônica (ACC), para identificar os padrões principais da variabilidade do fitoplâncton conforme as variáveis ambientais explicativas (Ter Braak and Prentice, 1988). As variáveis bióticas foram representadas pela densidade ou biomassa em carbono dos principais grupos taxonômicos determinados através da microscopia ótica. As variáveis explicativas (ambientais) incluíram temperatura, salinidade, nitrogênio inorgânico dissolvido (NID: nitrato, nitrito e amônia), fosfato, silicato, profundidade da camada de mistura, clorofila-*a* e biomassa em carbono do nano- (2-20 μm) e microfitoplâncton (>20 μm). Todas as variáveis foram transformadas logaritmicamente antes da análise. Para verificar a significância do modelo da ACC que explicou a variabilidade do

fitoplâncton, o teste de Monte-Carlo foi efetuado baseando-se em 499 permutações considerando o modelo reduzido ($p < 0,05$). Algumas variáveis foram excluídas, após a verificação de resultados da ACC, quando houve multicolinearidade, o que prejudicaria a interpretação dos dados. Por fim, as variáveis selecionadas para a ACC final foram temperatura, salinidade, NID, fosfato, silicato, camada de mistura e clorofila-*a*.

5.2.6 Análises de similaridade (ANOSIM) e do percentual de similaridade (SIMPER)

Considerando os resultados das análises de agrupamentos, foi avaliada a significância dos grupos formados utilizando-se a técnica ANOSIM (análise de similaridades). A ANOSIM é um teste não-paramétrico para verificar diferenças significativas entre dois ou mais grupos, baseados em uma medida de distância (Clarke, 1993). Analogamente a uma ANOVA, a ANOSIM baseia-se na comparação das distâncias entre grupos com as distâncias dentro de cada grupo. A aplicação do teste *post-hoc* Bonferroni, de caráter conservativo, permitiu determinar o quanto os grupos formados eram distintos entre si (Hammer *et al.*, 2008).

A contribuição relativa média de cada espécie ou grupo taxonômico para a caracterização do fitoplâncton, correspondente a cada cruzeiro oceanográfico, foi verificada com o procedimento SIMPER (percentual de similaridade). O SIMPER é baseado no índice de similaridade de Bray-Curtis, que indica os taxa responsáveis primariamente para a diferença (ou

dissimilaridade) observada entre os grupos de amostras (Clarke, 1993). Após a identificação dos grupos, é possível verificar os taxa importantes para o padrão observado (Hammer *et al.*, 2008). Esses dois recursos (ANOSIM e SIMPER) foram aplicados com o programa livre PAST versão 1.81.

5.3 Resultados

5.3.1 Caracterização ambiental das regiões oceanográficas

Em consequência da extensão geográfica amostrada, foi observada uma variação latitudinal (em superfície) de variáveis abióticas, particularmente da temperatura e de nutrientes inorgânicos dissolvidos (Tabela 5.1). As temperaturas médias na Patagônia durante outubro de 2004, novembro de 2007 e janeiro de 2009 (8,19 °C, 7,39 °C e 7,36 °C, respectivamente) foram, como esperado, maiores que as temperaturas médias na Península Antártica durante fevereiro-março de 2008 (0,47 °C) e 2009 (0,19 °C). Houve um aumento dos níveis (em média) de todos os nutrientes, de norte para sul, em direção à Península Antártica. Na Patagônia, as menores concentrações de nitrogenados (2,82 μM) e silicato (0,50 μM) foram estimadas em novembro de 2007. As menores concentrações médias de fosfato foram medidas em outubro de 2004 (PATEX I) e novembro de 2007 (PATEX IV), oscilando entre um mínimo indetectável e 0,37 μM . A salinidade foi pouco variável entre todos os cruzeiros, com médias ligeiramente menores em outubro de 2004 (33,82) e novembro de 2007 (33,78), realizados mais a norte, do que em janeiro de 2009 (34,00) medido mais ao sul. Esta última foi mais próxima da salinidade média medida em fevereiro-março de 2008 (34,21) e 2009 (34,18) (Tabela 5.1).

A concentração de clorofila-a (mg m^{-3}) (Tabela 5.1) apresentou na primavera as maiores concentrações (em média e valor máximo, respectivamente) em superfície: 9,84 mg m^{-3} e 19,93 mg m^{-3} (outubro de 2004)

e $5,93 \text{ mg m}^{-3}$ e $22,30 \text{ mg m}^{-3}$ (novembro de 2007). As coletas de verão em torno da Península Antártica caracterizaram-se por concentrações médias e máximas intermediárias: $1,83 \text{ mg m}^{-3}$ $10,13 \text{ mg m}^{-3}$ (2008) e $2,34 \text{ mg m}^{-3}$ $11,08 \text{ mg m}^{-3}$ (2009). A menor concentração média de clorofila-*a* em superfície foi estimada para o verão de 2009, próximo ao banco de Burdwood ($0,63 \text{ mg m}^{-3}$). A fração nanofitoplanctônica foi a que mais contribuiu, em média, para a biomassa total de carbono em outubro de 2004 (79,5%, correspondendo a $98,06 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$) e em novembro de 2007 (56,4%, correspondendo a $78,51 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$). O microfitoplâncton foi mais importante nas águas subantárticas em janeiro de 2009 (95,6% correspondentes a $109,26 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$) e nas águas antárticas no verão de 2008 (95%, $37,62 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$) e no verão de 2009 (94,7%, $75,79 \text{ } \mu\text{g C L}^{-1}$). Foi observada uma variabilidade espacial da concentração de clorofila-*a* (desvios-padrão altos) e das respectivas frações nano- e microfitoplanctônica em carbono em cada período de amostragem (Tabela 5.1).

Tabela 5.1- Média, desvio-padrão (entre parênteses), mínimo e máximo das variáveis abióticas (temperatura [°C], salinidade, nitrogenados [μM], fosfato [μM], silicato [μM]) e de variáveis bióticas (clorofila-a [mg m^{-3}], biomassa em carbono do nanofitoplâncton [2-20 μm ; $\mu\text{g L}^{-1}$] e do microfitoplâncton [$>20 \mu\text{m}$; $\mu\text{g L}^{-1}$]) em superfície, para os respectivos cruzeiros e estações de coleta realizados na região de quebra de plataforma da Patagônia (PATEX I, PATEX IV e PATEX VII) e em torno da Península Antártica (SOS I e SOS II), conforme a estação do ano (primavera ou verão).

Cruzeiro	Estação do ano	Número de estações	Temperatura (°C)	Salinidade	Nitrogenados (μM)	Fosfato (μM)	Silicato (μM)	Clorofila-a (mg m^{-3})	Biomassa em carbono (2-20 μm ; $\mu\text{g L}^{-1}$)	Biomassa em carbono ($>20 \mu\text{m}$; $\mu\text{g L}^{-1}$)
PATEX I	primavera/2004	15	8,19 (0,50) 6,62 - 8,63	33,82 (0,07) 33,77 - 34,05	4,02 (3,80) 0,94 - 16,61	0,10 (0,11) 0,00 - 0,35	2,33 (0,91) 0,91 - 3,96	9,84 (4,82) 2,00 - 19,93	98,06 (57,70) 8,22 - 223,26	25,34 (15,48) 9,77 - 74,65
PATEX IV	primavera/2007	30	7,39 (0,47) 6,32 - 8,36	33,78 (0,20) 33,40 - 34,07	2,82 (1,61) 0,52 - 7,22	0,15 (0,10) 0,03 - 0,37	0,50 (0,44) 0,05 - 1,61	5,93 (6,09) 0,32 - 22,30	78,51 (71,75) 6,22 - 264,05	60,06 (129,38) 2,54 - 592,45
PATEX VII	verão/2009	29	7,36 (0,46) 6,19 - 7,96	34,00 (0,03) 33,91 - 34,09	20,60 (2,63) 15,16 - 25,14	1,20 (0,24) 0,72 - 1,80	4,39 (1,31) 2,54 - 7,43	0,63 (0,50) 0,10 - 2,72	5,06 (3,97) 0,64 - 11,24	109,26 (376,15) 0,02 - 1994,13
SOS I	verão/2008	67	0,47 (1,15) -1,19 - 2,50	34,21 (0,14) 33,83 - 34,39	23,74 (4,96) 14,05 - 40,23	0,82 (0,42) 0,26 - 2,98	43,44 (10,94) 6,89 - 65,87	1,83 (2,25) 0,11 - 10,13	1,98 (1,40) 0,21 - 6,14	37,62 (73,38) 0,51 - 283,23
SOS II	verão/2009	39	0,19 (1,08) -0,91 - 1,88	34,18 (0,42) 31,67 - 34,36	29,42 (4,79) 19,21 - 36,39	2,62 (0,44) 1,50 - 3,42	51,92 (6,25) 42,04 - 61,88	2,34 (2,78) 0,22 - 11,08	4,22 (2,92) 1,30 - 14,32	75,79 (111,76) 4,06 - 535,98

5.3.2 Composição fitoplanctônica nas áreas de estudo

As análises de agrupamentos resultaram em dendrogramas relativamente similares tendo em consideração os dados de densidade de células (Fig. 5.2) e de biomassa em carbono (Fig. 5.3) dos principais grupos taxonômicos. Baseando-se na densidade de células, os seguintes agrupamentos foram identificados de acordo com um nível de similaridade em torno de 56% (Fig. 5.2):

- 1) PATEX I e IV (primavera de 2004 e 2007): concentrações altas (florações de diatomáceas) na região de quebra de plataforma da Patagônia;
- 2) PATEX VII (verão de 2009): concentrações intermediárias de diatomáceas, sub-dividido em agrupamentos menores, VII-a, VII-b e VII-c;
- 3) estações antárticas do Estreito de Bransfield e Passagem de Drake, do verão de 2008 (SOS I);
- 4) estações do verão de 2009 (SOS II) e aquelas próximas da Ilha James Ross do verão de 2008 (SOS I), caracterizadas pelas florações de diatomáceas microfitoplanctônicas.

Os valores de biomassa em carbono dos principais grupos fitoplanctônicos (Fig. 5.3) permitiram identificar basicamente a formação dos mesmos agrupamentos obtidos utilizando-se o número de células, com 56% de similaridade:

- 1) verão de 2009 (PATEX VII) foi separado primeiramente dos demais agrupamentos, apresentando as mesmas sub-divisões (VII-a, VII-b e VII-c);

2) os cruzeiros de primavera ao longo da quebra de plataforma argentina (PATEX I e IV) formaram um agrupamento único;

3) a maioria das estações de Bransfield e todas da Passagem de Drake de 2008 (SOS I) formaram outro agrupamento;

4) algumas estações de Bransfield (B103, B111, B112, B120 e B121) e de Ross (R104, R118 e R119) formaram um agrupamento pequeno, intermediário entre o anterior e o próximo;

5) o agrupamento que englobou o verão de 2009 (SOS II) e as demais estações (R101-R103, R105-R117 e R120) próximas da Ilha James Ross, do verão de 2008 (SOS I).

De acordo com a análise ANOSIM aplicada sobre ambos parâmetros, densidade celular e biomassa em carbono, os agrupamentos formados foram significativamente distintos ($p < 0,05$), exceto quando considerou-se (a) o número de células, entre as sub-divisões VII-a, VII-b e VII-c e dessas com o agrupamento que reuniu SOS II e Ross (2008) (Fig. 5.2) e (b) os valores de biomassa em carbono entre as sub-divisões VII-a, VII-b e VII-c.

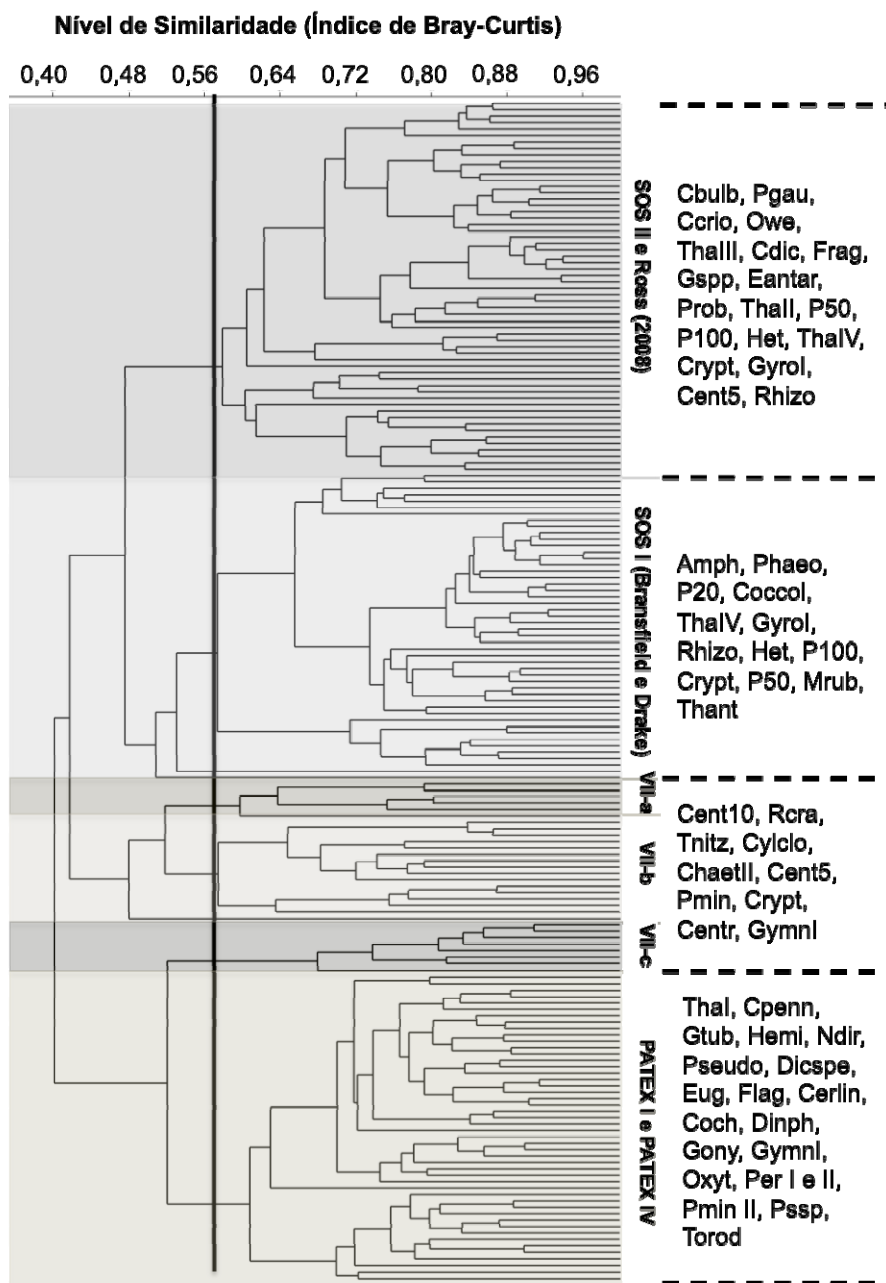


Figura 5.2- Análise de agrupamentos baseada nos dados de densidade celular (número de células L^{-1}) dos organismos fitoplanctônicos, para os cruzeiros PATEX I, PATEX IV, PATEX VII, SOS I e SOS II. A linha vertical em preto indica o ponto de corte (~56%) no nível de similaridade (índice de Bray-Curtis) dentro dos agrupamentos: (1) SOS II e Ross (2008), (2) SOS I (Bransfield e Drake), (3) PATEX VIIa, (4) VIIb e (5) VIIc, e (6) PATEX I e PATEX IV. Os organismos fitoplanctônicos mais importantes em cada agrupamento são mostrados ao lado direito. **Anexo V** apresenta o significado de cada acrônimo.

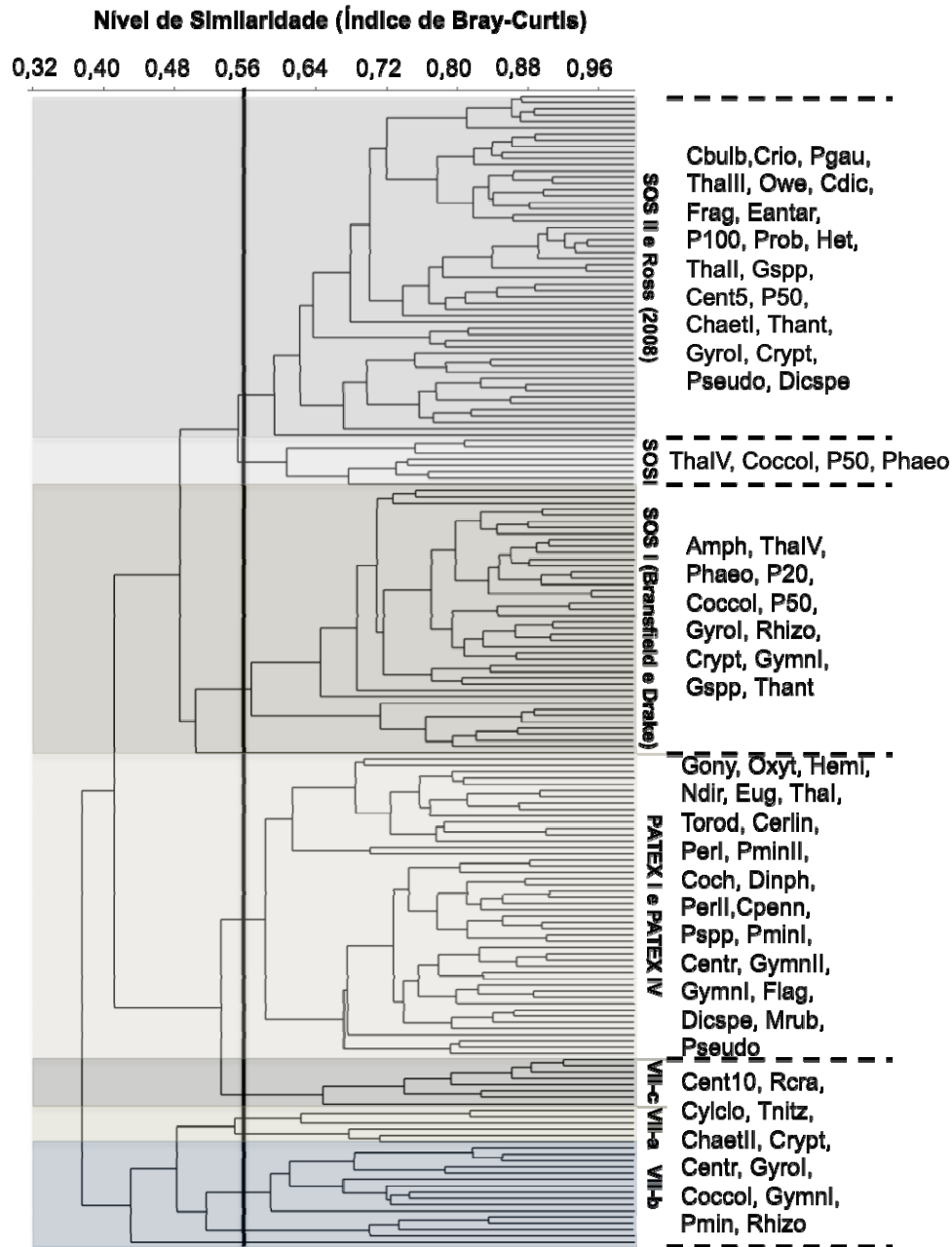


Figura 5.3- Análise de agrupamentos baseada nos dados de biomassa em carbono ($\mu\text{g C L}^{-1}$) dos organismos fitoplancônicos, para os cruzeiros PATEX I, PATEX IV, PATEX VII, SOS I e SOS II. A linha vertical em preto indica o ponto de corte ($\sim 56\%$) no nível de similaridade (índice de Bray-Curtis) dentro dos agrupamentos: (1) SOS II e Ross (2008), (2) SOS I (poucas estações Bransfield e Ross), (3) SOS I (restantes estações Bransfield e Drake), (4) PATEX I e PATEX IV, (5) PATEX VIIc, (6) VIIa e (7) VIIb. Os organismos fitoplancônicos

mais importantes em cada agrupamento são mostrados ao lado direito. **Anexo V** apresenta o significado de cada acrônimo.

De acordo com a análise SIMPER aplicada aos dados de densidade celular (Tabela 5.2), os dez primeiros grupos taxonômicos que mais contribuíram (total de 93,6% de contribuição relativa cumulativa) para a dissimilaridade média entre os agrupamentos foram predominantemente organismos nanofitoplanctônicos (2-20 μm), cujas concentrações foram em média maiores nos dois cruzeiros sobre a quebra de plataforma argentina (PATEX I e IV). Entre aqueles organismos, o grupo Flag (soma de todos os flagelados não identificados entre ~2 e 10 μm) contribuiu relativamente com 35,24% e o grupo Thal (*Thalassiosira* spp. <20 μm de diâmetro) contribuiu com 25,53%, resultando, cumulativamente em 60,77% da dissimilaridade média. Em ordem decrescente, a haptofícea *Phaeocystis antarctica* (Phaeo) apresentou valor de contribuição relativa igual a 13,5%; *Pseudonitzschia* spp. <5 μm de eixo transapical (Pseudo), 5,5%; *Chaetoceros* spp. <10 μm de eixo valvar (Chaetl), 4,4%; diatomáceas cêntricas <5 μm de diâmetro (Cent5), 3,1%; *Gymnodinium* spp. <20 μm (Gymnl), 2,9%; Peridinales <20 μm (Perl), 1,5%; *Prorocentrum minimum* (Pmin), 1,2%; e criptofíceas <10 μm de comprimento (Crypt), 0,7% (Tabela 5.2).

Ao se considerar o teor de biomassa em carbono, a contribuição relativa foi mais distribuída entre os grupos fitoplanctônicos (Tabela 5.3). O principal contribuinte, entre os dez primeiros, para a dissimilaridade média foi *Thalassiosira* spp. <20 μm (Thal), com 22,51%. Os demais grupos foram representados por microfitoplâncton (>20 μm), exceto os dinoflagelados Gymnl e Pmin (<20 μm) que contribuíram com valores relativos maiores que 2%, respectivamente, 3,4% e 2,7% (Tabela 5.3). Em ordem decrescente,

foram também importantes as diatomáceas *Corethron pennatum* (Cpenn, 12,8%), *Odontella weissflogii* (Owe, 11,3%), *Thalassiosira* spp. 50-100 µm de diâmetro (ThaIII, 11,0%), *Rhizosolenia crassa* (Rcra, 8,3%), *Thalassiosira* spp. 20-50 µm de diâmetro (ThaII, 2,7%) e *Thalassiosira* spp. 100-150 µm de diâmetro (ThaIV, 2,5%). Entre os dez primeiros grupos importantes para a dissimilaridade média em biomassa, dinoflagelados atecados >20 µm de comprimento *Gymnodinium* spp. (GymnII) contribuíram com 2,6% (Tabela 5.3).

Tabela 5.2- Contribuição absoluta (dissimilaridade média) e relativa cumulativa (%) dos principais grupos taxonômicos que contribuíram para a dissimilaridade média global (72,20) obtida através da análise SIMPER com os dados de densidade de células. Agrupamentos formados a partir da análise de agrupamentos: PATEX I e IV, PATEX VII-a, VII-b e VIIc, SOS I (Bransfield e Drake), e SOS II e Ross 2008. Os valores para cada agrupamento correspondem a uma densidade média de células por litro, de cada grupo taxonômico.

Grupo taxonômico	Contribuição absoluta (dissimilaridade)	Contribuição relativa cumulativa (%)	PATEX I e IV	PATEX VII			SOS I (Bransfield e Drake)	SOS II e Ross 2008
				VII-a	VII-b	VII-c		
Flag	25.44	35.24	752000	293000	219000	439000	92400	298000
Thal	18.44	60.77	1190000	226	241	0	283	1540
Phaeo	9.76	74.30	0	0	30600	0	177000	14000
Pseudo	3.95	79.77	135000	0	631	37200	7210	28100
Chaetl	3.16	84.15	83400	1680	9	12300	380	50000
Cent5	2.28	87.30	0	3910	8180	128000	1380	24500
GymnI	2.05	90.15	39800	12000	26700	27200	27000	11100
Perl	1.10	91.67	42800	0	301	1750	2290	400
Pmin	0.89	92.90	13300	150	17000	12700	2110	2230
Crypt	0.51	93.60	0	15500	2520	620	1660	4360
Dissimilaridade média global	72.20							

Tabela 5.3- Contribuição absoluta (dissimilaridade média) e relativa cumulativa (%) dos principais grupos taxonômicos que contribuíram para a dissimilaridade média global (89,52) obtida através da análise SIMPER com os dados de biomassa em carbono. Agrupamentos formados a partir da análise de agrupamentos: PATEX I e IV, PATEX VII-a, VII-b e VIIc, SOS I (Bransfield e Ross), SOS I (Bransfield e Drake), e SOS II e Ross 2008. Os valores para cada agrupamento correspondem a uma biomassa média em carbono (pg C L^{-1}), de cada grupo taxonômico.

Grupo taxonômico	Contribuição absoluta (dissimilaridade)	Contribuição relativa cumulativa (%)	PATEX I e IV	PATEX VII			SOS I (Bransfield e Ross)		SOS I (Bransfield e Drake)		SOS II e Ross 2008
				VII-a	VII-b	VII-c					
Thal	20.15	22.51	70500000	13700	14600	0	2140	11400			234000
Cpenn	11.43	35.28	35100000	326	827	17000	2280000	1890000			8660000
Owe	10.09	46.55	0	0	0	0	2190000	0			32700000
Thalll	9.86	57.56	0	0	0	0	660000	113000			34400000
Rcra	7.47	65.9	0	426000000	30900000	9120000	0	0			0
Gymnl	3.08	69.34	2740000	900000	1980000	2020000	123000	794000			247000
Thall	2.43	72.05	6360000	10400	4900	22500	338000	54400			6690000
Pmin	2.38	74.7	2130000	12500	1370000	1030000	10600	172000			172000
Gymnll	2.28	77.25	2480000	735000	437000	1670000	39700	415000			434000
ThalV	2.27	79.78	0	0	0	0	3940000	6580000			1270000
Dissimilaridade média global	89.52										

5.3.3 Espécies comuns ao Oceano Austral e Mar Argentino

A ocorrência das diatomáceas *Corethron pennatum* (Fig. 5.4), *Eucampia antarctica* (Fig. 5.5) e *Thalassiothrix antarctica* (Fig. 5.6), embora em períodos distintos, permitem sugerir um elo entre o fitoplâncton identificado na região da quebra de plataforma da Patagônia e aquele dos arredores da Península Antártica.

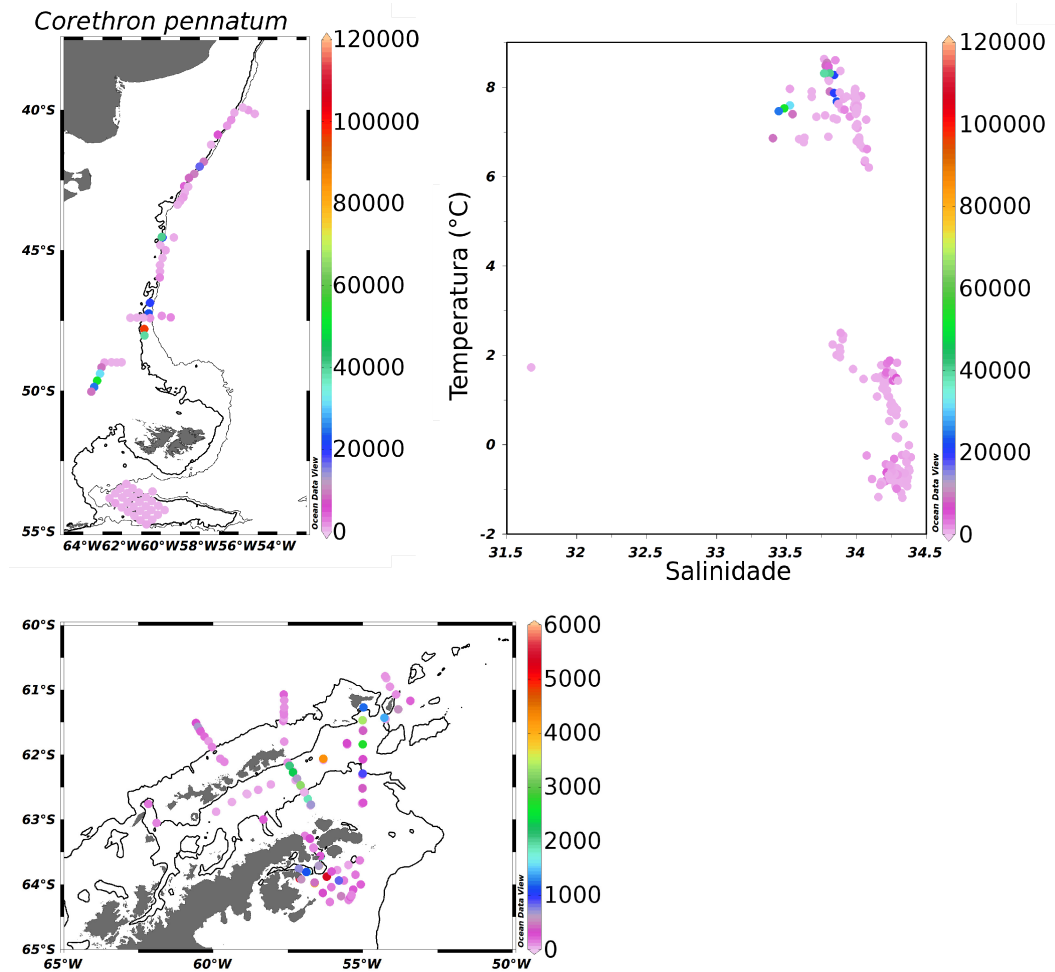


Figura 5.4- Concentração de células (células L^{-1} na paleta em cores) da diatomácea *Corethron pennatum* nas regiões de estudo: mapas do lado esquerdo acima (PATEX I, IV e VII, ao longo da quebra de plataforma da Argentina e banco Burdwood) e esquerdo abaixo (SOS I e II, nos arredores da Península Antártica). O quadro à direita indica a ocorrência e o número de células (paleta em cores) em um diagrama T-S com os dados de superfície. Note as diferentes escalas de concentrações (paletas em cores).

As maiores concentrações (máximo de 120000 células L^{-1}) de *C. pennatum* foram estimadas na Patagônia (temperatura entre 6 e 8 °C). No verão antártico (-2 a 2 °C) essa espécie alcançou maior abundância (entre 4000 e 6000 células L^{-1}) em parte do Estreito de Bransfield e próximo da Ilha James Ross (Fig. 5.4).

Ao contrário, *Eucampia antarctica* foi mais abundante (máximo de 25000 células L^{-1}) próximo à costa da Ilha James Ross do que no Mar Argentino, exceto pela concentração de aproximadamente 2000 células L^{-1} em uma estação oceânica (Fig. 5.5).

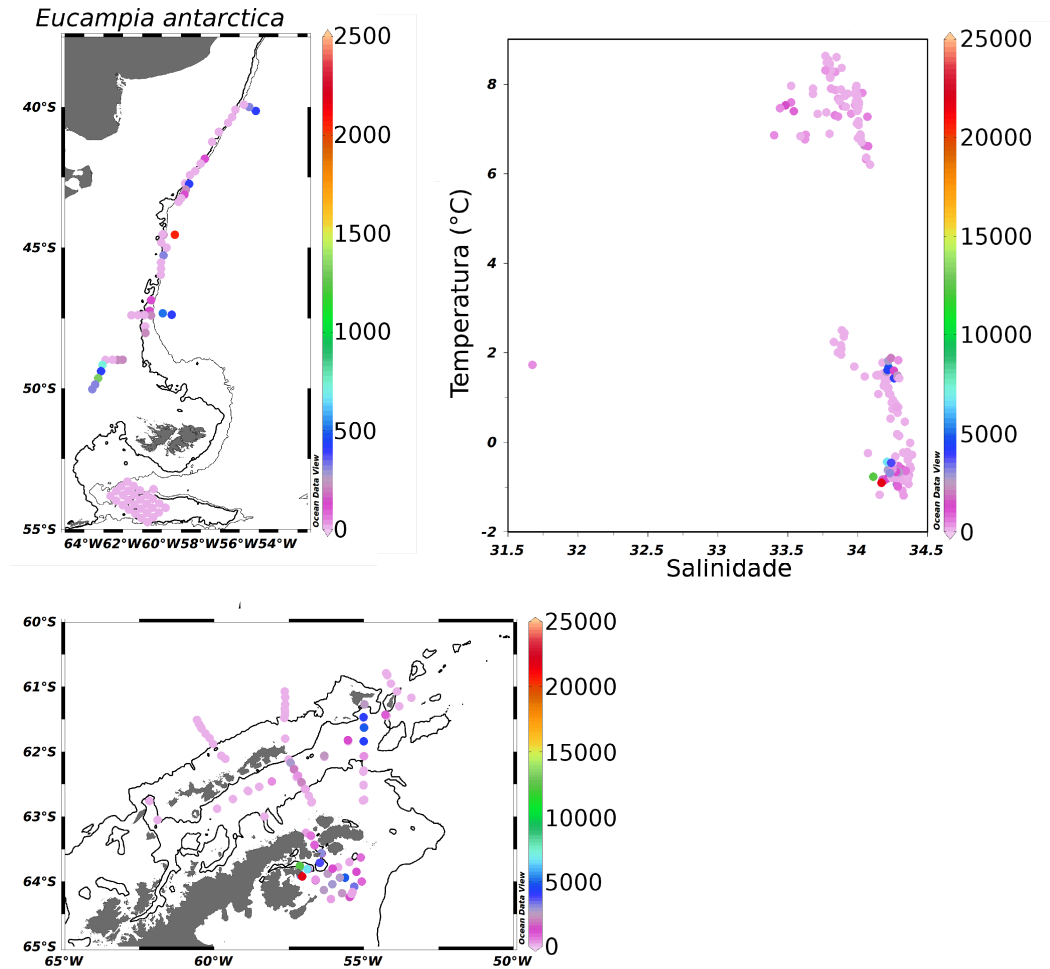


Figura 5.5- Concentração de células (células L^{-1} na paleta em cores) da diatomácea *Eucampia antarctica* nas regiões de estudo: mapas do lado esquerdo acima (PATEX I, IV e VII, ao longo da quebra de plataforma da Argentina e banco Burdwood) e esquerdo abaixo (SOS I e II, nos arredores da Península Antártica). O quadro à direita indica a ocorrência e o número de células (paleta em cores) em um diagrama T-S com os dados de superfície. Note as diferentes escalas de concentrações (paletas em cores).

Thalassiothrix antarctica esteve presente em concentrações baixas (<800 células L⁻¹) em todos os cruzeiros na região de quebra de plataforma da Patagônia e em estações do Estreito de Bransfield e da Ilha James Ross (Fig. 5.6).

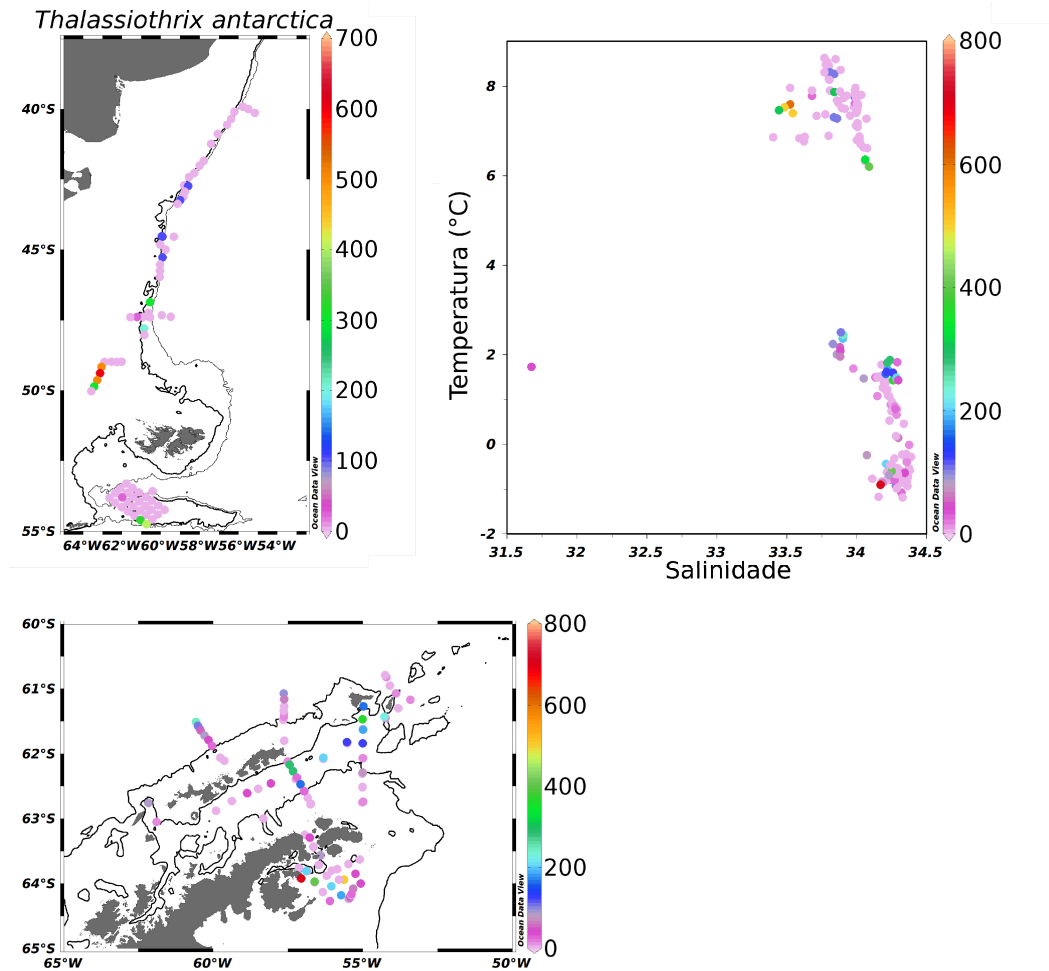


Figura 5.6- Figura 5.5- Concentração de células (células L⁻¹ na paleta em cores) da diatomácea *Thalassiothrix antarctica* nas regiões de estudo: mapas do lado esquerdo acima (PATEX I, IV e VII, ao longo da quebra de plataforma da Argentina e banco Burdwood) e esquerdo abaixo (SOS I e II, nos arredores da Península Antártica). O quadro à direita indica a ocorrência e o número de células (paleta em cores) em um diagrama T-S com os dados de superfície. Note as diferentes escalas de concentrações (paletas em cores).

Outras espécies, por exemplo, o dinoflagelado *Ceratium lineatum/pentagonum* e as diatomáceas *Hemiaulus* spp., foram identificadas predominantemente na região de quebra de plataforma da Patagônia. *Hemiaulus* spp. foram restritas às estações mais ao norte nos cruzeiros ao longo da quebra de plataforma em outubro de 2004 e novembro de 2007, alcançando concentrações de até 120000 células L^{-1} . *C. lineatum/pentagonum* foram detectados em maior concentração, ~600 células L^{-1} , no talude da Patagônia (primavera de 2004 e 2007) do que em algumas estações do verão de 2009 (PATEX VII) (Fig. 5.7).

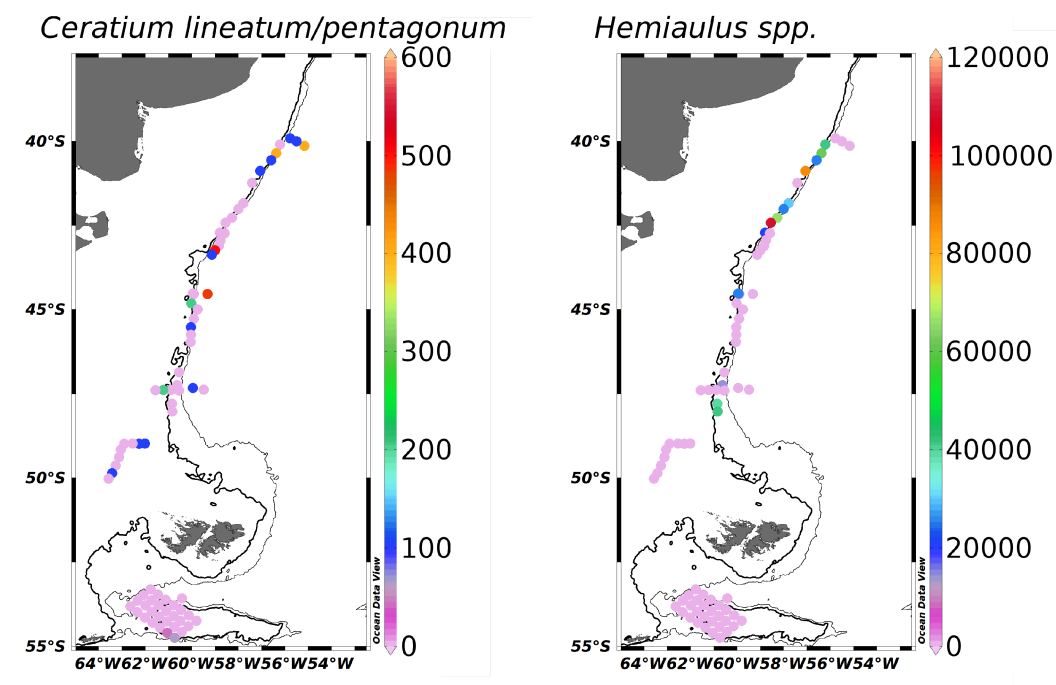
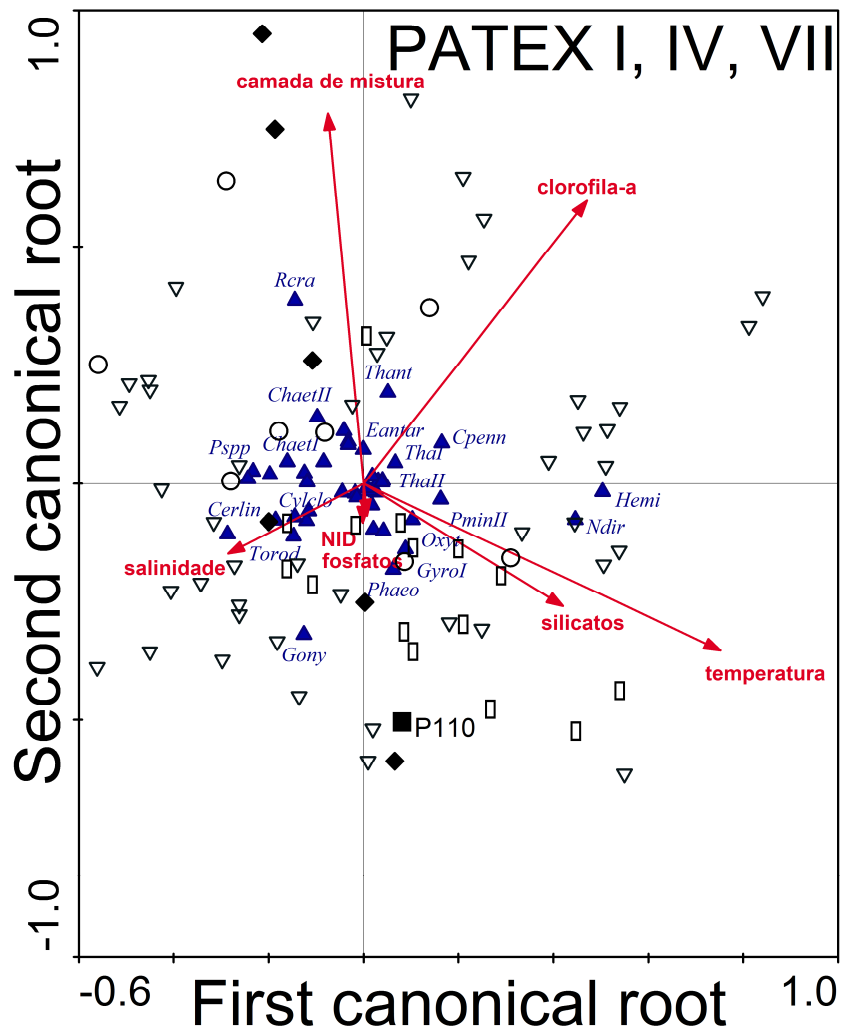


Figura 5.7- Distribuição espacial do dinoflagelado *Ceratium lineatum/pentagonum* (esquerda) e das diatomáceas *Hemiaulus* spp. (direita) (células L^{-1}) nas regiões de estudo dos PATEX I, IV e VII, ao longo da quebra de plataforma da Argentina e banco Burdwood. Os mesmos foram ausentes na região antártica. Note as diferenças de escala (em cores).

5.3.4 Distribuição espacial do fitoplâncton e parâmetros oceanográficos

Resultados da Análise de Correspondência Canônica (ACC) com base no número de células por litro e biomassa em carbono dos grupos fitoplanctônicos e parâmetros ambientais, para os cruzeiros na Patagônia (primavera de 2004 e 2007, verão de 2009) e na Antártica (verão de 2008 e 2009) são mostrados, respectivamente, nas Fig. 5.8A e B e Fig. 5.9A e B. A análise resultou em diagramas de ordenação praticamente similares, tendo em consideração os nutrientes inorgânicos dissolvidos (NID, fosfato e silicato), temperatura, salinidade, camada de mistura e clorofila-a. Os diagramas foram significativos de acordo com o teste de permutações de Monte Carlo ($p < 0,05$).



(A)

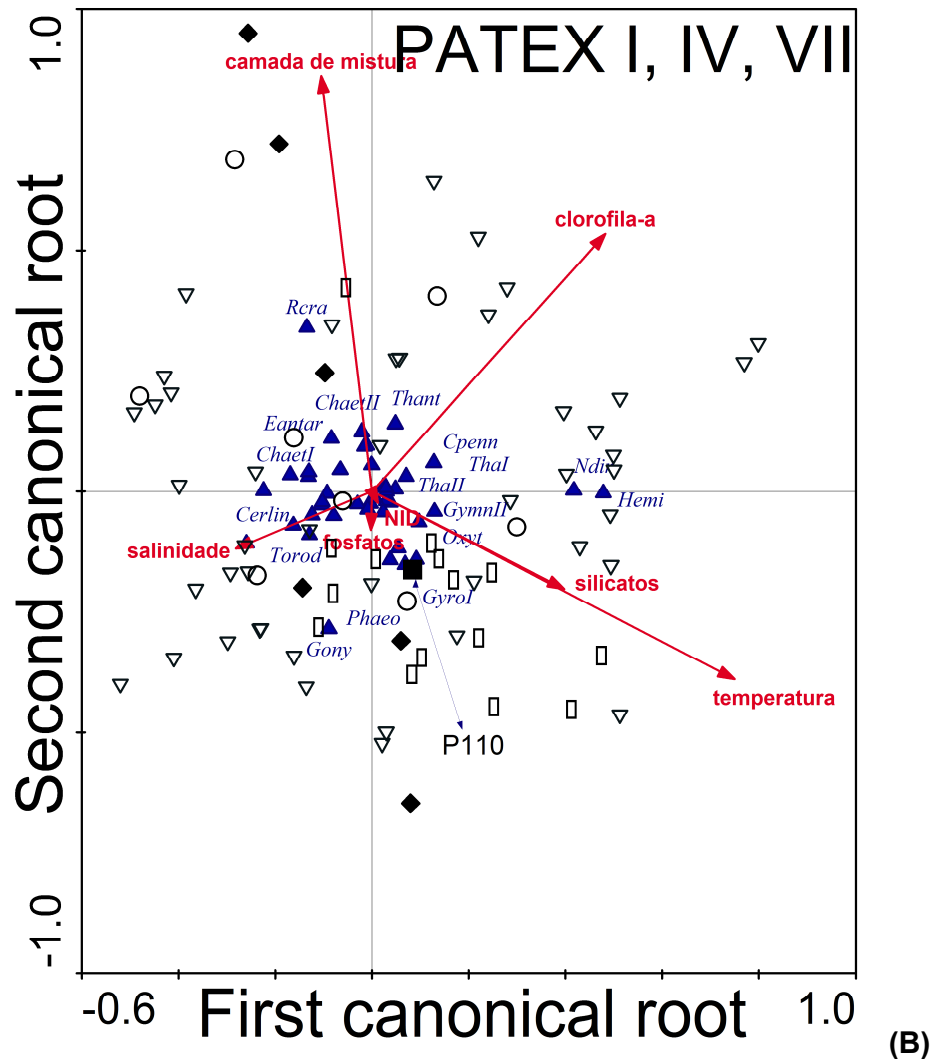
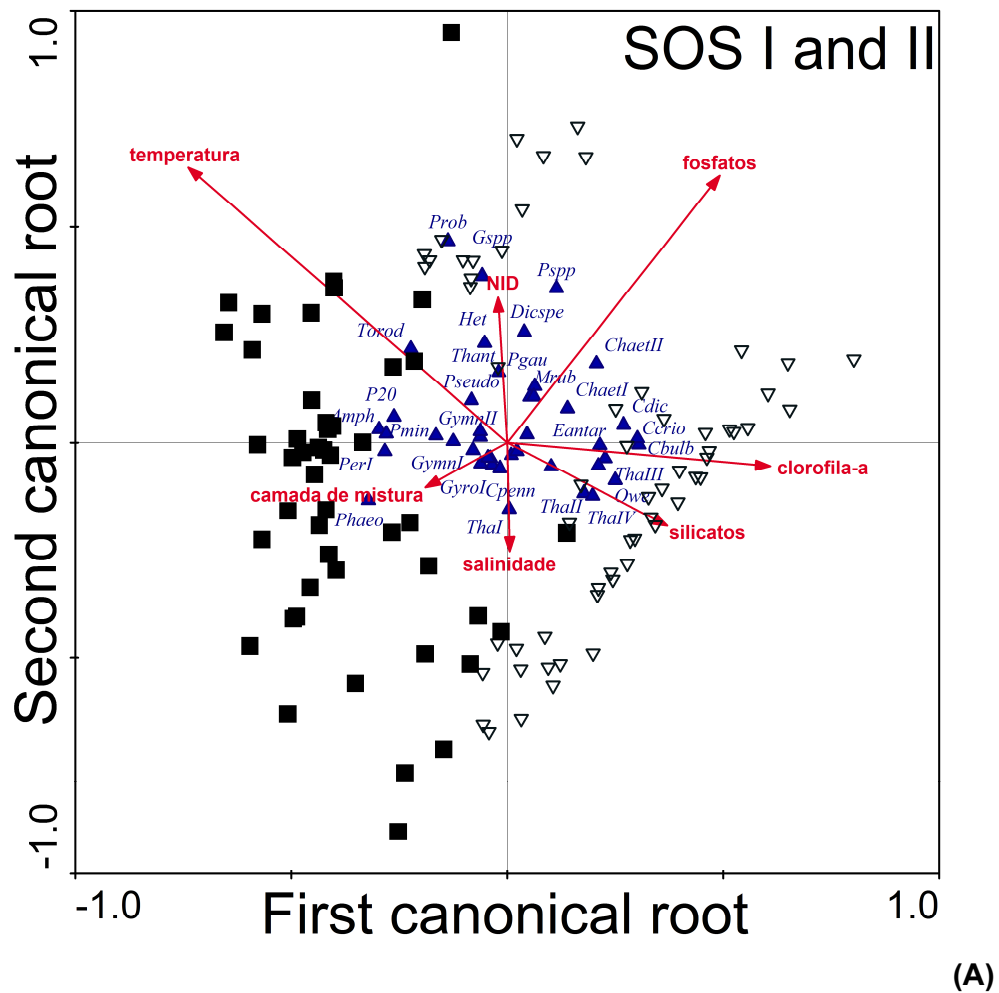


Figura 5.8- Diagramas de ordenação baseados na análise de correspondência canônica dos principais grupos fitoplanctônicos determinados em outubro de 2004 (PATEX I) e novembro de 2007 (PATEX IV) na quebra de plataforma da Patagônia e janeiro de 2009 (PATEX VII) próximo ao banco Burdwood. (A) é referente ao número de células por litro e (B) é referente aos dados de biomassa em carbono. O fitoplâncton foi relacionado com as variáveis explicativas: temperatura, salinidade, NID (nitrogenados), fosfato, silicato, camada de mistura e clorofila-a, denotados pelas setas em vermelho. Estações correspondentes aos cruzeiros são apresentadas conforme a análise de agrupamentos prévia: PATEX I e PATEX IV (triângulos invertidos), PATEX VII-a (losangos pretos), PATEX VII-b (retângulos abertos) e PATEX VII-c (círculos abertos), e o *outgroup* estação P110 (quadrado preto). Para evitar a sobreposição de rótulos, apenas grupos fitoplanctônicos distantes da origem são mostrados

ao lado dos triângulos azuis. Os acrônimos para os grupos fitoplanctônicos são explicados no Anexo V.



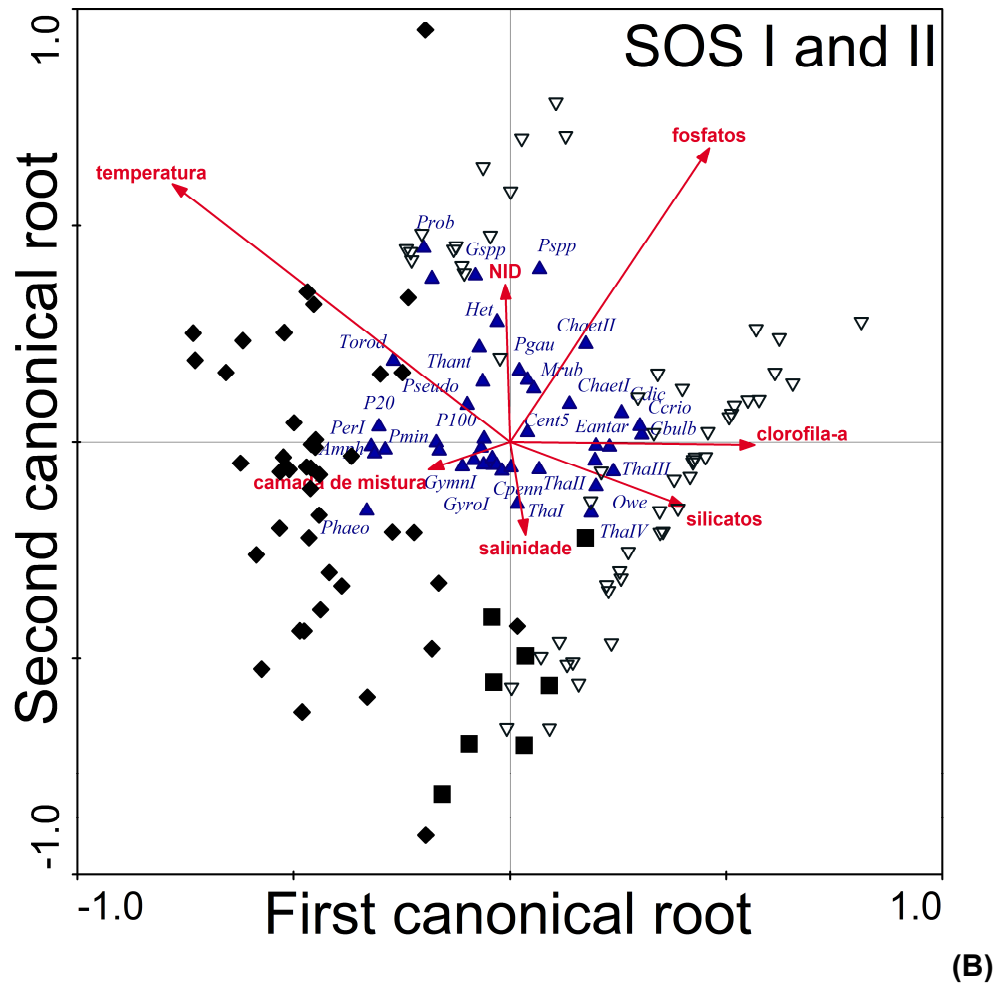


Figura 5.9- Diagramas de ordenação baseados na análise de correspondência canônica dos principais grupos fitoplanctônicos determinados em fevereiro-março de 2008 (SOS I) e fevereiro-março de 2009 (SOS II) ao redor da Península Antártica. (A) é referente ao número de células por litro e (B) é referente aos dados de biomassa em carbono. O fitoplâncton foi relacionado com as variáveis explicativas: temperatura, salinidade, NID (nitrogenados), fosfato, silicato, camada de mistura e clorofila-a, denotados pelas setas em vermelho. Estações correspondentes aos cruzeiros são apresentadas conforme a análise de agrupamentos prévia: (A) SOS II e Ross 2008 (triângulos invertidos) e SOS I (Bransfield e Drake; quadrados pretos). (B) SOS I (algumas estações Bransfield e Ross; quadrados pretos), SOS I (restantes estações Bransfield e Drake; losangos pretos), e SOS II e restantes estações Ross 2008 (triângulos invertidos). Para evitar a sobreposição de rótulos, apenas

grupos fitoplanctônicos distantes da origem são mostrados ao lado dos triângulos azuis. Os acrônimos para os grupos fitoplanctônicos são explicados no **Anexo V**.

Para os cruzeiros da Patagônia, o conjunto de variáveis ambientais explicou 19,1% para biomassa em carbono e 20,1% para células por litro da variabilidade da composição dos principais grupos fitoplanctônicos. Temperatura, silicato e clorofila-*a* correlacionaram-se positivamente com o eixo 1 (primeira raiz canônica), responsável por 45,9% para biomassa em carbono e 48,2% para células por litro da explicação devida ao conjunto de variáveis. O eixo 2 (segunda raiz canônica) foi responsável apenas por 16% para densidade celular e 17% para biomassa em carbono da explicação obtida pelo mesmo conjunto de variáveis, sendo que camada de mistura e clorofila-*a* foram as variáveis com maior correlação (positiva) com este segundo eixo. Salinidade correlacionou-se negativamente com ambos os eixos, enquanto que nitrogênio e fosfato apresentaram correlação (negativa) com o segundo eixo.

De acordo com esta análise, *Navicula directa* (Ndir) e *Hemiaulus* spp. (Hemi) pareceram ter seu ótimo em águas menos frias e com maior teor de silicato; *Thalassiosira* spp. (Thal e Thall), *Corethron pennatum* (Cpenn) e *Thalassiothrix antarctica* (Thant) foram associadas com maior concentração de clorofila-*a*, principalmente em algumas estações do agrupamento ao longo da quebra de plataforma (PATEX I e IV). *Rhizosolenia crassa* (Rcra) foi identificada exclusivamente para o verão de 2009 ao sul das Ilhas Malvinas, agrupamento VII-a – losangos pretos, sendo o grupo fitoplanctônico mais associado à camada de mistura profunda. Ao contrário, dinoflagelados (por exemplo, *Ceratium lineatum* – Cerlin, *Torodinium robustum* – Torod e *Gonyaulax* spp. – Gony) foram relacionados a águas relativamente mais

halinas e com camada de mistura rasa. A estação P110 (*outgroup*; quadrado preto, Fig. 5.8A e B) foi associada com maior teor de todos os nutrientes inorgânicos dissolvidos.

Em relação aos cruzeiros da Antártica, houve uma melhor separação entre os agrupamentos pré-formados (Fig. 5.9A e B): o conjunto de variáveis ambientais explicou 28,9% para biomassa em carbono e 31,5% para células por litro da variabilidade da composição fitoplanctônica entre as estações. Fosfato, silicato, clorofila-*a* (correlação positiva) e temperatura (correlação negativa) foram as variáveis mais importantes no primeiro eixo (raiz canônica), que foi responsável por 58,3% para biomassa em carbono e 61,6% para células por litro da explicação obtida pelos respectivos modelos. Fosfato, nitrogenados e temperatura (correlação positiva) e salinidade (correlação negativa) foram preponderantes para o segundo eixo (raiz canônica), sendo responsáveis por 18,1% para células por litro e 22% para biomassa em carbono da explicabilidade alcançada pelos respectivos modelos.

O verão de 2009 (SOS II) e as estações Ross 2008 (triângulos invertidos) foram representados pela abundância das diatomáceas *Chaetoceros* spp., *Eucampia antarctica*, *Thalassiosira* spp., *Odontella weissflogii* e *Plagiotropis gaussii*, em águas relativamente mais frias, com camada de mistura mais rasa, maiores teores de silicato e fosfato e associados com maior biomassa fitoplanctônica. Diferentemente, vários dinoflagelados gimnodinióides Gymnl e II, *Prorocentrum minimum* – Pmin e *Torodinium robustum* – Torod, *Phaeocystis antarctica* (Phaeo) e as diatomáceas *Proboscia alata* – Prob, *Pseudonitzschia* spp. – Pseudo e

penadas nanoplanctônicas – P20 foram mais abundantes no agrupamento Bransfield e Drake do SOS I (2008; quadrados pretos), com águas menos frias, com relativamente menos teor de macronutrientes e com camada de mistura mais profunda (Fig. 5.9A).

Quando considerou-se o modelo baseado nos dados de biomassa em carbono (Fig. 5.9B), houve a separação de algumas estações Bransfield e Ross de 2008 (quadrados pretos), as quais continuaram em posição intermediária entre o agrupamento SOS II e restante das estações Ross 2008 (triângulos invertidos) e o agrupamento das demais estações Bransfield e Drake 2008 (losangos pretos).

5.4 Discussão

5.4.1 Variabilidade espacial e sazonalidade

Os trabalhos, que cobriram uma extensão considerável do Atlântico Sudoeste até o Oceano Austral, concentraram-se no grupo das diatomáceas em águas neríticas em sua maioria (Olguín *et al.*, 2006) ou em águas mais afastadas da quebra de plataforma da Patagônia (Olguín e Alder, 2011). Fernandes e Brandini (1999) caracterizaram uma distribuição espacial do fitoplâncton com diatomáceas dominando na plataforma continental da Patagônia e com a haptofícea *Phaeocystis* aff. *globosa* presente em quatro estações na Confluência Brasil-Malvinas e em uma estação em águas subantárticas. Estes trabalhos também apresentaram dados de composição e biomassa do fitoplâncton na barreira biogeográfica da Frente Polar que é uma feição importante para a dispersão de várias espécies antárticas (Fernandes e Brandini, 1999; Olguín *et al.*, 2006; Olguín e Alder, 2011).

O presente trabalho não apresentou dados na Frente Polar e ao longo da Passagem de Drake (entre Antártica e América do Sul). Contudo, ele abrangeu feições oceanográficas da quebra de plataforma continental da Patagônia (Argentina) e regiões costeira e oceânica próximas da parte setentrional da Península Antártica, apresentando a distribuição espacial de outros grupos fitoplanctônicos além das diatomáceas.

Foram observados gradientes ambientais latitudinais em superfície (em valores médios): temperaturas baixas (<2,50 °C) e concentrações altas de nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrogenados >20 µM e silicato > 40

μM) na porção sul da área estudada (Península Antártica), confirmando o observado em outros estudos (Fernandes e Brandini, 1999; Brandini *et al.*, 2000; Olguín e Alder, 2011).

A concentração de clorofila-*a* decresceu desde os setores mais setentrionais ($>5 \text{ mg m}^{-3}$ de clorofila-*a*, em média) ocupados durante a primavera austral quando há presumivelmente o início de crescimento fitoplanctônico (primavera de outubro 2004 e novembro de 2007) até às estações do verão em janeiro de 2009, próximas das Ilhas Malvinas ($0,63 \text{ mg m}^{-3}$ de clorofila-*a*, em média). Na região antártica, o nível médio de clorofila-*a* retornou para valores altos, sendo maior no verão austral de 2009 ($2,34 \text{ mg m}^{-3}$) do que no verão de 2008 ($1,83 \text{ mg m}^{-3}$, em média), época do crescimento fitoplanctônico naquela parte do planeta (Knox, 2007; Smith Jr., 1990).

A concentração de clorofila-*a* deve ter sido influenciada por fatores físicos, tais como a frente de quebra de plataforma da Patagônia que fornece nutrientes oriundos da CM (Garcia *et al.*, 2008; Signorini *et al.*, 2009), a frente oceanográfica de Bransfield que se estende ao sul das Ilhas Shetland do Sul e a frente baroclínica próxima da Península Antártica (Sangrà *et al.*, 2011), o degelo continental próximo à Ilha James Ross e, eventualmente, intrusões de Água Circumpolar Profunda Superior sobre a plataforma continental a oeste das Ilhas Shetland do Sul (Prézelin *et al.*, 2000, 2004).

Uma frente oceanográfica mantém o fitoplâncton em uma camada de mistura relativamente rasa e sob irradiância luminosa e fotoperíodo maior ligados à primavera austral na Patagônia (Signorini *et al.*, 2009) ou ao verão austral na Antártica (Prézelin *et al.*, 2000, 2004), além da concentração alta

de nutrientes inorgânicos dissolvidos, especialmente nitrogenados e fosfato (Prézelin *et al.*, 2000; Sañudo-Wilhelmy *et al.*, 2002; Hewes *et al.*, 2008; Signorini *et al.*, 2009). Fatores biológicos, tais como a herbivoria e a sedimentação passiva, também podem ser importantes no Oceano Austral (Smetacek *et al.*, 2004; Ducklow *et al.*, 2007). Ao mesmo tempo, a diferença inter-anual observada na região antártica pode estar relacionada ao degelo ao redor da Península, pois o seu início, duração e extensão estão diretamente conectados com a profundidade da camada de mistura superficial e influenciam a estrutura e sucessão do fitoplâncton (Mendes *et al.*, submetido; Capítulo 4) dominado normalmente por diatomáceas >20 µm ou formadoras de colônias (Garibotti *et al.*, 2005a,b).

Em relação à estrutura da comunidade, o nanofitoplâncton foi mais importante para a biomassa total na quebra de plataforma da Patagônia (PATEX I e IV, primavera de 2004 e 2007) enquanto que o microfitoplâncton contribuiu para a biomassa total na plataforma sul da Patagônia e em torno da Península Antártica (ver Tabela 5.1). A região da quebra de plataforma da Patagônia na primavera pareceu favorecer o crescimento e/ou acumulação de diatomáceas nanoplanctônicas (*Thalassiosira* spp., Thal) e flagelados, embora também tenham sido importantes as células >20 µm de *Corethron pennatum* e formadores de colônias (*Chaetoceros* spp., *Pseudonitzschia* spp. e outras *Thalassiosira* spp.). Essas contribuíram relativamente mais para a biomassa em carbono microfitoplanctônico em novembro de 2007 (PATEX VII) (43,6% ou 60,6 µg C L⁻¹; ver Tabela 5.1). Assume-se que a fração picofitoplanctônica não estimada no presente estudo deve ter sido menos importante durante o período de maior crescimento fitoplanctônico, quando o

aporte de nutrientes pela CM para a região de quebra de plataforma (Garcia *et al.*, 2008; Matano *et al.*, 2010) ou a entrada de nutrientes causada pelo derretimento do gelo marinho e geleiras na Antártica (Ducklow *et al.*, 2007; Holm-Hansen e Hewes, 2004; Montes-Hugo *et al.*, 2009) devem ter primeiramente favorecido diatomáceas >20 µm ou formadoras de cadeias, como observado na plataforma sul da Patagônia e próximo à Península Antártica.

A predominância de nanofitoplâncton durante a primavera na Patagônia pode estar relacionada com habilidades ecofisiológicas diferenciadas e dependentes do tamanho celular (Edwards *et al.*, 2011). Células grandes (>20 µm) podem ter vantagem em ambientes com um suprimento flutuante/com pulsos de nutrientes (Litchman *et al.*, 2009). Este deve ser o caso do crescimento fitoplanctônico em torno da Península Antártica, que é dependente do aquecimento e derretimento de geleiras e, em consequência, da disponibilidade do micronutriente ferro no verão austral (Garibotti *et al.*, 2005a). Esse microfitoplâncton parece ter maior taxa máxima de absorção de carbono por célula (Litchman *et al.*, 2007) e maior capacidade de armazenamento de nutrientes (Litchman *et al.*, 2009), sugerindo que essas características possam ser aplicáveis em relação ao metabolismo do ferro. É provável que a predominância de nanofitoplâncton na quebra de plataforma não seja resultante apenas da interação do fitoplâncton com o ambiente físico que gera heterogeneidade espacial e temporal. Isto explicaria a variabilidade em número de espécies ou grupos fitoplanctônicos no gradiente latitudinal estudado. No entanto, a heterogeneidade pode também ser resultante das interações biológicas

promovendo estratégias ecológicas distintas e a coexistência de várias taxa (Klausmeier e Tilman, 2002).

Apesar de não termos apresentado dados quantitativos sobre o zooplâncton, podemos sugerir que as diferenças observadas na estrutura em tamanho do fitoplâncton podem também ser resultado de diferenças de estrutura dos níveis tróficos subsequentes, particularmente dos consumidores primários. O microzooplâncton, por exemplo ciliados oligotríquidos e dinoflagelados heterotróficos, pode controlar as populações de nanoplâncton na região patagônica (Santoferrara e Alder, 2009) e na Antártica (Smetacek *et al.*, 2004; Smith Jr. & Lancelot, 2004). Tal controle favorece a maior abundância de diatomáceas >20 µm e bem silicificadas, contribuindo para uma bomba biológica de sílica. Por outro lado, o desenvolvimento e concentração de meso- e macrozooplâncton (copépodos, salpas e krill antártico *Euphausia superba*, até baleias; Smetacek *et al.*, 2004) é estimulado durante as florações de diatomáceas pouco silicificadas e de *Phaeocystis antarctica*, sob condições ótimas de ferro, como as encontradas nos arredores da Península Antártica, particularmente em regiões mais rasas (Garibotti *et al.*, 2005a).

Como enfatizado acima, as amostragens de primavera na Patagônia foram dominadas por nanoplâncton, especialmente *Thalassiosira* spp., enquanto que as de verão (tanto em regiões da Patagônia quanto da Antártica) foram caracterizadas por diatomáceas >20 µm, tais como *Rhizosolenia crassa*, *Odontella weissflogii* e *Eucampia antarctica*. No Oceano Austral, o elemento-traço ferro também é apontado como um possível nutriente regulador do desenvolvimento fitoplanctônico nas regiões rasas ou

com o aporte do derretimento de geleiras ou plataforma de gelo (Ducklow *et al.*, 2007). Neste estudo, isto pode ser sugerido pelas concentrações altas de diatomáceas e de clorofila-*a* estimadas próximo da Ilha James Ross.

5.4.2. *Espécies comuns ao Mar Argentino e Oceano Austral*

Agrupamentos de estações/cruzeiros foram identificadas como significativos (através da ANOSIM), diferenciando composições taxonômicas do fitoplâncton entre a Patagônia e Antártica. Os principais grupos taxonômicos responsáveis por tais agrupamentos (pelo uso do SIMPER) foram também identificados. Contudo, podemos apontar algumas espécies que indicam a influência de águas antárticas, provavelmente via Corrente Circumpolar Antártica/Corrente das Malvinas, na região de quebra de plataforma da Patagônia. As três espécies de diatomáceas identificadas na Patagônia, *Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* e *Thalassiothrix antarctica*, são comumente encontradas no Oceano Austral (Medlin & Priddle, 1990; Hasle & Syvertsen, 1997). Apenas *C. pennatum* apresentou concentração considerável de células (até 120000 células L⁻¹) na região patagônica durante a primavera, distante do Oceano Austral, enquanto que *E. antarctica* e *T. antarctica*, ainda que estivessem presentes na parte mais a sul da quebra de plataforma da Patagônia também na primavera, foram mais abundantes próximo da Ilha James Ross. *C. pennatum* deve apresentar características fisiológicas de tolerância a condições ambientais em menores latitudes, pelo menos considerando-se o intervalo de temperatura determinado neste estudo (-2 °C na Península Antártica a ~8 °C na

Patagônia), ainda que seja considerada uma diatomácea cosmopolita com abundâncias maiores nos pólos (Scott e Marchant, 2005).

Não foi possível realizar a mesma abordagem em relação aos demais grupos taxonômicos, em virtude das próprias limitações impostas pela identificação de células $<5\ \mu\text{m}$ em microscopia ótica. Isso foi particularmente verificado no caso da haptofícea *Phaeocystis antarctica*, a qual foi claramente identificada em apenas uma estação oceânica de outubro de 2004 (PATEX I), associada com camada de mistura profunda/luminosidade baixa (Garcia *et al.*, 2008). A mesma não foi estimada em novembro de 2007 (PATEX IV) e, provavelmente, esteja incluída no grupo Flag – flagelados entre 2 e $10\ \mu\text{m}$. Cabe ressaltar que as colônias esféricas destes organismos se desfazem sob ação do fixador comumente utilizado (solução de Lugol alcalina), liberando as células na amostra aquosa (R. Comin, comm. pess.). Esta espécie também foi identificada na quebra de plataforma da Patagônia na primavera de 2006 e verão/outono de 2007 em termos de biomassa em carbono, especialmente no verão, com baixa biomassa (Comin, 2009). Estes resultados apontam para a necessidade de um estudo mais detalhado sobre esse organismo, com o intuito de verificar possíveis variações inter-anuais e espaciais ao longo e nas cercanias da quebra de plataforma da Patagônia, haja vista sua importância em ciclos biogeoquímicos tais como o do enxofre e do carbono (Schoemann *et al.*, 2005; van Leeuwe *et al.*, 2007 e referências inclusas).

5.4.3 Composição do fitoplâncton associada a parâmetros físicos e químicos

A análise de ordenação dos dados da Patagônia (ver Fig. 5.8A e B) não exibiu os agrupamentos de estações sob o controle de apenas um ou outro eixo/raiz canônico, apesar da significância do modelo. Isso pode ser devido a variabilidade sazonal (primavera e verão), anual e espacial latitudinal observada. A inclusão da amostragem de verão (PATEX VII) nesta análise permitiu a inclusão de águas subantárticas mais ao sul (até 55°S), considerando a relação do fitoplâncton com a maior camada de mistura e fraca estratificação vertical sob influência da CM (Garcia *et al.*, 2008).

Entre todas as espécies e/ou grupos taxonômicos analisados, *Rhizosolenia crassa* foi fortemente associada com camada de mistura profunda, ao sul das Ilhas Malvinas (PATEX VII). Outra espécie de tamanho similar, *Rhizosolenia formosa*, foi também associada com camada de mistura profunda, sendo considerada como um organismo capaz de desenvolver-se nesta condição em virtude de um controle relativo de flutuabilidade na coluna d'água, ligado ao metabolismo das proteínas flavodoxina e ferredoxina (McKay *et al.*, 2000). Contrariamente, muitos dinoflagelados (*Ceratium lineatum/pentagonum*, *Gonyaulax* spp. e *Torodinium robustum*) foram relacionados com camada de mistura rasa, mas próximos à plataforma continental. Smayda (2010a,b) descreveu extensivamente as estratégias adaptativas de dinoflagelados em regiões de ressurgência, apontando os “ceratians” (tipo *C. lineatum/pentagonum*) como típicas dessas regiões e *Gonyaulax polygramma* como típica de região de relaxamento da ressurgência, com habilidade para tolerar danos causados pela turbulência.

Essas relações explicariam a constante presença daqueles dinoflagelados na quebra de plataforma. *Hemiaulus* spp. foram associadas a águas relativamente menos frias nesta análise de ordenação. Várias espécies deste gênero são relacionadas com águas mais quentes a temperadas (Hasle & Syvertsen, 1997). Contudo, *H. hauckii* e *H. membranaceus* foram identificadas em águas subtropicais (Olguín *et al.*, 2006) e ao norte da Confluência Brasil-Malvinas (Fernandes e Brandini, 1999), distante da nossa região de estudo, sugerindo uma área de distribuição mais ampla no Atlântico Sudoeste para essas espécies.

Os resultados da ACC relativos aos dados da região antártica resultaram em melhor contraste entre os agrupamentos de estações. O verão de 2009 (SOS II) e a maioria das estações próximas da Ilha James Ross em 2008 foram caracterizados por camadas de mistura relativamente rasas, temperatura baixa em superfície (em relação às regiões mais a norte, do Estreito de Bransfield e da Passagem de Drake), concentração relativamente alta de silicato. Estas condições refletiram em uma concentração alta de clorofila-*a* associada às diatomáceas >20 µm, tais como *Odontella weissflogii*, *Eucampia antarctica*, várias cêntricas tipo *Thalassiosira* spp. e *Chaetoceros* spp. A maioria das estações do Estreito de Bransfield e as estações da Passagem de Drake (2008) foram caracterizadas por condições opostas: camada de mistura profunda, onde *Phaeocystis antarctica* parece ser uma das poucas espécies que conseguem desenvolver-se e alcançar produção primária alta (Arrigo *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2010). Alguns dinoflagelados foram também importantes, provavelmente indicando estágios de sucessão tardios em relação ao encontrado próximo da Ilha James Ross. Análises de

cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) nos mesmos períodos de estudo mostraram também maior concentração de dinoflagelados e “*Phaeocystis antarctica*” no Estreito de Bransfield e Passagem de Drake (2008) e dominância de diatomáceas próximo da Ilha James Ross (Mendes *et al.*, em revisão; Capítulo 4).

A presença e a concentração alta das espécies de diatomáceas indicam que, especialmente próximo à Ilha James Ross, a comunidade fitoplanctônica estava composta por representantes associados a condições de degelo (aporte de ferro) e estratificação da coluna d’água, e camada de mistura rasa (*Chaetoceros* spp. e a diatomácea epôntica *Plagiotropis gaussii*) (Denis *et al.*, 2006). A presença considerável da diatomácea cêntrica *Odontella weissflogii* é apontada como um fato comum no meio/fim do verão antártico (Annett *et al.*, 2010), o que é confirmado neste trabalho com período de coleta em fevereiro-março de 2008 e 2009. Da mesma maneira, é possível que não apenas alguns parâmetros isolados (temperatura, salinidade, nutrientes, camada de mistura/estratificação) expliquem o crescimento e acumulação daquelas diatomáceas próximo da Península Antártica (Annett *et al.*, 2010 e referências inclusas), mas sim a interação entre eles e outros parâmetros (por exemplo, radiação solar) não analisados neste trabalho.

5.5 Conclusão

A distribuição do fitoplâncton nas regiões de estudo foi influenciada pela variabilidade sazonal (primavera e verão), incrementada por diferenças inter-anuais e horizontais (plataforma e região oceânica). O fitoplâncton dos cruzeiros de primavera (Patagônia) foi dominado pelas diatomáceas nanoplanctônicas, *Thalassiosira* spp., enquanto que o fitoplâncton dos cruzeiros de verão foi caracterizado pelas diatomáceas microfitoplanctônicas *Rhizosolenia crassa* na região subantártica e *Odontella weissflogii*, *Eucampia antarctica* e variadas cêntricas tipo *Thalassiosira* em torno da Península Antártica. Dinoflagelados sempre estiveram presentes, principalmente, ao longo da frente de quebra de plataforma. Temperatura e nutrientes inorgânicos dissolvidos, especialmente silicato, foram importantes para a variabilidade do fitoplâncton nas regiões de estudo. A distribuição espacial do fitoplâncton foi relacionada com processos físicos que conferem condições para o crescimento e acúmulo de biomassa fitoplanctônica em camada de mistura rasa: a frente de quebra de plataforma da Patagônia, a frente oceanográfica de Bransfield e o degelo continental próximo à Ilha James Ross, onde diatomáceas foram dominantes. Criptofíceas, *Phaeocystis antarctica* e outros flagelados foram associados, especificamente na Antártica, com camada de mistura profunda. Processos biológicos, como a pressão de herbivoria, foram sugeridos como outro fator ambiental controlando o fitoplâncton em ambas regiões de estudo e promovendo uma heterogeneidade espacial na composição fitoplanctônica. As diatomáceas *Corethron pennatum*, *Eucampia antarctica* e *Thalassiothrix antarctica*

ocorreram em ambos os domínios estudados, sugerindo a influência de águas (sub)antárticas oriundas da Corrente Circumpolar Antártica ao longo da quebra de plataforma da Patagônia.

5.6 Referências

- Alder, V.A. (1999) Tintinnoinea. *In*: Boltovskoy, D. (ed.) *South Atlantic Zooplankton* Vol. 1. Backhuys Publishers, Leiden. p: 321–384.
- Aminot, A. e Chaussepied, M. (1983) *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest: Centre National pour l'Éxploration des Océans, 395p.
- Annett, A.L., Carson, D.S., Crosta, X., Clarke, A. e Ganeshram, R.S. (2010) Seasonal progression of diatom assemblages in surface waters of Ryder Bay, Antarctica. *Polar Biology*, **33**: 13–29.
- Arrigo, K.R., Robinson, D.H., Worthen, D.L., Dunbar, R.B., DiTullio, G.R., VanWoert, M. e Lizotte, M.P. (1999) Phytoplankton community structure and the drawdown of nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science*, **283**: 365–367.
- Boeckel, B., Baumann, K.H., Henrick, R. e Kinkel, H. (2006) Coccolith distribution patterns in South Atlantic and Southern Ocean surface sediments in relation to environmental gradients. *Deep-Sea Research I*, **53**: 1073–1099.
- Boltovskoy, D. (1999) *South Atlantic Zooplankton*. Backhuys Publishers, Leiden. p.
- Brandini, F. P., Boltovskoy, D., Piola, A., Kocmur, S., Röttgers, R., Abreu, P. C., Lopes, R. M. (2000) Multiannual trends in fronts and distribution of

- nutrients and chlorophyll in the southwestern Atlantic (30-62°S). *Deep-Sea Research I*, **47**: 1015–1033.
- Chrétiennot-Dinet, M.J. (1990) *Atlas du Phytoplancton Marin*. vol. III Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 261p.
- Clarke, K.R. (1993) Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, **18**: 117–143.
- Clarke, K.R. e Warwick, R.M. (1994) *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth. 144p.
- Comin, R. (2009) *Composição e biomassa do fitoplâncton no talude da Patagônia, na primavera de 2006 e verão de 2007*. Monografia de Graduação FURG, Rio Grande. 41p.
- Denis, D., Crosta, X., Zaragosi, S., Romero, O., Martin, B. e Mas, V. (2006) Seasonal and subseasonal climate changes recorded in laminated diatom ooze sediments, Adélie Land, East Antarctica. *The Holocene*, **16**: 1137–1147.
- Ducklow, H.W., Baker, K., Martinson, D.G., Quetin, L.B., Ross, R.M., Smith, R.C., Stammerjohn, S.E., Vernet, M. e Fraser, W. (2007) Marine pelagic ecosystems: the West Antarctic Peninsula. *Philosophical Transactions of Royal Society B*, **362**: 67-94.
- Eppey, R.W., Reid, F.M.H. e Strickland, J.D.H. (1970) Estimates of phytoplankton crop size, growth rate, and primary production, pp. 33-42. In: Strickland, J.D.H. (ed.) The ecology of the plankton off La Jolla, California, in the period April through September 1967. *Bull. Scripps. Inst. Oceanogr.*, **17**.

- Edwards, K.F., Klausmeier, C.A. e Litchman, E. (2011) Evidence for a three-way trade-off between nitrogen and phosphorus competitive abilities and cell size in phytoplankton. *Ecology*, **92**: 2085–2095.
- Fernandes, L.F. e Brandini, F.P. (1999) Microplankton communities in the Southwestern Atlantic Ocean: biomass and distribution in November/1992. *Revista Brasileira de Oceanografia*, **47**: 189–205.
- Garcia, V.M.T., Garcia, C.A.E., Mata, M.M., Pollery, R.C., Piola, A.R., Signorini, S.R., McClain, C.R. e Iglesias-Rodríguez, M.D. (2008) Environmental factors controlling the phytoplankton blooms at the Patagonia shelf-break in spring. *Deep-Sea Research Part I*, **55**:1150–1166.
- Garibotti, I.A., Vernet, M., Kozlowski, W. e Ferrario, M. (2003) Composition and biomass of phytoplankton assemblages in coastal Antarctic waters: a comparison of chemotaxonomic and microscopic analyses. *Marine Ecology Progress Series*, **247**: 27–42.
- Garibotti, I.A., Vernet, M. e Ferrario, M.E. (2005a) Annually recurrent phytoplanktonic assemblages during summer in the seasonal ice zone west of the Antarctic Peninsula (Southern Ocean). *Deep-Sea Research I*, **52**: 1823–1841.
- Garibotti, I.A., Vernet, M., Smith, R.C. e Ferrario, M.E. (2005b) Interannual variability in the distribution of the phytoplankton standing stock across the seasonal sea-ice zone west of the Antarctic Peninsula. *Journal of Plankton Research*, **27**: 825–843.
- Gauch Jr., H.G. (1982) *Multivariate Analysis in Community Ecology*. Cambridge University Press, 298p.

- Hammer, O., Harper, D.A.T. e Ryan, P.D. (2008) PAST – PAlaeontological STatistics, ver. 1.81. Brief notes. 88p. <http://folk.uio.no/ohammer/past>
- Hasle, G.R. e Syvertsen, E.E. (1997) Marine Diatoms. *In*: Tomas, C.R. (ed.). *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. Academic Press, Inc. San Diego, California. 5-385.
- Hewes, C.D. (2009) Cell size of Antarctic phytoplankton as a biogeochemical condition. *Antarctic Science*, 14p.
- Hewes, C.D., Reiss, C.S., Kahru, M., Mitchell, B.G., Holm-Hansen, O. (2008) Control of phytoplankton biomass by dilution and mixed layer depth in the western Weddell-Scotia Confluence. *Marine Ecology Progress Series*, **366**: 15–29.
- Hillebrand, H., Dürselen, C.D., Kirschtel, D., Pollinger, U. e Zohary, T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, **35**: 403–424.
- Holm-Hansen, O. e Hewes, C.D. (2004) Deep chlorophyll-a maxima (DCMs) in Antarctic waters. I. Relationships between DCMs and the physical, chemical, and optical conditions in the upper water column. *Polar Biology*, **27**: 699–710.
- Klausmeier, C.A. e Tilman, D. (2002) Spatial Models of Competition. *In*: Sommer, U. e Worm, B. (eds.). *Competition and coexistence*. pp: 43–78. Springer, Berlin, Germany.
- Knox, G. (2007) *Biology of Southern Ocean*. CRC Press, New York. 640p.
- Litchman, E., Klausmeier, C.A., Schofield, O.M. e Falkowski, P. G. (2007) The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton

- communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters*, **10**: 1170–1181.
- Litchman, E., Klausmeier, C.A. e Yoshiyama, K. (2009) Contrasting size evolution in marine and freshwater diatoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **106**: 2665–2670.
- Lund, J.W.G., Kipling, C. e Cren, E.D. (1958) The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimating by counting. *Hydrobiologia*, **11**: 143–170.
- McGarigal, K., Cushman, S. e Stafford, S. (2000) *Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research*. Springer-Verlag, New York, 283p.
- Margalef, R. (1978) Life forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta*, **1**(4): 493–509.
- Matano, R.P., Palma, E.D. e Piola, A.R. (2010) The influence of the Brazil and Malvinas Currents on the Southwestern Atlantic Shelf circulation. *Ocean Science*, **6**: 983–995.
- McKay, R.M.L., Villareal, T.A. e La Roche, J. (2000) Vertical migration by *Rhizosolenia* spp. (Bacillariophyceae): implications for Fe acquisition. *Journal of Phycology*, **36**: 669–674.
- Medlin, L.K. e Priddle, J. (1990) *Polar Marine Diatoms*. British Antarctic Survey, Cambridge.
- Menden-Deuer, S. e Lessard, E.J. (2000) Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, **45**(3): 569–579.
- Mendes, C.R.B., Souza, M.S.de, Garcia, V.M.T., Leal, M.C., Brotas, V. e Garcia, C.A.E. (2011) Dynamics of phytoplankton communities during late

- summer around the tip of the Antarctic Peninsula. *Submetido a Deep-Sea Research I*. 46p. (**Anexo**)
- Mills, M.M., Kropuenske, L.R., van Dijken, G.L., Alderkamp, A.C., Berg, G.M., Robinson, D.H., Welschmeyer, N.A. e Arrigo, K.R. (2010) Photophysiology in two Southern Ocean taxa: photosynthesis of *Phaeocystis antarctica* (Prymnesiophyceae) and *Fragilariopsis cylindrus* (Bacillariophyceae) under simulated mixed-layer irradiance. *Journal of Phycology*, **46**: 1114–1127.
- Mitchell, B.G. e Holm-Hansen, O. (1991) Observations and modelling of the Antarctic phytoplankton crop in relation to mixing depth. *Deep-Sea Research II*, **38**: 981–1007.
- Montagnes, D.J.S., Berges, J.A., Harrison, P.J. e Taylor, F.J.R. (1994) Estimating carbon, nitrogen, protein, and chlorophyll *a* from volume in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, **39**: 1044–1060.
- Montes-Hugo, M., Doney, S.C., Ducklow, H.W., Fraser, W., Martinson, D., Stammerjohn, S.E. e Schofield, O. (2009) Recent changes in phytoplankton communities associated with rapid regional climate change along the western Antarctic Peninsula. *Science*, **323**: 1470–1473.
- Olguín, H.F. e Alder, V.A. (2011) Species composition and biogeography of diatoms in antarctic and subantarctic (Argentine shelf) waters (37–76°S). *Deep-Sea Research II*, **58**: 139–152.
- Olguín, H.F., Boltovskoy, D., Lange, C.B. e Brandini, F. (2006) Distribution of spring phytoplankton (mainly diatoms) in the upper 50m of the Southwestern Atlantic Ocean (30–61 °S). *Journal of Plankton Research*, **28**: 1107–1128.

- Petz, W. (1999) Ciliophora. In: Boltovskoy, D. (ed.) *South Atlantic Zooplankton* Vol. 1. Backhuys Publishers, Leiden. p: 265–319.
- Piola, A.R., Martínez-Avellaneda, N., Guerrero, R.A., Jardón, F.P., Palma, E.D. e Romero, S.I. (2010) Malvinas-slope water intrusions on the northern Patagonia continental shelf. *Ocean Sci.*, **6**: 345–359.
- Prèzelin, B.B., Hofmann, E.E., Mengelt, C. e Klinck, J.M. (2000) The linkage between Upper Circumpolar Deep Water (UCDW) and phytoplankton assemblages on the west Antarctic Peninsula continental shelf. *Journal of Marine Research*, **58**: 165–202.
- Prèzelin, B.B., Hofmann, E.E., Moline, M. e Klinck, J.M. (2004) Physical forcing of phytoplankton community structure and primary production in continental shelf waters of the Western Antarctic Peninsula. *Journal of Marine Research*, **62**: 419–460.
- Putt, M. e Stoecker, D.K. (1989) An experimentally determined carbon:volume ratio for marine ‘oligotrichous’ ciliates from estuarine and coastal waters. *Limnol. Oceanog.*, **34**: 1097–1103.
- Romero, O. e Hensen, C. (2002) Oceanographic control of biogenic opal and diatoms in surface sediments of the Southwestern Atlantic. *Marine Geology* **186**: 263–280.
- Sangrà, P., Gordo, C., Hernández-Arencibia, M., Marrero-Díaz, A., Rodríguez-Santana, A., Stegner, A., Martínez-Marrero, A., Pelegrí, J.L. e Pichon, T. (2011) The Bransfield current system. *Deep-Sea Research*, **58**: 390–402.
- Santoferrara, L. e Alder, V.A. (2009) Abundance trends and ecology of planktonic ciliates of the south-western Atlantic (35–36°S): a comparison

- between neritic and oceanic environments. *Journal of Plankton Research*, **31**: 837–851.
- Sañudo-Wilhelmy, S.A., Olsen, K.A., Scelfo, J.M., Foster, T.D. e Flegal, A.R. (2002) Trace metal distributions off the Antarctic Peninsula in the Weddell Sea. *Marine Chemistry*, **77**: 157–170.
- Schoemann, V., Becquevort, S., Stefels, J., Rousseau, V. e Lancelot, C. (2005) *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review. *Journal of Sea Research*, **53**: 43–66.
- Scott, F.J. e Marchant, H.J. (2005) *Antarctic Marine Protists*. Australian Biological Resources Study and Australian Antarctic Division. Canberra, 563p.
- Signorini, S.R., Garcia, V.M.T., Piola, A.R., Garcia, C.A.E., Mata, M.M., e McClain, C.R. (2006) Seasonal and interannual variability of calcite in the vicinity of the Patagonian Shelf Break (38°S – 52°S). *Geophysical Research Letters*, **33**, L16610.
- Signorini, S.R., Garcia, V.M.T., Piola, A.R., Evangelista, H., McClain, C.R., Garcia, C.A.E. e Mata, M.M. (2009) Further studies on the physical and biogeochemical causes for large interannual changes in the Patagonian Shelf spring-summer phytoplankton bloom biomass. *NASA/TM-214176*, Maryland. 50p.
- Smayda, T.J. (1997) Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology and Oceanography*, **42**: 1137–1153.

- Smayda, T.J. (2010a) Adaptations and selection of harmful and other dinoflagellate species in upwelling systems 1. Morphology and adaptive polymorphism. *Progress in Oceanography*, **85**: 53–70.
- Smayda, T.J. (2010b) Adaptations and selection of harmful and other dinoflagellate species in upwelling systems 2. Motility and migratory behaviour. *Progress in Oceanography*, **85**: 71–91.
- Smayda, T.J. e Reynolds, C.S. (2001) Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of Plankton Research*, **23** (5): 447–461.
- Smetacek, V., Assmy, P. e Henjes, J. (2004) The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science*, **16**: 541–558.
- Smetacek, V. e Nicol, S. (2005) Polar ocean ecosystems in a changing world. *Nature*, **437**: 362–368.
- Smith Jr., W.O. e Sakshaug, E. (1990) Polar Phytoplankton. In: Smith Jr., W.O. (ed.) *Polar Oceanography part B – Chemistry, Biology and Geology*. pp: 477–525. Academic Press, Inc. San Diego.
- Smith Jr., W.O. e Lancelot, C. (2004) Bottom-up versus top-down control in phytoplankton of the Southern Ocean. *Antarctic Science*, **16**: 531–539.
- Souza, M.S.de, Mendes, C.R.B., Garcia, V.M.T., Pollery, R., Brotas, V. (2011) Phytoplankton community during a coccolithophorid bloom in the Patagonian shelf: microscopic and high-performance liquid chromatography pigment analyses. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom* (doi:10.1017/S0025315411000439).

- Steidinger, K.A. e Tangen, K. (1997) Dinoflagellates. In: Tomas, C.R. (ed.) *Identifying Marine Phytoplankton*. Academic Press, Inc. San Diego, California. pp: 387–584.
- Sundstrom, B. G. (1986) The marine diatom genus *Rhizosolenia*. Doctoral Dissertation. Lund University, Lund, Sweden. 117p., 39 plates.
- Ter Braak, C.J.F. e Prentice, I.C. (1988) A theory of gradient analysis. *Advances in Ecological Research*, **18**: 271–317.
- Throndsen, J. (1997) The Planktonic Marine Flagellates. In: Tomas, C.R. (ed.). *Identifying Marine Phytoplankton*. Academic Press, Inc. San Diego, California. 591–831.
- Utermöhl, H. (1958) Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, **9**: 1–38.
- van Leeuwe, M. (2007) Introduction. *Biogeochemistry*, **83**: 1–2.
- Welschmeyer, N.A. (1994) Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *c* and phaeopigments. *Limnol. Oceanogr.*, **39**(8): 1985–1992.
- Zar, J.H. (1999) *Biostatistical Analysis*. 2nd edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 718p.

ANEXO V

Listas de espécies/grupos taxonômicos, apenas os autotróficos, identificados na Patagônia e Antártica, acrônimos correspondentes utilizados nas análises estatísticas de agrupamentos e de correspondência canônica e seus respectivos biovolume (μm^3) e biomassa em carbono (pg C) (Anexo IV).

Espécie ou grupo taxonômico	Acrônimos	Ocorrência	Biovolume (µm³)	Biomassa em carbono (pg C)
Cryptophyta*				
Criptofíceas	Crypt	P e A	137	22
Euglenophyta*				
<i>Eutreptiella</i> sp.	Eug	P-IV	1767	242
Chlorophyta*				
Prasinophyceae	Flag	P-VII e A	231	36
<i>Pyramimonas</i> sp.	Flag	A	49	8
Haptophyta*				
Coccolitoforídeos I	Coccol	P e A	372	56
Coccolitoforídeos II	Coccol	P-VII e A	1596	220
Coccolitoforídeos III	Coccol	A	4189	544
<i>Phaeocystis antarctica</i>	Phaeo	P e A	60	10
Prymnesiophyceae (<i>Chrysochromulina</i>)	Flag	A (SOS II)	48	8
Syracosphaeraceae	Coccol	P-VII e A	393	59
Dictyochophyta*				
<i>Dictyocha speculum</i>	Dicspe	P e A	2120	287
<i>Dictyocha speculum</i>	Dicspe	A	9163	1135
Flagelados >2-10 µm*	Flag	P e A	71	12
Dinophyta**				
<i>Alexandrium</i> sp.	Dinof	P e A	31416	3120
<i>Amphidinium</i> aff. <i>carterae</i> I	Amph	A	623	64
<i>Amphidinium</i> aff. <i>carterae</i> II	Amph	A	4614	466
<i>Ceratium lineatum</i>	Cerlin	P	15933	1592
<i>Ceratium pentagonum</i>	Cerlin	P	30053	2985
<i>Ceratium lineatum</i> + <i>C. pentagonum</i>	Cerlin	P	26389	2625
<i>Ceratium fusus</i>	Dinof	P	21531	2145
<i>Cochlodinium</i> sp1.	Coch	P e A (SOS I)	8545	859
<i>Corythodinium tessellatum</i>	Dinof	P-IV	2291	233
<i>Dinophysis</i> cf. <i>okamurai</i>	Dinph	P e A	14622	1462
<i>Dinophysis</i> sp2.	Dinph	P	5301	535
<i>Dinophysis</i> sp3.	Dinph	P	12252	1227
<i>Dinophysis</i> sp4.	Dinph	P e A	23639	2353
<i>Gonyaulax scrippsae</i>	Gony	P	8181	822
<i>Gymnodinium</i> sp1.	Gymnl	P e A	98	10
<i>Gymnodinium</i> sp2a.	Gymnl	P e A	1145	117
<i>Gymnodinium</i> sp2b.	Gymnl	P e A	1420	145
<i>Gymnodinium</i> sp3.	Gymnl	A	4273	432
<i>Gymnodinium</i> /Gyrodinium	Gymnl	A	4189	424
<i>Gyrodinium</i> sp.	Gyrol	P e A	116	12
<i>Gymnodiniales</i>	Gymnl	A	445	46
<i>Gymnodiniales</i>	Gymnl	A	2492	253
<i>Heterocapsa triquetra</i>	Het	P e A	6676	672
<i>Oxytoxum</i> spp. (<i>O. gracile</i> , <i>O. scolopax</i> , <i>O. variabile</i>)	Oxyt	P	1247	127
<i>Oxytoxum criophilum</i>	Oxyt	A	8378	842
<i>Peridinales</i> Ia	PerI	P e A	796	82
<i>Peridinales</i> Ib	PerI	P e A	1049	107
<i>Peridinales</i> II	PerII	P e A	2806	285
<i>Phalacroma</i> sp1.	Dinof	P e A	53407	5278
<i>Phalacroma</i> sp2.	Dinof	P-IV	53407	5278
<i>Prorocentrum antarcticum</i>	Pspp	P e A	4545	459
<i>Prorocentrum minimum</i>	Pmin	P e A	1395	142
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>minimum</i>	PminII	P e A	6909	696
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>compressum</i>	Pspp	P	3272	332
<i>Scrippsiella</i> cf. <i>trochoidea</i>	Dinof	P-IV	8096	814
<i>Torodinium robustum</i>	Torod	P e A	7154	720
<i>Torodinium robustum</i>	Torod	A	9425	946
Atecado não identificado	Dinof	P e A	19685	1963
Tipo <i>Peridiniella catenata</i>	Dinof	P e A	5563	561
Tecado não identificado	Dinof	A	32445	3221
Ciliophora***				
<i>Myrionecta rubra</i> (<20 µm)	Mrub	A e P	1767	336
<i>Myrionecta rubra</i> (20-30 µm X 10-20 µm)	Mrub	P	3665	696
<i>Myrionecta rubra</i> ~30 µm diâmetro	Mrub	P	4608	875
<i>Myrionecta rubra</i> 20-30 diâmetro	Mrub	A	6231	1184

Fatores de conversão de biovolume para biomassa em carbono, de acordo

com * = Menden-Deuer e Lessard (2000), ** = Montagnes *et al.* (1994) e *** = Putt e Stoecker (1989). Ocorrência: P = Patagônia (primavera e verão), A = Antártica (verões de 2008 e 2009), P-I = outubro de 2004, P-IV = novembro de 2007, P-VII = janeiro de 2009, SOS-I = fevereiro-março de 2008 e SOS II = fevereiro-março de 2009.

Espécie ou grupo taxonômico	Acrônimos	Ocorrência	Biovolume (µm ³)	Biomassa em carbono (pg C)
Bacillariophyta**				
<i>Asteromphalus hyalinus</i>	Centr	A	35805	3551
<i>Actinocyclus</i> spp. (A. [= <i>Charcotia</i>] <i>actinochilus</i> , <i>A. octonarius</i>)	Centr	A	6872	692
<i>Bacteriastrium hyalinum</i>	Centr	P-VII	785	81
Cêntricas (5 µm diâmetro X 2,5 µm)	Cent5	P-VII e A	49	5
Cêntricas (5 X 5 µm)	Cent5	P	98	10
Cêntricas (10 X 10 µm)	Cent10	P-VII e A	1963	200
Cêntricas (4 µm diâmetro X 24-33 µm)	Centr	P	342	35
<i>Chaetoceros affinis</i>	Chaetl	P-VII	825	85
<i>Chaetoceros</i> cf. <i>atlanticus</i>	Chaetll	P-VII e A	11310	1133
<i>Chaetoceros bulbosus</i>	Cbulb	A	3115	316
<i>Chaetoceros convolutus</i>	Chaetll	P e A	785	81
<i>Chaetoceros convolutus</i>	Chaetll	P-VII e A	1649	168
<i>Chaetoceros</i> cf. <i>criophilus</i>	Crio	P-VII e A	550	57
<i>Chaetoceros criophilus</i>	Crio	A	267	28
<i>Chaetoceros decipiens</i>	Chaetll	P-VII e A	8044	809
<i>Chaetoceros dictyota</i>	Cdic	P e A	104	11
<i>Chaetoceros</i> spp. (<i>C. atlanticus</i> , <i>C. dictyota</i> , <i>C. densus</i>)	Cdic	A	534	55
<i>Chaetoceros</i> aff. <i>filiformis</i>	Chaetl	A	43	5
<i>Chaetoceros flexuosus</i>	Chaetl	A	107	11
<i>Chaetoceros laciniosus</i>	Chaetl	P	707	73
<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	Chaetll	P	589	61
<i>Chaetoceros neglectus</i>	Chaetl	A	100	10
<i>Chaetoceros neglectus</i>	Chaetl	A	300	31
<i>Chaetoceros peruvianus</i>	Chaetll	P	1217	124
<i>Chaetoceros</i> cf. <i>simplex</i>	Chaetl	P-VII e A	550	57
<i>Chaetoceros wighamii</i>	Chaetl	P	80	8
<i>Chaetoceros</i> sp1.	Chaetl	A	67	7
<i>Chaetoceros</i> sp2.	Chaetl	P e A	61	6
<i>Chaetoceros</i> sp3.	Chaetl	P-VII e A	1551	158
<i>Chaetoceros</i> sp4.	Chaetl	P	29	3
<i>Chaetoceros</i> sp5.	Chaetll	P	589	61
<i>Corethron inerme</i>	Centr	A	38170	3784
<i>Corethron pennatum</i>	Cpenn	P-VII	982	101
<i>Corethron pennatum</i>	Cpenn	P-VII	3142	318
<i>Corethron pennatum</i>	Cpenn	P e A	7605	765
<i>Corethron pennatum</i>	Cpenn	A	15610	1560
<i>Corethron pennatum</i>	Cpenn	A	199786	19511
<i>Cylindrotheca closterium</i>	Cylclo	P e A	234	24
<i>Cylindrotheca</i> cf. <i>closterium</i>	Cylclo	P-VII	159	17
<i>Dactylosolen</i> cf. <i>phuketensis</i>	Centr	P-VII	6680	673
<i>Dactylosolen fragilissimus</i>	Centr	A	4712	476
<i>Diploneis</i> sp.	Penn	P-I e IV	1508	154
<i>Ditylum brightwellii</i>	Centr	P-IV	14520	1452
<i>Eucampia antarctica</i>	Eantar	P	8836	887
<i>Eucampia antarctica antarctica</i>	Eantar	A	10838	1087
<i>Eucampia antarctica reta</i>	Eantar	A	15551	1554
<i>Fragilariopsis</i> sp1a.	Frag	A	450	46
<i>Fragilariopsis</i> sp1b.	Frag	P-VII	707	73
<i>Fragilariopsis</i> sp2a.	Frag	P-VII e A	1926	196
<i>Fragilariopsis</i> sp2b.	Frag	A	2387	243
<i>Fragilariopsis</i> spp.	Frag	A	851	87
<i>Guinardia cylindrus</i>	Gsp	P	2513	255
<i>Guinardia tubiformis</i>	Gtub	P e A	344	36
<i>Guinardia</i> sp.	Gsp	P	5498	555
<i>Hemiaulus</i> spp. (<i>H. hauckii</i> , <i>H. sinensis</i>)	Hemi	P	923	95
<i>Leptocylindrus mediterraneus</i>	Centr	P e A	3436	348
<i>Leptocylindrus minimus</i>	Centr	A	295	31
<i>Licmophora</i> sp.	Penn	A	4500	455
<i>Melosira</i> sp.	Centr	P-VII	392699	38119
<i>Membraneis challengerii</i>	Penn	A	29920	2972
<i>Membraneis challengerii</i>	Penn	P	40618	4024
<i>Meuniera membranacea</i>	Penn	P-VII	17671	1764
<i>Minidiscus</i> cf. <i>chilensis</i>	Cent5	P-VII	29	3
<i>Navicula directa</i>	Ndir	P		375
<i>Navicula</i> sp2a.	P20	A	127	13
<i>Navicula</i> sp2b.	P20	A	113	12
<i>Navicula</i> sp3.	P20	A	162	17
<i>Navicula</i> sp4.	P50	A	1237	126
<i>Navicula</i> sp5.	P50	A	1325	135
Naviculaceae	P20	A	478	49
Naviculaceae	P100	A	2101	214

Fator de conversão de biovolume para biomassa em carbono, de acordo com

** = Montagnes *et al.* (1994). Ocorrência: P = Patagônia (primavera e verão), A = Antártica (verões de 2008 e 2009), P-I = outubro de 2004, P-IV = novembro de 2007, P-VII = janeiro de 2009, SOS-I = fevereiro-março de 2008 e SOS II = fevereiro-março de 2009.

Continuação das espécies/grupos de diatomáceas

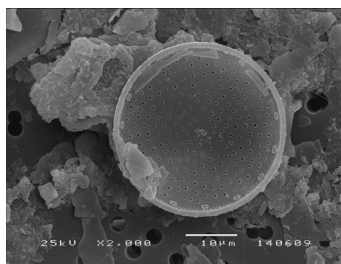
Espécie ou grupo taxonômico	Acrônimos	Ocorrência	Biovolume (µm ³)	Biomassa em carbono (pg C)
<i>Odontella litigiosa</i>	Centr	A	38453	3811
<i>Odontella rhombus</i>	Centr	P-VII	4477	452
<i>Odontella weissflogii</i>	Owe	A	133518	13087
<i>Paralia sulcata</i>	Centr	P-VII	3142	318
Penadas	P20	P-VII	156	16
Penadas	P50	P-VII	781	80
Penadas	P50	P-VII	677	70
Penadas	Penn	A	4123	417
<i>Plagiotropis gaussii</i>	Pgau	P-VII e A	3711	376
<i>Plagiotropis gaussii</i>	Pgau	A	8412	845
<i>Pleurosigma/Gyrosigma</i>	Penn	P	28350	2818
<i>Proboscia alata</i>	Prob	P-VII	22619	2253
<i>Proboscia alata</i>	Prob	A	20106	2005
<i>Proboscia cf. inermis</i>	Prob	A	17593	1756
<i>Pseudogomphonema</i> sp.	Penn	A	4219	427
<i>Pseudonitzschia</i> spp.	Pseudo	P e A	140	15
<i>Pseudonitzschia</i> spp.	Pseudo	P-I e IV	76	8
<i>Pseudonitzschia</i> spp.	Pseudo	A	432	45
<i>Rhizosolenia crassa</i>	Rcra	P-VII	8051391	760579
<i>Rhizosolenia imbricata</i>	Rhizo	P-VII	39584	3923
<i>Rhizosolenia simplex</i>	Rhizo	P-VII	21206	2113
<i>Rhizosolenia</i> sp1.	Rhizo	A	982	101
<i>Rhizosolenia</i> sp2a.	Rhizo	A	27489	2733
<i>Rhizosolenia</i> sp2b.	Rhizo	A	89339	8788
<i>Rhizosolenia</i> sp2c.	Rhizo	A	106029	10414
<i>Rhizosolenia</i> sp3.	Rhizo	P-VII	2265874	216504
<i>Synedra</i> sp.	Penn	A	6300	635
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	Tnitz	P-VII	270	28
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	Tnitz	P-VII	301	31
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	Tnitz	P-VII	488	50
<i>Thalassionema</i> sp2a.	Penn	A	1350	138
<i>Thalassionema</i> sp2b.	Penn	A e P	2475	251
<i>Thalassionemataceae</i>	P50	P-VII	844	87
<i>Thalassionemataceae</i>	P100	P-VII	3563	361
<i>Thalassionemataceae</i>	P100	A	2554	259
<i>Thalassiosira</i> spp. I (<i>T. oceanica</i> , <i>T. perpusilla</i>)	Thal	P	659	68
<i>Thalassiosira</i> spp. (<i>T. gracilis</i> , <i>T. perpusilla</i>)	Thal	A	1802	184
<i>Thalassiosira</i> sp.	Thal	P	3634	368
<i>Thalassiosira</i> spp. (<i>T. dichotomica</i> , <i>T. eccentrica</i>)	Thall	P	6498	654
<i>Thalassiosira</i> spp.	Thall	P	15708	1570
<i>Thalassiosira</i> sp1.	Thall	P	29452	2926
<i>Thalassiosira</i> sp2.	Thall	P	81430	8017
<i>Thalassiosira</i> sp3.	Thall	P	125664	12324
<i>Thalassiosira</i> sp4.	Thall	A	2227	226
<i>Thalassiosira cf. australis</i>	Thall	A	2982	302
<i>Thalassiosira gracilis gracilis</i>	Thall	A	4637	468
<i>Thalassiosira</i> spp. (<i>Thalassiosira dichotomica</i> , <i>Azpeitia tabularis</i> , <i>Stellarima microtrias</i>)	Thall	A	10730	1076
<i>Thalassiosira</i> spp. (<i>T. antarctica</i> , <i>Porosira pseudodenticulata</i>)	Thall	A	59456	5870
<i>Thalassiosira</i> spp.	ThalV	A	438456	42518
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	313609	30503
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	407150	39509
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	795216	76702
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	965097	92926
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	1221451	117360
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	4946029	469283
<i>Thalassiosira/Coscinodiscus</i>	ThalV	A	4712389	447310
<i>Thalassiothrix antarctica</i>	Thant	P	6563	661
<i>Thalassiothrix antarctica</i>	Thant	P	11875	1190
<i>Thalassiothrix antarctica</i>	Thant	P e A	59350	5860
<i>Trichotoxon reinboldii</i>	Penn	A	25758	2562

Fator de conversão de biovolume para biomassa em carbono, de acordo com Montagnes *et al.* (1994). Ocorrência: P = Patagônia (primavera e verão), A = Antártica (verões de 2008 e 2009), P-I = outubro de 2004, P-IV = novembro de 2007, P-VII = janeiro de 2009, SOS-I = fevereiro-março de 2008 e SOS II = fevereiro-março de 2009.

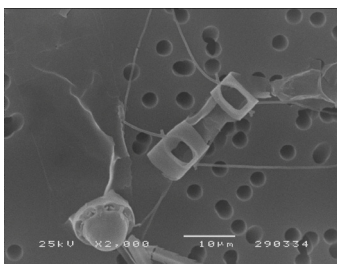
ANEXO VI

Prancha com fotografias de microscopia eletrônica de varredura de algumas espécies ou grupos taxonômicos da Patagônia e Antártica.

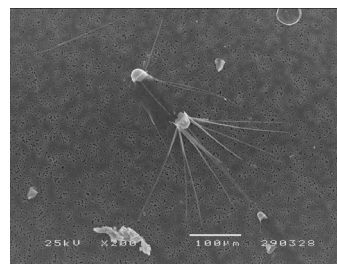
Diatomáceas em torno na Península Antártica



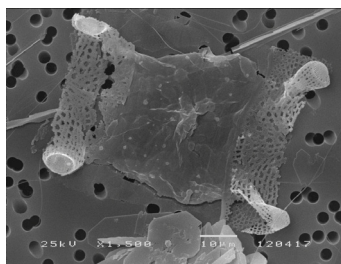
Actinocyclus cf. actinochilus



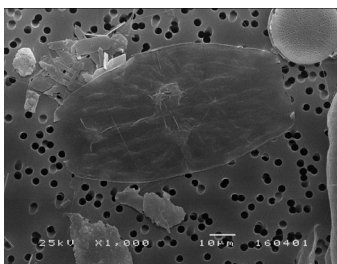
Chaetoceros cf. dichæta



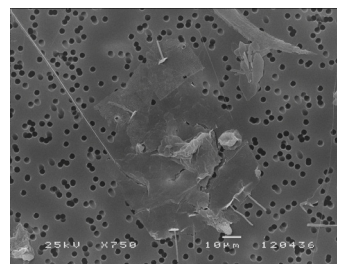
Corethron pennatum



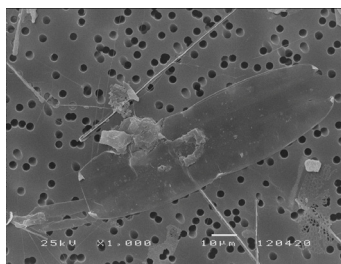
Eucampia antarctica



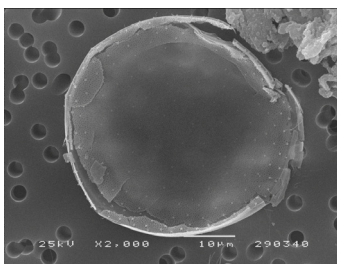
Membraneis challengerii



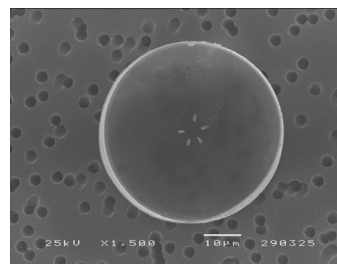
Odontella weissflogii



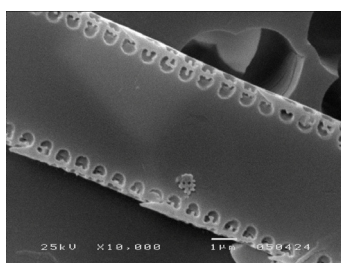
Plagiotropis gaussii



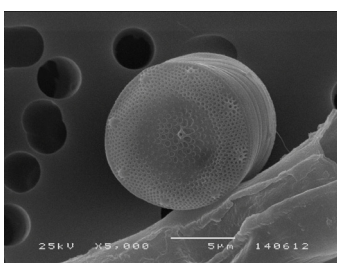
Porosira pseudodenticulata



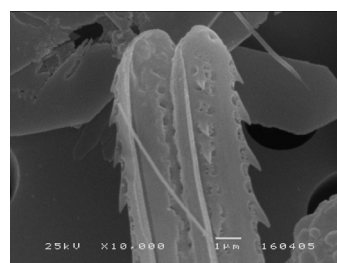
Stellarima microtrias



Thalassionema cf. bacillare

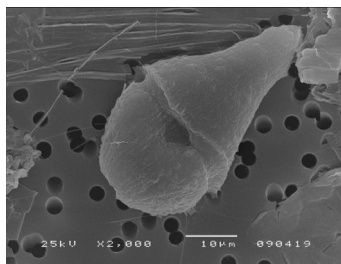


Thalassiosira gracilis gracilis

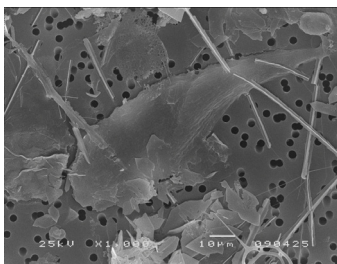


Thalassiothrix antarctica

Dinoflagelados e silicoflagelado (s) na Península Antártica



Gymnodinium sp.

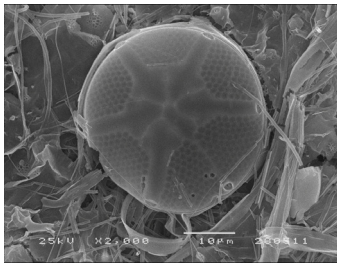


Gyrodinium sp.

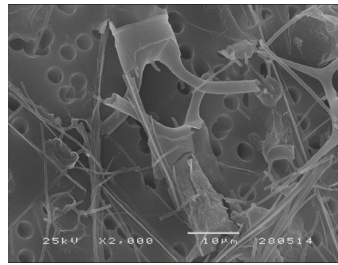


Dictyocha speculum (s)

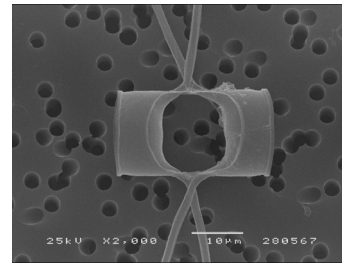
Fitoplâncton na Patagônia (Mar Argentino) – Diatomáceas



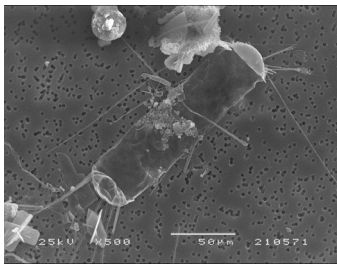
Asteromphalus hyalinus



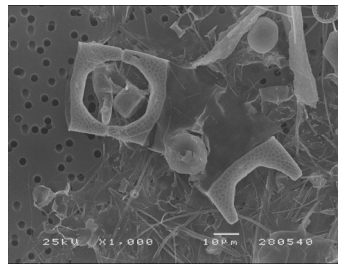
Chaetoceros aff. atlanticus



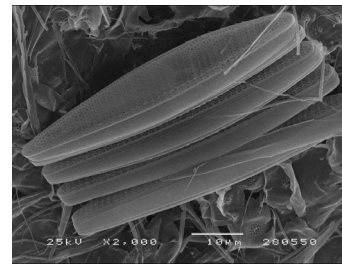
Chaetoceros diadema



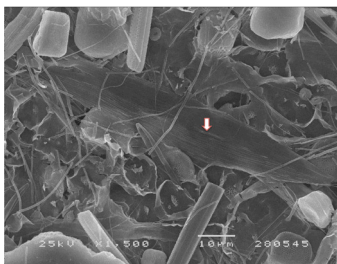
Corethron pennatum



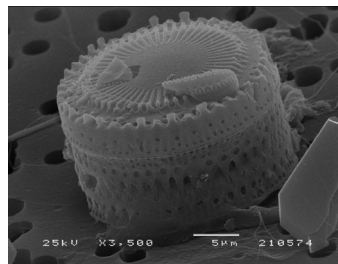
Eucampia antarctica



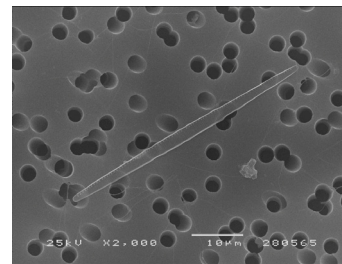
Fragilariopsis sp.



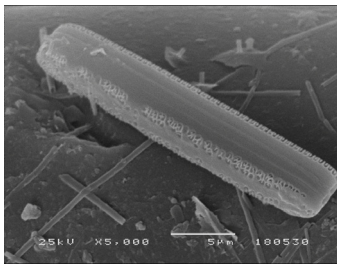
Haslea trompii (sob a seta)



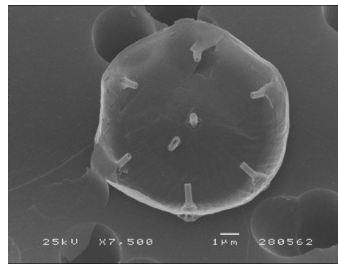
Paralia sulcata



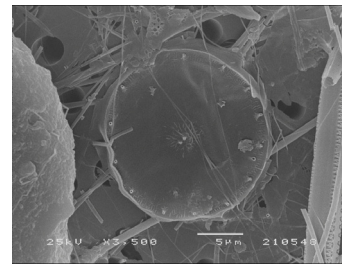
Pseudonitzschia lineola



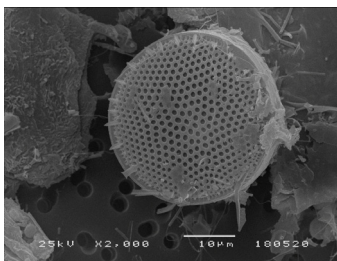
Thalassionema nitzschioides



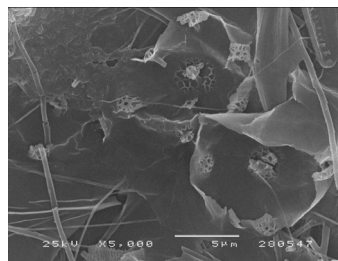
Thalassiosira cf. bioculata



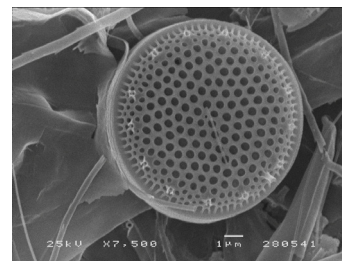
Thalassiosira dichotomica



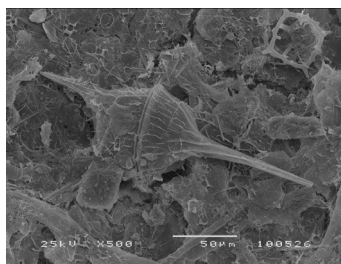
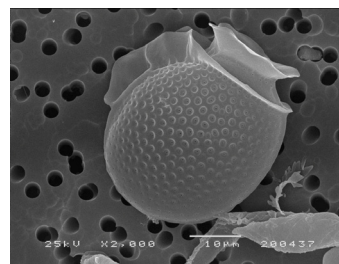
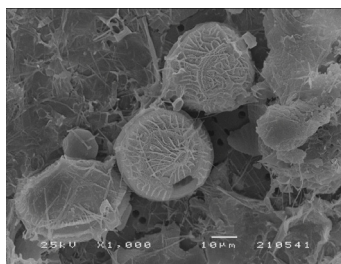
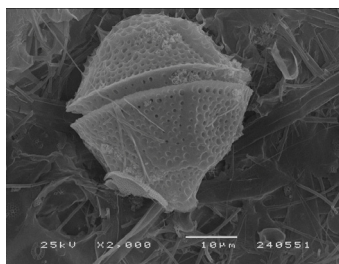
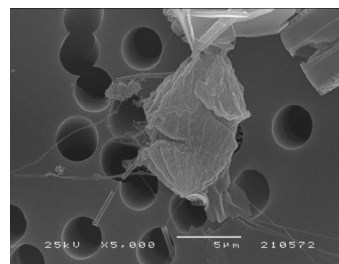
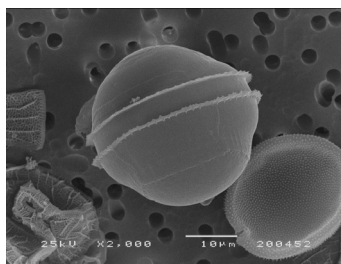
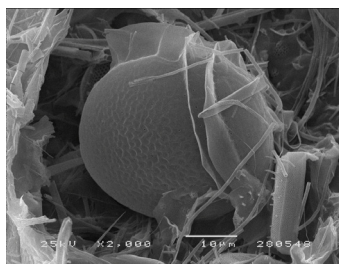
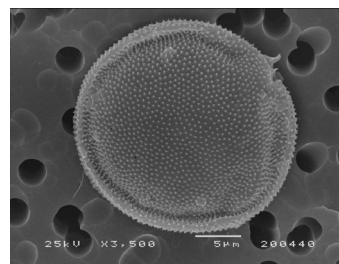
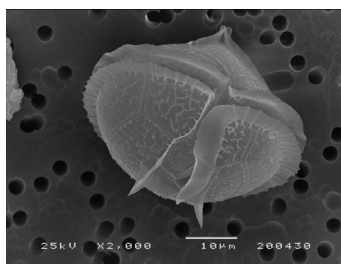
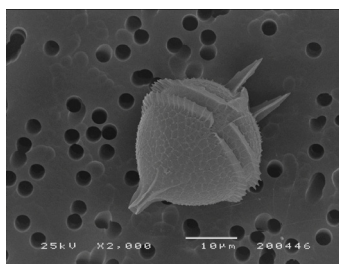
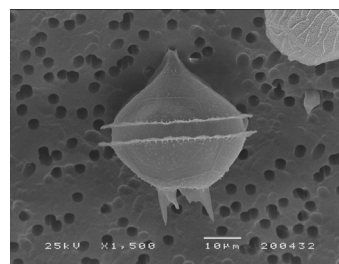
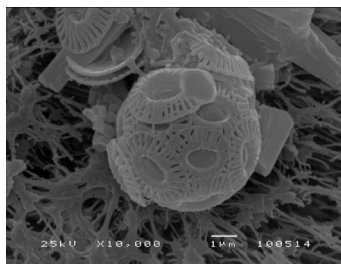
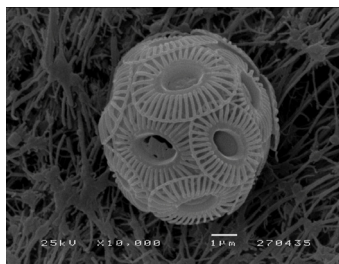
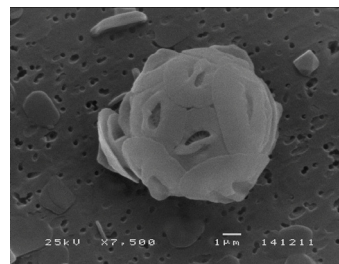
Thalassiosira eccentrica



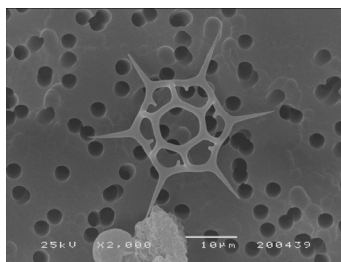
Thalassiosira cf. oceanica



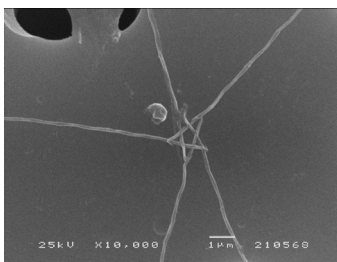
Thalassiosira cf. pacifica

Dinoflagelados*Ceratium pentagonum**Ceratium fusus* (no centro)*Dinophysis* cf. *okamurai**Gonyaulax scrippsiae**Gonyaulax spinifera**Gyrodinium* sp.*Oblea baculifera**Phalacroma rotundata**Prorocentrum minimum**Protoperidinium pellucidum**Protoperidinium pyriforme**P. pyriforme breve***Cocolitoforídeos***Emiliana huxleyi pujosiae**Emiliana huxleyi pujosiae**Gephyrocapsa mullerae*

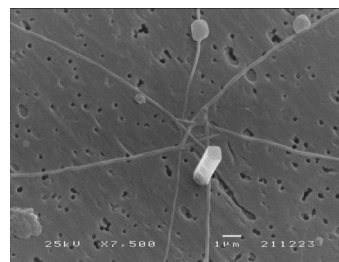
Outros Microorganismos



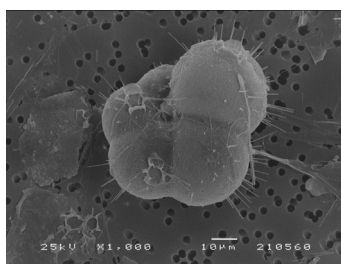
Dictyocha speculum



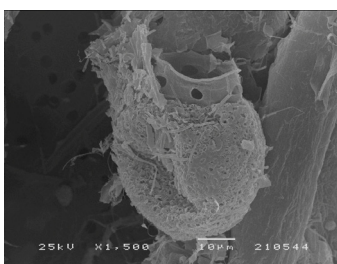
Phaeocystis antarctica



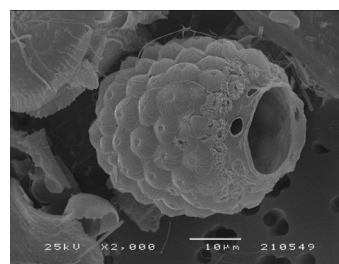
Phaeocystis antarctica



Foraminifero



Tintinido



Tintinido