

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA**

**ESTRUTURA DAS COMUNIDADES DE
FITOPLÂNCTON NO ATLÂNTICO SUL
SUBTROPICAL: VARIAÇÃO ESPACIAL E
RELAÇÃO COM PARÂMETROS
AMBIENTAIS**

MILTON LUIZ VIEIRA ARAUJO

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.

**Orientador: Dr. Carlos Rafael Borges Mendes
Coorientadora: Dra. Virginia Maria Tavano**

**RIO GRANDE
Outubro 2015**

“It is not the strongest of the species that survive, nor the most intelligent, but the one most responsive to change.”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Dr. Carlos Rafael Borges Mendes e Dra. Virginia Maria Tavano, pela intensa amizade, ensinamentos, oportunidade de trabalho e, sobretudo, depósito de confiança. Seus níveis de critério e rigor colaboraram para que eu me tornasse uma melhor pessoa e um melhor profissional.

À Universidade Federal do Rio Grande, sobretudo ao Instituto de Oceanografia, pelo título concedido, e à CAPES, pela concessão de dois anos de bolsa, durante os quais este trabalho foi desenvolvido.

Ao programa CLIVAR da NOAA, pela realização do cruzeiro oceanográfico e concessão dos dados ambientais auxiliares que permitiram a realização do trabalho.

Ao Dr. Simon Wright da Australian Antarctic Division, pela concessão do programa quimiotaxonômico CHEMTAX, e ao Oc. Luciano Azevedo, pela coleta de amostras para análise de pigmentos realizados nesse trabalho.

Aos membros da banca, Dra. Vanda Brotas e Dra. Clarisse Odebrecht, pelo seu tempo disponibilizado para avaliação do trabalho e pelas valiosas contribuições.

A todos do pessoal do Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos, pela feliz oportunidade de convívio, pelo esclarecimento de dúvidas, pelo apoio técnico e pelo espaço cedido para execução do trabalho.

Aos velhos amigos pela irmandade construída e aos novos amigos pelo grande incentivo e apoio na tensa reta final. Não citarei nomes para não cometer o pecado de esquecer alguém. A todos vocês o meu muitíssimo obrigado de coração.

À minha família pelo apoio incondicional, e minha companheira Jeane por sempre acreditar em mim até quando eu mesmo não acreditava. Sem vocês eu nunca conseguiria. Muito obrigado por existirem.

À essa energia superior que chamamos de Deus mas não conseguimos provar pela ciência sua existência, por ensinar-me o verdadeiro significado da fé, e assim trazer-me paz.

ÍNDICE**Página**

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
1.1. Composição fitoplanctônica.....	3
1.2. Condicionantes da distribuição do fitoplâncton.....	5
1.3. Área de estudo: Atlântico Sul subtropical.....	7
2. OBJETIVOS.....	8
2.1. Objetivo geral.....	8
2.2. Objetivos específicos.....	8
3. METODOLOGIA.....	9
3.1. Amostragem.....	9
3.2. Dados abióticos.....	10
3.3. Análise de pigmentos por HPLC.....	12
3.4. Índices pigmentares.....	14
3.5. Aplicação do CHEMTAX.....	16
3.6. Grupos do fitoplâncton e variáveis ambientais.....	17
4. SÍNTESE DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES.....	21
5. LITERATURA CITADA.....	24

RESUMO

Este trabalho descreve a distribuição espacial dos pigmentos e principais grupos taxonômicos do fitoplâncton nas províncias biogeográficas do Oceano Atlântico Sul subtropical, ao longo da latitude 30° S. Amostras de água do mar (superfície até 200m de profundidade) foram coletadas ao longo de 120 estações oceanográficas, ocupadas no início da primavera de 2011, durante o cruzeiro CLIVAR-A10 (NOAA). Os pigmentos foram identificados e quantificados através de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), e o programa CHEMTAX foi aplicado para determinar as contribuições relativas dos grupos taxonômicos para o total de clorofila *a*. As estações foram agrupadas em três províncias: África, Giro e Brasil. Os resultados mostraram que os padrões de distribuição vertical e horizontal dos pigmentos e grupos taxonômicos foram condicionados principalmente pela disponibilidade de luz e/ou nutrientes. Carotenóides fotossintéticos (PSCs), associados com pequenos flagelados (principalmente haptófitas), dominaram a profundidade do máximo de clorofila *a* (DCM) das províncias do Brasil e do Giro, limitada por luz e mais rica em nutrientes, e a camada superficial da província da África sob influência da ressurgência de Benguela. Esta última apresentou os maiores valores de clorofila *a* ($> 1 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$), e a ocorrência de dinoflagelados na região mais costeira. Carotenóides fotoprotetores (PPCs) foram predominantes nas camadas superficiais, pobres em nutrientes e com alta irradiância, das províncias do Brasil e do Giro, associados a um baixo teor de clorofila *a* ($\sim 0.1 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$) e domínio de procariontes (*Synechococcus* e *Prochlorococcus*).

Palavras-chave: Atlântico Sul, fitoplâncton, pigmentos, HPLC, CHEMTAX

ABSTRACT

This work describes the spatial distribution of pigments and main taxonomic groups of phytoplankton in the biogeographical provinces of the subtropical South Atlantic Ocean, along 30°S. Seawater samples (surface to 200m depth) were collected along 120 oceanographic stations occupied in the early spring of 2011, during a NOAA CLIVAR–A10 cruise. The pigments were identified and quantified by high performance liquid chromatography (HPLC), and CHEMTAX software was used to determine the relative contributions of the main taxonomic groups to total chlorophyll *a*. The stations were grouped into three provinces: Africa, Gyre and Brazil, corresponding to eastern, central and western sectors of the transect, respectively. The results showed that both vertical and horizontal distribution patterns of pigments and taxonomic groups were mainly determined by the availability of light and/or nutrients. Photosynthetic carotenoids (PSCs), associated with small flagellates (mainly haptophytes), dominated the light-limited and nutrient-enhanced deep chlorophyll maximum (DCM) of Brazil and Gyre provinces, as well as the upwelling influenced surface waters of the Africa province. The latter showed the highest chlorophyll *a* values ($> 1 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$), and abundance of dinoflagellates in the coastal region. Photoprotective carotenoids (PPCs) were predominant in the nutrient-poor and well lit surface layers of Brazil and Gyre provinces, associated with a low content of chlorophyll *a* ($\sim 0.1 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$) and dominance of prokaryotes (*Synechococcus* and *Prochlorococcus*).

Keywords: South Atlantic, phytoplankton, pigments, HPLC, CHEMTAX

1. INTRODUÇÃO

1.1. Composição fitoplanctônica

A composição da comunidade fitoplanctônica, devido principalmente ao seu amplo espectro de tamanho, determina, em grande parte, a organização trófica do ecossistema marinho e, assim, a eficiência com que a matéria orgânica produzida pela fotossíntese é transferida para níveis tróficos superiores e/ou exportada para o oceano profundo (Finkel *et al.*, 2010). Estes produtores primários desempenham um papel fundamental no ciclo biogeoquímico do planeta, com diferentes grupos do fitoplâncton possuindo papéis biogeoquímicos específicos (Nair *et al.*, 2008). Os principais modelos atuais de ecologia e biogeoquímica marinha estão ganhando sofisticação através da incorporação de módulos complexos que incluem a informação dos grupos funcionais do fitoplâncton controlando os ciclos biogeoquímicos marinhos (Marinov *et al.*, 2010). Devido ao aumento das emissões de CO₂ antropogênico, elevações da temperatura superficial do mar e acidificação dos oceanos são previstas para os próximos anos (IPCC, 2013). O aumento da temperatura superficial altera os processos de estratificação e mistura vertical da coluna d'água, o que, por sua vez, modifica os regimes de luz na superfície dos oceanos e, também, o aporte de nutrientes de camadas profundas, podendo levar a mudanças na biomassa e composição do fitoplâncton marinho (Doney, 2006). Estudos recentes já evidenciam e preveem essas mudanças (Boyce *et al.*, 2010; Doney *et al.*, 2012; Winder & Sommer, 2012; Peter & Sommer, 2013). Esforços atuais de monitoramento são necessários para

compreender como as comunidades fitoplanctônicas irão responder a essas mudanças e quais serão as consequências para os níveis tróficos superiores (Hays *et al.*, 2005). Portanto, o estudo das comunidades de fitoplâncton, em diferentes escalas temporais e/ou espaciais, fornece uma ferramenta fundamental na avaliação e monitoramento ambiental, bem como em estudos de relações tróficas e modelagem de ecossistemas, além de servirem de linha de base para supostas mudanças estruturais na comunidade, em função de alterações ambientais.

Ao longo dos últimos anos, o uso da microscopia na caracterização da estrutura das comunidades de fitoplâncton vem sendo complementado por ferramentas mais expeditas, como o uso de biomarcadores taxonômicos e/ou técnicas de detecção remota (Roy *et al.*, 2013). Neste contexto, a cromatografia líquida de alta performance (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC) tem auxiliado no mapeamento das comunidades de fitoplâncton, pois permite a discriminação de pigmentos marcadores de diversos grupos (Wright & Jeffrey, 2006; Higgins *et al.*, 2011). Uma abordagem comum envolve o uso do programa CHEMTAX (Mackey *et al.*, 1996) que utiliza razões pigmentares (pigmento:clorofila *a*), derivadas do HPLC, para determinar a contribuição relativa dos diferentes grupos do fitoplâncton, em relação ao total de clorofila *a* (índice de biomassa). O programa permite identificar e quantificar grandes grupos (por exemplo, diatomáceas, dinoflagelados, haptófitas, cianobactérias), podendo até discriminar alguns sub-grupos (por exemplo, cocolitoforídeos dentro de haptófitas; proclorófitas dentro de cianobactérias), dependendo do conhecimento prévio do ambiente e/ou da

especificidade de determinados tipos de pigmentos (Wright & Jeffrey, 2006). A abordagem HPLC-CHEMTAX tem sido utilizada com sucesso em diversos estudos, em uma escala global, realizados em diferentes regiões/ambientes (por exemplo, Wright *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2011, 2012, 2015; Schlütter *et al.*, 2011), fornecendo informações valiosas sobre toda a comunidade do fitoplâncton, incluindo grupos de pequeno tamanho (que são normalmente difíceis de identificar por microscopia).

1.2. Condicionantes da distribuição do fitoplâncton nos oceanos

A distribuição do fitoplâncton nos oceanos é regida, principalmente, pela adaptação das comunidades às condições regionais características, tais como turbulência, temperatura, nutrientes e luz (Cullen *et al.*, 2002). Pigmentos acessórios desempenham um papel importante nas estratégias adaptativas do fitoplâncton, sendo normalmente utilizados para determinar mudanças na estrutura da comunidade e/ou respostas fisiológicas às condições ambientais (Trees *et al.*, 2000). Altas concentrações de carotenóides fotossintéticos (PSCs) indicam normalmente regiões de alta produtividade e uma predominância de células grandes do fitoplâncton, ao passo que altas proporções de carotenóides fotoprotetores (PPCs) sugerem condições oligotróficas, associadas com células pequenas (Gibb *et al.*, 2000). Por outro lado, as comunidades do fitoplâncton acumulam mais PPCs para evitar danos foto-oxidativos causados pela alta irradiância (Moreno *et al.*, 2012), enquanto que acúmulos de PSCs são utilizados para compensar a limitação de luz no ambiente (Rodriguez *et al.*, 2006).

Uma feição biológica típica de ambientes pelágicos é a chamada profundidade do máximo de clorofila *a* (*deep chlorophyll maximum* - DCM). A formação da DCM é resultado da adaptação do fitoplâncton frente a dois gradientes verticais opostos no oceano: luz proveniente da atmosfera, fornecida a partir de estratos superiores; e nutrientes, fornecidos a partir de camadas inferiores pelas massas d'água profundas e mais ricas (Huisman *et al.*, 2006). Por exemplo, em giros subtropicais, há uma renovação limitada de nutrientes nas águas superficiais, devido à nutriclina (camada de forte gradiente em nutrientes) ser constantemente muito mais profunda do que a camada de mistura (Neuer *et al.*, 2007; Painter *et al.*, 2008). Isto levou alguns investigadores a postular a presença de duas camadas distintas dentro da zona eufótica: uma camada superior, bem misturada, em que a produção primária é sustentada principalmente pelas formas regeneradas de nutrientes; e uma camada inferior, em que a produção é predominantemente mantida por novos nutrientes (principalmente nitrato), que são introduzidos na zona eufótica (Painter *et al.*, 2007), aumentando a biomassa do fitoplâncton e formando a DCM (Mignot *et al.*, 2014). Adicionalmente, níveis mais altos de clorofila *a* na DCM, podem estar parcialmente relacionados com o aumento deste pigmento nas células, como resultado de fotoadaptação (Rodriguez *et al.*, 2006). No entanto, sendo a DCM uma função principalmente de aporte de nutrientes, por controlar a relação metabolismo *versus* tamanho da célula, este fornecimento desempenha um papel importante na determinação da estrutura das comunidades e nos fluxos de energia dos ecossistemas pelágicos (Marañón *et al.*, 2007).

1.3. Área de estudo: Atlântico Sul subtropical

Longhurst *et al.* (1995) propôs um sistema bem fundamentado para repartir o oceano global em regiões biologicamente significativas, através da avaliação dos padrões de produtividade, utilizando dados de sensoriamento remoto da cor do oceano. Embora a partição horizontal dos oceanos venha sendo amplamente utilizada em diversos estudos que abordam a estrutura das comunidades de fitoplâncton, poucas investigações levam em conta a sua distribuição vertical. Dentro deste contexto, o Oceano Atlântico Sul é uma das regiões menos investigadas dos oceanos (Longhurst, 2007). O setor subtropical é composto pelas províncias biogeográficas da Zona de Ressurgência de Benguela (a leste), o Giro Subtropical do Atlântico Sul (central) e a Zona da Corrente do Brasil (a oeste), podendo os limites geográficos entre estas províncias apresentar variações sazonais e interanuais (Longhurst, 2007).

O programa europeu *Atlantic Meridional Transect* (AMT) tem contribuído largamente para o conhecimento dos processos biológicos na região do Atlântico Sul (Robinson *et al.*, 2006). A base de dados do AMT inclui um grande conjunto de observações sobre a distribuição dos pigmentos e grupos do fitoplâncton (por exemplo, Gibb *et al.*, 2000; Barlow *et al.*, 2002, 2004; Poulton *et al.*, 2006; Aiken *et al.*, 2009). No entanto, transectos zonais (leste-oeste) ao longo do Atlântico Sul são muito escassos. O programa americano CLIVAR vem objetivando realizar um conjunto de transectos hidrográficos nos oceanos, para a obtenção de medições de alta qualidade, com alta resolução, em

escalas horizontal e vertical. A seção A10 atravessa o Atlântico sul ao longo da latitude de 30°S, compreendendo as províncias biogeográficas em questão.

O presente trabalho utiliza a abordagem HPLC-CHEMTAX para avaliar os dados de pigmentos fitoplanctônicos recolhidos no Atlântico Sul durante um cruzeiro do programa CLIVAR realizado na seção A10, no início da primavera de 2011 (setembro/outubro). Este transecto atravessa importantes gradientes físicos e químicos (regiões costeiras vs. oceânicas, zona de ressurgência, giro subtropical) que irão gerar distintos padrões biológicos. A hipótese geral do trabalho, portanto, é de que diferentes padrões de pigmentos e comunidades fitoplanctônicas estão associadas a distintos padrões físicos e químicos das províncias presentes no Atlântico Sul subtropical. Os padrões de distribuição foram examinados horizontalmente (ao longo 30°S) e verticalmente (entre a superfície e 200m de profundidade).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar a composição fitoplanctônica no oceano Atlântico Sul ao longo da latitude 30°S e suas relações com as variáveis ambientais, no período de setembro/outubro de 2011.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a composição dos pigmentos fitoplanctônicos;
- Determinar os principais grupos fitoplanctônicos;

- Delimitar as diferentes províncias biogeográficas;
- Analisar as relações existentes entre os pigmentos e os grupos do fitoplâncton, bem como as características físicas e químicas da coluna d'água ao longo das províncias.

3. METODOLOGIA

3.1. Amostragem

O cruzeiro CLIVAR seção A10 foi realizado entre 26 de setembro e 31 de outubro de 2011, a bordo do navio *Ronald H. Brown*, no oceano Atlântico. A seção A10 compreende a área ao longo da latitude 30°S, entre as longitudes 15°E e 50°W. Foram realizados 120 perfis de CTD/O₂/rosette (*Seabird*) na coluna d'água ao longo do transecto, e coletadas amostras de água com garrafas de *Niskin*, para as análises de nutrientes e pigmentos fitoplanctônicos (Figura 1).

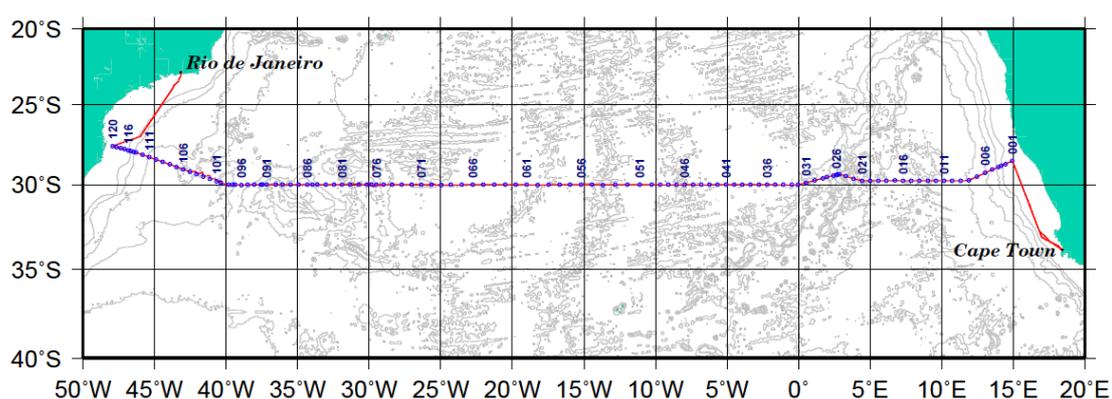


Figura 1. Transecto oceânico de estudo e localização das estações oceanográficas realizadas.

Para a análise dos pigmentos, amostras de água do mar foram coletadas em três profundidades, selecionadas de acordo com os perfis de

fluorescência, determinado por um fluorímetro *in situ* (ECO FL, *WetLabs*) acoplado ao sistema CTD: camada superficial (10 m), profundidade do máximo de clorofila *a* (DCM) e a profundidade abaixo desse máximo (onde os níveis de fluorescência estabilizavam e retornavam a baixos valores). Além disso, em algumas estações, amostras de água foram coletadas em cinco profundidades (entre a superfície e 200 m), para maior detalhamento da distribuição vertical das comunidades de fitoplâncton. As amostras de água do mar (1,5–3 litros) foram filtradas, em ambiente com baixa luminosidade, em filtros *Whatman* GF/F (tamanho de poro 0,7 μm ; diâmetro 25 mm) utilizando uma pressão de vácuo inferior a 5 polegadas Hg. Os filtros foram imediatamente armazenados em nitrogênio líquido e, após desembarque, foram transportados para o laboratório e acondicionados em freezer a -80°C para posterior análise.

3.2. Dados abióticos

A área de estudo foi dividida em três províncias biogeográficas, como proposto por Longhurst *et al.* (1995) e aqui denotado como: Brasil, África e Giro. As fronteiras das províncias foram delimitadas através de uma análise de agrupamento (distância Euclidiana como índice de similaridade), usando os valores superficiais (10 metros de profundidade) de temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e clorofila *a* (índice de biomassa do fitoplâncton). Os dados físicos e químicos (temperatura, salinidade, oxigênio e nutrientes), processados e determinados por outros pesquisadores embarcados, foram obtidos a partir da base de dados do CLIVAR (<http://cchdo.ucsd.edu/cruise/33RO20110926>). A análise dos nutrientes (nitrato, silicato e fosfato) foi realizada utilizando o

protocolo de análise padrão do programa WOCE (Gordon *et al.*, 1993). A profundidade da nitraclina (gradiente vertical de nitrato) foi determinada a partir dos perfis verticais da concentração de nitrato, aqui definida como a profundidade a partir da qual a mesma registrou um incremento acentuado (geralmente a profundidade onde a concentração foi $>1 \mu\text{mol.kg}^{-1}$).

A densidade da água do mar (kg.m^{-3}) foi determinada a partir dos dados de temperatura e salinidade, com a finalidade de avaliar a estrutura física da coluna d'água. A profundidade da camada de mistura (UML) foi determinada de acordo com de Boyer Montégut *et al.* (2004), que consiste na profundidade na qual os valores de densidade foram maiores do que $0,03 \text{ kg.m}^{-3}$ em relação a um valor próximo da superfície (10 m de profundidade). A estabilidade da coluna d'água (E) foi estimada utilizando variações verticais de densidade, como uma função da frequência de Brunt-Väisälä (N^2), definida como $N^2 = - (g/\rho).(\partial\rho/\partial z)$ ($\text{rad}^2.\text{s}^{-2}$), que leva a $E = N^2 / g$ ($10^{-8} \text{ rad}^2.\text{m}^{-1}$), onde g é a gravidade e ρ é a densidade da água do mar. Foram utilizados neste estudo os valores médios de E entre 0 e 100 m. A radiação fotossinteticamente ativa (PAR; $\lambda = 400$ a 700 nm) na coluna d'água (0-30m de profundidade) foi medida utilizando um perfilador radiométrico (*HyperPro, Satlantic*) em todas as estações diurnas (n=42), sob condições meteorológicas e oceanográficas favoráveis para a medição. A profundidade da camada eufótica (Zeu), definida como a profundidade na qual PAR atinge valores de 1% em relação aos níveis registrados na superfície (Kirk, 2011), foi estimada como uma função da equação exponencial que descreve a atenuação vertical de luz solar na coluna

d'água: $I_z = I_0 \cdot \exp(-k \cdot z)$, que leva a $Z_{eu} = 4,6/k$, onde I é PAR ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) e k é o coeficiente de atenuação (m^{-1}).

3.3. Análise de pigmentos por HPLC

Os pigmentos fitoplanctônicos foram analisados no Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos, Instituto de Oceanografia, da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A extração dos pigmentos foi realizada utilizando 3 ml de metanol 95% tamponado (2% de acetato de amônio) contendo $0,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ de trans- β -apo-8'-carotenal como padrão interno (utilizado para quantificar e corrigir as perdas durante o processo de extração). Durante o processo de extração, os filtros foram mantidos em tubos de ensaio imersos nessa solução por 1h e refrigerados a -20°C . Para auxiliar no processo de extração, os filtros foram macerados com bastão de vidro, ultrasonificados por 5 minutos em banho frio e, ao final do processo, centrifugados a 1100 rpm, durante 5 minutos, a uma temperatura de 3°C . O sobrenadante foi filtrado utilizando um filtro *Fluoropore* de $0,2\mu\text{m}$ de poro, e $1000\mu\text{l}$ da solução foram misturados com $400\mu\text{l}$ de água Milli-Q em *vials* de análise específicos para cromatografia, e a solução colocada imediatamente no auto-injetor, refrigerado a 4°C , do instrumento de HPLC (*Shimadzu*).

O HPLC é composto por um módulo distribuidor de solventes (LC-20AD) com um sistema de controle (CBM-20A), um detector de fotodiodos (SPD-M20A) e um detector de fluorescência (RF-10AXL). A separação cromatográfica dos pigmentos foi efetuada usando uma coluna monomérica C8 (*SunFire*; 15cm de comprimento; 4,6mm de diâmetro e $3,5\mu\text{m}$ de tamanho das

partículas) a uma temperatura constante de 25°C. A fase móvel (solventes) e o seu respectivo gradiente seguiu o método desenvolvido por Zapata *et al.* (2000), discutido e otimizado por Mendes *et al.* (2007), com um fluxo de 1ml.min⁻¹ e um volume de injeção de 100µl (Tabela 1).

Tabela 1. Gradiente e composição da fase móvel utilizada. Adaptado de Mendes *et al.* (2007).

Método C8	Tempo (min)	A	B
		Metanol:acetonitrilo:piridina aquosa† (50:25:25 v/v/v) %	Metanol:acetonitrilo:acetona (20:60:20 v/v/v) %
	0	100	0
	20	60	40
	26	5	95
	38	5	95
	40	100	0

† Solução aquosa de piridina (0.25 M) com pH ajustado a 5.0 pela adição de ácido acético

A identificação e quantificação dos picos referentes aos pigmentos fotossintéticos foram realizadas usando como referência padrões comerciais de concentração conhecida da DHI (*Institute for Water and Environment, Denmark*). Os pigmentos foram identificados a partir de seus respectivos espectros de absorção e tempos de retenção, obtidos pelo detector de fotodiodos (comprimento de onda 190 a 800 nm; 1 nm de resolução espectral) e/ou pelo detector de fluorescência (excitação 430nm / emissão 670nm), para o caso dos pigmentos clorofilianos. Os pigmentos foram quantificados a partir da integração de seus respectivos picos de retenção usando o programa *LC-Solution (Shimadzu)*, mas todas as integrações de picos foram verificadas manualmente e corrigidas quando necessário. A Tabela 2 lista todos os pigmentos analisados neste estudo que foram detectados acima do limite de quantificação, juntamente com as respectivas abreviaturas.

3.4. Índices pigmentares

Pigmentos diagnósticos (DP) foram definidos através do agrupamento de sete pigmentos biomarcadores selecionados. Esta abordagem (Barlow *et al.*, 2007) permitiu identificar quatro grandes grupos do fitoplâncton: diatomáceas, dinoflagelados (com peridininina), nano-flagelados e procariontes. Os pigmentos que definiram esses grupos estão indicados na Tabela 2. Um filtro de controle de qualidade foi aplicado aos dados de pigmentos, seguindo Aiken *et al.* (2009). Os critérios são: (1) A diferença entre o total de clorofila *a* (Tchl_a) e os pigmentos acessórios (AP) deve ser inferior a 30 % da concentração do total de pigmentos (TP); (2) A regressão entre Tchl_a e AP deve apresentar uma inclinação entre 0,7 e 1,4, e deve explicar mais do que 90% do total da variância ($r^2 > 0.9$); (3) Os dados do cruzeiro são aceitos somente se o número de amostras que cumprirem os critérios anteriores for maior do que 85 % do total de amostras.

Como o fitoplâncton pode alterar a sua composição pigmentar devido às condições ambientais (Higgins *et al.*, 2011), índices de fotoadaptação foram determinados para avaliar mudanças na contribuição de Tchl_a e carotenóides em relação ao total de pigmentos (Barlow *et al.*, 2007). Os carotenóides foram separados como fotossintéticos (PSC) e fotoprotetores (PPC). Os índices de fotoadaptação utilizados, bem como os respectivos pigmentos representativos de cada índice estão indicados na Tabela 2.

A análise de HPLC permitiu, ainda, a separação, identificação e quantificação dos produtos de degradação da clorofila *a*. Os teores relativos desses produtos foram usados como índices de herbivoria e de senescência

celular (Wright *et al.*, 2010). Os índices utilizados, com os respectivos tipos de produtos de degradação atribuídos, estão também indicados na Tabela 2.

Tabela 2. Símbolos, nomes, fórmulas, concentrações (em ng.L^{-1}) dos pigmentos e os valores dos índices pigmentares identificados neste estudo (média \pm desvio-padrão para cada província na superfície e DCM). Tchl *a* = total de clorofila *a*, DP = pigmentos diagnóstico, PPC= carotenóides fotoprotetores, PSC = carotenóides fotossintéticos, AP = pigmentos acessórios, TP = total de pigmentos, Diatom = índice de diatomáceas, Dino = índice de dinoflagelados, Flag= índice de nano-flagelados, Prok = índice de procariontes.

Symbol	Description	Africa Province		Gyre Province		Brazil Province	
		Surface	DCM	Surface	DCM	Surface	DCM
Chl <i>a</i>	Chlorophyll <i>a</i>	382.3 \pm 405.9	457.8 \pm 390.2	58.5 \pm 23.3	194.1 \pm 77.2	93.7 \pm 45.4	268.3 \pm 119.7
DV Chl <i>a</i>	Divinyl chlorophyll <i>a</i>	21.1 \pm 15.1	46.6 \pm 43.9	33.8 \pm 15.8	90.4 \pm 42.1	42.7 \pm 10.1	125.5 \pm 55.1
Chl <i>b</i>	Chlorophyll <i>b</i>	48 \pm 42.8	77.5 \pm 41	8.2 \pm 6.5	90 \pm 50.4	8.5 \pm 4.4	108 \pm 65
Chl <i>c</i> ₂	Chlorophyll <i>c</i> ₂	45.9 \pm 57.9	63.9 \pm 54.4	5 \pm 2.8	25.1 \pm 12.4	7.4 \pm 4.5	27.5 \pm 12.9
Chl <i>c</i> ₃	Chlorophyll <i>c</i> ₃	35 \pm 26.4	58.2 \pm 23.1	5.1 \pm 3.2	42.2 \pm 17.7	6.1 \pm 3.5	47.3 \pm 23.3
Fuco	Fucoxanthin	40.6 \pm 45.1	58.7 \pm 54.2	4.5 \pm 3.9	16.3 \pm 20.7	13.4 \pm 10.5	15.5 \pm 8.2
But	19'-butanoyloxyfucoxanthin	39 \pm 20.2	65.3 \pm 18.9	6.4 \pm 3.2	50.6 \pm 18.7	6.1 \pm 2.6	53.1 \pm 27.8
Hex	19'-hexanoyloxyfucoxanthin	104.3 \pm 57.9	128.3 \pm 65.7	14.9 \pm 6.2	66.4 \pm 25.8	16.3 \pm 7.8	71.8 \pm 28.9
Diad	Diadinoxanthin	38.5 \pm 37.5	25.4 \pm 38.4	4.1 \pm 2.1	5.4 \pm 2.4	6.2 \pm 2.5	7.2 \pm 2.5
Lut	Lutein	3.3 \pm 1.9	3.2 \pm 1.5	0.2 \pm 0.4	1.4 \pm 1.1	0.1 \pm 0.2	1.8 \pm 0.8
Pras	Prasinoxanthin	4.2 \pm 6.4	5.4 \pm 6.7	0.1 \pm 0.4	2.3 \pm 2	0.4 \pm 0.7	6.5 \pm 4.8
Allo	Alloxanthin	2.9 \pm 5.3	3 \pm 5	0 \pm 0.2	0.8 \pm 1.5	0.1 \pm 0.2	2.7 \pm 1.9
Diato	Diatoxanthin	3 \pm 2.3	1.6 \pm 1.6	0.3 \pm 0.4	0.2 \pm 0.3	0.7 \pm 0.6	0 \pm 0.1
Zea	Zeaxanthin	59.7 \pm 36.2	67 \pm 39.3	45.3 \pm 11.2	43.8 \pm 23.9	67.9 \pm 10.3	62.7 \pm 37.3
Car	β -carotene + $\beta\beta$ -carotene	10.3 \pm 9.8	14.4 \pm 13.1	5.2 \pm 2.5	16.4 \pm 8.9	8.4 \pm 3.9	25.2 \pm 11.5
Peri	Peridinin	53.3 \pm 166.4	56.4 \pm 165.7	2.1 \pm 4	3.7 \pm 3.1	2.4 \pm 0.7	4.9 \pm 2.1
Viola	Violaxanthin	4.4 \pm 3.6	4.4 \pm 3.4	0.6 \pm 0.4	1.3 \pm 0.7	0.8 \pm 0.4	1.4 \pm 0.8
Pheide <i>a</i>	Pheophorbide <i>a</i>	7.1 \pm 9.3	10.8 \pm 8.6	1.4 \pm 1.7	8.2 \pm 4.7	1.9 \pm 1.2	11.6 \pm 6
Phe <i>a</i>	Pheophytin <i>a</i>	5.7 \pm 6	8 \pm 5.7	1.9 \pm 1	6.8 \pm 4.5	2.4 \pm 1	8.3 \pm 3.2
Chlide <i>a</i>	Cholophyllide <i>a</i>	3.5 \pm 3.9	3.3 \pm 3.9	0.1 \pm 0.3	0.4 \pm 0.9	0.5 \pm 0.8	0.3 \pm 0.3
Pigment sum							
Tchl <i>a</i>	Chl <i>a</i> + DVChl <i>a</i> + Chlide <i>a</i>	406.9 \pm 402.2	507.7 \pm 377.8	92.4 \pm 35.1	284.9 \pm 105.1	137 \pm 45.6	394 \pm 153.5
DP	Allo+But+Chl <i>b</i> +Fuco+Hex+Peri+Zea	347.9 \pm 338.6	456.1 \pm 311.8	81.3 \pm 25.3	271.6 \pm 107.5	114.8 \pm 30.6	318.7 \pm 133.4
PPC	Viola+Diad+Allo+Diato+Zea+Car+Lut	122.2 \pm 86.8	119 \pm 86.9	55.7 \pm 13.8	69.3 \pm 32.1	84.3 \pm 14.1	100.9 \pm 48.6
PSC	But+Fuco+Hex+Peri+Pras	241.5 \pm 272.6	314.1 \pm 257.7	28 \pm 13.4	139.3 \pm 57.5	38.6 \pm 20.7	151.7 \pm 66.4
AP	PPC+PSC+Chl <i>b</i> +Chl <i>c</i> ₂ +Chl <i>c</i> ₃	492.5 \pm 475.1	632.7 \pm 437.8	102 \pm 34.1	365.9 \pm 143.4	144.9 \pm 42.7	435.4 \pm 183.5
TP	Tchl <i>a</i> +AP	899.5 \pm 877	1140.3 \pm 815.4	194.3 \pm 68.8	650.8 \pm 245.3	281.9 \pm 87.9	829.4 \pm 333.6
Pigment index							
Diatom	Fuco/DP	0.12 \pm 0.05	0.13 \pm 0.08	0.05 \pm 0.03	0.05 \pm 0.05	0.11 \pm 0.05	0.05 \pm 0.02
Dino	Perid/DP	0.06 \pm 0.1	0.06 \pm 0.1	0.02 \pm 0.03	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01
Flag	(Allo+But+Hex+Chl <i>b</i>)/DP	0.62 \pm 0.09	0.66 \pm 0.11	0.35 \pm 0.08	0.76 \pm 0.11	0.26 \pm 0.06	0.73 \pm 0.12
Prok	Zea/DP	0.2 \pm 0.07	0.15 \pm 0.06	0.57 \pm 0.09	0.17 \pm 0.1	0.61 \pm 0.09	0.21 \pm 0.12
PPC _{TP}	PPC/TP	0.15 \pm 0.03	0.1 \pm 0.03	0.3 \pm 0.04	0.11 \pm 0.04	0.31 \pm 0.05	0.12 \pm 0.05
PSC _{TP}	PSC/TP	0.26 \pm 0.03	0.27 \pm 0.03	0.14 \pm 0.03	0.21 \pm 0.03	0.13 \pm 0.03	0.19 \pm 0.04
Tchl _a _{TP}	Tchl <i>a</i> /TP	0.45 \pm 0.02	0.44 \pm 0.01	0.47 \pm 0.02	0.44 \pm 0.03	0.48 \pm 0.02	0.47 \pm 0.04
grazing	(Pheide <i>a</i> +Phe <i>a</i>)/Tchl <i>a</i>	0.031 \pm 0.007	0.039 \pm 0.012	0.035 \pm 0.016	0.051 \pm 0.015	0.03 \pm 0.01	0.055 \pm 0.026
senescence	Chlide <i>a</i> /Tchl <i>a</i>	0.009 \pm 0.007	0.006 \pm 0.004	0.001 \pm 0.001	0.001 \pm 0.002	0.003 \pm 0.004	0.001 \pm 0.001

3.5. Aplicação do CHEMTAX

Para melhor detalhamento dos grupos taxonômicos do fitoplâncton, através dos pigmentos, foi utilizado o programa estatístico CHEMTAX (versão 1.95). Este programa utiliza um processo iterativo de fatorização matricial de forma a otimizar a associação entre os diferentes pigmentos presentes, com a finalidade de determinar a mais adequada composição dos grupos taxonômicos (Mackey *et al.*, 1996). O CHEMTAX requer uma matriz de entrada que contenha as classes esperadas (informação obtida através de uma prévia visualização ao microscópio e/ou através da presença de determinados pigmentos e suas respectivas associações) e as razões de pigmentos:Chla iniciais dessas mesmas classes. Geralmente, a construção da matriz das razões pigmentares de entrada é baseada em trabalhos já publicados, que utilizaram a mesma metodologia em regiões geograficamente semelhantes. Esta informação pode, também, ser complementada através de razões pigmentares obtidas em trabalhos laboratoriais com culturas de espécies/grupos similares. No presente trabalho, a matriz de entrada com dez grupos fitoplanctônicos (ver Tabela 3) foi obtida de Gibberd *et al.* (2013), cujo estudo foi desenvolvido em região próxima à abordada neste trabalho. Os pressupostos para escolha dos grupos fitoplanctônicos utilizados estão descritos em Gibberd *et al.* (2013). Os procedimentos estatísticos e cálculos matemáticos efetuados pelo programa CHEMTAX estão integralmente descritos em Mackey *et al.* (1996).

A mesma matriz de entrada foi usada para as três províncias identificadas (Brasil, Giro e África). No entanto, o procedimento foi executado

separadamente, a fim de minimizar potenciais variações/erros no processo de otimização do CHEMTAX. Além disso, tendo em consideração a variação nas razões pigmentares em relação à disponibilidade de luz e/ou disponibilidade de nutrientes, estes três conjuntos de dados foram subdivididos ainda em mais três sub-grupos, de acordo com a profundidade: 0-50m, 50-100m, e >100m. Para aumentar a precisão do processo de geração da matriz de saída para determinação dos grupos, uma série de 60 matrizes foi gerada, multiplicando-se cada valor de razão da matriz de entrada inicial, por um fator F, onde $F = 1 + s.(r - 0,5)$, s é um fator escalar (normalmente 0,7) e r é um número aleatório entre 0 e 1 gerado utilizando a função RAND do *Microsoft Excel*. Cada uma das 60 matrizes foi utilizada como matriz de entrada no CHEMTAX, e a média das 6 matrizes de saída (10%) com os menores resíduos, foi utilizada para determinar a abundância taxonômica [ver Wright *et al.* (2009) para mais detalhes do procedimento]. As matrizes de saída determinadas para cada profundidade e província estão indicadas na Tabela 3.

3.6. Grupos do fitoplâncton e variáveis ambientais

As relações entre os grupos fitoplanctônicos e as variáveis ambientais foram exploradas através de uma análise de correspondência canônica (CCA; Ter Braak & Prentice, 1988). A análise foi realizada a fim de determinar quais os fatores ambientais foram mais fortemente associados com as comunidades fitoplanctônicas encontradas. As variáveis bióticas foram representadas pela biomassa dos grupos taxonômicos derivados do CHEMTAX (mg.m^{-3} Tchl a); e as variáveis ambientais foram: temperatura, salinidade, total de clorofila a

(Tchl_a), concentração de nitrato, índices de herbivoria e senescência celular, e índices de carotenoides fotoprotetores (PPC_{TP}) e fotossintéticos (PSC_{TP}). Um teste de Monte Carlo foi executado com base em 499 permutações sob um modelo reduzido ($p < 0,05$) para avaliar a significância da análise.

Tabela 3. Razões de pigmentos usadas na análise dos dados no CHEMTAX: a) matriz de entrada, b) matrizes de saída (para cada província e profundidade) após análise.

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
(a) Input matrix														
Prasinophytes	1	0	0.104	0	0	0	0.011	0	0.096	0	0.062	0	1.114	
Chlorophytes	1	0	0.183	0	0	0	0.062	0	0	0	0.039	0	0.451	
Cryptophytes	1	0	0	0.134	0	0	0	0	0	0.274	0	0	0	
Diatoms-A	1	0	0	0.317	0.732	0	0	0	0	0	0	0	0	
Diatoms-B	1	0	0	0.235	1.144	0	0	0.109	0	0	0	0	0	
Dinoflagellates	1	0	0	0.258	0	0	0	0	0	0	0	0	0.848	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.135	0.142	1.092	0	0.133	0	0	0	0	0	
Haptophytes-8	1	0	0	0.368	0.249	0.763	0	0.286	0	0	0	0	0	
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.882	0	0	
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.287	0	0.322	
(b) Output matrix														
<u>Africa Province 0-50m</u>														
	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.076	0	0	0	0.012	0	0.146	0	0.074	0	0.936	
Chlorophytes	1	0	0.095	0	0	0	0.141	0	0	0	0.043	0	0.51	
Cryptophytes	1	0	0	0.16	0	0	0	0	0	0.417	0	0	0	
Diatoms-A	1	0	0	0.091	0.398	0	0	0	0	0	0	0	0	
Diatoms-B	1	0	0	0.306	1.248	0	0	0.129	0	0	0	0	0	
Dinoflagellates	1	0	0	0.207	0	0	0	0	0	0	0	0	1.124	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.153	0.177	1.911	0	0.106	0	0	0	0	0	
Haptophytes-8	1	0	0	0.211	0.064	0.495	0	0.255	0	0	0	0	0	
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.254	0	0	
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.357	0	0.417	
<u>Africa Province 50-100m</u>														
	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.029	0	0	0	0.011	0	0.114	0	0.06	0	0.76	
Chlorophytes	1	0	0.085	0	0	0	0.092	0	0	0	0.047	0	0.821	
Cryptophytes	1	0	0	0.177	0	0	0	0	0	0.304	0	0	0	
Diatoms-A	1	0	0	0.554	0.516	0	0	0	0	0	0	0	0	
Diatoms-B	1	0	0	0.173	1.574	0	0	0.152	0	0	0	0	0	
Dinoflagellates	1	0	0	0.159	0	0	0	0	0	0	0	0	1.006	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.187	0.195	1.663	0	0.153	0	0	0	0	0	
Haptophytes-8	1	0	0	0.143	0.053	0.313	0	0.318	0	0	0	0	0	
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.208	0	0	
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.313	0	0.648	

Africa Province >100m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.026	0	0	0	0	0.015	0	0.16	0	0.097	0	1.128
Chlorophytes	1	0	0.219	0	0	0	0	0.064	0	0	0	0.058	0	0.662
Cryptophytes	1	0	0	0.183	0	0	0	0	0	0	0.373	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.432	0.757	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.133	1.129	0	0	0	0.164	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.154	0	0	0	0	0	0	0	0	0.946	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.13	0.122	0.771	0	0	0.201	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.219	0.162	0.809	0	0	0.3	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.077	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.202	0	0.885

Gyre Province 0-50m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.063	0	0	0	0	0.015	0	0.043	0	0.077	0	1.678
Chlorophytes	1	0	0.237	0	0	0	0	0.072	0	0	0	0.036	0	0.459
Cryptophytes	1	0	0	0.158	0	0	0	0	0	0	0.268	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.483	0.694	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.257	1.599	0	0	0	0.14	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.311	0	0	0	0	0	0	0	0	0.96	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.152	0.107	1.12	0	0	0.179	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.278	0.161	0.989	0	0	0.495	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.036	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.374	0	0.117

Gyre Province 50-100m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.057	0	0	0	0	0.012	0	0.078	0	0.082	0	3.068
Chlorophytes	1	0	0.034	0	0	0	0	0.145	0	0	0	0.054	0	0.404
Cryptophytes	1	0	0	0.121	0	0	0	0	0	0	0.329	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.345	0.782	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.27	1.42	0	0	0	0.133	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.408	0	0	0	0	0	0	0	0	0.846	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.18	0.169	1.852	0	0	0.164	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.156	0.041	0.418	0	0	0.316	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.4	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.339	0	0.141

Gyre Province >100m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.022	0	0	0	0	0.017	0	0.066	0	0.076	0	2.483
Chlorophytes	1	0	0.251	0	0	0	0	0.036	0	0	0	0.045	0	0.566
Cryptophytes	1	0	0	0.139	0	0	0	0	0	0	0.344	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.432	0.946	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.241	1.209	0	0	0	0.095	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.359	0	0	0	0	0	0	0	0	1.047	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.058	0.06	0.613	0	0	0.167	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.421	0.166	0.767	0	0	0.477	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.193	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.265	0	0.328

Brazil Province 0-50m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.063	0	0	0	0	0.015	0	0.138	0	0.077	0	1.154
Chlorophytes	1	0	0.271	0	0	0	0	0.068	0	0	0	0.046	0	0.37
Cryptophytes	1	0	0	0.159	0	0	0	0	0	0	0.305	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.272	0.627	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.136	0.851	0	0	0	0.156	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.231	0	0	0	0	0	0	0	0	1.027	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.131	0.12	0.964	0	0	0.122	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.384	0.328	0.831	0	0	0.348	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.592	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.372	0	0.099

Brazil Province 50-100m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.018	0	0	0	0	0.011	0	0.141	0	0.071	0	1.799
Chlorophytes	1	0	0.054	0	0	0	0	0.094	0	0	0	0.049	0	0.545
Cryptophytes	1	0	0	0.151	0	0	0	0	0	0	0.397	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.431	0.688	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.052	1.074	0	0	0	0.099	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.336	0	0	0	0	0	0	0	0	1.057	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.187	0.111	1.212	0	0	0.187	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.171	0.099	0.615	0	0	0.284	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.086	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.28	0	0.119

Brazil Province >100m

	Chl <i>a</i>	DV	Chl <i>a</i>	Viola	Chl <i>c</i> ₂	Fuco	Hex	Lut	Chl <i>c</i> ₃	Pras	Allo	Zea	Peri	Chl <i>b</i>
Prasinophytes	1	0	0.025	0	0	0	0	0.016	0	0.097	0	0.078	0	2.121
Chlorophytes	1	0	0.259	0	0	0	0	0.081	0	0	0	0.056	0	0.512
Cryptophytes	1	0	0	0.172	0	0	0	0	0	0	0.402	0	0	0
Diatoms-A	1	0	0	0.369	0.807	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diatoms-B	1	0	0	0.269	1.318	0	0	0	0.133	0	0	0	0	0
Dinoflagellates	1	0	0	0.31	0	0	0	0	0	0	0	0	1.09	0
Haptophytes-6	1	0	0	0.134	0.111	1.939	0	0	0.17	0	0	0	0	0
Haptophytes-8	1	0	0	0.102	0.032	0.32	0	0	0.308	0	0	0	0	0
Synechococcus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.249	0	0
Prochlorococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.278	0	0.305

4. SÍNTESE DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Esta seção trata de uma síntese dos principais resultados do presente trabalho, cujos detalhes e discussão encontram-se no manuscrito “*Contrasting patterns of phytoplankton pigments and chemotaxonomic groups along 30° S in the subtropical South Atlantic Ocean*” a ser submetido para o periódico *Deep-Sea Research I*.

Os resultados mostraram que os padrões de distribuição vertical e horizontal dos pigmentos e grupos taxonômicos no Atlântico Sul subtropical foram condicionados principalmente pela disponibilidade de luz e/ou nutrientes. Carotenóides fotossintéticos (PSCs), associados com pequenos flagelados, dominaram a profundidade do máximo de clorofila *a* (DCM) das províncias do Brasil e do Giro, limitada por luz e rica em nutrientes, e a camada superficial da província da África, influenciada pela ressurgência de Benguela. Carotenóides fotoprotetores (PPCs) foram predominantes nas camadas superficiais, pobres em nutrientes e com alta irradiância, das províncias do Brasil e do Giro, associados a um domínio de procariontes (Figura 2).

Na província da África, altas concentrações de Tchl *a* ($> 1 \text{ mg.m}^{-3}$) foram encontradas na camada superficial (entre 0–50 m) e, em muitas estações, não foi observada a formação de DCM. Quando estas ocorreram, foram, em média, mais rasas (em torno de 40 m) e não tão evidentes em relação às outras duas províncias. Nesta área, principalmente dominada por haptófitas (e dinoflagelados na estação mais costeira), a camada eufótica também tendeu a ser mais rasa que nas outras províncias e associada com concentrações mais

elevadas de nutrientes, homoganeamente distribuídos na coluna d' água (Figura 3).

Na província do Brasil, a concentração de Tchl *a* na superfície foi baixa ($\sim 0,1\text{--}0,2 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$), atingindo um máximo de $\sim 0,5 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ em profundidade (50–80 m). Esta província apresentou uma camada eufótica em torno de 75–100 m e concentrações baixas de nitrato em superfície ($<1 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), somente aumentando em profundidades abaixo de 50-100 m. A província do Giro caracterizou-se também por baixa concentração de Tchl *a* na superfície ($<0,1 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$), com uma evidente DCM formada a cerca de 100 m de profundidade, fortemente associada com a base da camada eufótica e a nitraclina (Figura 3). Em ambas as províncias (Brasil e Giro), a comunidade foi dominada por procariontes (*Synechococcus* e *Prochlorococcus*) na superfície e pequenos flagelados (principalmente haptófitas) na DCM.

A abordagem HPLC-CHEMTAX provou ser uma ferramenta poderosa no mapeamento da distribuição das comunidades de fitoplâncton ao longo das diferentes províncias do Atlântico Sul subtropical. Este trabalho contribuiu para melhor compreensão da distribuição dos pigmentos e estruturação das comunidades fitoplanctônicas ao longo de gradientes horizontais e verticais no ambiente marinho.

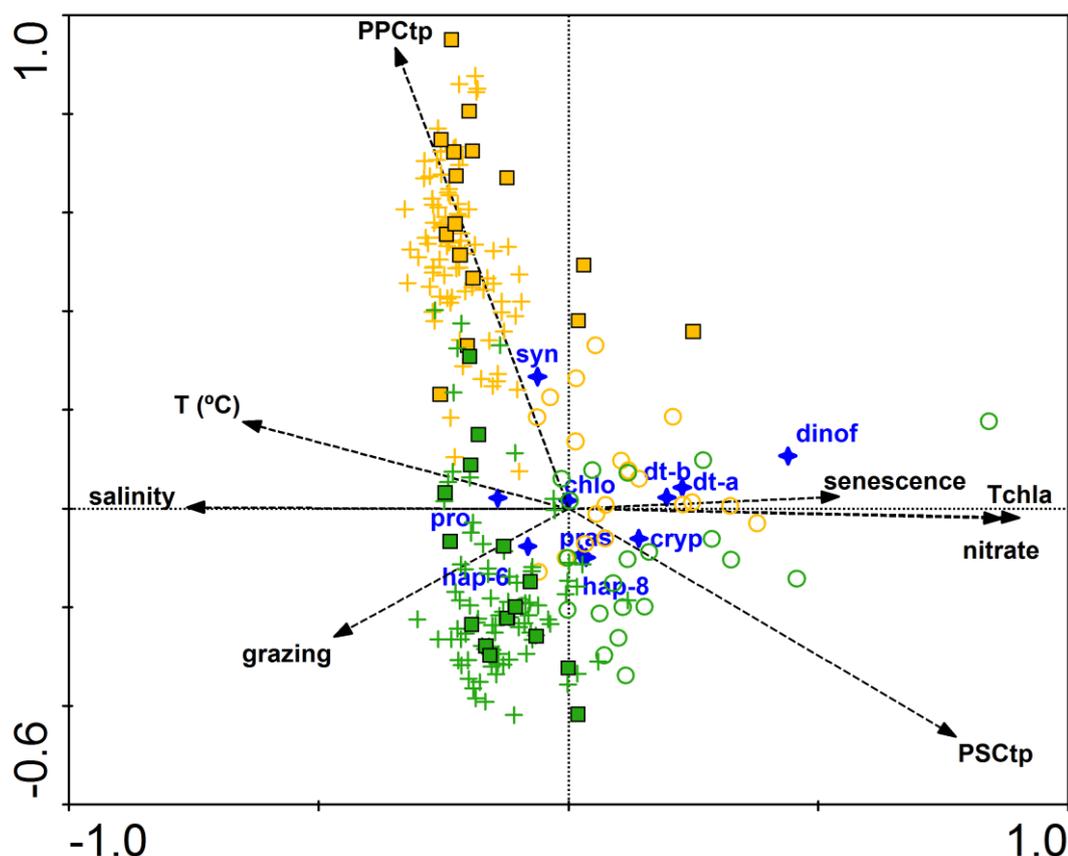


Figura 2. Diagrama de ordenação da análise de correspondência canônica das contribuições absolutas para o total de clorofila a ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ Tchl a) dos distintos grupos taxonômicos na superfície (símbolos amarelos) e na DCM (símbolos verdes). Setas indicam as variáveis ambientais: temperatura ($T^{\circ}\text{C}$), salinidade, total de clorofila a (Tchl a), concentração de nitrato, índices de senescência e herbivoria, índices de carotenoides fotoprotetores (PPCtp) e fotossintéticos (PSCtp). Estrelas azuis indicam os grupos taxonômicos: *Synechococcus* (syn), *Prochlorococcus* (pro), Haptófitas-6 (hap-6), Haptófitas-8 (hap-8), Dinoflagelados (dinof), Diatomáceas-A (dt-a), Diatomáceas-B (dt-b), Criptófitas (cryp), Clorófitas (chlo) e Prasinófitas (pras). As províncias estão indicadas com símbolos: círculos = África, cruzes = Giro, e quadrados = Brasil.

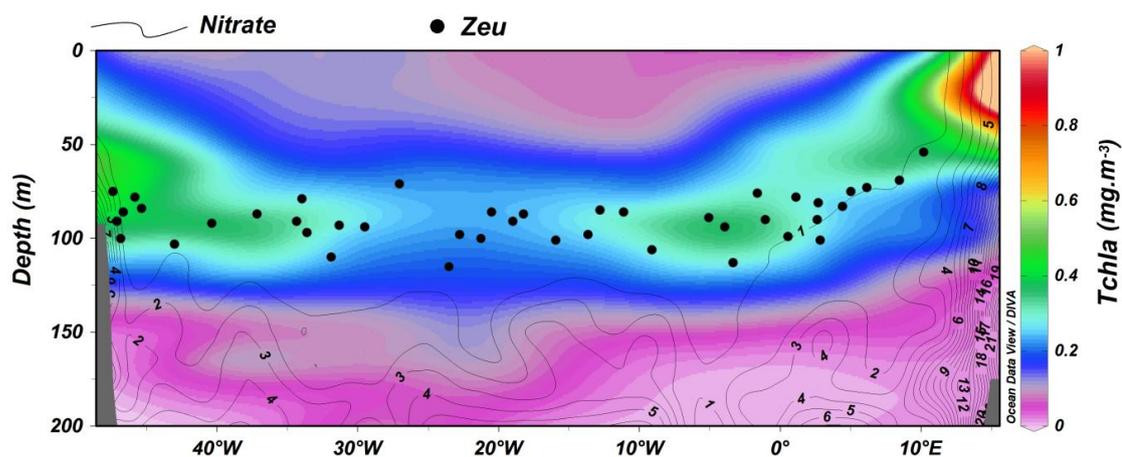


Figura 3. Distribuição vertical do total de clorofila a (Tchl a) ao longo do transecto. Linhas de contorno indicam a concentração de nitrato ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$). Pontos pretos indicam a profundidade da base da camada eufótica (Zeu).

5. LITERATURA CITADA

AIKEN, J., PRADHAN, Y., BARLOW, R., LAVENDER, S., POULTON, A., HOLLIGAN, P., HARDMAN-MOUNTFORD, N., 2009. Phytoplankton pigments and functional types in the Atlantic Ocean: A decadal assessment, 1995 – 2005. *Deep-Sea Research II* 56, 899–917.

BARLOW, R.G., AIKEN, J., HOLLIGAN, P.M., CUMMINGS, D.G., MARITORENA, S., HOOKER, S., 2002. Phytoplankton pigment and absorption characteristics along meridional transects in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research I* 47, 637–660.

BARLOW, R.G., AIKEN, J., MOORE, G.F., HOLLIGAN, P.M., LAVENDER, S., 2004. Pigment adaptations in surface phytoplankton along the eastern boundary of the Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 281, 13–26.

BARLOW, R., STUART, V., LUTZ, V., SESSIONS, H., SATHYENDRANATH, S., PLATT, T., KYEWALYANGA, M., CLEMENTSON, L., FUKASAWA, M., WATANABE, S., DEVRED, E., 2007. Seasonal pigment patterns of surface phytoplankton in the subtropical southern hemisphere. *Deep-Sea Research* 154, 1687–1703.

BOYCE, D.G., LEWIS, M.R., WORM, B., 2010. Global phytoplankton decline over the past century. *Nature* 466, 591–596

CULLEN, J.J., FRANKS, P.J.S., KARL, D.M., LONGHURST, A., 2002. Physical influences on marine ecosystem dynamics, in: ROBINSON, A.R., MCCARTHY, J.J., ROTHCHILD, B.J. (Eds.), *The Sea*, vol. 12. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 297–336.

DE BOYER MONTÉGUT, C., MADEC, G., FISCHER, A.S., LAZAR, A., IUDICONE, D., 2004. Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology. *Journal of Geophysical Research* 109, C12003.

DONEY, S.C., 2006. Plankton in a Warmer World. *Nature* 444: 695-696.

DONEY, S.C., RUCKELSHAUS, M., DUFFY, J.E., BARRY, J.P., CHAN, F., ENGLISH, C.A., GALINDO, H.M., GREBMEIER, M., HOLLOWED, A.B., KNOWLTON, N., POLOVINA, J., RABALAIS, N.N., SYDEMAN, W.J., TALLEY, L.D., 2012. Climate change impacts on marine ecosystems. *Annual Review of Marine Science* 4, 11–37.

FINKEL, Z.V., BEARDALL, J., FLYNN, K.J., QUIGG, A., REES, T.A.V., RAVEN, J.A., 2010. Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry. *Journal of Plankton Research* 32, 119–137.

GIBB, S.W., BARLOW, R.G., CUMMINGS, D.G., REES, N.W., TREES, C.C., HOLLIGAN, P., SUGGETT, D., 2000. Surface phytoplankton pigment distributions in the Atlantic Ocean: an assessment of basin scale variability between 50°N and 50°S. *Progress in Oceanography* 45, 339–368.

GIBBERD, M., KEAN, E., BARLOW, R., THOMALLA, S., LUCAS, M., 2013. Phytoplankton chemotaxonomy in the Atlantic sector of the Southern Ocean during late summer 2009. *Deep-Sea Research I* 78, 70–78.

GORDON, L.I., JENNINGS, J.C., ROSS, JR.A.A., KREST, J.M., 1993. A suggested protocol for continuous flow automated analysis of seawater nutrients (phosphate, nitrate, nitrite and silicic acid) in the WOCE Hydrographic Program and the Joint Global Ocean Fluxes Study. *WOCE Operations Manual* 3, 91-1

HAYS, G.C., RICHARDSON, A.J., ROBINSON C, 2005. Climate change and marine plankton. *Trends in Ecology and Evolution* 20: 337-344

HIGGINS, H.W., WRIGHT, S.W., SCHLÜTER, L., 2011. Quantitative interpretation of chemotaxonomic pigment data, in: ROY, S., LLEWELLYN, C.A., EGELAND, E.S., JOHNSON, G. (Eds.), *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography*. Cambridge University Press, United Kingdom, pp. 257–313.

HUISMAN, J., THI, N.N.P., KARL, D.M., SOMMEIJER, B., 2006. Reduced mixing generates oscillations and chaos in the oceanic deep chlorophyll maximum. *Nature* 439, 322–325.

IPCC, 2013. Intergovernmental Panel on Climate Change. Working Group Report. Climate Change 2013: The Physical Science Basis

KIRK, J.T.O., 2011. Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems, third ed. Cambridge University Press, United Kingdom.

LONGHURST, A., 2007. Ecological Geography of the Sea, 2nd ed., Academic Press, San Diego.

LONGHURST, A., SATHYENDRANATH, S., PLATT, T., CAVERHILL, C., 1995. An estimate of global primary production in the ocean from satellite radiometer data. *Journal of Plankton Research* 17, 1245–1271.

MACKEY, M.D., MACKEY, D.J., HIGGINS, H.W., WRIGHT, S.W., 1996. CHEMTAX- a program for estimating class abundances from chemical markers : application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144, 265–283.

MARAÑÓN, E., CERMEÑO, P., RODRÍGUEZ, J., ZUBKOV, M.V., HARRIS, R.P., 2007. Scaling of phytoplankton photosynthesis and cell size in the ocean. *Limnology and Oceanography* 52, 2190–2198.

MARINOV, I., DONEY, S.C., LIMA, I.D., 2010. Response of ocean phytoplankton community structure to climate change over the 21st century :

partitioning the effects of nutrients , temperature and light. *Biogeosciences* 7, 3941–3959.

MENDES, C.R.B., CARTAXANA, P., BROTAS, V., 2007. HPLC determination of phytoplankton and microphytobenthos pigments : comparing resolution and sensitivity of a C18 and a C8 method. *Limnology and Oceanography: Methods* 5, 363–370.

MENDES, C.R.B., DE SOUZA, M.S., GARCIA, V.M.T., LEAL, M.C., BROTAS, V., GARCIA, C.A.E., 2012. Dynamics of phytoplankton communities during late summer around the tip of the Antarctic Peninsula. *Deep-Sea Research I* 65, 1–14.

MENDES, C.R.B., KERR, R., TAVANO, V.M., CAVALHEIRO, F.A., GARCIA, C.A.E., DESSAI, D.R.G., ANILKUMAR, N., 2015. Cross-front phytoplankton pigments and chemotaxonomic groups in the Indian sector of the Southern Ocean. *Deep-Sea Research II* 118, 221–232.

MENDES, C.R.B., SÁ, C., VITORINO, J., BORGES, C., GARCIA, V.M.T., BROTAS, V., 2011. Spatial distribution of phytoplankton assemblages in the Nazaré submarine canyon region (Portugal): HPLC-CHEMTAX approach. *Journal of Marine Systems* 87, 90–101.

MIGNOT, A., CLAUSTRE, H., UITZ, J., POTEAU, A., D'ORTENZIO, F., XING, X., 2014. Understanding the seasonal dynamics of phytoplankton biomass and the deep chlorophyll maximum in oligotrophic environments: A Bio-Argo float investigation. *Global Biogeochemical Cycles* 28, 1–21.

MORENO, D.V., MARRERO, J.P., MORALES, J., GARCÍA, C.L., ÚBEDA, M.G.V., RUEDA, M.J., LLINÁS, O., 2012. Phytoplankton functional community structure in Argentinian continental shelf determined by HPLC pigment signatures. *Estuarine, Coastal and Shelf Sciences* 100, 72–81.

NAIR, A., SATHYENDRANATH, S., PLATT, T., MORALES, J., STUART, V., FORGET, M., DEVRED, E., BOUMAN, H., 2008. Remote sensing of phytoplankton functional types. *Remote Sensing of Environment* 112, 3366–3375.

NEUER, S., CIANCA, A., HELMKE, P., FREUDENTHAL, T., DAVENPORT, R., MEGGERS, H., KNOLL, M., SANTANA-CASIANO, J.M., GONZÁLEZ-DAVILA, M., RUEDA, M., LLINÁS, O., 2007. Biogeochemistry and hydrography in the eastern subtropical North Atlantic gyre. Results from the European time-series station ESTOC. *Progress in Oceanography* 72, 1–29.

PAINTER, S.C., SANDERS, R., POULTON, A.J., WOODWARD, E.M.S., LUCAS, M., CHAMBERLAIN, K., 2007. Nitrate uptake at photic zone depths is not important for export in the subtropical ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 21, GB4005.

PAINTER, S.C., SANDERS, R., WALDRON, H.N., LUCAS, M.I., WOODWARD, E.M.S., CHAMBERLAIN, K., 2008. Nitrate uptake along repeat meridional transects of the Atlantic Ocean. *Journal of Marine Systems* 74, 227–240.

PETER, K.H., SOMMER, U. 2013. Phytoplankton Cell Size Reduction in Response to Warming Mediated by Nutrient Limitation. *PLoS ONE* 8(9): e71528

POULTON, A.J., HOLLIGAN, P.M., HICKMAN, A., KIM, Y., ADEY, T.R., STINCHCOMBE, M.C., HOLETON, C., ROOT, S., WOODWARD, E.M.S., 2006. Phytoplankton carbon fixation, chlorophyll-biomass and diagnostic pigments in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research II* 53, 1593–1610.

ROBINSON, C., POULTON, A.J., HOLLIGAN, P.M., BAKER, A.R., FORSTER, G., GIST, N., JICKELLS, T.D., MALIN, G., UPSTILL-GODDARD, R., WILLIAMS, R.G., WOODWARD, E.M.S., ZUBKOV, M. V, 2006. The Atlantic Meridional Transect (AMT) Programme : A contextual view 1995–2005. *Deep-Sea Research II* 53, 1485–1515.

RODRÍGUEZ, F., CHAUTON, M., JOHNSEN, G., ANDRESEN, K., OLSEN, L.M., ZAPATA, M., 2006. Photoacclimation in phytoplankton : implications for biomass estimates, pigment functionality and chemotaxonomy. *Marine Biology* 148, 963–971.

ROY, S., SATHYENDRANATH, S., BOUMAN, H., PLATT, T., 2013. The global distribution of phytoplankton size spectrum and size classes from their light-absorption spectra derived from satellite data. *Remote Sensing of Environment* 139: 185–197

SCHLÜTER, L., HENRIKSEN, P., NIELSEN T.G., JAKOBSEN, H.H., 2011. Phytoplankton composition and biomass across the southern Indian Ocean. *Deep-Sea Research I* 58, 546–556.

TER BRAAK, C.J.F., PRENTICE, I.C., 1988. A theory of gradient analysis. *Advances in Ecological Research* 18, 271–317.

TREES, C.C., CLARK, D.K., BIDIGARE, R.R., ONDRUSEK, M.E., MUELLER, J.L., 2000. Accessory pigments versus chlorophyll a concentrations within the euphotic zone: A ubiquitous relationship. *Limnology and Oceanography* 45, 1130–1143.

WINDER, M., SOMMER, U., 2012. Phytoplankton response to a changing climate. *Hydrobiologia* 698:5–16.

WRIGHT, S.W., ISHIKAWA, A., MARCHANT, H.J., DAVIDSON, A.T., VAN DEN ENDEN, R.L., NASH, G.V., 2009. Composition and significance of picophytoplankton in Antarctic waters. *Polar Biology* 797–808.

WRIGHT, S.W., JEFFREY, S.W., 2006. Pigment markers for phytoplankton production, in: VOLKMANN, J.K. (Ed.), *Marine Organic Matter: Biomarkers, Isotopes and DNA*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 71–104.

WRIGHT, S.W., VAN DEN ENDEN, R.L., PEARCE, I., DAVIDSON, A.T., SCOTT, F.J., WESTWOOD, K.J., 2010. Phytoplankton community structure and stocks in the Southern Ocean (30–80°E) determined by CHEMTAX analysis of HPLC pigment signatures. *Deep Sea Research II* 57, 758–778.

ZAPATA, M., RODRÍGUEZ, F., GARRIDO, J.L., 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195, 29–45.