

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA

**VARIAÇÃO SAZONAL E INTERANUAL
DO FITOPLÂNCTON
NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS,
RS – BRASIL**

LUMI HARAGUCHI

Orientador: Clarisse Odebrecht
Co-Orientador: Niels Jacob Carstensen

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

RIO GRANDE
Julho 2013

Agradecimentos

Ao Programa de Pós Graduação em Oceanografia Biológica e ao CNPq pela bolsa concedida.

Em especial à minha orientadora, Clarisse Odebrecht, pelos ensinamentos e oportunidades que me deu no decorrer destes 7 anos de convivência. Muito do meu amor ao fitoplâncton com certeza é inspirado em você.

Ao Jacob Carstensen, cuja ajuda foi essencial para este trabalho.

Aos membros da banca pelo tempo e atenção dispensados e pelos preciosos comentários e sugestões.

Aos amigos e colegas do laboratório pela convivência, amizade e discussões (nem sempre de cunho científico).

Aos amigos Heloíse Pavanato, Caio Fonteles e Ana Mai que além de grandes amigos, muito ajudaram ao longo deste processo.

À Ana Mai, Obelix e a família *Carpaccio* por terem sido minha família nos últimos meses.

As *minas-pow*, em especial Lau, Ba, Thais, Helo e Elisa, pelos bons momentos de descontração e outras coisas mais.

Aos amigos que estão longe mas sempre presentes: Colors, Benja, Kel, Nay, Ju, Huck, Ana Berger, Pit, Janja, Paula e Julia!

Ao Rafa que foi a melhor companhia que eu poderia desejar nos últimos meses!

Principalmente à minha família que, apesar da distância, sempre me suportaram (em todos os sentidos) e deram apoio e carinho. Obrigada pai, mãe Taian, Raphaela e Leni!

Conteúdo

Resumo.....	II
Palavras chave: Séries temporais de longa duração; tendência, eutrofização.	II
Abstract.....	III
Key words: Estuary, phytoplankton, long-term time series, eutrophication.....	III
Lista de Figuras e Tabelas.....	IV
Introdução.....	1
Objetivos.....	6
Geral:.....	6
Específicos:.....	6
Material e Métodos.....	7
Área de estudos.....	7
Aquisição de dados.....	8
Análises numéricas e estatísticas.....	12
Resultados.....	17
Características Gerais.....	17
Fitoplâncton.....	17
Escala temporal no ELP.....	20
Fatores físicos.....	20
Parâmetros ambientais.....	24
Fitoplâncton.....	33
Tendências de longo prazo no ELP.....	49
Fatores físicos.....	49
Parâmetros ambientais.....	50
Fitoplâncton.....	53
Discussão.....	59
Conclusões.....	63
Referências.....	65
Anexo I: Manuscrito para submissão.....	71

Resumo

O Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) no sul do Brasil (32°S; 52°W) sustenta uma alta produção pesqueira e está exposto a pressão antrópica devido ao incremento populacional e presença indústrias. De profundidade majoritariamente rasa (<2 m) e sob um regime de micromaré, a salinidade da água é controlada principalmente pela descarga dos tributários da bacia de drenagem e a ação dos ventos. No Hemisfério Sul, há uma escassez de informações sobre as variações do fitoplâncton em médio e longo prazo. Este trabalho tem como objetivo verificar a importância das escalas temporais de médio e longo prazo para o fitoplâncton no ELP, e de suas principais variáveis condicionantes. Parâmetros físicos (precipitação, temperatura e salinidade), de qualidade da água (nutrientes inorgânicos dissolvidos, transparência da água e teor de clorofila *a*) e da comunidade de fitoplâncton (densidade celular e teor de carbono dos grupos taxonômicos: cianobactérias, clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e flagelados) foram avaliados com periodicidade mensal, entre os anos de 1993 e 2011, no âmbito do programa de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração-PELD. Ferramentas numéricas e estatísticas auxiliaram na detecção das escalas temporais e sua significância, e os principais fatores que influenciam o fitoplâncton foram avaliados através de Análise de Correspondência Canônica. Todas as variáveis apresentaram importante variabilidade interanual e um sinal do fenômeno El Niño Oscilação Sul. O ciclo sazonal foi significativo para temperatura, salinidade, transparência da água, clorofila *a*, densidade e conteúdo de carbono total e de diatomáceas. A salinidade, teor de nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN), razão N:P, transparência da água e os grupos taxonômicos (exceto flagelados) apresentaram tendências de incremento ao longo do tempo. Flagelados, o teor de fósforo inorgânico dissolvido (DIP) e razão Si:N apresentaram tendências de decréscimo, e a concentração de clorofila *a* e de fitoplâncton total não apresentaram um padrão. Os principais fatores moduladores do fitoplâncton no ELP foram a salinidade, DIP, sílica dissolvida, temperatura e razão N:P.

Palavras chave: Séries temporais de longa duração; tendência, eutrofização.

Abstract

Patos Lagoon Estuary (PLE) in southern Brazil (32°S; 52°W) sustains important fisheries and is exposed to anthropic pressure due to population increase and industry activities. PLE is a shallow ecosystem under a micro tidal regime, where water salinity is mainly driven by rivers discharge and winds action. In the southern Hemisphere there is a paucity of information related to phytoplankton variations in medium to long-term time scales. This study aims to elucidate the importance of medium and long-term time scales of phytoplankton of PLE, and the main conditioning variables of this community. From 1993 to 2011 monthly data were obtained in the framework of the Brazilian Long Term Ecological Research (BR-LTER). The physical environment (temperature, precipitation and salinity), water quality (dissolved inorganic nutrients, water transparency and chlorophyll *a*) and phytoplankton community (cell density and carbon content from cyanobacteria, chlorophytes, diatoms, dinoflagellates and flagellates) were analyzed. Numerical and statistical tools were used to detect and calculate the significances of time scales. The major factors influencing phytoplankton were evaluated through a canonical correspondence analysis. Interannual variability was important for all the variables with a clear signal of the phenomenon *El Niño* Southern Oscillation. The seasonal cycle was significant for water temperature, salinity and transparency, chlorophyll *a*, cell density and carbon content (total and for diatoms). Salinity, dissolved inorganic nitrogen (DIN), N:P ratio, water transparency and taxonomical groups (except flagellates) exhibit an increase tendency. Dissolved inorganic phosphorus (DIP), Si:N ratio and flagellates showed a decrease tendency. Chlorophyll *a* and total density did not show any trend. The main driving factors of PLE phytoplankton were salinity, DIP, dissolved silica, temperature and N:P ratio.

Key words: Estuary, phytoplankton, long-term time series, eutrophication.

Lista de Figuras e Tabelas

Figura 1. Mapa da região de estudo, com o ponto de coleta indicado pela seta preta..... 9

Figura 2: Esquema dos 2 casos de esferas incompletas duplas. a) Calota dupla e b) (Esfera-calota) dupla.12

Figura 3. Contribuição relativa dos grupos taxonômicos entre os anos de 1993 e 2011 no Estuário da Lagoa dos Patos, em densidade celular (a) e conteúdo de carbono (b). Diat=diatomáceas, Ciano=cianobactérias, Flag=flagelados, Dinof=dinoflagelados, Clorof=clorofíceas.19

Figura 4. Gráfico de correlação da Análise de Correspondência Canônica (CCA) entre as variáveis ambientais (vetores azuis) e o conteúdo de carbono dos grupos do fitoplâncton (vermelho). Dia1=diatomáceas de água doce; Dia2=diatomáceas marinhas planctônicas 1; Dia3=diatomáceas marinhas planctônicas 2; Dia4=diatomáceas da zona de arrebenção; Dia5=diatomáceas estuarinas; Dia6=diatomáceas marinhas epibentônicas; Ske=*Skeletonema* spp. (exceto *S. tropicum*); DiaUN=diatomáceas indefinidas; Dino=dinoflagelados marinhos; DinoUN=dinoflagelados indefinidos; Clo=clorofíceas; Cya1=cianobactérias coloniais; Cya2=cianobactérias filamentosas; Fla=flagelados.20

Figura 5. Série temporal de temperatura no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente mensal (b), interanual (c) e dos resíduos (d)..... 21

Figura 6. Análise de Ondeletas para temperatura no ELP. a) série de temperatura, b) espectro de energia da ondeleta em °C (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.22

Figura 7. Série temporal dos dados da precipitação pluviométrica de Rio Grande (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).23

Figura 8. Análise de Ondeletas para Ln(precipitação) no ELP. a) série de Ln (precipitação), b) espectro de energia da ondeleta em mm (linha preta representa o

cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%..... 23

Figura 9. Série temporal dos dados de salinidade no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d)..... 24

Figura 10. Análise de Ondeletas para salinidade no ELP. a) série de salinidade, b) espectro de energia da ondeleta em psu (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%..... 25

Figura 11. Série temporal da concentração de Nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).26

Figura 12. Série temporal da concentração de Fosfato inorgânico dissolvido (DIP) no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).26

Figura 13. Série temporal da concentração de Sílica dissolvida (DSi) no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).27

Figura 14. Análise de Ondeletas para Ln(DIN) no ELP. a) série de Ln (DIN), b) espectro de energia da ondeleta em μM (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.27

Figura 15. Análise de Ondeletas para DIP no ELP. a) série de DIP, b) espectro de energia da ondeleta em μM (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.28

Figura 16. Análise de Ondeletas para DSi no ELP. a) série de DSi, b) espectro de energia da ondeleta em μM (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.28

Figura 17. Série temporal da proporção Si:N no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d)..... 29

Figura 18. Série temporal da proporção N:P no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d)..... 30

Figura 19. Análise de Ondeletas para $\text{Ln}(\text{Si:N})$ no ELP. a) série de $\text{Ln}(\text{Si:N})$, b) espectro de energia da ondeleta (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%..... 30

Figura 20. Análise de Ondeletas para $\text{Ln}(\text{N:P})$ no ELP. a) série de $\text{Ln}(\text{N:P})$, b) espectro de energia da ondeleta (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.31

Figura 21. Série temporal da profundidade de disco de Secchi no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).32

Figura 22. Análise de Ondeletas para $\text{Ln}(\text{Profundidade do Disco de Secchi})$ no ELP. a) série Ln (profundidade do disco de Secchi), b) espectro de energia da ondeleta em cm (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.. 32

Figura 23. Série temporal de clorofila *a* no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).....33

Figura 24. Análise de Ondeletas para Ln (clorofila a) no ELP. a) série Ln(clorofila a), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de clorofila a e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.34

Figura 25. Série temporal da densidade total do fitoplâncton no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d). 35

Figura 26. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular total) no ELP. a) série Ln(concentração de células L^{-1}), b) espectro de energia da ondeleta em cél L^{-1} (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular total e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.35

Figura 27. Série temporal do conteúdo de carbono total do fitoplâncton no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).36

Figura 28. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono total) no ELP. a) série Ln($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular total e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.37

Figura 29. Série temporal da densidade de diatomáceas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d). 38

Figura 30. Série temporal do conteúdo de carbono de diatomáceas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).38

Figura 31. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular diatomáceas) no ELP. a) série Ln (células L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em cél L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade de diatomáceas, d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.39

Figura 32. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono diatomáceas) no ELP. a) série Ln(µg C L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em µg C L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular diatomáceas e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.39

Figura 33. Série da densidade de cianobactérias no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).40

Figura 34. Série do conteúdo de carbono de cianobactérias no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d). 41

Figura 35. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular cianobactérias) no ELP. a) série Ln(células L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em cél L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular cianobactérias e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.41

Figura 36. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono cianobactérias) no ELP. a) série Ln(µg C L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em µg C L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular cianobactérias e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.42

Figura 37. Série temporal da densidade de flagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).	43
Figura 38. Série temporal do conteúdo de carbono de flagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).	43
Figura 39. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular flagelados) no ELP. a) série dos Ln(células L ⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em cél L ⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular flagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.	44
Figura 40. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono flagelados) no ELP. a) série Ln(µg C L ⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em µg C L ⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular flagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.	44
Figura 41. Série temporal da densidade de dinoflagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).	45
Figura 42. Série temporal do conteúdo de carbono de dinoflagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).	46
Figura 43. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular dinoflagelados) no ELP. a) série Ln(células L ⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em cél L ⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular dinoflagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.	46

Figura 44. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono dinoflagelados) no ELP. a) série dos Ln($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular dinoflagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.47

Figura 45. Série temporal da densidade de clorófitas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d). 48

Figura 46. Série temporal do conteúdo de carbono de clorófitas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).48

Figura 47. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular clorófitas) no ELP. a) série Ln(células L^{-1}), b) espectro de energia da ondeleta em cél L^{-1} (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular clorófitas e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.49

Figura 48. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono clorófitas) no ELP. a) série Ln ($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular clorófitas e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.49

Figura 49. Valores médios anuais observados (linha preta) com as respectivas linhas de tendência (linhas sólidas finas) para a) Temperatura da água no ELP, b) Precipitação em Rio Grande e c) Salinidade no ELP.51

Figura 50. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) dos nutrientes no ELP: a) nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN), b) fosfato inorgânico dissolvido (DIP) e c) sílica dissolvida (DSi).52

Figura 51. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) da proporção de base atômica entre os nutrientes no ELP: a) DIN:DIP (N:P) e b) DSi:DIN (Si:N).53

Figura 52. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Clorofila a e b) Profundidade do disco de Secchi54

Figura 53. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade total do fitoplâncton e b) Biomassa em carbono total do fitoplâncton.55

Figura 54. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de diatomáceas e b) Conteúdo de carbono de diatomáceas.56

Figura 55. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de cianobactérias, b) Conteúdo de carbono de cianobactérias.57

Figura 56. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de clorofíceas, b) Conteúdo de carbono de clorofíceas.58

Figura 57. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de dinoflagelados e b) Conteúdo de carbono de dinoflagelados.59

Figura 58. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de flagelados e b) Conteúdo de carbono de flagelados.60

Tabela 1. Valores da autocorrelação das séries temporais em um passo de tempo (1 mês).....	15
Tabela 2. Grupos utilizados na Análise de Correspondência Canônica.....	17
Tabela 3. Estatística descritiva das variáveis abióticas e biológicas obtidos entre os anos de 1993 e 2011 no ELP.....	18

Introdução

Estuários são ambientes de transição entre corpos de água continentais e a região costeira adjacente (Pritchard 1967). Os processos ecológicos fundamentais em estuários são os mesmos que em outros ambientes aquáticos. Devido ao aporte de águas continentais, os estuários estão sujeitos a uma alta variabilidade da salinidade e os organismos autotróficos são mais comumente limitados pela luz do que por nutrientes, sendo comum a exportação da produtividade primária para a região costeira adjacente (Smayda 1983). Em geral, estes ambientes também são sensíveis a impactos antrópicos, como a eutrofização (Pinet 2003).

O conhecimento dos processos ecológicos nos ecossistemas e de sua dinâmica temporal é de fundamental importância para auxiliar a responder questões teóricas e práticas, bem como para refinar os paradigmas existentes sobre o funcionamento dos mesmos (Zingone *et al.* 2010). O funcionamento dos ecossistemas compreende diferentes escalas de variabilidade, as quais dependem de fatores que influenciam o ambiente e do tempo de resposta de cada um de seus compartimentos biológicos e abióticos. De modo geral, os fatores que controlam a ocorrência, distribuição e abundância dos organismos em ambientes marinhos, costeiros e estuarinos são a temperatura, salinidade e concentração de nutrientes. Salinidade e vento também tem importância para a estrutura da coluna de água e hidrodinâmica. Os valores desses parâmetros variam temporalmente desde rápidos ou de curta escala (horas, dias), a intermediários (semanas, meses) e apresentam também, variações de longa escala (anos, décadas) (Pinet 2003).

O fitoplâncton, composto por microalgas de diferentes origens filogenéticas, desempenha um papel importante como produtor primário em ambientes aquáticos (Reynolds 2006) e influencia a dinâmica dos ciclos biogeoquímicos do carbono, fósforo e nitrogênio (Redfield *et al.* 1963; Arrigo 2005). Os processos relacionados com a dinâmica do fitoplâncton abrangem várias escalas temporais, desde processos rápidos como os metabólicos e fisiológicos (segundos, horas), processos ecológicos relacionados com mudanças populacionais (dias, meses) até os de longa escala que refletem mudanças ambientais climáticas de longo prazo (Reynolds 2006; Cloern & Dufford 2005). Alterações nesses processos levam a mudanças na estrutura do fitoplâncton, como o favorecimento de algumas espécies em detrimento de outras, em função das diferentes habilidades competitivas dos organismos planctônicos (Margalef 1978; Smayda & Reynolds 2001; Cloern & Dufford 2005). Portanto, a seleção de espécies de microalgas e o seu crescimento estão relacionados com as variações físico-químicas do ambiente em diferentes escalas de tempo, e por sua vez influenciam os demais níveis tróficos (Cloern & Dufford 2005). As microalgas respondem rapidamente às alterações nos ambientes aquáticos, especialmente por possuírem um tempo de geração curto, na ordem de dias (Reynolds 2006). Assim, completam várias gerações ao longo do ano, tornando-se uma ferramenta de grande interesse em avaliações da qualidade ambiental.

No Estuário da Lagoa dos Patos (ELP), fatores abióticos controlam a variabilidade do fitoplâncton em curta escala temporal. Foi constatado que a ação do vento, atuando na hidrologia, é o maior responsável pela variabilidade de curta escala (dias) da biomassa clorofiliana e composição taxonômica no ELP (Abreu *et al.* 2010; Fujita & Odebrecht 2007) enquanto que a pluviosidade é um fator

determinante na variação de clorofila *a* de longa escala (Abreu *et al.* 2010). A composição de espécies de microalgas no ELP compreende desde espécies de água doce até marinhas, e a sua composição depende da direção, intensidade e duração do vento. Espécies de água doce predominam com vento de Norte-Nordeste, com a advecção de águas oriundas da área central da laguna, e espécies marinhas com vento de Sul-Sudoeste, que favorece a entrada de água costeira no estuário (Fujita & Odebrecht 2007; Odebrecht *et al.* 2010). Nesta região, a frequência de entrada de frentes frias provenientes de Sul varia de acordo com a estação do ano, e portanto influencia a oscilação de curta escala. Fujita & Odebrecht (2007) mostraram que as respostas à ação do vento na variação da salinidade e do fitoplâncton é mais rápida na primavera do que no verão. Neste trabalho os autores ressaltaram que os processos de alta frequência relacionados à ação do vento possuem período similar ao da taxa de divisão do fitoplâncton. O vento também assume importante papel como agente na ressuspensão de microalgas bentônicas do sedimento para a coluna de água (Odebrecht & Abreu 1997). No ciclo anual, as diatomáceas eurihalinas são abundantes na primavera/verão e os dinoflagelados e diatomáceas costeiras no verão/outono; períodos prolongados de alta descarga fluvial favorecem a presença de cianobactérias e diatomáceas límnicas e oligohalinas (Odebrecht & Abreu 1997). Na análise da série temporal de clorofila *a* (1986, 1988 a 1990, 1993 a 2008) Abreu *et al.* (2010) relataram o incremento ou redução de clorofila *a* em anos característicos de *El Niño* e de *La Niña*, respectivamente, relacionados com a intensidade de chuvas na região. Entretanto, eventos com pluviosidade extrema ($> 1.500 \text{ mm ano}^{-1}$), como associados com eventos de *El Niño* forte, resultam na redução das concentrações de clorofila *a* no estuário devido ao

escoamento gerado pela grande descarga de água doce. O estudo destes autores ainda revelou um processo de oligotroficação no ELP, possivelmente decorrente de eutrofização na parte norte da Lagoa dos Patos, como observado previamente (Odebrecht *et al.*, 2005).

No ELP estudos sobre a composição do fitoplâncton se concentraram na variabilidade temporal de curta e média escala. Estudos da variabilidade de longa duração focaram na clorofila *a*, carecendo ainda de maior elucidação sobre o comportamento de longo prazo da composição do fitoplâncton. Do mesmo modo, os estudos pretéritos que focaram na estrutura da composição em uma escala de médio prazo (sazonal), resultaram em ciclos diferentes (Bergesh & Odebrecht, 1997; Odebrecht & Abreu, 1997; Odebrecht *et al.* 2005). A escassez de dados sobre a composição de fitoplâncton em escalas de médio e longo prazo deixam lacunas sobre a existência de um ciclo anual consistente e também se há alterações de longo prazo na estrutura dessa comunidade.

Uma excelente ferramenta de uso crescente para detectar padrões em escalas sazonal e anual nos ecossistemas e, principalmente, observar e prever possíveis mudanças oriundas de variações naturais, climáticas e/ou de origem antrópica, é a análise de séries temporais de longa duração, de dados abióticos e biológicos (Cloern & Jassby 2008). Atualmente é possível encontrar diferentes definições para o termo "longo prazo". Dodds *et al.* (2012) definem como um conjunto de dados ecológicos de longa duração, aqueles que foram amostrados de forma sistemática ao longo do tempo, usando métodos padronizados que permitam a elucidação de respostas ecológicas do sistema a diferentes forçantes e perturbações. Os resultados da análise desse tipo de dado fornecem indícios importantes sobre o estado atual e perspectivas futuras

nos ecossistemas marinhos, aumentando a nossa compreensão dos processos ecológicos, necessária para o melhoramento de modelos da dinâmica física-bioquímica-ecológica nos oceanos (Ducklow *et al.* 2009).

A identificação de padrões temporais requer a disponibilidade de informações na mesma escala dos processos analisados (Winder & Cloern 2010) e, portanto, a definição destas escalas é muito importante. Deste modo, a avaliação de processos de curto prazo relacionados com a fisiologia e crescimento do fitoplâncton, requer a coleta de dados com uma alta frequência. Por exemplo, respostas no aparato fotossintético devem ser medidas em escala de segundos a minutos, pois apresentam diferenças significativas ao longo do dia. Por outro lado, informações disponíveis em intervalos de tempo mais longos (quinzenais, mensais) são úteis em análises que compreendam um período de pelo menos dez anos de duração, contornando assim a exigência da alta frequência amostral (Winder & Cloern 2010).

Em ambientes de transição, como estuários, a identificação dos ciclos de médio e longo prazo e conseqüentemente da significância das escalas temporais é dificultada, devido a existência e coincidência de diferentes frequências periódicas e a variabilidade energética das mesmas, que podem gerar sobreposição de sinais. O uso de ferramentas numéricas como a decomposição das séries temporais e/ou análises espectrais auxilia a contornar este problema (Cloern & Jassby 2010; Cazelles *et al.* 2008).

A presente proposta tem por objetivo investigar a variabilidade do fitoplâncton no ELP nas escalas temporais de médio e longo prazo, bem como dos principais fatores físico-químicos que modulam a comunidade, enriquecendo a compreensão da dinâmica deste ecossistema.

Objetivos

Geral:

Avaliar a variação de médio e longo prazo da biomassa, composição e concentração do fitoplâncton no ELP.

Específicos:

- Avaliar os principais fatores físico-químicos que modulam o fitoplâncton no ELP.
- Verificar a existência de um padrão sazonal no teor de clorofila *a*, composição de grupos, concentração e conteúdo de carbono da assembleia fitoplanctônica e nos seus principais fatores de influência.
- Verificar a existência de tendências de longo prazo da assembleia de fitoplâncton em relação aos fatores de influência (salinidade, transparência e temperatura da água, nutrientes inorgânicos dissolvidos).

Material e Métodos

Área de estudos

A região do sul do Brasil é considerada um ambiente temperado quente, onde o clima e a circulação oceanográfica de larga escala são determinados pelo sistema de alta pressão do anticiclone do Atlântico Sul (Seeliger & Odebrecht 1997). A Lagoa dos Patos no extremo sul do Brasil ($30^{\circ}12' - 32^{\circ} 29' S$, $50^{\circ} 40' - 52^{\circ} 15' W$), faz parte do sistema lagunar Patos-Mirim que abrange uma área de cerca 14.000 km^2 . Este complexo drena uma bacia hidrográfica de aproximadamente 200.000 km^2 , com a maior descarga no período de inverno/primavera (Seeliger 2010). A única conexão permanente deste sistema lagunar com o Oceano Atlântico Sul Ocidental, se dá ao sul da Lagoa dos Patos através de um canal cerca de 800 m de largura, flanqueado por 2 molhes de aproximadamente 4 km. Nesta região ($32^{\circ}1'35''S$; $52^{\circ}6'21''W$), nas adjacências da cidade de Rio Grande, o Estuário da Lagoa dos Patos (ELP, área 900 km^2) compreende uma área majoritariamente rasa ($<2 \text{ m}$ de profundidade, 75% da área) (Seeliger & Odebrecht 1997). A maré tem uma importância secundária nesta área geográfica, com baixa amplitude (0,4 m), e a hidrodinâmica do estuário depende principalmente da descarga dos maiores tributários e da ação dos ventos (Möller & Fernandes 2010). Ao longo do ano, os ventos de NE são dominantes mas no inverno, ventos do quadrante sul acabam sendo mais expressivos, associados a passagem de sistemas frontais polares (Stech & Lorenzetti 1992).

As coletas foram realizadas em um ponto fixo de coleta no ELP (Figura 1), situado próximo ao Museu Oceanográfico ($32^{\circ}1'35''S$; $52^{\circ}6'21''W$), com

profundidade de ~2,0 m. A escolha deste ponto se deu pelo mesmo estar situado em área rasa, relativamente distante do Canal da Barra (24 km) mas mesmo assim sofrer a influência da descarga continental e da entrada de água marinha e também devido a facilidade de acesso independentemente das condições de tempo.

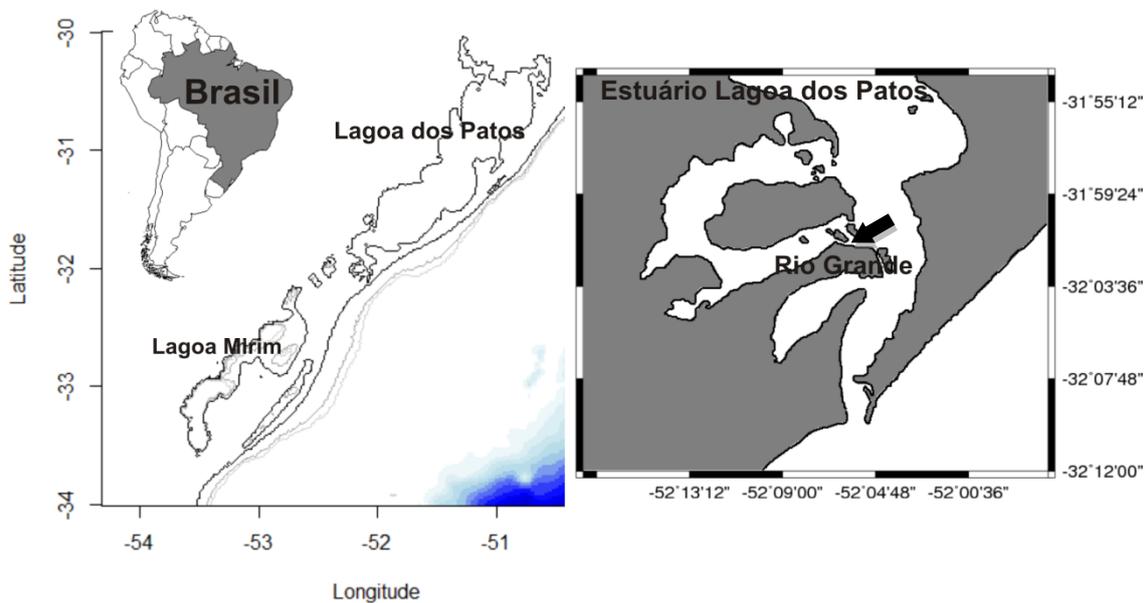


Figura 1. Mapa da região de estudo, com o ponto de coleta indicado pela seta preta.

Aquisição de dados

Foram analisados dados de fitoplâncton obtidos no âmbito do Programa Ecológico de Longa Duração (PELD-FURG-CNPQ) desde janeiro de 1993 até dezembro de 2011, com periodicidade mensal e coletados em superfície.

Os seguintes parâmetros físico-químicos foram analisados em amostras de água de superfície: temperatura (termômetro de mercúrio, $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$), salinidade (refratômetro ou termosalinômetro YSY Mod. 33 SCT) e nutrientes inorgânicos dissolvidos. Os teores de nitrito+nitrato, fosfato e silicato foram quantificados pela metodologia descrita por Strickland & Parsons (1972) e o de amônia segundo UNESCO (1983). Os resultados de amônia e nitrito+nitrato foram somados em

Nitrogênio Inorgânico Dissolvido (DIN). A proporção entre os principais nutrientes disponíveis, pode indicar possíveis limitações para o fitoplâncton (Arrigo, 2005). Neste trabalho foram calculadas as relações Si:N e N:P, com base atômica. A transparência da água vem sendo medida com Disco de Secchi. Os dados meteorológicos da estação convencional de Rio Grande foram obtidos através do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP) administrado pelo INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), disponíveis no site <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>.

Para a concentração de clorofila *a*, alíquotas de 50-100 mL foram concentradas em filtros de fibra de vidro (Whatman GF/F) e extraídas em acetona 90% v/v, no escuro e sob refrigeração (-12 °C). A concentração é determinada com base na fluorescência medida com auxílio de fluorímetro (TD-700) sem a acidificação do extrato (Welschmeyer 1994). A densidade do fitoplâncton é quantificada pelo método clássico de sedimentação de Utermöhl (1958) com contagens realizadas em microscópio ótico invertido seguindo as instruções de Hasle (1978). Os resultados das contagens são expressos em "Células L⁻¹", no caso de diatomáceas, dinoflagelados, outros flagelados e células cocóides; em tricomas para as cianobactérias e indivíduos para as clorofíceas. Durante todo o período, seis pessoas realizaram as contagens de fitoplâncton, o que acarreta em erros devido a diferenças individuais quanto a resolução taxonômica e experiência do contador. Para reduzir esses erros associados aos múltiplos contadores, os organismos foram agrupados em grandes grupos: diatomáceas, cianobactérias, dinoflagelados (auto/mixotróficos), clorofíceas e flagelados, que engloba uma grande diversidade de organismos como criptofíceas, euglenofíceas e organismos autotróficos não identificados. Além disso, o método de contagem

utilizado possui limitações com relação a resolução e visualização de estruturas e organismos de tamanho inferior a $\sim 2 \mu\text{m}$, sendo assim selecionou-se $5 \mu\text{m}$ como um limite seguro para essa limitação, excluindo-se os organismos $< 5 \mu\text{m}$ das análises. Foram eliminados também dados relativos a estruturas reprodutivas (esporos e auxósporos de diatomáceas e cistos de dinoflagelados).

O biovolume foi calculado para cada organismo com base nos trabalhos de Hillebrand *et al.* (1999), Sun & Liu (2003) e Olenina *et al.* (2006), com algumas adaptações relativas a forma do elipsoide. Esta forma vem sendo utilizada há anos e o cálculo de seu volume é matematicamente simples, diferente do cálculo da área, mais complexo. A forma do elipsoide é definida pela seguinte equação (Eq. 1) no plano cartesiano:

$$\text{Eq. 1 } \frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} + \frac{z^2}{c^2} = 1 \quad \text{onde: } a, b \text{ e } c \text{ são medidas do elipsoide.}$$

Essa equação mostra que a definição correta de uma forma em elipsoide não é trivial. A classificação de um corpo como elipsoide, considerando as três medidas necessárias e, no caso de células de fitoplâncton, a dificuldade de adaptar a sua forma à das células, e a complexidade da fórmula de cálculo de sua superfície, pode levar a erros significativos, especialmente no cálculo da superfície. Conseqüentemente a estimativa da relação Superfície:Volume será prejudicada, uma propriedade amplamente utilizada para caracterizar a estrutura da comunidade de fitoplâncton. A fórmula para o cálculo de área requer o uso de "integrais elípticas", que por si só acarretam em grande complexidade aos cálculos (Olver *et al.* 2010).

Segue abaixo, uma proposta de adoção de formas mais simples como as esferas incompletas duplas, em detrimento do elipsoide para o cálculo de biovolume desses organismos.

Considerando-se a largura (D) e o comprimento célula (H), podem existir 2 casos (Figura 2), dependendo da relação entre H e D:

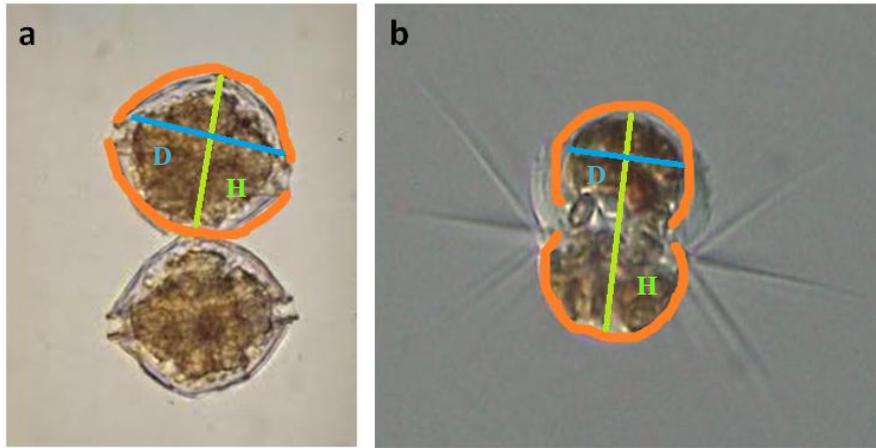


Figura 2: Esquema dos 2 casos de esferas incompletas duplas. a) Calota dupla e b) (Esfera-calota) dupla.

No caso a (calota dupla), $\frac{H}{2} \leq \frac{D}{2}$ e no caso b ((esfera-calota) dupla), $\frac{H}{2} > \frac{D}{2}$

Para a (calota dupla), temos para a área (Eq. 2) e volume (Eq. 3) :

$$\text{Eq. 2} \quad A_a = 2 * \left(\pi * \left(\left(\frac{H}{2} \right)^2 + \left(\frac{D}{2} \right)^2 \right) \right)$$

$$\text{Eq. 3} \quad V_a = \frac{\pi}{6} * H * \left(3 * \left(\frac{D}{2} \right)^2 + H^2 \right)$$

No caso b ((esfera-calota) dupla) temos para a área (Eq. 4) e volume (Eq. 5):

$$\text{Eq. 4} \quad A_b = \pi * \frac{D}{2} * H$$

$$\text{Eq. 5} \quad V_b = \frac{\pi}{3} * \left(\frac{D^3}{8} - \left(D^2 - D * H + \frac{H^2}{4} \right) * (D + H) \right)$$

Os dados de fitoplâncton foram convertidos em biomassa como teor de carbono por célula. Na conversão de diatomáceas, foi utilizada a fórmula

$\log_{pg} C = -0.42 + 0.85 * \log vol$ (Montagnes & Franklin 2001), de dinoflagelados

$\log_{pg} C = -0.119 + 0.819 * \log vol$ e demais organismos

$\log_{pg} C = -0.665 + 0.939 * \log vol$ (Menden-Deuer & Lessard 2000).

Análises numéricas e estatísticas

As análises estatísticas foram efetuadas no programa R, v. 2.15.1 (R Core Team 2012), exceto a análise de ondeletas, que foi efetuada com o auxílio do programa *Matlab*® (v.2010a).

Para extrair as componentes sazonal e anual de cada uma das séries temporais, foi executada uma análise de decomposição com base na metodologia proposta por Anderson (1971). Esta se baseia no princípio de decompor a variável de interesse com relação a um fator mensal e outro anual através de um modelo linear. Neste trabalho, foram utilizados Modelos Lineares Generalizados (MLGs) devido a distribuição e natureza não normal da maioria dos dados. O formato geral dos modelos é:

$$Y_{ijk} = Mês_i + Ano_j + \varepsilon_{ijk}$$

Onde: Y = variável dependente (aquela que deseja se decompor)

Mês = fator mês, da componente mensal

Ano = fator ano, da componente anual

ε = série de resíduos.

A distribuição de cada uma das variáveis dependentes foi analisada e o desempenho dos diferentes MLGs foi testado, escolhendo-se o melhor segundo o Critério de Informação de Akaike - AIC (Burnham & Anderson 2002).

Séries temporais também podem ter seu sinal decomposto em componentes harmônicas, com base na Análise de Fourier. Em outras palavras,

a variância da série pode ser particionada nas suas diferentes componentes oscilatórias, cada qual com sua frequência (ou período). Picos no periodograma ou no espectro indicam as frequências que mais contribuem para a variância da série; desta forma, periodicidades, se presentes, são detectadas (Cazelles *et al.* 2008). Para avaliar a presença de frequências periódicas nas séries temporais de dados, foi utilizada a Análise Espectral de Ondeletas (Wavelets). Esta análise é apropriada para séries temporais que possuem características não estacionárias, como nos processos ecológicos, climáticos e oceanográficos. O que define a estacionariedade de uma série é ela possuir sinais periódicos que não variem em amplitude e frequência (Torrence & Compo 1998; Cazelles *et al.* 2008; Winder & Cloern 2010). A Análise das Ondeletas possui janelas móveis no tempo que se dilatam ou se comprimem para capturar sinais de baixa e alta frequência, respectivamente. Dessa forma, a técnica analisa as variações locais de energia em uma série temporal, pela decomposição simultânea no domínio do tempo e das frequências. Isto possibilita descrever os modos dominantes de variabilidade e como a energia e as frequências no sinal variam no decorrer do tempo (Torrence & Compo 1998). Foi utilizada como a função ondeleta base (ondeleta mãe), a Ondeleta Complexa de Morlet, como proposto por Winder & Cloern (2010). A escolha dos parâmetros utilizados foi baseada no trabalho de Torrence & Compo (1998). Para maior robustez das linhas de significância, foi calculado o ruído vermelho (*red noise*) para cada série analisada através da autocorrelação com uma defasagem de um passo de tempo (*lag* 1 mês), e os valores podem ser observados na Tabela 1. As séries analisadas como Ln(VARIÁVEL), foram selecionadas de acordo com a distribuição das variáveis que embasou com o ajuste dos modelos utilizados na decomposição. A análise

de ondeletas possui como requisito séries contínuas, sem nenhum dado faltando. Todas as séries analisadas possuíam de dois a dez valores faltando de um total de 228, os quais foram substituídos por valores das médias mensais encontrados na decomposição realizada acima, metodologia esta adaptada de Winder & Cloern (2010).

Tabela 1. Valores da autocorrelação das séries temporais em um passo de tempo (1 mês).

Valores da autocorrelação das séries (lag=1)		
Variável	Unidade	Autocorrelação
Profundidade Disco de Secchi (Ln)	Cm	0.32
Temperatura	°C	0.71
Salinidade		0.50
DIN (Ln)	µM	0.37
DIP	µM	0.17
DSi	µM	0.42
Precipitação (Ln)	mm	0.10
Si:N (Ln)		0.40
N:P (Ln)		0.31
Clorofila a (Ln)	µg L ⁻¹	0.46
Densidade total (Ln)	cél L ⁻¹	0.35
Densidade diatomáceas (Ln)	cél L ⁻¹	0.38
Densidade cianobactérias (Ln)	cél L ⁻¹	0.40
Densidade dinoflagelados (Ln)	cél L ⁻¹	0.24
Densidade flagelados (Ln)	cél L ⁻¹	0.29
Densidade clorófitas (Ln)	cél L ⁻¹	0.36
Biomassa total (Ln)	µg C L ⁻¹	0.30
Biomassa diatomáceas (Ln)	µg C L ⁻¹	0.30
Biomassa cianobactérias (Ln)	µg C L ⁻¹	0.33
Biomassa dinoflagelados (Ln)	µg C L ⁻¹	0.17
Biomassa flagelados (Ln)	µg C L ⁻¹	0.19
Biomassa clorófitas (Ln)	µg C L ⁻¹	0.37

Para avaliar a variabilidade de longa escala das variáveis abióticas e do fitoplâncton no ELP, foram calculadas as médias anuais de cada variável. Com exceção da temperatura, precipitação e salinidade, todas as variáveis exibiram uma distribuição não-normal e/ou grande variabilidade, assim elas foram log transformadas (utilizando Ln). Uma vez que a salinidade pode ter grande influência nas diferentes variáveis, médias anuais foram estimadas sem o efeito

da salinidade. Para tal, foi utilizado um Modelo Aditivo Generalizado (*Generalized Additive Model*, GAM) com fatores categóricos para anos e meses e uma curva suavizada *spline* para salinidade. Nessa análise, as médias anuais são ajustadas para toda a variação de salinidade (0-35), em todos os meses e anos, retirando-se o efeito das flutuações nessa variável.

Uma Análise de Correspondência Canônica (*Canonical Correspondence Analysis*, CCA) foi utilizada para avaliar a influência e significância das variáveis abióticas nos grupos do fitoplâncton, sendo aplicada para dados Ln transformados de conteúdo de carbono. Em uma primeira análise, utilizando os grupos taxonômicos, a resolução não foi boa. Por isto, os organismos foram agrupados funcionalmente segundo a sua composição taxonômica, ambiente de origem (marinho, água doce, estuarino ou desconhecido) e morfologia, no caso das cianobactérias (filamentosas e coloniais). Foram considerados na CCA: oito grupos para diatomáceas, dois para cianobactérias e dinoflagelados e um para flagelados e clorófitas (Tabela 2). As variáveis abióticas explanatórias utilizadas na análise foram: teor de clorofila *a*, profundidade do Disco de Secchi, temperatura, salinidade, nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN), fósforo inorgânico dissolvido (DIP), sílica dissolvida (DSi), precipitação e a razão atômica DIN:DIP. Para a seleção, todas as variáveis explanatórias foram testadas quanto aos fatores de inflação de variância (*Variance Inflation Factors*, VIFs) e apenas aqueles com valores menores que 10 foram incluídos na CCA. Testes de significância foram executados para avaliar a significância global e dos eixos individuais através da permutação com 1000 interações e nível de significância de 5% (Boccard *et al.* 2011).

Tabela 2. Grupos utilizados na Análise de Correspondência Canônica.

Codigo	Grupos e taxa
Dia1	Diatomáceas de água doce: <i>Aulacoseira</i> , <i>Surirella</i> , <i>Synedra</i> , <i>Urosolenia eriensis</i> .
Dia2	Diatomáceas marinhas planctônicas 1: <i>Bacteriastrum</i> , <i>Chaetoceros</i> (exceto <i>C. subtilis</i> e espécies indefinidas), <i>Coscinodiscus</i> , <i>Detonula</i> , <i>Ditylum</i> , <i>Eucampia</i> , <i>Hemiaulus</i> , <i>Lauderia</i> , <i>Leptocylindrus</i> , <i>Lithodesmium</i> , <i>Odontella</i> , <i>Palmerina</i> , <i>Skeletonema tropicum</i> , <i>Stephanopyxis</i> , <i>Thalassiosira</i> , <i>Lioloma</i> , <i>Meuniera</i> , <i>Pseudo-nitzschia</i> , <i>Thalassionema</i> , <i>Thalassiothrix</i> .
Dia3	Diatomáceas marinhas planctônicas 2: <i>Cerataulina</i> , <i>Dactyliosolen</i> , <i>Guinardia</i> , <i>Neocalyptrella</i> , <i>Proboscia</i> , <i>Pseudosolenia Rhizosolenia</i> .
Dia4	Diatomáceas de Zona de Surf: <i>Asterionellopsis</i> , <i>Campylosira</i> , <i>Dephineis</i> , <i>Odontella aurita</i> , <i>O. rhombus</i> , <i>Paralia sulcata</i> .
Dia5	Diatomáceas estuarinas: <i>Chaetoceros subtilis</i> , <i>Pleurosira laevis</i> , <i>Bacillaria paradoxa</i> , <i>Cylindrotheca closterium</i> , <i>Entomoneis</i> .
Dia6	Diatomáceas marinhas epibentônicas: <i>Melosira dubia</i> , <i>M. moniliformis</i> , <i>M. nummuloides</i> , <i>Triceratium</i>
Ske	Skeletonema: <i>Skeletonema</i> spp. exceto <i>S. tropicum</i> .
DiaUN	Diatomáceas indefinidas: Espécies não identificadas de diatomáceas cêntricas e penadas e <i>Chaetoceros</i> , <i>Campylodiscus</i> , <i>Melosira</i> , <i>Odontella</i> , <i>Podosira</i> , <i>Amphora</i> , <i>Diploneis</i> , <i>Fragilaria</i> , <i>Gyrosigma</i> , <i>Licmophora</i> , <i>Navicula</i> , <i>Nitzschia</i> , <i>Pleurosigma</i> .
Dino	Dinoflagelados marinhos: <i>Alexandrium</i> , <i>Akashiwo</i> , <i>Ceratium</i> , <i>Dinophysis</i> , <i>Gymnodinium catenatum</i> , <i>Gonyaulax</i> , <i>Heterocapsa</i> , <i>Oxyphysis</i> , <i>Peridinium quinquecornis</i> , <i>Prorocentrum</i> , <i>Scrippsiella</i> , <i>Torodinium</i> .
DinoUN	Dinoflagelados indefinidos: Peridinales e Gymnodinales não identificados.
Fla	Flagelados: <i>Dictyocha</i> , criptofíceas, rafdofíceas, euglenofíceas, crisofíceas e haptofíceas não identificadas.
Clo	Clorofíceas: <i>Actinastrum</i> , <i>Ankistrodesmus</i> , <i>Closteriopsis</i> , <i>Closterium</i> , <i>Desmodesmus</i> , <i>Euastrum</i> , <i>Golenkiniopsis</i> , <i>Kirchneriella</i> , <i>Micromonas</i> , <i>Monoraphidium</i> , <i>Oocystis</i> , <i>Pediastrum</i> , <i>Planctonema</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Selenastrum</i> , <i>Sphaerocystis</i> , <i>Staurastrum</i> , <i>Tetrastrum</i> .
Cya1	Cianobactérias coloniais: <i>Aphanocapsa</i> , <i>Aphanothece</i> , <i>Cyanonephron</i> , <i>Gleocapsa</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Snowella</i> , cianobactérias coloniais não identificadas.
Cya2	Cianobactérias filamentosas: <i>Anabaenopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Lyngbia</i> , <i>Nostocales</i> , <i>Oscillatoriales</i> , <i>Nodularia spumigena</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktolynghia</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Pseudoanabaena</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Rhabdoderma</i> , <i>Sphaerospermopsis</i> , tricomas não identificados.

Resultados

Características Gerais

Exceto a temperatura, todos os dados apresentaram grande variabilidade ao longo do tempo e o desvio padrão foi igual ou maior do que a média (Tabela 3). Os dados abióticos e de clorofila *a* apresentaram variabilidade menor do que aqueles referentes à comunidade de fitoplâncton.

Tabela 3. Estatística descritiva das variáveis abióticas e biológicas obtidas entre os anos de 1993 e 2011 no ELP.

Variáveis	Média	Desv. Pad.	Mediana	Max.	Min.
QUALIDADE DA ÁGUA:					
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7.72	11.20	4.48	100.72	0.175
Profundidade disco de Secchi (cm)	74.32	62.74	40.00	A/F	5.00
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	19.51	4.53	20.00	30.00	8.00
Salinidade	11.29	10.21	8.00	35.00	0.00
DIN (μM)	12.39	15.70	8.235	145.09	0.37
NH_4 (μM)	7.883	14.33	4.25	144.3	0.03
$\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ (μM)	4.507	5.18	2.89	40.37	0
DIP (μM)	1.15	1.08	0.86	8.72	0.02
DSi (μM)	46.51	35.35	37.48	163.16	3.00
Precipitação (mm mês^{-1})	111.42	74.69	97.5	485.40	3.10
Si:N	8.73	17.43	4.215	145.39	0.08
N:P	21.25	73.66	9.853	1002.00	0.099
DENSIDADE:					
Total fitoplâncton (cél L^{-1})	5396000	9028339	2618000	76810000	45080
Diatomáceas (cél L^{-1})	1890000	4493923	514400	47670000	800
Cianobactérias (colonias L^{-1})	1123014	5451132	1848	916938	0
Dinoflagelados (cél L^{-1})	87506	465095.2	1402	6278000	0
Clorofíceas (indivíduos L^{-1})	101577	980911.8	0	14640686	0
Flagelados (cél L^{-1})	2182733	3457479	1283510	38340000	20800
BIOMASSA EM CARBONO:					
Total fitoplâncton ($\mu\text{g C L}^{-1}$)	815.80	2307.888	215.500	22450	7.403
Diatomáceas ($\mu\text{g C L}^{-1}$)	631.20	2078.396	128.300	22420	0.021
Cianobactérias ($\mu\text{g C L}^{-1}$)	120.80	844.351	0.232	9670	0
Dinoflagelados ($\mu\text{g C L}^{-1}$)	20.04	96.619	0.773	1270	0
Clorofíceas ($\mu\text{g C L}^{-1}$)	9.37	73.219	0	1009	0
Flagelados ($\mu\text{g C L}^{-1}$)	32.8	41.886	20.170	349.6	0.194

Fitoplâncton

O fitoplâncton na estação Museu do ELP compreende vários grupos taxonômicos (Figura 3), cuja contribuição média ao longo do tempo (1993 a 2011)

resultou na dominância de flagelados (40%), seguidos de diatomáceas (35%), cianobactérias (21%), dinoflagelados e clorofíceas (ambos com 2%), considerando-se a densidade celular. Ao levar-se em conta o conteúdo de carbono, observa-se uma alteração da contribuição, com a dominância de diatomáceas (78%), seguida de cianobactérias (15%), flagelados (4%), dinoflagelados (2%) e clorofíceas (1%).

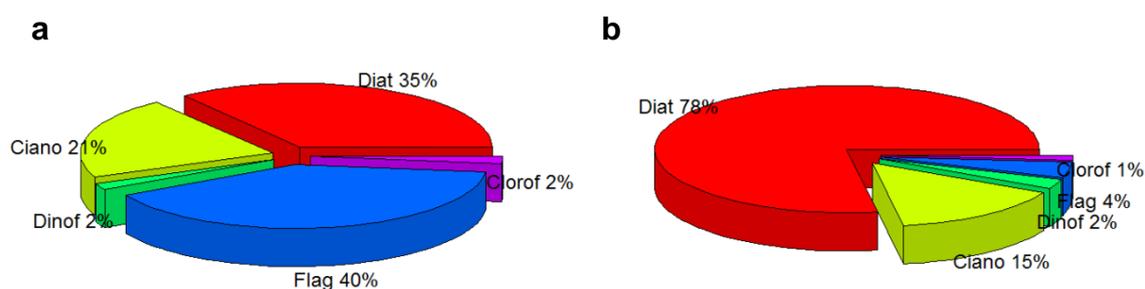


Figura 3. Contribuição relativa dos grupos taxonômicos entre os anos de 1993 e 2011 no Estuário da Lagoa dos Patos, em densidade celular (a) e conteúdo de carbono (b). Diat=diatomáceas, Ciano=cianobactérias, Flag=flagelados, Dinof=dinoflagelados, Clorof=clorofíceas.

Para relacionar os organismos fitoplanctônicos com as variáveis abióticas foi aplicada uma Análise de Correspondência Canônica (CCA). Os resultados da desta análise foram semelhantes, se aplicados para dados de densidade celular e de conteúdo de carbono, sendo apresentados apenas para o último. O resultado foi significativo, com 21.7% da variação explicada pelas variáveis abióticas. Todas as variáveis explanatórias foram mantidas na CCA, uma vez que todos os VIFs foram <2 . A CCA exibiu 3 eixos significativos com um $\alpha=0.05$: o primeiro eixo foi relacionado com a salinidade e DIP e respondeu por 72.5% da variação explicada (15% da variação global). O segundo eixo, relacionado com N:P e temperatura correspondeu a cerca de 8% da variação explicada (1.7% da variação global). Ao longo do primeiro eixo da CCA, diatomáceas marinhas

planctônicas (Dia2 e Dia3), diatomáceas da zona de surf (Dia4) e dinoflagelados (Dino, DinoUN) foram associados a maior salinidade e menor concentração de DIP, enquanto cianobactérias (Cya1, Cya2), clorófitas (Clo) e diatomáceas de água doce (Dia1) apresentaram o padrão inverso. Espécies de *Skeletonema*, excluindo *S. tropicum*, foram positivamente relacionadas com a concentração de DSI. Diatomáceas marinhas epibentônicas (Dia6) responderam positivamente a razão N:P, que foi negativamente associada com a temperatura no segundo eixo. Diatomáceas estuarinas (Dia5), diatomáceas não definidas (DiaUN) e flagelados (Fla) não foram relacionados com nenhuma variável, estando localizados no centro dos eixos (Fig. 4).

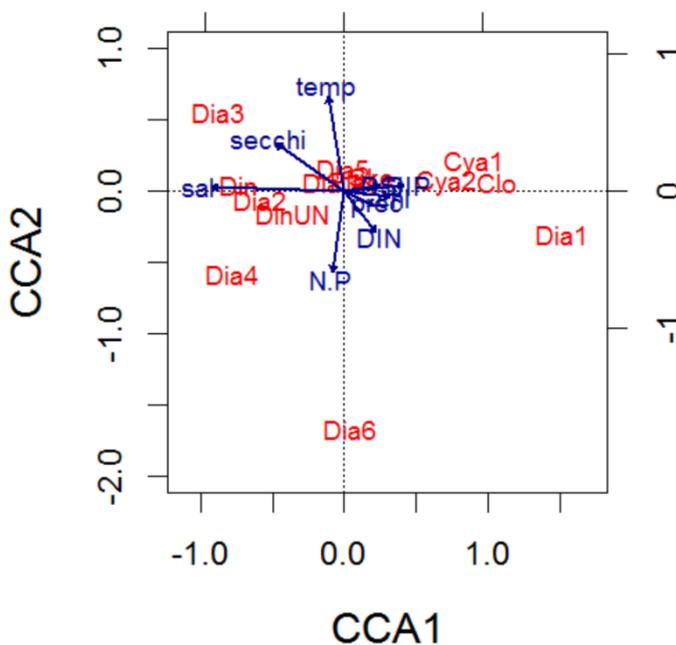


Figura 4. Gráfico de correlação da Análise de Correspondência Canônica (CCA) entre as variáveis ambientais (vetores azuis) e o conteúdo de carbono dos grupos do fitoplâncton (vermelho). Dia1=diatomáceas de água doce; Dia2=diatomáceas marinhas planctônicas 1; Dia3=diatomáceas marinhas planctônicas 2; Dia4=diatomáceas da zona de arrebentação; Dia5=diatomáceas estuarinas; Dia6=diatomáceas marinhas epibentônicas; Ske=*Skeletonema* spp. (exceto *S. tropicum*); DiaUN=diatomáceas indefinidas; Dino=dinoflagelados marinhos; DinoUN=dinoflagelados indefinidos; Clo=clorófitas; Cya1=cianobactérias coloniais; Cya2=cianobactérias filamentosas; Fla=flagelados.

Escalas temporais no ELP

Fatores físicos

A Análise de Decomposição com os valores de temperatura (Fig. 5), mostra que o ciclo sazonal desta variável foi significativo ($p=0.0001$), com mínimo ($13\text{ }^{\circ}\text{C}$) em julho e máximo ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) em janeiro/fevereiro. A variabilidade interanual não foi significativa ($p=0.05$), indicando que a variabilidade desta variável foi modulada principalmente pelo ciclo anual no ELP. Entretanto, pode-se observar que a segunda metade da série, compreendendo 2000 a 2010, apresenta valores mais elevados do que primeira metade. A série residual indica a presença de períodos frios entre 1998 e 2000. Os resultados da Análise de Ondeletas (Fig. 6) mostram que, assim como a decomposição, o ciclo de um ano foi significativo, e também apontam que as demais periodicidades foram pouco expressivas, indicando uma baixa variabilidade interanual. A variabilidade acumulada de onze a treze meses indica pouca variação do ciclo anual da temperatura ao longo da série, porém com indícios de um aumento da energia associada a essa frequência entre 1996-1997 e de 2007-2010, ainda que esses valores não tenham sido significativos.

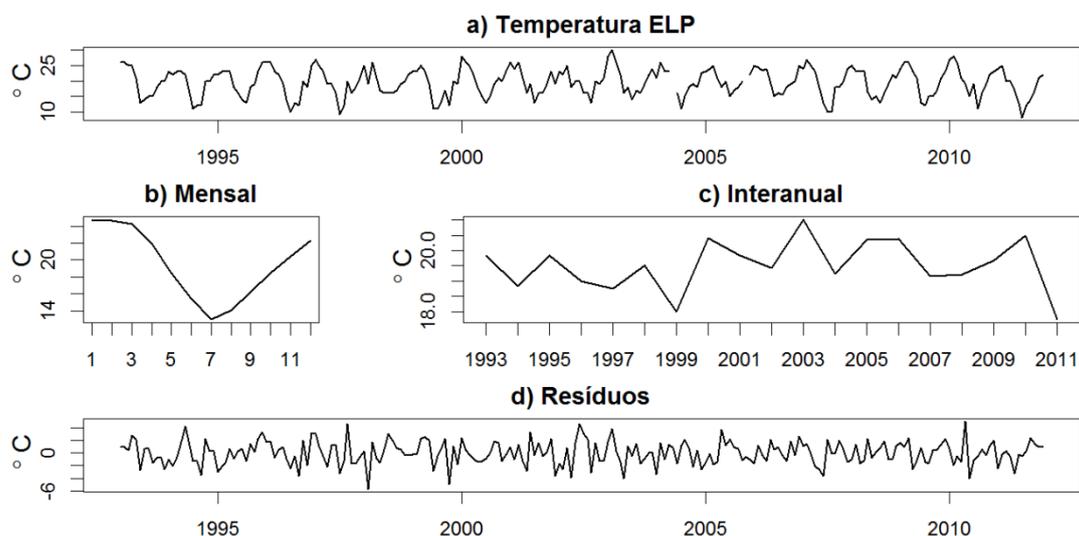


Figura 5. Série temporal de temperatura no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente mensal (b), interanual (c) e dos resíduos (d).

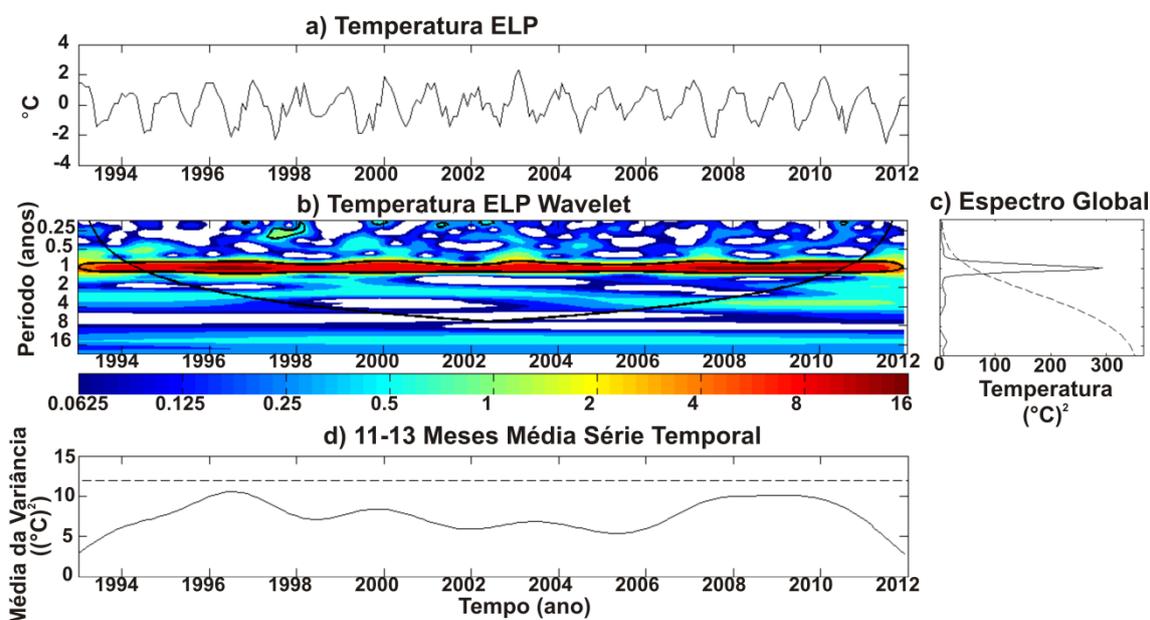


Figura 6. Análise de Ondeletas para temperatura no ELP. a) série de temperatura, b) espectro de energia da ondeleta em °C (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

A Análise de Decomposição da precipitação pluviométrica (Fig. 7) não mostrou significância para o ciclo sazonal e variabilidade interanual ($p=0.05$). A série residual e a variabilidade interanual indicam que o ano de 1996 apresentou precipitação muito baixa em Rio Grande. Os resultados da análise de Ondeletas (Fig. 8) apresentam uma significância marginal para a frequência de 3-4 anos, com pouca definição entre os picos no espectro global. A variância acumulada entre 11-13 meses indicou uma aparente e suave intensificação no ciclo anual da precipitação a partir de 1998, em especial em 1999/2000.

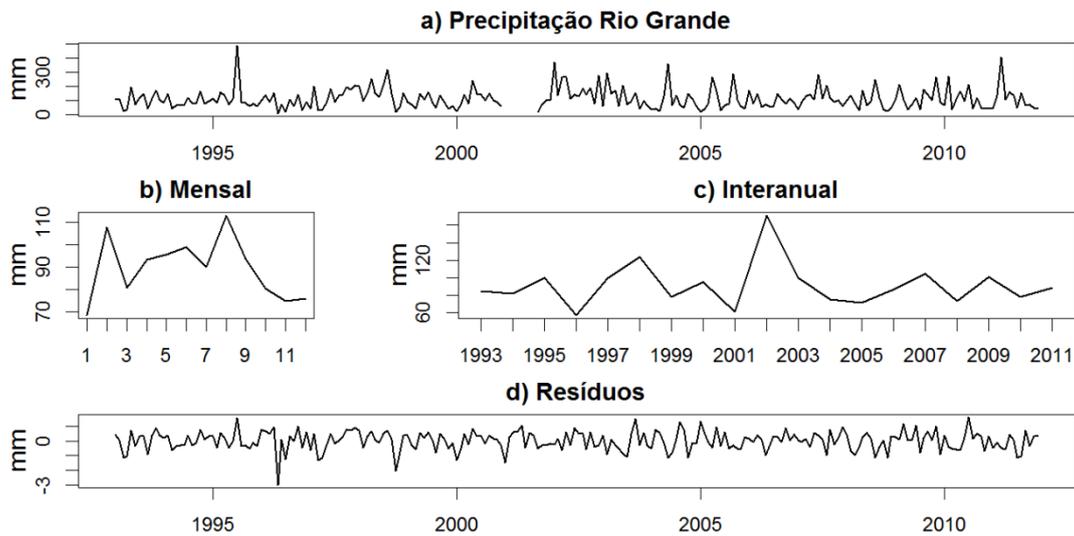


Figura 7. Série temporal dos dados da precipitação pluviométrica de Rio Grande (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

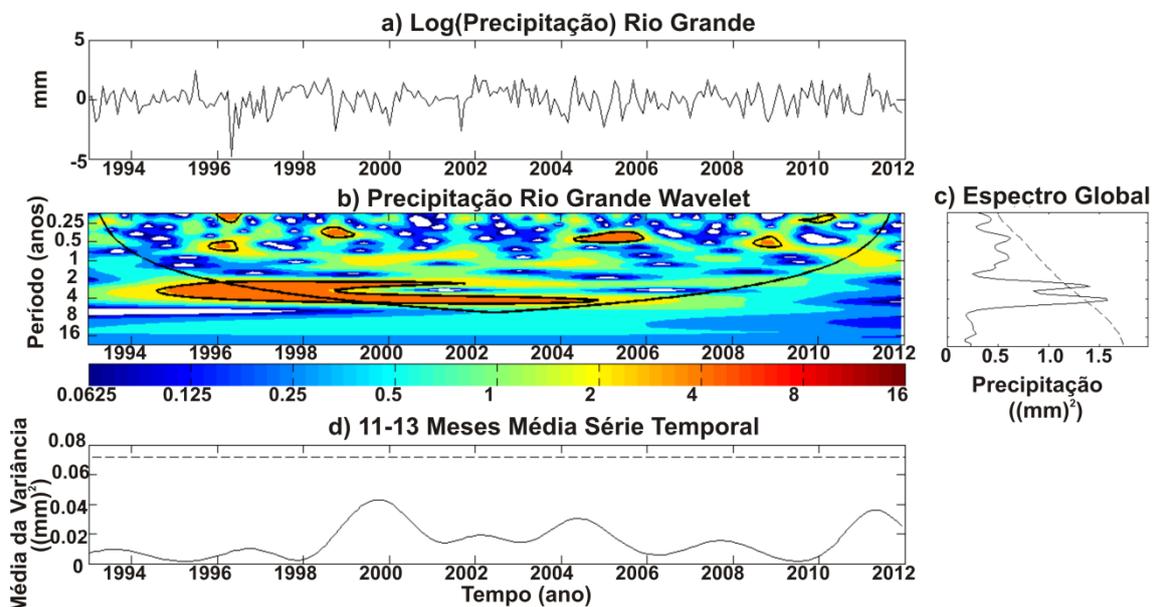


Figura 8. Análise de Ondeletas para $\ln(\text{precipitação})$ no ELP. a) série de $\ln(\text{precipitação})$, b) espectro de energia da ondeleta em mm (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

A salinidade também apresentou um ciclo sazonal significativo ($p=0.0001$) (Fig. 9), com valores mais baixos nos meses de agosto e outubro (≈ 4.5) e o maior

valor em fevereiro (≈ 18). A variabilidade interanual não foi significativa ($p=0.1$). A série dos resíduos indica 1997/1998, 2000-2005 e 2009/2010 como períodos com ocorrência de baixa salinidade, não explicada pelas componentes sazonal nem interanual. A Análise de Ondeletas (Fig. 10) indicou um ciclo anual significativo, com incremento da energia entre 2005 e 2010. Outros períodos com elevada energia foram os de 2 anos, com mais energia entre 1998-2001, e 8 anos, que está no limite do cone de influência. Da mesma forma como a série residual da decomposição, a variabilidade acumulada entre onze e treze meses indicou os mesmos períodos (1998/1999, 2002 a 2004 e 2010) como menos energéticos para a frequência anual, ainda que com uma tendência geral de suave incremento da salinidade até 2009.

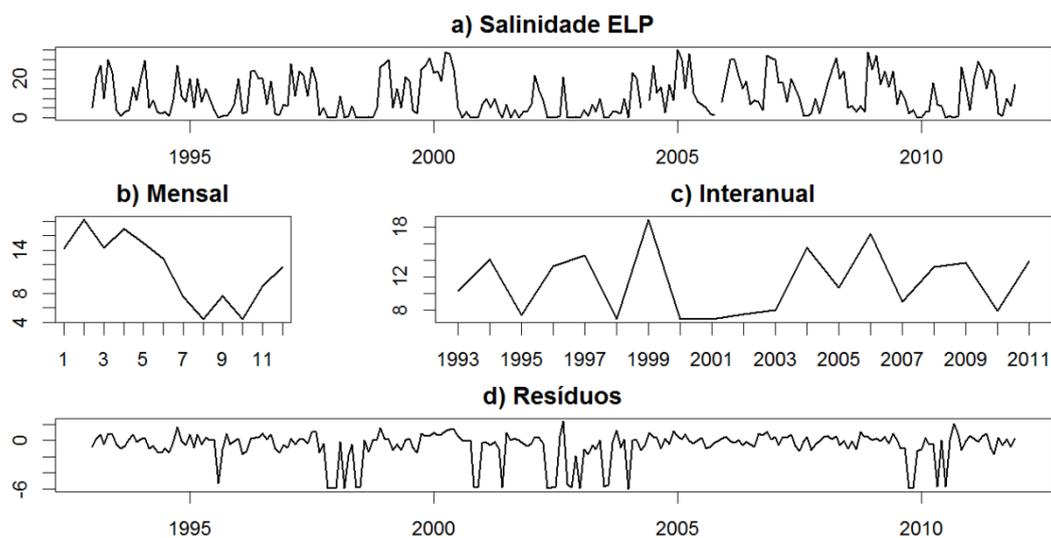


Figura 9. Série temporal dos dados de salinidade no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

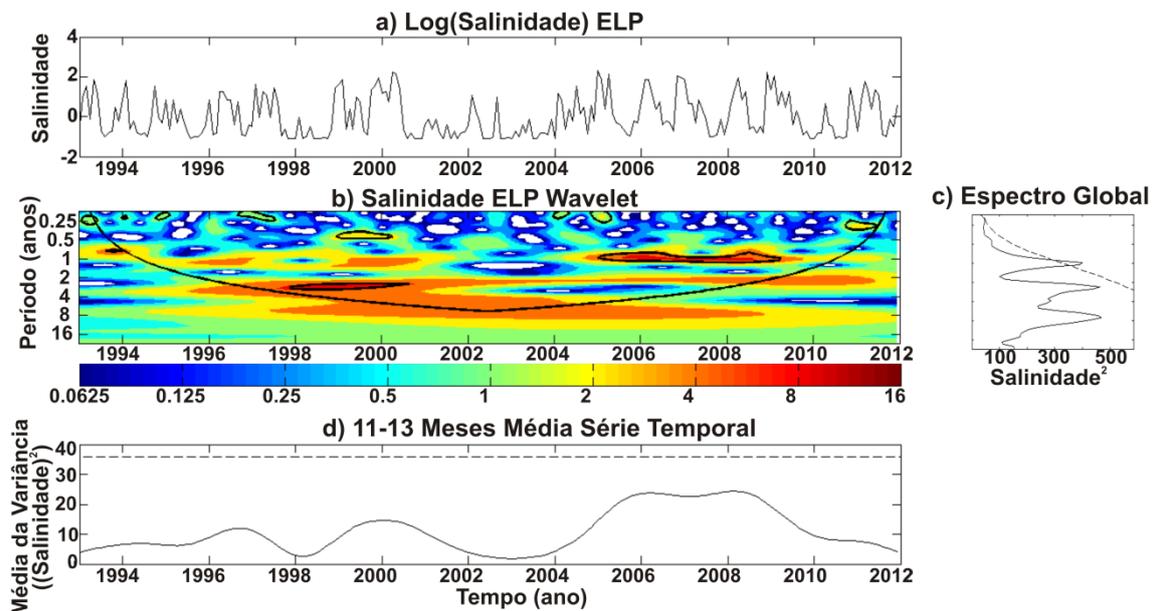


Figura 10. Análise de Ondeletas para salinidade no ELP. a) série de salinidade, b) espectro de energia da ondeleta em psu (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

Parâmetros ambientais

Para os nutrientes inorgânicos dissolvidos nitrogênio (DIN) (Fig. 11), fosfato (DIP) (Fig. 12) e silicato (DSi) (Fig. 13) o ciclo sazonal não foi significativo ($p_{DIN}=0.1$; $p_{DIP}=0.05$; $p_{DSi}=1$). Porém, a variabilidade interanual foi significativa para os três elementos ($p_{DIN} = p_{DIP} = p_{DSi} = 0.0001$). Os resíduos da decomposição apontam para os anos de 1997, 2004 e 2007 com baixa concentração de DIN; 2008 com baixa concentração de DSi e 1994, 1996 e 2006 com baixa concentração de DIP. A Análise de Ondeletas para DIN (Fig. 14), mostrou um aumento na energia da frequência de 1 ano entre 2008 e 2010, mas a mesma não foi significativa. Na Figura 15, o resultado da Análise de Ondeletas para o DIP, indica o ciclo de 4 anos como significativo; este ciclo aparentemente perdeu importância a partir de 2005. Para o DSi (Fig. 16) nenhum ciclo foi significativo dentro da resolução da série, porém observa-se um incremento da energia da

frequência de um ano a partir de 2008. A variabilidade acumulada entre onze e treze meses indica que houve um aumento da intensidade dessa variação em 1995, 2003 e 2008/2009 para DIN; 1998, 2002/2003 e 2009 para DIP e 1997/1998 e 2009 para DSi.

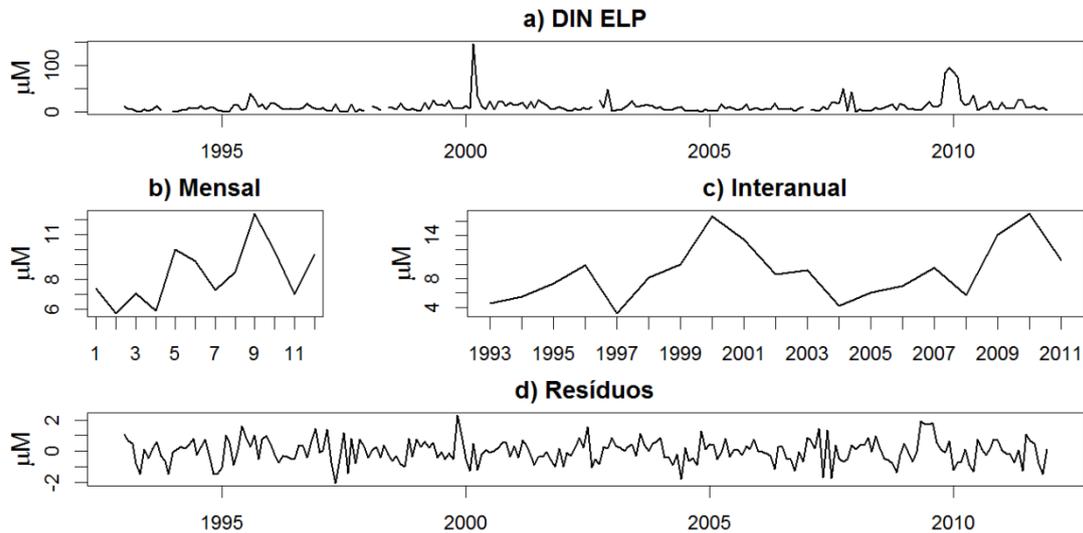


Figura 11. Série temporal da concentração de Nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

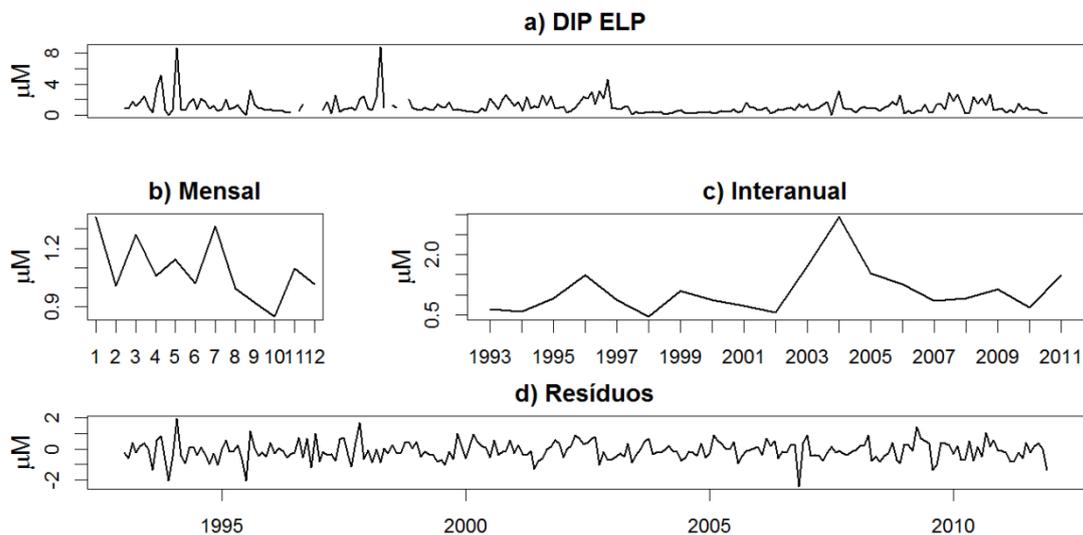


Figura 12. Série temporal da concentração de Fosfato inorgânico dissolvido (DIP) no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

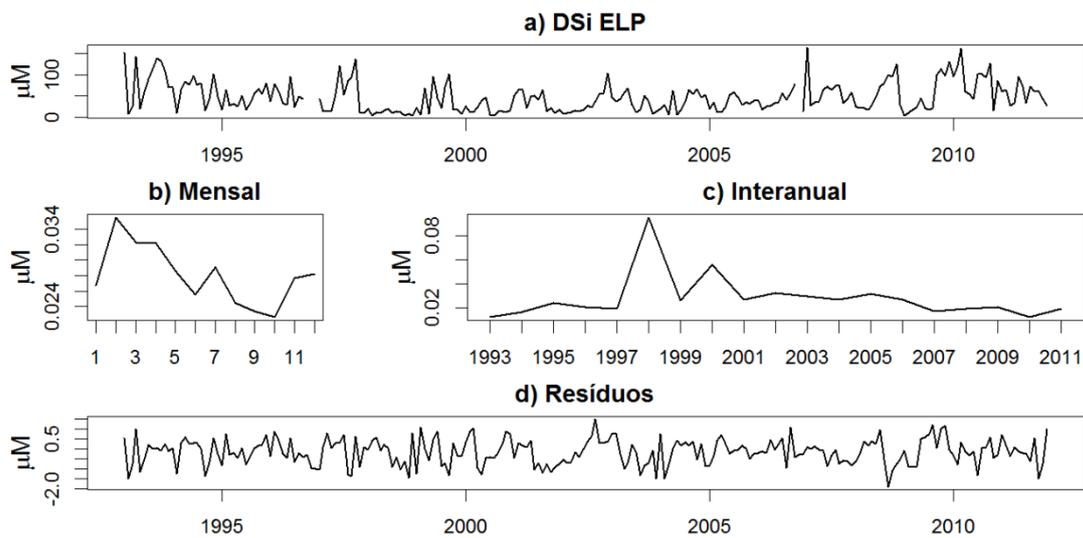


Figura 13. Série temporal da concentração de Sílica dissolvida (DSi) no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

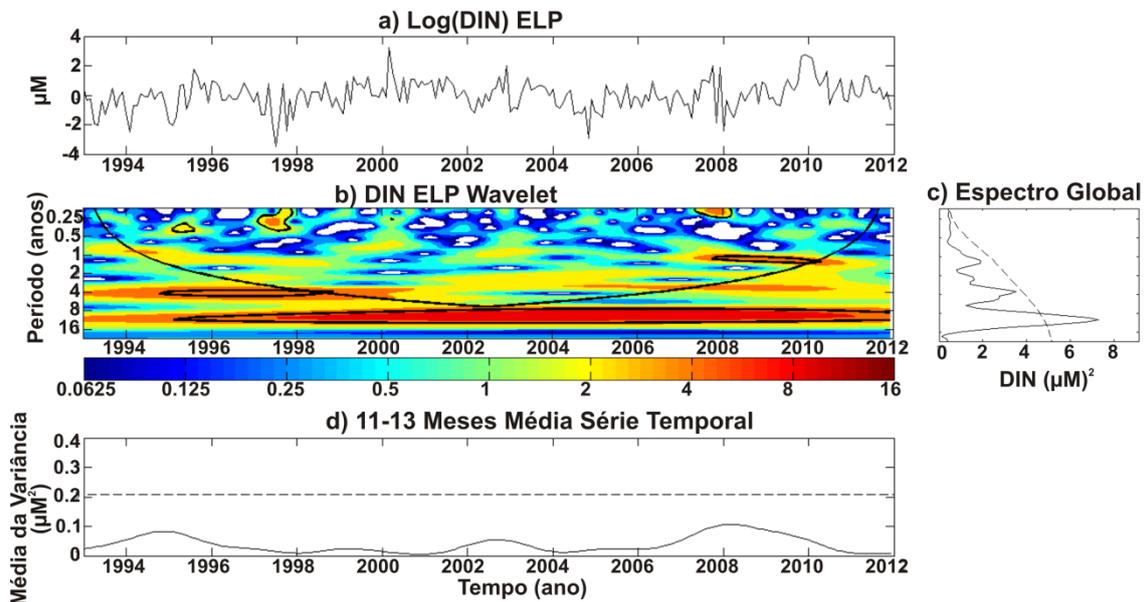


Figura 14. Análise de Ondeletas para Ln(DIN) no ELP. a) série de Ln (DIN), b) espectro de energia da ondeleta em μM (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

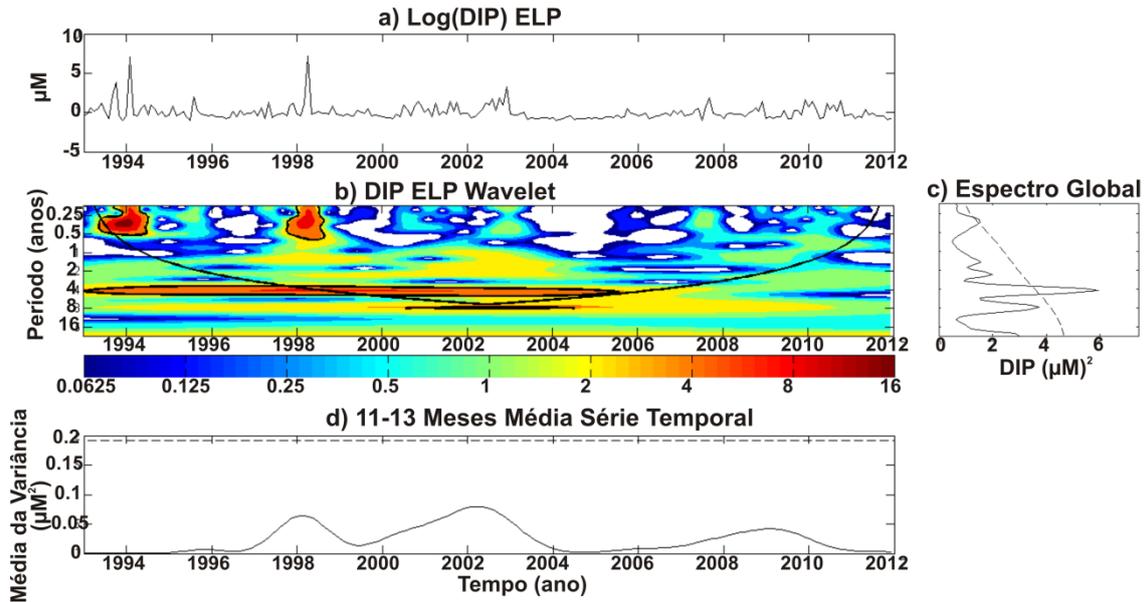


Figura 15. Análise de Ondeletas para DIP no ELP. a) série de DIP, b) espectro de energia da ondeleta em μM (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

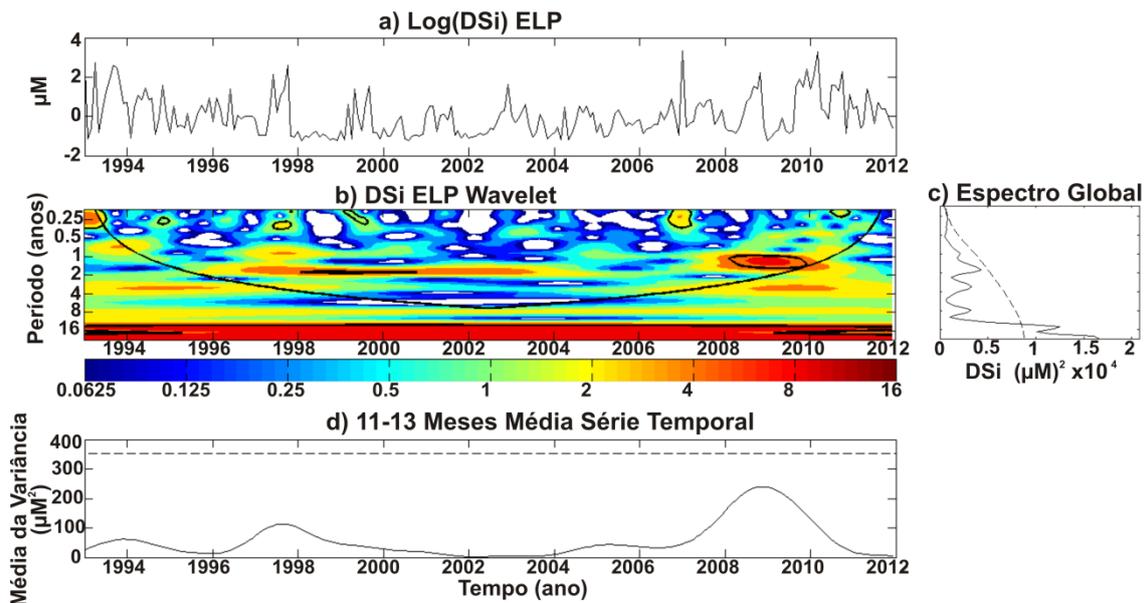


Figura 16. Análise de Ondeletas para DSi no ELP. a) série de DSi, b) espectro de energia da ondeleta em μM (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

Os valores das proporções, com base atômica, entre os nutrientes DIN, DIP e DSi mostraram um ciclo sazonal não significativo para Si:N e N:P ($p_{Si:N} = p_{N:P} = 1$) e uma variabilidade interanual significativa para ambos ($p_{Si:N} = p_{N:P} = 0.0001$) (Figs. 17 e 18). A série residual de Si:N indica períodos de proporções <1 em 1998 e 2000. Já para N:P essa série mostra anos com valores < 5 em 1993/1994, 1997, 2002 e 2008. A Análise de Ondeletas revela que para a relação Si:N (Fig. 19), não houve frequência significativa dentro do cone de influência. Por outro lado, a relação N:P (Fig. 20) mostrou um ciclo significativo de 4 anos e que o mesmo passou a ser menos energético a partir de 2004. A frequência acumulada entre 11-13 meses apontou para uma maior energia do ciclo anual em 1997/1998 e 2005 para Si:N e 1996-1999, 2002, 2004 e 2009 como períodos de menor intensidade deste ciclo para N:P.

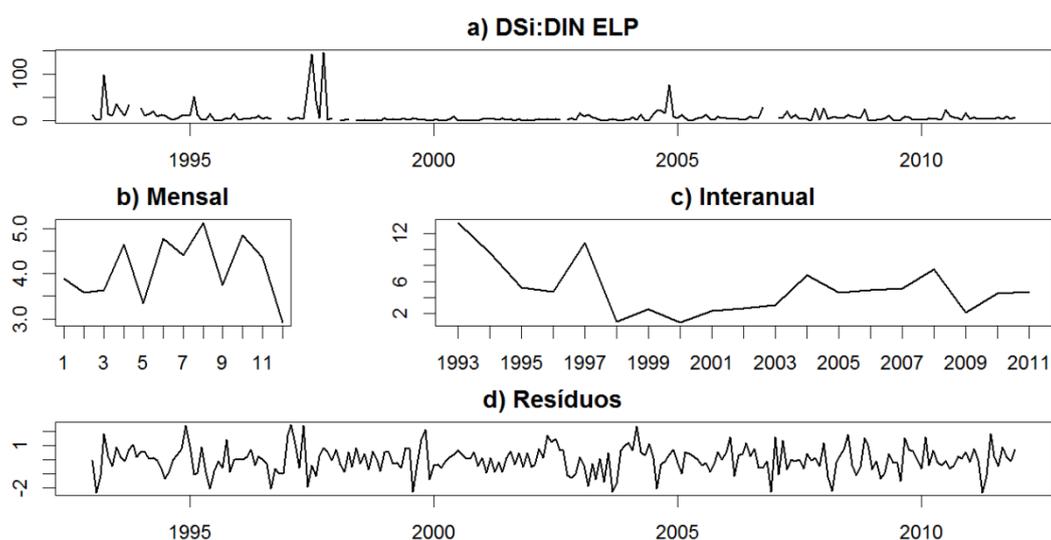


Figura 17. Série temporal da proporção Si:N no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

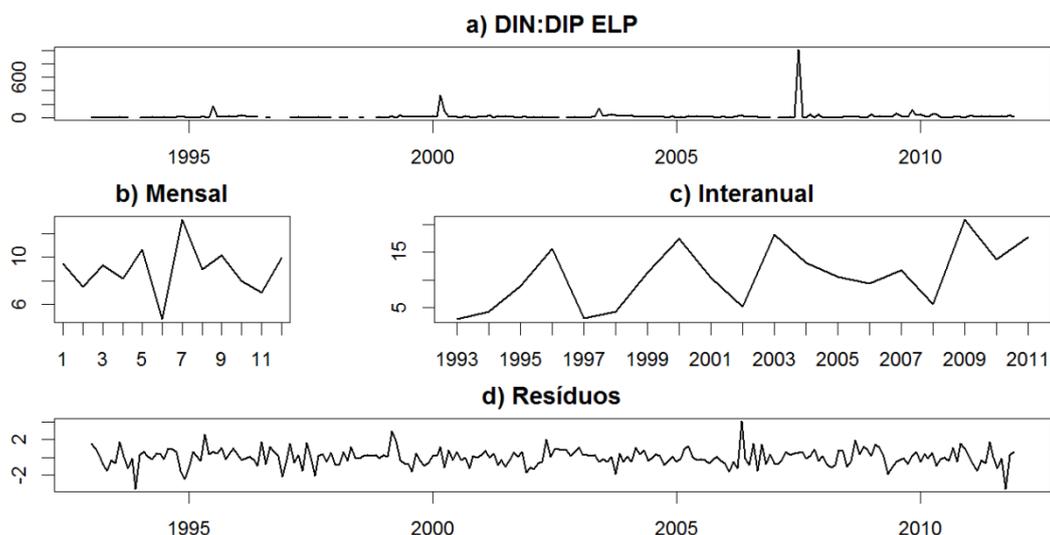


Figura 18. Série temporal da proporção N:P no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

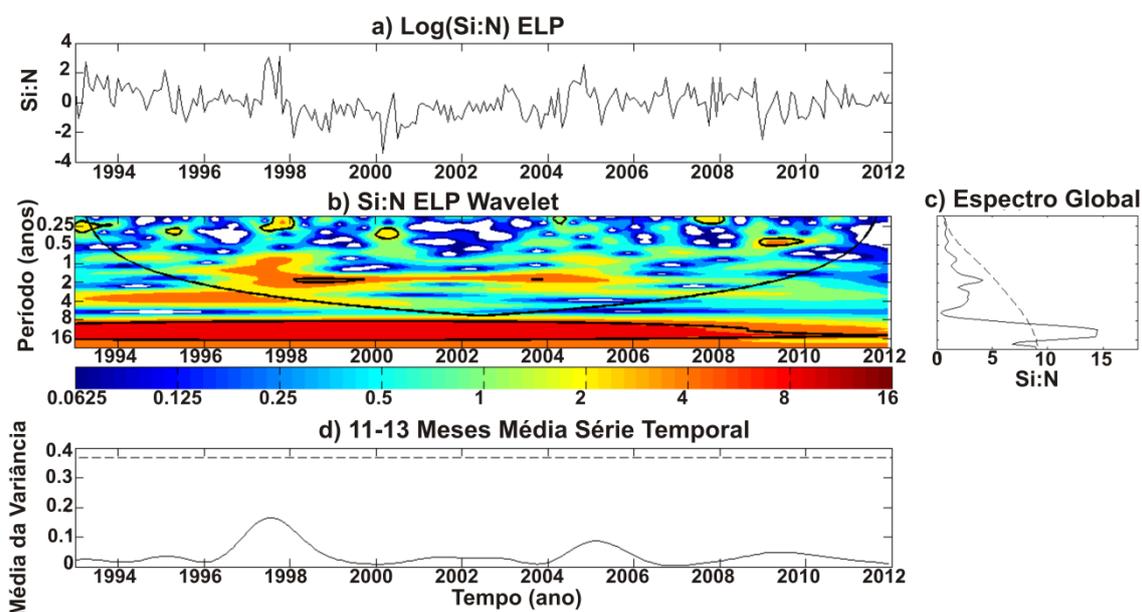


Figura 19. Análise de Ondeletas para $\text{Ln}(\text{Si:N})$ no ELP. a) série de $\text{Ln}(\text{Si:N})$, b) espectro de energia da ondeleta (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

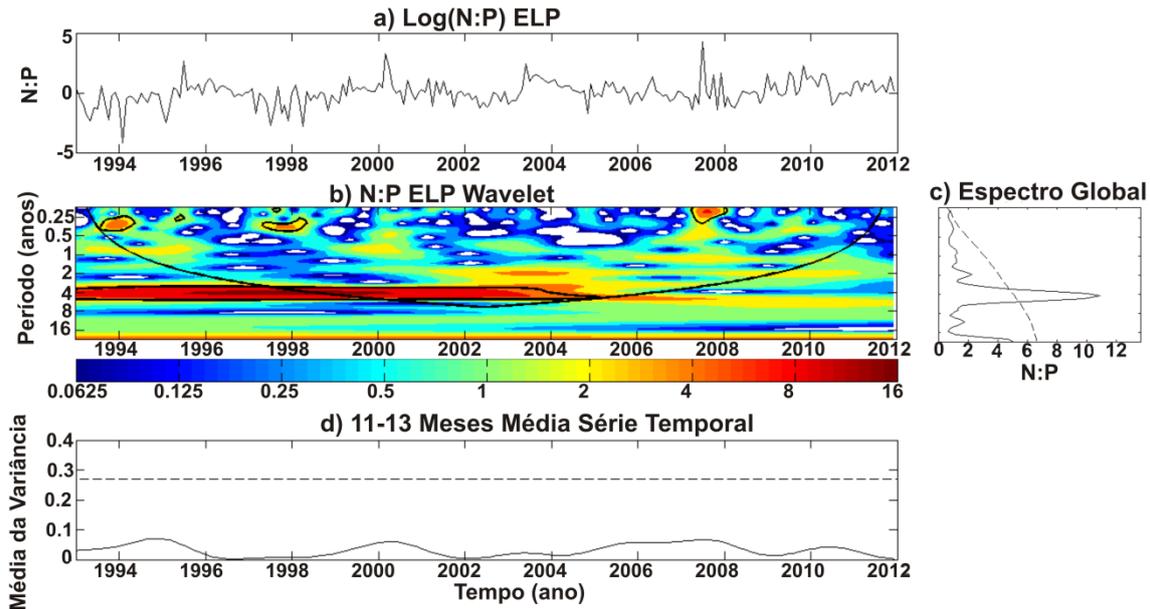


Figura 20. Análise de Ondeletas para $\text{Ln}(\text{N:P})$ no ELP. a) série de $\text{Ln}(\text{N:P})$, b) espectro de energia da ondeleta (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

A variabilidade sazonal da profundidade do disco de Secchi (Fig. 21), foi significativa ($p=0.01$), com valor máximo em maio (65 cm) e mínimo em outubro (26 cm). A variabilidade interanual também foi significativa ($p=0.01$), indicando uma tendência geral decrescente e os anos 1998 e 2002 com baixa transparência. A série de resíduos apontou para 1997/1998 como um período com transparência da coluna de água anormalmente baixa. A Análise de Ondeletas (Fig. 22) também resultou no período de um ano como significativo, em especial após o ano de 2004, além de frequências energéticas em três e oito anos, mas com baixa resolução e não significativas. Entre 1999 e 2006 houve grande energia concentrada entre quatro e oito anos. A variabilidade acumulada entre 11-13 meses apresentou uma tendência marginalmente significativa ao incremento do ciclo anual até 2010.

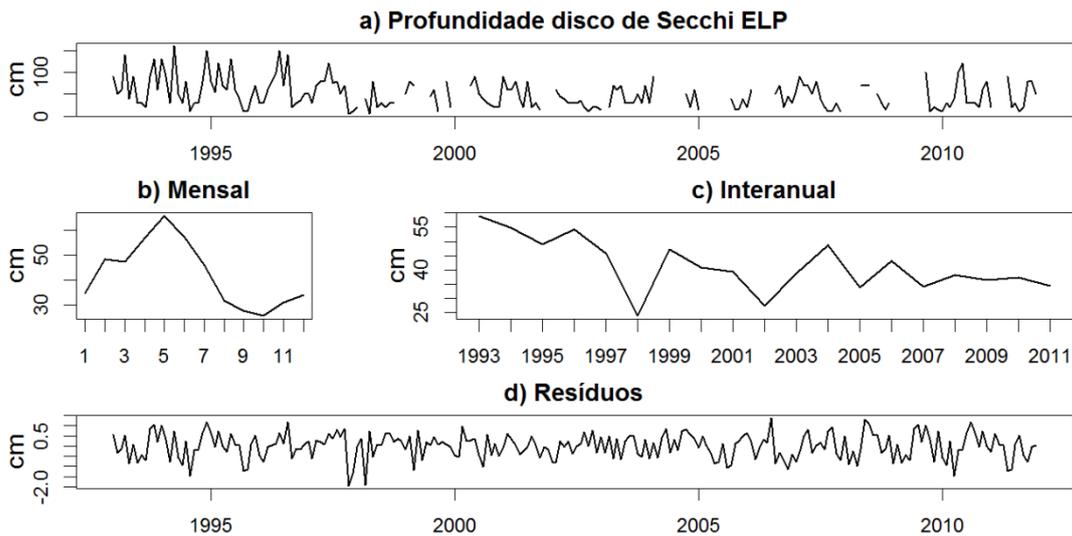


Figura 21. Série temporal da profundidade de disco de Secchi no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

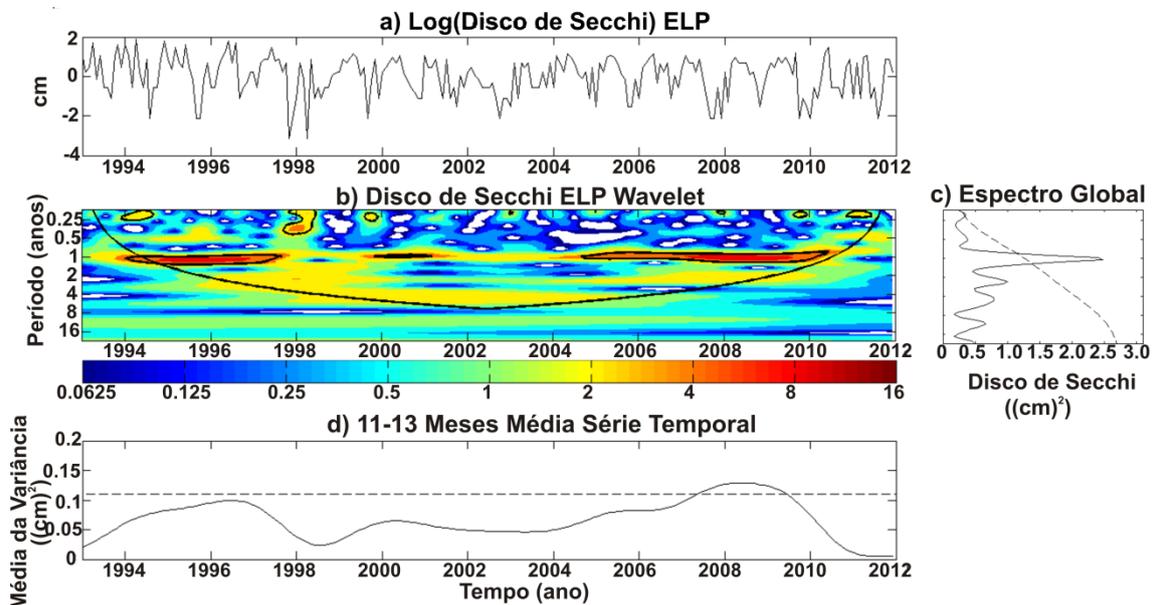


Figura 22. Análise de Ondeletas para Ln(Profundidade do Disco de Secchi) no ELP. a) série Ln (profundidade do disco de Secchi), b) espectro de energia da ondeleta em cm (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral da série e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

A análise de decomposição do teor de clorofila *a* (Fig. 23) resultou em um ciclo sazonal significativo ($p=0.0001$), com valor mínimo em maio ($2.3 \mu\text{g L}^{-1}$) e

máximo em outubro ($7.9 \mu\text{g L}^{-1}$). A variabilidade interanual também foi significativa ($p=0.01$). A série dos resíduos gerada na decomposição mostrou a variabilidade que não foi explicada pela componente sazonal e nem pela interanual, mas ressalta os picos observados em 2003 e final de 2004. A Análise de Ondeletas (Fig. 24) indica que o ciclo de um ano (referente a sazonalidade) foi importante no ELP e que esta frequência passou a ter mais energia a partir de 2002. A variabilidade entre quatro e oito anos também apresentou bastante energia, especialmente entre 1998 e 2003. A integração da energia entre 11-13 meses indica os anos em que houve maior energia associada ao ciclo anual, revelando uma tendência de incremento da energia numa frequência próxima da anual, ainda que a mesma esteja abaixo do nível de significância de 95%.

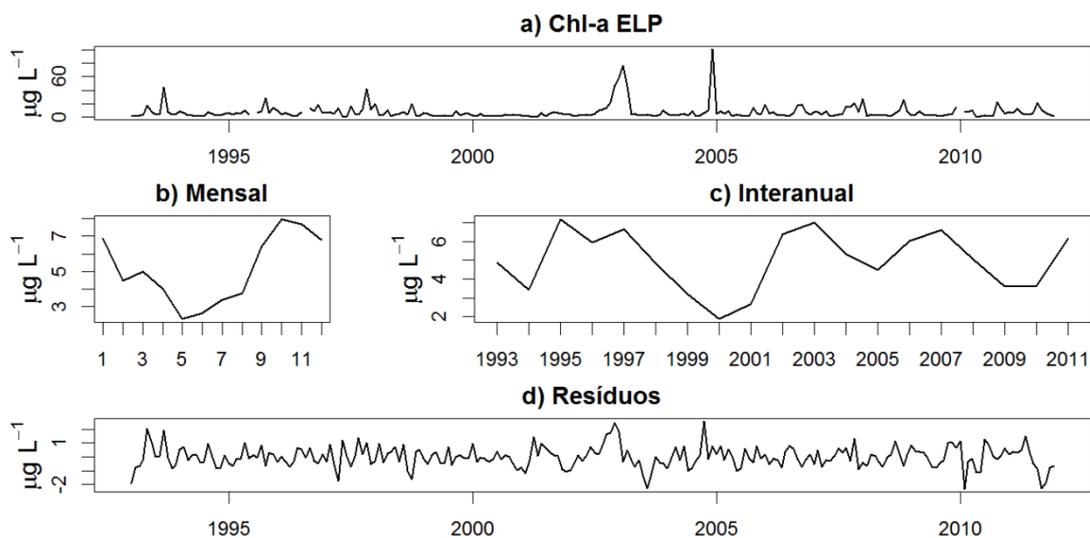


Figura 23. Série temporal de clorofila *a* no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

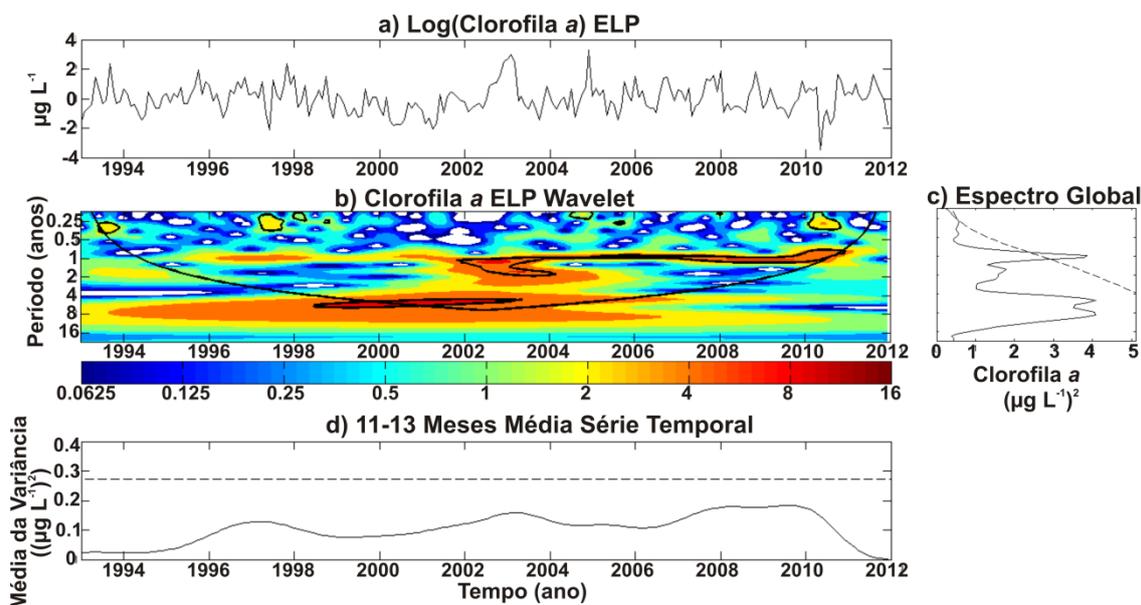


Figura 24. Análise de Ondeletas para Ln (clorofila a) no ELP. a) série Ln(clorofila a), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de clorofila a e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

Fitoplâncton

A decomposição da densidade total de fitoplâncton (Fig. 25) resultou em um ciclo sazonal significativo ($p=0.001$), com mínimo em maio (13 cél L^{-1}) e máximo em setembro (16 cél L^{-1}); a variabilidade interanual não foi significativa ($p=0.1$). O ciclo sazonal foi semelhante ao da clorofila a, entretanto o pico de densidade foi em setembro e o da clorofila a em outubro. Os valores médios anuais de densidade foram baixos em 1999 ($1618093 \text{ cél L}^{-1}$) e 2004 ($1035917 \text{ cél L}^{-1}$). A Análise de Ondeletas (Fig. 26) corroborou para a significância do ciclo anual desta variável e concordou com a Análise de Decomposição, não indicando nenhuma outra escala temporal significativa. Entretanto o período entre 1998 e 2003 foi indicado como de forte energia na banda de 6-8 anos, apesar da mesma

não ser significativa. Neste mesmo período, foi indicada uma baixa energia acumulada entre 11 e 13 meses, como um enfraquecimento do ciclo anual.

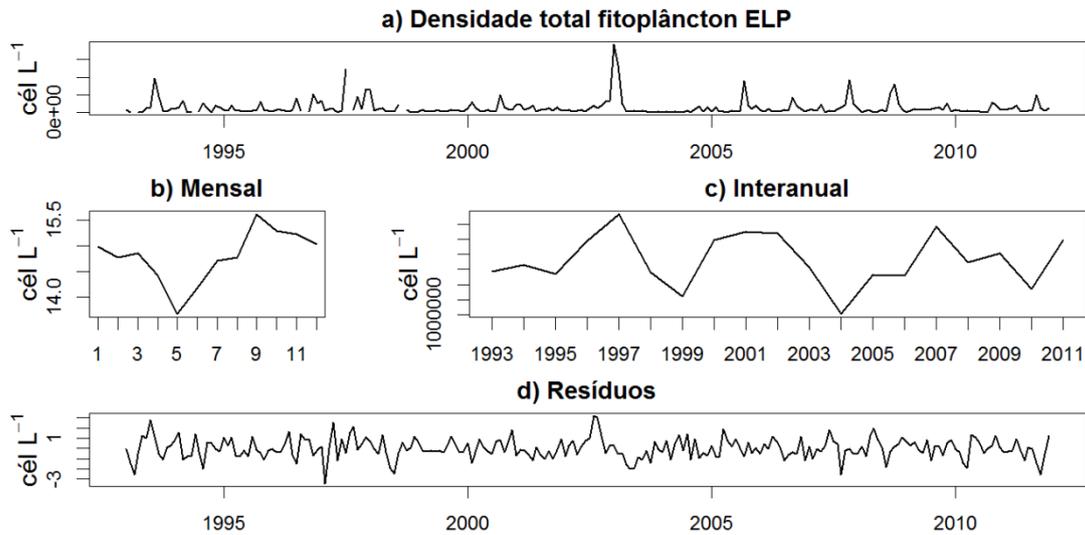


Figura 25. Série temporal da densidade total do fitoplâncton no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

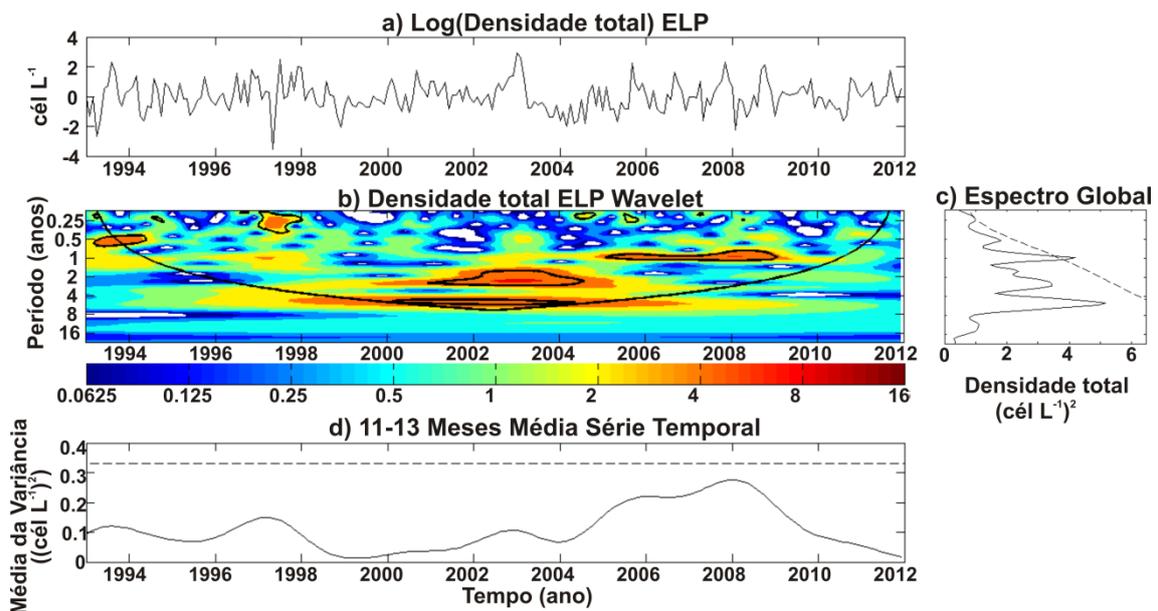


Figura 26. Análise de Ondeletras para Ln (densidade celular total) no ELP. a) série Ln(concentração de células L^{-1}), b) espectro de energia da ondeleta em cél L^{-1} (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular total e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

O resultado da Análise de Decomposição do conteúdo de carbono total do fitoplâncton (Fig. 27), resultou em um ciclo sazonal significativo ($p=0.001$), com mínimo em maio ($4.19 \mu\text{g C L}^{-1}$) e máximo em janeiro ($6.46 \mu\text{g C L}^{-1}$). A variabilidade interanual também foi significativa ($p=0.01$), com valores altos nos anos de 1997, 2002, 2005, 2007 e 2009 (419.77 , 388.01 , 459.03 , 584.10 e $421.41 \mu\text{g C L}^{-1}$, respectivamente). A Análise de Ondeletas comprovou o ciclo sazonal, mas não identificou outra escala de variabilidade significativa. Apesar disso, entre 2007 e 2010 o ciclo de dois anos foi bastante energético, bem como 1995-2002 para um ciclo entre 4 e 8 anos (Fig. 28).

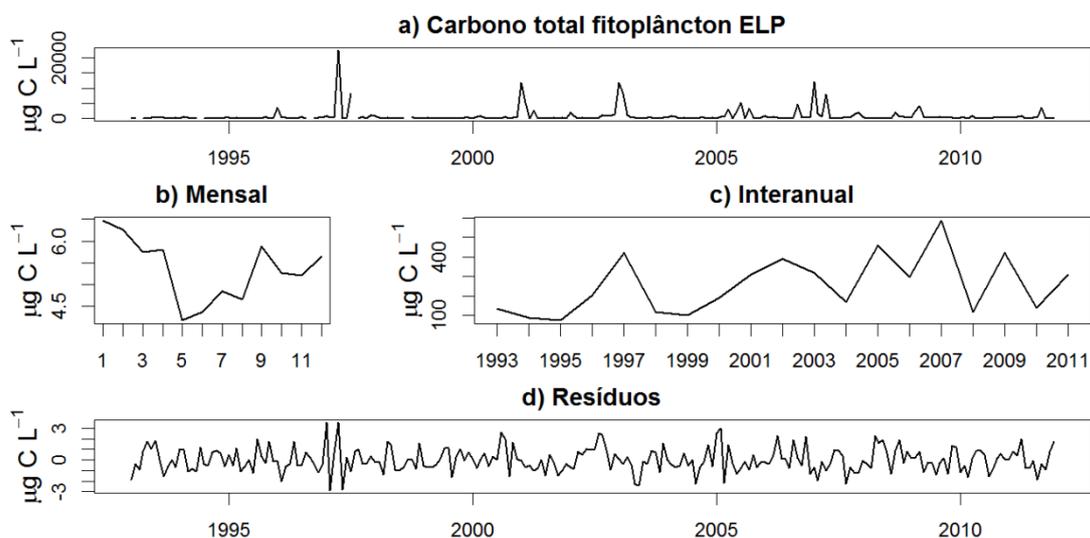


Figura 27. Série temporal do conteúdo de carbono total do fitoplâncton no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

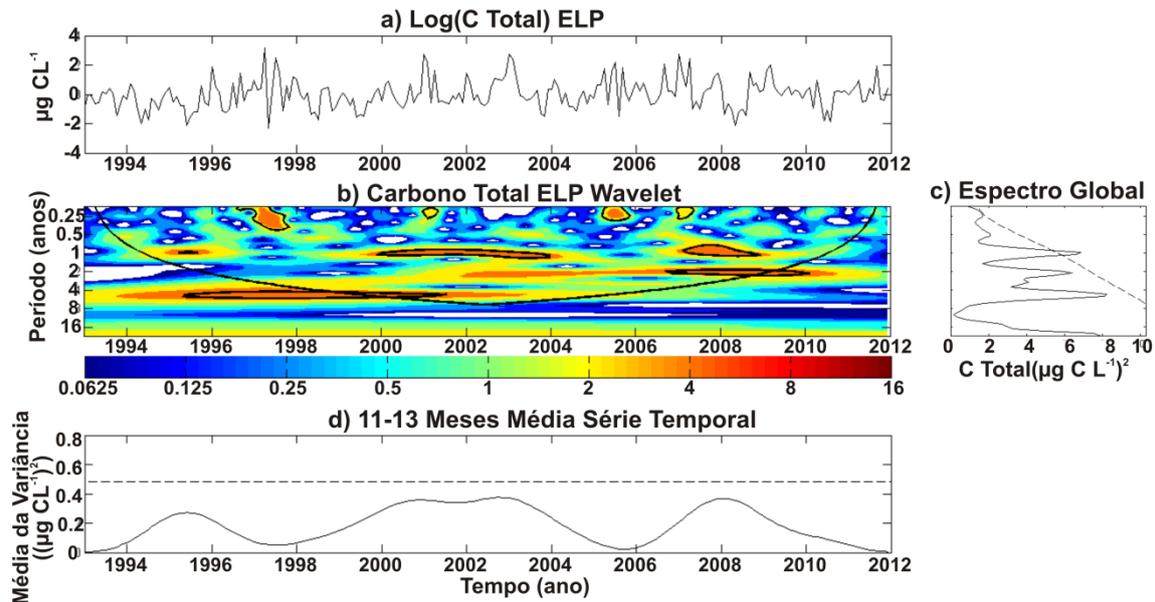


Figura 28. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono total) no ELP. a) série Ln($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular total e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

O principal grupo em biomassa no ELP compreendeu as diatomáceas. A Análise de Decomposição para a sua densidade (Fig. 29), mostrou um ciclo sazonal significativo ($p=0.001$) com mínimo em maio e junho ($110600 \text{ cél L}^{-1}$) e máximo em novembro ($1319000 \text{ cél L}^{-1}$). O conteúdo de carbono também apresentou ciclo sazonal significativo ($p=0.001$), com valores mínimos em maio ($38.91 \mu\text{g C L}^{-1}$) e agosto ($40.91 \mu\text{g C L}^{-1}$) e máximo em janeiro ($434.9 \mu\text{g C L}^{-1}$) (Fig. 30). A variabilidade interanual não foi significativa ($p=0.05$) para a densidade, com valores altos em 2002, 2007 e 2011 (1356201 , 1226499 e $1309429 \text{ cél L}^{-1}$, respectivamente). Para o conteúdo de carbono, essa variabilidade foi significativa ($p=0.01$), com valores elevados em 1997, 2002, 2005 e 2007 (197.5 , 292.0 , 353.4 e $341.3 \mu\text{g C L}^{-1}$, respectivamente). A Análise de Ondeletas (Fig. 31) mostrou os ciclos de um e 4-8 anos como sendo significativos

para densidade e apenas o ciclo de um ano como significativo para o conteúdo de carbono (Fig. 32).

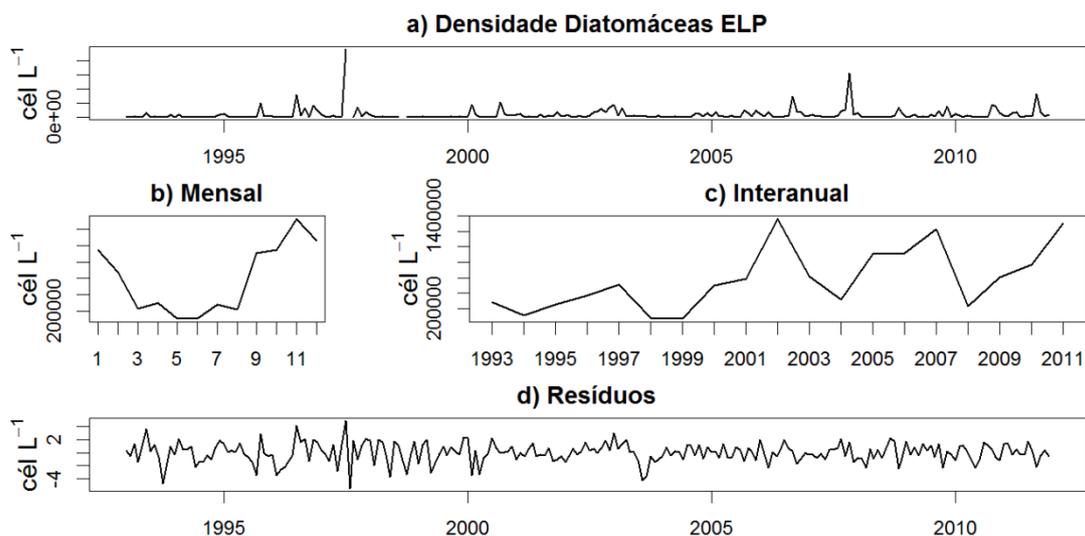


Figura 29. Série temporal da densidade de diatomáceas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

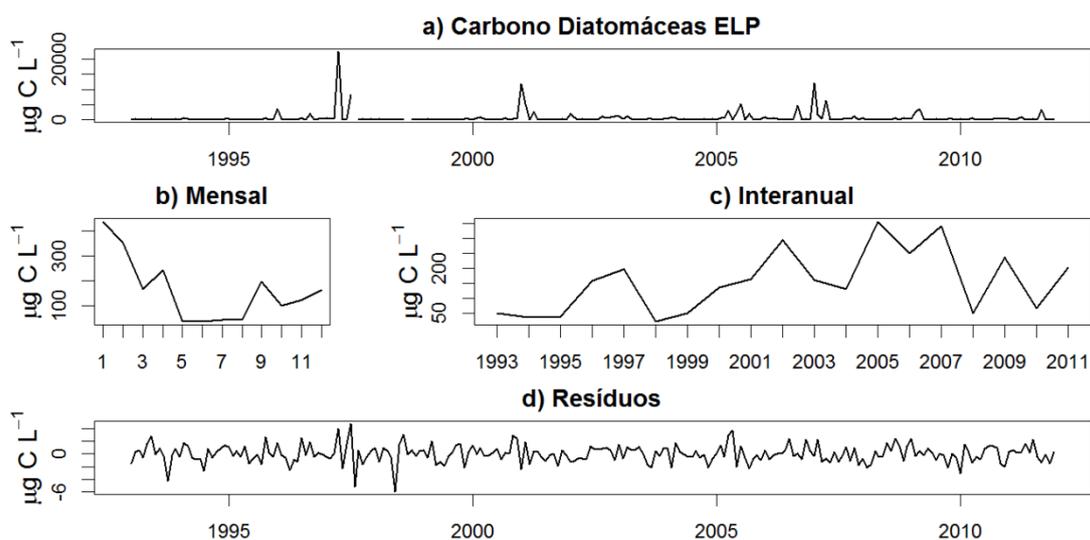


Figura 30. Série temporal do conteúdo de carbono de diatomáceas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

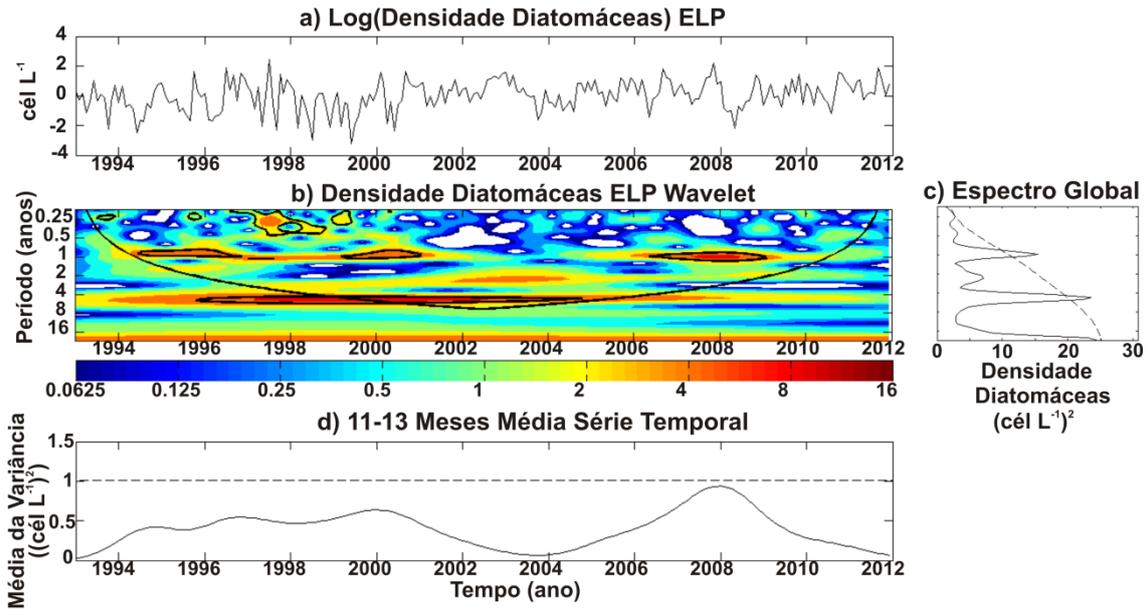


Figura 31. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular diatomáceas) no ELP. a) série Ln (células L^{-1}), b) espectro de energia da ondeleta em $cél L^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade de diatomáceas, d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

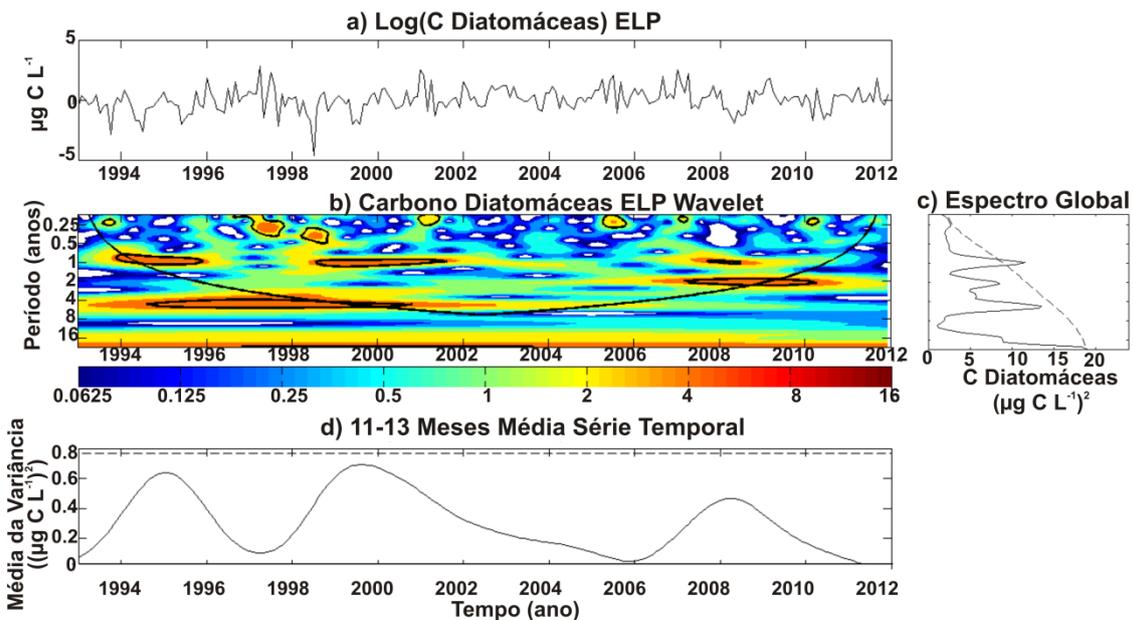


Figura 32. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono diatomáceas) no ELP. a) série Ln($\mu g C L^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu g C L^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular diatomáceas e d)

integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

A Análise de Decomposição para a densidade de cianobactérias resultou em um ciclo sazonal não significativo ($p=1$) e uma variabilidade interanual significativa ($p=0.01$), com valores elevados em 1998, 2002/03 e 2007 (26826, 78788, 48874 e 54948 cél L^{-1} , respectivamente) (Fig. 33). Para o conteúdo de carbono, o ciclo sazonal também não foi significativo ($p=0.1$), bem como a variabilidade interanual ($p=0.05$), com valores elevados em 2002/2003 e 2007 (4.72, 2.14 e 2.52 $\mu\text{g C L}^{-1}$, respectivamente) (Fig. 34). A Análise de Ondeletas (Fig. 35 e 36), confirmou o resultado da decomposição, não indicando o ciclo anual como significativo para densidade nem para o conteúdo de carbono. O ciclo de quatro a oito anos aparece como sendo o único significativo em ambos os casos, mas devido a proximidade desse ciclo com o limite de resolução da série temporal, é arbitrário afirmar que esse ciclo seja existente, apesar de se confirmar a variabilidade interanual para este grupo.

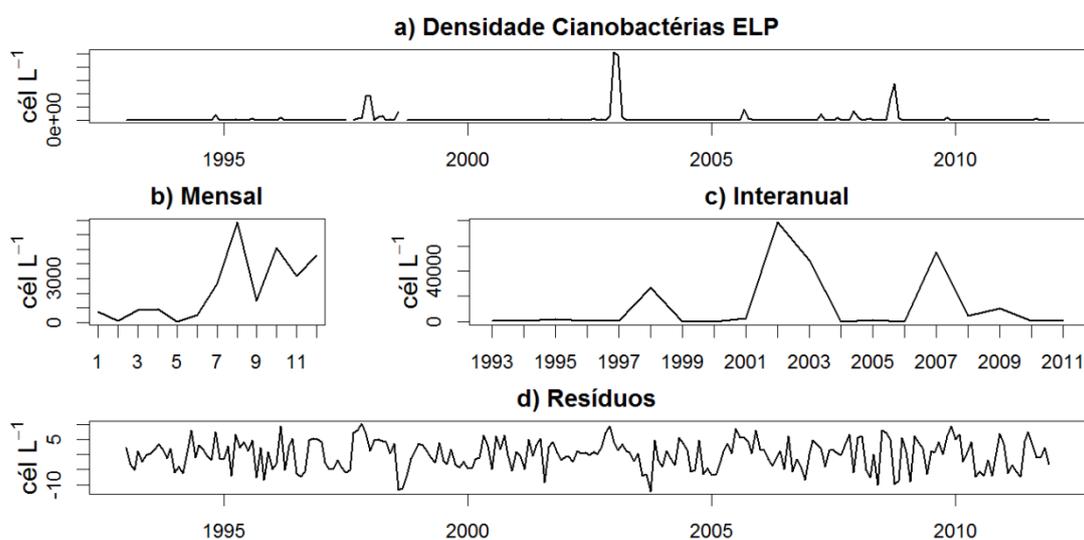


Figura 33. Série da densidade de cianobactérias no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

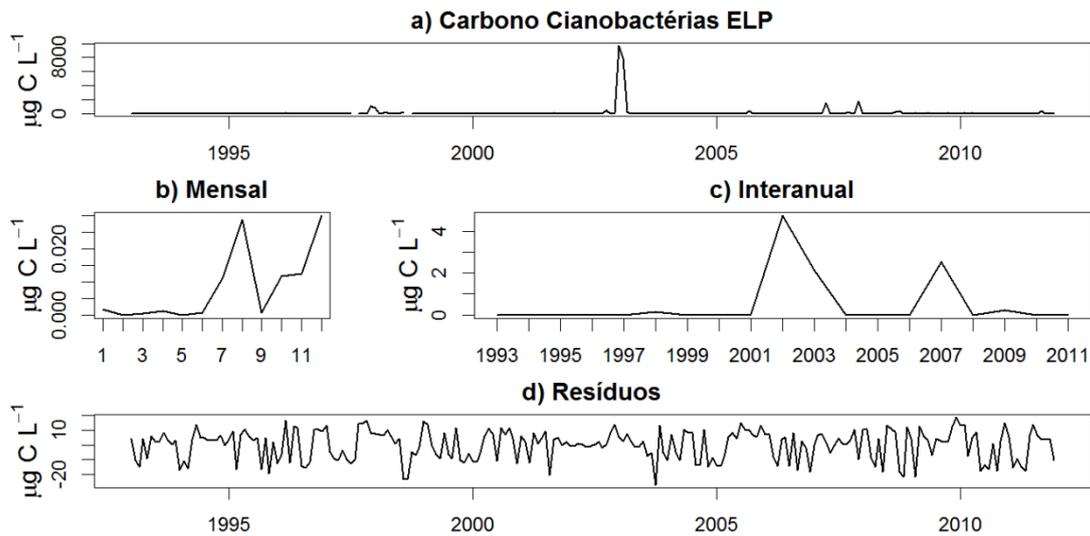


Figura 34. Série do conteúdo de carbono de cianobactérias no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

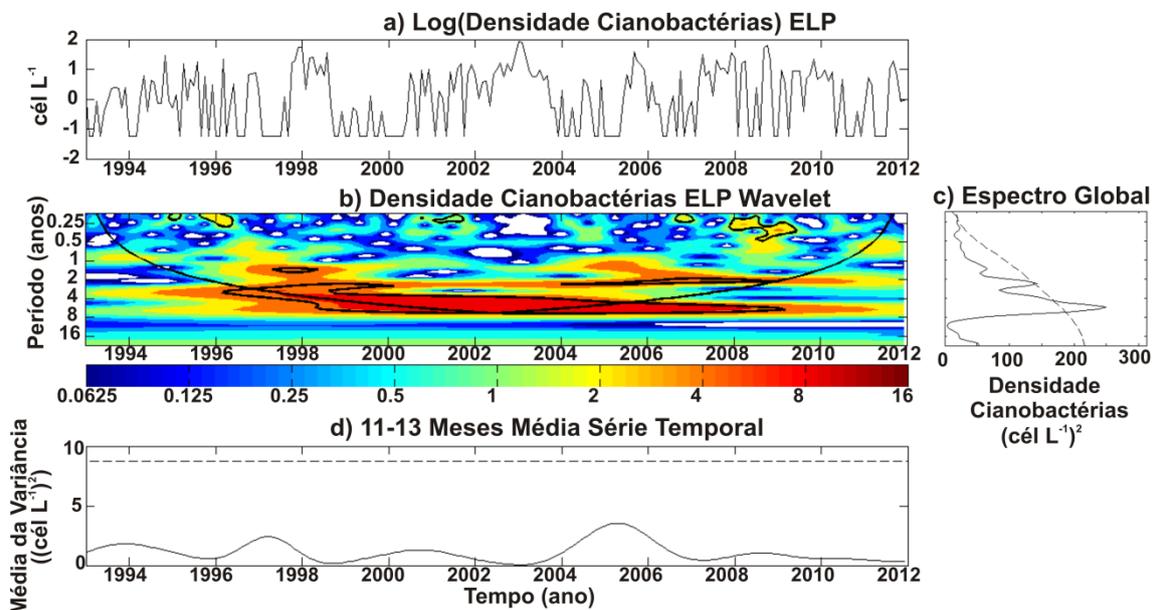


Figura 35. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular cianobactérias) no ELP. a) série Ln(células L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em cél L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular cianobactérias e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

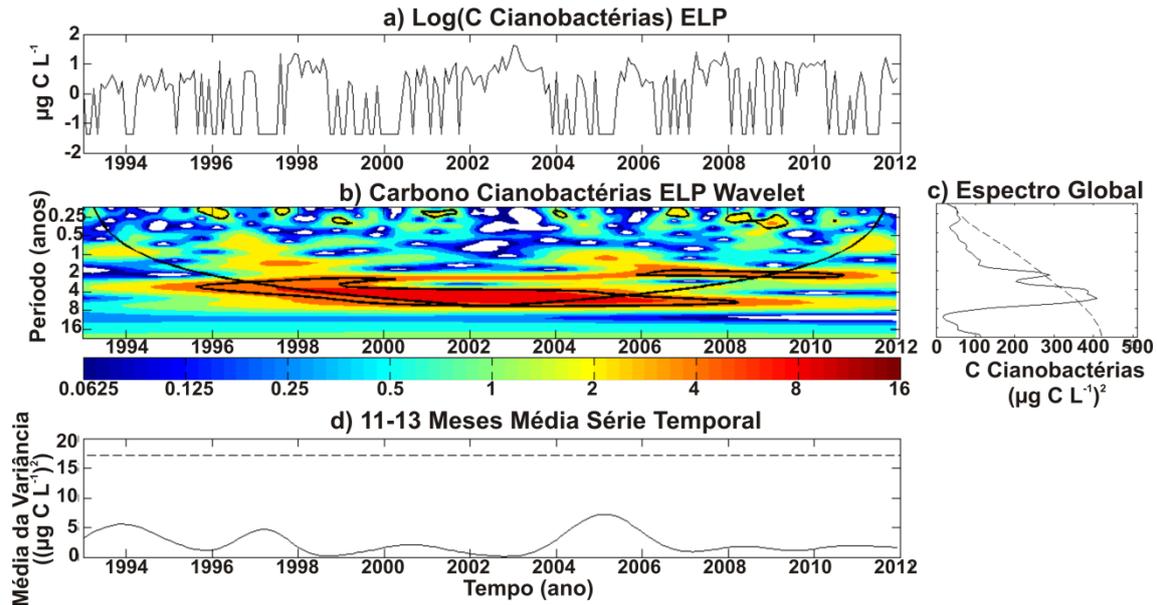


Figura 36. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono cianobactérias) no ELP. a) série Ln($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular cianobactérias e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

Os resultados da análise de decomposição dos organismos flagelados foram semelhantes para a densidade e conteúdo de carbono (Fig. 37 e 38), com um ciclo sazonal não significativo ($p=0.1$). A variabilidade interanual foi significativa para a densidade ($p=0.01$) e mas não apresentou significância para o conteúdo de carbono ($p=0.05$). As séries apresentaram valores claramente menores a partir de 2001 para a densidade, mas esta tendência não é clara para o seu conteúdo de carbono. A Análise de Ondeletas (Fig. 39 e 40) mostrou nenhuma escala temporal significativa para a densidade e conteúdo de carbono.

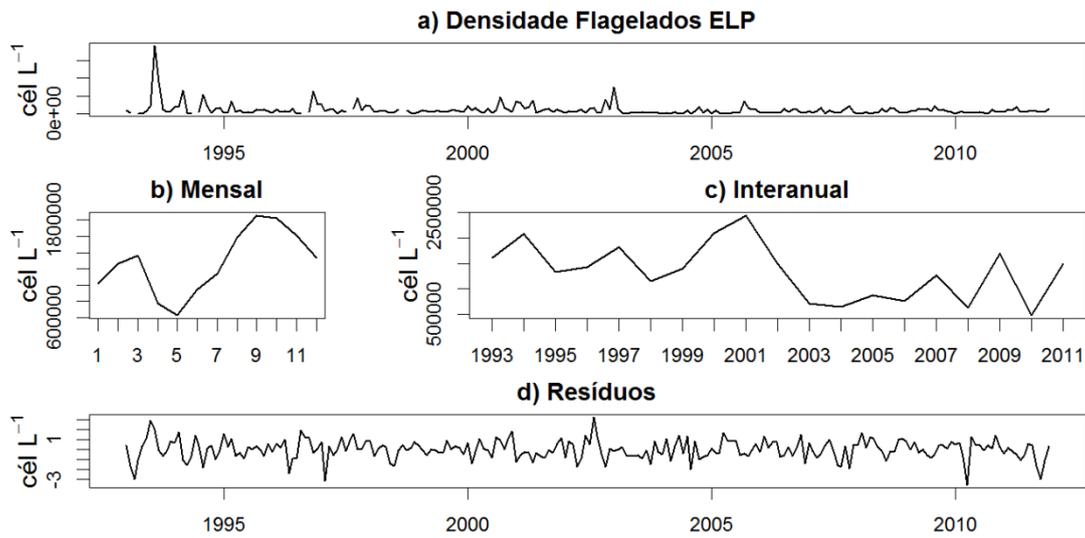


Figura 37. Série temporal da densidade de flagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

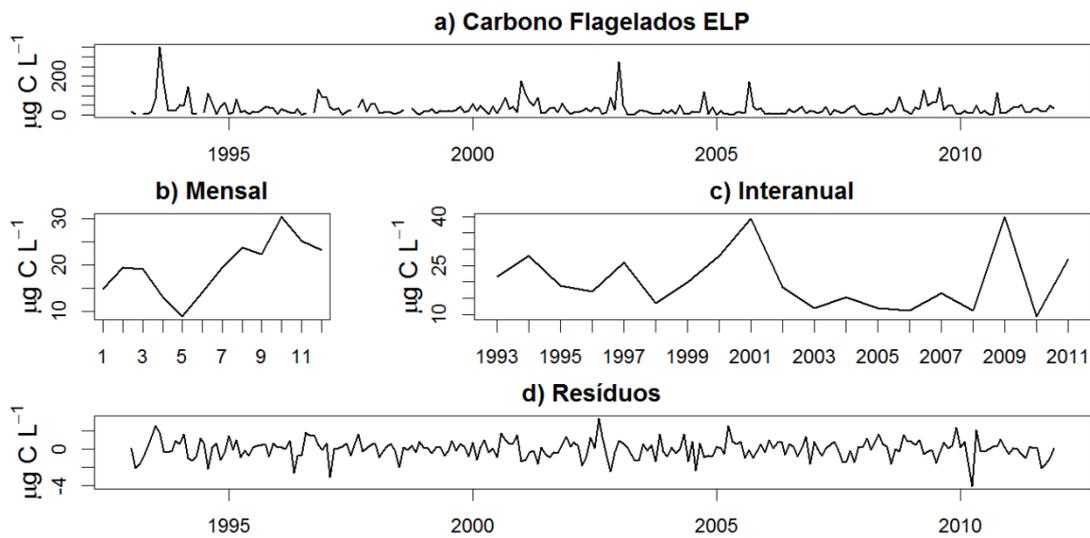


Figura 38. Série temporal do conteúdo de carbono de flagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

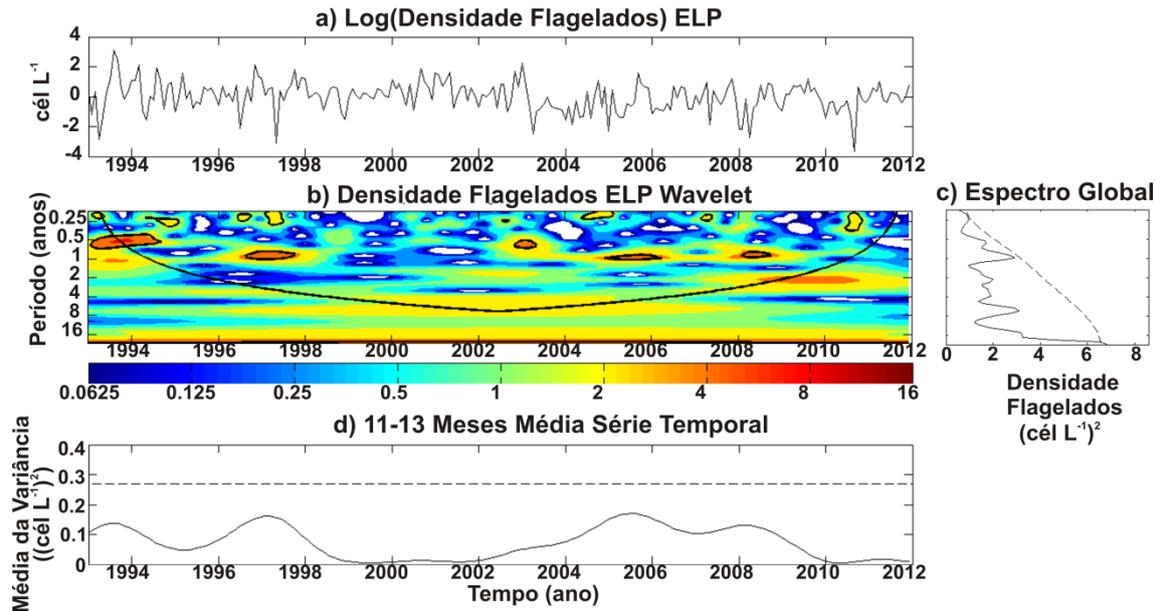


Figura 39. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular flagelados) no ELP. a) série dos Ln(células L^{-1}), b) espectro de energia da ondeleta em cél L^{-1} (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular flagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

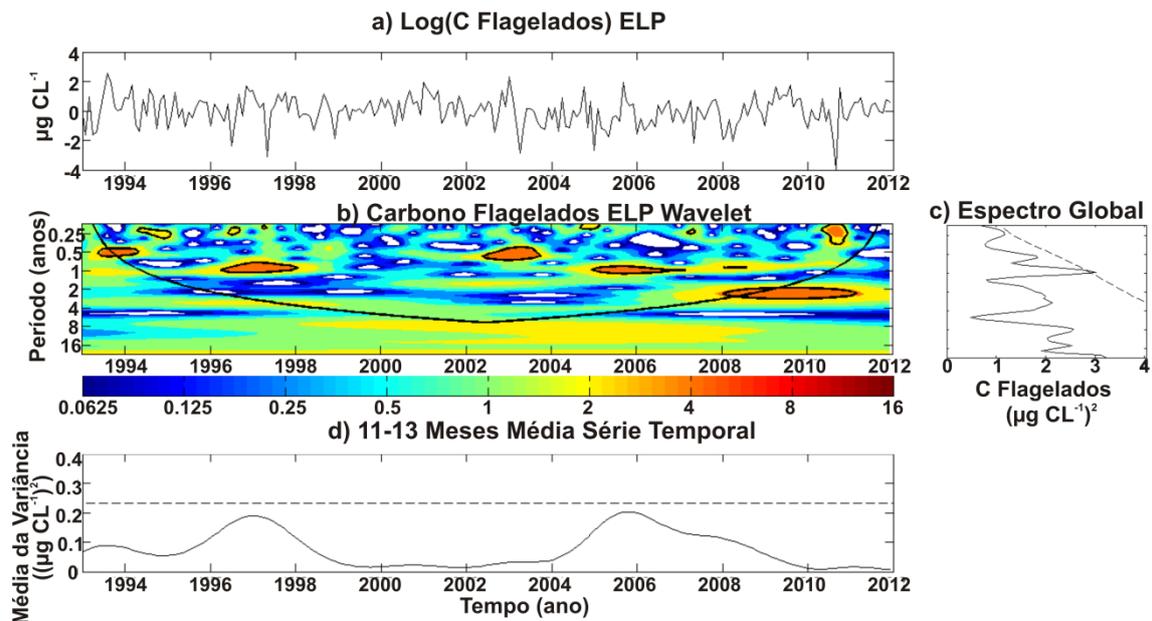


Figura 40. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono flagelados) no ELP. a) série Ln($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular flagelados e d) integração

da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

A Análise de Decomposição da densidade dos dinoflagelados resultou em um ciclo sazonal não significativo ($p=0.1$) e variabilidade interanual significativa ($p=0.001$), com valores altos nos anos mais recentes da série (2006 e 2011, com 31241 e 63051 cél L^{-1} , respectivamente) (Fig. 41). Também o conteúdo de carbono apresentou ciclo sazonal não significativo ($p=0.1$) e variabilidade interanual significativa ($p=0.01$) (Fig. 42). Quanto a biomassa, os últimos anos também parecem ser importantes, com valores mais elevados também em 2006 e 2011 (8.47 e 18.73 $\mu\text{g C L}^{-1}$, respectivamente). A Análise de Ondeletas (Fig. 43 e 44) não resultou em significância para nenhum ciclo dentro do limite de resolução da série temporal, mas indicou uma energia em escala próxima a 16 anos, possivelmente influenciada pelo aumento deste grupo nos últimos anos da série.

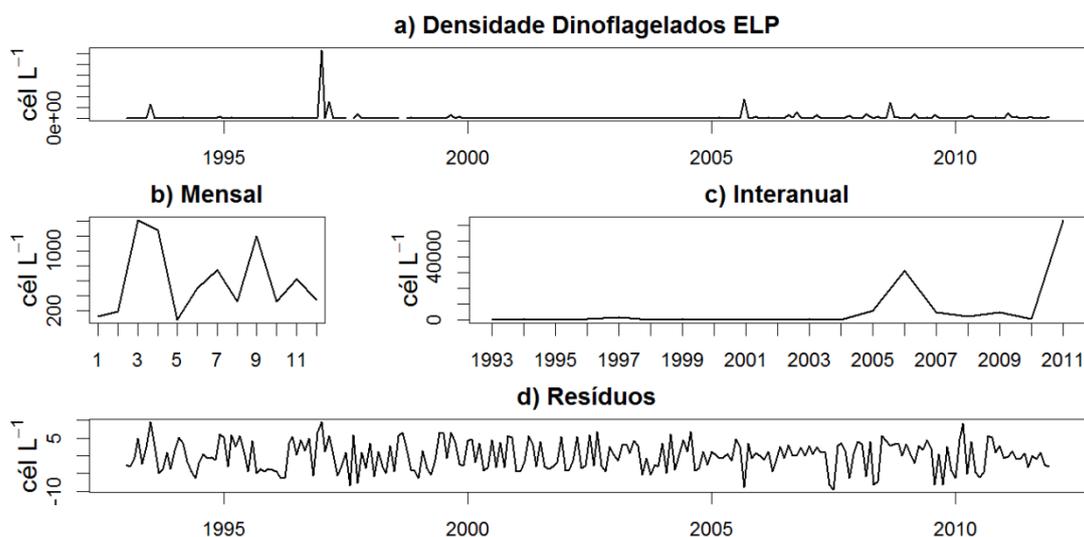


Figura 41. Série temporal da densidade de dinoflagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

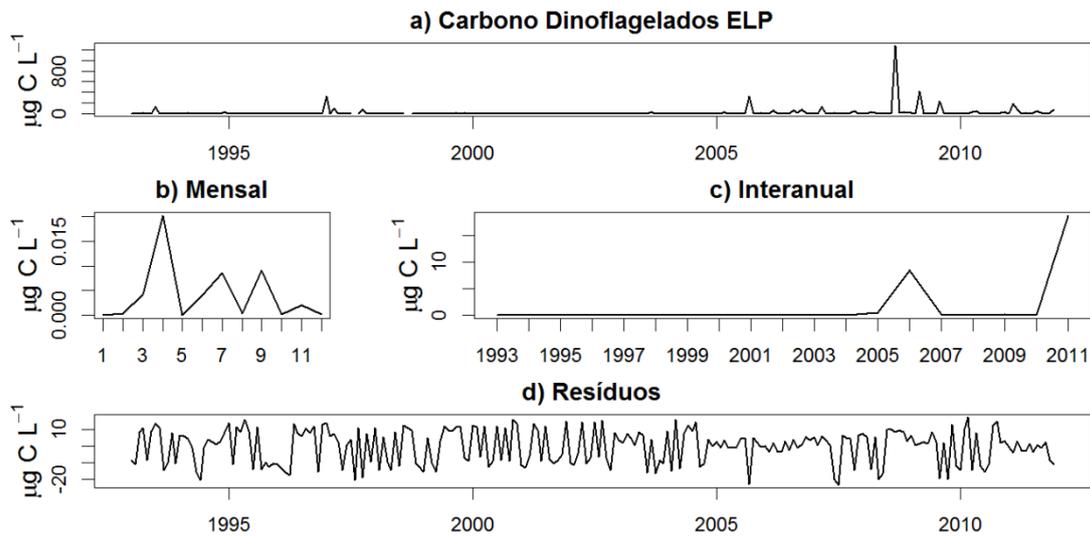


Figura 42. Série temporal do conteúdo de carbono de dinoflagelados no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

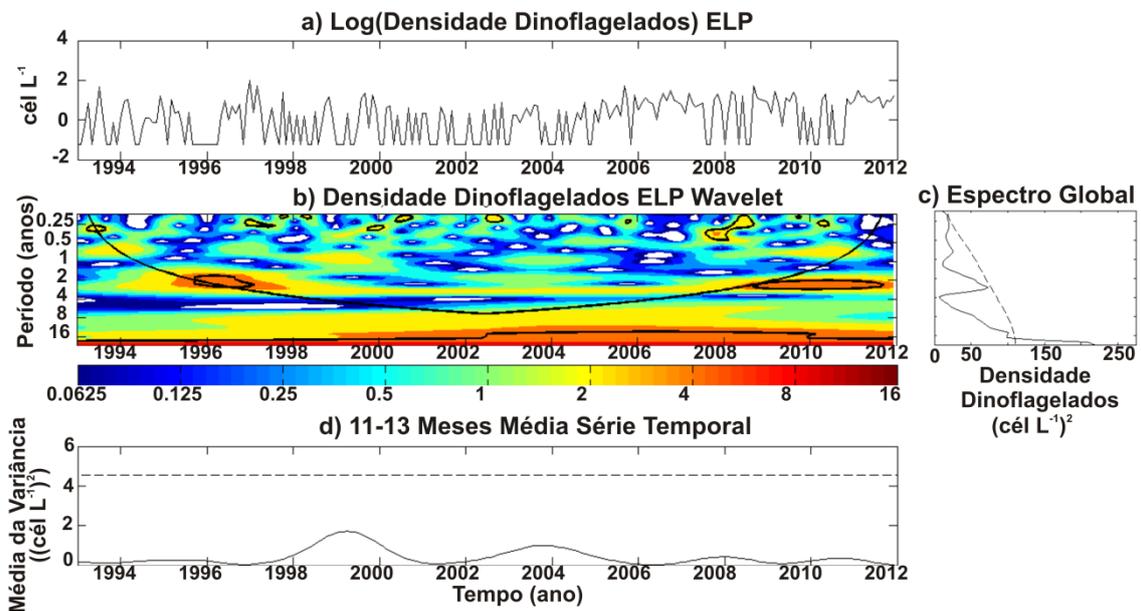


Figura 43. Análise de Ondeletas para \ln (densidade celular dinoflagelados) no ELP. a) série $\ln(\text{células L}^{-1})$, b) espectro de energia da ondeleta em cél L^{-1} (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular dinoflagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

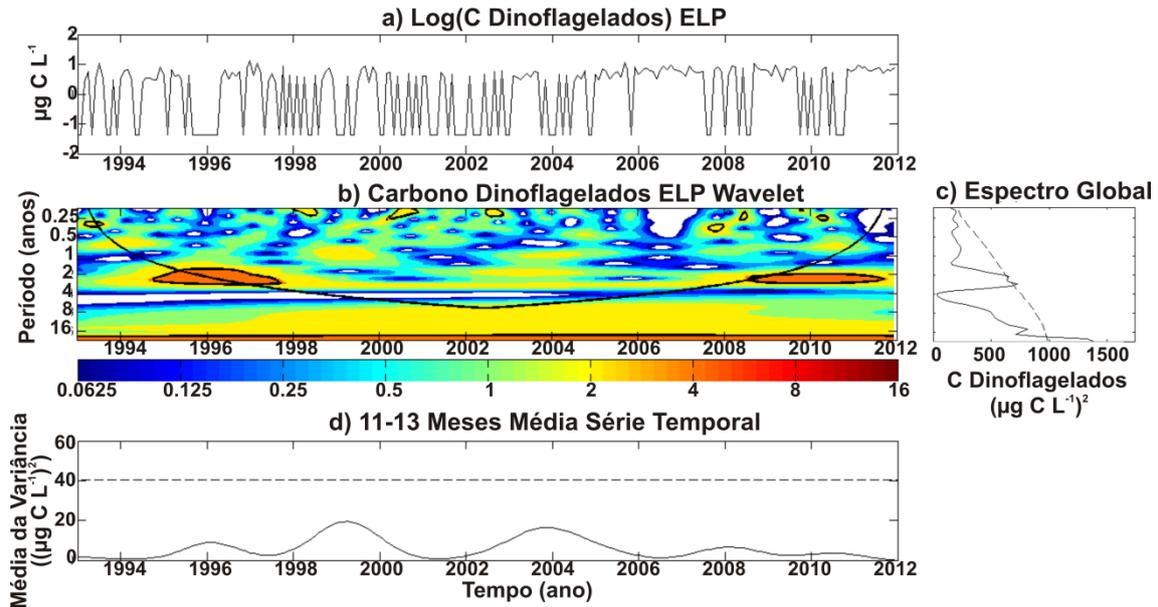


Figura 44. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono dinoflagelados) no ELP. a) série dos Ln($\mu\text{g C L}^{-1}$), b) espectro de energia da ondeleta em $\mu\text{g C L}^{-1}$ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular dinoflagelados e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

As clorófitas apresentaram um ciclo sazonal não significativo ($p=0.05$) e variabilidade interanual significativa ($p=0.001$), para a densidade e conteúdo de carbono (Figs. 45 e 46). Os altos valores encontrados em 2002 (2277 indivíduos L^{-1} e $0.105 \mu\text{g C L}^{-1}$) coincidiram com um período de baixa salinidade no ELP. A Análise de Ondeletas (Fig. 47 e 48) apontou os ciclos de 1 e 2 anos como significativos para a densidade e conteúdo de carbono.

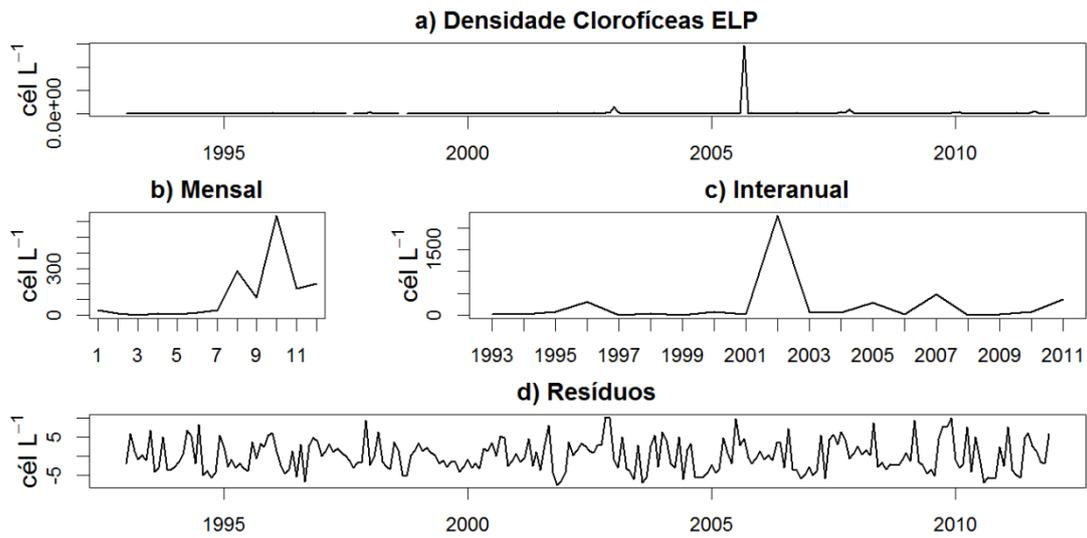


Figura 45. Série temporal da densidade de clorofíceas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

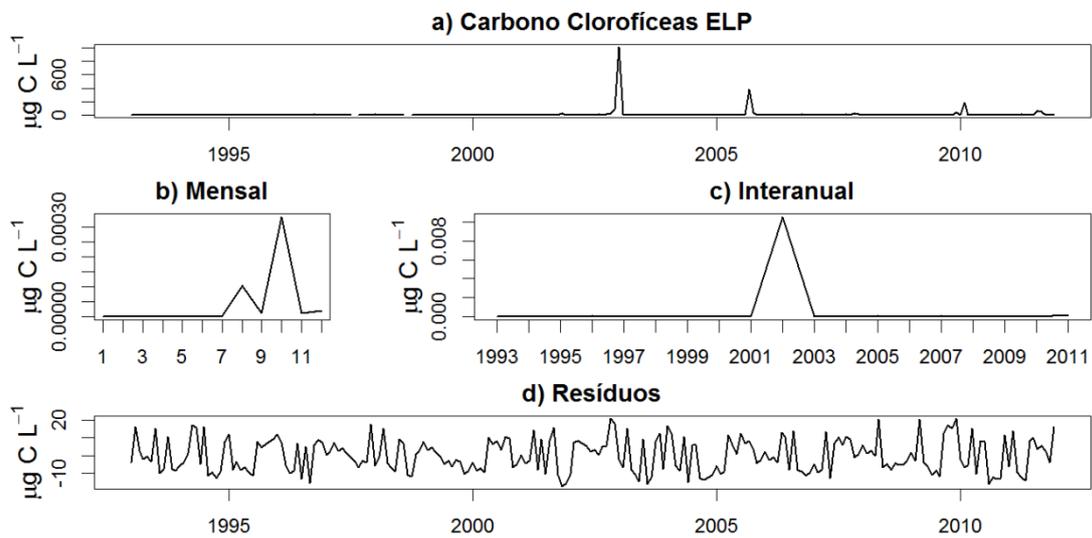


Figura 46. Série temporal do conteúdo de carbono de clorofíceas no ELP (a), e resultados da Análise de Decomposição, componente sazonal (b), interanual (c) e a série dos resíduos (d).

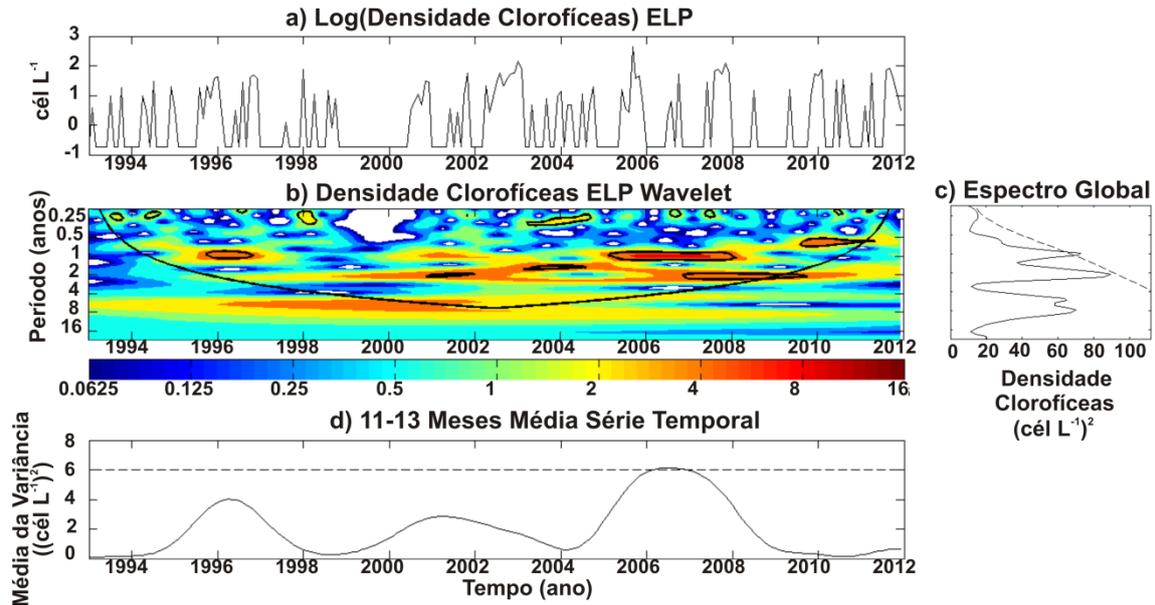


Figura 47. Análise de Ondeletas para Ln (densidade celular clorófitas) no ELP. a) série Ln(células L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em cél L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de densidade celular clorófitas e d) integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

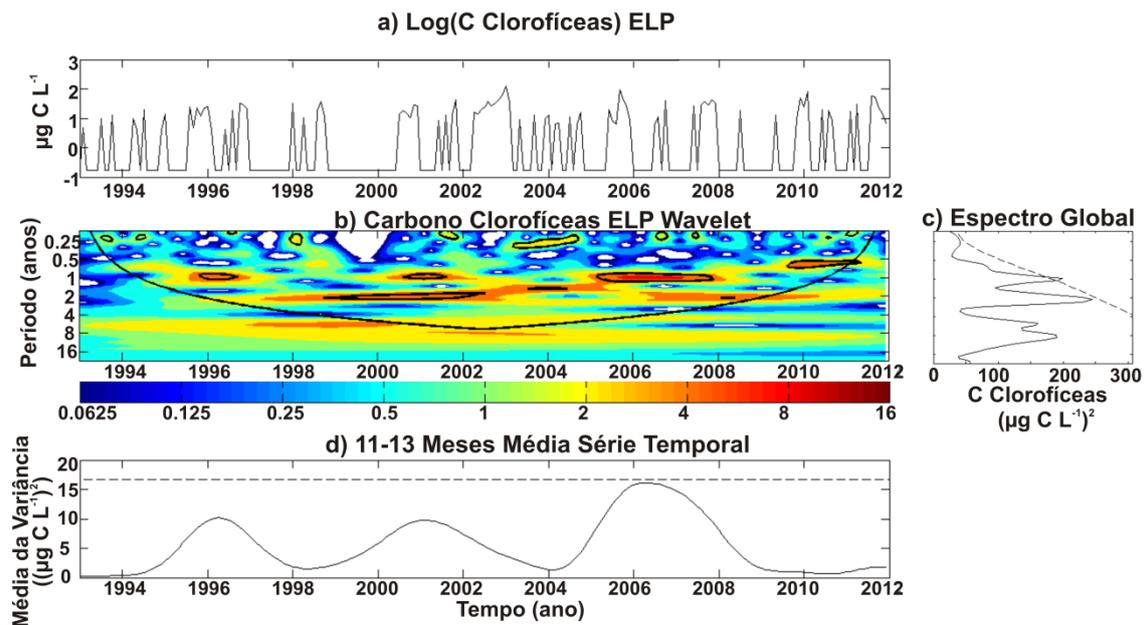


Figura 48. Análise de Ondeletas para Ln (conteúdo de carbono clorófitas) no ELP. a) série Ln(µg C L⁻¹), b) espectro de energia da ondeleta em µg C L⁻¹ (linha preta representa o cone de influência e contornos pretos o nível de significância de 5%), c) análise espectral dos dados de conteúdo de carbono celular clorófitas e d)

integração da energia para cada ponto da série para a banda de 11-13 meses. Linhas tracejadas: nível de confiança de 95%.

Tendências de longo prazo no ELP

Fatores físicos

As médias anuais de temperatura variaram entre 17 a 21 °C, e foram relativamente maiores de 2000 a 2006 e 2010 e menores nos anos de 1999 e 2011 (Fig. 49a). Uma alta variabilidade também foi observada para as médias anuais de precipitação (70 a 187 mm mês⁻¹) e salinidade (4 a 19). Estas variáveis exibiram um comportamento inverso (Fig. 49b, c). Os valores de precipitação anual foram mais elevadas em 2 períodos: 1998 (1845.4 mm) e 2001 (2263.3 mm), coincidindo com baixa salinidade. Médias anuais mais elevadas de salinidade foram observadas em 1999/2000 e 2006, quando a precipitação foi relativamente baixa. A temperatura da água precipitação e a salinidade mostraram uma leve tendência de incremento, não significativa ($p_{temp}=0.7721$, $slope_{temp}=0.0106$; $p_{precip}=0.7412$, $slope_{precip}=4.619$; $p_{sal}=0.42722$, $slope_{sal}=0.1577$).

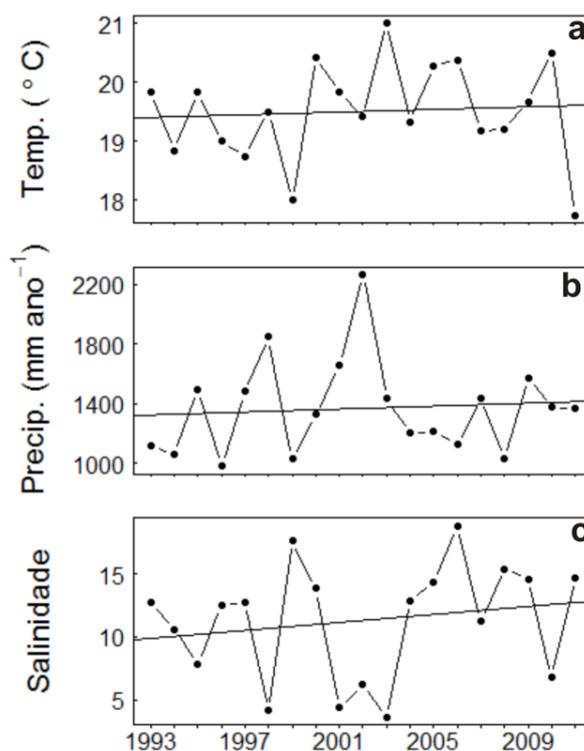


Figura 49. Valores médios anuais observados (linha preta) com as respectivas linhas de tendência (linhas sólidas finas) para a) Temperatura da água no ELP, b) Precipitação em Rio Grande e c) Salinidade no ELP.

Parâmetros ambientais

As concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) tiveram maior contribuição de amônia do que nitrito+nitrato (ver Tabela 3). As médias anuais observadas (5.29-26.8 μM) e estimadas mostraram uma tendência ao incremento (slope=1.0328 e 1.0373, respectivamente para as médias observadas e estimadas). Essa tendência foi significativa para as médias estimadas ($p=0.0496$), mas não para as observadas (0.0983) (Fig. 50a). Esse incremento mostra que a tendência é mais significativa quando o efeito da salinidade é excluído.

O fósforo inorgânico dissolvido (DIP) apresentou médias anuais entre 0.34 e 2.09 μM . A observação das médias observadas e estimadas pelo GAM mostram uma tendência decrescente ao longo do tempo (slope_{obs}=-0.0209 e

slope_{est}=-0.019), ainda que nenhum delas tenha sido significativa ($p_{obs}=0.23$ e $p_{est}=0.2339$) (Fig. 50b).

Os valores de concentração de sílica dissolvida (DSi) em geral foram maiores do que os de DIN (Tabela 3), apontando para DSi como um recurso não limitante no ELP. As médias anuais (10.54-88.01 μM) (observada e estimada) mostraram uma leve tendência ao incremento ao longo dos anos (slope_{obs}=1.0137, slope_{est}=1.0174), sem significância ($p_{obs}=0.5389$, $p_{est}=0.4571$) (Fig. 50c).

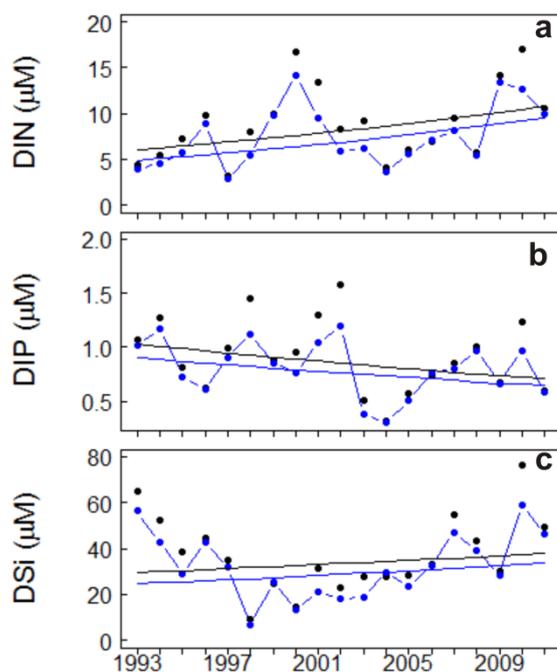


Figura 50. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) dos nutrientes no ELP: a) nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN), b) fosfato inorgânico dissolvido (DIP) e c) sílica dissolvida (DSi).

Os valores da média anual da proporção DIN:DIP apresentaram tendência de incremento significativa ao longo do tempo (Fig. 51a). Para as médias estimadas esta tendência foi mais significativa, indicando que este incremento

está relacionado com outros fatores, independentes da salinidade ($p_{est}=0.0091$ e $slope_{est}=1.0659$, $p_{obs}=0.0224$ e $slope_{obs}=1.0586$). A proporção DSi:DIN mostrou tendência ao decréscimo ao longo do tempo ($slope_{obs}=-0.0182$, $slope_{est}=-0.0173$), sem significância para as médias observada e estimada ($p_{obs}=0.5685$, $p_{est}=0.5858$) (Fig. 51b).

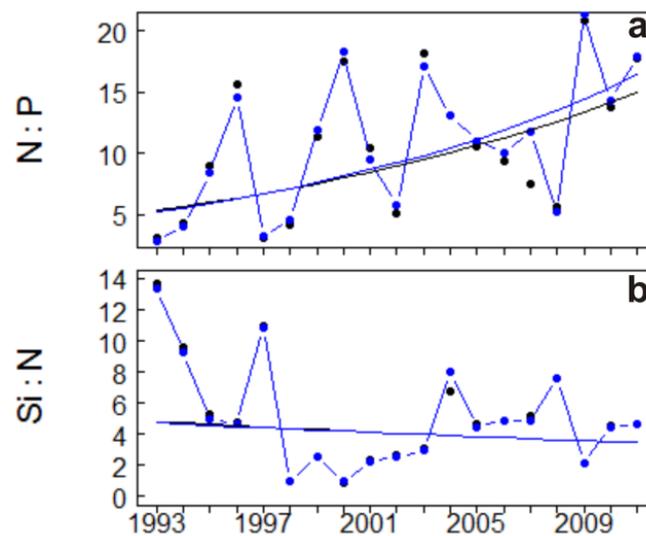


Figura 51. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) da proporção de base atômica entre os nutrientes no ELP: a) DIN:DIP (N:P) e b) DSi:DIN (Si:N).

Os valores médios de concentração de clorofila *a* variaram de 2 a 8 $\mu\text{g L}^{-1}$ e não apresentaram tendência significativa entre os anos de 1993 e 2011 ($p_{obs}=0.9081$ e $slope_{obs}=0.0019$, $p_{est}=0.7396$ e $slope_{est}=0.0056$) (Fig. 52a). Os valores das médias anuais observadas de transparência da água variaram entre 30 e 90 cm, apresentando uma leve tendência ao incremento, enquanto que os valores estimados pelo GAM, descontando o efeito da salinidade, uma tendência decrescente, sendo apenas a última significativa ($p_{obs}=0.9639$ e $slope_{obs}=0.0006$, $p_{est}=0.0006$ e $slope_{est}=-0.98$) (Fig. 52b).

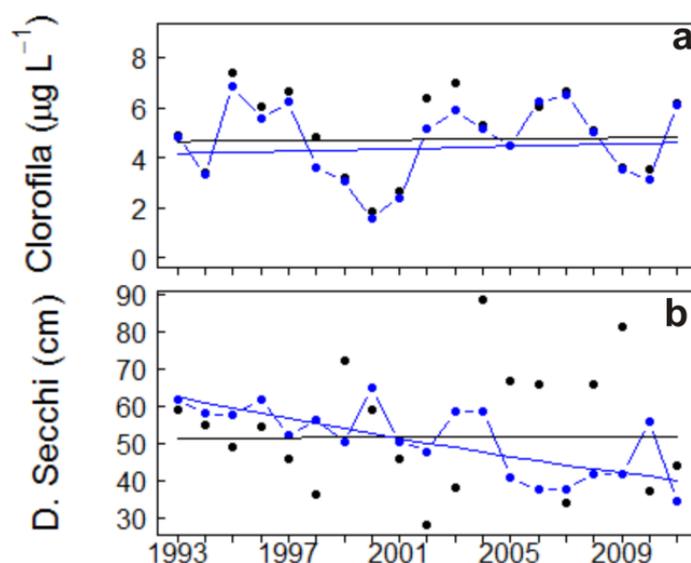


Figura 52. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Clorofila a e b) Profundidade do disco de Secchi .

Fitoplâncton

As médias anuais da densidade total do fitoplâncton variaram entre $1.6 \cdot 10^6$ e $1.3 \cdot 10^7$ cél L⁻¹ e, assim como a clorofila a, a sua variação não foi significativa para as médias observadas nem para as estimadas pelo GAM ($p_{\text{obs}}=0.6372$ e $\text{slope}_{\text{obs}}=-1.0105$, $p_{\text{est}}=0.9847$ e $\text{slope}_{\text{est}}=1.003$) (Fig. 53a). A biomassa em carbono total do fitoplâncton mostrou uma leve tendência de incremento ao longo dos anos, com significância apenas para as médias estimadas ($p_{\text{obs}}=0.1645$ e $\text{slope}_{\text{obs}}=1.0609$, $p_{\text{est}}=0.0366$ e $\text{slope}_{\text{est}}=1.0473$) (Fig. 53b).

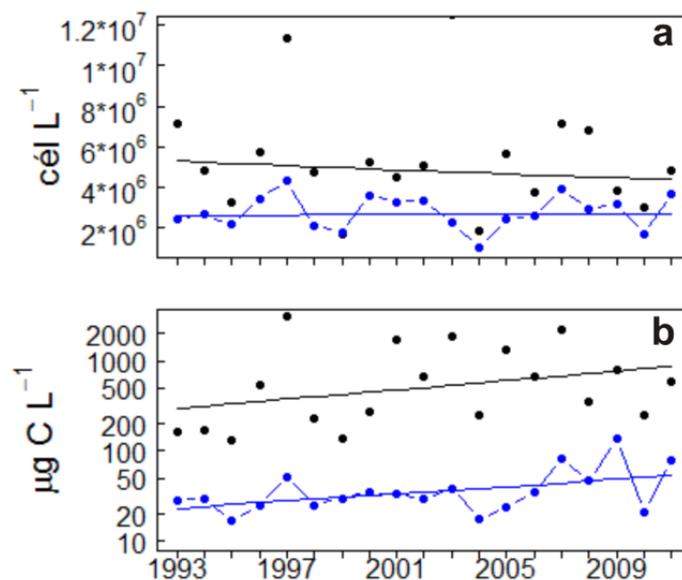


Figura 53. Médias anuais observadas (preto) e estimadas pelo GAM (azul) com as linhas de tendência (preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade total do fitoplâncton e b) Biomassa em carbono total do fitoplâncton.

As diatomáceas apresentaram médias anuais que variaram entre $2.0 \cdot 10^5$ e $5.7 \cdot 10^7$ cél L^{-1} , para densidade e 21.57 e $353.4 \mu\text{g C L}^{-1}$, para biomassa em carbono. Ambas as médias anuais (observadas e estimadas), tanto para a densidade e conteúdo de carbono, apresentaram uma tendência ao incremento (Fig. 54a, b). A densidade celular apresentou tendência significativa apenas para as médias estimadas ($p_{\text{obs}}=0.1194$, $\text{slope}_{\text{obs}}=1.0586$; $p_{\text{est}}=0.007$, $\text{slope}_{\text{est}}=1.0991$). No caso da biomassa em carbono, apenas as médias observadas apresentaram tendência significativa ($p_{\text{obs}}=0.0405$, $\text{slope}_{\text{obs}}=1.0752$; $p_{\text{est}}=0.0501$, $\text{slope}_{\text{est}}=1.0716$).

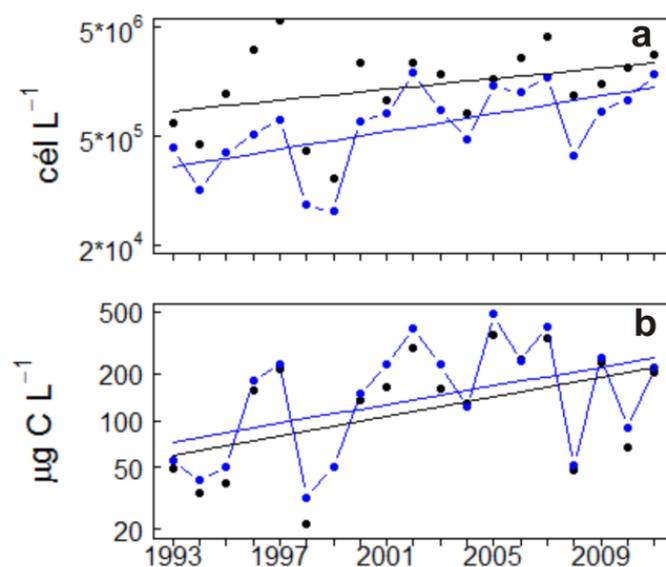


Figura 54. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de diatomáceas e b) Conteúdo de carbono de diatomáceas.

As cianobactérias apresentaram densidades médias anuais que variaram entre $2.0 \cdot 10^2$ e $8.6 \cdot 10^6$ cél L⁻¹ e biomassas anuais entre 0.000043 e 5.425 µg C L⁻¹. Este grupo apresentou tendências de aumento para densidade ($p_{\text{obs}}=0.507$, $\text{slope}_{\text{obs}}=1.0789$; $p_{\text{est}}=0.1145$, $\text{slope}_{\text{est}}=1.15$) e biomassa em carbono ($p_{\text{obs}}=0.3123$, $\text{slope}_{\text{obs}}=0.146$; $p_{\text{est}}=0.0867$, $\text{slope}_{\text{est}}=0.1978$), todas sem significância (Fig. 55a, b).

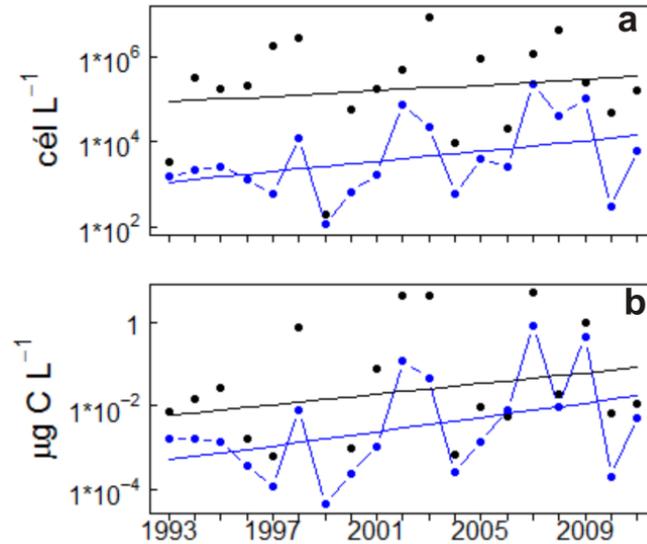


Figura 55. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de cianobactérias, b) Conteúdo de carbono de cianobactérias.

Clorófitceas exibiram médias anuais que variaram entre 0 e $1.2 \cdot 10^5$ cél L^{-1} , para densidade, e 0.000001 e $0.1053 \mu\text{g C L}^{-1}$, para biomassa de carbono. Esse grupo apresentou tendência de incremento para densidade ($p_{\text{obs}}=0.1349$, $\text{slope}_{\text{obs}}=1.1255$; $p_{\text{est}}=0.1679$, $\text{slope}_{\text{est}}=1.1236$) e biomassa ($p_{\text{obs}}=0.3609$, $\text{slope}_{\text{obs}}=0.1207$; $p_{\text{est}}=0.1543$, $\text{slope}_{\text{est}}=0.1725$), todas sem significância.

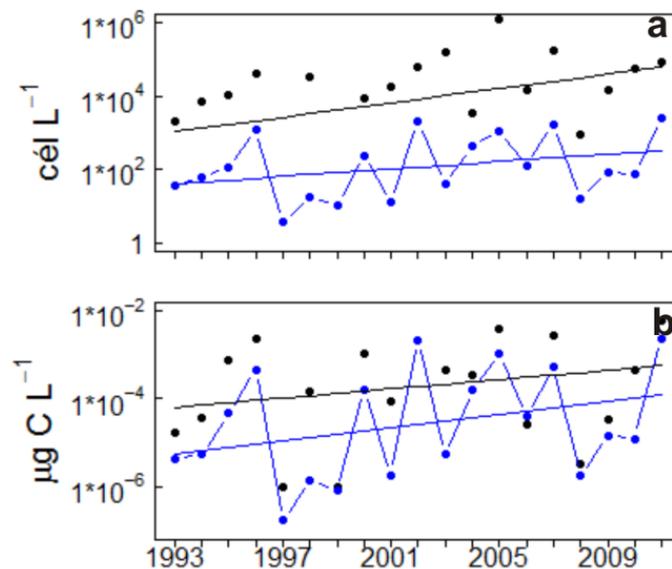


Figura 56. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de clorófitas, b) Conteúdo de carbono de clorófitas.

Os dinoflagelados apresentaram médias anuais bastante variáveis para densidade celular ($1.5 \cdot 10^3 - 7.4 \cdot 10^5$ cél L^{-1}), bem como biomassa (0.00014 - 18.73 $\mu g C L^{-1}$). As médias anuais observadas e estimadas pelo GAM para dinoflagelados apresentaram tendências ao incremento. Ambas as médias foram significativas para o conteúdo de carbono ($p_{obs}=0.0229$, $slope_{obs}=0.3205$; $p_{est}=0.0315$, $slope_{est}=0.2794$) e a média anual estimada também foi para a densidade ($p_{obs}=0.3878$, $slope_{obs}=1.0675$; $p_{est}=0.0099$, $slope_{est}=1.2593$) (Fig. 57a,b).

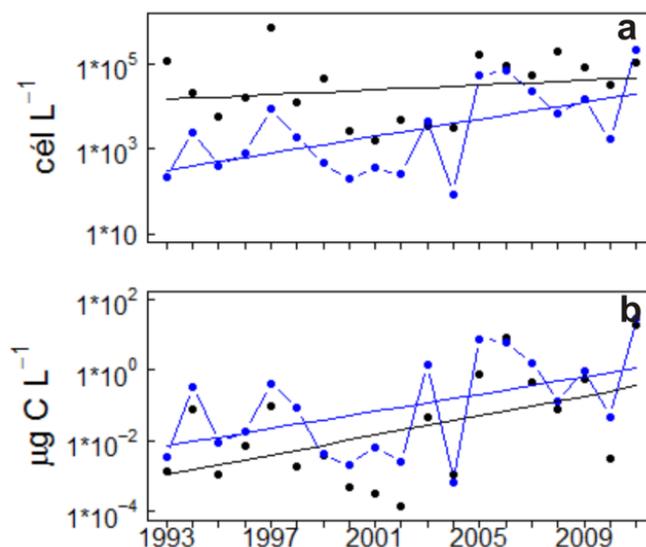


Figura 57. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de dinoflagelados e b) Conteúdo de carbono de dinoflagelados.

Para os flagelados, as médias anuais variaram de $7.3 \cdot 10^5$ a $6.3 \cdot 10^6$ cél L^{-1} , para densidade, e 9.542 e 39.84 $\mu g C L^{-1}$. As médias observadas e estimadas

pelo GAM apresentaram uma tendência ao decréscimo da densidade celular ao longo do tempo, significativa e não significativas para as médias observadas e estimadas, respectivamente ($p_{\text{obs}}=0.0012$, $\text{slope}_{\text{obs}}=-1.0655$; $p_{\text{est}}=0.0516$, $\text{slope}_{\text{est}}=-1.0387$) (Fig. 58a). A variação das médias ao longo do tempo não apresentaram significância para o conteúdo de carbono ($p_{\text{obs}}=0.3062$, $\text{slope}_{\text{obs}}=-0.0188$; $p_{\text{est}}=0.4662$, $\text{slope}_{\text{est}}=-0.143$) (Fig. 58b).

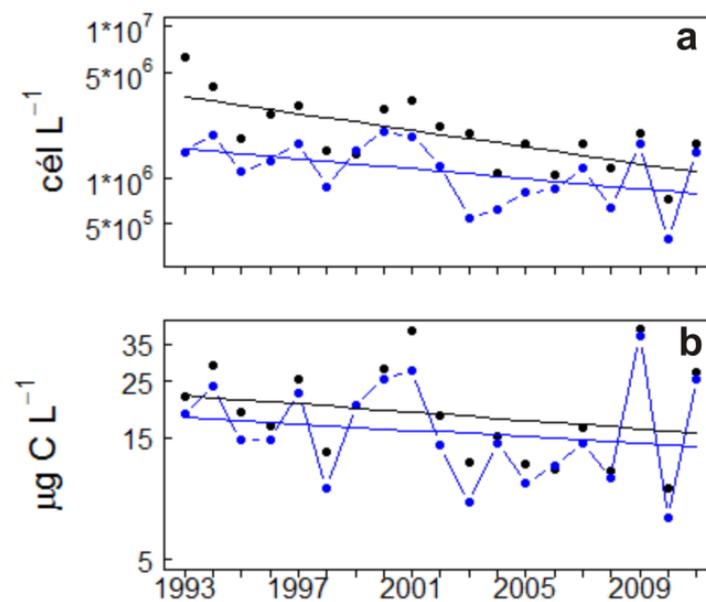


Figura 58. Médias anuais observadas (linha preta) e estimadas pelo GAM (pontos azuis) com as linhas de tendência (linhas sólidas finas, preta para as médias observadas e azul para as estimadas) no ELP para a) Densidade de flagelados e b) Conteúdo de carbono de flagelados.

Discussão

No ELP, mudanças significativas da salinidade são acionadas pela descarga dos rios e ação dos ventos, que são fortemente associadas ao fenômeno *El Niño*-Oscilação Sul (Möller *et al.* 2001; Möller *et al.* 2009). Na região sul do Brasil, episódios de *El Niño* e *La Niña* são respectivamente relacionados positiva e negativamente com anomalias de precipitação (Grimm *et al.* 1998; 2000). Estas oscilações climáticas de larga escala influenciam a descarga dos rios na bacia de drenagem da Lagoa dos Patos, afetando assim a salinidade no ELP. O período compreendido aproximadamente entre 1997 e 2003 mostrou grande energia para todas as variáveis (exceto temperatura) na Análise de Ondeletas. Em termos práticos isso é o indicativo de alguma alteração na dinâmica das variáveis, que pode representar um distúrbio, direto ou indireto, nos processos ecológicos. O período entre 1997 e o começo dos anos 2000 foi marcado por uma transição abrupta entre situações de *El Niño* e *La Niña* fortes (Abreu *et al.* 2010).

Os resultados das Análises de Decomposição tiveram uma boa concordância com aqueles obtidos através da Análise de Ondeletas. Os distintos métodos se mostraram complementares na identificação e definição de diferentes escalas temporais das variáveis abióticas e de fitoplâncton no ELP. Entretanto o comprimento da série temporal ainda não é longo o suficiente para garantir uma resolução de ciclos maiores do que cinco anos, acarretando em muitas incertezas na Análise de Ondeletas.

A salinidade foi o fator mais importante na modulação da composição e abundância da comunidade de fitoplâncton no ELP, como observado no

resultado da CCA. Estuários são caracterizados por grandes variações temporais e espaciais de salinidade, que influenciam a qualidade da água e a dinâmica do fitoplâncton (Smayda 1983). Na curta escala de tempo (horas, dias) foi atestado que a alta variabilidade da salinidade no ELP, relacionada com as trocas de água, controla as concentrações de clorofila a na coluna de água e também a estrutura da comunidade de fitoplâncton (Fujita & Odebrecht 2007; Abreu *et al.* 2010).

Nas tendências de longo prazo, observa-se um aumento das concentrações de DIN, mais expressivo quando o efeito da salinidade é removido. O aumento das concentrações DIN foram devidas principalmente ao incremento de amônia, que é um indicador de poluição industrial e por esgotos domésticos. A eutrofização é um problema reconhecido no ELP (Niencheski & Zepka-Baumgarten 2007), mas tornou-se mais acentuada nos últimos anos, provavelmente com a implementação do Polo Naval de Rio Grande e o conseqüente aumento populacional.

Apesar dos sinais de eutrofização, as concentrações de DIP apresentaram uma leve tendência de decréscimo, o que não seria esperado uma vez que os esgotos industrial e doméstico em princípio aumentam a carga de nitrogenados e fosfatados nos sistemas (Nixon 1995). Uma explicação para esse comportamento de DIP, poderia ser que apenas a fração dissolvida na superfície da coluna da água foi amostrada e pode não refletir a verdadeira tendência do teor de todos os elementos fosfatados (Baumgarten & Niencheski 2010). Entretanto, ressalta-se um aumento na relação N:P (máximo=1002) na coluna de água, que aponta o DIP como um possível fator limitante para os

produtores primários no ELP, segundo a Lei do Mínimo de Liebig (Redfield *et al.* 1963).

Apesar do incremento das concentrações de DIN, não houve mudança nas concentrações de clorofila *a* ao longo do tempo. Abreu *et al.* (2010), ao analisarem a série de dados de clorofila *a* até 2007, sugeriram um possível efeito de oligotrofização ou de exportação da biomassa clorofiliana. Os dados do presente estudo apontam para uma possível limitação por luz. Os dados de profundidade do Disco de Secchi mostram valores baixos, com uma média de 75 cm. Os ciclos sazonais de clorofila *a* e transparência da água (ambos significativos) se mostram inversos, com mínimo em maio e máximo em outubro para clorofila *a* e mínimo em outubro e máximo em maio para a transparência. A componente interanual da Análise de Decomposição indica uma tendência decrescente dos valores de profundidade do Disco de Secchi. Além disso, ao removermos o efeito da salinidade, essa variável também mostra uma tendência negativa, com significância estatística. Foi mostrado em outros estudos que em ambientes eutrofizados limitados por luz, há pouca ou nenhuma resposta da clorofila *a* ao incremento de nutrientes (Cloern 2001).

A contribuição relativa dos grupos taxonômicos mostra feições completamente diferentes quando tratamos da densidade celular, com dominância de flagelados, ou biomassa, com dominância de diatomáceas. Essa inversão de dominância reflete o conceito básico de que organismos menores tem maior densidade mas pequena biomassa e vice e versa (Reynolds 2006).

O ciclo sazonal apontou maio como sendo um mês de baixa concentração para o fitoplâncton (densidade celular total e biomassa total,

clorofiliana e em carbono). Os máximos se mostraram diferenciados, sendo mais próximos para densidade celular total (setembro) e clorofila *a* (outubro), do que para a biomassa em carbono total, com máximo em janeiro. Essa diferença pode refletir a presença de diatomáceas marinhas grandes, com menor densidade celular e maior biomassa, no verão. As tendências de longo prazo também se mostram diferentes para clorofila *a* (neutra), densidade celular total (decréscimo) e biomassa total em carbono (aumento). Este pode ser um indicativo de alteração das características da comunidade de fitoplâncton, como aumento de tamanho dos organismos.

A discrepância entre ciclos sazonais e tendências de densidade celular, biomassa clorofiliana e biomassa em carbono é devida ao fato de que estas representam diferentes propriedades do fitoplâncton. As diferenças entre as tendências encontradas para biomassa em carbono e clorofila *a*, também pode estar relacionada a variações fisiológicas dos organismos (Vörös & Padisák 1991). A análise e conversão desses indicadores tem suas limitações, e os métodos devem ser empregados de forma conjunta para uma melhor compreensão desta comunidade.

Conclusões

Apesar da existência de uma grande variabilidade mensal nos parâmetros ambientais e biológicos no Estuário da Lagoa dos Patos, constata-se a importância de escalas temporais de médio e longo prazo. Ressalta-se a variabilidade dos parâmetros abióticos salinidade, nutrientes inorgânicos dissolvidos e transparência da água, que influenciam o fitoplâncton local, refletindo em respostas em sua biomassa e composição de espécies.

A biomassa do fitoplâncton é dominada por diatomáceas, mas os flagelados são mais abundantes se considerarmos a sua densidade celular. Apesar de menos abundantes ao longo do tempo, as cianobactérias, clorofíceas e dinoflagelados tornam-se importantes pontualmente.

No Estuário da Lagoa dos Patos, existe um ciclo anual significativo de temperatura, salinidade, transparência da água, clorofila *a*, carbono e densidade de fitoplâncton total e de diatomáceas. Os nutrientes inorgânicos dissolvidos e os demais grupos de fitoplâncton (cianobactérias, clorofíceas, dinoflagelados e flagelados) são mais influenciados por eventos e/ou variabilidades de mais larga escala .

A variabilidade interanual é significativa para a maior parte das variáveis. Os períodos de 1997/98 e 1999/2000, associados com eventos climáticos relacionados com o fenômeno *El Niño* Oscilação Sul, aparecem marcados em quase todas as séries de dados, como períodos de alta energia.

A salinidade é o fator mais importante na modulação da comunidade local. Outros fatores com DIP, DSi, razão N:P e temperatura também desempenham papel na estruturação da comunidade fitoplanctônica e alterações nesses fatores

podem desencadear respostas no fitoplâncton e repercutir em outras comunidades e níveis tróficos.

Apesar do comportamento aproximadamente constante da clorofila *a*, os grupos de cianobactérias, clorofíceas, diatomáceas e dinoflagelados apresentam uma tendência ao aumento no ELP. Os flagelados por sua vez, apresentam uma tendência de redução de densidade. Esses resultados dão claros indícios de que mudanças estão em curso na estrutura da comunidade (composição, tamanho).

Referencias

- ABREU, PC, M BERGESCH, LA PROENÇA, CAE GARCIA & C ODEBRECHT. 2010. Short- and long-term chlorophyll *a* variability in the shallow microtidal Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil. *Estuaries and Coasts*, 33: 554–569.
- ANDERSON, TW. 1971. *The statistical analysis of time series*. Wiley, New York. Cap 2.
- ARRIGO, KR. 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature*, 437: 349-355.
- BAUMGARTEN, MGZ & LFH NIENCHESKI. 2010. A coluna sedimentar como reservatório e fonte de nutrientes em enseadas estuarinas. *Tropical Oceanography*, 38:88-105.
- BERGESCH, M & C ODEBRECHT. 1997. Análise do fitoplâncton, protozooplâncton e de alguns parâmetros abióticos no Estuário da Lagoa dos Patos. *Atlântica*, 19: 31-50.
- BOCARD, D, F GILLET & P LEGENDRE. 2011. *Numerical ecology with R*. Springer. Cap. 6.
- BURNHAM, KP & DR ANDERSON. 2002. *Model selection and multimodel inference: A practical information - Theoretic approach*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York. Cap. 2.
- CAZELLES, B, M CHAVEZ, D BERTEAUX, F MÉNARD, JO VIK, S JENOUVRIER & NC STENSETH. 2008. Wavelet analysis of ecological time series. *Oecologia*, 156: 287-304.
- CLOERN, JE. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223-253.

- CLOERN, JE & R DUFFORD. 2005. Phytoplankton community ecology: principles applied in San Francisco Bay. *Mar Ecol Prog Ser*, 285: 11–28.
- CLOERN, JE & AD JASSBY. 2008. Complex seasonal patterns of primary producers at the land–sea interface. *Ecology Letters*, 11: 1294–1303.
- CLOERN, J & A JASSBY. 2010. Patterns and scales of phytoplankton variability in estuarine-coastal ecosystems. *Estuaries and Coasts*, 33: 230-241.
- DODDS, WK, CT ROBINSON, EE GAISER, GJA HANSEN, H POWELL, JM SMITH, NB MORSE, SL JOHNSON, SV GREGORY, T BELL, TK KRATZ & WH MCDOWELL. 2012. Surprises and insights from long-term aquatic data sets and experiments. *BioScience*, 62 (8): 709-721.
- DUCKLOW, HW, SC DONEY & DK STEINBERG. 2009. Contributions of long-term research and time-series observations to marine ecology and biogeochemistry. *Annual Review of Marine Science*, 1: 279-302.
- FUJITA, CC & C ODEBRECHT. 2007. Short term variability of chlorophyll a and phytoplankton composition in a shallow area of the Patos Lagoon Estuary (Southern Brazil). *Atlântica*, 29(2): 93-106.
- GRIMM, AM, SET FERRAZ & J GOMES. 1998. Precipitation anomalies in southern Brazil associated with El Niño and La Niña events. *Journal of Climate*, 11: 2863-2880.
- GRIMM, AM, VR BARROS & ME DOYLE. 2000. Climate variability in southern South America associated with El Niño and La Niña events. *Journal of Climate*, 13: 35-58.
- HASLE, GR. 1978. The inverted microscope. In: SOURNIA, A (ed.) *Phytoplankton Manual. Monographs on oceanographic methodology*, UNESCO Publishing, Paris, v. 6, p. 88-96.

- HILLEBRAND, H, CD DÜRSELEN, D KIRSCHTEL, U POLLINGHER & T ZOHARY. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35: 403-424.
- MARGALEF, R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta*, 1(4): 493-509.
- MENDEN-DEUER, S, AND EJ LESSARD. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnol. Oceanogr.* 45: 569–579.
- MÖLLER, OO, P CASTAING, JC SALOMON & P LAZURE. 2001. The influence of local and non-local forcing effects on the subtidal circulation of the Patos Lagoon. *Estuaries*, 24: 297-311.
- MÖLLER, OO, JP CASTELLO & AC VAZ. 2009. The effect of river discharge and winds on the interannual variability of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* production in Patos Lagoon. *Estuaries and Coasts*, 32: 787-796.
- MÖLLER, O & E FERNANDES. 2010. Hidrologia e Hidrodinâmica. In SEELGER, U & C ODEBRECHT (ed) *O Estuário da Lagoa dos Patos – Um século de transformações*. Editora Ecoscientia, Brazil, Cap. 2.
- MONTAGNES, DJS & DJ FRANKLIN. 2001. Effect of temperature on diatom volume, growth rate, and carbon and nitrogen content: reconsidering some paradigms. *Limnol. Oceanogr.*, 46(8): 2008–2018.
- NIENCHESKI, LF & MG ZEPKA-BAUMGARTEN. 2007. Water quality in Mangueira Bay: anthropic and natural contamination. *Journal of Coastal Research*, SI 47: 56-62.
- NIXON, SW. 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*, 41: 199-219.

- ODEBRECHT, C., PC ABREU. 1997. Environment and biota of the Patos Lagoon estuary: Microalgae. In SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (ed) Subtropical Convergence Environments: the coast and sea in the Southwestern Atlantic. Springer- Verlag. 34-37 pp.
- ODEBRECHT, C, PC ABREU, OO MÖLLER JR, LF NIENCHESKI, LA PROENÇA & LC TORGAN. 2005. Drought effects on pelagic properties in the shallow and turbid Patos Lagoon, Brazil. *Estuaries* 28: 675–685.
- ODEBRECHT, C, M BERGESCH, S MEDEANIC & PC ABREU. 2010. A Comunidade de microalgas. In SEELGER, U & C ODEBRECHT (ed) O Estuário da Lagoa dos Patos – Um século de transformações. Editora Ecoscientia, Brazil, Cap. 5.
- OLENINA, I, S HAJDU, L EDLER, A ANDERSSON, N WASMUND, S BUSCH, J GÖBEL, S GROMISZ, S HUSEBY, M HUTTUNEN, A JAANUS, P KOKKONEN, I LEDAINE & E NIEMKIEWICS. 2006. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea HELCOM Balt.Sea Environ. Proc. 106, 144pp.
- OLVER, FWJ, DW LOZIER, RF BOISVERT & CW CLARK (ed). 2010. NIST Handbook of Mathematical Functions, Cambridge University Press, New York. URL <http://dlmf.nist.gov/19.33>.
- PINET, PR. 2003. Invitation to oceanography. Jones & Bartlett Publishers. 625 pp.
- PRITCHARD, DW. 1967. What is an estuary: physical viewpoint. In LAUF, GH. (ed.) *Estuaries*. A.A.A.S. Publ. 83: 3-5.

- R Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- REDFIELD, AC, BH KETCHUM & FA RICHARDS. 1963. The influence of microorganisms on the composition of sea-water. In: HILL, MN (ed.). The composition of seawater. Comparative and descriptive oceanography. The sea: ideas and observations on progress in the study of the seas, 2. Wiley Interscience, 26-77 pp.
- REYNOLDS, C. 2006. Ecology of Phytoplankton. New York, Cambridge University Press, Cap. 5: 178-238.
- SEELIGER, U. & C ODEBRECHT. 1997. Introduction and overview. In SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (eds.) Subtropical Convergence Environments: The Coast and Sea in the Southwestern Atlantic. Springer-Verlag, Cap. 1: 1-4.
- SEELIGER, U. 2010. Introdução. In SEELIGER, U & C ODEBRECHT (ed) O Estuário da Lagoa dos Patos – Um século de transformações. Editora Ecoscientia, Brazil, Chap. 1.
- SMAYDA, TJ. 1983. The phytoplankton of estuaries. In GOODALL, DW (ed.). Ecosystems of the World. Elsevier Scientific. 65-102 pp.
- SMAYDA, TJ & CS REYNOLDS. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. Journal of plankton research, 23 (5): 447-461.
- STECH, JL & JA LORENZETTI. 1992. The response of the south Brazil bight to the passage of wintertime cold fronts. Journal of Geophysical Research 97(C6): 9507-9520.

- STRICKLAND, JDH & TR PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167, 293 pp.
- SUN, J & D LIU. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 25(11):1331-1346.
- TORRENCE, C & GP Compo. 1998. A practical guide to wavelet analysis. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 79, 61–78.
- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12. Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris. 53 pp.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitteilungen der Internationalen Vereinigung der theoretischen und angewandten Limnologie* 9:1–38.
- VÖRÖS, L & J PADISÁK. 1991. Phytoplankton biomass and chlorophyll-a in some shallow lakes in central Europe. *Hydrobiologia* 215: 111-119.
- WELSCHMEYER, NA. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.*, 39(8): 1985-1992.
- WINDER, M & JE CLOERN. 2010. The annual cycles of phytoplankton biomass. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 365: 3215-3226.
- ZINGONE, A, EJ PHILIPS, & JP HARRISON. 2010. Multiscale variability of twenty-two coastal phytoplankton time series: a global scale comparison. *Estuaries and Coasts* 33: 224-229.

Anexo I: Manuscrito para submissão

Authors: Lumi Haraguchi*¹, Jacob Carstensen², Paulo Cesar Abreu¹ & Clarisse Odebrecht¹

Title: Phytoplankton long-term variations in a subtropical estuary under anthropic pressure in Brazil

¹ Institute of Oceanography – Federal University of Rio Grande-FURG, Av. Italia, km 8, Rio Grande, Brazil.

² [Department of Bioscience](#) - Aarhus University, Frederiksborgej 399, DK-4000 Roskilde, Denmark.

*e-mail: lumi.haraguchi@gmail.com

Abstract

Changes in the physical environment, water quality and phytoplankton main taxonomical groups were evaluated in the subtropical Patos Lagoon Estuary (PLE), southern Brazil. For this, long-term monthly time series were analyzed. The salinity effect has also taken in account and the relationships between this variable and nutrients, water transparency and phytoplankton were estimated by Generalized Additive Models. Our findings show increasing trends for salinity, DIN and for diatoms, cyanobacteria, dinoflagellates and chlorophytes, and decreasing for DIP, Secchi depth and flagellates, however without significant changes of Chlorophyll *a*. Long-term variability in the PLE was mainly related to salinity, which was driven by local and remote precipitation and climate (ENSO events). Other factors, possibly related to anthropogenic activities, also played an important role. Despite the stable absolute chlorophyll *a* level, phytoplankton community composition changes were observed, as increase of chlorophytes, cyanobacteria, diatoms and dinoflagellates and decrease of flagellates.

Keywords: Phytoplankton community, chlorophyll, environmental changes, El Niño, eutrophication

Introduction

Phytoplankton play an important role in aquatic environments as primary producers and the species constitute a diverse phylogenetic group with a broad range of ecological strategies (Katz *et al.* 2004). It is generally believed that differences in functional and physiological characteristics, such as cell size, cell volume, colony formation and growth rate, in combination with environmental conditions will select for a given community structure and in turn, that species composition and diversity will influence resource use and energy transfer to higher trophic levels (Ptacnik *et al.* 2008; Schmidtke *et al.* 2010; Lewandowska *et al.* 2012).

Phytoplankton photosynthesis and cell growth require availability of light and inorganic nutrients and hence, phytoplankton can significantly affect and be affected by biogeochemical cycles of carbon, nitrogen, phosphorus and silicate, from local to global scale (Redfield *et al.* 1963; Arrigo 2005). Margalef (1978) established a succession overview where species change according to turbulence level and nutrient availability, changing from r to K strategists along time. The Margalef's Mandala was refined by Smayda & Reynolds (2001) encompassing turbulence and nutrients as independent governing factors.

It is expected that enhanced inputs of nutrients, especially nitrogen and phosphorus, will lead to biomass increase of primary producers. In a comparison of 12 coastal ecosystems worldwide, four of these in subtropical or tropical zones, Smith (2006) showed a strong positive response of phytoplankton biomass to nutrient enrichment. Carstensen *et al.* (2011) also demonstrated strong responses to nutrient enrichment in a study of 28 coastal ecosystems, although responses to decreasing nutrient concentrations were generally weaker. Increasing N and P inputs to aquatic ecosystems from anthropogenic activities, has led to widespread coastal eutrophication, a recognized problem today all over the world with severe impacts on local ecosystems, including noxious and harmful blooms (Paerl 1988; Hallegraeff 1993), loss in biodiversity (Dodson *et al.* 2000; Rodrigo *et al.* 2003), species replacement (Pearson and Rosenberg 1978), reduced water quality (Sandén and Håkansson 1996), loss of habitat (Orth *et al.* 2006) and severity of hypoxia (Conley *et al.* 2009; Rabalais *et al.* 2009; Howarth *et al.* 2011). However, some coastal areas experiencing nutrient enrichment do not exhibit biomass increases, was and this has been attributed to reduced light availability and thus, light-limited growth of phytoplankton (Cloern 1999; 2001).

Changes in the community composition are also expected in response to nutrient enrichment, manifested as higher occurrences of cyanobacteria and dinoflagellates (Paerl 1988; Smayda 1990;

Hodgkiss & Ho 1997; Smayda & Reynolds 2001). Nutrient enrichment also leads to a loss of phytoplankton diversity (Ptacnik *et al.* 2008), favoring cyanobacteria and flagellates over diatoms, since anthropogenic nutrient enrichment usually does not lead to an increase of silica in the environment, needed for diatom growth (Officer & Ryther 1980). The phytoplankton composition also depends on hydrodynamics as shown by Paerl *et al.* (2007) in a eutrophic estuary in North Carolina, where fast-growing chlorophytes and cryptophytes dominate under high flow conditions, whereas diatoms usually dominate under moderate flow conditions and dinoflagellates and cyanobacteria increase their proportion under low flow conditions.

Most of our knowledge about phytoplankton responses to nutrient enrichment comes from temperate coastal ecosystems in the northern hemisphere. However, studies from subtropical and tropical systems, where the nutrients dynamics may differ from temperate systems, are largely missing and needed in order to generalize these effects across all coastal ecosystems. For example, temperate ecosystems usually are N-limited, but tropical ones often exhibit P-limitation (Downing *et al.* 1999). Another aspect is that local attributes can strongly modulate the coupled nutrient-phytoplankton dynamics (Cloern 2001). However, even apparently similar coastal ecosystems within the same region may have a significant local component, which must be taken into account for a correct interpretation of such relationships, as shown by Carstensen & Henriksen (2009) for Danish coastal water. Finally, focus has mostly been on systems displaying strong increases in phytoplankton biomass to nutrient inputs, potentially biasing our general understanding of phytoplankton responses to nutrient enrichment.

The Patos Lagoon Estuary (PLE; Fig. 1) in southern Brazil is a shallow and turbid subtropical environment where phytoplankton growth is largely light limited (Abreu *et al.* 1995; 2010; Odebrecht *et al.* 2005). Although this estuary does show signs of eutrophication (Niencheski & Baumgarten 2007), Abreu *et al.* (2010) did not observe a phytoplankton biomass increase. In contrast, signals of an ongoing oligotrophication were suggested as a possible remote effect of eutrophication in the Northern area of the Patos Lagoon, where enhanced uptake by phytoplankton nutrient may retain nutrients and act as a biological filter. The recent economical and population expansion of the city of Rio Grande, which is located on the banks of the PLE, may have enhanced nutrient inputs to the PLE and potentially altered the phytoplankton community.

The objective of this study was to describe the long-term variations of nutrients and phytoplankton in the PLE. We investigated if changes in phytoplankton biomass and community structure

were modulated by concentrations of dissolved inorganic nutrients as well as changing hydrodynamical conditions. Our aim was to establish a better understanding of phytoplankton responses to nutrient enrichment in a light-limited subtropical coastal ecosystem.

Materials and methods

Study Area

The Patos Lagoon Estuary (PLE; area 900 km²) is located in southernmost Brazil (32°02'S; 52°05'W) and hosts the harbor of Rio Grande city (Fig. 1). PLE is the entrance to the large Patos-Mirim lagoon system that covers an area of ca. 14,000 km² and has a drainage basin of about 200,000 km² (Seeliger & Odebrecht 1997). The PLE receives the highest freshwater discharge during austral winter/spring (Möller *et al.* 2001; Hirata *et al.* 2010) and is connected to the South Atlantic Ocean through a narrow channel (800 m at the narrowest) that is flanked by two 4 km long jetties. The PLE is mainly shallow (75% of the total area is <2 m), except for natural channels (3-5 m deep) and the main navigation channel (14 m deep). The climate in Southern Brazil is subtropical, and meteorological conditions are associated with the strength and location of the South Atlantic Subtropical High Pressure Center (Seeliger & Odebrecht, 1997). The tidal range in this geographical region is low (amplitude 0.4 m) due the proximity of an amphidromic point, and the hydrodynamics in the PLE are mainly controlled by discharges from the major tributaries (Camaquã, Jacuí and Taquari rivers) and the action of winds (Möller *et al.* 2001). Throughout most of the year NE winds dominate but in winter (June to September) southerly winds become expressive, associated with the passage of polar frontal systems (Stech & Lorenzetti 1992).

Data

Monthly surface water samples from 1993 (January) to 2011 (December) were collected from a pier at a shallow (~2.0 m) fixed point in PLE (32°1'35"S, 52°6'21"W; Fig. 1). This sampling was carried out within the scope of the Brazilian Long Term Ecological Research (BR-LTER). Secchi depth was measured and water samples were collected for phytoplankton counting as well as for analyzing temperature, salinity, dissolved inorganic nutrients (ammonia, nitrite+nitrate, phosphate and silicate) and chlorophyll *a* (Chl) using standard methods, as described in detail by Abreu *et al.* (2010). Precipitation data for Rio Grande city was obtained from the national meteorological agency available at

<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>.

Phytoplankton abundance and composition were obtained by means of the Utermöhl sedimentation method (1958), following recommendations provided by Hasle (1978). Over the entire study period six different counters analyzed the phytoplankton samples using the same technique. Half or the entire chamber was always analyzed under lower magnification (100x) for organisms larger than 50 μm and smaller organisms were counted under magnification of 200x and/or 400x according to the cell density in each sample. Phytoplankton cells were identified to species or higher taxonomical level, and abundances, expressed as "cells L^{-1} ", were calculated across groups of diatoms, dinoflagellates and flagellates, trichomes or colonies for cyanobacteria and chlorophytes. Cells smaller than 5 μm were not consistently counted and therefore excluded from the analysis, in order to obtain the same size spectrum for all samples.

The biovolume of each taxonomical unit was calculated using geometrical formulas (Hillebrand *et al.* 1999; Sun & Liu 2003; Olenina *et al.* 2006), with some adaptations related to the ellipsoid form. The biovolume was converted to the carbon biomass using Montagnes & Franklin (2001) for diatoms, and Menden-Deuer & Lessard (2000) for other species.

Statistical analyses

To describe the long-term variation of the abiotic and phytoplankton variables in the PLE, annual means of the physico-chemical variables were calculated. As all variables (except temperature and salinity) exhibited a right-skewed distribution with scale-dependent variability, they were log-transformed prior to the statistical analyses. A Generalized Additive Model (GAM) with categorical factors for years and months and a smooth spline for the salinity dependency was employed to estimate the annual means adjusted to the entire salinity range (0-35). Thus, the potential effect of varying salinities on Secchi depth, nutrient, Chl and phytoplankton data among years was accounted for. For the taxonomical groups chlorophytes, cyanobacteria and dinoflagellates, two GAM approaches were employed: one model for the presence/absence and one model for the biomass when present. The presence/absence GAM was only applied to these specific groups due to many samples without cells identified to these groups. For the taxonomical groups diatoms and flagellates there were very few samples with zero counts, which for the log-transformation were substituted by the lowest positive value found in the series. The GAM models were also used to examine the nature of the salinity dependency of these variables as a means to understand the functioning of PLE. Linear regression of annual mean values versus time was used to assess the significance of the trends in the annual means.

The potential structuring effect of the abiotic variables on the phytoplankton community was assessed by applying a Canonical Correspondence Analysis (CCA) to log-transformed data of phytoplankton carbon biomass. A reduced taxonomical resolution (n=14 groups) was employed (Table 1) to reduce the effect of rarely encountered species and to reduce artifacts introduced by many zero observations. Phytoplankton species were grouped according to their functional trait, environmental origin (marine, freshwater, brackish or unknown) and morphology, in the case of cyanobacteria (trichomes, coccoid). This resulted in eight groups for diatoms, two for cyanobacteria and dinoflagellates, one for flagellates and chlorophytes (Table 1). The abiotic explanatory variables used in the CCA were Chl, Secchi depth, temperature, salinity, Dissolved Inorganic Nitrogen (DIN), Dissolved Inorganic Phosphorus (DIP), Dissolved Silica (DSi), precipitation and DIN:DIP ratio. All explanatory variables were tested for variance inflation factors (VIFs), and only those with VIFs <10 were included in the analysis. A significance test (global and for individual axes) was performed, applying the permutation test with 1000 realizations and a significance level of 5% (Bocard *et al.* 2011). Data processing and statistical analyses were performed using R v2.15.1 (R Core Team, 2012).

Results

Temperature, precipitation and salinity

During the entire study period (1993 to 2011), monthly precipitation in Rio Grande ranged between 3.1 and 485.4 mm, water temperature in the PLE ranged between 8 and 30 °C, and salinity ranged between 0 and 35. Annual temperature means (17 to 21 °C) were relatively high from 2000 to 2006 and in 2010, and lowest in 1999 and 2011 (Fig. 2a). High interannual variability in precipitation (979.0 to 2263.3 mm yr⁻¹) and annual mean salinity (4 to 19) was also observed (Fig. 2b, c); these variables showing an inversely correlated pattern over time ($r=-0.64$; $p=0.0031$). For example, precipitation was high in 1998 and 2001, which both coincided with low salinities. Conversely, higher salinities were observed in the years 1999-2000 and 2006, when precipitation was relatively low. Water temperature, precipitation and salinity all showed a slight, albeit not significant, increasing tendency over time (Fig. 2).

Water quality data

Inorganic nutrients, chlorophyll *a* and Secchi depth exhibited large variations across the salinity range (Fig. 3) as well between the years (Fig. 4). Seasonal variation was significant only for chlorophyll *a*

and dissolved silica, whereas interannual variation and salinity dependency were significant for all the water quality variables with the exception of Secchi depth interannual variation (Table 2). The GAMs explained between 38 % and 59 % of the deviance in the log-transformed variables.

DIN showed a high variability (0.37 to 145 μM) and was mostly dominated by ammonium. DIN had a negative relationship with salinity, more expressive in the lower range between 0 and 15 (Fig. 3a). Annual means of DIN (5.3 – 26.8 μM) showed an increasing, marginally significant, tendency (Fig. 4a).

DIP data, as DIN, varied over several orders of magnitude (0.02 to 8.72 μM). DIP concentration declined with salinity increasing from 0 to 10, was approximately constant in the salinity range from 10 to 20 and increased again for salinity >20 (Fig. 3b). DIP annual mean values (0.34 – 2.09 μM) decreased slightly over time, but the tendency was not significant (Fig. 4b). As a consequence of increasing DIN and decreasing DIP annual means there was a significant increase in the DIN:DIP ratio over time.

DSi concentrations ranged between 3.0 and 163 μM and were generally higher than DIN (typically 5 to 10 times higher). DSi concentrations were highest at salinities around 3 and decreased with both higher and lower salinities (Fig. 3c). The DSi trend over the entire period was not significant, but DSi annual means displayed a pronounced pattern decreasing from >50 μM in the beginning of the study period to values around 20 μM in 2000 and increasing thereafter to attain values again >50 μM (Fig. 4c).

Chl also varied by more than two orders of magnitude (0.18 to 101 $\mu\text{g L}^{-1}$). The lowest Chl concentrations were observed at salinities around 10, and Chl increased both towards freshwater and oceanic water (Fig. 3d). Chl annual means (2.24 - 18.0 $\mu\text{g L}^{-1}$) did not change significantly over time, although lower concentrations were found in the years 2000 and 2001 (Fig. 4d).

Water transparency was low (mean Secchi depth <20 cm) in the very brackish water but increased with salinities less than 10 (Fig. 3e). Mean Secchi depth levels remained almost constant (50-75 cm) in the salinity range between 10 and 25, and decreased again with higher salinities. The Chl and Secchi Depth data in PLE were inversely correlated ($r = -0.26$, $p = <0.001$). From 1993 to 1998, the variability in the observed annual mean Secchi depths was smaller in the following years from 1999 to 2011. Water transparency estimated annual means, unlike Chl, exhibited a significant decrease trend between 1993 and 2011 (Fig. 4e). Adjusting the Secchi depths to salinity substantially reduced interannual variation in the mean values, whereas these adjustments had minor effects on nutrient and chl concentrations.

Phytoplankton

Phytoplankton biomass was mainly comprised of diatoms (78%), followed by cyanobacteria (15%), flagellates (4%), dinoflagellates (2%) and chlorophytes (1%). The biomass representation of these groups was highly variable over time, ranging several orders of magnitude. As a consequence of this large variability, large standard errors resulted from the statistical analyses of phytoplankton data.

In the CCA, the abiotic data explained 21.09 % of phytoplankton carbon biomass variation (Fig. 5), however, only three of the nine axes were significant using $\alpha=0.05$ and they explained 18.9 % of the total variation or 89.4 % of the total explained variation. All explanatory variables were kept in the analysis since their VIFs were <2 . Salinity was the single most important factor modulating phytoplankton composition. The first CCA axis was related to DIP, salinity and Secchi depth, accounting for 74.6% of the explained variation (15.73% of the total variation), the second axis was related to N:P and temperature, accounting for 8.2% of the explained variation (1.7% of the total variation), and the third axis was related to DIN and DSi, accounting for 6.6% of the explained variation (1.4% of the total variation). Along the first CCA axis, marine planktonic diatoms (Dia2, Dia3), surf zone diatoms (Dia4) and dinoflagellates (Dino, DinUN) were associated to higher salinity and lower DIP, whereas cyanobacteria (Cya1, Cya2), chlorophytes (Clo) and freshwater diatoms (Dia1) showed the opposite pattern. Along the second CCA axis, epibenthic marine diatoms (Dia6) responded positively to the N:P ratio, which was negatively associated to temperature. For the third axis, fresh water diatoms (Dia1), marine planktonic diatoms (Dia3) and epibenthic diatoms (Dia6), were positively related to DIN and temperature, and negatively related to DSi. Estuarine diatoms (Dia5), undefined diatoms (DiaUN), *Skeletonema* spp. (except *S. tropicum*) (Ske) and flagellates were located in the center of the two first CCA axes and did not correlate with any of the physico-chemical variables (Fig. 5).

Ranges in chlorophytes and cyanobacteria biomasses were from 0 and up to 1009 and 9670 $\mu\text{g C L}^{-1}$, respectively. The GAM results for biomass and presence/absence both showed a negative relationship with salinity, consistent with the results from the CCA, confirming that these two groups are mainly freshwater organisms in the PLE, but still with few occurrences in higher salinities (especially for cyanobacteria) (Figs. 6a, b and 7a, b). Interannual and seasonal variations were also significant for chlorophytes and cyanobacteria carbon biomass, and the GAM explained 44.6% and 38.3% of the total variation in the log-transformed variables for chlorophytes and cyanobacteria, respectively. Annual mean carbon biomasses, when these groups were present, showed increasing, although not significant, trends

(Fig. 8a, b). However, there was no significant seasonal variation in the presence/absence for any of the two groups (Table 2), whereas the interannual variations of both chlorophytes and cyanobacteria were significant and displayed increasing trends, albeit not with a general significant tendency (Fig. 9a, b),

Flagellates carbon biomass varied from 0.1944 to 349.6 $\mu\text{g C L}^{-1}$. Salinity and interannual variations were significant and explained 26 % to the total deviance, whereas the seasonal variation was not significant. Flagellates biomass exhibited a negative relationship with salinity, but the phytoplankton group was always present, even at high salinities, as opposed to chlorophytes and cyanobacteria (Fig 6c). Despite the negative relationship with salinity identified by means of the GAM, the CCA was not able to discern a relationship between biomass and salinity (Fig. 5). Overall, this suggests that flagellates include both fresh water and marine organisms. Annual mean biomasses showed a weak decreasing tendency (Fig. 8c).

Diatoms carbon biomass varied from 0.021 to 22420 $\mu\text{g C L}^{-1}$ with significant variations for salinity, and between years and months, explaining 44.2% of the total variation (Table 2). The total carbon biomass generally increased with salinity (Fig. 6d), but the CCA results suggested a more diverse response to environmental conditions, including salinity, among the different diatom groups (Fig. 5). Annual means of diatom biomass increased over time, although not significantly (Fig. 8d).

Dinoflagellates carbon biomass varied from 0 to 1270 $\mu\text{g C L}^{-1}$ with significant variations among years and months, explaining 35% of the biomass variation, when dinoflagellates were present (Table 2). However, the biomass showed a slight negative relationship with salinity (Fig. 6e). On the other hand, the presence of dinoflagellates varied significantly among years and with salinity, but did not have a significant seasonal pattern (Table 2). Dinoflagellates generally increased their presence with salinity (Fig. 7c), consistent with the CCA results (Fig. 5). Annual mean biomass values increased significantly over time (Fig. 8e). Similarly, the probability of presence also increased over time, but not significantly (Fig. 9c).

Discussion

Climate effects

Salinity was the most important factor modulating long-term phytoplankton community composition and abundance in the PLE (see Fig 5, CCA). Estuaries are characterized by large temporal and spatial changes in salinity, which influence water quality and phytoplankton dynamics (Smayda,

1983). In the short time scale (hours, days) it has also been shown that high salinity variability related to water exchange in the PLE controls chlorophyll *a* in the water column and the phytoplankton community structure (Fujita & Odebrecht, 2007; Abreu *et al.*, 2010).

In the PLE, significant salinity changes are driven primarily by river discharge and winds action, which are strongly associated with the *El Niño* Southern Oscillation (ENSO) in the Pacific Ocean (Möller *et al.*, 2001; Möller *et al.*, 2009). In Southern Brazil, *El Niño* and *La Niña* episodes are positively and negatively related with rainfall anomalies, respectively (Grimm *et al.* 1998; 2000; Haylock *et al.* 2006). These large-scale climate oscillations influence river discharge in the drainage basin of the Patos Lagoon and consequently salinity in the PLE, but local precipitation and evaporation can be important as well. Changes in salinity in PLE are thus related to the coupling and/or changes of the local hydrodynamics and large-scale effects. The 1998 and 2001 freshwater-influenced periods in the PLE were *El Niño* years and both events were associated with low salinity in PLE. On other hand, there is an increasing tendency for both precipitation and salinity, which seems to be contradictory. This evidence suggests that other factors, probably related with hydrodynamics, are driving this salinity increase, despite the increase in precipitation. There are strong evidences of large-scale salinity changes in the subtropical Atlantic Ocean with an increase tendency, related to anthropogenic forcing in water cycle, that could also have local effects (water shortages, lack of storage capability and seasonal changes) (Barnett *et al.* 2008, Terray *et al.* 2012). These large-scale salinity changes in the subtropical Atlantic Ocean and the results in the PLE may be related or giving a clue of local changes in the hydrological dynamics due to climate and/or anthropogenic forcing.

Temperature is another important climate tracker. The PLE is a shallow environment, and does not present a consistent thermal inertia, being sensitive to temperature changes. However, the data we analyzed did not show a significant trend for this variable. The period 2000-2006 had relatively high temperatures (~ 1.0 °C higher than normal), while in contrast, 2011 had the lowest annual mean. The present data set is not sufficiently long enough to demonstrate overall increasing trends, but higher temperature variability in recent years could be suggested. The CCA analysis showed a possible negative temperature effect for marine epibenthonic diatoms (second CCA axis), taking into account the whole series and major groups. One hypothesis for the negative relationship of epibenthonic diatoms with temperature is that their occurrence in the PLE can be associated with cold fronts passage and

consequently resuspension in the coastal environment and water entrance in the estuary due the southern winds action.

Signs of eutrophication

The observed negative relationship between salinity and nutrients concentration in the PLE is expected due to the higher concentrations of nitrogen, phosphorus and silica in freshwater sources; the downward curvilinear appearance suggests a net nutrient uptake taking place in the PLE (Nixon *et al.* 1986). It is noteworthy that DIN increased significantly despite increasing salinity, clearly indicating that nitrogen enrichment was taking place during the study period. In a previous study covering 1986-2008 this trend was not evident (Abreu *et al.* 2010). This difference is most likely due to DIN increases being more pronounced in recent years.

The increase of DIN at PLE is mainly driven by ammonium concentration, which indicates that the source is mainly from industry and sewage discharges. Niencheski *et al.* (2006) point to the lack of basic sanitation in the urban areas around the Patos Lagoon contributing to eutrophication due the lixiviation in rainy seasons or temporary population increase in the balnearies during summer. Organic matter and nutrients from domestic and industrial effluents are still discharged untreated despite the implementation of a wastewater treatment system in 2004 (Niencheski & Zepka Baumgarten 2007). Many houses and factories use septic tanks and clandestine links to the pluvial system or directly to the lagoon contributing to the accelerated eutrophication. In addition, since 2005 (and especially after 2008) Rio Grande is experiencing a fast economic growth with extensive maritime activities, and the associated population increase is an additional factor leading to the increased DIN concentrations in the PLE recently.

Harris (2001) showed that pristine rivers in Australia export little nitrogen and phosphorus, and the predominant form is organic, while the increase of human population led to the reverse, with increased export of predominantly inorganic nitrogen and phosphorus. The observed decreasing tendency of DIP over time in the PLE was not expected, since the developments in the watershed would lead to enrichment of both nitrogen and phosphorus (Nixon 1995). It should be stressed that only observations of inorganic nutrients in the water column were analyzed during the long-term sampling and that these may not completely reflect the trends of total nutrients in the PLE (Baumgarten & Niencheski 2010). Despite the observed decreasing trend of DIP concentrations (Fig. 4b), concentrations are still high and unlikely to

limit phytoplankton growth in the PLE. One hypothesis, which may explain the DIP decrease in the PLE, is the favorable P uptake relative to the Redfield ratio by other primary producers such as seagrasses and drifting macroalgae. The biomass of both these groups increased since 2007 after a decade of low values in the PLE (Copertino, pers. comm.). Our results also showed that planktonic freshwater microalgae with DIP affinity like cyanobacteria and chlorophytes increased in the PLE despite increasing salinity. Besides a flexible growth strategy for nitrogen uptake, high phosphorus affinity and storage capacity by cyanobacteria are important mechanisms (Piehler *et al.* 2004; Dyhrman & Haley 2006; Burford & Davis 2011).

The opposite trends for DIN and DIP led to increased DIN:DIP ratio in the PLE, and potential nitrogen limitation is becoming less frequent. Diatoms and cyanobacteria usually have different growth strategies with low and high internal N:P ratios, respectively (Arrigo 2005; Martiny *et al.* 2013), with a high P affinity of cyanobacteria and a high nitrogen affinity for diatoms. Thus, diatoms grow faster than other phytoplankton taxa when the environment is nitrogen replete (Parsons *et al.* 1978; Lomas & Glibert 2000). In the Pamlico Sound, Piehler *et al.* (2004) observed that cyanobacteria are favored when nitrogen concentrations are low and diatoms are favored when this resource is available in higher concentrations. Thus, we may conclude that the diatoms increase in PLE is possibly related to the DIN increase. Glipin *et al.* (2004) alert to the fact that increasing DIN shifts the Si:N ratio, with potential limiting effects for diatoms growth and consequently changes in the assembly structure.

DSi concentrations are generally high in the PLE with a slight increasing trend. Enhanced nutrient discharge from land does not lead to DSi increases (Officer & Ryther, 1980) and the main source of DSi to the PLE comes from the tributaries to the Patos Lagoon (Niencheski & Windon 1994). However, during periods of low freshwater discharge and oligohaline water reaching up the central area of Patos Lagoon, inorganic nutrients are taken up by phytoplankton and become depleted in the upper reaches (Odebrecht *et al.* 2005). Under such circumstances, when these waters, depleted in inorganic nutrients, reach the PLE a lowering of inorganic nutrient concentrations is observed. The lowest concentration of DSi in 1998 may be explained by such mechanism, as it coincided with low salinity in the PLE. In our study, diatoms tended to increase over time in the PLE, and this increase was more expressive without the salinity effect. Hence, it is probably a response to the increased nitrogen availability and the fact that potential DIP or DSi limitation is unlikely. Thus, the salinity increase and the high levels of DSi could explain (in addition to DIN increase) the biomass increase.

It is noteworthy that despite the signs of eutrophication and DIN increase, Chl did not show a clear temporal trend. Chl variability in the short scale is strongly related with hydrology in the PLE, and with annual rainfall in the long term (Abreu *et al.* 2010). They suggested an oligotrophication process in PLE until 2008, resulting from increased nutrient uptake in the northern Patos Lagoon and consequent lower export to the southern reaches. We propose that the relatively constant Chl values in the PLE could be related to the light conditions limiting growth (low Secchi depth values; mean 75 cm), as has been shown in other light limited systems subject to eutrophication and rising nutrient concentrations (Cloern 2001). This hypothesis is also supported in this study by the decreasing tendency in Secchi depth values, without salinity effect. The PLE is generally a turbid system where sediments resuspension is important, and the water transparency and Chl are inversely correlated, indicating that light is, although not the only one, a limiting source. It was shown that phytoplankton might adjust their pigment level to the prevailing light conditions, resulting in a variation of the relationship chlorophyll *a* to biomass (Vörös & Padisák 1991), which would explain the discrepancy between the Chl and carbon biomass in the long-term trends.

The dinoflagellates increasing trend in the PLE is most likely related to salinity increase as their biomass was positively related to salinity in the CCA. This has also been demonstrated with data sets of shorter length (Fujita & Odebrecht 2007). The decreasing trend of flagellates is also probably related to the salinity increase in the PLE, supported by the negative relationship showed in GAM results, albeit not confirmed in the CCA. The lack of relationship with salinity in the CCA is due to the fact that this group comprised both fresh water and marine, mainly small-sized, organisms. An improved taxonomical resolution of this group would be required to better understand the variations.

In conclusion, our findings show increasing trends in the PLE for salinity, DIN and for diatoms, cyanobacteria, dinoflagellates and chlorophytes, and decreasing for DIP, Secchi depth and flagellates, however without significant changes of Chlorophyll *a*. Long-term variability in the PLE was mainly related to salinity, which was driven by local and remote precipitation and climate (ENSO events). Other factors, possibly related to anthropogenic activities, also played an important role. Despite the stable absolute chlorophyll *a* level, phytoplankton community composition changes were observed.

Acknowledgments

We are grateful to Phytoplankton Laboratory staff and students, for helping in the field work. This study was funded by the by Brazilian Ministry of Sciences in the framework of the Brazilian Long Term

Ecological Program (PELD), which also provided the fellowships to L. Haraguchi, P.C. Abreu and C. Odebrecht.

References

- Abreu, P.C., C. Hartmann, and C. Odebrecht. 1995. Nutrient rich salt-water and its influence on the phytoplankton of the Patos Lagoon estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 40: 219–229.
- Abreu, P.C., M. Bergesch, L.A. Proença, C.A. E. Garcia, and C. Odebrecht. 2010. Short- and long-term chlorophyll a variability in the shallow microtidal Patos Lagoon estuary, Southern Brazil. *Estuaries Coasts* 33: 554–569.
- Arrigo, K.R. 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature* 437 (15): 349-355.
- Barnett, T.P., D.W. Pierce, H.G. Hidalgo, C. Bonfils, B.D. Santer, T. Das, G. Bala, A.W. Wood, T. Nozawa, A.A. Mirin, D.R. Cayan, and M.D. Dettinger (2008) Human-induced changes in the hydrology of the western United States, *Science* 319: 1080–1083.
- Baumgarten, M.G.Z. and L.F.H. Niencheski. 2010. A coluna sedimentar como reservatório e fonte de nutrientes em enseadas estuarinas. *Tropical Oceanography* 38: 88-105.
- Bocard, D., F. Gillet, and P. Legendre. 2011. *Numerical ecology with R*. Springer.
- Burford, M. A. and T. W. Davis. 2011. Physical and chemical processes promoting dominance of the toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 29 (4): 883-891.
- Carstensen, J. and P. Henriksen. 2009. Phytoplankton biomass response to nitrogen inputs: a method for WFD boundary setting applied to Danish coastal waters. *Hydrobiologia* 633: 137-149.
- Carstensen, J., M. Sánchez-Camacho, C.M. Duarte, D. Krause-Jensen, N. Marba. 2011. Connecting the dots: downscaling responses of coastal ecosystems to changing nutrient concentrations. *Environmental Science & Technology* 45: 9122-9132.
- Cloern, J.E. 1999. The relative importance of light and nutrient limitation of phytoplankton growth: a simple index of coastal ecosystem sensitivity to nutrient enrichment. *Aquatic Ecology* 33: 3–16.
- Cloern, J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223-253.
- Conley, D.J., H.W. Paerl, R.W. Howarth, D.F. Boesch, S.P. Seitzinger, K.E. Havens, C. Lancelot, and G.E. Likens. 2009. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. *Science*, 323: 1014-1015.

- Dodson, S.I., S.E. Arnott, and K.L. Cottingham. 2000. The relationship in lake communities between primary productivity and species richness. *Ecology*, 81(10): 2662-2679.
- Downing, J.A., M. McClain, R. Twilley, J.M. Melack, J. Elser, N.N. Rabalais, W.M. Lewis, R.E. Turner, J. Corredor, D. Soto, A. Yanez-Arancibia, J.A. Kopaska, and R.W. Howarth. 1999. The impact of accelerating land-use change on the N-cycle of tropical aquatic ecosystems: current conditions and projected changes. *Biogeochemistry* 46:109-148.
- Dyhrman, S.T. and S.T. Haley. 2006. Phosphorus scavenging in the unicellular marine diazotroph *Crocospaera watsonii*. *Applied and Environmental Microbiology* 72(2):1452-1458.
- Fujita, C.C. and C. Odebrecht. 2007. Short term variability of chlorophyll a and phytoplankton composition in a shallow area of the Patos Lagoon Estuary (Southern Brazil). *Atlântica* 29(2): 93-106.
- Gilpin, L.C., K. Davidson, and E. Roberts. 2004. The influence of changes in nitrogen: silicon ratios on diatom growth dynamics. *Journal of Sea Research* (51):21-35.
- Grimm, A.M., S.E.T. Ferraz, and J. Gomes. 1998. Precipitation anomalies in southern Brazil associated with El Niño and La Niña events. *Journal of Climate* 11: 2863–2880.
- Grimm, A.M., V.R. Barros, and M.E. Doyle. 2000. Climate variability in southern South America associated with El Niño and La Niña events. *Journal of Climate* 13: 35–58.
- Hallegraeff, G. M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* 32: 79–99.
- Harris, G.P. 2001. Biogeochemistry of nitrogen and phosphorus in Australian catchments, rivers and estuaries: effects of land use and flow regulation and comparisons with global patterns. *Marine and Freshwater Research* 52: 139–149.
- Hasle, GR. 1978. The inverted microscope. In: SOURNIA, A (ed.) *Phytoplankton Manual*. Monographs on oceanographic methodology, 88-96, UNESCO Publishing.
- Haylock, M.R., T.C. Peterson, L. M. Alves, T. Ambrizzi, Y.M.T. Anunciação, J. Baez, V.R. Barros, M.A. Berlato, M. Bidegain, G. Coronel, V. Corradi, V.J. Garcia, A.M. Grimm, D. Karoly, J.A. Marengo, M.B. Marino, D.F. Moncunill, D. Nechet, J. Quintana, E. Rebello, M. Rusticucci, J.L. Santos, I. Trebejo, and L.A. Vincent. 2006. Trends in total and extreme South American rainfall in 1960–2000 and links with sea surface temperature. *Journal of Climate* 19: 1490-1512.

- Hillebrand, H., C.D. Dürselen, D. Kirschtel, U. Pollinger, and T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403-424.
- Hirata, F.E., O.O. Möller, and M.M. Mata. 2010. Regime shifts, trends and interannual variations of water level in Mirim Lagoon, southern Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 5: 254-266.
- Hodgkiss, I.J. and K.C. Ho. 1997. Are changes in N: P ratios in coastal waters the key to increased red tide blooms? *Hydrobiologia* 352: 141-147.
- Howarth, R., F. Chan, D.J. Conley, J. Garnier, S.C. Doney, R. Marino, and G. Billen. 2011. Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 9: 18-26
- Katz, M.E., Z.V. Finkel, D. Grzebyk, A.H. Knoll, and P.G. Falkowski. 2004. Evolutionary trajectories and biogeochemical impacts of marine eukaryotic phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 523-556.
- Lewandowska, A.M., P. Breithaupt, H. Hillebrand, H.G. Hoppe, K. Jürgens, and U. Sommer. 2012. Responses of primary productivity to increased temperature and phytoplankton diversity. *Journal of Sea Research* 72: 87-93.
- Lomas, M.W. and P.M. Glibert. 2000. Comparisons of nitrate uptake, storage, and reduction in marine diatoms and flagellates. *Journal of Phycology* 36(5): 903-913.
- Margalef, R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta*, 1(4): 493-509.
- Martiny, A.C., C.T.A. Pham, F.W. Primeau, J.A. Vrugt, J.K. Moore, S.A. Levin, and M.W. Lomas. 2013. Strong latitudinal patterns in the elemental ratios of marine plankton and organic matter. *Nature Geoscience*. DOI: 10.1038/NGEO1757
- Menden-Deuer, S. and E.J. Lessard. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography* 45: 569-579.
- Möller, O.O., P. Castaing, J.C. Salomon, and P. Lazure. 2001. The influence of local and non-local forcing effects on the subtidal circulation of the Patos Lagoon. *Estuaries* 24: 297-311.
- Möller, O.O., J.P. [Castello](#), and A.C. Vaz. 2009. The effect of river discharge and winds on the interannual variability of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* production in Patos Lagoon. *Estuaries and Coasts* 32: 787-796.

- Montagnes, D.J.S. and D.J. Franklin. 2001. Effect of temperature on diatom volume, growth rate, and carbon and nitrogen content: reconsidering some paradigms. *Limnology and Oceanography* 46(8): 2008–2018.
- Niencheski, L.F. and H.L. Windom. 1994. Nutrient flux and budget in Patos Lagoon estuary. *Science of the Total environment* 149: 53–60.
- Niencheski L.F.H., M.G. Zepka-Baumgarten, L. Cabrera, and S.K. Juliano. 2006. Patos Lagoon: indicators of organic pollution. *Journal of Coastal research SI* 39: 1356-1359.
- Niencheski, L.F. and M.G. Zepka-Baumgarten. 2007. Water quality in Mangueira Bay: anthropic and natural contamination. *Journal of Coastal Research SI* 47: 56–62.
- Nixon, S.W. 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41: 199-219.
- Nixon, S.W., C.A. Oviatt, J. Frithsen, and B. Sullivan. 1986. Nutrients and the productivity of estuarine and coastal marine ecosystems. *Journal of the Limnological Society of Southern Africa* 12(1/2): 43-71.
- Odebrecht, C., P.C. Abreu, O.O. Mölller Jr., L.F. Niencheski, L.A. Proença, and L.C. Torgan. 2005. Drought effects on pelagic properties in the shallow and turbid Patos Lagoon, Brazil. *Estuaries* 28: 675–685.
- Officer, C. B. and J. H. Ryther. 1980. The possible importance of silicon in marine eutrophication. *Marine Ecology Progress Series* 3:83–91.
- Olenina, I., S. Hajdu, L. Edler, A. Andersson, N. Wasmund, S. Busch, J. Göbel, S. Gromisz, S. Huseby, M. Huttunen, A. Jaanus, P. Kokkonen, I. Ledaine, and E. Niemkiewicz. 2006. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. *HELCOM Baltic Sea Environmental Proceedings* 106.
- Orth R.J., T.J.B. Carruthers, W.C. Dennison, C.M. Duarte, J.W. Fourqurean, K.L. Heck, A.R. Hughes, G.A. Kendrick, W.J. Kenworthy, S. Olyarnik, F.T. Short, M. Waycott, and S.L. Williams. 2006. A global crisis for seagrass ecosystems. *Bioscience* 56: 987–996.
- Paerl, H.W. 1988. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnology and Oceanography* 33: 823–847.
- Paerl, H.W., L.M. Valdes, A.R. Joyner, and V. Winkelmann. 2007. Phytoplankton indicators of ecological change in the eutrophying Pamlico Sound system, North Carolina. *Ecological Applications* 17: S88–S101.

- Parsons, T.R., P.J. Harrison, and R. Waters. 1978. An experimental simulation of changes in diatom and flagellate blooms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 32, 285-294.
- Pearson, T.H. and R. Rosenberg. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and marine biology: an annual review* 16: 229–311.
- Piehler, M.F., L.J. Twomey, N.S. Halla, and H.W. Paerl. 2004. Impacts of inorganic nutrient enrichment on phytoplankton community structure and function in Pamlico Sound, NC, USA. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61: 197-209.
- Ptácnik, R., A.G. Solimini, T. Andersen, T. Tamminen, P. Brettum, L. Lepistö, E. Willén, and S. Rekolainen. 2008. Diversity predicts stability and resource use efficiency in natural phytoplankton communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (13): 5134-5138.
- R Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Rabalais, N.N., R.E. Turner, R.J. Díaz, and D. Justic. 2009. Global change and eutrophication of coastal waters. *ICES Journal of Marine Science* 66: 1528–1537.
- Redfield, A.C., B.H. Ketchum, and F.A. Richards. 1963. The influence of microorganisms on the composition of sea-water. In: HILL, MN (ed.). *The composition of seawater. Comparative and descriptive oceanography. The sea: ideas and observations on progress in the study of the seas*, 2. 26-77. Wiley Interscience.
- Rodrigo, M.A., C. Rojo, and X. Armengol. 2003. Plankton biodiversity in a landscape of shallow water bodies (Mediterranean coast, Spain). *Hydrobiologia* 506–509: 317–326
- Sandén, P. and B. Håkansson. 1996. Long-term trends in Secchi depth in the Baltic Sea. *Limnology & Oceanography* 41: 346-351.
- Schmidtke, A., U. Gaedke, and G. Weithoff. 2010. A mechanistic basis for underyielding in phytoplankton communities. *Ecology* 91 (1): 212-221.
- Seeliger, U. and C. Odebrecht. 1997. Introduction and overview. In Seeliger, U., C. Odebrecht, and J.P. Castello (ed.) *Subtropical Convergence Environments: The Coast and Sea in the Southwestern Atlantic*. 1-4. Springer-Verlag.
- Smayda, T.J. 1983. The phytoplankton of estuaries. In GOODALL, DW (ed.). *Ecosystems of the World*. Elsevier Scientific. 65-102 pp.

- Smayda, T.J. 1990. Has there been a global expansion of harmful algal blooms? If so, is there a connection with human activities? In Granéli, E., B. Sundstrom, L. Edler and D.M. Anderson (ed). Toxic marine phytoplankton. 516–517. Elsevier.
- Smayda, T.J. and C.S. Reynolds. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of plankton research* 23 (5): 447-461.
- Smith, V.H. 2006. Responses of estuarine and coastal marine phytoplankton to nitrogen and phosphorus enrichment. *Limnology and Oceanography* 51(1/2): 377–384.
- Stech, J.L. and J.A. Lorenzetti. 1992. The response of the south Brazil bight to the passage of wintertime cold fronts. *Journal of Geophysical Research* 97(C6): 9507-9520.
- Sun, J. and D. Liu. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 25(11):1331-1346.
- Terray, L., L. Corre, S. Cravatte, T. Delcroix, G. Reverdin, and A. Ribes. 2012. Near-surface salinity as nature's rain gauge to detect human influence on the tropical water cycle. *Journal of Climate* 25: 958–977.
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitteilungen der Internationalen Vereinigung der theoretischen und angewandten Limnologie* 9: 1–38.
- Vörös, L. and J. Padisák. 1991. Phytoplankton biomass and chlorophyll-a in some shallow lakes in central Europe. *Hydrobiologia* 215 : 111 -119.

Figure Captions:

Fig. 1 Location of the study area. The Patos Lagoon Estuary connects the Patos Lagoon and Mirim Lagoon with the South Atlantic Ocean. The long-term sampling station is shown with a red dot.

Fig. 2 Observed annual mean values (black points) with trends (solid lines) for: a) Water temperature in the Patos Lagoon estuary (PLE); b) annual precipitation in Rio Grande; c) salinity in the PLE. Significance and slope of the trends are given in the charts.

Fig. 3 Scatter plot of the water quality variables across the salinity range in the PLE (black dots) for a) dissolved inorganic nitrogen (DIN), b) dissolved inorganic phosphorus (DIP), c) dissolved silica (DSi), d) chlorophyll *a*, and e) Secchi depth. Estimated relationship with salinity from the GAMs, which also included interannual and seasonal variation, are shown with solid red lines, and dashed red lines give the standard errors of the predicted relationship.

Fig. 4 Averages of observed (black dots) and estimated annual means from the GAMs (blue dots), adjusted for variations in salinity, for a) dissolved inorganic nitrogen (DIN), b) dissolved inorganic phosphorus (DIP), c) dissolved silica (DSi), d) chlorophyll *a*, and e) Secchi depth. Linear trends of the GAM means are shown with solid blue lines with significance and slope of the trends displayed in the charts. The GAM annual means were adjusted to represent the mean across the entire salinity range (0-35).

Fig. 5 Correlation plot from the Canonical Correspondence Analysis showing the relationships between environmental variables (blue vectors) and carbon biomass of phytoplankton groups (red). Labels for and species included in the 14 phytoplankton groups are found in Table 1.

Fig. 6 Observed carbon biomasses of a) chlorophytes, b) cyanobacteria, c) flagellates, d) diatoms, and e) dinoflagellates across the salinity range (black dots) with the estimated salinity relationship from the GAMs (solid red line). Dashed red lines show the standard errors of the estimated salinity relationship.

Fig. 7 Presence (value of 1) or absence (value of 0) of a) chlorophytes, b) cyanobacteria, and c) dinoflagellates across the salinity range with the estimated probability from the GAMs fitted to the data (solid red line). Dashed red lines are the standard errors of the estimated relationship. Diatoms and flagellates were always present and not modeled using presence/absence patterns.

Fig. 8 Annual averages of observed (black dots) and estimated means from the GAMs (blue dots) adjusted for variations in salinity for a) chlorophytes, b) cyanobacteria, c) flagellates, d) diatoms, and e) dinoflagellates. Linear trends of the GAM means are shown (solid blue lines) with significance and slope of the trends displayed in the charts.

Fig. 9 Estimated annual means of probability of presence from the GAMs (blue dots) adjusted for variations in salinity for a) chlorophytes, b) cyanobacteria, c) dinoflagellates. Linear trends of the GAM means are shown (solid blue lines) with significance and slope of the trends displayed in the charts.

Tables:**Table 1.** Species included in the 14 phytoplankton groups used for the CCA.

Code	Groups and taxa
Dia1	Fresh water diatoms: <i>Aulacoseira</i> , <i>Surirella</i> , <i>Synedra</i> , <i>Urosolenia eriensis</i> .
Dia2	Marine planktonic diatoms 1: <i>Bacteriastrum</i> , <i>Chaetoceros</i> (except <i>C. subtilis</i> and undefined species), <i>Coscinodiscus</i> , <i>Detonula</i> , <i>Ditylum</i> , <i>Eucampia</i> , <i>Hemiaulus</i> , <i>Lauderia</i> , <i>Leptocylindrus</i> , <i>Lithodesmium</i> , <i>Odontella</i> , <i>Palmerina</i> , <i>Skeletonema tropicum</i> , <i>Stephanopyxis</i> , <i>Thalassiosira</i> , <i>Lioloma</i> , <i>Meuniera</i> , <i>Pseudo-nitzschia</i> , <i>Thalassionema</i> , <i>Thalassiothrix</i> .
Dia3	Marine planktonic diatoms 2: <i>Cerataulina</i> , <i>Dactyliosolen</i> , <i>Guinardia</i> , <i>Neocalyptrella</i> , <i>Proboscia</i> , <i>Pseudosolenia</i> <i>Rhizosolenia</i> .
Dia4	Surf zone diatoms: <i>Asterionellopsis</i> , <i>Campylosira</i> , <i>Dephineis</i> , <i>Odontella aurita</i> , <i>O. rhombus</i> , <i>Paralia sulcata</i> .
Dia5	Estuarine diatoms: <i>Chaetoceros subtilis</i> , <i>Pleurosira laevis</i> , <i>Bacillaria paradoxa</i> , <i>Cylindrotheca closterium</i> , <i>Entomoneis</i> .
Dia6	Marine epibenthic diatoms: <i>Melosira dubia</i> , <i>M. moniliformis</i> , <i>M. nummuloides</i> , <i>Triceratium</i>
Ske	Skeletonema: <i>Skeletonema</i> spp. except <i>S. tropicum</i> .
DiaUN	Uncertain diatoms: Unidentified diatoms species of <i>Chaetoceros</i> , <i>Campylodiscus</i> , <i>Melosira</i> , <i>Odontella</i> , <i>Podosira</i> , <i>Amphora</i> , <i>Diploneis</i> , <i>Fragilaria</i> , <i>Gyrosigma</i> , <i>Licmophora</i> , <i>Navicula</i> , <i>Nitzschia</i> , <i>Pleurosigma</i> .
Din	Marine dinoflagellates: <i>Alexandrium</i> , <i>Akashiwo</i> , <i>Ceratium</i> , <i>Dinophysis</i> , <i>Gymnodinium catenatum</i> , <i>Gonyaulax</i> , <i>Heterocapsa</i> , <i>Oxyphysis</i> , <i>Peridinium quinquecornis</i> , <i>Prorocentrum</i> , <i>Scrippsiella</i> , <i>Torodinium</i> .
DinUN	Uncertain dinoflagellates: Unidentified thecate and naked Peridiniales and Gymnodiniales.
Fla	Flagellates: <i>Dictyocha</i> , unidentified cryptophytes, raphidophytes, euglenophytes, chrysophytes, haptophytes.
Clo	Chlorophytes: <i>Actinastrum</i> , <i>Ankistrodesmus</i> , <i>Closteriopsis</i> , <i>Closterium</i> , <i>Desmodesmus</i> , <i>Euastrum</i> , <i>Golenkiniopsis</i> , <i>Kirchneriella</i> , <i>Micromonas</i> , <i>Monoraphidium</i> , <i>Oocystis</i> , <i>Pediastrum</i> , <i>Planctonema</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Selenastrum</i> , <i>Sphaerocystis</i> , <i>Staurastrum</i> , <i>Tetrastrum</i> .
Cya1	Colonial cyanobacteria: <i>Aphanocapsa</i> , <i>Aphanothece</i> , <i>Cyanonephron</i> , <i>Gleocapsa</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Snowella</i> , unidentified colonial cyanobacteria.
Cya2	Filamentous cyanobacteria: <i>Anabaenopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Lyngbia</i> , <i>Nostocales</i> , <i>Oscillatoriales</i> , <i>Nodularia spumigena</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktolymbgia</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Pseudoanabaena</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Rhabdoderma</i> , <i>Sphaerospermopsis</i> , unidentified trichomes

Table 2. Summary of GAM results for water quality variables and carbon biomass of phytoplankton functional groups. All variables were log-transformed prior to the analysis.

Variables	Deviance explained	p (Month)	p (Year)	p (Salinity)
Water quality:				
Chlorophyll <i>a</i>	39.5%	<0.0001	<0.0001	0.0051
Secchi Depth	59.0%	0.109	0.1051	<0.0001
DIN	37.8%	0.3356	<0.0001	0.0004
DIP	40.6%	0.1638	<0.0001	<0.0001
DSi	49.4%	0.0481	<0.0001	<0.0001
Carbon biomass:				
Chlorophytes	44.6%	0.1619	0.0089	0.216
Cyanobacteria	38.3%	0.0431	<0.0001	<0.0001
Flagellates	26.0%	0.4807	0.0037	0.0005
Diatoms	44.2%	<0.0001	<0.0001	0.0144
Dinoflagellates	35.0%	0.0003	<0.0001	0.359
Presence/Absence;				
Chlorophytes	41.2%	0.2168	<0.0001	<0.0001
Cyanobacteria	32.5%	0.0849	0.0035	0.0003
Dinoflagellates	32.2%	0.0531	0.0001	<0.0001

Fig.1

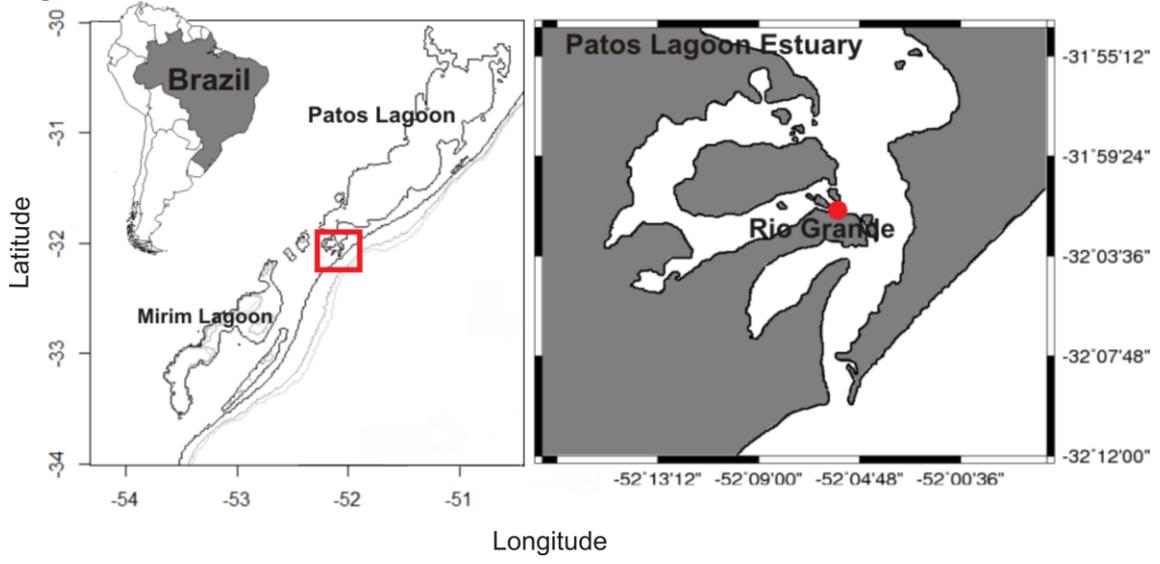


Fig.2

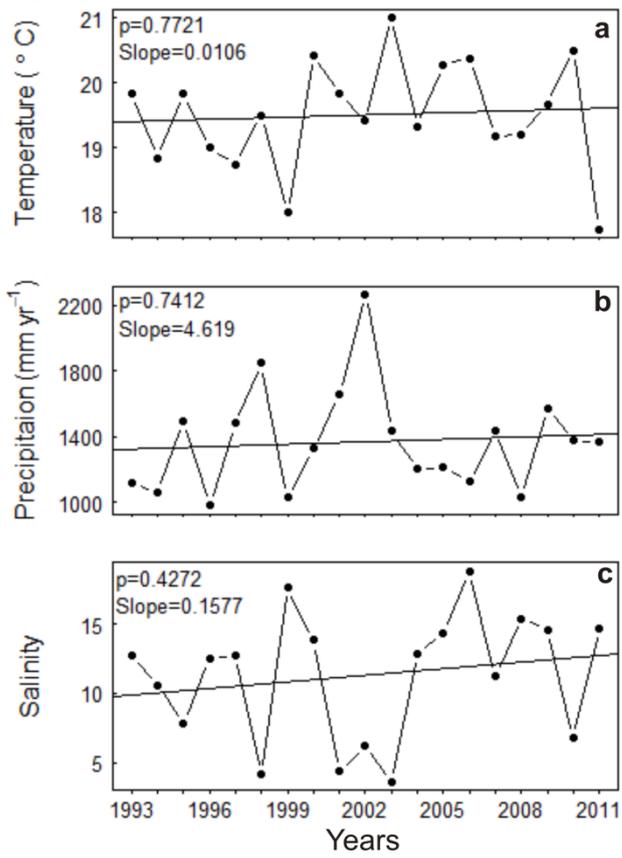


Fig.3

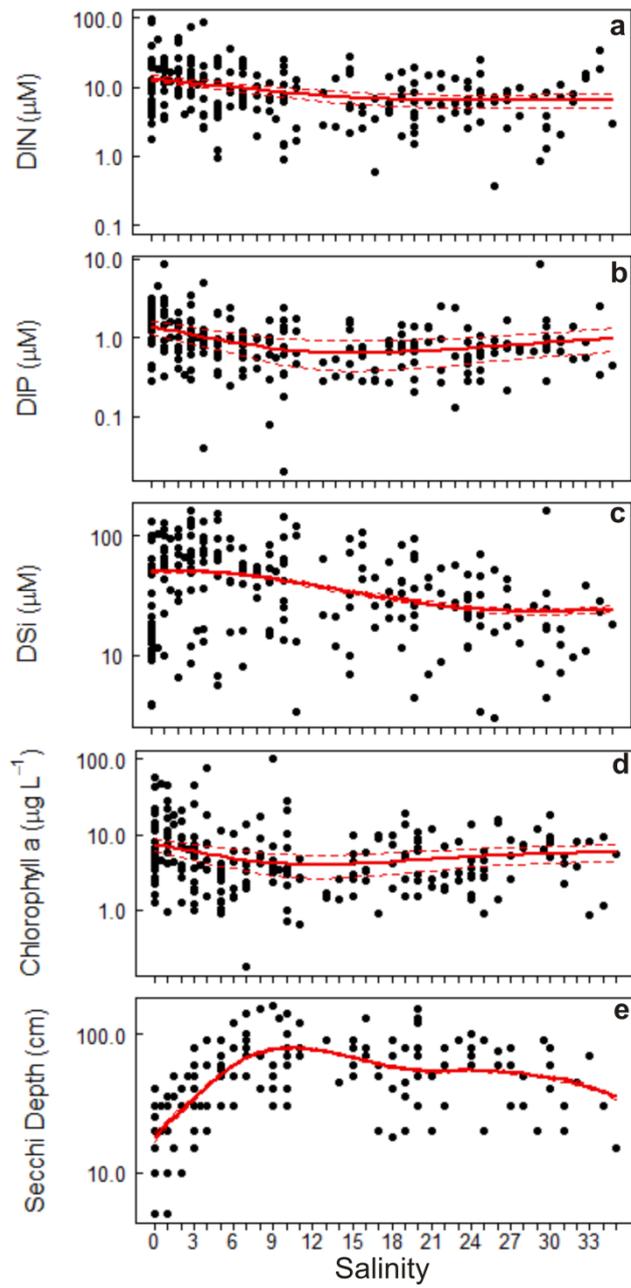


Fig.4

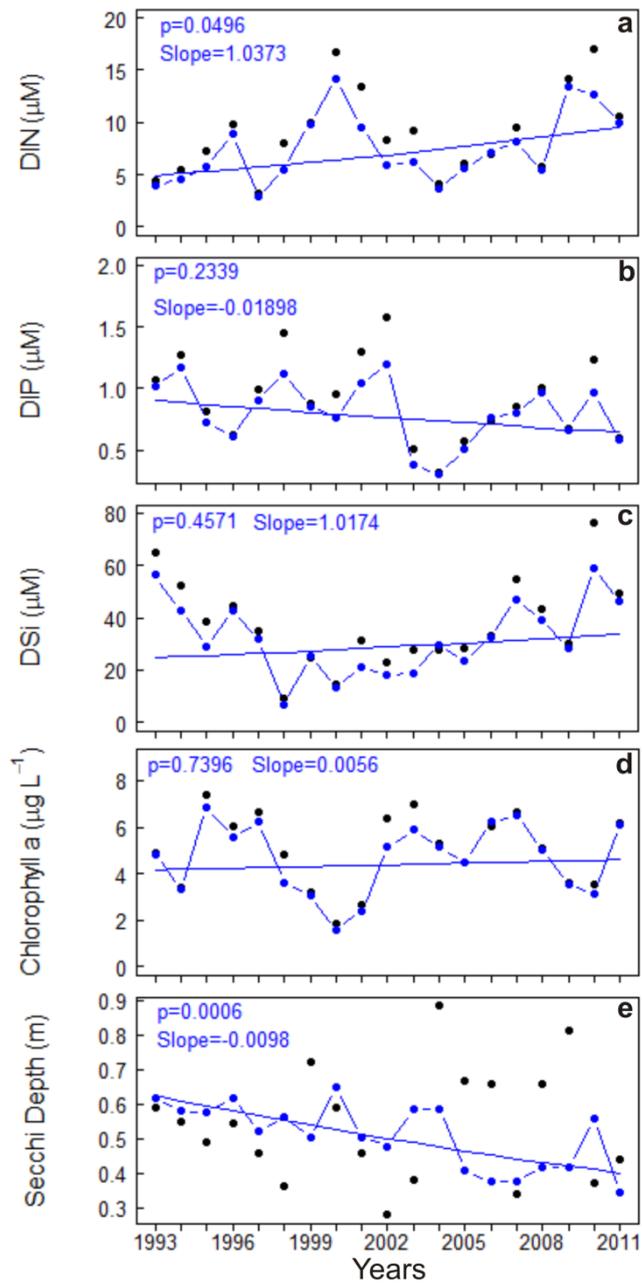


Fig.5

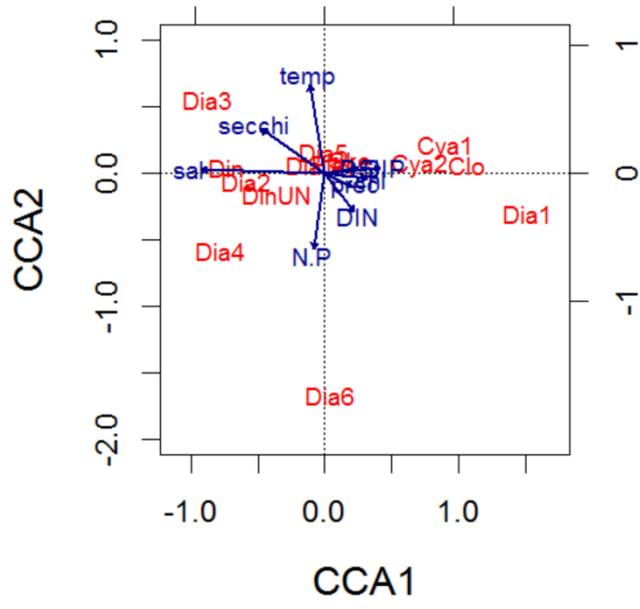


Fig.6

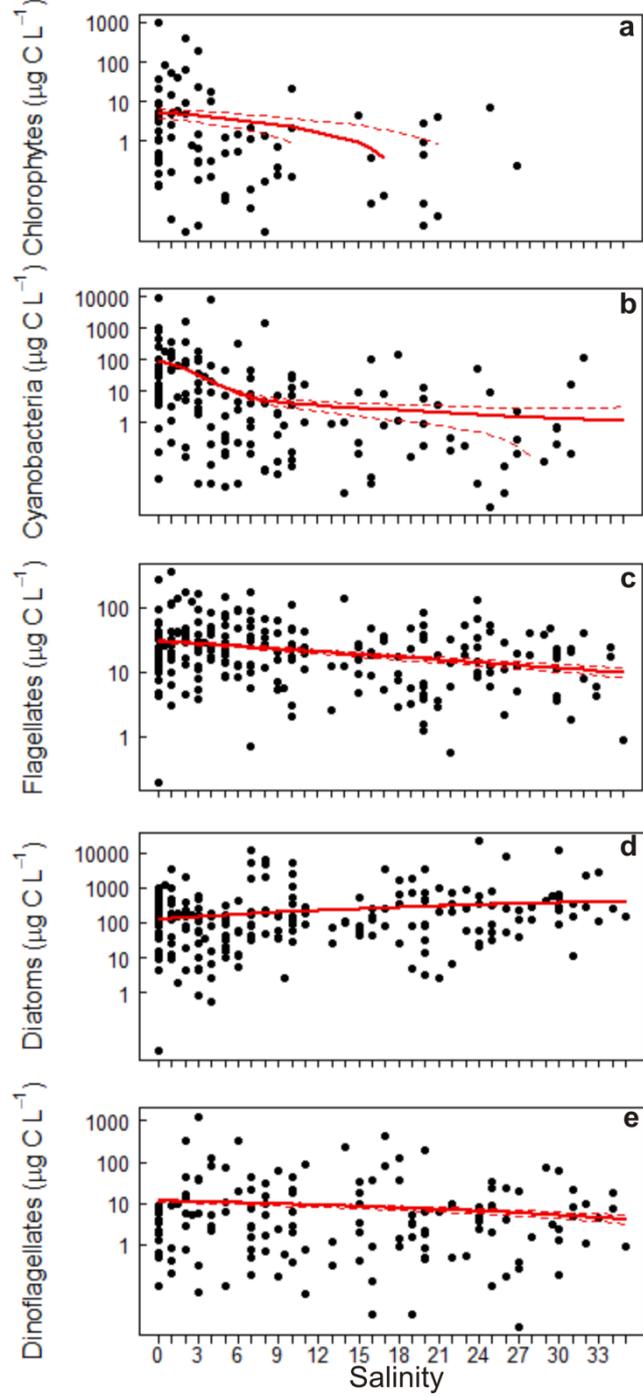


Fig.7

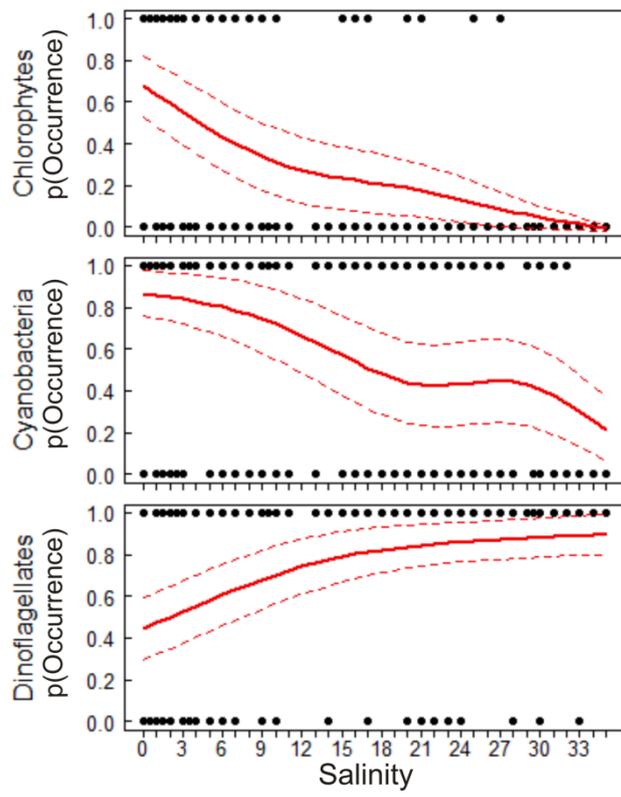


Fig.8

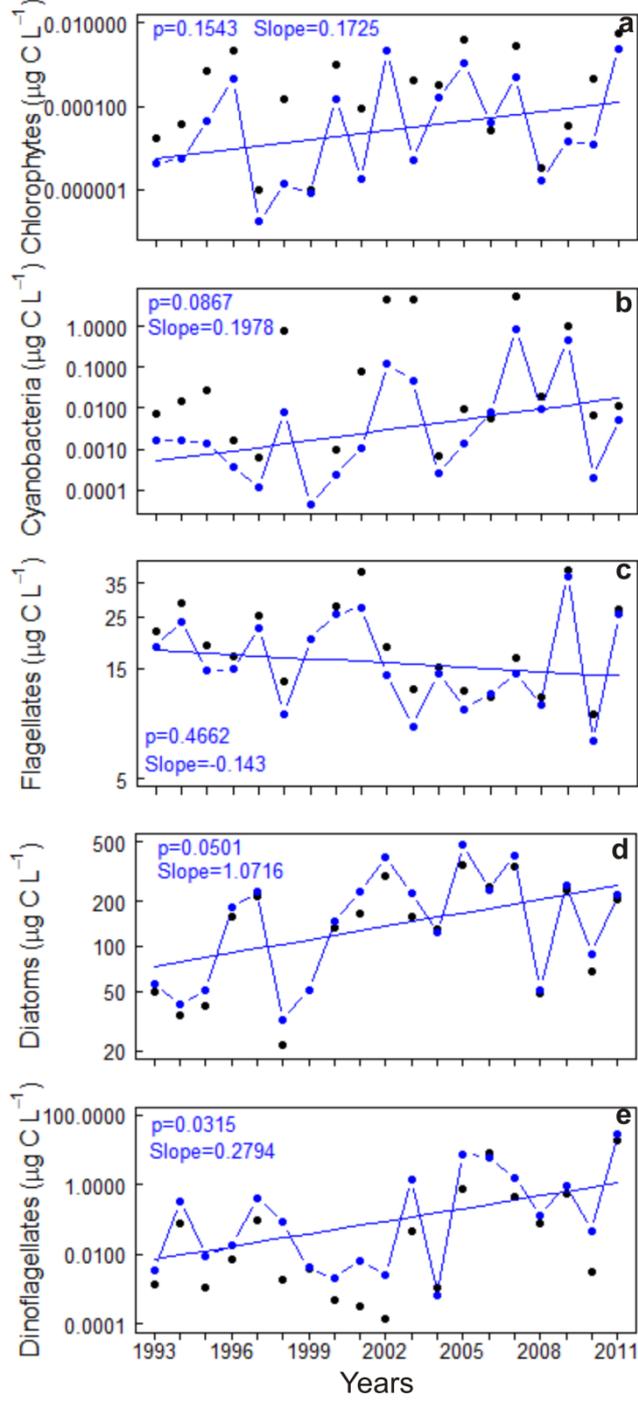


Fig.9

