

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

**A CIANOBACTÉRIA *Trichodesmium* spp. E
FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS COM
A SUA ABUNDÂNCIA AO LARGO DA
PLATAFORMA SUDESTE-SUL DO BRASIL**

AMÁLIA MARIA SACILOTTO DETONI

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

Orientador: Dr. João Sarkis Yunes
Co-orientadora: Dr. Áurea Maria Ciotti

**RIO GRANDE
março 2017**

“Ao se aceitar as dificuldades da vida, brota a paz interior, que produz força e serenidade de caráter.”

São João XXIII

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande – FURG, ao Instituto de Oceanografia, e à CAPES pela estrutura e oportunidade de realizar este curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica, todo o seu corpo docente, além da direção e administração (Vera e Votto), que realizaram seu trabalho com tanto amor e dedicação e pela contribuição para que este estudo pudesse ser realizado.

Agradeço imensamente à minha família (meus pais Cida e Vlamir, e minhas irmãs Aline e Amanda), por todo amor, confiança, entendimento e apoio, a qual somente tenho a dizer: GRATIDÃO.

Maurício, sou muito grata por ter você ao meu lado ao longo desta etapa, por toda sua paciência e amor!

Meu sincero muito obrigada ao meu orientador Prof. Dr. João Sarkis Yunes, pela contribuição, paciência, orientação e ensinamentos.

Agradeço imensamente a Profa. Dra. Áurea Maria Ciotti, minha co-orientadora, por toda dedicação, carinho e orientação. Mesmo distante sempre presente!

Muito obrigada a todos os professores membros da banca de acompanhamento desta tese de doutorado: Prof. Dr. Felipe Niencheski, Prof. Dr. Paulo Calil e Profa. Dra. Virginia Maria Tavano.

Profa. Virginia, sou muito grata a você, por estar ao meu lado desde a minha graduação, pelos seus ensinamentos, amizade e pelo exemplo! Todos os frutos que hoje colho muito foi devido ao seu exemplo e incentivo!

Prof. Paulo Calil, muito obrigada por ter acreditado em mim, e por conceder a oportunidade de ter ido estudar no Massachusetts Institute of Technology (MIT).

Muito obrigada ao grupo do Departamento Earth, Atmospheric and Planetary Science (MIT), principalmente Dr. Michael J. Follows e Dr. Stephanie Dutkiewicz pelo aprendizado, confiança e incentivo!

Dr. Maurício Camargo, muito obrigada por me orientar nas análises estatísticas e interpretação dos dados desta tese.

Helô querida (Heloísa Pavanato) e AnaLu (Ana Luíza), agradeço imensamente por, mesmo estando longe de Rio Grande, me ajudarem nas rotinas do R program, me ensinarem a interpretar as análises estatísticas e por toda amizade e carinho de vocês!

Obrigada aos amigos do Laboratório de Fitoplâncton e Microrganismos Marinhos, Carol, Savênia, Lucélia, Andrea, Fabi, pela amizade e parceria; ao Márcio pela amizade, conselhos e cumplicidade. Ao Rafa e Milton pelas parcerias, conversas e amizade!

Nic, muita gratidão por sua amizade, carinho e ombro amigo, mesmo de longe!

Aos amigos do Laboratório de Cianobactéria e Ficotoxinas, obrigada pela amizade e por torcerem sempre por mim! Juliane, Cinthia, Pablo, Juliana, Mari Bif. Luiza, obrigada pelo apoio e toda ajuda no artigo e análise de nutrientes! Ao Edi e Wanderlen, muito grata pelos ensinamentos, orientação e toda dedicação nas análises de nutrientes!

Todo agradecimento aos amigos do TALUDE e do navio Cruzeiro do Sul!!! Jusp e Elisa, obrigada pela amizade, pelas puxadas de orelha, conselhos e por me incentivarem e me ajudarem com o R program.

Agradeço imensamente pelos amigos do CEBIMar, Bia, Amábile, Monte, AnaLu, e Ana (Nervo) por todo apoio, amizade e pelos convívios prestimosos!

Colors, Ingrid e Lumi, muito obrigada pela amizade, conselhos, força e incentivo!

Marianna Lanari, muito obrigada querida amiga por todos esses anos de amizade e carinho! Maira e Grasi, obrigada pela companhia nos surfs e amizade!

Aos amigos Aline, Cassius e Bob, obrigada pela amizade, por todas as conversas, encontros divertidos e risadas! E muito obrigada à querida amiga Jéssica, por cuidar do meu carro 9 meses com muito cuidado e carinho!

Obrigada a Gisele, minha mais nova e eterna amiga, por aguentar todo o inverno de Boston ao meu lado, pelos conselhos, parceria e amizade! E obrigada por toda a amizade que cresceu em Boston, as quais foram essenciais para este período ter sido mais divertido, Pasqua, Yandara, Denise, Sabrina, Renato, Rodrigo, Erica, Cida e Regina! Nunca mais esquecerei Natal de 2015 e Ano Novo 2016!

ÍNDICE

LISTA DE APÊNDICES.....	VII
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	VIII
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Caracterização do gênero <i>Trichodesmium</i>	1
1.2. <i>Trichodesmium</i> associado às condições hidrográficas.....	4
1.3. Potencial nocivo de <i>Trichodesmium</i> spp.	7
1.4. Características óticas de <i>Trichodesmium</i> spp.	8
1.5. Modelagem biogeoquímica-ecossistêmica de <i>Trichodesmium</i>	11
1.6. Hipóteses.....	12
1.7. Objetivos.....	13
1.7.1. Objetivo Geral.....	13
1.7.2. Objetivos Específicos.....	13
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1. Cruzeiros oceanográficos.....	14
2.2. Parâmetros físicos da água do mar.....	15
2.3. Contagem de tricomas.....	15
2.4. Análise dos nutrientes.....	16
2.5 Análise da concentração de clorofila- <i>a</i> e feopigmentos.....	16
2.6. Análise de cianotoxinas.....	17
2.7. Medidas da absorção da luz pelo fitoplâncton.....	17
2.8 Velocidade do vento.....	18
2.9. Análises estatísticas.....	19

3. SÍNTESE DOS RESULTADOS.....	20
3.1. Distribuição latitudinal da densidade de <i>Trichodesmium</i>	21
3.2. Parâmetros físicos ambientais.....	22
3.3. Análises estatísticas.....	23
3.4. Concentrações de saxitoxinas.....	25
3.5. Variabilidade dos espectros de absorção da luz por manchas de <i>Trichodesmium</i>	27
3.6. Saída do modelo biogeoquímico-ecossistema.....	28
4. DISCUSSÃO GERAL.....	33
4.1. Distribuição de <i>Trichodesmium</i> associada aos processos oceanográficos.....	33
4.2. Manchas nocivas de <i>Trichodesmium</i> spp.	37
4.3. Absorção da luz pelo <i>Trichodesmium</i>	38
4.4. Desempenho de um modelo global biogeoquímico e ecossistema.....	43
5. CONCLUSÕES.....	44
LITERATURA CITADA.....	46
APÊNDICES.....	56
Apêndice 1.....	56
Apêndice 2.....	99
Apêndice 3.....	116
Apêndice 4.....	145

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1: *Trichodesmium* latitudinal distribution on the shelf-break in the southwestern Atlantic Ocean during spring and autumn

Apêndice 2: Toxic *Trichodesmium* bloom occurrence in the southwestern South Atlantic Ocean.

Apêndice 3: Quantitative effects of *Trichodesmium* trichomes density in the spectral light absorption coefficients in natural waters

Apêndice 4: *Trichodesmium* distribution variability between model and observed data in the southwestern Atlantic Ocean

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

AC: Água Costeira

AP: Água de Plataforma

ASTP: Água Subtropical de Plataforma

AT: Água Tropical

BV: Frequência de Brünt-Väisälä

CB: Corrente do Brasil

CFCSM: Cabo Frio – Cabo de Santa Marta

Chl-*a*: Clorofila-*a*

CTD: Conductivity, Temperature and Depth

DIN: Nitrogênio inorgânico dissolvido

HPLC: High performance liquid chromatography

IGSM: Integrated Global Systems Model

MAA's: Aminoácidos microsporina

MIT: Massachusetts Institute of Technology

MLD: Profundidade da camada de mistura (Mixed Layer Depth)

pCO₂: Pressão parcial do gás dióxido de carbono

PC: Ficocianina (Phycocyanin)

PCA: Análise de componentes principais

PEB: Ficoeritrobilina (Phycoerythrobilin)

PEC: Ficoeritrocianina (Phycoerythrocyanin)

PRP: Pluma do Rio da Prata

PSS: Plataforma Subtropical Sul

PUB: Ficorobilina (Phycourobilin)

r : Coeficiente de correlação

r^2 : Coeficiente de determinação

SSH: Altura da superfície do mar (Sea Surface Height)

STX: Saxitoxina

STX-eq: Saxitoxina equivalente

UV: ultravioleta

μ_{NET} : Taxa de crescimento líquido

RESUMO

A ocorrência de *Trichodesmium* em águas oceânicas do sudoeste do Atlântico Sul tem sido pouco registrada. Neste estudo, três cruzeiros oceanográficos foram realizados a fim de caracterizar a distribuição desta cianobactéria potencialmente nociva e diazotrófica e que formam agregações de tricomas visíveis na superfície do oceano (manchas). O estudo concentra-se sobre a região da quebra de plataforma do Atlântico Sul entre 23°S e 33°S, influenciada por processos oceanográficos de corrente de contorno oeste. Sob alta influência da Corrente do Brasil (CB), em águas quentes e salinas, foram encontradas as maiores densidades de tricomas (> 800 tricomas L^{-1}) e formação de manchas, do mesmo modo, ao sul da área de estudo, em temperaturas mais baixas e maior influência de aporte de águas continentais, foram encontradas menores densidades (< 800 tricomas L^{-1}). O aumento do número de tricomas (densidade máxima de 212.6×10^5 tricomas L^{-1}) esteve associado ao aumento dos níveis de PO_4 , alta temperatura, baixos níveis de DIN e baixa intensidade do vento. As condições ambientais analisadas (DIN, PO_4 , intensidade do vento e MLD), associadas à dinâmica de quebra de plataforma, indicam que fatores físico-químicos contribuem para a distribuição das manchas de *Trichodesmium* no sudoeste do Oceano Atlântico. Seis destas manchas foram consideradas nocivas, quantificadas com significativas concentrações de STX. A maior concentração de STX foi encontrada onde o número de colônias foi proporcionalmente maior em relação à densidade total de tricomas. Manchas de *Trichodesmium*, encontradas neste trabalho, foram nocivas ao zooplâncton e podem levar à mortalidade de larvas da comunidade planctônica. Este estudo traz o primeiro registro de manchas neurotóxicas em águas oceânicas do Atlântico Sul. A variação da densidade de tricomas e das suas diferentes formas nas manchas (tricomas livres e colônias) afetam a magnitude do espectro de absorção da luz por *Trichodesmium*. Sob condições fisiológicas estáveis (baixa absorção da luz por detrito e alta por pigmentos de *Trichodesmium*), a quantidade de luz absorvida pelas manchas diminui quanto maior a abundância de colônias presentes. A variação e distribuição da biomassa de *Trichodesmium* pode ser investigada, em escalas temporais, por modelo biogeoquímico-ecossistêmico na área de estudos, porém é necessário a aplicação de um modelo regional para melhor acurácia da previsão da biomassa de *Trichodesmium*.

Palavras-chaves: cianobactéria, talude continental, Corrente do Brasil, saxitoxina, absorção da luz, *Trichodesmium*

ABSTRACT

Little information is available on the occurrence of *Trichodesmium* in oceanic waters of the southwestern South Atlantic. In this study, three oceanographic cruises were conducted from 23°S and 33°S in order to characterize the distribution of this diazotrophic and potentially toxic cyanobacteria, and forms visible aggregations of trichomes at sea surface water (Slicks). The region of continental shelf-break is influenced by oceanographic processes originated from the western boundary current, Brazil Current (BC). Under high influence of warm and saline water of BC, the highest densities of trichomes of *Trichodesmium* (> 800 trichomes L^{-1}) and the presence of 14 slicks of *Trichodesmium* were found. However, in the southern sector of the study area, with lower temperature and higher nutrients concentrations, were found lower densities (< 800 trichomes L^{-1}). An increment in number of trichomes (max. 212.6×10^5 trichomes L^{-1}) was associated with increased phosphate levels, high temperature, low nitrogen and low wind speed. Environmental conditions analyzed, associated with the BC dynamics, indicate that physicochemical factors contribute to the distribution of *Trichodesmium* slicks in the southwestern Atlantic Ocean. Six harmful strains were diagnosed with significant concentrations of Saxitoxins. The highest concentration was found where the number of colonies was proportionally greater relative to the total density of trichomes. Slicks of *Trichodesmium* were harmful to the zooplankton and can lead to mortality of larvae of plankton community. This study provides the first record of neurotoxic spots in oceanic waters of the South Atlantic. In a bio-optical investigation, the variability in trichomes density and colonies of *Trichodesmium* in the slicks affect the magnitude of the light absorption spectrum by *Trichodesmium*. In addition, under stable physiological conditions (low light absorption by detritus and high by specific pigments of the *Trichodesmium*) of the *Trichodesmium* slicks, the amount of light absorbed by slicks decreases with higher abundance of colonies present. Furthermore, the variability and distribution of *Trichodesmium* biomass can be investigated, on time scales, for biogeochemical-ecosystem model in the study area, but the implementation of a regional biogeochemical-ecosystem model for best accuracy of prediction of *Trichodesmium* biomass is required.

Key words: cyanobacteria, continental slope, Brazil Current, saxitoxin, light absorption, *Trichodesmium*

1. Introdução

1.1. Caracterização do gênero *Trichodesmium*

A cianobactéria filamentosa do gênero *Trichodesmium* distribui-se em águas oligotróficas tropicais e subtropicais, onde formam longos e estreitos acúmulos, facilmente visíveis, de coloração marrom/avermelhado (Sieburth & Conover 1965, Capone et al. 1998, Tyrrell et al. 2003, Carpenter & Capone 2008, Snow et al. 2015). Estas extensas manchas de *Trichodesmium* tem despertado a curiosidade de muitos cientistas, desde Darwin (Darwin 1839).

Trichodesmium pode ser encontrado em tricomas (filamentos) livres, sua forma predominante tanto em cultivo como no ambiente, ou os tricomas podem se agregar formando dois morfotipos coloniais (Hynes et al. 2012), esférico (“puff”) ou fusiforme (“tuft”). Em algumas espécies ocorrem os dois morfotipos, assim diferentes espécies formam colônias semelhantes (Hynes et al. 2012).

Existem cinco espécies de *Trichodesmium* documentadas: *T. contortum*, *T. erythraeum*, *T. hildebrandtii*, *T. tenue* and *T. thiebautii* (Hynes et al. 2012). Porém, ainda há muitas incertezas e divergências entre a identificação taxonômica clássica e a genética para as espécies de *Trichodesmium* e também espécies de *Katagnymere*, que se assemelham ao *Trichodesmium* (Bergman et al. 2013, Hynes et al. 2012).

A distribuição de *Trichodesmium* nos oceanos globais torna-se uma investigação importante, devido à sua capacidade de fixação do nitrogênio molecular (N_2), quando o nitrogênio inorgânico é limitante na água do mar (Gallon & Chaplin 1988). Estima-se que *Trichodesmium* sozinho é responsável por fixar 80 – 200 Tg yr⁻¹ de nitrogênio novo para o oceano Atlântico Norte (Duce et al. 2008).

Outros gêneros de cianobactérias marinhas também fixam N_2 , e por isto também são classificados como diazotróficos, como *Richelia intracellularis* e *Calothrix* spp.

(cianobactérias filamentosas que diferenciam uma célula vegetativa em heterócito), *Crocospaera* spp. e *Cyanothece* spp. (cianobactérias unicelulares). Porém, *Trichodesmium* é o principal responsável pela maior parte da incorporação de nitrogênio em oceanos oligotróficos ($> 1.6 \times 10^{12}$ mol N ao ano) (Capone et al. 2005, LaRoche & Breitbarth 2005). Desta forma, *Trichodesmium* contribui para a manutenção da vida marinha através da fixação e liberação do carbono e nitrogênio, atuando como importante agente para a ciclagem biogeoquímica dos nutrientes nos oceanos oligotróficos (Carpenter & Capone 2008).

Mesmo sem heterocito, onde normalmente ocorre a fixação do N_2 pela atividade da enzima nitrogenase, *Trichodesmium* spp. possui mecanismos adaptativos para ativar a nitrogenase e fixar N_2 tanto durante o dia quanto à noite (Bergman et al. 2013). A proteína nitrogenase é inativada na presença do oxigênio; porém, existe uma separação espacial da nitrogenase ao longo dos tricomas de *Trichodesmium*, tanto em sua forma livre como em colônia (El-Shehawy et al. 2003). As células que possuem a nitrogenase ativa apresentam aparência transparente, chamadas de diazocitos, enquanto que as células que somente realizam a fotossíntese são mais pigmentadas e granuladas (Bergman et al. 2013). A proteína nitrogenase pode estar presente em todas as células do tricoma (Orcutt et al 2009), porém será ativa na maioria das células dependendo das diferentes condições ambientais e diferentes espécies de *Trichodesmium* (Bergman et al. 2013). Desta forma, *Trichodesmium* separa processos incompatíveis, como, fotossíntese e fixação do nitrogênio, espacial e temporalmente, pois a atividade da nitrogenase opera, geralmente, no período ao redor do meio-dia, quando a produção do oxigênio é balanceada pelo aumento da respiração criando assim um ambiente anaeróbico ao redor da nitrogenase (Berman-Frank et al. 2001).

A perspectiva de futuro aquecimento dos oceanos têm dirigido estudos sobre a importância global do *Trichodesmium* na biogeoquímica dos oceanos, pois, diferente da maioria dos grupos do fitoplâncton, *Trichodesmium* se adapta bem em ambientes com altas temperaturas e baixos níveis de nutrientes (Bergman et al. 2013). O aquecimento global levaria ao aumento da estratificação da superfície dos oceanos, resultando em camada de mistura mais rasa, aumento da pressão parcial do CO₂ (pCO₂) devido às trocas gasosas da interação ar-mar, e aumento de exposição à radiação solar ultravioleta (UV) para os organismos do fitoplâncton que se manter dentro da rasa camada de mistura (Carreto & Carignan 2011, Spungin et al. 2014). Porém, *Trichodesmium* spp. teria capacidade de se adaptar frente à esses fatores devido às suas estratégias fisiológicas como fixar N₂, presença da proteína fosfatase, o que lhe atribui à assimilação também do fósforo orgânico, migrar na coluna de água pela presença das vesículas de gás intracelular e conter pigmentos fotoprotetores da radiação UV (Breitbarth et al. 2007, Carreto & Carignan 2011, Spungin et al. 2014). Assim, num cenário de aumento da temperatura e concentração do CO₂ nos oceanos globais, é esperado um aumento na abundância de *Trichodesmium* na superfície dos oceanos tropicais e subtropicais (Sonntag & Hense 2011, Bergman et al. 2013).

Assim como *Trichodesmium*, organismos diazotróficos consomem o fósforo orgânico dissolvido em condições de depleção do fosfato, o que estimula a fixação do N₂ em oceanos oligotróficos, onde o ferro for suficientemente disponível (Moore et al. 2014), e assim organismos diazotróficos conquistam ambientes inóspitos à maioria dos grupos do fitoplâncton. Entretanto, essas vantagens exigem um alto custo aos organismos diazotróficos, as atividades da fosfatase e nitrogenase requer um grande gasto energético celular, e pouco gasto metabólico é direcionado para divisão celular (e.g. *Trichodesmium* possui baixa taxa de crescimento de ~0.2 d⁻¹) (LaRoche & Breitbarth

2005, Spungin et al. 2014). Desta forma, os principais fatores que limitam a distribuição, crescimento e, portanto, biogeografia de organismos diazotróficos como *Trichodesmium* têm sido a temperatura da superfície do oceano, pCO₂ e nutrientes, principalmente ferro e fósforo (Fu et al. 2014).

Além de contribuir com a entrada de nitrogênio novo, *Trichodesmium* sustenta uma comunidade microbiana que se adere aos tricomas e colônias. Essa comunidade microbiana oferece fonte de alimento para náuplios e copepoditos de zooplâncton pelágico, como o copépode harpacticóide *Macrosetella gracilis* (O'Neil & Roman, 1992, Eberl & Carpenter, 2007). Também, por apresentar vesículas de gás no interior de suas células e produção de cianotoxinas, *Trichodesmium* fornece flutuação e habitat, além de, por tricomas e colônias de *Trichodesmium* serem de maior ou igual tamanho que os copépode, fornece proteção contra predadores para os ovos, náuplios e juvenis (Eberl & Carpenter 2007).

Sobre o *Trichodesmium* a pressão de herbivoria é baixa, pois a maioria dos grupos de copépodes pelágicos (e.g. calanóides) filtradores não consegue manusear grandes colônias (Hawser et al. 1992), além da produção de toxinas, o que os mantém afastados das manchas (Eber & Carpenter, 2007). Portanto, quando encontram condições favoráveis para seu crescimento, formam acúmulos sem apresentar um efetivo controle top-down sobre esta alta biomassa.

A presente tese de doutoramento tem como principal objetivo contribuir para o entendimento da distribuição da cianobactéria potencialmente nociva *Trichodesmium* e sua relação com a dinâmica dos processos oceanográfico na região da quebra de plataforma e talude da costa sudeste brasileira.

1.2. *Trichodesmium* associado às condições hidrográficas

A distribuição espacial e temporal da abundância de *Trichodesmium* tem sido objetivo de grandes esforços globais, sobretudo nos oceanos Atlântico Norte e Atlântico Tropical, onde muitas observações apresentaram alta abundância de *Trichodesmium* e frequentes formações de manchas (Tyrrell et al. 2003, Carpenter et al. 2004, Sohm et al. 2011, Snow et al. 2015, Olson et al. 2015). Porém, muito pouco foi investigado sobre este organismo no Oceano Atlântico Sul, sendo os únicos registros originados dos cruzeiros Atlantic Meridional Transect (AMT), amostrando águas muito distantes da plataforma continental.

Condições de baixa intensidade do vento (Carpenter et al. 2004) e processos físicos de convergência da água de superfície (Olson et al. 2015), agregam tricomas flutuantes de *Trichodesmium*, como observado em vórtices anti-ciclônicos de núcleo quente da Corrente do Golfo (Davis & McGillicuddy, 2006). Por outro lado, a convergência do transporte de Ekman em vórtices ciclônicos pode concentrar tricomas pelo período de vários meses, sendo um processo lento e persistente (Olson et al. 2015). Os autores também observaram que alta biomassa de colônias de *Trichodesmium* está relacionada com a fertilização por advecção da pluma do Rio Amazonas, com entrada de nutrientes necessários para seu crescimento (e.g. ferro e fosfato), através da corrente de contorno sudoeste do Atlântico Norte. Adicionalmente, *Trichodesmium* vem sendo associado ao sistema de correntes de contorno oeste, caracterizadas por águas quentes, baixa clorofila e baixos níveis de nutrientes, como a Corrente do Golfo, Corrente do Kuroshio e Corrente Leste Australiana (Shiozaki et al. 2015, Armbrrecht et al. 2015, McGillicuddy 2014). Estas correntes de contorno oeste têm apresentado alterações em suas velocidades e intensidade de suas atividades de mesoescala como resultado das mudanças climáticas causadas por fatores antropogênicos (Wu et al. 2012), o que

consequentemente afeta a distribuição e estrutura da comunidade fitoplanctônica em todo o oceano global (Hallegraeff 2010).

No Atlântico Sudoeste encontra-se a corrente de contorno oeste Corrente do Brasil (CB), que flui para sul e apresenta uma intensa atividade de mesoescala (Calado et al. 2006). Esta é uma grande corrente baroclínica que transporta um volume entre 25 e 40 Sv, fluindo nos primeiros 500 m da camada superficial da coluna de água (Piola & Matano, 2001), com velocidade média de 50 cm s^{-1} , guiando-se pela batimetria do talude continental (da Silveira et al. 2000). Variações na largura da plataforma continental e modificação da topografia do fundo fazem com que a CB forme meandros, gerando vórtices ciclônicos e anti-ciclônicos ao longo da costa sudeste brasileira (Calado et al. 2006). A CB transporta a Água Tropical (AT), uma massa de água de superfície quente, salina e com baixos níveis de nutrientes (da Silveira et al. 2000), e que encontra águas frias e ricas em nutrientes quando atinge latitudes maiores (Möller et al. 2008). Essa massa de água (AT) é formada no Oceano Atlântico Tropical e em seu trajeto para o sul, mistura-se com águas de origem costeira mais frias e de baixa salinidade, formando a Água Subtropical de Plataforma (ASTP), ao sul de 28°S , e a Água de Plataforma (AP) ao norte desta latitude. Entretanto, a AT é caracterizada por temperaturas maiores que 20°C e salinidade acima de 36, ao largo do sudeste do Brasil (da Silveira et al. 2000).

A área entre Cabo Frio e Cabo de Santa Marta Grande (CFCSM) ($23^{\circ} - 28^{\circ} \text{ S}$) é fortemente influenciada por meandros e processos de mesoescala da CB, apresentando sobre o talude continental domínio de AT, que ocupa a camada superficial da coluna de água até 200 m (da Silveira et al. 2000). Nesta área, sobre a plataforma continental, também se encontra em superfície a AP.

Ao sul do Cabo de Santa Marta Grande encontramos em superfície a ASTP. Esta água é resultante da mistura entre a pluma do Rio da Prata (PRP) e a AT, e se estende por toda a plataforma continental desta região sul (Möller et al. 2008, de Macedo-Soares et al. 2014, Ciotti et al. 2014). Assim, de acordo com essas características termohalinas, esta área é limitada como Plataforma Subtropical Sul (PSS) (adaptado de de Macedo-Soares et al. 2014).

Em virtude da escassez de dados sobre a distribuição de *Trichodesmium* na região, neste estudo examinamos três cruzeiros oceanográficos (maio-jun 2013, maio-jun 2014 and nov-dez 2014) ao longo da quebra de plataforma sudoeste do Atlântico Sul, a fim de caracterizar a distribuição do gênero *Trichodesmium* na região do talude continental associado aos parâmetros ambientais. Os fatores ambientais considerados incluem parâmetros termohalinos, concentrações de fosfato e nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) (amônio, nitrito e nitrato) e intensidade do vento na superfície do oceano.

1.3. Potencial nocivo de *Trichodesmium* spp.

Em regiões costeiras do nordeste, leste e sudeste do Brasil, manchas de *Trichodesmium* foram relatadas durante primavera e verão (Sato et al. 1963, Giancesella-Galvão et al. 1995, Rorig et al. 1998a, Rorig et al. 1998b, Naithirithi et al. 2005, Silva 2005, Siqueira et al. 2006, Carvalho et al. 2008, Proença et al. 2009). Dentre estes registros, são incluídos relatos de que *Trichodesmium* produz cianotoxina causadora de sintomas alérgicos (Silva 2005), bem como neurotoxinas (saxitoxinas) e hepatotoxinas (microcistinas) (Proença et al. 2009).

Florações de *Trichodesmium* podem ser nocivas a organismos pelágicos pela ingestão de células contendo toxinas, como também pela alta biomassa, levando ao entupimento das brânquias e à mortalidade de larvas de peixes e camarões (D'Silva et al. 2012). No entanto, Preston et al. (1998) e Negri et al. (2004), afirmam que larvas de camarão e

juvenis de ostras expostas a *Trichodesmium* não apresentaram intoxicação ou danos, porém não obtiveram nutrição suficiente para o desenvolvimento larval. *Trichodesmium* seria uma fonte nutricionalmente pobre, comparado com outros grupos do fitoplâncton, para o metabolismo do consumidor. Silva (2005) relatou, alguns dias após uma extensa floração de *Trichodesmium* ter ocorrido na costa sudeste do Brasil, quilômetros da praia apresentaram-se cobertos por briozoários mortos. Porém, existe muito pouca informação sobre dados quantitativos de cianotoxinas em associação com florações em mar aberto de *Trichodesmium*.

Este estudo vem contribuir para avaliar e quantificar as potenciais cianotoxinas presentes nas manchas de *Trichodesmium*, que se formam na quebra da plataforma continental sudoeste do Oceano Atlântico Sul. Existem 14 registros de extensas manchas nesta região, observadas durante cruzeiros oceanográficos realizados ao longo de três anos consecutivos (2012-2014). Em dezembro de 2014, foram avistadas e amostradas seis extensas manchas de *Trichodesmium* na quebra de plataforma continental, entre as isóbatas de 200 m e 2000 m.

1.4. Características óticas de *Trichodesmium* spp.

O sensoriamento remoto tem sido utilizado como uma ferramenta para detecção e quantificação de *Trichodesmium* nos oceanos (Subramaniam et al. 2002, Westberry et al. 2005), cujos fundamentos e aplicações foram apresentados recentemente por uma revisão feita por McKinna (2015). Os algoritmos aplicados, especificamente, para as imagens de cor do oceano, estimam a concentração da clorofila-*a* superficial que pode ser atribuída especificadamente a *Trichodesmium*, utilizando valores constantes de concentração de clorofila-*a* por tricomas ou colônias, a partir de medidas realizadas em laboratório (Subramaniam et al. 1999b, Westberry et al. 2005) ou *in situ* (Subramaniam et al. 2002). As imagens de cor do oceano processadas por esses

algoritmos são utilizadas para mapear acúmulos de *Trichodesmium* quando esses ocorrem em extensões compatíveis às resoluções espaciais dos sensores de cor do oceano (Subramaniam et al. 2002, Desa et al. 2005). Além disso, as bandas espectrais padrão presentes nos sensores de cor do oceano tem mostrado baixo desempenho nos algoritmos propostos (Chauhan et al. 2002), pois estão centradas em regiões do espectro visível que não detectam pigmentos exclusivos a esse grupo (e.g, ficobilinas). Assim, esses algoritmos são ainda inapropriados de estimar com acurácia a abundância do *Trichodesmium* na superfície do oceano (IOCCG 2012). O desenvolvimento de futuros algoritmos ainda depende de uma maior base de dados *in situ* qualitativas e quantitativas, que incluam medidas óticas simultâneas à identificação taxonômica por microscopia ou imageamento do plâncton, ou até mesmo por quimiotaxonomia.

As medidas óticas necessárias para um melhor entendimento dos processos que alteram o comportamento espectral da luz na superfície dos oceanos quando *Trichodesmium* estão presentes (ver McKinna 2015) incluem observações do retro-espalhamento e da absorção espectral da luz, sendo a última influenciada pela composição e concentração interna de pigmentos.

Trichodesmium possui as três classes principais de pigmentos presentes no fitoplâncton marinho: clorofilas, carotenoides e ficobilinas, e seu espectro de absorção de luz tem comportamento espectral peculiar (Subramaniam et al. 1999a, Dupouy et al. 2008) com picos adicionais aos da clorofila-*a* (438 e 676 nm), que correspondem aos carotenoides (463 nm), ficourobilina (PUB, 496 nm), ficoeritrobilina (PEB, 545 nm), ficoeritrocianina (PEC, 578 nm) e ficocianina (PC, 621 nm), além dos aminoácidos micosporina (MAA's), que absorvem a luz na região Ultravioleta (UV) entre 300 e 360 nm. As feições espectrais mais características nas curvas de absorção de luz por *Trichodesmium* estão associadas às ficobiliproteínas (Moreth & Yentsch 1970,

Sobiechowska-Sasim et al. 2014), onde essas feições, entre os comprimentos de onda de 500 a 650 nm, não tem sido observadas em oceanos abertos na ausência de *Trichodesmium* (Fujita & Shimura 1974, Borstad et al. 1992, Subramaniam et al. 1999a).

Variações no espectro de absorção da luz e composição de pigmentos de *Trichodesmium* são observados tanto em cultivos de laboratório como no ambiente natural (Subramaniam et al. 1999a, Neveux et al. 2008). Diferentes espécies de *Trichodesmium* em cultivo apresentam comportamentos espectrais distintos em resposta às diferentes condições de luz de crescimento (Neveux et al. 2008) ou diferentes razões PUB:PEB (Hynes et al. 2012). Além disso, a fisiologia celular dos tricomas de *Trichodesmium*, determinadas por fatores ambientais, e sua disposição na superfície dos oceanos podem alterar as suas características bio-óticas (Neveux et al. 2006, Dupouy et al. 2008). A concentração interna de pigmentos é um fator importante condicionando o seu grau de empacotamento, que altera a eficiência da absorção de luz de organismos fitoplancctônicos (Duyens 1956) e tem papel importante em tricomas e colônias de *Trichodesmium* (Subramaniam et al. 1999a). Porém, muitas lacunas ainda existem para explicar as variações no espectro de absorção da luz por *Trichodesmium* em amostras naturais, e até que ponto essas variações representam fotoadaptação ou fotoaclimatação ou condições fisiológicas (Neveux et al. 2008, Hynes et al. 2012).

Nesse estudo, examinamos a variabilidade do coeficiente espectral da absorção de luz pelo fitoplâncton e suas possíveis relações com a abundância de tricomas de *Trichodesmium* e suas formas (tricoma individual e colônia) na região da quebra de plataforma continental do sudoeste do Atlântico Sul, região reportada como propícia ao desenvolvimento desses organismos, associado à dinâmica da Corrente do Brasil (Detoni et al. submetido).

1.5. Modelagem biogeoquímica-ecossistêmica de *Trichodesmium*

A biogeoquímica e a ecologia dos oceanos globais são intimamente conectadas, por este motivo a modelagem biogeoquímica vem sendo aplicada e aprimorada de forma a auxiliar o entendimento da dinâmica ecológica nos oceanos acoplados aos ciclos dos nutrientes (e.g. carbono, nitrogênio, fósforo, ferro, sílica), em escalas espacial e temporal. Os modelos biogeoquímico-ecossistêmicos são baseados, principalmente, através da parametrização dos ciclos dos nutrientes e sua influência na produtividade primária nos oceanos (Follows & Dutkiewicz 2011).

A parametrização dos organismos diazotróficos marinhos em modelos oceânicos global e regional têm sido baseados em propriedades do *Trichodesmium*, como taxa de crescimento, fixação do nitrogênio e taxas de perdas por predação e/ou senescência. Estes modelos preveem a distribuição de *Trichodesmium* e incorporação de N₂, sendo regulados pela temperatura, disponibilidade de nitrogênio, exposição à luz e nutrientes limitantes ao crescimento de *Trichodesmium*, como ferro e fósforo (Moore et al. 2004, Ward et al. 2013).

Os modelos ecossistêmicos são obtidos a partir de dados de campo e laboratório, e são acoplados a um modelo físico de circulação do oceano, que é utilizado para engrenar e transportar os coeficientes dos parâmetros químicos e biológicos (Follows et al. 2007). O modelo biogeoquímico-ecossistêmico descrito em Dutkiewicz et al. (2015) resolve o ciclo do carbono, fósforo, nitrogênio, sílica, ferro e oxigênio, em suas fases inorgânicas, orgânicas, dissolvidas e particuladas (Follows et al. 2007, Dutkiewicz et al. (2009, 2012, 2015), Hickman et al. 2010). Também estima a biomassa de nove tipos de grupos funcionais do fitoplâncton: análogos de diatomáceas, outros grande eucariontes, cocolitoforídeos, picoeucariontes, *Synechococcus*, *Prochlorococcus* adaptados em alta e baixa luz, diazotróficos unicelulares e *Trichodesmium* (Dutkiewicz

et al. 2015). Os diferentes tipos do fitoplâncton são ajustados no modelo de acordo com suas composições elementares (e.g. diatomáceas requerem sílica), taxa de crescimento máxima, constantes de meia-saturação dos nutrientes, taxa de senescência, máxima razão Chl-a:C e palatabilidade ao zooplâncton (Dutkiewicz et al. 2015).

A biomassa do *Trichodesmium* e sua distribuição, assim como os processos biogeoquímicos associados, têm sido bastante amostrados nos oceanos Atlântico Norte, Atlântico Tropical e Pacífico (Carpenter et al. 2004, Snow et al. 2015, Shiozaki et al. 2015). Portanto, modelos biogeoquímicos-ecossistêmicos são muito bem validados com esses conjuntos de dados nesses oceanos (Dutkiewicz et al. 2015). Porém, para o Atlântico Sul, a distribuição da taxa de fixação de N_2 está sub-estimada por esses modelos, em grande parte devido à sua sub-amostragem neste oceano (Moore et al. 2014). Consequentemente, a distribuição real de diazotróficos, assim como de *Trichodesmium*, provavelmente também não condizem com dados esperados.

Uma das grandes vantagens em se aplicar modelos biogeoquímicos e ecossistêmico é nos permitir avaliar, no caso deste estudo, a abundância de *Trichodesmium*, em larga escala espacial, na região de interesse e sua variação espacial e temporal. Assim, pode auxiliar estratégias de amostragem em cruzeiros oceanográficos, particularmente em regiões ainda sub-amostradas como o Atlântico Sudoeste.

1.6. Hipóteses

Nesta tese de doutoramento testaremos as hipóteses de que:

- 1) O aumento da ocorrência de manchas de *Trichodesmium* e da abundância de tricomas devem estar associados aos processos oceanográficos da corrente de contorno CB, o que propiciam condições favoráveis ao acúmulo da biomassa e formação de manchas de *Trichodesmium*. Por outro lado, espera-se a ausência deste gênero em

regiões de maiores latitudes, sob temperaturas menores e aporte continental de nutrientes. (Hipótese testada no Apêndice 1).

2) As manchas de *Trichodesmium* que se formam no talude e quebra de plataforma continental sul-sudoeste do Brasil podem produzir saxitoxinas em concentrações que podem ser nocivas ao plâncton. (Hipótese testada no Apêndice 2).

3) A magnitude da absorção específica da luz mostrar uma relação não-linear com o número de tricomas de *Trichodesmium*, devido ao efeito pacote e auto-sombreamento dos tricomas. Quantitativamente, com a ocorrência de colônias, a absorção da luz apresenta um efeito pacote ainda mais elevado. (Hipótese testada no Apêndice 3).

4) Os modelos biogeoquímicos-ecossistêmicos podem prever a distribuição da biomassa de *Trichodesmium* na massa de água da CB, i.e. água de superfície de alta temperatura (acima de 20°C). Porém, não estimam com acurácia a distribuição da biomassa de *Trichodesmium* em regiões com águas de superfície de baixas temperaturas (menor que 20°C). (Hipótese testada no Apêndice 4).

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo Geral

Avaliar a ocorrência de *Trichodesmium*, suas propriedades óticas e biogeoquímicas, associadas à parâmetros ambientais na plataforma continental externa e talude do sudeste-sul brasileiro.

1.7.2. Objetivos Específicos

- 1) Avaliar os fatores ambientais associadas à CB, que afetam a distribuição de *Trichodesmium* no sudoeste do Atlântico Sul.
- 2) Examinar a ocorrência de acúmulos nocivos de *Trichodesmium* sobre a quebra de plataforma entre as latitudes 26°S e 28°S no Oceano Atlântico Sul.

3) Quantificar o efeito da densidade de tricomas e suas formas (tricoma individual e colônia) sobre a magnitude da absorção da luz nas manchas de *Trichodesmium* e sem a presença destas.

4) Avaliar o desempenho do modelo biogeoquímico-ecossistêmico do Massachusetts Institute of Technology (MIT) em relação à distribuição de *Trichodesmium* no oceano Atlântico Sudoeste.

O primeiro objetivo específico foi desenvolvido em um artigo que foi submetido para o periódico *Global Biogeochemical Cycles* e está sob revisão (Apêndice 1). O segundo objetivo específico foi desenvolvido em um artigo publicado no periódico *Toxicon* (Apêndice 2). O terceiro e quarto objetivos específicos foram desenvolvidos em dois artigos distintos que se encontram em preparação (Apêndices 3 e 4).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Cruzeiros oceanográficos

Os cruzeiros oceanográficos estão inseridos no âmbito do projeto TALUDE, o qual realizou estudos sobre a ecologia, distribuição e dinâmica dos cetáceos na quebra de plataforma do Atlântico Sudoeste.

Para esta tese participou-se de quatro cruzeiros oceanográficos de oportunidade a bordo do Noc. Atlântico Sul, da Universidade Federal do Rio Grande, nos períodos de 11 a 24 de novembro de 2012 (Primavera-2012, 39 estações oceanográficas), 10 de maio a 12 de junho de 2013 (Outono-2013, 61 estações oceanográficas), 07 de maio a 05 de junho de 2014 (Outono-2014, 60 estações oceanográficas) e 11 de novembro a 10 de dezembro de 2014 (Primavera-2014, 46 estações oceanográficas). No entanto, durante o cruzeiro da Primavera-2012, foram incluídos apenas dados de dois registros de

acúmulos de *Trichodesmium*. Os demais dados não foram utilizados e considerados como cruzeiro “preliminar”.

A região amostrada (ver Fig. 1 do Apêndice 1 pág. 87) se estende a partir de Cabo Frio (23°S) até o Chuí (33°S), e se restringe à área entre a plataforma continental externa sudeste-sul e talude continental, aproximadamente entre as isóbatas de 200 m e 2000 m. Latitudinalmente a área de estudos é dividida entre, setor norte (CFCSM: 23° – 28°S) e setor sul (PSS: 28° – 33°S) (ver Fig. 1 do Apêndice 1, pág. 87).

2.2. Parâmetros físicos da água do mar

Os dados de salinidade e temperatura foram adquiridos através do perfil vertical com um sistema CTD (Conductivity, Temperature and Depth Sensors) SEABIRD®.

A densidade potencial da água do mar foi obtida com base nos perfis de temperatura e salinidade e, através da derivada vertical destes perfis, a profundidade da camada de mistura (MLD) foi determinada, utilizando o método de critérios de diferença finita adaptado de Glover & Brewer (1988) e Kara et al. (2000).

O grau de estratificação da coluna d'água foi calculado através da frequência de Brünt-Väisälä ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$), que considera a gravidade (m s^{-2}) e a densidade potencial da água (Kg m^{-3}). Considerando que *Trichodesmium* possui vesículas de gás no citoplasma, permitindo sua manutenção nas camadas superficiais do oceano (Walsby 1994, Villareal and Carpenter 2003, White et al. 2006), calculou-se um valor médio da frequência de Brünt-Väisälä até 25 m de profundidade.

2.3. Contagem de tricomas

Para contagem de tricomas de *Trichodesmium* foram coletadas amostras de superfície em todas as estações oceanográficas e nas manchas (162 estações e 14 manchas). Foram coletados 10 L de água que foram passados por uma malha de 5 μm de diâmetro, para concentração dos organismos maiores do que 5 μm . A rede foi lavada

delicadamente com água do mar filtrada para remover o material retido e armazená-lo em frascos âmbar de 150 mL com formol 4%, e esta concentração foi corrigida para a conversão de densidade de tricomas utilizando um fator de concentração de 66.67. Nas manchas as amostras para contagem não foram concentradas.

Tricomas e colônias foram contados em câmara de sedimentação pelo método de Utermöhl (1958), com aumento de 100× em microscópio invertido. Antes do início do processo de sedimentação da amostra, foi adicionado 1 mL de ácido acético para romper as vesículas de gás das células de *Trichodesmium*, facilitando a sua sedimentação (adaptado de Cronberg et al. 2004).

Tricomas individuais e colônias foram contados em meia (manchas) ou câmara inteira (sem presença das manchas). Para a estimativa total de tricomas, o número de tricomas individuais foi somado ao número de colônias convertido em tricomas equivalentes por litro, utilizando um valor de 200 tricomas col^{-1} (Carpenter 1983). Assim, para a densidade total de tricomas foram consideradas as contagens dos tricomas total (tricomas livres + tricomas em colônias).

2.4. Análise dos nutrientes

A concentração de nutrientes foi determinada ao longo de 78 estações e 14 manchas. Amostras de água foram coletadas com uma garrafa Van-Dorn a 15 m e filtradas em filtro de acetato de celulose com 0.45 μm de porosidade para análise de nitrito, nitrato, amônio e fosfato. As amostras filtradas foram armazenadas em freezer para posterior análise em laboratório por técnicas espectrofotométricas (Aminot & Chaussepied 1983, Grasshoff et al. 1999, Baumgarten et al. 2010) no laboratório de ensino da FURG.

2.5. Análise da concentração de clorofila-*a* e feopigmentos

Amostras de água de superfície foram coletadas em todas as estações oceanográficas e nas manchas de *Trichodesmium* para a quantificação da concentração de clorofila-*a*

(Chl-a) e dos pigmentos derivados da degradação da Chl-a, identificados como feopigmentos (clorofilídeo, feofitina e feoforbídeo). A análise foi realizada pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), segundo o método descrito em Mendes et al. (2007).

2.6. Análise de cianotoxinas

Amostras das florações de *Trichodesmium* foram coletadas na superfície da água com balde e filtradas em filtros (0.7 µm) de fibra de vidro GF/F (Whatman®) a volumes que variaram de 60 a 470 mL até a colmatação do filtro. Para remoção do sal marinho, os filtros foram lavados com água destilada e transportados em nitrogênio líquido até o laboratório, e mantidos em ultrazeer -80°C até a análise. A concentração de cianotoxinas foi investigada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), com derivação pós-coluna e detecção por fluorescência (Rourke et al. 2008).

Para a análise das saxitoxinas foram utilizados padrões das variantes de Gonyautoxinas (GTX-1, GTX-2, GTX-3, GTX-4 e GTX-5), de três variantes de Saxitoxinas: Neosaxitoxin (NeoSTX), Decarbamoylsaxitoxin DcSTX, além da Saxitoxina propriamente dita (STX). Os padrões foram sempre lidos em triplicata. As leituras dos brancos (fase móvel e ácido clorídrico 0.05N) também foram verificadas.

2.7. Medidas da absorção da luz pelo fitoplâncton

Amostras de água de superfície foram coletadas em todas as estações oceanográficas com o auxílio de um balde para medida do coeficiente espectral de absorção da luz pelo fitoplâncton. Foram filtrados de 1 a 2 L de água do mar em filtros de fibra de vidro GF/F (Whatman®, porosidade nominal de 0.7µm, diâmetro 25mm). Nas áreas com manchas de *Trichodesmium* o volume filtrado variou entre 30 e 500 mL até a saturação do filtro. Os filtros foram armazenados em nitrogênio líquido após a filtração e, em laboratório, transferidos para ultrafreezer (-80°C) até o momento da análise. As

amostras foram analisadas em espectrofotômetro Perkin Elmer UV/VIS Lambda 35, equipado com uma esfera integradora (RSA PE 20) antes e depois da extração de pigmentos com Hipoclorito de Sódio 1% (adaptado de Tassan e Ferrari, 1995), cujo material se refere a todas as partículas presentes desprovidos de pigmentos, incluindo organismos, denominados como “detritos” pela nomenclatura bio-ótica. As leituras da densidade ótica de cada amostra foram feitas de 390 - 800 nm, com resolução de 1 nm. Os cálculos para obtenção do coeficiente de absorção do fitoplâncton ($a_{phy}(\lambda)$) e do coeficiente de absorção do detrito ($a_{det}(\lambda)$), a partir das leituras de Transmitância e Reflectância da luz seguiram o modelo proposto por Tassan e Ferrari (1995) e Tassan et al. (2002).

Somente para as amostras do grupo “Slicks”, foi aplicada a análise de agrupamento hierárquico que separa em diferentes grupos de amostras de acordo com o comportamento espectral.

Para todas as amostras computou-se o “fator de tamanho” (Sf) proposto em Ciotti et al. (2002), que é uma estimativa do grau de empacotamento de pigmentos derivados pela decomposição da curva espectral da absorção da luz pelo fitoplâncton normalizada, ou seja, é independente da abundância. No modelo original, o parâmetro “Sf” varia de 1 a 0 para os extremos mínimos e máximos de efeito pacote, respectivamente, observados em comunidades dominadas por células pequenas a grandes. Neste trabalho, o modelo para o ajuste de Sf foi alterado de forma a não restringir seu valor mínimo a zero, uma vez que se espera um maior efeito “pacote” resultante da agregação dos tricomas individuais em colônias.

2.8. Velocidade do vento e altura da superfície do mar

A velocidade do vento foi obtida do escaterômetro *Advanced Scatterometer* (ASCAT), a bordo do satélite polar Meteorológico Operacional (MetOp-A), com resolução

espacial de 0.25° . Os dados foram adquiridos pelo site (<ftp://ftp.ifremer.fr/ifremer/cersat/products/gridded/mwf-ascats/data/daily/Netcdf/>) do “Laboratoire D’Oceanographie Spatiale”, do “Institut français de recherche pour l’exploitation de la mer” (IFREMER). O divergente do vento foi obtido através da derivada das componentes de velocidade zonal e meridional do vento extraídos do escaterômetro ASCAT.

As medidas de altura da superfície do mar (SSH) foram adquiridas através dos dados de altimetria disponibilizados pelo grupo francês Parc Technologique du Canal (www.aviso.altimetry.fr). A resolução espacial dos dados é de $1/8^\circ \times 1/8^\circ$, e para cada mapa diário foi calculada a anomalia da SSH (m) e, assim, estimada a velocidade geostrófica (m s^{-1}) da superfície do oceano. Os mapas mostram vórtices ciclônicos e anti-ciclônicos associados à CB.

2.9. Análises estatísticas

O conjunto de dados foi separado em dois padrões observados, condições com densidade de tricomas $< 8 \times 10^3$ tricomas L^{-1} (“No Slicks”), e condições com densidade de tricomas $> 8 \times 10^3$ tricomas L^{-1} (“Slicks”), no qual as manchas são incluídas.

Foi realizada análise de componentes principais (PCA) para a correlação entre as variáveis independentes e, a análise de regressão múltipla para determinar as covariáveis que obtiveram maior influência significativa sobre a variabilidade da variável dependente (densidade de tricomas, biomassa de *Trichodesmium* (modelo MIT) e crescimento de *Trichodesmium* (modelo MIT)).

Para determinar a influência dos fatores ambientais na abundância de tricomas, foram incluídas nas análises as covariáveis: temperatura, concentração dos componentes nitrogenados inorgânicos dissolvidos (nitrato+nitrito+amônio) (DIN), concentração de fósforo inorgânico dissolvido, profundidade da camada de mistura (MLD),

estratificação média dos primeiros 25 m da coluna de água, velocidade do vento e divergente do vento. As covariáveis incluídas foram padronizadas.

A regressão linear múltipla é uma correlação linear desenvolvida a partir de mais de uma variável explicativa (independente). Sendo uma análise estatística preditiva, a regressão linear múltipla é utilizada para explicar a relação entre uma variável dependente contínua a partir de duas ou mais variáveis independentes (Legendre & Legendre 1998). Os coeficientes da equação da regressão (valores absolutos) representam um meio de avaliar a importância relativa das variáveis independentes incluídas na análise, i.e. as covariáveis (variáveis independentes) com maiores coeficientes são aquelas que mais contribuem para o valor estimado da variável dependente (Legendre & Legendre 1998).

O modelo de melhor ajuste para a variável dependente foi escolhido pelo menor valor do índice AIC (*Akaike's information criterion*), após aplicada a técnica de regressão *stepwise*, a qual verifica a adequabilidade do modelo de acordo com a seleção das covariáveis de maior correlação com a variável dependente. As análises foram realizadas em R (R Development Core Team, 2013).

Para investigar a variabilidade dos espectros de absorção da luz, foram enfatizadas as amostras com densidade de tricomas superior a 8×10^3 trichomes L^{-1} , que foi a densidade mínima de tricomas total das estações que apresentaram tricomas visíveis a olho nu na superfície do mar. Também foi a densidade mínima de tricomas total a qual apresentou boa correlação com os pigmentos contidos em *Trichodesmium* (PUB – 496 nm, PEB – 545 nm e PC – 621 nm).

3. SÍNTESE DOS RESULTADOS

Os resultados detalhados se encontram nos artigos anexados (Apêndices). A seguir, os resultados são apresentados de forma sucinta.

3.1. Distribuição latitudinal da densidade de *Trichodesmium*

O número de tricomas individuais variou de 0 a 1148 tricomas L⁻¹, nas estações sem manchas (“No Slicks”), e de 500 a 5×10^6 tricomas L⁻¹ (representando de 6% a 70% da densidade de tricomas totais), nas manchas de *Trichodesmium* (“Slicks”). A densidade de colônias nas manchas foi inferior ao número de tricomas individuais (38 col L⁻¹ a 8×10^4 col L⁻¹). A presença de colônias é mais frequente nas manchas (representando de 30% a 99% da densidade de tricomas totais), fora destas as colônias foram ausentes (em sua maioria) ou ocorreram em baixas densidades (máximo: 6 col L⁻¹).

O número de tricomas total variou de 0 a 2×10^3 tricomas L⁻¹ nas amostras “No Slicks”, e de 8×10^3 a 212.6×10^5 tricomas L⁻¹, em “Slicks”. Durante os três cruzeiros, na maioria das estações oceanográficas amostradas ao longo da área de estudo, foi observada a presença de tricomas de *Trichodesmium*, porém, nas condições sem mancha de *Trichodesmium*, as maiores densidades (entre 800 e 8×10^3 tricomas L⁻¹) foram observadas ao longo do setor norte, entre Cabo Frio e Cabo de Santa Marta Grande (CFCSM) (23° – 28° S) (ver Fig. 3 do Apêndice 1, pág. 90). Nesta região também ocorreu o maior número de manchas.

Em muitas das amostras analisadas por microscopia foi encontrada a cianobactéria também diazotrófica *Richelia intracellularis* em simbiose com diatomáceas *Rhizosolenia* spp. e *Hemiaulus* spp. coexistindo com *Trichodesmium* spp. Também, nas amostras das manchas, foram observados muitos copepoditos e náuplios do zooplâncton pelágico harpacticóide *Macrosetella gracilis* aderidos aos tricomas e colônias em associação com as manchas de *Trichodesmium*.

3.2. Parâmetros físicos ambientais

A temperatura e salinidade dos três cruzeiros variaram entre 18°C e 25.4°C e 32 e 37.4, respectivamente. A temperatura média da água de superfície das estações sem mancha foi de 22.7°C (± 1.6), e nas estações com manchas foi de 24°C (± 0.9). As massas de água encontradas na área de estudo foram a AT, AP, ASTP e PRP. As distribuições latitudinais da temperatura média na superfície do oceano mostram maiores valores ($> 23^\circ\text{C}$) nas estações ao norte de 28°S, devido a forte influência da AT, e valores menores ($< 23^\circ\text{C}$) nas estações ao sul desta latitude, com domínio da ASTP.

A isohalina 36 indica a localização média da AT (ver Figs. 2 e 3 do Apêndice 1, págs. 88 e 89), e também delimita a área onde maiores números de tricomas totais foram encontradas, mostrando que, provavelmente, *Trichodesmium* se adapta melhor às condições termohalinas da AT, em relação às massas de água ASTP e AP (ver Figs. 2 e 3 do Apêndice 1 págs. 88 e 89). A correlação entre a temperatura e densidade de tricomas ($r^2 = 0.4$, P-valor < 0.01) mostra que, pela variação de temperatura, há um intervalo de 22°C a 25.4°C, no qual as densidades de tricomas são maiores.

Nos eventos de manchas de *Trichodesmium* o vento local variou de 0.6 m s⁻¹ a 8.3 m s⁻¹, profundidade da camada de mistura (MLD) de 2 m a 70 m, a estratificação dos primeiros 25 m foi menor que $34.5 \times 10^{-5} \text{ rad}^2 \text{ s}^{-2}$ e o movimento divergente do vento foi menor que $3.2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Porém, apenas a estratificação apresentou diferença significativa entre condições sem manchas e com manchas de *Trichodesmium*.

Mapas da anomalia da SSH (m) e velocidade geostrófica (m s⁻¹) (ver Fig. 5 do Apêndice 1, pág. 92) mostram a localização das manchas de *Trichodesmium* (pontos pretos) em seus respectivos dias em que foram encontradas. As cores vermelhas representam anomalias da SSH positivas, que correspondem à vórtices anti-ciclônicos, os quais possuem subsidência das isopícnais no centro. Enquanto que as cores azuis

representam anomalias negativas que correspondem à presença de vórtices ciclônicos, caracterizados por isopícnais ascendentes no centro.

3.3. Análises estatísticas

As diferentes massas de água encontradas foram relacionadas à densidade de tricomas. A análise ANOVA, mostrou que houve diferenças significativas na densidade entre as águas AP e ASTP (P-valor < 0.001) e AP e PRP (P-valor < 0.001), assim como foram significativamente diferentes a AT de ASTP (P-valor = 0.004) e AT de PRP (P-valor = 0.001). Entretanto, as águas AT e AP, mais quentes e salinas, não apresentaram diferenças significativas (P-valor = 0.09), indicando ambas são semelhantes em relação à densidade de tricomas (ver Fig. 7 do Apêndice 1, pág. 94).

A análise de componentes principais (PCA) aplicada às variáveis ambientais explicou 63% da variabilidade dessas, sendo 42% explicada pela primeira componente (PC1) e 21% explicada pela segunda componente (PC2).

O gráfico (ver Fig. 8 do Apêndice 1, pág. 95) mostra que a maioria das estações com maior densidade de tricomas se agrupam no lado positivo da PC1, representando uma relação positiva entre a temperatura (representando a AT) e os pontos de maior densidade de tricomas. Ao contrário, no lado negativo da PC1, observamos os vetores “estratificação média dos primeiros 25 m”, “fosfato”, “nitrogênio” e “divergente do vento”. Este resultado indica que essas variáveis estão correlacionadas positivamente entre si, porém localizadas no lado oposto dos pontos de maior densidade de tricomas. Também indica que os maiores números de tricomas ocorrem sob concentração baixa de fosfato e fraca estratificação nos primeiros 25 m. A forte proximidade dos vetores “divergente do vento” e “nitrogênio”, mostrada na PCA, demonstra que quanto maior o movimento divergente do vento, maior a concentração de nitrogenados na superfície da água, ocorrendo menor densidade de tricomas.

Para avaliarmos de forma mais detalhada a influência das variáveis físico-químicas sobre a densidade de tricomas, foi aplicada uma regressão múltipla para cada grupo, sendo (ver Tabelas 1 e 3 do Apêndice 1, págs. 95 e 97): densidades menores do que 8×10^3 tricomas L^{-1} (“No Slicks”, $N = 77$) e maiores do que este valor (“Slicks”, $N = 15$). Uma estação próxima à mancha foi adicionada ao grupo “Slicks” devido à alta densidade de tricomas, mesmo sem terem características visuais de mancha.

A densidade de tricomas, para ambos os grupos, apresentou normalidade de Shapiro (P-valor > 0.05) com transformação de Box-Cox.

Entre os dois grupos, “Slicks” e “No Slicks”, as variáveis que apresentaram diferenças significativas (P-valor < 0.05) entre as suas variâncias e médias foram: fosfato, estratificação, temperatura e salinidade. Isto representa que os grupos caracterizam condições físico-químicas distintas, ou seja, existem condições adaptativas diferentes entre os conjuntos de dados “Slicks” e “No Slicks”, que podem refletir na magnitude da densidade de tricomas.

O modelo gerado pela análise de regressão múltipla para o grupo “No Slicks” mostrou que as variáveis explicativas: fosfato, nitrogênio, velocidade do vento, estratificação, MLD, temperatura e divergência do vento estão significativamente relacionadas com a densidade de tricomas, e que estas variáveis juntas explicam 58% da variabilidade do número de tricomas. Entretanto, as variáveis que apresentaram maior influência significativa (P-valor < 0.001) sobre a variabilidade da densidade de tricomas foram: fosfato, nitrogênio, velocidade do vento e temperatura. Desta forma, a análise de regressão múltipla revelou que as condições favoráveis para que ocorresse um aumento no número de tricomas na superfície do mar (“No Slicks”) são, principalmente, alta temperatura, baixa intensidade do vento, baixos níveis de nitrogenados e altos níveis de fosfato.

Para o grupo “Slicks”, a regressão múltipla mostrou que as variáveis: fosfato, velocidade do vento, MLD, estratificação, temperatura e divergente do vento, juntas explicaram 74% da variabilidade de densidade de tricomas. A regressão múltipla demonstrou que o aumento da concentração de fosfato, intensidade do vento, temperatura e divergência do vento, promovem um aumento na densidade de tricomas, intensificando a magnitude da mancha, mas o nitrogênio não foi significativo (P -valor > 0.05) e também apresentou colinearidade com outras variáveis, por isso foi retirado da análise. Entre essas variáveis, o fosfato apresenta maior influência (alto valor do coeficiente e menor P -valor). Esta análise também revelou que uma fraca estratificação na coluna de água (primeiros 25 m) leva à diminuição na densidade de tricomas (maior valor do coeficiente e P -valor = 0.04).

Deve-se considerar que esse conjunto de dado (“Slicks”) são referentes aos episódicos eventos de densas manchas encontradas ao longo de quatro cruzeiros; portanto, conciliam condições ambientais semelhantes e favoráveis ao acúmulo de tricomas. Assim, a regressão múltipla para o grupo “Slicks” revelou que, uma vez promovidas as condições físico-químicas necessárias para que ocorra um acúmulo de tricomas, então passa a ser importante a presença de fosfato na superfície da água associado a uma fraca estratificação nos primeiros 25 m (frequência de Brunt-Väissälä), que pode ser promovida e mantida pelo aumento da velocidade do vento na superfície do oceano.

3.4. Concentrações de saxitoxinas

As concentrações de equivalentes de saxitoxina (STX-eq) variaram de 0.45 a 3.9 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo a GTX-4 a principal forma equivalente desta neurotoxina nas manchas.

Em todas as manchas, o número de tricomas solitários foi maior que o número de colônias, porém estas agregam uma alta densidade de tricomas agrupados que representam uma alta porcentagem da contribuição de tricomas total. As maiores

concentrações de STX-eq ($3.9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1.96 \mu\text{g L}^{-1}$) foram encontradas nas manchas onde colônias representaram maior proporção em relação ao número total de tricomas (91% e 73%, respectivamente). Também nestas manchas foram encontradas as maiores concentrações de STX-eq por célula de *Trichodesmium* (0.54×10^{-8} and $0.57 \times 10^{-8} \mu\text{g}$ de STX-eq cell^{-1}). A menor contribuição de colônias encontradas (31%), em relação ao número total de tricomas, apresentou $1.27 \mu\text{g L}^{-1}$ de STX-eq e $0.43 \times 10^{-8} \mu\text{g}$ STX-eq cel^{-1} . Por outro lado, a menor concentração de STX-eq por célula ($0.02 \times 10^{-8} \mu\text{g cel}^{-1}$) foi encontrada na mancha com 78% da proporção de colônias e a maior concentração de pigmentos de degradação derivados da clorofila-*a*.

É conhecido que *Trichodesmium* é encontrado predominantemente em tricomas solitários, o que facilita sua manipulação aos seus herbívoros. Então, os resultados deste trabalho nos levam a interpretar que tricomas se agrupam em grandes feixes (~ 1 mm de comprimento $40 \mu\text{m}$ de largura) para aumentar seu tamanho e a concentração de toxinas, como forma de afastar seus predadores. Além de oferecer habitat para deposição segura de ovos e náuplios de microrganismos do zooplâncton (Hewson et al. 2009).

Nos testes de toxicidade com tricomas de *Trichodesmium* de uma floração oferecidos a pós-larvas de 45 dias do camarão branco *Litopenaeus vannamei*, obteve-se uma concentração letal de 50% (CL_{50} -96hs), quando oferecido 0.66 mg mL^{-1} de pó liofilizado da floração. O conteúdo de STX-eq no pó liofilizado correspondia a $2.6 \mu\text{g g}^{-1}$ (dw), sendo assim a CL_{50} STX-eq para a pós-larva de 45 dias de *Litopenaeus vannamei* é de $1.712 \mu\text{g STX mL}^{-1}$ (ou $1712 \mu\text{g STX L}^{-1}$). Portanto, as manchas mais tóxicas estariam apenas a $400\times$ menor do que a concentração que seria letal a 50% das larvas do plâncton, se estas ficassem expostas por até 4 dias nos oceanos. Ainda considerando que o valor $3\times$ menor que a CL_{50} STX-eq já foi capaz de levar a morte de

alguns organismos no teste (570.6 ug L^{-1}), o mesmo cálculo nos levaria a conclusão de que as manchas mais tóxicas encontradas neste estudo estariam apenas a $146\times$ a concentração que já levaria a letalidade do zooplâncton em contato com a mancha por até 4 dias.

3.5. Variabilidade dos espectros de absorção da luz por manchas de *Trichodesmium*

O conjunto de dados dos espectros de absorção da luz por fitoplâncton mostrou dois grupos distintos quanto ao comportamento espectral da absorção da luz, que foram chamados grupo “Slicks” (amostras das manchas de *Trichodesmium* identificadas visualmente na superfície do oceano pela cor da água vermelho/marrom) e grupo “No Slicks” (amostras sem manchas de *Trichodesmium*, onde a água apresentava cor azul, como em condições normais para águas do talude continental) (ver Fig. 3 do Apêndice 3, pág.139). Entre todos os espectros de absorção da luz (“Slicks” e “No Slicks”), os espectros das estações com densidade superior a $281 \text{ tricomas L}^{-1}$ (“Slicks”) se destacaram nitidamente dos demais espectros, principalmente, pela maior magnitude da luz absorvida na faixa do visível (380 – 750 nm).

Foi ajustado um modelo polinomial de ordem 2 aplicado aos valores brutos das variáveis “densidade de tricoma total (tricomas L^{-1})” e “absorção da luz pelo fitoplâncton (m^{-1})”.

Os resultados do modelo polinomial mostram soma dos resíduos ao redor de zero e coeficientes de determinação $r^2=0.40$ em PUB (496 nm), $r^2=0.37$ em PEB (545 nm) e $r^2=0.38$ em PC (621 nm)) (ver Tabela 2 do Apêndice 3, pág. 141).

Esta regressão polinomial se altera quando analisada somente com tricomas solitários, apresentando os maiores r^2 (0.35, 0.30 e 0.30) nos comprimentos de onda 438, 463 e 676 nm, correspondentes a absorção da luz pelos pigmentos Chl-a (438 e 676 nm) e

carotenoides (463 nm). No grupo “No Slicks” não houve correlação entre a densidade de tricomas total, tricomas livres ou colônias e a absorção da luz pelo fitoplâncton ($r^2 < 0.025$).

A relação entre o total de clorofila-*a* (mg m^{-3}) e a densidade de tricomas foi de $r^2 = 0.29$ (P-valor < 0.0001), para o conjunto de dados total (amostras “Slicks” e “No Slicks”) em escala logarítmica. Porém, somente para as amostras “Slicks” esta relação foi de $r^2 = 0.56$ (P-valor < 0.0001) (ver Fig. 4 do Apêndice 3, pág. 140).

O valor médio de Sf em “Slicks” foi de $0.17 (\pm 0.24)$, enquanto em “No Slicks” foi encontrado Sf médio de $0.43 (\pm 0.08)$. Entretanto, as manchas com menor densidade de tricomas solitários e densidade de colônias obteve Sf médio de 0.48.

A relação entre Sf e densidade de colônias, bem como densidade de tricomas solitários, ambas densidades em escala logarítmica de ordem 10, apresentaram correlações lineares negativas com $r = -0.55$ e $r = -0.41$, respectivamente, analisado para todo o conjunto de dados, ou seja, os dois grupos juntos (“Slicks” e “No Slicks”).

A análise de agrupamento hierárquico aplicada às amostras do conjunto “Slicks” mostrou dois grupos distintos de acordo com o comportamento espectral da absorção de luz pelas manchas, grupo G1 e grupo G2 (ver Fig. 5 do Apêndice 3, pág. 141). O G1 ($N = 3$) com menores densidades médias de tricomas individuais ($512 \text{ tricomas L}^{-1} (\pm 137)$) e de colônias ($12.5 \text{ colônias L}^{-1} (\pm 12.5)$), em relação ao G2 ($N = 14$) ($10 \times 10^5 \text{ tricomas L}^{-1} (\pm 4.2 \times 10^5)$ e $17 \times 10^3 \text{ colônias L}^{-1} (\pm 7.4 \times 10^3)$).

3.6. Saída do modelo biogeoquímico-ecossistêmico

O Modelo de Sistema Global Integrado do MIT (Integrated Global Systems Model – IGSM) é um modelo de campo físico acoplado a um modelo biogeoquímico-ecossistêmico descrito em Dutkiewicz et al. (2015). O modelo possibilita investigar a variabilidade dos parâmetros biológicos de interesse (biomassa e crescimento do

Trichodesmium) em relação aos parâmetros ambientais para o oeste do Oceano Atlântico Sul.

Os dados de saída do IGSM/MIT (Dutkiewicz et al. 2014), adquiridos para o oeste do Oceano Atlântico Sul, foram analisados e interpretados com base nos dados coletados nos cruzeiros do projeto TALUDE. O período temporal resolvido pelo modelo é de 60 meses, ou seja, para cinco anos (Jan 1995 a Dez 1999), e a resolução espacial é de $2.5^\circ \times 2.5^\circ$. Os dados de saída do modelo considerados são: biomassa de *Trichodesmium* (mgC m^{-3}), taxa de crescimento do *Trichodesmium* (s^{-1}), temperatura e salinidade da superfície do oceano, profundidade da camada de mistura (MLD) e concentração de silicato, fosfato e nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN).

As velocidades das correntes de superfície do Oceano Atlântico Tropical, geradas pelo campo físico IGSM/MIT (ver Fig. 2 do Apêndice 4, pág. 167), foram visualmente associadas à taxa de crescimento e à taxa de perdas de *Trichodesmium*. Esta análise preliminar indica que tricomas de *Trichodesmium* podem ser advectados da região equatorial para o setor sul e norte, transportados pelas correntes de contorno Corrente do Brasil (CB) e Corrente Norte do Brasil.

A partir da bifurcação da Corrente Sul Equatorial, originando a CB, tricomas podem ser transportados ao longo da costa brasileira. Dados coletados nos três cruzeiros mostram que a densidade de tricomas é maior no setor norte (CFCSM) do que no setor sul (PSS) da costa sudeste brasileira.

A fim de expandir o entendimento da distribuição de *Trichodesmium* para o lado oeste do Atlântico Tropical e Atlântico Sul, foram escolhidas três latitudes. A escolha das latitudes foram baseadas nos dois locais de maior biomassa de *Trichodesmium*, a partir da saída do modelo, e dentro da área onde os cruzeiros foram realizados (ver Fig. 4 do

Apêndice 4, pág. 169). As latitudes escolhidas são: 4°N (longitude 48.75°W), 24°S (longitude 41.25°W) e 32°S (longitude 48.75°W).

A distribuição espacial média da biomassa de *Trichodesmium* para cinco anos (Jan 1995 a Dez 1999) mostra valores altos (maior que $2.5 \times 10^{-3} \text{ mgC m}^{-3}$) no oeste do Atlântico Tropical e no sul do Atlântico Sul (ver Fig. 4 do Apêndice 4, pág. 169). Ambos os locais são influenciados por grandes aportes continentais das plumas dos rios Amazonas e La Plata, respectivamente. Isto demonstra uma relação positiva entre aporte de nutrientes com alta biomassa de *Trichodesmium*.

A partir da taxa de crescimento de *Trichodesmium* foi calculado o crescimento líquido (μ_{NET}) de acordo com a equação descrita em Clayton et al. (2013), a fim de investigar se há migração de tricomas pela CB (μ_{NET} menor que zero) ou se há crescimento local de *Trichodesmium* (μ_{NET} maior que zero) (ver Fig. 4 do Apêndice 4, pág. 169). Clayton et al. (2013) afirmam que dentro de uma área controle (uma célula grid do modelo, ou seja, aproximadamente $278 \text{ km} \times 278 \text{ km}$) qualquer grupo do fitoplâncton poderá manter sua biomassa local se houver entrada de recursos biológicos (fontes de nutrientes) balanceados pelas perdas ou por predação e senescência ou por transporte físico, caso contrário, a biomassa local irá ser esgotada quando os termos de perdas forem balanceados pelo transporte físico.

Para a área dos cruzeiros os valores de μ_{NET} são negativos no setor norte, ou seja, *Trichodesmium* parece ser transportado pela CB. Entretanto, já no setor sul da área, os valores de μ_{NET} são ligeiramente positivos, indicando um crescimento local e adaptado às condições ambientais. Também valores positivos de μ_{NET} são observados no oeste do Atlântico Tropical, indicando um crescimento local de *Trichodesmium* sob influência de águas quentes.

A fim de analisar o desempenho da saída do modelo em termos da correlação entre a biomassa de *Trichodesmium*, temperatura da superfície do mar e crescimento residual (subtração entre a taxa de crescimento e a taxa de perdas de *Trichodesmium*), foi investigada a variabilidade temporal ao longo dos 60 meses de dados mensais do modelo IGSM/MIT nas três latitudes selecionadas, 4°N, 24°S e 32°S.

Para a latitude 4°N, a biomassa de *Trichodesmium* mostrou fraca correlação com a temperatura ($r = 0.24$), apresentando alta biomassa quando o crescimento residual foi positivo, o que pode indicar um crescimento local adaptado ao ambiente nos meses de, aproximadamente, setembro a março.

Na latitude 24°S, biomassa e temperatura apresentam forte correlação ($r = 0.8$), apresentando crescimento residual negativo quando a biomassa foi alta. Ou seja, provavelmente *Trichodesmium* não apresenta crescimento local, mas um transporte advectivo a partir de um local de origem.

A área na latitude 32°S não apresentou correlação ($r = -0.24$) entre biomassa e temperatura, onde o crescimento residual é positivo quando a biomassa foi baixa.

Para o conjunto de dados de saída do modelo IGSM/MIT foi aplicada a análise de regressão linear múltipla para cada uma das três latitudes escolhidas. Em todos os modelos da regressão múltipla foi encontrada normalidade na análise dos resíduos do modelo (Teste de Shapiro-Wilk). Neste contexto, investigamos o comportamento e desempenho da saída do modelo em termos da variabilidade temporal da biomassa e do crescimento de *Trichodesmium* em relação aos fatores ambientais (ver Tabela 2 do Apêndice 4, pág. 169).

Para a latitude 4°N, o modelo linear explicou 72% da variabilidade da variável dependente (crescimento de *Trichodesmium*). As covariáveis (independentes) fosfato, DIN, MLD e silicato foram significativas (P-valor < 0.05 em ordem do menor para o

maior) na variabilidade do crescimento de *Trichodesmium* nesta área. Ou seja, o aumento de fosfato (coeficiente positivo e maior valor absoluto), diminuição do DIN (coeficiente negativo e segundo maior valor absoluto) e aumento da MLD e concentração de silicato (coeficientes positivos) são condições que, atuando em conjunto, aumentam o crescimento de *Trichodesmium*. Estes resultados indicam que o modelo IGSM/MIT, provavelmente, é condizente com dados encontrados na literatura, pois, de fato, a baixa disponibilidade do DIN é o principal fator que controla a ocorrência dominante de *Trichodesmium* em relação à ocorrência dominante dos demais grupos do fitoplâncton nesta região.

Na área da latitude 24°S, o modelo linear explica 68% da variabilidade da variável dependente crescimento de *Trichodesmium* e, as covariáveis MLD, DIN e temperatura foram fatores significativos (P-valor < 0.05 em ordem do menor para o maior) para explicar a variabilidade temporal do crescimento do *Trichodesmium* nesta área. Os resultados indicam que, com o aumento da MLD, da concentração de DIN e alta temperatura da superfície do mar, atuando em conjunto, favorecem um maior crescimento do *Trichodesmium*, de acordo com as saídas do modelo IGSM/MIT. A temperatura apresentou o maior coeficiente em seu valor absoluto.

Para a latitude 32°S, as covariáveis temperatura, fosfato, salinidade, MLD e silicato foram os fatores que significativamente controlaram a variabilidade temporal da variável dependente (P-valor < 0.05 em ordem do menor para o maior), explicando 91% desta. O modelo de regressão múltipla mostra que baixas temperaturas da superfície do mar, aumento da concentração de fosfato, aumento da salinidade, MLD rasa e diminuição do silicato são fatores ambientais que em conjunto favorecem o aumento do crescimento de *Trichodesmium* nesta região. Os maiores coeficientes, em seu valor absoluto, foram temperatura, fosfato, MLD e salinidade. No entanto, esses

resultados, como baixa temperatura e MLD rasa, indicam presença e influência da PPW, ou seja, maior aporte de nutrientes, e assim favorecendo a ocorrência dominante dos demais grupos do fitoplâncton e excluindo o *Trichodesmium*.

4. DISCUSSÃO GERAL

O estudo da distribuição de *Trichodesmium* e sua relação com parâmetros ambientais permitiu avançar o conhecimento da formação das manchas de *Trichodesmium* na região da quebra de plataforma e talude continental da costa sudeste brasileira. A conexão com diversos estudos realça a hipótese de que a densidade de *Trichodesmium* está associada ao sistema de correntes de contorno oeste, conjuntamente com condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento desses extensos acúmulos de *Trichodesmium*. Além de auxiliar a compreensão de algumas respostas, esses resultados associados aos estudos prévios, contribuem para intrigar relevantes questões ainda por serem respondidas futuramente. Nesta seção, os dados coletados contemplam argumentos que enfatizam o fato de que *Trichodesmium* apresenta características peculiares, tanto nocivas quanto bio-óticas, que descrevem sua relação com a dinâmica da CB.

4.1. Distribuição de *Trichodesmium* associada aos processos oceanográficos

Considerando a variação latitudinal, na região CFCSM, as concentrações de nitrogenados foram menores em relação à região PSS. Por outro lado, as concentrações de fosfato foram baixas em toda a área de estudo ($< 0.2 \mu\text{M}$). Concentrações altas de fosfato apareceram somente nas estações mais próximas à plataforma interna e à Lagoa dos Patos, região onde há domínio de deságue de água continental (Braga & Niencheski, 2006). Entretanto, a concentração média de Chl-a, nas estações sem mancha de *Trichodesmium*, foi de 0.3 mg m^{-3} , indicando que a região do talude é uma

área de baixa biomassa fitoplanctônica, provavelmente limitada pelos baixos níveis de fosfato, em toda a área de estudo e também nitrogenados para a região CFCSM.

Através de experimentos durante cruzeiros oceanográficos, Moutin et al. (2005) mostraram que é necessário concentração de fosfato $> 9\text{nM}$ ($0.009\text{ }\mu\text{M}$) para *Trichodesmium* crescer a uma taxa superior a 0.1 d^{-1} , com razão N:P abaixo da razão de Redfield. Nessas condições, o crescimento não requer assimilação de fósforo orgânico dissolvido e nem migrações verticais, atividades essas que requerem maior gasto energético. No entanto, a partir de experimentos com cultivo de *Trichodesmium*, Spungin et al. (2014) sugerem que entradas de nitrogênio novo para a camada eufótica em águas oceânicas são mantidas por *Trichodesmium*, mesmo sob limitação do fósforo. Com base na regressão múltipla, para condições sem mancha (“No Slicks”), observamos que temperaturas altas e concentrações suficientes de fosfato ($> 0.001\text{ }\mu\text{M}$) são fatores importantes para aumentar o número de tricomas na superfície do oceano, conjuntamente com baixos níveis de nitrogenados ($< 2.4\text{ }\mu\text{M}$) e baixa intensidade do vento (11.2 m s^{-1}). De fato, a população de *Trichodesmium* sofre estresse sob condições de vento alto, uma vez que a capacidade das colônias em fixar o N_2 diminui quando elas são perturbadas com a ação das ondas (Carpenter & Price, 1976). Além disso, Carpenter et al. (2004) mostraram que, para formar uma floração de *Trichodesmium* ou acúmulo de tricomas na superfície, são necessárias condições de mar calmo, pois ventos fortes misturam a população de águas mais fundas e impede acumulações na superfície. Porém, não representa um requisito para ativas populações de *Trichodesmium* (Carpenter et al. 2004).

No presente trabalho, para condições com manchas de *Trichodesmium* (“Slicks”) observamos que alta concentração de fosfato é mais importante do que a temperatura da água de superfície. Além disso, fraca estratificação nos primeiros 25 m apresentou

significativa influencia para o aumento no número de tricomas. O movimento divergente do vento na superfície do oceano também apresentou correlação significativa com a densidade de tricomas das manchas. Este resultado indica que uma fraca estratificação nos primeiros 25 m da coluna de água está associada ao movimento divergente do vento. Essas condições, provavelmente, implicam na entrada de fosfato na superfície do oceano, que pode ser promovida por um evento de bombeamento de nutrientes da camada de sub-superfície.

As maiores densidades de tricomas (média de 42.3×10^5 tricomas L^{-1} ($\pm 56 \times 10^5$)), foram encontradas em 14 manchas de *Trichodesmium* e estações próximas. As demais estações ($N = 160$) apresentaram densidade média de 269 tricomas L^{-1} (± 415). As magnitudes da densidade de tricomas variaram ao longo dos três cruzeiros, porém, as densidades entre 800 tricomas L^{-1} e 8×10^3 tricomas L^{-1} foram mais frequentes na região CFCSM, também conhecida como South Brazil Bight (SBB). Florações episódicas de *Trichodesmium* e diatomáceas ocorrem no oeste do Atlântico Tropical devido à fertilização pela pluma do Rio Amazonas (Carpenter et al. 2004, Lenés et al. 2005). Após a depleção do nitrogênio pelas diatomáceas, os níveis residuais de fosfato variam entre 0.09 - 0.22 μM , concentrações não limitantes para as cianobactérias (Lenés et al. 2005). As águas do Rio Amazonas são arrastadas junto ao meandramento da Corrente Norte do Brasil (Carpenter et al. 2004, Hood et al. 2004, Foster et al. 2007), assim fornecendo fósforo e ferro suficientes para sustentar uma floração de *Trichodesmium* no sudoeste do Atlântico Norte (Lenés et al. 2005). Existem registros de ocorrência de *Trichodesmium* em altas latitudes do Atlântico Norte, as quais são advectadas para esta região temperada junto à Corrente do Golfo (LaRoche & Breitbarth, 2005).

A dinâmica da CB na região CFCSM (ou SBB), dirigida por seu meandramento e formação de vórtices, promove ressurgência de quebra de plataforma (Palma & Matano 2009). Esta ressurgência ocorre de maneira pontual nesta região, rompendo a termoclina permanente e fertilizando a base da camada eufótica na plataforma externa (Campos et al. 2000, Palma & Matano 2009, Marone et al. 2010). Além disso, a presença de vórtices ciclônicos, que gera ascendência da picnoclina em seu núcleo, fertiliza a zona eufótica da coluna de água em águas oligotróficas do talude (Campos et al. 2000). Isto também é sugerido pela anomalia da SSH e velocidade geostrófica (ver Fig. 5 do Apêndice 1, pág. 92) associados às localizações das manchas de *Trichodesmium* encontradas. A maioria destas foram posicionadas nas bordas de vórtices ciclônicos. Essas feições são caracterizadas por divergência do fluxo horizontal e deslocamento ascendente das isopícnais no centro do vórtice, assim trazendo nutriente em direção à superfície. Porém, nas bordas de um vórtice ciclônico ocorre convergência do fluxo horizontal durante a sua formação e subsidência das isopícnais. Além de que a temperatura da água em superfície é maior nas bordas de um vórtice ciclônico do que em seu centro. Esses processos oceanográficos provavelmente explicam a maior abundância de manchas e densidade de tricomas encontradas na região CFCSM em relação à PSS, pois feições de mesoescala associadas ao movimento de subsidência da água de superfície (e.g. nas bordas dos vórtices ciclônicos) consegue agregar tricomas em superfície.

A intensidade desta fertilização é controlada pela mudança da topografia do fundo na região do CFCSM, a qual modula o gradiente de pressão ao longo da costa e a magnitude dos processos de ressurgência e subsidência de quebra de plataforma (Palma & Matano, 2009). No entanto, comparada com a ressurgência costeira gerada por

ventos, a ressurgência de quebra de plataforma por gradiente de pressão gera menor magnitude de intrusão de nutrientes (Matano et al. 2010).

A ressurgência de quebra de plataforma associada às correntes de contorno oeste é um fenômeno comum observado na Corrente do Golfo, costa sudeste da África e Corrente Leste da Austrália, porém ocorrem de maneira esporádica (Palma & Matano, 2009). Já a ressurgência de quebra de plataforma gerada pela interação entre as correntes de contorno oeste e a topografia de fundo, através da modificação do gradiente de pressão ao longo da costa, ou seja, pelo atrito de massas de água de fundo, é um fenômeno persistente, como ocorre no SBB (Palma & Matano 2009, Matano et al. 2010). Desta forma, a entrada de fosfato pelo mecanismo de ressurgência, ainda que de forma fraca, e o movimento de subsidência do fluxo horizontal (e.g. bordas de vórtices ciclônicos e centro de vórtices anti-ciclônicos), levam-se a inferir que tricomas de *Trichodesmium* presentes na AT podem formar manchas em micro-áreas de ressurgência de quebra de plataforma na região CFCSM. Entretanto, como *Trichodesmium* apresenta uma baixa taxa de crescimento máximo (0.2 cell d^{-1} , Spungin et al. 2014), para ocorrer um acúmulo de alta biomassa de tricomas é necessário que condições favoráveis se mantenham por alguns dias. Por outro lado, estes organismos produzem toxinas e possuem poucos predadores, não apresentando um significativo controle top-down (LaRoche & Breitbarth 2005).

Considerando as condições oceanográficas e fisiológicas apresentadas, tricomas se acumulam quando uma série de fatores físico-químicos atua conjuntamente. Uma vez que ocorra a agregação dos tricomas, manchas podem ser formadas quando parâmetros significativos atuam simultaneamente para a manutenção de uma alta biomassa de tricomas de maneira temporalmente favorável.

4.2. Manchas nocivas de *Trichodesmium* spp.

A maioria dos grupos de copépodes pelágicos (e.g. calanóides) filtradores não consegue manejar grandes cianobactérias filamentosas (Hawser et al. 1992), o que os mantém afastados das manchas por estas não oferecerem vantagem alimentar aos copépodes. Entretanto, o grupo de zooplâncton pelágico harpacticoide *Macrosetella gracilis* parece ter evoluído uma estratégia para permanecência e sucesso no ambiente planctônico. Devido à baixa habilidade natatória do grupo harpacticoide, *Trichodesmium* fornece flutuação e substrato físico para esses organismos, além da produção de neurotoxina, protegendo-os contra a predação dos ovos, náuplios e copepoditos desta espécie (Eberl & Carpenter 2007). Por outro lado, extrato de uma floração de *Trichodesmium* foi oferecido (1 mg mL^{-1}) para *Artemia salina*, ocasionando morte de 40% da população após 48 h, sendo que 27% da população já havia morrido após 24 h de incubação (Narayana et al. 2014).

Além de danos às comunidades do plâncton marinho, adicionalmente, estudos de genotoxicidade do extrato de uma floração de *Trichodesmium erythraeum* apresentou habilidade em danificar o DNA de linfócitos em humanos (Narayana et al. 2014).

Visto a potencial toxicidade de florações de *Trichodesmium*, infere-se que essas manchas oceânicas em superfície e que não apresentam um controle top-down, podem ser advectadas para regiões costeiras. Ao atingirem essas zonas, poderão concentrar-se, entrar em senescência, com rompimento das células, onde a saxitoxina será liberada e solubilizada na água, oferecendo riscos para a comunidade planctônica e outras comunidades locais, como na mortandade de briozoários descrita em Silva (2005) e danos à saúde humana, como descrito por Narayana et al. (2014).

4.3. Absorção da luz por *Trichodesmium*

Embora *Trichodesmium* seja encontrado como tricomas solitários e em colônias, a densidade total nas manchas está associada ao número total de tricomas presentes na

amostra. Desta forma, como observamos no comportamento espectral da absorção da luz, é esperado que, estando em fase fisiologicamente ativa, quanto maior o número de tricomas, maior a quantidade de luz que será absorvida pela mancha, principalmente nos comprimentos de onda relativos aos pigmentos específicos de *Trichodesmium* (496, 545 e 621 nm).

Nas diversas tentativas de se quantificar *Trichodesmium* por sensoriamento remoto, é conhecido que existem limitações inerentes que subestimam a detecção da concentração de tricomas devido aos efeitos de auto-sombreamento das colônias e empacotamento pigmentar, quando em altas concentrações (Subramaniam et al. 2002; Westberry & Siegel, 2006), e espúrias detecções positivas, quando em baixas concentrações (Hu et al. 2010). Esses efeitos, que refletem no comportamento espectral da absorção da luz, apresentam um significativo desafio para os algoritmos bio-óticos que utilizam coeficientes de absorção espectral para derivar a abundância de *Trichodesmium*.

A relação entre a densidade de tricomas e a concentração total de Chl-a mostra que, um aumento da Chl-a ocorre quando há maior número de tricomas ($r^2 = 0.29$, P-valor < 0.0001, ver Fig. 4 do Apêndice 3, pág. 140). Porém, esta relação está condicionada à junção dos distintos grupos: de baixa densidade de tricomas (“No Slicks”) e de alta densidade de tricomas (“Slicks”); pois quando analisados separadamente, esta relação é ainda mais evidente nas amostras das manchas de *Trichodesmium* (“Slicks”) ($r^2 = 0.56$, P-valor < 0.0001), mas, ao contrário, não ocorre relação significativa para as amostras sem manchas (“No Slicks”). Assim, em relação à densidade de *Trichodesmium*, a concentração total de Chl-a não está sendo representativo da biomassa de *Trichodesmium* ao longo da área de estudo, pois está representando mais Chl-a relativa aos outros grupos da comunidade fitoplanctônica ao invés da Chl-a de *Trichodesmium*.

Considerando que este gênero apresentam maior concentração intracelular dos pigmentos específicos das ficobiliproteínas do que concentração de Chl-*a* (Subramaniam et al 1999).

O fator Sf foi analisado como estimativa do efeito de empacotamento pigmentar e/ou efeito de auto-sombreamento pelas colônias nas manchas amostradas. Uma relação não-linear foi encontrada entre a Chl-*a* e o fator Sf. Este resultado pode ser visto como uma redução na eficiência de absorção da luz pelo fitoplâncton, quanto maior a concentração da clorofila-*a*. O poder de previsibilidade do número total de tricomas e Sf apresentou $r^2 = 0.72$ para o grupo “Slicks”. A explicação para isto é que, uma mancha de *Trichodesmium* muito densa, i.e. alta densidade de tricomas, causa uma aglomeração dos tricomas e um efeito de sombreamento de um tricoma sobre o outro, assim levando ao efeito pacote dos pigmentos (Sf variou entre -0.12 e 0.52 em “Slicks” e variou entre 0.11 e 0.66 em “No Slicks”). Desta forma, as manchas com alta densidade de tricomas são mais influenciadas pelo efeito pacote (menores valores de Sf) do que aquelas com menor densidade de tricomas (maiores valores de Sf). Este efeito é mais evidente nas manchas, onde a ocorrência e concentração de colônias é maior e valores negativos de Sf foram encontrados, i.e., o efeito pacote é maior do que o máximo de empacotamento previsto pelo modelo. Ainda assim, a maioria das manchas de *Trichodesmium* amostradas apresentaram menos de 20% da absorção de luz em 443 nm sendo devido ao detrito, em relação ao absorvido devido ao material particulado total.

As manchas do grupo G2 da análise de agrupamento hierárquico mostraram grande variabilidade nas suas magnitudes espectrais da absorção de luz (ver Fig. 5 do Apêndice 3, pág. 141). Isto pode ser consequência da maior densidade de colônias presentes nas amostras (média de 17×10^3 colônias L^{-1} ($\pm 7.4 \times 10^3$)), que representaram

74% do total do número de tricomas e o valor Sf foi de 0.02, indicando um alto “efeito pacote”. Já para as amostras das manchas do grupo G1 da análise de agrupamento hierárquico, mostraram menor variabilidade nas suas magnitudes e menor amplitude da absorção de luz (ver Fig. 5 do Apêndice 3, pág.141), nas quais a densidade de colônias foi de 12.5 colônias L^{-1} (± 12.5), representando somente 31% do total de número de tricomas, e Sf maior em relação ao G2 (0.48 vs. 0.02). Assim, leva-nos a afirmar que o “efeito pacote” nas amostras em G2 foi mais evidente do que em G1 devido à maior presença de colônias, que resulta também em uma maior variabilidade na magnitude espectral da absorção de luz por tricomas de *Trichodesmium*. Esta alta variabilidade na magnitude espectral da absorção de luz pode estar relacionada ao efeito pacote e o efeito de auto-sombreamento dos pigmentos nas colônias, que são dependentes de fatores fisiológicos, como estado de senescência e estresse luminoso, e do grau de proximidade dos tricomas em colônias.

A fim de avaliar as condições fisiológicas das manchas encontradas, se estavam em bom estado fisiológico ou estado de senescência dos tricomas, foram analisadas as concentrações dos pigmentos derivados dos produtos de degradação da Chl-a como um índice para obter informações quantitativas sobre a pressão de pastagem e/ou a senescência das células do fitoplâncton (Jeffrey et al. 1997). No entanto foram encontradas baixas concentrações desses pigmentos nas manchas amostradas. Estas apresentaram 0.8 $mg\ m^{-3}$ (± 1.5) de concentração média dos pigmentos derivados da degradação da Chl-a, representando um percentual médio de 3% em relação à concentração média de Chl-a (29 $mg\ m^{-3}$ (± 42)) (soma dos produtos de degradação/soma dos produtos de degradação mais a concentração da Chl-a). Ainda assim, dentre os três pigmentos derivados da degradação da Chl-a (clorofilide-a, feofitina-a and feoforbide-a), o principal presente em todas as manchas de

Trichodesmium foi feofitina-*a*, chegando a mais de 50% em algumas amostras. A feofitina-*a*, juntamente com feoforbide-*a*, é um pigmento derivado de degradação da Chl-*a* que indica pressão de pastagem. Assim, as manchas que apresentaram estado fisiológico ruim podem ter sido expostas à alta pressão dos herbívoros ao invés de indicarem estado de senescência.

Adicionalmente, para obter informações sobre o estado fisiológico dos tricomas nas manchas, foram calculadas razões entre absorção da luz em 496 nm e 545 nm (PUB/PEB). Estes valores não apresentaram variações em sua maioria das manchas (em torno de 2). Isto indica que a maioria das manchas provavelmente não estavam sob stress luminoso, considerando que todas as manchas foram coletadas em superfície, e o aumento do PUB sob condições de luz alta sugere que este pigmento pode servir também como fotoprotetor da luz absorvida e re-emitida como fluorescência em 565 nm, como observado por Wyman et al. (1985).

Ao contrário do fitoplâncton não diazotrófico, *Trichodesmium* possui vesículas de gás que aumentam a sua flutuabilidade; consequentemente, consegue se manter nos primeiros metros da superfície do oceano, onde a luz visível e radiação UV são relativamente altas.

A reversível inter-conversão de PEB para PUB é feita através de uma válvula de dinâmica biofísica que libera a energia de excitação para o PSII. Esta válvula é ajustada em resposta à intensidade de luz (Subramaniam et al. 1999a). Enquanto o fitoplâncton não diazotrófico e demais cianobactérias precisam regular negativamente o fornecimento de energia para o PSII, evitando danos ao centro de reação deste fotossistema, *Trichodesmium* utiliza a inter-conversão entre PUB/PEB como mecanismo para alcançar a regulação negativa e não danificar o PSII. Entretanto, ainda permanece indefinido se a plasticidade nas propriedades óticas de *Trichodesmium* é

uma consequência de um ritmo diurno ou é uma resposta às mudanças na irradiação espectral.

4.4. Desempenho de um modelo global biogeoquímico e ecossistêmico

Os dados de saída do modelo mostram que a distribuição de *Trichodesmium* na latitude 24°S é controlada pela alta temperatura, presença de DIN e aumento da MLD (ordem decrescente dos maiores valores absolutos dos coeficientes da regressão). Estes resultados são semelhante aos encontrados nos dados dos cruzeiros, onde a distribuição latitudinal dos tricomas é dirigida pela dinâmica da CB.

Monteiro et al. (2011) afirmam que, a partir da modelagem numérica, a biomassa de diazotróficos, assim como *Trichodesmium*, é primeiramente controlada pela indisponibilidade de DIN, e em seguida pela alta temperatura e alta disponibilidade de luz. Ao contrário, nossos resultados, tanto de saída do modelo quanto dos cruzeiros, sugerem que para o Atlântico Sudoeste (24°S), a distribuição de *Trichodesmium* é significativamente controlada pela temperatura.

Latitudes altas no Atlântico Sul (superior a 32°S) são caracterizadas por apresentar águas frias (inferiores a 18°C) e ricas em nutrientes dissolvidos sobre a região de quebra de plataforma e talude continental (Piola et al. 2000). Estas condições ambientais são favoráveis ao crescimento da biomassa fitoplanctônica, porém excluem a ocorrência dominante de *Trichodesmium*, que é limitado pelo seu crescimento lento em relação ao fitoplâncton não-diazotrófico (LaRoche & Breitbarth 2005, Breitbarth et al. 2007).

Através dos dados resolvidos pelo modelo: taxa de crescimento e de perdas de biomassa de *Trichodesmium*, foi analisada a distribuição da taxa de crescimento líquido (μ_{NET}) de *Trichodesmium* espacial e temporalmente.

Na área de 24°S, os valores de μ_{NET} foram predominantemente negativos, sugerindo que tricomas são advectados por transporte físico, como pela CB. O mesmo foi discutido por Shiozaki et al. (2013, 2015), que mostram o transporte advectivo do *Trichodesmium* associado à dinâmica da Corrente de Kuroshio nas águas oligotróficas do oeste do Pacífico.

Valores positivos de μ_{NET} foram encontrados nas áreas tropicais da margem oeste equatorial e na latitude de 32°S. Entretanto, as análises da regressão múltipla sugerem que, para o oeste equatorial, o crescimento de *Trichodesmium* é significativamente controlado pela indisponibilidade de DIN. Assim como descrito por Subramaniam et al. (2008), *Trichodesmium* domina em águas oceânicas com maior salinidade e menor DIN em um gradiente costa-oceano. Já para a área 32°S, a baixa temperatura e o grande aporte de sílica e fósforo fornecidos pela PRP favorecem o domínio dos demais grupos do fitoplâncton sobre o *Trichodesmium*, devido ao seu crescimento lento. De fato, Gonçalves-Araújo et al. (2012) relatam que a biomassa de diatomáceas é dominante na região da Confluência Subtropical em latitudes superiores a 32°S. Assim, o modelo biogeoquímico-ecossistêmico IGSM/MIT pode estar atribuindo à biomassa da cianobactéria, também diazotrófica, *Richelia intracellularis* em simbiose com diatomáceas, ao invés da biomassa de *Trichodesmium*.

5. CONCLUSÕES

1. Altas concentrações de *Trichodesmium* foram observadas na quebra de plataforma continental do Atlântico Sudoeste, associadas com fatores ambientais relacionados às feições oceanográficas da CB. Tais fatores incluem: baixa concentração de nitrogenados ($< 2.4 \mu\text{M}$), baixa intensidade do vento ($< 11 \text{ m s}^{-1}$) e considerável concentração de fosfato ($> 0.08 \mu\text{M}$).

As manchas pareceram depender da concentração de fosfato, em águas superficiais (até 25 m de profundidade) fracamente estratificadas, geradas em micro-regiões de divergência do vento.

Este estudo demonstra que condições ambientais associadas à dinâmica de quebra de plataforma, contribuem para a distribuição das manchas de *Trichodesmium* no Oceano Atlântico Sudoeste.

2. Visto a potencial toxicidade dessas manchas de *Trichodesmium* avaliadas neste estudo, infere-se que as manchas oceânicas que se mantêm em flutuação na superfície, e que não apresenta um controle top-down, podem ser advectadas para regiões costeiras por deriva horizontal. Ao atingirem essas zonas poderão concentrar-se, entrar em senescência e romper as células, onde a saxitoxina será liberada e solubilizada na água, oferecendo riscos para a comunidade planctônica e outras comunidades locais, como na mortandade de briozoários descrita em Silva (2005) e danos à saúde humana, como descrito por Narayana et al. (2014).

3. A absorção da luz nos comprimentos de onda correspondentes aos pigmentos específicos de *Trichodesmium* apresentou boa correlação positiva com a densidade de tricomas totais. Assim, em todas as manchas amostradas, a magnitude espectral da absorção da luz aumenta, em correlação não-linear, com o aumento do número de tricomas. Porém, observamos que a magnitude dos espectros da absorção da luz varia com as diferentes densidades de colônia em cada manchas, de forma que a magnitude espectral da luz absorvida pela mancha diminui quanto maior a abundância de colônias presentes. Assim, em termos de aplicabilidade de algoritmos para detecção de *Trichodesmium*, é relevante considerar o grau de empacotamento nas manchas, onde a

ocorrência de colônias é maior. De acordo com a baixa concentração dos produtos de degradação e baixa variabilidade das razões 496 nm (PUB) / 676 nm (Chla) e 496 nm (PUB) / 545 nm (PEB), provavelmente, os tricomas nas manchas de *Trichodesmium* permanecem por muito tempo sob condições fisiológicas estáveis.

4. A distribuição da biomassa de *Trichodesmium* é bem resolvida pelo modelo biogeoquímico-ecossistêmico do MIT para as regiões oeste equatorial e Atlântico Sudoeste. Porém, o modelo não apresenta um bom desempenho para a área mais ao sul do Atlântico Sul. Estes resultados sugerem que, para resolver a variabilidade temporal de *Trichodesmium*, o desenvolvimento de um modelo regional biogeoquímico-ecossistêmico poderia ser melhor representativo em regiões de correntes de contorno oeste, como a CB, e áreas de aporte continental significativo.

LITERATURA CITADA

AMINOT A & M CHAUSSEPIED. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin, Brest: CNEXO, 395p.

ARMBRECHT LH, A SCHAEFFER, M ROUGHAN & LK ARMAND. 2015. Interactions between seasonality and oceanic forcing drive the phytoplankton variability in the tropical-temperate transition zone (~ 30°S) of Eastern Australia. *J Marine Syst.*, 144: 92-106.

BAUMGARTEN MGZ, M WALLNER-KERSANACH & NIENCHESKI. 2010. Manual de analyses em oceanografia química, p. 81-131. Editora Da FURG (2ª edição). Rio Grande, RS, Brasil.

BERGMAN B, G SANDH, S LIN, J LARSSON & EJ CARPENTER. 2013. *Trichodesmium* – a widespread marine cyanobacterium with unusual nitrogen fixation properties. *FEMS Microbiol Rev.*, 37: 286-302.

BERMAN-FRANK I, P LUNDGREN, Y CHEN, H KÜPPER, Z KOLBER, B BERGMAN & P FALKOWSKI. 2001. Segregation of Nitrogen Fixation and Oxygenic Photosynthesis in the Marine Cyanobacterium *Trichodesmium*. *Science.*, 294: 1534-1537.

BORSTAD, GA, JFR GOWER & EJ CARPENTER. 1992. Development of algorithms for remote sensing of *Trichodesmium* blooms, p. 193–210. In EJ Carpenter, DG Capone & JG Rueter [eds.], Marine pelagic cyanobacteria: *Trichodesmium* and other diazotrophs. Kluwer.

BRAGA ES & LFH NIENCHESKI. 2006. Composição das massas de água e seus potenciais produtivos na área entre o Cabo de São Tomé (RJ) e o Chuí (RS), p. 161–218. In Rossi-Wongtschowski CLDB & LSP Madureira, LSP [eds], O Ambiente Oceanográfico da Plataforma Continental e do Talude na Região Sudeste-Sul do Brasil, EDUSP, São Paulo.

BREITBARTH E, A OSCHLIES & J LAROCHE. 2007. Physiological constraints on the global distribution of *Trichodesmium* – effect of temperature on diazotrophy. *Biogeosciences.*, 4: 53–61.

CALADO L, A GANGOPADHYAY & ICA DA SILVEIRA. 2006. A parametric model for the Brazil Current meanders and eddies off southeastern Brazil. *Geophys Res Lett.*, 33, L12602, 5PP, doi:10.1029/2006GL026092.

CAMPOS EJD, DV VELHOTE & CA DA SILVEIRA. 2000. Shelf break upwelling driven by Brazil Current cyclonic meanders. *Geophys Res Lett.*, 27: 751–754.

CAPONE DG, A SUBRAMANIAM, J MONTOYA, M VOSS, C HUMBORG, A JOHANSEN, R SIEFERT & EJ CARPENTER. 1998. An extensive bloom of the N₂-fixing cyanobacterium, *Trichodesmium erythraeum*, in the central Arabian Sea. *Mar Ecol Prog Ser.*, 172: 281–292.

CAPONE DG, JA BURNS, JP MONTOYA, A SUBRAMANIAM, C MAHAFFEY, T GUNDERSON & AF MICHAELS. 2005. Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: An important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean. *Global Biogeochem Cy.*, 19: GB2024, doi:10.1029/2004GB002331.

CARPENTER EJ & CC PRICE. 1976. Marine oscillatoria (*Trichodesmium*): explanation for aerobic nitrogen fixation without heterocysts. *Science.*, 191: 1278–1280, doi:10.1126/science.1257749.

CARPENTER EJ. 1983. Nitrogen fixation by marine *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) in the world's oceans, p. 65–103. In EJ Carpenter DG Capone [eds], Nitrogen in the marine environment, Elsevier, New York.

CARPENTER EJ, A SUBRAMANIAM & DG Capone. 2004. Biomass and primary productivity of the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. in the tropical N Atlantic ocean. *Deep-Sea Res. PT I.*, 51: 173–203.

CARPENTER EJ & DG CAPONE. 2008. Nitrogen fixation in the marine environment, p. 141–198. In DG Capone, DA Bronk, MR Mulholland & EJ Carpenter [eds], Nitrogen in the Marine Environment, 2nd Edn., Academic Press, San Diego.

CARRETO JI & MO CARIGNAN. 2011. Mycosporine-Like Amino Acids: Relevant Secondary Metabolites. Chemical and Ecological Aspects. *Mar Drugs.*, 9: 387–446.

CARVALHO M, SMF GIANESSELA & FMP SALDANHA-CORRÊA. 2008. *Trichodesmium erythraeum* bloom on the continental shelf off Santos, Southeast Brazil. *Braz J Oceanogr.*, 56: 307–311.

CIOTTI AM, MR LEWIS & JJ CULLEN. 2002. Assessment of the relationship between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient. *Limnol Oceanogr.*, 47(2): 404-417.

CIOTTI AM, M DE MAHIQUES & OO MÖLLER. 2014. The meridional gradients of the S-SE Brazilian continental shelf: Introduction to the special volume. *Cont Shelf Res.*, 89: 1-4.

CHAUHAN P, M MOHAN M, SR NAYAK & RR NAVALGUND. 2002. Comparison of ocean color chlorophyll algorithms for the IRS-P4 sensor using in-situ data. *J Indian Soc Remote.*, 30: 87–94.

CLAYTON S, S DUTKIEWICZ, O JAHN & MJ FOLLOWS. 2013. Dispersal, eddies, and the diversity of marine phytoplankton. *Limnol Oceanogr:F&E.*, 3: 182-197.

CRONBERG G, EJ CARPENTER & WW CARMICHAEL, 2004. Taxonomy of harmful cyanobacteria, p. 523-562. In Hallegraeff GM, DM Anderson & AD Cembella [eds], Manual on Harmful Marine Microalgae. Unesco Publishing. France.

DARWIN CR. 1839. Journal of Researches into the Geology and Natural History of the Various Countries Visited by H.M.S. Beagle, Under the Command of Captain Fitzroy, R.N. from 1832 to 1836. (Henry Colburn, 1839).

DA SILVEIRA IC, ACK SCHMIDT, EJD CAMPOS, SS DE GODOI & Y IKEDA. 2000. A Corrente do Brasil ao Largo da Costa Leste Brasileira. *Rev bras Oceanogr.*, 48(2): 171-183.

DAVIS CS & DJ MCGILLICUDDY JR. 2006. Transatlantic Abundance of the N₂-Fixing Colonial Cyanobacterium *Trichodesmium*. *Science.*, 312: 1517, doi:10.1126/science.1123570.

DE MACEDO-SOARES LCP, CAE GARCIA, AS FREIRE & JH MUELBERT. 2014. Large-Scale Ichthyoplankton and Water Mass Distribution along the South Brazil Shelf. *PLoS ONE.*, 9(3): e91241. doi:10.1371/journal.pone.0091241.

DESA A, T SURESH, SGP MATONDKAR, E DESA, J GOES, A MASCARENHAS, SG PARAB, N SHAIKKH & CEG FERNANDES. 2005. Detection of *Trichodesmium* bloom patches along the eastern Arabian Sea by IRS-P4/OCM ocean color sensor and by in-situ measurements. *Indian J Mar Sci.*, 34: 374–386.

D'SILVA MS, AC ANIL, RK Naik & PM D'COSTA. 2012. Algal blooms: a perspective from the coasts of India. *Nat Hazards.*, 63: 1225–1253.

DUCE RA, J LAROCHE, K ALTIERI, KR ARRIGO, AR BAKER, DG CAPONE, S CORNELL, F DENTENER, J GALLOWAY, RS GANESHRAM, RJ GEIDER, T

JICKELLS, MM KUYPERS, R LANGLOIS, PS LISS, SM LIU, JJ MIDDELBURG, CM MOORE, S NICKOVIC, A OSCHLIES, T PEDERSEN, J PROSPERO, R SCHLITZER, S SEITZINGER, LL SORENSSEN, M UEMATSU, O ULLOA, M VOSS, B WARD & L ZAMORA. 2008. Impacts of Atmospheric Anthropogenic Nitrogen on the Open Ocean. *Science.*, 320: 893, doi:10.1126/science.1150369.

DUPOUY C, J NEVEUS, G DIRBERG, R RÖTTGERS, MMB TENÓRIO & S OUILLON. 2008. Bio-optical properties of the marine cyanobacteria *Trichodesmium* spp. *J Appl Remote Sens.*, 2: 023503.

DUTKIEWICZ S, MJ FOLLOWS & J BRAGG. 2009. Modeling the coupling of ocean ecology and biogeochemistry. *Global Biogeochem Cy.*, 23, GB1012, doi:10.1029/2008GB003405.

DUTKIEWICZ S, BA WARD, F MONTEIRO & MJ FOLLOWS. 2012. Interconnection between nitrogen fixers and iron in the Pacific Ocean: theory and numerical model. *Global Biogeochem Cy.*, 26, GB1012, doi:10.1029/2011GB004039.

DUTKIEWICZ S, BA WARD, JR SCOTT & MJ FOLLOWS. 2014. Understanding predicted shifts in diazotroph biogeography using resource competition theory. *Biogeosciences.*, 11: 5445-5461.

DUTKIEWICZ S, AE HICKMAN, O JAHN, WW GREGG, CB MOUW & MJ FOLLOWS. 2015. Capturing optically important constituents and properties in a marine biogeochemical and ecosystem model. *Biogeosciences.*, 12: 4447-4481.

EBERL R & EJ CARPENTER. 2007. Association of the copepod *Macrosetella gracilis* with the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. in the North Pacific Gyre. *Mar Ecol Prog Ser.*, 333: 205–212.

EL-SHEHAWY R, C LUGOMELA, A ERNST & B BERGMAN. 2003. Diurnal expression of *hetR* and diazocyte development in the filamentous non-heterocystous cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum*. *Microbiology.*, 149: 1139–1146.

FOLLOWS MJ, S DUTKIEWICZ, S GRANT & SW CHISHOLM. 2007. Emergent Biogeography of Microbial Communities in a Model Ocean. *Science.*, 315: 1843-1846.

FOLLOWS MJ & S DUTKIEWICZ. 2011. Modeling Diverse Communities of Marine Microbes. *Annu Rev Mar Sci.*, 3: 427-451.

FOSTER RA, A SUBRAMANIAM, C MAHAFFEY, EJ CARPENTER, DG CAPONE & JP ZEHR. 2007. Influence of the Amazon River plume on distributions of free-living and symbiotic cyanobacteria in the western tropical north Atlantic Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 52(2): 517-532.

FU F, E YU, NS GARCIA, J GALE, Y LUO, EA WEBB & DA HUTCHINS. 2014. Differing responses of marine N₂ fixers to warming and consequences for future diazotroph community structure. *Aquat Microb Ecol.*, 72: 33-46.

FUJITA Y & S SHIMURA. 1974. Phycoerythrin of the marine blue-green alga *Trichodesmium thiebautii*. *Plant & Cell Physiol.*, 15: 939-942.

GALLON JR & AE CHAPLIN. 1988. Recent studies on N₂-fixation by non-heterocistous cyanobacteria, p. 183-188. In H Bothe, FJ de Bruyn & WE Newton [eds.], Nitrogen fixation: hundred years after. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

GANESSELLA-GALVÃO SMF, MPF COSTA & MBB KUTNER. 1995. Bloom of *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) *erythraea* (Ehr.) Kutz. in coastal waters of the Southern Atlantic. *Publ Esp Inst Oceanogr.*, 11: 133–140.

GLOVER DM & PG BREWER. 1988. Estimates of wintertime mixed layer nutrient concentrations in the North Atlantic. *Deep-Sea Res.*, 35: 1525-1546.

GONÇALVES-ARAUJO R, MS DE SOUZA, CRB MENDES, VM TAVANO, RC POLLERY & CAE GARCIA. 2012. Brazil-Malvinas confluence: effects of environmental variability on phytoplankton community structure. *J Plankton Res.*, 0: 1-17.

GRASSHOFF KM, K EHRHARDT & K KREMLING. 1999. Methods of seawater analysis. 3ed. Weinheim: Wiley-VHC, 600p.

HALLEGRAEFF GM. 2010. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *J Phycol.*, 46: 220-235.

HAWSER SP, JM O'NEIL, MR ROMAN & GA CODD. 1992. Toxicity of blooms of the *Trichodesmium* to zooplankton. *J Appl Phycol.*, 4: 79–86.

HEWSON I, RS PORETSKY, ST DYHRMAN, B ZIELINSKI, AE WHITE, HJ TRIPP, JP MONTOYA & JP ZEHR. 2009. Microbial community gene expression within colonies of the diazotroph, *Trichodesmium*, from the Southwest Pacific Ocean. *ISME.*, 3: 1286-1300.

HICKMAN AE, S DUTKIEWICZ, RG WILLIAMS & MJ FOLLOWS. 2010. Modelling the effect of chromatic adaptation on phytoplankton community structure in the oligotrophic ocean. *Mar Ecol Prog Ser.*, 406: 1–17.

HOOD RR, VJ COLES & DG CAPONE. 2004. Modeling the distribution of *Trichodesmium* and nitrogen fixation in the Atlantic Ocean. *J Geophys Res.*, 109: C06006, doi:10.1029/2002JC001753.

HU C, J CANNIZZARO, KL CARDER, FE MULLER-KARGER & R HARDY. 2010. Remote detection of *Trichodesmium* blooms in optically complex coastal waters: Examples with MODIS full-spectral data. *Remote Sens Environ.*, 114:2048-2058.

HYNES AM, EA WEBB, SC DONEY & JB WATERBURY. 2012. Comparison of cultured *Trichodesmium* (cyanophyceae) with species characterized from the field. *J Phycol.*, 48: 196-210.

IOCCG. 2012. Mission requirements for future ocean-colour sensors. *In* Stuart, V. (Ed.), Reports and Monographs of the International Ocean Colour Coordinating Group. IOCCG, Dartmouth.

JEFFREY SW, RFC MANTOURA & SW WRIGHT. 1997. Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods. UNESCO, Paris.

KARA AB, PA ROCHFORD & HE HURLBURT. 2000. An optimal definition for ocean mixed layer depth. *J Geophys Res.*, 105: 16803-16821.

LAROCHE J & E BREITBARTH. 2005. Importance of the diazotrophs as a source of new nitrogen in the ocean. *J Sea Res.*, 53: 67-91.

LEGENDRE P & L LEGENDRE. 1998. Regression, p. 517-525. *In* Legendre P & L Legendre [eds], Numerical Ecology: Developments in Environmental Modelling. Second English Edition. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands.

LENES JM, JJ WALSH, DB OTIS & KL CARDER. 2005. Iron fertilization of *Trichodesmium* off the west coast of Barbados: A one-dimensional numerical model, *Deep-Sea Res PT I.*, 52: 1021-1041.

MARONE E, BA KNOPPERS, WFL DE SOUZA, IC DA SILVEIRA & SS DE GODOI. 2010. The Brazil current: physical–biogeochemical domains, p. 153-170. *In* L Kon-Kee, L Atkinson, R Quinones & L Talaue-McManus [eds], Carbon and nutrient fluxes in continental margins: a global synthesis. Springer Verlag, Berlin, Global change-the IGBP series.

MCGILLICUDDY DJ Jr. 2014. Do *Trichodesmium* spp. populations in the North Atlantic export most of the nitrogen they fix?, *Global Biogeochem Cy.*, 28: doi:10.1002/2013GB004652.

MCKINNA LIW. 2015. Three decades of ocean-color remote-sensing *Trichodesmium* spp. in the World's ocean: A review. *Prog Oceanogr.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2014.12.013>

MENDES CR, P CATAXANA & V Brotas. 2007. HPLC determination of phytoplankton and microphytobenthos pigments: comparing resolution and sensitivity of a C18 and a C8 method, *Limnol. Oceanogr: Meth.*, 5: 362–370.

MÖLLER Jr OO, AR PIOLA, AC FREITAS & EJD CAMPOS. 2008. The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. *Cont. Shelf Res.*, 28: 1607 – 1624.

MONTEIRO FM, S DUTKIEWICZ & MJ FOLLOWS. 2011. Biogeographical controls on the marine nitrogen fixers. *Global Biogeochem Cy.*, 25: GB2003, doi:10.1029/2010BG003902.

MOORE JK, SC DONEY & K LINDSAY. 2004. Upper ocean ecosystem dynamics and iron cycling in a global three-dimensional model. *Global Biogeochem Cy.*, 18: GB4028, doi:10.1029/2004GB002220.

MOORE RM, M KIENAST, M FRASER, JJ CULLEN, C DEUTSCH, S DUTKIEWICZ, MJ FOLLOWS & CJ SOMES. 2014. Extensive hydrogen supersaturations in the western South Atlantic Ocean suggest substantial underestimation of nitrogen fixation. *J Geophys Res.*, 119: 4340-4350.

NAITHIRITHI TC, AKA LIMA & T CHELLAPPA. 2005. Occurrence and dominance of an invasive toxin producing marine cyanobacteria into mangrove environment of the Potengi river estuary, in Natal, Rio Grande do Norte State, Brazil. *Arq C Mar.*, 38: 19-27.

NARAYANA S, J CHITRA, SR TAPASE, V THAMKE, P KARTHICK, Ch RAMESH, KN MURTHY, M RAMASAMY, KM KODAM & R MOHANRAJU. 2014. Toxicity studies of *Trichodesmium erythraeum* (Ehrenberg, 1830) bloom extracts, from Phoenix Bay, Port Blair, Andamans. *Harmful Algae.*, 40: 34-39.

NEGRI AP, O BUNTER, B JONES & L LLEWELLYN. 2004. Effects of the bloom-forming alga *Trichodesmium erythraeum* on the pearl oyster *Pinctada maxima*. *Aquaculture.*, 232: 91-102.

NEVEUX J, MMB TENÓRIO, C DUPOUY & TA VILLAREAL. 2006. Spectral diversity of phycoerythrins and diazotroph abundance in tropical waters. *Limnol Oceanogr.*, 51(4): 1689-1698.

NEVEUX J, MMB TENÓRIO, C DUPOUY & TA VILLAREAL. 2008. Response to "Another look at green *Trichodesmium* colonies". *Limnol Oceanogr.*, 53(5): 2052-2055.

O'NEIL JM & MR ROMAN. 1992. Grazers and Associated Organisms of *Trichodesmium*, p.61-73. In EJ Carpenter, DG Capone & JG Rueter [eds], Marine Pelagic Cyanobacteria: *Trichodesmium* and other Diazotrophs. Kluwer Academic Press, Dordrecht.

OLSON EM, DJ MCGILLICUDDY JR, GR FLIERL, CS DAVIS, ST DYHRMAN & JB WATERBURY. 2015. Mesoscale eddies and *Trichodesmium* spp. distributions in the southwestern North Atlantic. *J Geophys Res: Oceans.*, 120, doi:10.1002/2015JCO10728.

ORCUTT KM, SS REN & K GUNDERSEN. 2009. Detecting proteins in highly autofluorescent cells using quantum dot antibody conjugates. *Sensors.*, 9: 7540-7549.

PALMA ED & RP MATANO. 2009. Disentangling the upwelling mechanisms of the South Brazil Bight. *Cont. Shelf Res.*, 29: 1525-1534.

PIOLA AR, EDJ CAMPOS, OO MÖLLER JR, M CHARO & C MARTINEZ. 2000. Subtropical Shelf Front of eastern South America. *J Geophys Res.*, 105: 6565-6578.

PIOLA AR & RP MATANO. 2001. The South Atlantic Western Boundary Currents Brazil/Falkland (Malvinas) Currents, p. 340-349. In Steele JM, SA Thorpe, & KK Turekian [eds], Encyclopedia of Ocean Sciences. Academic Press.

PRESTON NP, MA BURFORD & DJ STENZEL. 1998. Effects of *Trichodesmium* spp. blooms on penaeid prawn larvae. *Mar Biol.*, 131: 671–679.

PROENÇA LAO, MS TAMANAHA & RS FONSECA. 2009. Screening the toxicity and toxin content of blooms of the cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum* (ehrenberg) in Northeast Brazil. *J Venom Anim Toxins.*, 15: 204–215.

R Development Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at <http://www.R-project.org/>. Version: 3.0.2

ROMANS KM, EJ CARPENTER & B BERGMAN. 1994. Buoyancy regulation in the colonial diazotrophic cyanobacterium *Trichodesmium Tenue* – ultrastructure and storage of carbohydrate, polyphosphate, and nitrogen. *J Phycol.*, 30: 935–942.

RORIG LR, JS YUNES, KN KUROSHIMA, CAF SCHETTINI, PR PEZZUTO & LOA PROENÇA. 1998a. Studies in the ecology and toxicity of *Trichodesmium* spp. blooms in southern Brazilian coastal waters, p. 22-25. In Reguera B, J Blanco, ML Fernández, T Wyatt [eds], Harmful algae. Xunta de Galicia and IOC-UNESCO.

RORIG LR, SCP GUIMARÃES, DO LUIGLI, LAO PROENÇA, GC MANZONI & AC MARENZI. 1998b. Monitoração de microalgas planctônicas potencialmente tóxicas na área de maricultura da enseada de Armação de Itapocoroy - Penha - SC. *Notas tec Facimar.*, 2: 71–79.

ROURKE, WA, CJ MURPHY, G PITCHER, JM VAN DE RIET, BG BURNS, KM THOMAS & MA QUILLIAM. 2008. Rapid postcolumn methodology for determination of paralytic shellfish toxins in shellfish tissue. *J AOAC Int.*, 91: 589–597

RUBIN M, I BERMAN-FRANK & Y SHAKED. 2011. Dust- and mineral-iron utilization by the marine dinitrogen-fixer *Trichodesmium*. *Nat Geosci.*, 4: 529-534.

SATO S, MN PARANAGUÁ & E ESKINAZA. 1963. On the mechanism of red tide of *Trichodesmium* in Recife northeastern Brazil, with some considerations of the relation to the human disease, 'Tamandare fever'. *Trab. Inst. Oceanogr. Univ. Recife*, 5: 7 – 49.

SHIOZAKI T, T KODAMA, S KITAJIMA, M SATO & K FURUYA. 2013. Advective transport of diazotrophs and importance of their nitrogen fixation on new and primary production in the western Pacific warm pool. *Limnol Oceanogr.*, 58: 49-60.

SHIOZAKI T, S TAKEDA, S ITOH, T KODAMA, X LIU, F HASHIHAMA & K FURUYA. 2015. Why is *Trichodesmium* abundant in the Kuroshio?. *Biogeoscience.*, 12: 6931-6943, doi:10.5194/bg-12-6931-2015.

SIEBURTH JM & JT CONOVER. 1965. Slicks associated with *Trichodesmium* Blooms in the Sargasso Sea. *Nature.*, 205: 830-831.

SILVA LM. 2005. Ocorrência de cianobactérias no estuário e costa adjacente à Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS: avaliação preliminar dos riscos a balneabilidade. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica. FURG, Rio Grande, RS, Brasil, 144p.

SIQUEIRA A, HE KOLM & FP BRANDINI. 2006. Offshore distribution patterns of the cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum* Ehrenberg and associated phyto- and bacterioplankton in the Southern Atlantic Coast (Paraná, Brazil). *Braz Arch Biol Techn.*, 49: 323–337.

SNOW JT, C SCHLOSSER, EMS WOODWARD, MM MILLS, EP ACHTERBERG, C MAHAFFEY, TS BIBBY & CM MOORE. 2015. Environmental controls on the biogeography of diazotrophy and *Trichodesmium* in the Atlantic Ocean. *Global Biogeochem. Cy.*, 29: 865-884, doi:10.1002/2015GB005090.

SOBIECHOWSKA-SASIM M, J STON-EGIERT & A KOSAKOWSKA. 2014. Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria—an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods. *J Appl Phycol.*, doi:10.1007/s10811-014-0244-3.

SOHM JA, A SUBRAMANIAM, TE GUNDERSON, EJ CARPENTER & DG CAPONE. 2011. Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp. and unicellular diazotrophs in the North Pacific Subtropical Gyre. *J Geophys Res.*, 116: G03002, doi: 10.1029/2010JG001513.

SONNTAG S & I HENSE. 2011. Phytoplankton behavior affects ocean mixed layer dynamics through biological-physical feedback mechanisms. *Geophys Res Lett.*, 38: L15610, doi:10.1029/2011GL048205.

SPUNGIN D, I BERMAN-FRANK & O LEVITAN. 2014. *Trichodesmium*'s strategies to alleviate phosphorus limitation in the future acidified oceans. *Environ Microbiol.*, 16(6): 1935-1947.

SUBRAMANIAM A, EJ CARPENTER & PG FALKOWSKI. 1999a. Bio-optical properties of the marine diazotrophic cyanobacteria *Trichodesmium* spp. I. Absorption and photosynthetic action spectra. *Limnol Oceanogr.*, 44 (3): 608 – 617.

SUBRAMANIAM A, EJ CARPENTER & PG FALKOWSKI. 1999b. Bio-optical properties of the marine diazotrophic cyanobacteria *Trichodesmium* spp. II. A reflectance model for remote sensing. *Limnol Oceanogr.*, 44(3): 618-627.

SUBRAMANIAM A, CW BROWN, RR HOOD, EJ CARPENTER & DG CAPONE. 2002. Detecting *Trichodesmium* blooms in SeaWiFS imagery. *Deep-Sea Res PT II.*, 49: 107-121.

SUBRAMANIAM A, PL YAGER, EJ CARPENTER, C MAHAFFEY, K BJÖRKMAN, S COOLEY, AB KUSTKA, JP MONTOYA, SA SAÑUDO-WILHELMY, R SHIPE & DG CAPONE. 2008. Amazon River enhances diazotrophy and carbon sequestration in the tropical North Atlantic Ocean. *PNAS.*, 105: 10460-10465.

TASSAN S & GM FERRARI. 1995. An alternative approach to absorption measurements of aquatic particles retained on filters. *Limnol Oceanogr.*, 40(8): 1358-1368.

TASSAN S & GM FERRARI. 2002. A sensitivity analysis of the 'Transmittance-Reflectance' method for measuring light absorption by aquatic particles. *J Plankton Res.*, 24(8): 757-774.

TYRRELL T, E MARAÑÓN, AJ POULTON, AR BOWIE, DS HARBOUR & EMS WOODWARD. 2003. Large-scale latitudinal distribution of *Trichodesmium* spp. in the Atlantic Ocean. *J. Plankton Res.*, 25: 405 – 416.

UTERMÖHL H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, 09: 1 – 38.

VILLAREAL TA & EJ CARPENTER. 1990. Diel buoyancy regulation in the marine diazotrophic cyanobacterium *Trichodesmium thiebautii*. *Limnol Oceanogr.*, 35(8): 1832-1837.

VILLAREAL TA & EJ CARPENTER. 2003. Buoyancy Regulation and the Potential for Vertical Migration in the Oceanic Cyanobacterium *Trichodesmium*. *Microb. Ecol.*, 45: 1-10, doi:10.1007/s00248-002-1012-5.

WALSBY AE. 1994. Gas vesicles. *Microbiological Reviews.*, 58(1): 94-144.

WARD BA, S DUTKIEWICZ, CM MOORE & MJ FOLLOWS. 2013. Iron, phosphorus, and nitrogen supply ratios define the biogeography of nitrogen fixation. *Limnol Oceanogr.*, 58(6): 2059-2075.

WESTBERRY TK, DA SIEGEL & A SUBRAMANIAM. 2005. An improved bio-optical model for the remote sensing of *Trichodesmium* spp. blooms. *J Geophys Res.*, 110: C06012, doi: 10.1029/2004JC002517.

WESTBERRY TK & DA SIEGEL. 2006. Spatial and temporal distribution of *Trichodesmium* blooms in the world's ocean. *Global Biogeochem Cy.*, 20: GB4016, doi: 10.1029/2005GB002673.

WHITE AE, YH SPITZ, DM KARL & RM LETELIER. 2006. Flexible elemental stoichiometry in *Trichodesmium* spp. and its ecological implications. *Limnol Oceanogr.*, 51(4): 1777-1790.

WU L, W CAI, L ZHANG, H NAKAMURA, A TIMMERMAN, T JOYCE, MJ MCPHADEN, M ALEXANDER, B QIU, M VISBECK, P CHANG & B GIESE. 2012. Enhanced warming over the global subtropical western boundary currents. *Nature Clim Change.*, 2: 161-166.

WYMAN M, RPF GREGORY & NG CARR. 1985. Novel role for phycoerythrin in a marine cyanobacterium, *Synechococcus* strain DC2. *Science.*, 230: 818-820.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Este apêndice refere-se ao artigo intitulado “*Trichodesmium* latitudinal distribution on the shelf-break in the southwestern Atlantic Ocean during spring and autumn”. O artigo foi submetido ao periódico “Global Biogeochemical Cycles” e se encontra em revisão.

***Trichodesmium* latitudinal distribution on the shelf-break in the southwestern
Atlantic Ocean during spring and autumn**

Amália Maria Sacilotto Detoni^{a*}

Áurea Maria Ciotti^b

Paulo H. R. Calil^c

Virginia Maria Tavano^d

João Sarkis Yunes^a

*^aLaboratório de Cianobactéria e Ficotoxinas - Instituto de Oceanografia –
Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900,
Brazil*

*^bLaboratório Aquarela - Centro de Biologia Marinha (CEBIMar) – Universidade de
São Paulo, São Paulo, SP, Brazil*

*^cLaboratório de Dinâmica e Modelagem Oceânica (DinaMO) – Instituto de
Oceanografia – Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália, km 8, Rio Grande,
RS: 96203-900, Brazil*

*^dLaboratório de Fitoplâncton e Microrganismos Marinhos - Instituto de Oceanografia
– Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900,
Brazil*

^{*}Corresponding author: Tel. +55 53 32336737, e-mail: amaliadetoni@gmail.com

Abstract

We report *Trichodesmium* slicks in the South Atlantic associated with fronts produced by the southward displacement of the Brazil Current. The relative position of the Brazil Current is expected to change with latitude due to regional variations in the bottom topography and the influence of mesoscale instabilities. In this study, the distributions of *Trichodesmium* along the southeastern Brazilian continental shelf-break were characterized during four oceanographic cruises and related to seawater temperature, upper-layer nutrient concentrations and wind dynamics. Meridional changes in the densities of trichomes followed an expected trend with higher (lower) values found in warmer (colder) and more saline (less saline) water masses. Between 23° and 28°S, large accumulations of trichomes were associated with high temperature, increased phosphate concentrations ($> 0.08 \mu\text{M}$), nitrogen below $2.4 \mu\text{M}$ and low wind speeds ($< 11 \text{ m s}^{-1}$). Maximum densities of $212.6 \times 10^5 \text{ trichomes L}^{-1}$, which are considerably larger than those reported in other studies in subtropical oceans, occurred at stations showing weak water column stability and higher phosphate levels over the upper 25 m. We suggest that shelf-break dynamics, which drive and modulate the intensity of the shelf-break upwelling, as well as wind divergence at spatial scales of approximately 600 km^2 , favor *Trichodesmium* growth and accumulation. Despite the shelf-break upwelling occurrence along the entire domain of the Brazil Current, *Trichodesmium* densities were low at latitudes between 28° and 33°S, likely due to either or both the lowest sea surface temperatures and/or out-competition by the faster growing nondiazotrophs.

Introduction

The planktonic cyanobacteria *Trichodesmium* spp. is globally distributed in the tropical and subtropical oceans [Luo et al., 2012] where water temperatures are above 20°C [Carpenter, 1983; LaRoche and Breitbarth, 2005; Breitbarth et al., 2007]. Understanding the global distribution of *Trichodesmium* is particularly important because of its capacity to fix molecular nitrogen (N₂) (Gallon and Chaplin 1988) and it is estimated that *Trichodesmium* spp. is responsible for the fixation of 80-200 Tg yr⁻¹ of new nitrogen in the North Atlantic [Duce et al., 2008]. Most of what is known on this organism's occurrence and variability in abundance is derived from studies conducted in the North Pacific and North Atlantic Oceans [e.g. Tyrrell et al., 2003; Carpenter et al., 2004; Church et al., 2009; Sohm et al., 2011; Shiozaki et al., 2013; Snow et al., 2015; Olson et al., 2015; Benavides et al., 2016].

Slicks of *Trichodesmium* have been described by Sieburth and Conover [1965] in the Sargasso Sea, which were observed over a distance of approximately 200 km during calm weather. Dense aggregations ($\sim 10^6$ trichomes L⁻¹) observed at the surface result from the ability of *Trichodesmium* to regulate its own buoyancy by producing or breaking intra-cellular gas vesicles. These aggregations are often referred to as either “slicks” or “surface bloom” [Carpenter and Capone, 1992; McKinna, 2015]. The development of large *Trichodesmium* spp. slicks at the surface [e.g., Sieburth and Conover, 1965; Capone et al., 1997; LaRoche and Breitbarth, 2005] has been linked to oceanographic processes that cause aggregation of free trichomes [Church et al., 2009; Guidi et al., 2012; Olson et al., 2015], such as horizontal advection [Shiozaki et al., 2013; McGillicuddy, 2014; Shiozaki et al., 2015], generally when the winds are weak [Carpenter et al., 2004] and convergent [Suzuki et al., 2007]. The presence of *Trichodesmium* may also be favored by the shallowing of the upper mixed layer and

increase in water column stratification [Fernandez et al., 2010]. When the mixed layer is shallow and a strong vertical stratification is present, phytoplankton groups that grow rapidly may be outcompeted by *Trichodesmium* [Chen et al., 2008]. In addition, a shallowing of the upper mixed layer may reduce the energetic expenditure involved in the vertical displacements of *Trichodesmium* in order to take up nutrients, particularly phosphate, from below the nutricline [Karl et al., 1992].

A number of studies have reported isolated *Trichodesmium* slicks on the edges of Gulf Stream anti-cyclonic eddies [Davis and McGillicuddy, 2006] and also over other mesoscale oceanographic features in the North Atlantic [Taboada et al., 2010] and North Pacific [Guidi et al., 2012; Shiozaki et al., 2013]. Olson et al. [2015] discussed the important role of Ekman transport in the center of cyclonic eddies and of nutrient inputs (i.e., phosphate and iron) by the Amazon River plume for *Trichodesmium* spp. growth. *Trichodesmium* abundance has been reported for the North and Tropical Atlantic, Pacific, Indian Oceans and China and Mediterranean Seas, as registered in the MAREDAT database (<https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.774851>). Quantitatively, however, the extent to which growth and physical processes act to form and maintain slicks of *Trichodesmium* is still unknown.

The Brazil Current is the western boundary current in the South Atlantic Ocean. As such, similarly to the Gulf Stream in the North Atlantic, it transports warm waters poleward and is associated with intense mesoscale activity [Calado et al., 2006], potentially providing conditions for *Trichodesmium* spp. accumulations, as recently reported by [Detoni et al., 2016]. In addition, as the warm Brazil Current flows southward, upwelling of nutrient-rich slope water onto the shelf-break is expected in some areas, in the South Brazil Bight (SBB, approximately 23° to 28°S) year round [Palma and Matano, 2009]. Isolated and weak pulses of upwelled water could maintain

Trichodesmium accumulations and form surface slicks in the convergent side of the mesoscale features [Olson et al., 2015], making these organisms important components of the phytoplankton community in this western boundary current system.

Proper enumeration of *Trichodesmium* under the microscope is challenging due to their morphology and tendency to float [Cronberg et al., 2004] and because identification and counting by microscopy [Carpenter et al., 2004; Suzuki et al., 2007; Shiozaki et al., 2015] have been replaced by automated approaches, such as flow cytometry, chemotaxonomy, or plankton imaging [Veldhuis and Kraay, 2004; Remsen et al., 2004; Olson et al., 2015]; nonetheless, microscopy is still necessary for validation of the automated approaches [Veldhuis and Kraay, 2004].

In this study, we present a high spatial resolution data set of *Trichodesmium* spp. abundance, quantified using light microscopy; over the shelf-break in the southwestern Atlantic during four oceanographic cruises (Nov 2012, May-Jun 2013, May-Jun 2014 and Nov-Dec 2014). A total of fourteen slicks of *Trichodesmium* were found and related to hydrographic data, nutrients concentration, wind speed data, and water column stability, aiming to elucidate the key environmental parameters associated with the dominance of two different patterns of trichome density: dense aggregations (“Slicks”) and low trichome density (“No Slicks”) in this region.

Materials and methods

Oceanographic cruises

Four oceanographic cruises were undertaken on board the N/Oc Atlântico Sul, from November 11 to 24, 2012 (Spring 2012, 39 oceanographic stations), May 10 to June 12, 2013 (Autumn 2013, 61 oceanographic stations), May 07 to June 05, 2014 (Autumn 2014, 60 oceanographic stations) and November 11 to December 10, 2014 (Spring-

2014, 46 oceanographic stations) (Fig. 1). Note, however, that during the Spring 2012 cruise, there were only two records of *Trichodesmium* slicks (Fig. 1), when samples were collected. It is important to clarify that these were opportunity cruises from the TALUDE project, aimed to study marine mammals' behavior and distribution. The sampling area extends from Cabo Frio (23°S) to Chuí (33°S) and is restricted to the area between the outer continental shelf and the continental slope, representing the isobaths of approximately 200 m and 2000 m (Fig. 1). Over the latitudinal range of the observations, the study area is divided into two major regions: Cabo Frio–Cabo de Santa Marta Grande (23°–28°S), known as the South Brazil Bight (SBB) [Palma and Matano 2009], and the Southern Subtropical Shelf (SSS) (28°–33°S), according with Piola et al. [2000] and Möller et al. [2008] (Fig. 1, see black line over 28°S).

Nutrient Analysis

Nutrients were measured on alternate transects (78 oceanographic stations and 14 *Trichodesmium* slicks). Water samples were collected from a depth of 15 m using a Van Dorn bottle for dissolved inorganic nutrient analyses, including phosphate, nitrate, nitrite and ammonium. Each sample was filtered through a cellulose acetate filter (0.45 μ m), and the filtrate was immediately frozen for future analysis in the laboratory by spectrophotometry, following the methods proposed by Aminot and Chaussepied [1983] and Grasshoff et al. [1999]. Concentrations of nitrate, nitrite and ammonium were combined for data analyses in order to represent the total of dissolved inorganic nitrogen (DIN).

Chlorophyll-*a* analysis

Surface water samples were collected with a bucket and were filtered through glass fiber filters (0.7 μ m) GF/F (Whatman®) at volumes ranging from 60-500 mL (for *Trichodesmium* slicks) until the filter was clogged, and ranged from 1-2 L at the

remaining oceanographic stations. Filters were transported to the laboratory in liquid nitrogen and then maintained in an ultrafreezer at -80°C until chlorophyll-*a* (Chl-*a*) quantification analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC) following the method described in Mendes et al. [2007].

Trichome counts

Samples for *Trichodesmium* trichomes counts were collected at the surface at each oceanographic sampling station and in all the *Trichodesmium* slicks and preserved in 4% formaldehyde inside dark glass bottles (150 mL). At oceanographic stations where the seawater was clear and blue, 10 L of surface seawater were concentrated through a $5\ \mu\text{m}$ plankton net and then washed with filtered seawater to gently remove the retained material, and this was taken into account in converting to the final trichomes concentration per sample volume by applying a concentration factor of 66.67. The *Trichodesmium* slick samples were visually identified, when brownish red specks were found, and were not concentrated.

Counts were performed in an inverted microscope at $100\times$ magnification, using the Utermöhl [1958] method and chambers of 50 mL settling volumes for oceanographic stations samples and 2 mL for *Trichodesmium* slicks. Immediately before preparing the settling chambers for counting, 1 mL of acetic acid (final concentration 0.8%) was added to the 150 mL sample to collapse the gas vesicles in the *Trichodesmium* cells and facilitate sedimentation [adapted from Cronberg et al., 2004]. Trichomes and colonies were counted in half or full chambers. For computing the total trichome count, the number of free trichomes was added to the number of colonies and converted into trichome equivalent per liter, using an estimation of $200\ \text{trichomes}\ \text{col}^{-1}$ [Carpenter, 1983]. This value was assumed for all colonies independently of their size or shape, for estimation of total density of trichomes (free trichomes + colony's trichomes L^{-1}).

Physical variables

Temperature, salinity and pressure data were obtained from the CTD downcast profiles (SeaBird CTD/Carrousel 911+system®) that were then used to compute the potential density of seawater and the mixed-layer depth (MLD) using the finite difference criteria method [modified from Glover and Brewer, 1988 and Kara et al., 2000].

Water column stability was estimated by the Brunt-Väisälä frequency (BV) ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$), which considers the atmospheric gravity (m s^{-2}) and the potential density of seawater (kg m^{-3}). As *Trichodesmium* bears strong gas vesicles, what allows trichomes to remain in the ocean surface layers [Walsby, 1994; Villareal and Carpenter, 2003; White et al., 2006], it was adopted the average BV value over the upper 25 m of the water column to describe stability.

Wind data and sea surface height

Wind speed data were obtained from the Advanced Scatterometer (ASCAT) aboard the Meteorological Operational Polar satellite (MetOp-A) at a spatial resolution 0.25° . The data were acquired from the <ftp://ftp.ifremer.fr/ifremer/cersat/products/gridded/mwf-ascat/data/daily/Netcdf/> site of the Laboratoire D'Océanographie Spatiale, the French Research Institute for Exploration of the Sea.

Wind divergent motion was calculated by the derived component of the zonal and meridional velocities of the wind data extracted from the ASCAT scatterometer.

Sea surface height (SSH) products were obtained from altimetric data acquired in the www.aviso.altimetry.fr site of the Parc Technologique du Canal, France. The AVISO is a group that provides all available products obtained by satellite or combining available data of all satellites. The SSH spatial resolution is $1/8^\circ \times 1/8^\circ$, from which maps of sea surface height anomaly and geostrophic velocity anomalies were retrieved. These maps present cyclonic and anticyclonic features associated to the Brazil Current.

Statistical Analyses

A principal component analysis (PCA) was applied to detect correlations among the independent variables. For this analysis, a combined data set (“Slicks” and “No Slicks” samples) was used, but marked in different colors on the output graphic. In addition, multiple linear regressions were applied to determine the variables showing the most significant influence on the variability of *Trichodesmium* density. The multiple linear regression is a linear relationship developed using more than one predictor variable (independent variable). As a predictive analysis, it is used to explain the relationship between one continuous dependent variable and two or more independent variables [Legendre and Legendre, 1998].

The following covariates (independent variables) were included in both analyses: temperature, DIN, phosphate concentration, upper mixed-layer depth (MLD), mean stability in the upper water column (0-25 m), wind speed and wind divergence. For the multiple regression approach, separate analyses were run for “Slicks” and “No Slicks” samples. Both data sets were previously standardized applying the Box-Cox transformation [Sakia, 1992], which yielded the best data normality. From the multiple linear regression results the model that presented the best fit for the dependent variable (trichome density) was chosen by the minimum AIC (Akaike's Information Criterion) index. The AIC index was previously applied, for both data sets (“No Slicks” and “Slicks”), by the stepwise regression, which verifies the adequacy of the model according to selection of the covariates showing highly significant correlations with the dependent variable. The analyses were performed in R programming language [R Development Core Team, 2013].

Results

Physical Environmental Parameters associated with *Trichodesmium* abundance

Temperature and salinity measured during the three main cruises ranged, respectively, from 18°C to 25.4°C and from 32 to 37.4 (PSS-78). The average surface water temperature for the stations with and without slicks were 24°C (± 0.9) and 22.7°C (± 1.6), respectively (Table 1). The ranges of temperature and salinity for each of the two sectors of the study area were from 20.7°C to 25.4°C (average 24°C (± 0.8)) and from 34.7 to 37.4 (average 36.7 (± 0.5)) in the SBB, while ranges from 17.5°C to 24.5°C (average 22°C (± 1.6)) and ranges from 31.2 to 37 (average 35.5 (± 1.3)) in the SSS. The water masses found in the study area were the Tropical Water (TW), Shelf Water (SW), Subtropical Shelf Water (STSW) and Plata River Plume Water (PPW) (Fig. 2). The temperatures and salinities at the sea surface were higher in the SBB (north of 28°S) due to the strong influence of the Tropical Water, associated with higher number of trichomes. Temperatures and salinities were lower in the SSS (south of 28°S), associated with the presence of the STSW and lower number of trichomes (Fig. 2 and 3). The 36 isohaline and higher salinities, in Fig. 3, indicates the domain of the Tropical Water [da Silveira et al., 2000] showing that *Trichodesmium* trichomes are more likely found in Tropical Water thermohaline conditions than in either STSW or SW water masses (see also Fig. 2).

Excluding the *Trichodesmium* slicks from the dataset, trichome density and temperature were exponentially related ($R^2 = 0.4$, $P < 0.01$). “Slicks” were observed between 22°C and 25.4°C (Fig. 4).

Where *Trichodesmium* slicks were observed, the wind speed ranged from 0.6 m s⁻¹ to 8.3 m s⁻¹, MLD ranged from 2 m to 70 m, stability in the upper 25 m was lower than 34.5×10^{-5} s⁻² and the diverging wind was lower than 3.2×10^{-5} rad² s⁻² (Table 1).

When the variance (F-test) of these variables are compared for “Slicks” and “No Slicks” samples, only the stability showed significant differences ($P = 0.03$).

Maps of geostrophic velocities show the location of *Trichodesmium* slicks (black dot) on their respective days of observation (Fig. 5). Red colors in Fig. 5 represent positive SSH anomalies that correspond to anticyclonic eddies, with deeper isopycnals in their centers, while the blue colors represent negative anomalies that correspond to cyclonic eddies, which are characterized by uplifted isopycnals in their centers.

Latitudinal distribution of nutrients and Chlorophyll-a

The phosphate concentrations exhibited a similar latitudinal distribution among cruises, with higher values in the Southern Subtropical Shelf (SSS) region and lower values in South Brazil Bight (SBB) region (Fig. 6A), following roughly inverse trends with both temperature (Fig. 6C) and trichomes density (Fig. 6D). Phosphate values ranged from 0.001 to 0.96 μM in the “No Slicks” condition and from 0.001 to 0.13 μM within the “Slicks” (Table 1). The DIN ranged from 0.02 to 2.43 μM (Table 1) in the absence of *Trichodesmium* slicks (“No Slicks”) and from 0.02 to 1.92 μM in the *Trichodesmium* slicks (“Slicks”). In all cruises, the DIN levels showed latitudinal variations; however, values particularly low were observed in the autumn of 2014 (black dots) across the latitude range. The highest DIN concentration was observed in the Southern Subtropical Shelf (SSS) region, probably due to the continental water supply from the Plata River and Patos Lagoon, with generally lower levels in the South Brazil Bight (SBB) region (Fig. 6B).

Chl-a concentrations ranged from 0.05 to 1.69 mg m^{-3} in the “No Slicks” samples (Fig. 6E and Table 1) and from 3.15 to 170 mg m^{-3} within “Slicks”. Outside the *Trichodesmium* slicks, Chl-a concentrations above 0.5 mg m^{-3} were only observed in the SSS area.

***Trichodesmium* density**

The number of free trichomes varied from 0 to 1148 trichomes L^{-1} at “No Slicks” stations to 500 to 5×10^6 trichomes L^{-1} within “Slicks”. Trichomes in their free form were found in almost all stations, including in the “No Slicks” samples, but in the “Slicks” samples they represented from 6% to 70%. *Trichodesmium* colonies were observed both as fusiform bundles (“tufts”) and as spherical bundles (“puffs”), representing from 30% to 99% of the total trichomes counted in the “Slicks” samples. Although colonies were more abundant and frequent in “Slicks”, they were also recorded in “No Slicks” samples with lower densities (6 colonies L^{-1} vs. 38 col L^{-1} to 8×10^4 col L^{-1}).

The total concentration of trichomes ranged from 0 to 2×10^3 trichomes L^{-1} in “No Slicks” samples (not shown) to 8×10^3 to 212.6×10^5 trichomes L^{-1} inside slicks (Table 2). During the four cruises, the highest densities (between 800 and 8×10^3 trichomes L^{-1}) were observed in the SBB area. This region also had the highest number of sampled slicks (Fig. 3 and Fig. 6D).

Statistical results

Densities of trichomes associated with each water mass were determined (Fig. 7). The ANOVA showed significant differences between the SW and STSW waters ($P < 0.001$) and between the SW and the PPW ($P < 0.001$), as well as between the TW and the STSW ($P = 0.004$) and between the TW and the PPW ($P = 0.001$). However, no significant differences in the densities of trichomes were observed between the warmer and saline TW and SW waters ($P = 0.09$) nor between STSW and PPW ($P = 0.8$).

The principal component analysis (PCA) applied to the environmental variables explained 63% of the observed variability: 42% were explained by the first axis (PC1), and 21% by the second axis (PC2).

The PCA showed that most “Slicks” stations (‘s’ blue symbols in Fig. 8) are grouped on the positive side of PC1, representing a positive relationship between trichome density and temperature (mainly associated with TW). Conversely, a negative relationship on PC1 was observed for the Brunt-Väisälä frequency (BV) vectors, phosphate, nitrogen and divergent wind; thus, although these variables are positively correlated with each other, they are negatively related to temperature and trichomes densities (‘s’ blue symbols in Fig. 8), which, in turn, were better correlated with DIN and divergent wind, on the positive side of PC2, and negatively related with BV and temperature, also on PC2.

Averages and variances of variables associated with either “Slicks” or “No Slicks” were tested using T- and F-tests and phosphate, stability, temperature and salinity were significantly different ($P < 0.05$), suggesting that the groups are associated with distinct physical and chemical conditions.

To evaluate the influence of physical and chemical variables on trichome density in more detail, multiple linear regressions were applied within to each group: “No Slicks,” ($N = 77$) and “Slicks” ($N = 15$) (Table 3). A nearby station to a slick (located slightly southeastern of two first slicks of the Spring-2014 cruise, Lat. 29.38°S and Long. 47.14°W) was added to the “Slicks” group because it presented a high density of trichomes, even without the visual characteristics of a slick. Trichome densities for both groups exhibited Shapiro normality ($P > 0.05$) with Box-Cox transformation. It should be noted that these data refer to episodic events of dense slicks found over four cruises, thus combining similar environmental conditions favorable to the accumulation of trichomes.

The “No Slicks” group model (Table 3) showed that the explanatory variables: phosphate, nitrogen, wind speed, stability, mixed-layer depth (MLD), temperature and

wind divergence are all significantly related to trichomes density and together explained 58% of the variability observed in trichome numbers, with temperature being the most important (the highest coefficient, Table 3). Higher values of wind speed, nitrogen concentration, wind divergence and stability in the upper water column were related to lower density of trichomes on the sea surface (negative coefficients), with wind speed and nitrogen having the strongest associations (higher absolute values of the coefficient, and $P < 0.001$). Thus, according to the multiple regression analysis, conditions generally favorable to higher *Trichodesmium* abundance are primarily higher temperature and phosphate levels and low nitrogen and wind intensity. When multiple regression is applied to the “Slicks” group (Table 3), 74% of the variation in trichome density is explained by phosphate, wind speed, MLD, stability, temperature and wind divergence. Low stability (negative coefficient), high phosphate, positive wind divergence and high temperature were the most important variables contributing to increase in trichomes density (higher absolute values of coefficient).

Discussion

Abundance of *Trichodesmium* in the Brazil Current

High densities of *Trichodesmium* were associated with the Brazil Current, which flows southward along the continental slope, transporting the warm and nutrient-poor Tropical Water (TW). As mentioned in the methods section, the data presented here were collected during autumn and spring. At those seasons, dense slicks of *Trichodesmium* have been often reported in the region, during cruises of the TALUDE project (Di Tulio, personal communication). It is important to note, however, that due to the seasonal Brazil Current dynamics [Matano et al., 1993], the latitudinal position of slicks may vary, although higher (lower) densities of *Trichodesmium* are expected in

the north (south) sector, following the trends in decreasing sea surface temperature. In addition, shelf-break upwelling and Brazil Current mesoscale activities [Campos et al., 2000; Palma and Matano 2009], mainly in the northern area, may contribute with input of essential nutrients (mainly phosphate and maybe iron) to the euphotic layer and, with transport convergence, leading to aggregation of trichomes and increase in *Trichodesmium* biomass.

During spring and fall, the area between the latitudes 23° and 28° S, which is known as the South Brazil Bight (SBB), presented favorable conditions to support *Trichodesmium* growth and accumulation, suggested by both the greatest number of slicks and the highest trichomes abundance in “No Slicks” conditions. Note that although trichome densities varied throughout the study area, the average estimate for “No Slick” stations was 269 trichomes L⁻¹ (± 415) while the “Slicks” sites showed an average of 42.3×10^5 trichomes L⁻¹ ($\pm 56 \times 10^5$). The values reported in the present study are about two orders of magnitude higher than those in regions with similar seawater temperatures (> 26°C). For instance, Fernandez et al. [2010] found an average density of 220 trichomes L⁻¹ in the equatorial region, while 8 to 31 trichome L⁻¹ was found in the southern section of the North Atlantic subtropical gyre and 0.5 to 1 trichomes L⁻¹ in the northern sector of the South Atlantic subtropical gyre, similar to what was found by Moore et al. [2009] in the same region. In the Tropical Atlantic (15° N – 7° S), *Trichodesmium* abundances reached a maximum of 1000 trichomes L⁻¹ associated with the inter-tropical convergence zone [Snow et al., 2015]. In the southwestern North Atlantic, maximum average densities of 20.6×10^3 trichomes L⁻¹ were registered [Carpenter et al., 2004; Lenes et al., 2005]. In the Pacific Ocean, a recent bloom of *Trichodesmium* was reported in the Kuroshio Current with abundances above 20×10^3 trichomes L⁻¹ [Shiozaki et al., 2015]. Thus, our results suggest that the

Brazil Current is a hot spot for *Trichodesmium* in the ocean, particularly over the SBB sector, where consistent occurrences of slicks and high number of trichomes are observed. This is also supported by the presence of *Trichodesmium* in nearly all stations over the domain of the Brazil Current independently of visually identification of slicks. We can speculate that as the Brazil Current transports the trichomes southwards, mesoscale features could promote sporadic favorable *Trichodesmium* accumulation conditions by enabling small-scale changes in the phosphate pool near the surface. This is observed in the South Pacific Ocean in large scale [Dupouy et al., 2011] and also as result of upwelling driven by island mass effect [Shiozaki et al., 2010; 2014]. The multivariate analyses in this work suggest that these mesoscale features cannot be intense or persistent for slicks formation.

It is important to note that density estimates of *Trichodesmium* spp. trichomes can be problematic. Most studies have estimated the density of *Trichodesmium* spp. and other phytoplankton from samples fixed with Lugol solution, using the standard method of Utermöhl [Utermöhl, 1958]. In this study, an adaptation of the Utermöhl method was adopted, by adding acetic acid to samples prior to the settling counting procedure to break the gas vesicles. This causes the trichomes to effectively settle to the bottom of the counting chamber [Cronberg et al., 2004] and avoids the potential count underestimation caused by trichome buoyancy. Although total trichomes densities in this work bear some degree of inaccuracy, especially because they were based on a constant number of trichomes assumed per colony (see Methods section), the numbers of free trichomes alone were also high, varying from 0.4 to $16.8 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ under “Slicks” conditions (see Table 2). Thus, it is possible that numbers reported in earlier investigations on *Trichodesmium* abundances might be somewhat underestimated.

Different environmental controls between “Slick” and “No Slick” conditions

The maximum *Trichodesmium* abundances, reported above from the literature, were associated with local enrichments of iron [Fernandez et al., 2010], phosphate [Lenes et al., 2005; Foster et al., 2007] or both [Olson et al., 2015; Shiozaki et al., 2015]. However, it has been demonstrated that *Trichodesmium* may grow when phosphate concentrations are above 0.009 μM [Moutin et al., 2005] and that these organisms can maintain nitrogen fixation in the upper mixed layer in a phosphorus-limited area, where the N:P ratios are 0:0.5, when iron is available [Knapp, 2012; Knapp et al., 2012; Spungin et al., 2014]. Unfortunately, there are no available data on iron concentrations in the present study; thus, discussion will be limited to other factors such as DIN, phosphate and temperature. Nonetheless, there are some evidences in the literature of iron input to offshore waters of the Southwestern Atlantic from Brazilian shelf waters [Rijkenberg et al., 2014; Snow et al., 2015] originating from contributions of La Plata River through buoyancy and wind forcing, probably influencing our study area [Pimenta and Kirwan Jr, 2014]. Also, it is known from previous studies that diazotrophs succumb to iron resource competition with nondiazotrophs [Chen et al., 2008; Knapp et al., 2012; Knapp, 2012], although they can find their niche in an ecosystem where iron inputs are high [Knapp et al., 2012; Shiozaki et al., 2014] and growth of nondiazotrophs is restrained by low nitrate [Chen et al., 2008]. Thus, *Trichodesmium* could thrive in areas enriched by both iron and phosphate (e.g. shelf-break upwelling) and be advected to low-nutrient open ocean areas by horizontal currents, such as observed in the South Pacific Ocean [Shiozaki et al., 2013; Shiozaki et al., 2015].

The latitudinal variability of *Trichodesmium* densities closely followed the distribution pattern of surface temperature, but was slightly opposite to the phosphate and DIN (see Fig. 6). We suggest that *Trichodesmium* spp. would be limited in the SSS region by the

cold seawater temperatures ($< 20^{\circ}\text{C}$) and/or by a low competitive performance at higher nutrient levels, especially because nondiazotrophs would be present to outcompete *Trichodesmium* for iron [Chen et al., 2008; Knapp et al., 2012].

As already shown above, the multiple regression analysis suggested that some factors such as relatively weak stability and low wind speed (11.2 m s^{-1}) could support high trichome numbers at “No Slicks” conditions. On the other hand, the proximity of the divergent wind and nitrogen vectors shown in the PCA (Fig. 8) could indicate that the higher the diverging wind motion, the higher the nitrogen concentrations in the surface water, associated with lower trichome densities in “No Slicks” stations (‘n’ red symbols in Fig. 8).

Trichodesmium seems to decrease N_2 fixation under strong wind conditions that promote strong wave action [Carpenter and Price, 1976]. In addition, strong winds mix the population into a deeper layer, preventing surface accumulations [Carpenter et al., 2004]. Thus, regardless of latitudinal variability, low wind speeds are a likely cause of uneven *Trichodesmium* horizontal distribution, as observed in this study. Furthermore, our results demonstrate that, under “No Slicks” situations, once the necessary physical-chemical conditions that promote higher numbers of trichomes occurrence are present, availability of phosphate becomes important, when associated with a weak stability in the surface layer, which may have been driven by increasing wind divergence.

In *Trichodesmium* slick conditions, on the other hand, higher phosphate concentrations contribute the most to variability of trichomes density (high regression coefficient) even more than surface water temperature (see Table 3). Also, divergent wind movement on the ocean surface (see Table 3, high and positive regression coefficient) and weak stability in the upper 25 m (see Table 3, negative regress coefficient and highest absolute value of regression coefficient) also strongly contribute with increase

in trichome density in the slicks. These results indicate that a weak stability in the upper layer may be associated with diverging wind movement. In fact, under persistent upwelling favorable winds, colder and nutrient-rich sub-surface waters can emerge on the warmer surface water in the northern sector of the SBB [Palma and Matano, 2009], breaking the thermocline and weakening the water column stability. Those conditions likely drive phosphate and iron input, increasing concentration in the upper surface layer, by a nutrient-pumping event. Taking those factors into consideration, the abundance of *Trichodesmium* might be related to Brazil Current mesoscale processes, which provide favorable physical and chemical conditions for growth and accumulation. This is further suggested by geostrophic velocity associated with the location of *Trichodesmium* slicks (Fig. 5). Slicks were positioned mostly on the edges of mesoscale cyclonic features, characterized by horizontal divergence at the center and the displacement of isopycnals toward the surface, promoting nutrient input. At the edges, horizontal convergence flow occurs during the eddy formation process. Also, temperatures are higher at the edges when compared to the eddy center.

Distribution of *Trichodesmium* in relation to water column stability and wind

Little information exists on the distribution and abundance of *Trichodesmium* in the Southwestern Atlantic Ocean [Carpenter, 1983; Tyrrell et al., 2003; Detoni et al., 2016]. Some data have been reported for the northern section of the South Atlantic subtropical gyre, mainly originating from the Atlantic Meridional Transect (AMT) cruises in oceanic waters. Those studies also showed evidence of high *Trichodesmium* abundance in the southern section of the subtropical gyre in the North and Tropical Atlantic (0°–15°N), and its absence in the tropical and subtropical Southwestern Atlantic (below 5°S), where no or very few trichomes have been found [Tyrrell et al.,

2003; Carpenter et al., 2004; Moore et al., 2009; Fernandez et al., 2010; Snow et al., 2015].

Between 23° and 28°S (SBB), mesoscale eddies and shelf-break upwelling features associated with the Brazil Current probably increased iron and phosphate availability in the surface layer, maintaining phosphate concentrations $> 0.08 \mu\text{M}$ (see Table 1), which likely supported *Trichodesmium* slicks in the slope region. Furthermore, cyclonic eddies (as seen in Fig. 5) also create upwelling, fertilizing the oligotrophic waters of the continental slope [Campos et al., 2000]. Those ocean processes, coupled with high water temperature, probably explain the greater occurrence of *Trichodesmium* slicks and higher trichome densities found in the SBB region compared to the SSS (see Figure 3). Notwithstanding, the intensity of this fertilization is controlled by alongshore changes in bottom topography, which modulates the alongshore pressure gradient in the SBB region and the magnitude of the shelf-break upwelling and downwelling [Palma and Matano, 2009]. However, compared with coastal upwelling by wind force, the shelf-break upwelling, generated by changes in the alongshore pressure gradient, produces a lower intrusion of nutrients into surface layers [Matano et al., 2010]. It is likely that *Trichodesmium* is well adapted to such environmental factors, subject to weak nutrient inputs in relation to other phytoplankton groups and, thus, it is capable of maintaining a high biomass for days to weeks [White et al., 2007].

High *Trichodesmium* densities and slicks in the SBB, associated to Brazil Current dynamics, have also been reported in other western boundary currents systems [Dupouy et al., 2011; McGillicuddy, 2014; Shiozaki et al., 2015]. The shelf-break upwelling modes, generated by eddies and meanders or encroachment, are common phenomena observed in the Gulf Stream, Kuroshio Current, off the southeastern

African coast and in the East Australian Current [Palma and Matano, 2009]. However, the difference between the SBB and other systems is that shelf-break upwelling occurs sporadically in those western boundary currents and, in the SBB it is a rather persistent process associated with the Brazil Current [Palma and Matano, 2009; Matano et al., 2010]. Thus, our data set on physical forcing, trichome densities, and chemical properties suggest that wind force in mesoscale (approximately 600 km²), as well as shelf-break dynamics, can drive shelf-break upwelling, favoring high numbers of trichomes between 23°S and 28°S. Additionally, *Trichodesmium* is known to have few predators; therefore, it is not under a strong top-down control [Stukel et al., 2014]. Probably favorable conditions must remain for a number of days in order to accumulate a large trichome biomass, because of its low maximum growth rate [0.2 cell d⁻¹, Spungin et al., 2014]. In summary, trichomes accumulate when a series of physical and chemical factors act together, such as high surface temperature, low nitrogen concentrations, convergent low speed wind. Conversely, slicks may form at the surface when, additionally, significant variables (divergent wind and decrease in water column stability) act simultaneously, creating conditions of weak upwelling, and phosphate availability, which favor *Trichodesmium* growth and accumulation, with little competition with other phytoplankton groups.

Concluding remarks

This work reports, for the first time, trichome densities and slicks of *Trichodesmium*, at high spatial resolution in the southwestern Atlantic, where the highest *Trichodesmium* concentrations were counted over the continental shelf-break, associated with the dynamics of the Brazil Current southward flow, in temperatures above 22°C.

At no visible slicks conditions, an increment in trichome density appears to be associated with low wind speed ($< 11 \text{ m s}^{-1}$), low nitrogen concentration ($< 2.4 \text{ }\mu\text{M}$) and sufficient phosphate concentration ($> 0.08 \text{ }\mu\text{M}$).

Trichodesmium slicks occurrence seemed to depend on higher phosphate concentration in the upper 25 m water column and weak water column stability generated in a wind divergence process at mesoscale, as well as on the shelf-break dynamics that drive shelf-break upwelling. Although upwelling may occur along the entire domain of the Brazil Current flow, *Trichodesmium* densities were low at latitudes between 28°S and 33°S , as a result of either lower sea surface temperature or other temperature-related parameters (e.g. higher nutrient levels), and consequently, generating a competition for resources with non-diazotrophs. This study, thus, demonstrates that environmental conditions associated with shelf-break dynamics contribute to the development and distribution of *Trichodesmium* slicks, which have not been previously reported between 23°S and 28°S in the southwestern Atlantic Ocean.

Acknowledgements

We thank the TALUDE Project for the opportunity to collect the data for this study and the crew of the Federal University of Rio Grande research ship “*Atlântico Sul*” for their assistance and contribution during all activities. PHRC acknowledges support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processes: 457118/2012-1 and 307385/2013-2). We are very grateful to Chevron Brazil for financing the TALUDE Project. We also thank C.R.B. Mendes for instrument availability as well as help and advice during HPLC chlorophyll analysis and the E. Morales Junior for guidelines in the nutrients’ analysis. A.M.S. Detoni was funded by the CAPES Foundation.

References

- Aminot, A., and M. Chaussepied (1983), Manuel des analyses chimiques en milieu marin, Brest: CNEXO, 395p.
- Benavides, M., P. H. Moisander, M. C. Daley, A. Bode, and J. Aristegui (2016), Longitudinal variability of diazotroph abundances in the subtropical North Atlantic Ocean, *J Plankton Res*, 0 (0), 1-11.
- Breitbarth, E., A. Oschlies, and J. LaRoche (2007), Physiological constraints on the global distribution of *Trichodesmium* – effect of temperature on diazotrophy, *Biogeosciences*, 4, 53-61.
- Calado, L., A. Gangopadhyay, and I. C. A. da Silveira (2006), A parametric model for the Brazil Current meanders and eddies off southeastern Brazil, *Geophys. Res. Lett.*, 33, L12602, 5PP, doi:10.1029/2006GL026092.
- Campos, E. J. D., D. V. Velhote, and C. A. da Silveira (2000), Shelf break upwelling driven by Brazil Current cyclonic meanders, *Geophys. Res. Lett.*, 27, 751-754.
- Capone, D. G., J. P. Zehr, H. W. Paerl, B. Bergman, and E. J. Carpenter (1997), *Trichodesmium*, a Globally Significant Marine Cyanobacterium, *Science*, 276, 1221-1229
- Carpenter, E. J., and C. C. Price (1976), Marine oscillatoria (*Trichodesmium*): explanation for aerobic nitrogen fixation without heterocysts, *Science*, 191, 1278-1280, doi:10.1126/science.1257749.
- Carpenter, E. J. (1983), Nitrogen fixation by marine *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) in the world's oceans, p. 65–103. In E. J. Carpenter and D. G. Capone [eds.], Nitrogen in the marine environment, Elsevier, New York.
- Carpenter, E. J., and D. G. Capone (1992), Nitrogen fixation in *Trichodesmium* blooms, p. 211-217. In: E. J. Carpenter, D. G. Capone, and J. G. Rueter [eds.],

- Marine Pelagic Cyanobacteria: *Trichodesmium* and Other Diazotrophs. Klumer Academic Publishers, Dordrecht.
- Carpenter, E. J., A. Subramaniam, and D. G. Capone (2004), Biomass and primary productivity of the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. in the tropical N Atlantic ocean, *Deep-Sea Res. PT I*, 51, 173–203.
- Chen, Y. L., H. Chen, S. Tuo, and K. Ohki, (2008), Seasonal dynamics of new production from *Trichodesmium* N₂ fixation and nitrate uptake in the upstream Kuroshio and South China Sea basin, *Limnol Oceanogr*, 53(5), 1705-1721.
- Church, M. J., C. Mahaffey, R. M. Letelier, R. Lukas, J. P. Zehr, and D. M. Karl (2009), Physical forcing of nitrogen fixation and diazotroph community structure in the North Pacific subtropical gyre, *Global Biogeochem. Cy.*, 23, GB2020, doi:10.1029/2008GB003418.
- Cronberg, G., E. J. Carpenter, and W. W. Carmichael (2004), Taxonomy of harmful cyanobacteria, p. 523–562. In G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson, and A. D. Cembella [eds.], *Manual on harmful marine microalgae*. Unesco Publishing, France.
- da Silveira, I. C., A. C. K. Schmidt, E. J. D. Campos, S. S. de Godoi, and Y. Ikeda (2000), A Corrente do Brasil ao Largo da Costa Leste Brasileira, *Rev. bras. Oceanogr.*, 48(2), 171-183.
- Davis, C. S., and D. J. McGillicuddy Jr (2006), Transatlantic Abundance of the N₂-Fixing Colonial Cyanobacterium *Trichodesmium*, *Science*, 312, 1517, doi:10.1126/science.1123570.
- Detoni, A. M. S., L. D. F. Costa, L. A. Pacheco, and J. S. Yunes (2016), Toxic *Trichodesmium* bloom occurrence in the southwestern South Atlantic Ocean, *Toxicon*, 110, 51-55.

- Duce, R. A., J. LaRoche, K. Altieri, K. R. Arrigo, A. R. Baker, D. G. Capone, S. Cornell, F. Dentener, J. Galloway, R. S. Ganeshram, R. J. Geider, T. Jickells, M. M. Kuypers, R. Langlois, P. S. Liss, S. M. Liu, J. J. Middelburg, C. M. Moore, S. Nickovic, A. Oschlies, T. Pedersen, J. Prospero, R. Schlitzer, S. Seitzinger, L. L. Sorensen, M. Uematsu, O. Ulloa, M. Voss, B. Ward, and L. Zamora (2008), Impacts of Atmospheric Anthropogenic Nitrogen on the Open Ocean, *Science*, 320, 893, doi:10.1126/science.1150369.
- Dupouy, C., D. Benielli-Gary, J. Neveux, Y. Dandonneau, and T. K. Westberry (2011), An algorithm for detecting *Trichodesmium* surface blooms in the South Western Tropical Pacific, *Biogeosciences*, 8, 3631-3647, doi:10.5194/bg-8-3631-2011.
- Fernández, A., B. Mouriño-Carballido, A. Bode, M. Varela, and E. Marañón (2010), Latitudinal distribution of *Trichodesmium* spp. and N₂ fixation in the Atlantic Ocean, *Biogeosciences*, 7, 3167–3176, doi:10.5194/bg-7-3167-2010.
- Foster, R. A., A. Subramaniam, C. Mahaffey, E. J. Carpenter, D. G. Capone, and J. P. Zehr (2007), Influence of the Amazon River plume on distributions of free-living and symbiotic cyanobacteria in the western tropical north Atlantic Ocean, *Limnol. Oceanogr.*, 52(2), 517-532.
- Gallon, J. R., and A. E. Chaplin (1988), Recent studies on N₂-fixation by non-heterocistous cyanobacteria, p. 183-188. In: H. Bothe, F. J. de Bruyn, and W. E. Newton [eds.], Nitrogen fixation: hundred years after. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Glover, D. M., and P. G. Brewer (1988), Estimates of wintertime mixed layer nutrient concentrations in the North Atlantic, *Deep-Sea Res.*, 35, 1525-1546.

- Grasshoff, K. M., K. Ehrhardt, and K. Kremling (1999), Methods of seawater analysis. 3ed. Weinheim: Wiley-VHC, 600p.
- Guildi, L., P. H. R. Calil, S. Duhamel, K. M. Björkman, S. C. Doney, G. A. Jackson, B. Li, M. J. Church, S. Tozzi, Z. S. Kolber, K. J. Richards, A. A. Fong, R. M. Letelier, G. Gorsky, L. Stemman, and D. M. Karl (2012), Does eddy-eddy interaction control surface phytoplankton distribution and carbon export in the North Pacific Subtropical Gyre?, *J. Geophys. Res.*, doi: 10.1029/2012JG001984.
- Kara, A. B., P. A. Rochford, and H. E. Hurlburt (2000), An optimal definition for ocean mixed layer depth, *J. Geophys. Res.*, 105, 16803-16821.
- Karl, D. M., R. Letelier, D. V. Hebel, D. F. Bird, and C. D. Winn (1992), *Trichodesmium* blooms and new nitrogen in the North Pacific gyre, p. 219-237. In: E. J. Carpenter, D. G. Capone, and J. G. Rueter [eds.], Marine Pelagic Cyanobacteria: *Trichodesmium* and Other Diazotrophs. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Knapp, A. N. (2012), The sensitivity of marine N₂ fixation to dissolved inorganic nitrogen, *Front Microbiol*, 3, 1-14, doi:10.3389/fmicb.2012.00374.
- Knapp, A. N., J. DeKaezemacker, S. Bonnet, J. A. Sohm, and D. G. Capone, (2012), Sensitivity of *Trichodesmium erythraeum* and *Crocospaera watsonii* abundance and N₂ fixation rates of varying NO₃⁻ and PO₄³⁻ concentrations in bath cultures, *Aquat Microb Ecol*, 66, 223-236, doi:10.3354/ame01577.
- LaRoche, J., and E. Breitbarth (2005), Importance of the diazotrophs as a source of new nitrogen in the ocean, *J. Sea Res.*, 53, 67-91.

- Legendre, P., and L. Legendre (1998), Multiple linear regression, p. 517-525. In: P. Legendre, and L. Legendre [eds.], Numerical Ecology. Elsevier Science B. V., Amsterdam.
- Lenes, J. M., J. J. Walsh, D. B. Otis, and K. L. Carder (2005), Iron fertilization of *Trichodesmium* off the west coast of Barbados: A one-dimensional numerical model, *Deep-Sea Res PT I*, 52, 1021-1041.
- Luo, Y. W., S. C. Doney, L. A. Anderson, M. Benavides, I. Berman-Frank, A. Bode, S. Bonnet, K. H. Boström, D. Böttjer, D. G. Capone, E. J. Carpenter, Y. L. Chen, M. J. Church, J. E. Dore, L. I. Falcón, A. Fernández, R. A. Foster, K. Furuya, F. Gómez, K. Gundersen, A. M. Hynes, D. M. Karl, S. Kitajima, R. J. Langlois, J. LaRoche, R. M. Letelier, E. Marañón, D. J. McGillicuddy Jr., P. H. Moisander, C. M. Moore, B. Mourinho-Carballido, M. R. Mulholland, J. A. Needoba, K. M. Orcutt, A. J. Poulton, E. Rahav, P. Raimbault, A. P. Rees, L. Riemann, T. Shiozaki, A. Subramaniam, T. Tyrrell, K. A. Turk-Kubo, M. Varela, T. A. Villareal, E. A. Webb, A. E. White, J. Wu, and J. P. Zehr (2012), Database of diazotrophs in global ocean: abundance, biomass and nitrogen fixation rates, *Earth Syst Sci Data*, 4, 47-73.
- Marone, E., B. A. Knoppers, W. F. L. de Souza, I. C. da Silveira, and S. S. de Godoi (2010), The Brazil current: physical–biogeochemical domains, p. 153-170. In L. Kon-Kee, L. Atkinson, R. Quinones, and L. Talaue-McManus [eds.], Carbon and nutrient fluxes in continental margins: a global synthesis. Springer Verlag, Berlin, Global change-the IGBP series.
- Matano, R. P., M. G. Schlax, and D. B. Chelton (1993), Seasonal Variability in the Southwestern Atlantic, *J Geophys Res.*, 98, 18027-18035.

- Matano, R. P., E. D. Palma, and A. R. Piola (2010), The influence of Brazil and Malvinas Currents on the Southwestern Atlantic Shelf circulation, *Ocean Sci.*, 6, 983-995, doi:10.5194/os-6-983-2010.
- McGillicuddy, D. J., Jr. (2014), Do *Trichodesmium* spp. populations in the North Atlantic export most of the nitrogen they fix?, *Global Biogeochem. Cy.*, 28, doi:10.1002/2013GB004652.
- McKinna, L. I. W. (2015), Three decades of ocean-color remote-sensing *Trichodesmium* spp. in the World's oceans: A review, *Prog Oceanogr*, 131, 177-199, doi:10.1016/j.pocean.2014.12.013
- Mendes, C. R., P. Cataxana, and V. Brotas (2007), HPLC determination of phytoplankton and microphytobenthos pigments: comparing resolution and sensitivity of a C18 and a C8 method, *Limnol. Oceanogr.: Meth.*, 5, 362–370.
- Möller Jr., O. O., A. R. Piola, A. C. Freitas, and E. J. D. Campos (2008), The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America, *Cont Shelf Res*, 28, 1607-1624.
- Moore, C. M., M. M. Mills, E. P. Achterberg, R. J. Geider, J. LaRoche, M. I. Lucas, E. L. McDonagh, X. Pan, A. J. Poulton, M. J. A. Rijkenberg, D. J. Suggett, S. J. Ussher, and E. M. S. Woodward (2009), Large-scale distribution of Atlantic nitrogen fixation controlled by iron availability, *Nat. Geosci.*, 2, 867-871, doi:10.1038/NGEO667.
- Moutin, T., N. V. D. Broeck, B. Beker, C. Dupouy, P. Rimmelin, and A. L. Bouteiller (2005), Phosphate availability controls *Trichodesmium* spp. biomass in the SW Pacific Ocean, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 297, 15-21.
- Olson, E. M., D. J. McGillicuddy Jr., G. R. Flierl, C. S. Davis, S. T. Dyhrman, and J. B. Waterbury (2015), Mesoscale eddies and *Trichodesmium* spp. distributions in

- the southwestern North Atlantic, *J. Geophys. Res.: Oceans.*, 120, doi:10.1002/2015JCO10728.
- Palma, E. D., and R. P. Matano (2009), Disentangling the upwelling mechanisms of the South Brazil Bight, *Cont. Shelf Res.*, 29, 1525-1534.
- Pimenta, F. M., and A. D. Kirman Jr (2014), The response of large outflows to wind forcing, *Cont. Shelf Res.*, 89, 24-37.
- Piola, A. R., E. J. D. Campos, O. O. Möller Jr, M. Charo, and C. Martinez (2000), Subtropical Shelf Front off eastern South American, *J Geophys Res*, 105, 6565-6578.
- R Development Core Team (2013), R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at <http://www.R-project.org/>. Version: 3.0.2
- Remsen, A., T. L. Hopkins, and S. Samson (2004), What you see is not what you catch: a comparison of concurrently collected net, Optical Plankton Counter, and Shadowed Image Particle Profiling Evaluation Recorder data from the northeast Gulf of Mexico, *Deep-Sea Res Pt I*, 51, 129-151.
- Rijkenberg, M. J. A., R. Middag, P. Laan, L. J. A. Gerringa, H. M. van Aken, V. Schoemann, J. T. M. de Jong, and H. J. W. de Baar (2014), The Distribution of Dissolved Iron in the West Atlantic Ocean, *PLoS One*, 9(6), e101323, doi:10.1371/journal.pone.0101323.
- Sakia, R. M. (1992), The Box-Cox transformation technique: a review, *The Statistician*, 41, 169-178.
- Shiozaki, T., K. Furuya, T. Kodama, S. Kitajima, S. Takeda, T. Takemura, and J. Kanda (2010), New production of N₂ fixation in the western and central Pacific

- Ocean and its marginal seas, *Global Biogeochem Cycles*, 24, GB1015, doi:10.1029/2009BG003620.
- Shiozaki, T., T. Kodama, S. Kitajima, M. Sato, and K. Furuya (2013), Advective transport of diazotrophs and importance of their nitrogen fixation on new and primary production in the western Pacific warm pool, *Limnol. Oceanogr.*, 58, 49-60.
- Shiozaki, T., T. Kodama, and K. Furuya (2014), Large-scale impact of the island mass effect through nitrogen fixation in the western South Pacific Ocean, *Geophys Res Lett*, 41, 2907-2913, doi:10.1002/2014GL059835.
- Shiozaki, T., S. Takeda, S. Itoh, T. Kodama, X. Liu, F. Hashihama, and K. Furuya (2015), Why is *Trichodesmium* abundant in the Kuroshio?, *Biogeoscience*, 12, 6931-6943, doi:10.5194/bg-12-6931-2015.
- Sieburth, J. M., and J. T. Conover (1965), Slicks associated with *Trichodesmium* Blooms in the Sargasso Sea, *Nature*, 205, 830-831.
- Snow, J. T., C. Schlosser, E. M. S. Woodward, M. M. Mills, E. P. Achterberg, C. Mahaffey, T. S. Bibby, and C. M. Moore (2015), Environmental controls on the biogeography of diazotrophy and *Trichodesmium* in the Atlantic Ocean, *Global Biogeochem. Cy.*, 29, 865-884, doi:10.1002/2015GB005090.
- Sohm, J. A., A. Subramaniam, T. E. Gunderson, E. J. Carpenter, and D. G. Capone (2011), Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp. and unicellular diazotrophs in the North Pacific Subtropical Gyre, *J. Geophys Res.*, 116, G03002, doi: 10.1029/2010JG001513.
- Spungin, D. I. Berman-Frank, and O. Levitan (2014), *Trichodesmium*'s strategies to alleviate phosphorus limitation in the future acidified oceans, *Environ. Microbiol.*, 16(6), 1935-1947.

- Stukel, M. R., V. J. Coles, M. T. Brooks, and R. R. Hood (2014), Top-down, bottom-up and physical controls on diatom-diazotroph assemblage growth in the Amazon River plume, *Biogeoscience*, 11, 3259-3278.
- Suzuki, T., H. Mori, J. Ishizaka, and K. Katayama (2007), Biomass and distribution of filamentous cyanobacteria, *Trichodesmium* spp., in spring in the East China Sea, *Plankton Benthos Res.*, 2(4), 175-183.
- Taboada, F. G., R. G. Gil, J. Höfer, S. González, and R. Anadón (2010), *Trichodesmium* spp. population structure in the eastern North Atlantic subtropical gyre, *Deep-Sea Res. PT I*, 57, 65-77.
- Tyrrell, T., E. Marañón, A. J. Poulton, A. R. Bowie, D. S. Harbour, and E. M. S. Woodward (2003), Large-scale latitudinal distribution of *Trichodesmium* spp. in the Atlantic Ocean, *J. Plankton Res.*, 25, 405-416.
- Utermöhl, H. (1958), Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik, *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, 09, 01-38.
- Veldhuis, M. J. W., and G. W. Kraay (2004), Phytoplankton in the subtropical Atlantic Ocean: towards a better assessment of biomass and composition, *Deep-Sea Res Pt I*, 51, 507-530.
- Villareal, T. A., and E. J. Carpenter (2003), Buoyancy Regulation and the Potential for Vertical Migration in the Oceanic Cyanobacterium *Trichodesmium*, *Microb. Ecol.*, 45, 1-10, doi:10.1007/s00248-002-1012-5.
- Walsby, A. E. (1994), Gas vesicles, *Microbiological Reviews*, 58(1), 94-144.
- White, A. E., Y. H. Spitz, D. M. Karl, and R. M. Letelier (2006), Flexible elemental stoichiometry in *Trichodesmium* spp. and its ecological implications, *Limnol. Oceanogr.*, 51(4), 1777-1790.

White, A. E., Y. H. Spitz, and R. M. Letelier (2007), What factors are driving summer phytoplankton blooms in the North Pacific Subtropical Gyre?, *J. Geophys. Res.*, 112:C12006, doi:10.1029/2007JC004129.

FIGURES AND TABLES CAPTIONS

Figure 1. Map of the South Atlantic Ocean, showing the study area. The black dots are locations of oceanographic stations sampled during three cruises (Autumn 2013, Autumn 2014 and Spring 2014). The symbols in color show locations of *Trichodesmium* slicks found along three consecutive years (including Spring 2012, when samples were only taken at the slicks sites). The black line on 28°S represents a division of the study area between two major regions: Cabo Frio–Cabo de Santa Marta Grande (23°–28° S), known as the South Brazil Bight (SBB) and the Southern Subtropical Shelf (SSS) (28°–33° S).

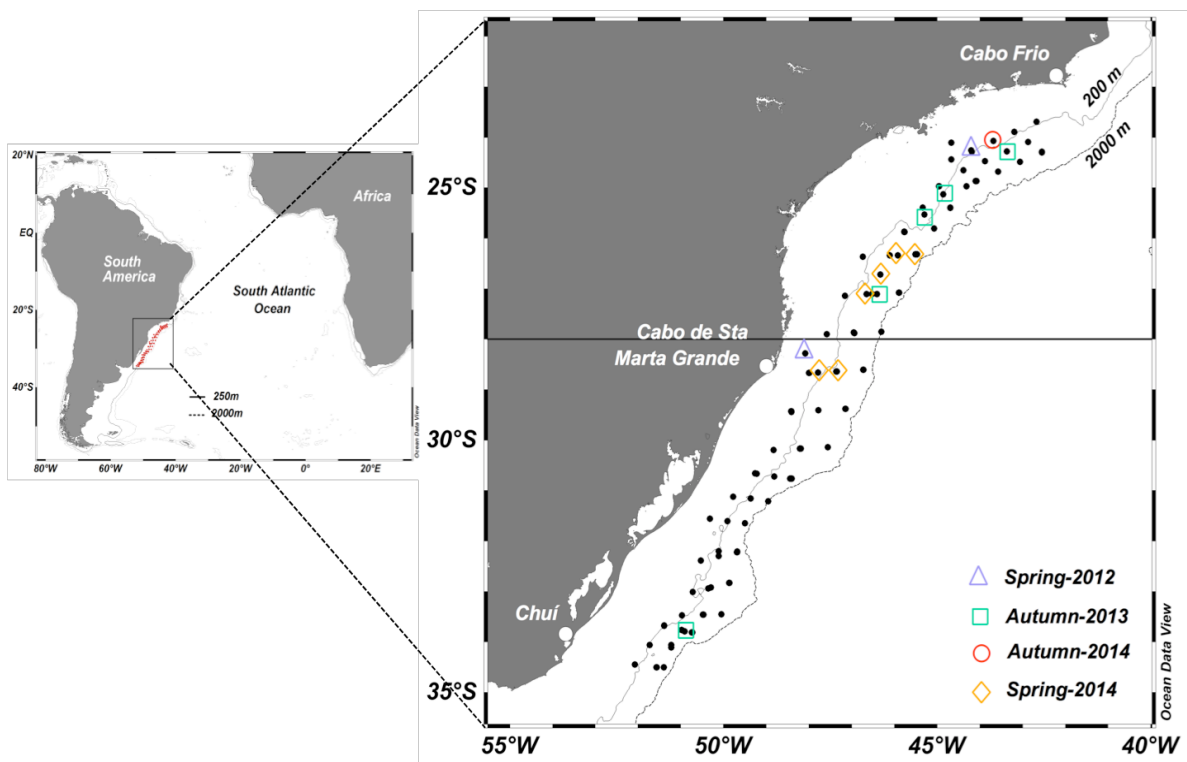


Figure 2. Temperature-salinity diagram (0 m) for classification of the water masses and the distribution of number of trichomes in each water mass. TW = Tropical Water, SW = Shelf Water, STSW = Subtropical Shelf Water and PPW = Plata River Plume Water.

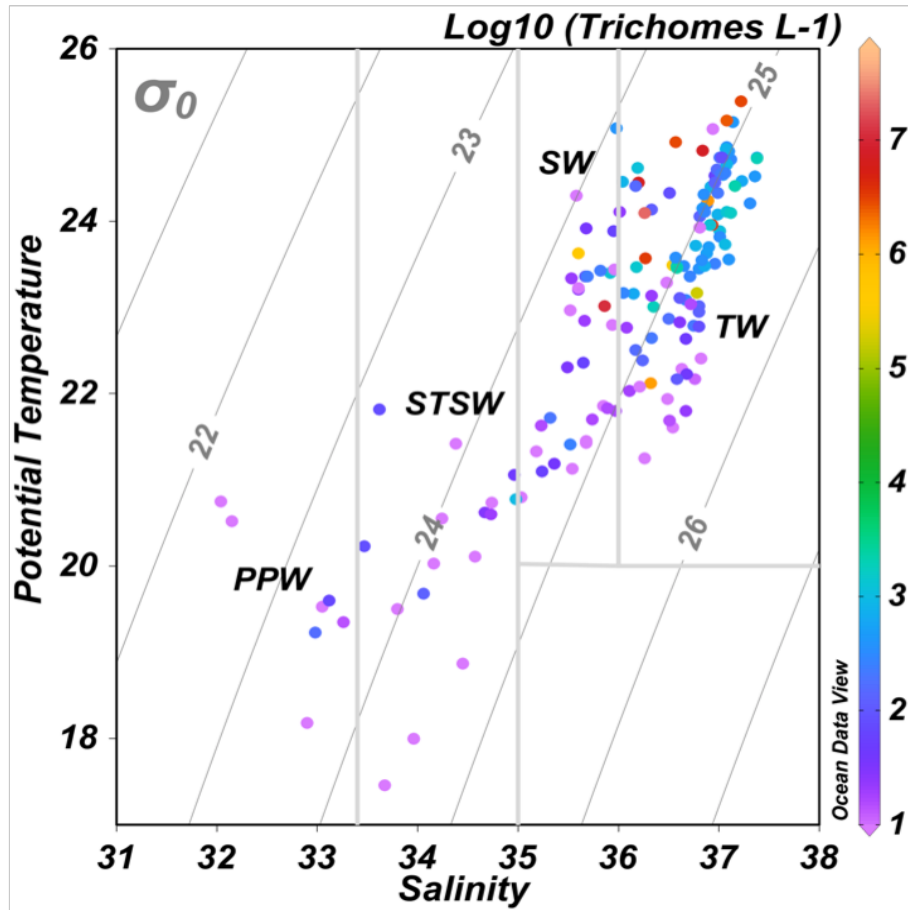


Figure 3. Map of trichome density distribution. Small filled gray circles represent densities between 0 and 800 trichomes L^{-1} , red circles represent densities between 800 and 8×10^3 trichomes L^{-1} . Black "X" symbols indicate the location of *Trichodesmium's* slicks ($> 8 \times 10^3$ trichomes L^{-1}). The inset map shows the average sea surface temperature distribution over the three cruises and the 36 salinity isoline, indicating the Tropical Water limit.

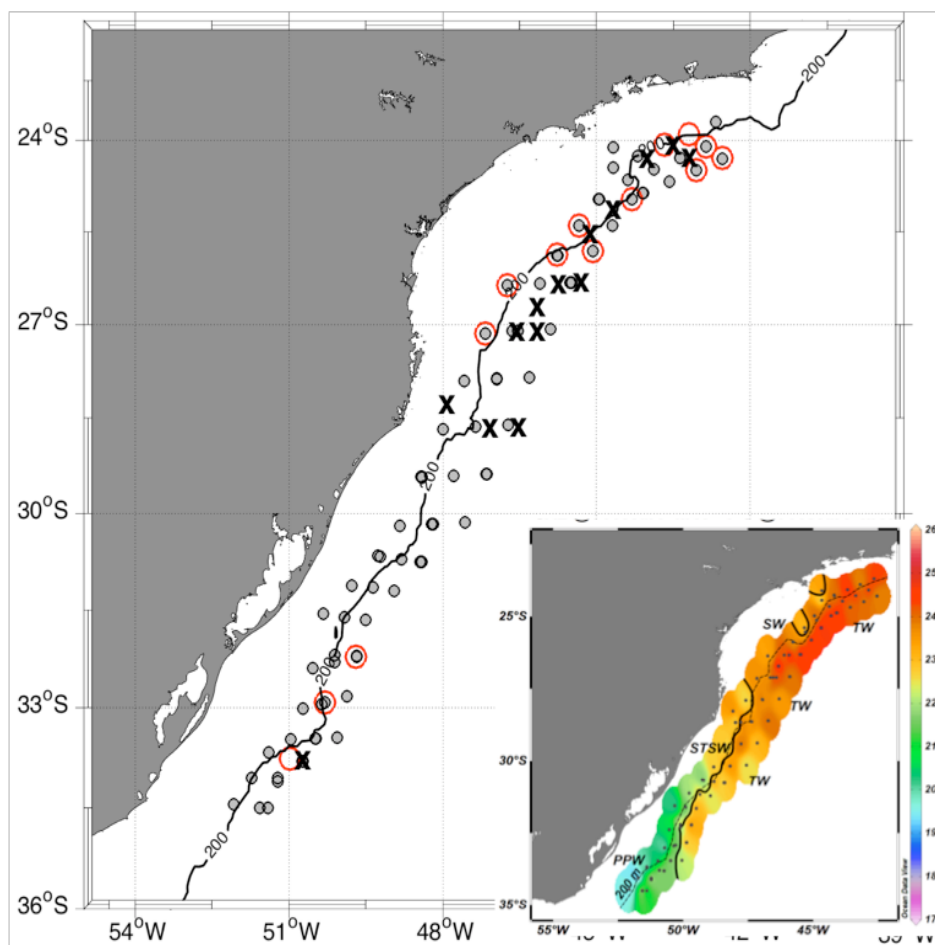


Figure 4. Correlation between trichomes density (log10) and sea surface temperature. The gray circle highlights the *Trichodesmium*'s slicks data (not considered in the correlation), and the gray rectangle highlights the temperature range.

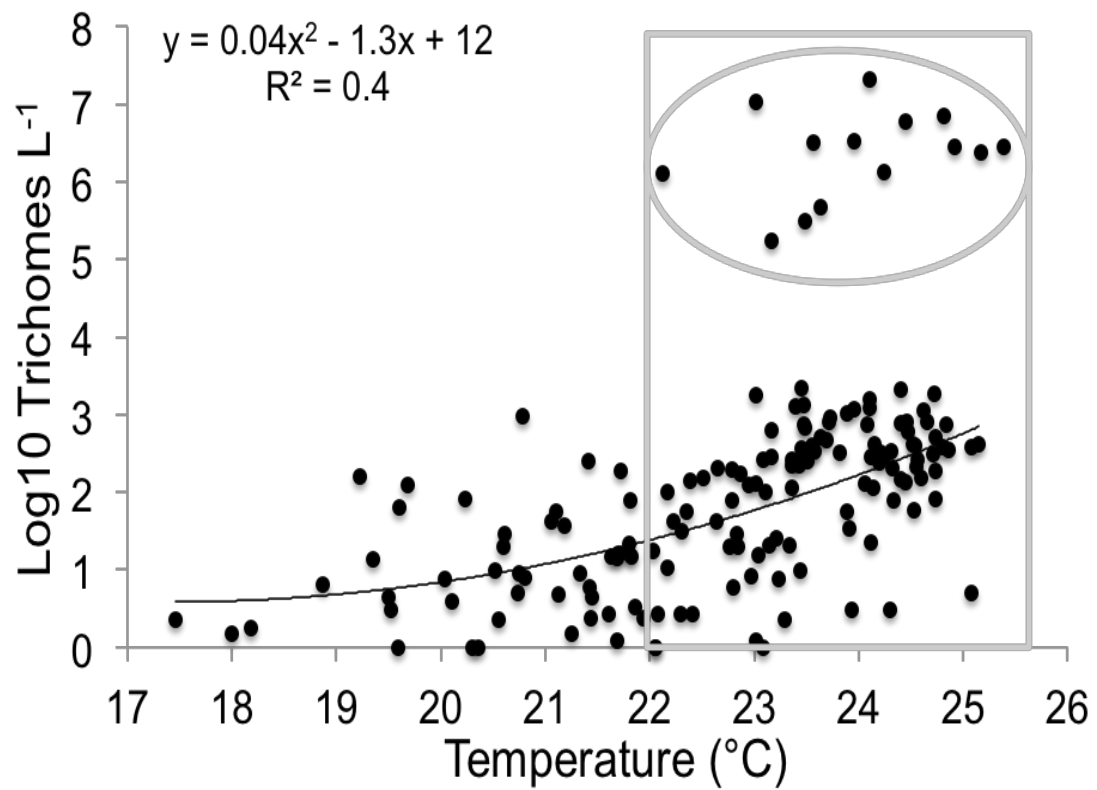


Figure 5. Ten daily maps of absolute geostrophic velocities (m s^{-1}) (black vectors) and SSH (m) anomaly (colorbar) for the respective days (year:month:day) of observation of *Trichodesmium* slicks. The black dots represent the location of *Trichodesmium* slicks found during the cruises of Autumn-2013 and Spring-2014.

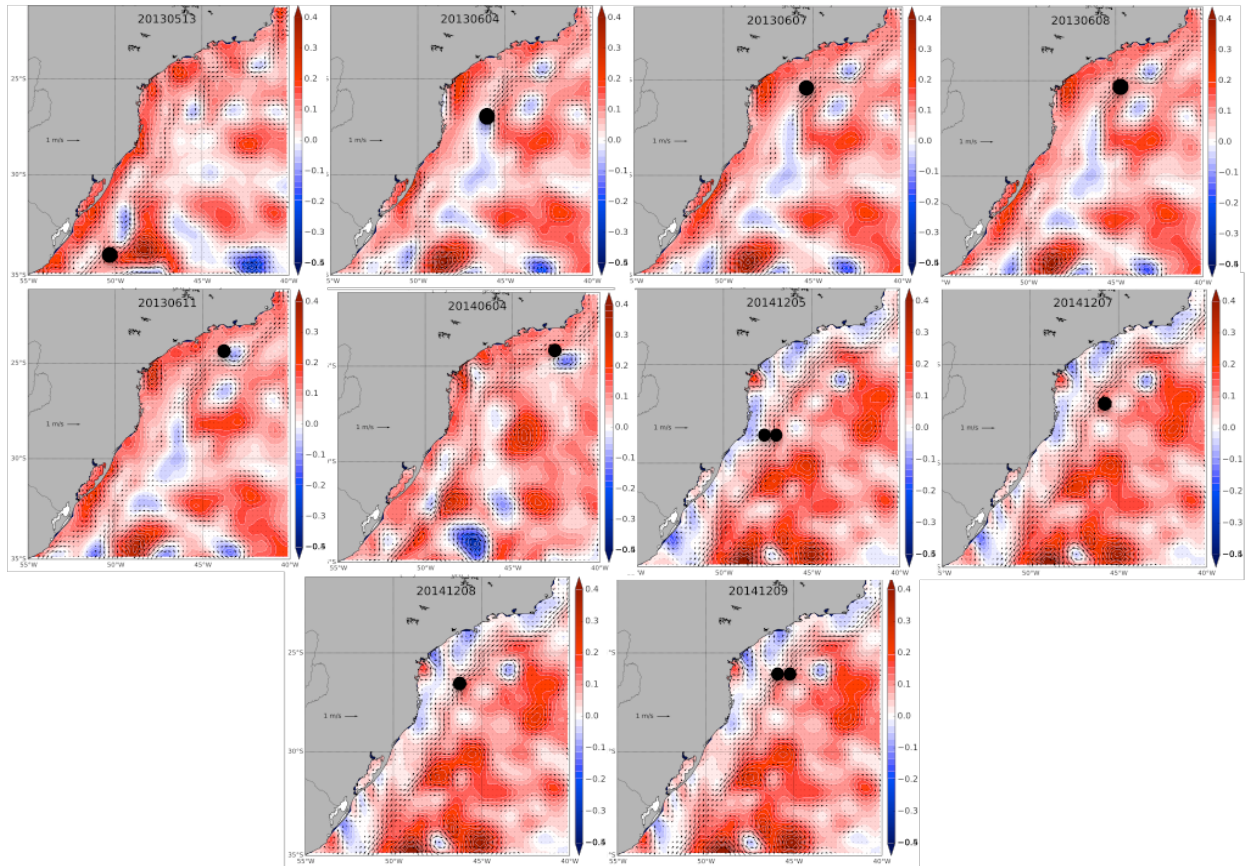


Figure 6. Latitudinal distributions of the surface values of phosphate (A), dissolved inorganic nitrogen (DIN) (B), temperature (C), trichome density (D), and chlorophyll-a concentrations (E). These data represent the average for the three cruises: Autumn 2013, Autumn 2014 and Spring 2014. The black line on 28°S represents a division of the study area between two major regions: Cabo Frio–Cabo de Santa Marta Grande (23°–28° S), known as the South Brazil Bight (SBB) and the Southern Subtropical Shelf (SSS) (28°–33° S).

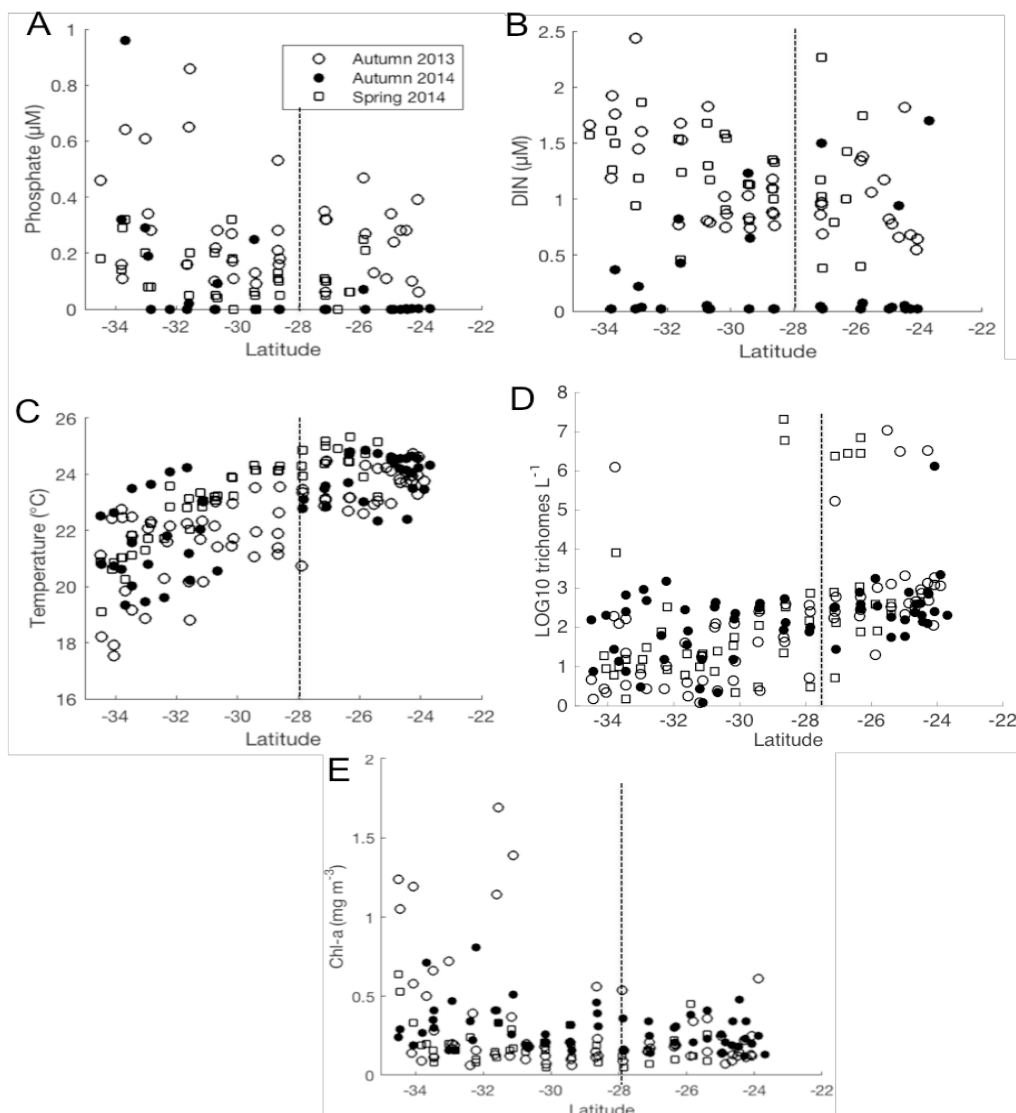


Figure 7. Average trichomes density associated with each water mass found. Different letters represent statistically significant differences between values.

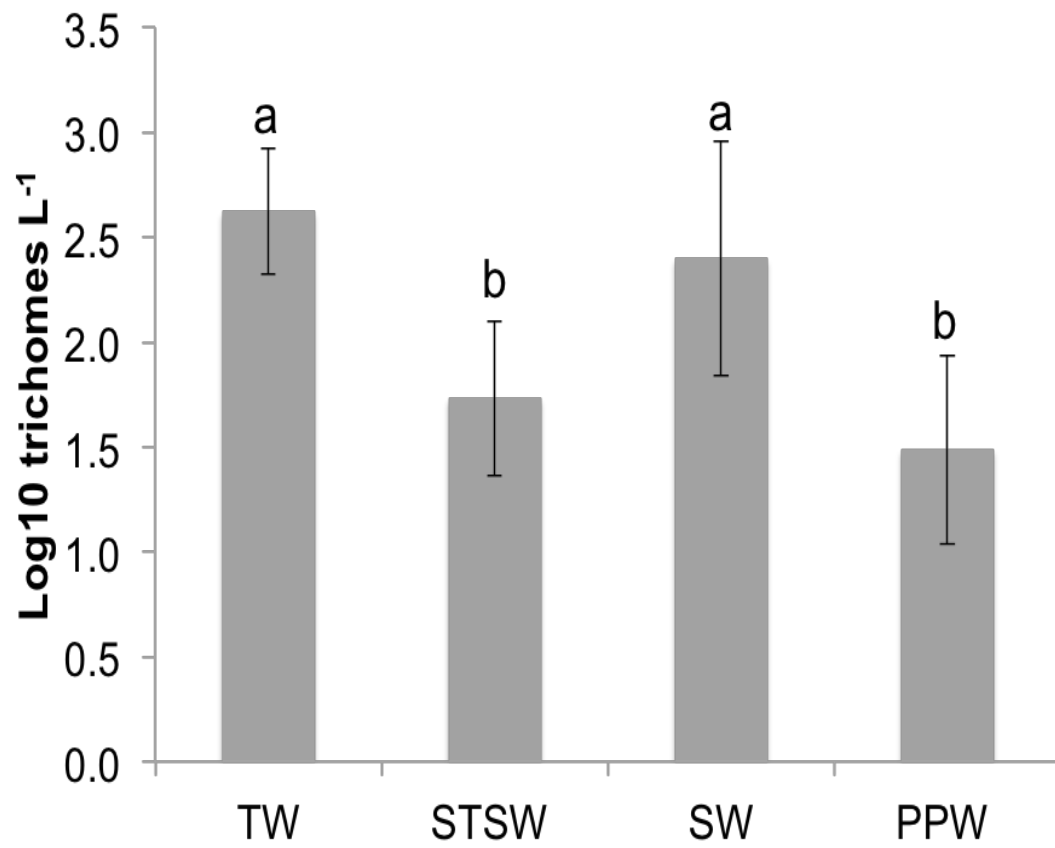


Figure 8. Principal Component Analysis (PCA) of the environmental variables. The arrows indicate Brunt-Väisälä frequency (BV), phosphate (PO₄), dissolved inorganic nitrogen (DIN), divergent wind (Divergent) and sea surface temperature (Temp). The red symbols are stations with trichomes density between 0 to 8×10^3 trichomes L⁻¹, and blue symbols are densities $> 8 \times 10^3$ trichomes L⁻¹.

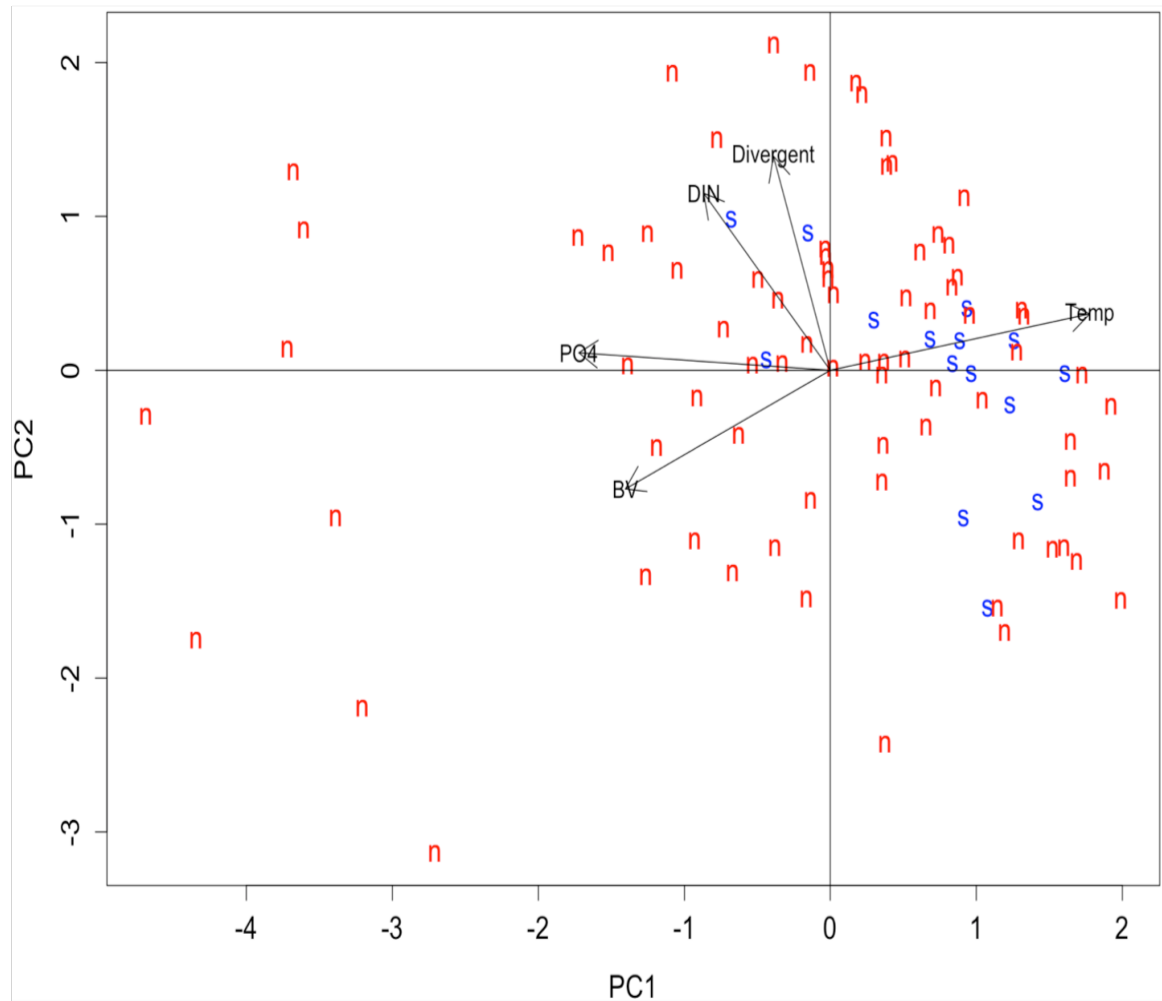


Table 1. Minimum, maximum, average and standard deviation values under “No Slicks” and “Slicks” conditions.

	No Slicks				Slicks			
	min	max	mean	sd	min	max	mean	sd
Tri_Tot	0	2×10^3	269	415	8×10^3	212.6×10^5	42.3×10^5	56×10^5
Phos	0.001	0.96	0.191	0.192	0.001	0.13	0.08	0.044
DIN	0.02	2.43	0.95	0.62	0.02	1.92	0.98	0.45
Wind	0.36	11.22	6.33	2.23	0.57	8.36	5.89	2.08
MLD	1	90	38	29	2	70	30	24
BV_25m	-5.23×10^{-5}	81×10^{-5}	9.3×10^{-5}	17×10^{-5}	-4.8×10^{-5}	34.5×10^{-5}	8.4×10^{-5}	10.3×10^{-5}
Temp	18	25	22.7	1.6	22	25.4	24	0.9
Sal	32	37.4	35.9	1.2	35.6	37.2	36.5	0.46
Diverg	-12.7×10^{-5}	4.7×10^{-5}	0.05×10^{-5}	2.5×10^{-5}	-6.2×10^{-5}	3.2×10^{-5}	-0.6×10^{-5}	2.4×10^{-5}

Table 2. Date, time, latitude, longitude, density of total trichomes (Tri tot), density of free trichomes (Free tri) and density of *Trichodesmium* colonies (Col) for each detected *Trichodesmium* slick sampled. Note the “Tri tot” and “Free tri” are in magnitude of 10^5 , while “Col” is in magnitude of 10^3 .

Date	Time (GMT)	Lat	Lon	Tri tot ($L^{-1} \times 10^5$)	Free tri ($L^{-1} \times 10^5$)	Col ($L^{-1} \times 10^3$)
11/11/2012	17:20	-28.28	-48.09	4.7	1.1	1.8
11/20/2012	13:10	-24.29	-44.19	21.1	1.5	9.8
05/13/2013	20:50	-33.79	-50.90	12.7	2.2	5.2
06/04/2013	10:30	-27.11	-46.41	1.7	0.5	0.6
06/07/2013	13:50	-25.5281	-45.30	109.0	0.4	54.3
06/08/2013	12:06	-25.1275	-44.86	32.1	2.6	14.8
06/11/2013	19:00	-24.2763	-43.37	33.6	12.7	10.5
06/04/2014	11:56	-24.0695	-43.68	13.5	5.9	3.8
12/05/2014	09:30	-28.6623	-47.79	212.6	46.9	82.9
12/05/2014	13:25	-28.6407	-47.35	60.5	5.3	27.6
12/07/2014	17:25	-27.1073	-46.41	24.5	16.8	3.8
12/08/2014	11:30	-26.7202	-46.33	28.2	9.2	9.5
12/09/2014	08:45	-26.3359	-45.92	70.1	30.1	20
12/09/2014	11:50	-26.3193	-45.47	28.8	7.8	10.5

Table 3. Estimated coefficients of environmental factors influencing trichomes density through a multiple linear regression.

	Variables	Coeffic	St Dev	P-value
No Slicks	Intercept	2.35	0.08	$< 2 \times 10^{-16}$ *
	Phosph	0.3	0.1	0.005 *
	Nitrog	-0.37	0.09	7×10^{-05} *
	Wind Speed	-0.36	0.08	6×10^{-05} *
	MLD	-0.14	0.09	0.1
	BV_25m	-0.22	0.1	0.04 *
	Temp	0.68	0.1	1×10^{-07} *
	Wind Diverg	-0.18	0.08	0.03 *
Slicks	Intercept	38.3	2.8	7×10^{-07} *
	Phosph	12	3.2	0.005 *
	Wind Speed	1.5	4.3	0.73
	MLD	-6	5	0.27
	BV_25m	-8.7	5.5	0.04 *
	Temp	10.3	3.7	0.04 *
	Wind Diverg	10.3	4.6	0.04 *
(*) Variables with significant influence (P-value < 0.05) on the density of trichomes				

APÊNDICE 2

Este apêndice refere-se ao artigo intitulado “*Toxic Trichodesmium bloom occurrence in the southwestern South Atlantic Ocean*”. O artigo foi publicado no periódico “Toxicon”.

Short communication**Toxic *Trichodesmium* bloom occurrence in the southwestern South Atlantic Ocean**

Amália Maria Sacilotto Detoni ^{a, b, *}

Luiza Dy Fonseca Costa ^{b, c}

Lucas Abrão Pacheco ^{b, c}

João Sarkis Yunes ^b

^aPostgraduate Program in Biological Oceanography - Institute of Oceanography - Federal University of Rio Grande, Av. Italia, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900, Brazil

^bLaboratory of Cyanobacteria and Phycotoxin - Institute of Oceanography - Federal University of Rio Grande, Av. Italia, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900, Brazil

^cPostgraduate Program in Physical, Chemical and Geological Oceanography - Institute of Oceanography - Federal University of Rio Grande, Av. Italia, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900, Brazil

*Corresponding author: Tel. +55 53 32336737, e-mail: amaliadetoni@gmail.com

Abstract

Harmful *Trichodesmium* blooms have been reported on the continental slope of the southwestern South Atlantic Ocean; we sampled six such blooms. The highest saxitoxin concentration was observed where the number of colonies was proportionally greater relative to the total density of trichomes. *Trichodesmium* blooms are harmful to shrimp larvae and may lead to plankton community mortality. This study is the first record of neurotoxic blooms in the open waters of the South Atlantic.

Keywords: *Trichodesmium*, continental slope, saxitoxin concentrations, South Atlantic, oceanic bloom

The genus cyanobacterium *Trichodesmium* forms extensive blooms on the ocean's surface in tropical and subtropical regions and coastal and oceanic areas with water temperatures greater than 20°C, strong water column stratification and low nutrient levels (Hood et al., 2004; Fernández et al., 2010).

On the east coast of Brazil, *Trichodesmium* blooms have been reported during spring and summer seasons (Sato et al., 1963; Gíanesella-Galvão et al., 1995; Rorig et al., 1998a; Rorig et al., 1998b; Naithirithi et al., 2005; Silva, 2005; Siqueira et al., 2006; Carvalho et al., 2008; Proença et al., 2009). These studies describe cyanotoxin production by *Trichodesmium*, which produces allergenic symptoms (Silva, 2005) and neurotoxins (Proença et al., 2009).

Trichodesmium blooms can be harmful for pelagic organisms that eat cells containing toxins but also by large accumulation biomass that clog fish gills and then lead to mortality in fish and shrimp larvae (D'Silva et al., 2012). Nevertheless, Preston et al. (1998) and Negri et al. (2004) stated that shrimp larvae and juvenile oysters did not exhibit poisoning or damage, but they did not consume sufficient nutrients for larval

development. *Trichodesmium* is a nutritionally poor source for a predator's metabolism compared with other phytoplankton genera. Silva (2005) reported that, a few days after a major *Trichodesmium* bloom on the southeast coast of Brazil, dead bryozoans covered beaches, extending for kilometers. However, few quantitative data are available on cyanotoxin concentrations associated with *Trichodesmium* blooms in the open sea.

Fourteen records of extensive blooms in the open sea within the study area were sampled by four oceanographic cruises over three consecutive years (2012-2014). In December 2014, six large *Trichodesmium* blooms were observed and sampled in the continental shelf-break area between isobaths at 200 m and 2000 m (Fig. 1). Our aim is to report the first occurrence of large, harmful *Trichodesmium* slicks on the shelf-break between the latitudes 26°S and 28°S in the southwestern South Atlantic Ocean. This study also investigates and quantifies on potential neurotoxins in *Trichodesmium* blooms.

The surface water temperature and salinity were measured using the profiler sensor CTD (SeaBird CTD/Carrousel 911+system®). At each *Trichodesmium* slick, we collected a water sample 15 m deep using a Van-Door bottle for inorganic dissolved-nutrient analyses, including analyses for phosphate (PO_4^{3-}), nitrate (NO_3), nitrite (NO_2) and ammonium (NH_4). The sample was filtered through a cellulose acetate filter (0.45 μm), and the filtrate was immediately frozen in a freezer for later analyses in the laboratory. The wind speed was obtained from the Advanced Scatterometer (ASCAT) aboard the Meteorological Operational Polar Satellite (MetOp-A) with the spatial resolution 0.25°. The data were acquired from the <ftp://ftp.ifremer.fr/ifremer/cersat/products/gridded/mwf-ascats/data/daily/Netcdf/> site of

the Laboratoire D'Océanographie Spatiale, the French Research Institute for Exploitation of the Sea.

Samples from the *Trichodesmium* bloom surface were preserved in a 4% formalin solution in dark glass bottles. To count the colonies and trichomes, we added 1 mL of acetic acid to collapse the gas vesicles in the *Trichodesmium* cells, which facilitated sedimentation (adapted from Cronberg et al., 2004).

The trichomes and colony counts were performed in the settling chamber using the Utermöhl method (1958) with a 100x increase by an inverted microscope. The trichomes and colonies were counted in half or full chambers. For the total trichome count, the number of free trichomes was added to the number of colonies and converted into the trichome equivalent per liter using the value 200 trichomes col^{-1} (Carpenter, 1983). For conversion to cells it was assumed, on the basis of previous measurements, that there were 120 cells per trichome (Carpenter and Romans, 1991).

The *Trichodesmium* bloom samples were collected at the surface water using a bucket and were filtered using glass fiber filters (0.7 μm) GF/F (Whatman®) at volumes ranging from 60-470 mL until the filter was clogged. To remove the sea salt, the filters were washed with distilled water and transported in liquid nitrogen to the laboratory and then maintained in an ultrafreezer at -80°C until they were analyzed. The presence of cyanotoxins was investigated using high-performance liquid chromatography (HPLC) with post-column derivatization and fluorescence detection (Rourke et al., 2008).

For the total saxitoxin analyses, variants of Gonyautoxin standards (GTX-1, GTX-2, GTX-3, GTX-4 and GTX-5) and three saxitoxins (Neosaxitoxin (NeoSTX), Decarbamoylsaxitoxin, and DcSTX) were used in addition to the saxitoxin (STX) standard. All standard analyses were done in triplicate. Control experiments (mobile

phase and 0.05N hydrochloric acid) were also performed in triplicates. Further, the chlorophyll-a pigments and their degradation products were analyzed by HPLC following the method described in Mendes et al. (2007).

A *Trichodesmium* bloom sample was collected using a bucket, concentrated in a 50 μm plankton net and washed with distilled water to remove the sea salt. In the laboratory, the sample was lyophilized to dry in a lyophilizer (Edwards Micromodulyo). The lyophilized powder was used to test for toxicity in a 3.5-mg mL^{-1} seawater solution. The equivalent saxitoxin content in the lyophilized powder was determined using an extract solution composed of 76 mg mL^{-1} at 0.05N HCL. The toxicity experiments were performed using post-larvae (45 days old) of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. The experiments were performed over 96 hours at the concentrations of 0; 0.22; 0.44; 0.88; 1.75; 3.50 mg mL^{-1} of seawater and were performed in triplicate with a minimum of 5 animals per concentration; the animals were fed using shrimp rations. The lethal concentration (LC) was calculated using the trimmed Spermann-Karber method.

In the blooms, the surface seawater temperature ranged between 24°C and 25.2°C, and the salinity ranged between 36.2 and 37.2, which is characteristic of the Tropical Water mass presence (Möller et al., 2008). This water mass is warm, saline, with low levels of dissolved nutrients (Braga and Niencheski, 2006) and flows towards the south with the Brazil current in the continental slope area (Möller et al., 2008).

The dissolved inorganic nitrogen (NO_3 , NO_2 , and NH_4) and PO_4^{-3} ranged from 0.79 μM to 1.42 μM and 0.01 μM to 0.13 μM , respectively. These values indicate moderate levels of nitrogen and low levels of phosphorus compared with values observed in the same region (0.05 – 2.55 μM NO_3 and 0.03 – 0.95 μM PO_4^{-3}) (Braga and Niencheski, 2006). Low PO_4^{-3} levels indicate that it was likely assimilated by the bloom trichomes.

The dissolved inorganic nitrogen is the main limiting resource for primary production in the open ocean. Nevertheless, at lower levels, *Trichodesmium* continue to fix molecular nitrogen N_2 , but, metabolically, the energy cost is high (Lenes et al., 2005). At the observed blooms, the wind speed was low and slightly variable ($5.6 - 7 \text{ m s}^{-1}$). Such wind conditions may induce convergence processes at the seawater surface on a small time scale (Thorpe, 2004). The convergence and / or low wind intensity facilitates trichome aggregation that, due to presence of buoyant gas vesicles in the cytoplasm, remains floating on the surface, which favors blooms or surface accumulation of *Trichodesmium* (Carpenter et al., 2004).

Trichodesmium was the only microplankton (20 to 200 μm) identified; no other phytoplankton groups in this size range were observed in the samples analyzed using microscopy. However, in relation to zooplankton, nauplii and copepodites of the pelagic copepod *Macrosetella* were observed living in association with free trichomes and colonies of the *Trichodesmium*.

Trichodesmium were predominantly observed as free trichomes (0.5×10^6 to 5×10^6 trichomes L^{-1}); however, trichomes in colonies were observed in all blooms ranging from 4×10^3 to 83×10^3 colonies L^{-1} (Table 1). The total trichome density ranged from 2.45×10^6 to 21.3×10^6 trichomes L^{-1} (Table 1).

The photosynthetic pigment analyses using HPLC facilitated separation, identification and quantification of three types of chlorophyll-a degradation products: chlorophyllide-a, pheophytin-a and pheophorbide-a, which are an index for the trichome physiological conditions. The degradation products exhibited low concentrations at 1 to 3% of the chlorophyll-a concentration, which ranged from 19.48 to 170 $\mu\text{g L}^{-1}$. These data indicate that the *Trichodesmium* blooms presented cells in a healthy physiological condition, and the neurotoxins that were analyzed were inside the cells. Thus, we infer

that the blooms do not pose an apparent risk for plankton organisms as *Trichodesmium* are presented mainly as free trichomes, which makes them easier to be grazed by the zooplankton.

The equivalent saxitoxin concentrations (STX-eq) ranged from 0.45 to 3.9 $\mu\text{g L}^{-1}$; GTX-4 was the main variant of this neurotoxin in the blooms (Table 1).

The free trichome density was greater than the colony density in all blooms, but a high quantity of trichomes per colony contributes to a large percentage of the total trichome density. High concentrations of STX-eq (3.9 $\mu\text{g L}^{-1}$ at M2, and 1.96 $\mu\text{g L}^{-1}$ at M6) were observed in the blooms wherein the colonies densities composed showed great proportion of the total trichome density (91% and 73%) (Table 1). The concentrations of STX-eq per cells were also both the highest, with 0.54×10^{-8} and $0.57 \times 10^{-8} \mu\text{g cell}^{-1}$, respectively. The minor contribution of colonies (31%) relative to the total density of trichomes showed 1.27 $\mu\text{g L}^{-1}$ of STX-eq and $0.43 \times 10^{-8} \mu\text{g STX-eq cell}^{-1}$ (Table 1). On the other hand, the lowest STX-eq per cells was at M1 bloom ($0.02 \times 10^{-8} \mu\text{g cell}^{-1}$), which presented 78% of the colonies proportion density composed, but also exhibited the highest degradation pigments concentration (3% of the chlorophyll-a concentration). *Trichodesmium* predominates as free trichomes and, this make them very liable to be manipulated and eaten by the zooplankton. These data may indicate that *Trichodesmium* tends to form colonies in higher numbers, presumably to increase toxins concentrations and becoming a larger size prey. Also, colonies of *Trichodesmium* offer habitat by providing an oasis in the open ocean, harboring a community of heterotrophic organisms (Hewson et al., 2009).

Trichodesmium trichomes were offered to the white shrimp *Litopenaeus vannamei* 45 days old post-larvae; toxicity results show a lethal concentration of 50% ($\text{CL}_{50-96 \text{ hs}}$) at 0.66 mg mL^{-1} of the bloom lyophilized powder. The STX-eq concentration in the

lyophilized powder was $2.6 \mu\text{g g}^{-1}$ (d.w.); thus, the LC_{50} STX-eq for *Litopenaeus vannamei* 45 days old post-larvae is $1.712 \mu\text{g mL}^{-1}$ (or $1712 \mu\text{g L}^{-1}$ of STX). Therefore, the most toxic bloom was $400\times$ lower than the concentration that kills 50% of the planktonic larvae upon exposure to trichomes toxin for up to 4 days. Considering that the concentration of STX-eq at $3\times$ lower than the LC_{50} concentration caused death in certain organisms in our experiments ($570.6 \mu\text{g L}^{-1}$), the same calculations would yield the conclusion that the most toxic bloom sampled in this study would include only $146\times$ the concentration that produces lethality in zooplankton that contact the *Trichodesmium* bloom for up to 4 days.

Most groups of pelagic copepod (e.g., calanoid) filter feeders cannot handle large filamentous cyanobacteria (Hawser et al., 1992); thus, these groups avoid the blooms. However, the group of pelagic zooplankton harpacticoide *Macrosetella gracilis* has evolved a strategy to support planktonic life. Due to the low swimming ability of the harpacticoide group, *Trichodesmium* provides flotation and a physical substrate for these organisms in addition to production of neurotoxins. Thus, *Trichodesmium* protects this harpacticoida zooplankton *M. gracilis* against predation for their eggs, nauplii and juvenile copepodites (Eberl and Carpenter, 2007).

On the other hand, an extract of *Trichodesmium* bloom was offered (1 mg mL^{-1}) to *Artemia salina*, which showed a 40% mortality for the population after 48 hs, and 27% of the population was dead after 24 hs of incubation (Narayana et al., 2014). In genotoxicity studies on an extract of a *Trichodesmium erythraeum* bloom, the bloom extracted damaged human lymphocyte DNA (Narayana et al., 2014).

Due to the potential toxicity of these *Trichodesmium* blooms, we infer that the oceanic blooms remain buoyant on the ocean surface, do not have a top-down control, and can be advected in coastal areas. Upon reaching these areas, the bloom may accumulate and

the cells may become broken and senescent, the saxitoxins being released in seawater becoming a risk to the plankton community and other local communities, as in the bryozoan deaths described in Silva (2005), as well as for damage in human cells, as described by Narayan et al. (2014).

Acknowledgement

The authors would like to thank the TALUDE Project for the opportunity to collect data for this study and the crew of the Federal University of Rio Grande research ship “*Atlântico Sul*” for their assistance and for contributions to all cruise activities. We are very grateful to Chevron Brazil for financing the TALUDE Project. A.M.S. Detoni and L.D.F. Costa were funded by the CAPES Foundation and FAPERGS/CAPES, respectively.

References

- Braga, E.S., Niencheski, L.F.H., 2006. Composição das massas de água e seus potenciais produtivos na área entre o Cabo de São Tomé (RJ) e o Chuí (RS), in: Rossi-Wongtschowski, C.L.D.B., Madureira, L.S.P. (Eds.), *O Ambiente Oceanográfico da Plataforma Continental e do Talude na Região Sudeste-Sul do Brasil*, EDUSP, São Paulo, pp. 161–218.
- Carpenter, E.J., 1983. Nitrogen fixation by marine *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) in the world's oceans, in: Carpenter, E.J., Capone, D.G. (Eds.), *Nitrogen in the Marine Environment*, Elsevier, New York, pp. 65–103.
- Carpenter, E.J., Romans, K., 1991. Major Role of the Cyanobacterium *Trichodesmium* in Nutrient Cycling in the North Atlantic Ocean. *Science* 254, 1356-1358.

- Carpenter, E.J., Subramaniam, A., Capone, D.G., 2004. Biomass and primary productivity of the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. in the tropical N Atlantic ocean. *Deep-Sea Res PT I*. 51, 173–203.
- Carvalho, M., Gianessela, S.M.F., Saldanha-Corrêa, F.M.P., 2008. *Trichodesmium erythraeum* bloom on the continental shelf off Santos, Southeast Brazil. *Braz J Oceanogr*. 56, 307–311.
- Cronberg, G., Carpenter, E.J., Carmichael, W.W., 2004. Taxonomy of harmful cyanobacteria, in: Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D. (Eds.), *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Unesco Publishing, France, pp. 523–562.
- D'Silva, M.S., Anil, A.C., Naik, R.K., D'Costa, P.M., 2012. Algal blooms: a perspective from the coasts of India. *Nat Hazards*. 63, 1225–1253.
- Eberl, R., Carpenter, E.J., 2007. Association of the copepod *Macrosetella gracilis* with the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. in the North Pacific Gyre. *Mar Ecol Prog Ser*. 333, 205–212.
- Fernández, A., Mouriño-Carballido, B., Bode, A., Varela, M., Marañón, E., 2010. Latitudinal distribution of *Trichodesmium* spp. and N₂ fixation in the Atlantic Ocean. *Biogeosciences*. 7, 3167–3176, doi:10.5194/bg-7-3167-2010.
- Gianesella-Galvão, S.M.F., Costa, M.P.F., Kutner, M.B.B., 1995. Bloom of *Oscillatoria (Trichodesmium) erythraea* (Ehr.) Kutz. in coastal waters of the Southern Atlantic. *Publ Esp Inst Oceanogr*. 11, 133–140.
- Hawser, S.P., O'Neil, J.M., Roman, M.R., Codd, G.A., 1992. Toxicity of blooms of the *Trichodesmium* to zooplankton. *J Appl Phycol*. 4, 79–86.
- Hewson, I., Poretsky, R.S., Dyhrman, S.T., Zielinski, B., White, A.E., Tripp, H.J., Montoya, J.P., Zehr, J.P., 2009. Microbial community gene expression within

- colonies of the diazotroph, *Trichodesmium*, from the Southwest Pacific Ocean. ISME. 3, 1286-1300.
- Hood, R.R., Coles, V.J., Capone, D.G., 2004. Modeling the distribution of *Trichodesmium* and nitrogen fixation in the Atlantic Ocean. J Geophys Res. 109, C06006, doi:10.1029/2002JC001753.
- Lenes, J.M., Walsh, J.J., Otis, D.B., Carder, K.L., 2005. Iron fertilization of *Trichodesmium* off the west coast of Barbados: A one-dimensional numerical model. Deep-Sea Res PT I. 52, 1021–1041.
- Möller Jr, O.O., Piola, A.R., Freitas, A.C., Campos, E.J.D., 2008. The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. Cont Shelf Res. 28, 1607–1624.
- Mendes, C.R., Cataxana, P., Brotas, V., 2007. HPLC determination of phytoplankton and microphytobenthos pigments: comparing resolution and sensitivity of a C₁₈ and a C₈ method. Limnol Oceanogr: Meth. 5, 362–370.
- Narayana, S., Chitra, J., Tapase, S.R., Thamke, V., Karthick, P., Ramesh, Ch., Murthy, K.N., Ramasamy, M., Kodam, K.M., Mohanraju, R., 2014. Toxicity studies of *Trichodesmium erythraeum* (Ehrenberg, 1830) bloom extracts, from Phoenix Bay, Port Blair, Andamans. Harmful Algae. 40, 34–39.
- Naithirithi, T.C., Lima, A.K.A., Chellappa, T., 2005. Occurrence and dominance of an invasive toxin producin marine cyanobacteria into mangrove environment of the Potengi river estuary, in Natal, Rio Grande do Norte State, Brazil. Arq C Mar. 38, 19–27.
- Negri, A.P., Bunter, O., Jones, B., Llewellyn, L., 2004. Effects of the bloom-forming alga *Trichodesmium erythraeum* on the pearl oyster *Pinctada maxima*. Aquaculture. 232, 91–102.

- Preston, N.P., Burford, M.A., Stenzel, D.J., 1998. Effects of *Trichodesmium* spp. blooms on penaeid prawn larvae. *Mar Biol.* 131, 671–679.
- Proença, L.A.O., Tamanaha, M.S., Fonseca, R.S., 2009. Screening the toxicity and toxin content of blooms of the cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum* (ehrenberg) in Northeast Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins.* 15, 204–215.
- Rorig, L.R., Yunes, J.S., Kuroshima, K.N., Schetinni, C.A.F., Pezzuto, P.R., Proença, L.O.A., 1998a. Studies in the ecology and toxicity of *Trichodesmium* spp. blooms in southern Brazilian coastal waters. in: Reguera, B, Blanco, J., Fernández, M.L, Wyatt, T. (Eds.), *Harmful algae*. Xunta de Galicia and IOC-UNESCO 1, pp. 22–25.
- Rorig, L.R., Guimarães, S.C.P., Luigli, D.O., Proença, L.A.O., Manzoni, G.C., Marenzi, A.C., 1998b. Monitoração de microalgas planctônicas potencialmente tóxicas na área de maricultura da enseada de Armação de Itapocoroy - Penha - SC. *Notas tec. Facimar.* 2, 71–79.
- Rourke, W.A., Murphy, C.J., Pitcher, G., van de Riet, J.M., Burns, B.G., Thomas, K.M., Quilliam, M.A., 2008. *J.AOAC Int.* 91, 589–597
- Sato, S., Paranaguá, M.N., Eskinaza, E., 1963. On the mechanism of red tide of *Trichodesmium* in Recife northeastern Brazil, with some considerations of the relation to the human disease, 'Tamandare fever'. *Trab. Inst. Oceanogr. Univ. Recife.* 5, 7–49.
- Silva, L.M., 2005. Ocorrência de cianobactérias no estuário e costa adjacente à Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS: avaliação preliminar dos riscos a balneabilidade. Master dissertation. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica. FURG, Rio Grande, RS, Brasil, 144p.

- Siqueira, A., Kolm, H.E., Brandini, F.P., 2006. Offshore distribution patterns of the cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum* Ehrenberg and associated phyto- and bacterioplankton in the Southern Atlantic Coast (Paraná, Brazil). *Braz Arch Biol Techn.* 49, 323–337.
- Thorpe, S.A., 2004. Langmuir Circulation. *Annu Rev Fluid Mech.* 36, 55–79, doi:10.1146/annurev.fluid.36.052203.071431.
- Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.* 09, 01–38.

FIGURES AND TABLES CAPTIONS

Figure 1. Map of the South Atlantic Ocean. The black square in (A) shows the sampled area in the southwest of the South Atlantic Ocean (B). A map of the sampled area; the bloom locations are indicated with red dots. The black arrow indicates the direction and location of the Brazil Current (BC) flow.

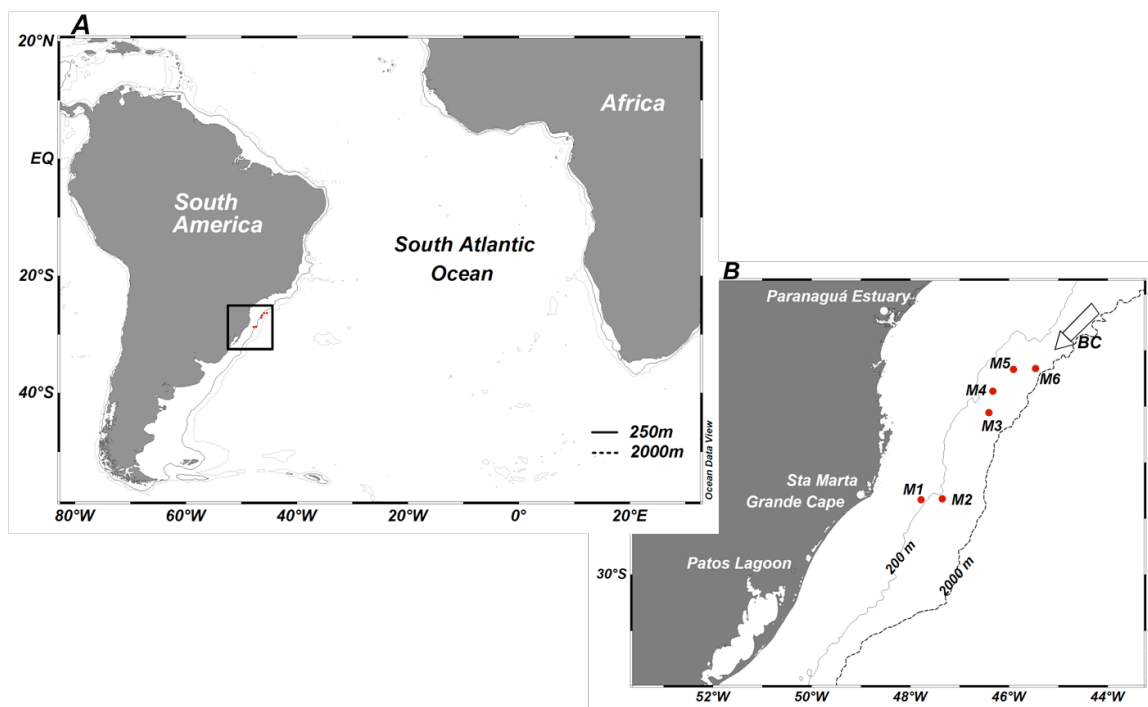


Figure 2. Left chromatograms show the different saxitoxin variant standards in order of time retention: GTX-4, GTX-1, GTX-5, GTX-3, GTX-2, gradient, Neo-STX, and dc STX, STX, which represent (a) standards used to quantify the *Trichodesmium*'s blooms in the glass fiber filters; (b) standards used to quantify *Trichodesmium* spp. in the lyophilized powder. Right chromatograms show different saxitoxins variants present in *Trichodesmium* spp. blooms in time retention order: (c) GTX-4 and GTX-2 and in the samples of *Trichodesmium*'s blooms in the glass fiber filters (d) GTX-4, GTX-1, GTX-3 and Neo-STX in the lyophilized powder.

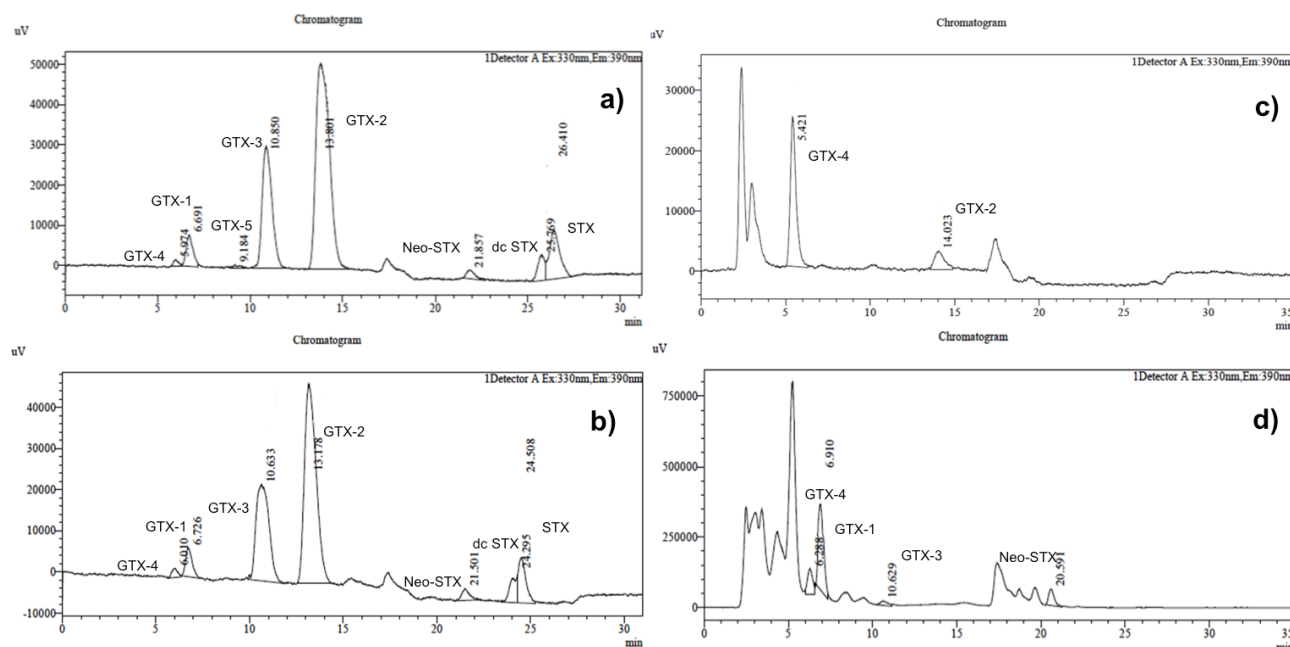


Table 1. *Trichodesmium* spp. blooms sampled, dates and time of these events, total number of counted trichomes, number of free trichomes, number of colonies, saxitoxin equivalent concentrations (STX eq.), gonyautoxin-2 concentrations (GTX-2), gonyautoxin-4 concentrations (GTX-4) and the saxitoxin equivalent concentrations per cell of *Trichodesmium* spp..

Blooms	Date / Time	Total trichomes L ⁻¹ (x10 ⁶)	Free trichomes L ⁻¹ (x10 ⁶)	Colonies L ⁻¹ (x10 ³)	STX eq. (µg L ⁻¹)	GTX-2 (µg L ⁻¹)	GTX-4 (µg L ⁻¹)	STX eq. (µg cell ⁻¹) (x10 ³)
M1	Dec. 05 / 09:31	21.26	4.69	82.86	0.45	0.01	0.44	0.02
M2	Dec. 05 / 13:24	6.05	0.53	27.62	3.91	0.02	3.89	0.52
M3	Dec. 07 / 17:25	2.45	1.68	3.81	1.27	0.01	1.26	0.42
M4	Dec. 08 / 11:30	2.82	0.92	9.52	1.69	0.10	1.59	0.50
M5	Dec. 09 / 08:45	7.01	3.01	20.00	2.06	0.48	1.59	0.23
M6	Dec. 09 / 11:52	2.88	0.78	10.48	1.96	0.02	1.94	0.57

APÊNDICE 3

Este apêndice refere-se ao artigo intitulado “*Quantitative effects of Trichodesmium trichomes density in the spectral light absorption coefficients in natural waters*”. O artigo está em fase de preparação.

**Quantitative effects of *Trichodesmium* trichomes density in the spectral light
absorption coefficients in natural waters**

Amália Maria Sacilotto Detoni ^{a*}

Aurea Maria Ciotti ^b

*^aLaboratório de Cianobactéria e Ficotoxinas – Instituto de Oceanografia –
Universidade Federal do Rio Grande, Av. Italia, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900,
Brazil*

*^b Laboratório Aquarela - Centro de Biologia Marinha (CEBIMar), Universidade de
São Paulo, Brazil, Rod Manuel Hipolito do Rego Km 131,5 São Sebastião SP 11600-
000*

*Corresponding author: Tel. +55 53 32336737, e-mail: amaliadetoni@gmail.com

Resumo

Keywords: photosynthetic pigments, density of trichomes, absorption of detritus, phycoerythrin, waters of continental slope.

Introdução

Trichodesmium é um gênero de cianobactérias, desprovido de heterocitos, mas com capacidade de fixar nitrogênio atmosférico ao mesmo tempo que realiza a fotossíntese, desempenhando assim um importante papel no ciclo biogeoquímico nos oceanos (Falkowski et al. 1998, Bergman et al. 2012). As células de *Trichodesmium* se organizam em tricomas isolados, mas que frequentemente se agregam em colônias com duas formas distintas (puffs – colônias esféricas e tufts – colônias fusiformes). Espécies de *Trichodesmium* ocorrem em oceanos tropicais e subtropicais, e seus tricomas e colônias episodicamente compõe extensos acúmulos de biomassa na superfície de águas oligotróficas (Capone et al. 1997, Karl et al. 2002, Snow et al. 2015). Esse padrão de distribuição não homogêneo, faz a quantificação de sua abundância nos oceanos desafiadora através de medidas convencionais de abundância de fitoplâncton. De fato, são poucos os registros disponíveis na literatura contendo quantificações diretas de tricomas e colônias por enumeração em microscópio no oeste do Atlântico Sul (Tyrrell et al. 2003, Detoni et al., submetido).

O sensoriamento remoto tem sido utilizado como uma ferramenta para detecção e quantificação de *Trichodesmium* nos oceanos (Subramaniam et al. 2002, Westberry et al. 2005), cujos fundamentos e aplicações foram apresentados recentemente por uma revisão feita por McKinna (2015). Os algoritmos aplicados, especificamente para as imagens de cor do oceano, estimam a concentração da clorofila-*a* superficial que pode ser atribuída especificadamente a *Trichodesmium*, utilizando valores constantes de

concentração de clorofila-*a* por tricoma ou colônia, a partir de medidas realizadas em laboratório (Subramaniam et al. 1999b, Westberry et al. 2005) ou *in situ* (Subramaniam et al. 2002). As imagens de cor do oceano processadas por esses algoritmos são, assim, utilizadas para mapear acúmulos de *Trichodesmium* quando esses ocorrem em extensões compatíveis às resoluções espaciais dos sensores de cor do oceano (Subramaniam et al. 2002, Desa et al. 2005). Além disso, as bandas espectrais padrão presentes dos sensores de cor do oceano tem mostrado baixo desempenho nos algoritmos propostos (Chauhan et al. 2002), pois estão centradas em regiões do espectro visível que não detectam pigmentos exclusivos a esse grupo (e.g, ficobilinas), assim, esses algoritmos são ainda incapazes de estimar a abundância de *Trichodesmium* na superfície do oceano (IOCCG 2012). O desenvolvimento de futuros algoritmos ainda depende de uma maior base de dados *in situ* qualitativas e quantitativas que incluam medidas óticas simultâneas a identificação taxonômica por microscopia ou imageamento do plâncton, ou até mesmo por quimiotaxonomia.

As medidas óticas necessárias para o melhor o entendimento dos processos que alteram o comportamento espectral da luz na superfície dos oceanos quando *Trichodesmium* estão presentes (ver McKinna 2015) incluem observações do retro-espalhamento e da absorção espectral da luz, sendo a última influenciada pela composição e concentração interna de pigmentos.

Trichodesmium possui as três classes principais de pigmentos presentes no fitoplâncton marinho: clorofilas, carotenoides e ficobilinas, e seu espectro de absorção de luz tem comportamento espectral peculiar (Subramaniam et al. 1999a, Dupouy et al. 2008) com picos adicionais aos da clorofila-*a* (438 e 676 nm) que correspondem aos carotenoides (463nm), ficourobilina (PUB, 496 nm), ficoeritrobilina (PEB, 545 nm), ficoeritrocianina (PEC, 578 nm) e ficocianina (PC, 621 nm), além dos aminoácidos

micosporina (MAA's), que absorvem a luz na região Ultravioleta (UV) entre 300 e 360 nm. As feições espectrais mais características nas curvas de absorção de luz de *Trichodesmium* estão associadas às ficobiliproteínas (Moreth and Yentsch 1970, Sobiechowska-Sasim et al. 2014), onde essas feições, entre os comprimentos de onda de 500 a 650 nm, não tem sido observadas em oceanos abertos na ausência de *Trichodesmium* (Fujita e Shimura 1974, Borstad et al. 1992, Subramaniam et al. 1999a).

Variações no espectro de absorção da luz e composição de pigmentos de *Trichodesmium* são observados tanto em cultivos de laboratório como no ambiente natural (Subramaniam et al. 1999a, Neveux et al. 2008). Diferentes espécies de *Trichodesmium* em cultivo apresentam comportamentos espectrais distintos em resposta às diferentes condições de luz de crescimento (Neveux et al. 2008) ou diferentes razões PUB:PEB (Hynes et al. 2012). Além disso, as condições fisiologias dos tricomas de *Trichodesmium*, determinadas por fatores ambientais, e sua disposição na superfície dos oceanos podem alterar as suas características bio-óticas (Neveux et al. 2006, Dupouy et al. 2008). A concentração interna de pigmentos é um fator importante condicionando o seu grau de empacotamento, que altera a eficiência da absorção de luz de organismos fitoplânctônicos (Duyens 1956) e tem papel importante em tricomas e colônias de *Trichodesmium* (Subramaniam et al. 1999a). Porém, muitas lacunas ainda existem em explicar as variações do espectro de absorção da luz por *Trichodesmium* em amostras naturais, e até que ponto essas variações representam fotoadaptação ou fotoaclimatação ou condições fisiológicas (Neveux et al. 2008, Hynes et al. 2012).

Nesse estudo examinamos a variabilidade do coeficiente espectral de absorção de luz pelo fitoplâncton e suas possíveis relações com a abundância de tricomas de *Trichodesmium* na região da quebra de plataforma continental do sudoeste do Atlântico

Sul, região reportada como propícia ao desenvolvimento desses organismos, associado à dinâmica da Corrente do Brasil (Detoni et al. em revisão). Foram analisadas 176 estações oceanográficas de forma sistemática em alta resolução espacial ao longo da quebra de plataforma e talude continental, das quais 17 exibiam manchas, sendo tricomas e colônias quantificados por microscopia ótica. As colorações de cada mancha durante o cruzeiro variaram entre marrom-avermelhado e marrom-esbranquiçado (observação pessoal), sendo que as manchas de coloração marrom-esbranquiçado apresentavam espumas e alguns materiais em suspensão como penas de aves e pedaços de madeira, sugestivas de um certo grau de agregação física e possível degradação dos tricomas.

No presente trabalho testaremos a hipótese de que a magnitude da absorção da luz pode ser prevista pela densidade de tricomas de *Trichodesmium*, devido ao efeito pacote e consequente auto-sombreamento dos tricomas. Colônias de *Trichodesmium* tem sido reportadas como uma forma de minimizar os danos causados pela alta irradiância na superfície aonde ocorrem (Bell & Fu 2005). Também testaremos a hipótese de que amostras com um maior número de colônias apresentam um efeito pacote elevado. Investigaremos ainda se existem padrões do empacotamento que possam ser associados a um maior grau de degradação e maior número de colônias. O grau de degradação em cada mancha será investigado através de uma análise especulativa das magnitudes da absorção da luz pelo detrito no comprimento de onda 443 nm (comprimento de onda no qual todos os componentes são oticamente importantes) e da absorção da luz pelo fitoplâncton nos comprimentos de onda correspondentes aos pigmentos específicos de *Trichodesmium*. O principal objetivo deste artigo é investigar o efeito da densidade de tricomas de *Trichodesmium* e suas formas (tricoma individual e colônia) na variabilidade da magnitude da absorção da luz do fitoplâncton.

Materiais e Métodos

Cruzeiros Oceanográficos

A região amostrada se estende a partir de Cabo Frio (23°S) até o Chuí (33°S), e restringe a área entre a plataforma continental externa sudeste-sul brasileira e talude continental, aproximadamente entre as isóbaras de 200 m e 2000 m (Fig. 1A).

Nesta área de estudo foram realizados cruzeiros oceanográficos a bordo do Noc. Atlântico Sul, da Universidade Federal do Rio Grande, nos períodos de 10 de maio a 12 de junho de 2013 (Autumn-2013), 07 de maio a 05 de junho de 2014 (Autumn-2014) e 11 de novembro a 10 de dezembro de 2014 (Spring-2014), com observações feitas em 176 estações oceanográficas (Fig. 1B). Foram incluídos apenas dois registros de acúmulos de *Trichodesmium* coletados em um cruzeiro oceanográfico realizado em novembro de 2012 (Spring-2012) (Fig. 1A), totalizando 17 manchas de *Trichodesmium*, visíveis a olho nu (Tabela 1).

Contagem de tricomas

Para contagem de tricomas de *Trichodesmium* foram coletadas amostras de água de superfície em todas as estações oceanográficas e nas manchas (159 estações e 17 manchas). Foram coletados 10 L de água que foram passados por uma rede de 5 µm de diâmetro, para concentração dos organismos maiores do que 5 µm. A rede foi lavada delicadamente com água do mar filtrada para remover o material retido e armazená-lo em frascos âmbar de 150 mL com 2 mL de formol 4%, e esta concentração foi corrigida para a conversão de densidade de tricomas utilizando um fator de concentração de 66.67. Nas manchas, as amostras para contagem não foram concentradas.

As contagens de tricomas e colônias foram realizadas em câmara de sedimentação pelo método de Utermöhl (1958), no aumento de 100x em microscópio invertido. Antes do

início do processo de sedimentação da amostra, foi adicionado 1 mL de ácido acético para romper as vesículas de gás das células de *Trichodesmium*, facilitando a sua sedimentação (adaptado de Cronberg *et al.*, 2004).

Tricomas e colônias foram contados em meia ou câmara inteira. Para a estimativa de tricomas totais, o número de tricomas livres foi somado ao número de colônias convertido, utilizando um valor de 200 trichomes col^{-1} (Carpenter, 1983).

O conjunto de dados total foi separado em dois grupos, amostras das manchas de *Trichodesmium* (“Slicks”), as quais foram visualmente identificadas na superfície do oceano pela cor da água vermelho/marrom, e as amostras sem manchas de *Trichodesmium* (“No Slicks”), onde a cor da água era azul.

Medidas da absorção da luz pelo fitoplâncton

Amostras de água de superfície foram coletadas em todas as estações oceanográficas com o auxílio de um balde para medida do coeficiente espectral de absorção da luz pelo fitoplâncton. Foram filtrados de 1 a 2 L de água do mar em filtros de fibra de vidro GF/F (Whatman®, porosidade nominal de 0.7 μm , diâmetro 25mm). Nas áreas com manchas de *Trichodesmium*, o volume filtrado variou entre 30 e 500 mL até a saturação do filtro. Após filtração, os filtros foram imediatamente colocados em freezer -20°C e, ao final do dia, armazenados em nitrogênio líquido. Após chegada em laboratório, os filtros foram transferidos para um ultrafreezer (-80°C) e mantidos ao abrigo da luz até o momento da análise.

As amostras foram analisadas em espectrofotômetro Perkin Elmer UV/VIS Lambda 35, equipado com uma esfera integradora (RSA PE 20) antes e depois da extração de pigmentos com Hipoclorito de Sódio 1% (adaptado de Tassan e Ferrari, 1995), cujo material se refere a todas as partículas presentes desprovidos de pigmentos, incluindo organismos, denominados como “detritos” pela nomenclatura bio-ótica. As leituras da

Densidade Ótica de cada amostra foram feitas de 390 - 800 nm, com resolução de 1 nm.

Os cálculos para obtenção do coeficiente de absorção do fitoplâncton ($a_{\text{phy}}(\lambda)$) e do detrito ($a_{\text{det}}(\lambda)$), a partir das leituras de Transmitância e Reflectância da luz, seguiram o modelo proposto por Tassan e Ferrari (1995) e Tassan et al. (2002).

Para todas as amostras, computou-se o “fator de tamanho”(Sf) proposto em Ciotti et al. (2002), que é uma estimativa do grau de empacotamento de pigmentos, derivados pela decomposição da curva espectral da absorção da luz pelo fitoplâncton normalizada, ou seja, é independente da abundância. No modelo original, o parâmetro “Sf” varia de 1 a 0 para os extremos mínimos e máximos de efeito pacote respectivamente, observados em comunidades dominadas por células de pequenas a grandes. Neste trabalho, o modelo para o ajuste de Sf foi alterado, de forma a não restringir seu valor mínimo a zero, uma vez que se espera um maior efeito “pacote” resultante da agregação dos tricomas solitários em colônias.

Análise da concentração de clorofila-a e seus produtos de degradação

Amostras de água de superfície foram coletadas para medida da concentração de clorofila-a (Chl-a), em todas as estações oceanográficas e nas manchas de *Trichodesmium*. A análise foi realizada pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), segundo o método descrito em Mendes et al. (2007).

Apenas para as manchas de *Trichodesmium* foi investigada também a concentração dos produtos de degradação derivados da Chl-a. A análise por HPLC permite a separação, identificação e quantificação dos três tipos de produto de degradação: clorofilide-a, feofitina-a e feoforbide-a (Jeffrey et al. 1997).

Análises Estatísticas

Neste trabalho enfatizamos as amostras com densidade de tricomas superior a 15×10^3 tricomas L^{-1} (“Slicks”), que foi a densidade mínima de tricomas totais das estações que apresentaram tricomas visíveis a olho nu na superfície do mar. Também foi a densidade mínima de tricomas total que apresentou boa correlação com a absorção da luz referentes às feições dos pigmentos contidos em *Trichodesmium* (PUB – 496 nm, PEB – 545 nm e PC – 621 nm).

Somente para as amostras do grupo “Slicks”, foi aplicada a análise de agrupamento hierárquico que separa em diferentes grupos de amostras de acordo com o comportamento espectral.

Para investigar a condição fisiológica das manchas de *Trichodesmium*, foram calculadas as razões entre pigmentos, análises de regressão linear entre os dados de absorção da luz nos comprimentos de onda específicos para a clorofila (Chla – 676 nm) e para os pigmentos PUB, PEB e PC, em relação à concentração de clorofila-*a* por HPLC (Chl-*a*) e a densidade total de tricomas das manchas.

Baseado na detecção visual das manchas de *Trichodesmium* na superfície do oceano, o conjunto de dados do espectro de absorção da luz pelo fitoplâncton foram divididos entre dois grupos: estações identificadas visualmente pela coloração da água vermelho/marrom, onde a absorção da luz pelo fitoplâncton no comprimento de onda 545 nm foi superior a $0.25 m^{-1}$ (“Slicks”) (Fig. 3A), e estações onde a água apresentava cor azul, como em condições normais para águas do talude continental, e absorção da luz pelo fitoplâncton no 545 nm inferior a $0.25 m^{-1}$ (“No Slicks”) (Fig. 3B).

Resultados

Absorção da luz espectral visível e densidade de tricomas

O espectro de absorção média em “Slicks” mostra os principais picos de absorção dos pigmentos presentes em *Trichodesmium*: PUB, PEB e PC (Fig. 2). Também são apresentados os principais pigmentos presentes em *Trichodesmium* com seus respectivos comprimentos de onda de absorção da luz (Tabela 2).

Foi realizada uma análise de regressão linear, em escala logarítmica de ordem 10, entre a densidade de tricomas total e a absorção da luz em todos os comprimentos de onda do visível (380 – 750 nm) para os espectros de absorção “Slicks” e “No Slicks”. Para amostras consideradas na classe “Slicks”, os maiores coeficientes de determinação (r^2) 0.60 ($p = 0.0003$), 0.60 ($p = 0.0003$) e 0.62 ($p = 0.0002$), foram nos comprimentos de onda correspondentes aos pigmentos derivados de ficoeritrina: ficourobilina (PUB – 496 nm) e ficoeritrobilina (PEB – 545 nm), e o pigmento ficocianina (PC – 621 nm), respectivamente, além do comprimento de onda correspondente ao da clorofila-*a*, que apresentou $r^2 = 0.64$ ($p = 0.0002$). Porém, este método de regressão linear com transformação logarítmica dos dados mascarou a verdadeira relação entre as variáveis analisadas, onde os valores extremos (mínimos e máximos) são forçados a uma aproximação uns aos outros e impedindo a visualização do real comportamento espectral da correlação entre os altos valores de densidade de tricoma total e os de baixo valor de absorção da luz. Desta forma, ajustamos um modelo polinomial de ordem 2, aplicado aos valores brutos das variáveis “densidade de tricoma total” e “absorção da luz pelo fitoplâncton” (Tabela 2).

Os resultados do modelo polinomial mostram-se mais fiéis ao comportamento espectral da correlação entre as duas variáveis para os comprimentos de onda considerados, correspondentes aos pigmentos marcadores de *Trichodesmium*, embora com menores valores de r^2 , mas a soma dos resíduos foi próximo de zero (0.40 em PUB, 0.37 em PEB e 0.38 em PC) (Tabela 2).

Esta regressão polinomial se altera quando analisada somente com tricomas livres, apresentando os maiores r^2 (0.35, 0.30 e 0.30) nos comprimentos de onda 438, 463 e 676 nm, correspondentes a absorção da luz pelos pigmentos Chl-a (438 e 676 nm) e carotenoides (463 nm), respectivamente (Tabela 2). No grupo “No Slicks” não houve correlação entre a densidade de tricomas total, tricomas livres ou colônias e a absorção da luz pelo fitoplâncton ($r^2 < 0.025$).

Variabilidade da magnitude espectral da absorção de luz e concentração total de clorofila-*a*

As manchas de *Trichodesmium* (“Slicks”) apresentaram grande variação em amplitude nas magnitudes da absorção espectral máxima, variando entre 0.01 m^{-1} a 6 m^{-1} . Porém, entre todos os espectros de absorção da luz (“Slicks” e “No Slicks”), a maioria dos espectros das amostras “Slicks” se destacaram nitidamente dos demais espectros (Fig. 3A e B) pela maior magnitude da luz absorvida na faixa do visível (380 – 750 nm). Os espectros “Slicks” se divergem dos demais principalmente por apresentarem absorção numa faixa entre os comprimentos de onda 490 e 650 nm, onde os demais espectros apresentam uma depressão de baixa absorção da luz (Fig. 3A e B).

A relação entre o total de clorofila-*a* (mg m^{-3}) e a densidade de tricomas foi de $r^2 = 0.29$ (P-valor < 0.0001), para o conjunto de dados total (amostras “Slicks” e “No Slicks”) em escala logarítmica. Porém, somente para as amostras “Slicks” esta relação foi de $r^2 = 0.56$ (P-valor < 0.0001) (Fig. 4).

Estimativa do fator de tamanho (Sf) para os espectros de absorção da luz pelo fitoplâncton

A absorção do fitoplâncton foi parametrizada usando um fator de tamanho (Sf) afim de inferir informações sobre o efeito “pacote” detectado principalmente nas manchas de

Trichodesmium amostradas. Todos os espectros normalizados foram bem ajustados ao modelo ($r^2 > 0.94$).

O valor médio de Sf nas manchas foi de 0.17 (± 0.24), enquanto fora delas foi encontrado Sf médio de 0.43 (± 0.08).

A relação entre Sf e densidade de colônias, bem como densidade de tricomas individuais, ambas densidades em escala logarítmica de ordem 10, apresentaram correlações lineares negativas com $r = -0.55$ e $r = -0.41$, respectivamente, analisado para todo o conjunto de dados, i.e. os dois grupos juntos (“Slicks” e “No Slicks”).

O fator Sf em relação a concentração de Chl-a apresentou correlação exponencial, onde foi ajustada uma regressão polinomial de ordem 2, com valores de r^2 de 0.59, para o grupo “Slicks” e de 0.42 para “No Slicks”. Já a correlação polinomial analisada para cada grupo separadamente, entre Sf e o número de tricomas livres e colônias foram de 0.30 e 0.73 no grupo “Slicks”, e não apresentou correlação no grupo “No Slicks”.

A análise de agrupamento hierárquico aplicada às amostras do conjunto “Slicks” mostrou dois grupos distintos de acordo com o comportamento espectral da absorção de luz pelas manchas, grupo G1 e grupo G2 (Fig. 5). O G1 (N = 3) com menores densidades médias de tricomas individuais (512 tricomas L^{-1} (± 137)) e de colônias (12.5 colônias L^{-1} (± 12.5)), em relação ao G2 (N = 14) (10×10^5 tricomas L^{-1} ($\pm 4.2 \times 10^5$) e 17×10^3 colônias L^{-1} ($\pm 7.4 \times 10^3$)).

Índice fisiológico das manchas de *Trichodesmium* através da absorção da luz

A correlação entre a densidade de tricoma total e a absorção do fitoplâncton em 496 nm (PUB) na Figura 6A, também mostra a razão entre a absorção do detrito em 443 nm ($a_{\text{det}}(443)$) e absorção do material particulado em 443 nm ($a_{\text{part}}(443)$). Esta razão ($a_{\text{det}}(443) / a_{\text{part}}(443)$) representa um índice investigativo sobre a contribuição percentual na quantidade de luz absorvida pelo detrito em 443 nm nas manchas. Desta

forma observamos que, ligeiramente, quanto maior o número de tricomas, maior a absorção da luz pelo fitoplâncton em 496 nm, e menor a razão $a_{det}(443) / a_{part}(443)$, i.e., menor a contribuição percentual na absorção da luz pelo detrito em relação a luz absorvida pelo material particulado total em 443 nm (Fig. 6A).

Na correlação entre densidade de tricoma total e a absorção do fitoplâncton em 545 nm (PEB), observamos também razão absorção do fitoplâncton em 496 nm (PUB) pela absorção do fitoplâncton em 676 nm (Chla) (Fig. 6B). Esses resultados mostram que quanto maior o número de tricoma total na mancha, maior a absorção do fitoplâncton em 545 nm, e a razão PUB/Chla nm variando em torno de 1. Apenas as manchas 9, 11 e 13, com menores densidades de tricomas total, apresentaram alta razão PUB/Chla (Fig. 6B).

Para a correlação entre densidade de tricoma total e absorção do fitoplâncton em 621 nm (PC), também é mostrada a razão da absorção do fitoplâncton em 496 nm (PUB) e em 545 nm (PEB) (Fig. 6C). Esse resultado mostra que quanto maior o número de tricoma total, maior a absorção do fitoplâncton em 621 nm (PC), e também menor a razão PUB/PEB, a qual apresentou valores ao redor de 2. Isto corrobora ao descrito em Subramaniam et al. (1999a) que *Trichodesmium* contém maior concentração de PUB do que PEB (i.e. as células absorvem comprimentos de onda mais curtos), porém convertem PEB em PUB sob condições de alta luminosidade. Somente nas manchas 9, 10, 11, 13 e 16, as razões foram superiores a 2.4.

Discussão

Variabilidade espectral da magnitude da absorção da luz nas manchas de *Trichodesmium*

Embora *Trichodesmium* seja encontrado como tricomas solitários e colônias, a densidade total nas manchas está associada ao número total de tricomas presentes na amostra. Desta forma, como observamos no comportamento espectral da absorção da luz, é esperado que, estando em fase fisiologicamente ativa, quanto maior o número de tricomas, maior a quantidade de luz que será absorvida pela mancha, principalmente nos comprimentos de onda relativos aos pigmentos específicos de *Trichodesmium* (496, 545 e 621 nm).

Nas diversas tentativas de se quantificar o *Trichodesmium* por sensoriamento remoto, é conhecido que existem limitações inerentes que subestimam a detecção da concentração de tricomas devido aos efeitos de auto-sombreamento das colônias e empacotamento pigmentar, quando em altas concentrações (Subramaniam et al. 2002; Westberry e Siegel, 2006), e falhas detecções positivas quando em baixas concentrações (Hu et al. 2010). Esses efeitos, que refletem no comportamento espectral da absorção da luz, apresentam um significativo desafio para os algoritmos bio-óticos utilizando coeficientes de absorção espectral para derivar a abundância de *Trichodesmium*.

A relação entre a densidade de tricomas e a concentração total de Chl-a mostra que, um aumento da Chl-a ocorre quando há maior número de tricomas ($r^2 = 0.29$, P-valor < 0.0001, ver Fig. 4). Porém, esta relação está condicionada à junção dos distintos grupos: de baixa densidade de tricomas (“No Slicks”) e de alta densidade de tricomas (“Slicks”); pois quando analisados separadamente, esta relação é ainda mais evidente nas amostras das manchas de *Trichodesmium* (“Slicks”) ($r^2 = 0.56$, P-valor < 0.0001), mas, ao contrário, não ocorre relação significativa para as amostras sem manchas (“No Slicks”). Assim, em relação à densidade de *Trichodesmium*, a concentração total de Chl-a não está sendo representativo da biomassa de *Trichodesmium* ao longo da área de

estudo, pois está representando mais Chl-*a* relativa aos outros grupos da comunidade fitoplanctônica ao invés da Chl-*a* de *Trichodesmium*. Como é conhecido, *Trichodesmium* apresentam maior concentração intracelular dos pigmentos específicos das ficobiliproteínas do que concentração de Chl-*a* (Subramaniam et al 1999).

Analizamos o fator Sf como estimativa do efeito de empacotamento pigmentar e/ou efeito de auto-sombreamento pelas colônias nas manchas amostradas (“Slicks”). Uma relação não-linear foi encontrada entre a Chl-*a* e o fator Sf. Este resultado pode ser visto como uma redução na eficiência de absorção pelo fitoplâncton quanto maior a concentração da clorofila-*a*. O poder de previsibilidade do número total de tricomas e Sf apresentou $r^2 = 0.72$ para o grupo “Slicks”. A explicação para isto é que, tendo uma mancha de *Trichodesmium* muito densa, i.e. alta densidade de tricomas, causa uma aglomeração dos tricomas e um efeito de sombreamento de um tricoma sobre o outro na mancha, assim levando ao efeito pacote dos pigmentos (Sf variou entre -0.12 e 0.52 em “Slicks” e variou entre 0.11 e 0.66 em “No Slicks”). Desta forma, as manchas com alta densidade de tricomas são mais influenciadas pelo efeito pacote (menores valores de Sf) do que aquelas com menor densidade de tricomas (maiores valores de Sf). Este efeito é mais evidente nas manchas, onde a ocorrência e concentração de colônias é maior e valores negativos de Sf foram encontrados, i.e., o efeito pacote é maior do que o máximo de empacotamento previsto pelo modelo.

As manchas do grupo G2 da análise de agrupamento hierárquico mostraram grande variabilidade nas suas magnitudes espectrais da absorção de luz (Fig. 5). Isto pode ser consequência da maior densidade de colônias presentes nas amostras (média de 17×10^3 colônias L^{-1} ($\pm 7.4 \times 10^3$)), que representaram 74% do total do número de tricomas e o valor Sf foi de 0.02, indicando um alto “efeito pacote”. Já para as amostras das manchas do grupo G1 da análise de agrupamento hierárquico, mostraram menor variabilidade

nas suas magnitudes e menor amplitude da absorção de luz (Fig. 5), nas quais a densidade de colônias foi de $12.5 \text{ colônias L}^{-1} (\pm 12.5)$, representando somente 31% do total de número de tricomas, e Sf maior em relação ao G2 (0.48 vs 0.02). Assim, levamos a afirmar que o “efeito pacote” nas amostras em G2 foi mais evidente do que em G1 devido à maior presença de colônias, que resulta também em uma maior variabilidade na magnitude espectral da absorção de luz por tricomas de *Trichodesmium*. Esta alta variabilidade na magnitude espectral da absorção de luz pode estar relacionada ao efeito pacote e o efeito de auto-sombreamento dos pigmentos nas colônias, que são dependentes de fatores fisiológicos, como estado de senescência e estresse luminoso, e do grau de proximidade dos tricomas em colônias.

Especulação sobre o estado fisiológico das manchas de *Trichodesmium*

A maioria das manchas de *Trichodesmium* amostradas apresentaram menos do que 20% da absorção a luz em 443 nm sendo devido ao detrito, em relação ao total da luz absorvida em 443 nm devido ao material particulado total. Isto indica que a concentração do detrito nas manchas eram baixas, portanto provavelmente os tricomas não estavam em estado de senescência. As maiores razões foram nas manchas 1, 2, 3 e 13 (razão $a_{\text{det}}(443) / a_{\text{part}}(443) > 20\%$) (Fig. 6A).

As concentrações dos produtos de degradação da Chl-a podem ser usadas como um índice para informações sobre a pressão de pastagem e senescência das células do fitoplâncton (Jeffrey et al. 1997). Porém, baixas concentrações dos pigmentos derivados da degradação da Chl-a foram encontradas nas manchas. Estas apresentaram $0.8 \text{ mg m}^{-3} (\pm 1.5)$ de concentração média dos produtos de degradação, representando um percentual médio de 3% em relação à concentração média de Chl-a ($29 \text{ mg m}^{-3} (\pm 42)$) (soma dos produtos de degradação/soma dos produtos de degradação mais a concentração da Chl-a). Os maiores percentuais do produto de degradação foram

encontrados nas manchas 1, 3 e 6 ($< 3.5\%$), o que ainda assim representam baixos níveis de concentração. Porém, entre os três produtos de degradação derivados da Chl-*a* (clorofilide-*a*, feofitina-*a* and feoforbide-*a*), o principal presente em todas as manchas de *Trichodesmium* foi o feofitina-*a* ($> 50\%$), principalmente na mancha 13 onde feofitina-*a* representou 100% da concentração total do produto de degradação (produto de degradação/soma dos produtos de degradação) e 2% do percentual da concentração da Chl-*a*. A feofitina-*a* é o pigmento derivado de degradação da Chl-*a* que indica pressão de pastagem junto com feoforbide, assim, as manchas que apresentaram estado fisiológico ruim podem ter sido expostas a alta pressão dos herbívoros, ao invés de indicarem estado de senescência.

A maioria das amostras “Slicks” mostraram obter a mesma proporção da quantidade de luz sendo absorvida em 676 nm (Chl*a*) e em 496 nm (PUB) (Fig. 5B), embora, segundo Subramaniam et al. (1999a), *Trichodesmium* possui maior concentração de ficoeritrina (PUB e PEB), do que concentração de clorofila-*a*. Somente as manchas 9, 11 e 13, com menor densidade de tricomas total, apresentaram maior razão PUB/Chl*a* (Fig. 6B).

As ficobiliproteínas presentes em *Trichodesmium* são solúveis em água, sendo os primeiros pigmentos liberados para a água quando a célula se rompe, ao contrário da molécula de clorofila que é lipossolúvel. Assim podemos inferir que as manchas 9, 11 e 13 (manchas do grupo G1, ver Fig. 5) apresentaram melhor estado fisiológico, em relação à razão da absorção PUB/Chl*a*, do que as demais manchas. Porém, *Trichodesmium* converte PEB em PUB quando exposto sob condições de alta intensidade de luz (Subramaniam et al. 1999a), então a maioria das manchas coletadas com razão PUB/Chl*a* em torno de 1, podem indicar exposição à baixa intensidade luminosa, porém os tricomas não indicaram mau estado fisiológico. Portanto, informações sobre a fotoaclimatação e fotoadaptação de cianobactérias podem ser

melhor inferidas através da razão PUB/PEB (Subramaniam et al. 1999a). A razão PUB/PEB em cultivo de *Trichodesmium*, sob estado fisiológico normal, é entre 0.84 a 1, (Neveux et al. 2006). Entretanto, um aumento desta razão pode ser notado sob condições de luz alta, ocorrendo uma conversão de pigmentos, PEB em PUB (Neveux et al. 2006).

As razões da quantidade de luz sendo absorvida em 496 nm e 545 nm (PUB/PEB) em “Slicks” não apresentaram variações em sua maioria, com valores em torno de 2 (Fig. 6C). Somente as manchas 9, 10, 11, 13 e 16 que apresentaram razões acima de 2.4 (Fig. 6C). Isto indica que a maioria das manchas provavelmente não estavam sob stress luminoso, considerando que todas as manchas foram coletadas em superfície, e o aumento do PUB sob condições de luz alta sugere que este pigmento pode servir também como fotoprotetor da luz absorvida e re-emitida como fluorescência em 565 nm, como observado por Wyman et al. (1985).

Embora *Trichodesmium* possa migrar verticalmente (Villareal e Carpenter 1990, Romans et al. 1994), eles são normalmente encontrados acima de 15 m da coluna de água, e frequentemente máxima população na superfície do oceano (Subramaniam et al. 1999a). Ao contrário do fitoplâncton não diazotrófico, *Trichodesmium* possui vesículas de gás que aumenta a sua flutuabilidade, consequentemente, consegue se manter nos primeiros poucos metros do oceano, onde a luz visível e irradiância UV são relativamente altas.

A reversível inter-conversão de PEB para PUB é feita através de uma válvula de dinâmica biofísica que libera a energia de excitação para o PSII. Esta válvula é ajustada em resposta à intensidade de luz (Subramaniam et al. 1999a). O fitoplâncton não diazotrófico e demais cianobactérias precisam regular negativamente o fornecimento de energia para o PSII, evitando danos à este centro de reação, *Trichodesmium* utiliza a

inter-conversão entre PUB/PEB como mecanismo para alcançar a regulação negativa e não danificar o PSII. Entretanto, ainda permanece indefinido se a plasticidade nas propriedades óticas de *Trichodesmium* é uma consequência de um ritmo diurno ou é uma resposta às mudanças na radiação espectral.

Conclusão

Frente as dificuldades em se amostrar as manchas de *Trichodesmium*, devido á rápida dispersão destas, este estudo contribui como uma primeira abordagem e compreensão do comportamento espectral da absorção da luz pelas manchas de *Trichodesmium* que são frequentemente formadas em águas oceânicas.

A absorção da luz nos comprimentos de ondas correspondentes aos pigmentos específicos em *Trichodesmium* apresentou boa correlação positiva com a densidade de tricomas total. Assim, em todas as manchas amostradas, a magnitude espectral da absorção da luz aumenta com o aumento do número de tricomas. Porém, observamos que a magnitude dos espectros da absorção da luz varia com as diferentes densidades de colônia em cada mancha. Assim, em termos de aplicabilidade de algoritmos de detecção de *Trichodesmium*, é de relevante importância considerar o grau de empacotamento nas manchas, onde a ocorrência de colônias é maior.

Embora as 17 manchas de *Trichodesmium* tenham sido encontradas em diferentes locais e em diferentes estações do ano, os índices especulativos sobre o estado fisiológico dos tricomas não mostraram sinal significativo de degradação/pastagem nas amostras. Desta forma, de acordo com a baixa concentração dos produtos de degradação, baixa variabilidade das razões $a_{\text{det}}(443)/a_{\text{part}}(443)$, PUB/Chla e PUB/PEB, provavelmente, os tricomas nas manchas de *Trichodesmium* encontradas,

permanecem por muito tempo sob condições fisiológicas estáveis, e a quantidade de luz absorvida pela mancha diminui quanto maior a abundância de colônias presentes.

Acknowledgements

We thank the TALUDE Project for the opportunity to collect the data for this study and the crew of the Federal University of Rio Grande research ship “*Atlântico Sul*” for their assistance and contribution to all activities. We are very grateful to Chevron Brazil for financing the TALUDE Project. Also, we thank the Dr. Carlos Rafael Borges Mendes by to help the HPLC’s analysis. A.M.S. Detoni was funded by the CAPES Foundation.

References

LEGENDAS DAS FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Área do cruzeiro ao sudoeste do Oceano Atlântico Sul (A). Localização das estações oceanográficas (pontos em preto) realizadas nos três cruzeiros Autumn-2013, Autumn-2014 e Spring-2014, e as localizações das manchas de *Trichodesmium* encontradas em quatro cruzeiros (símbolos coloridos) (B).

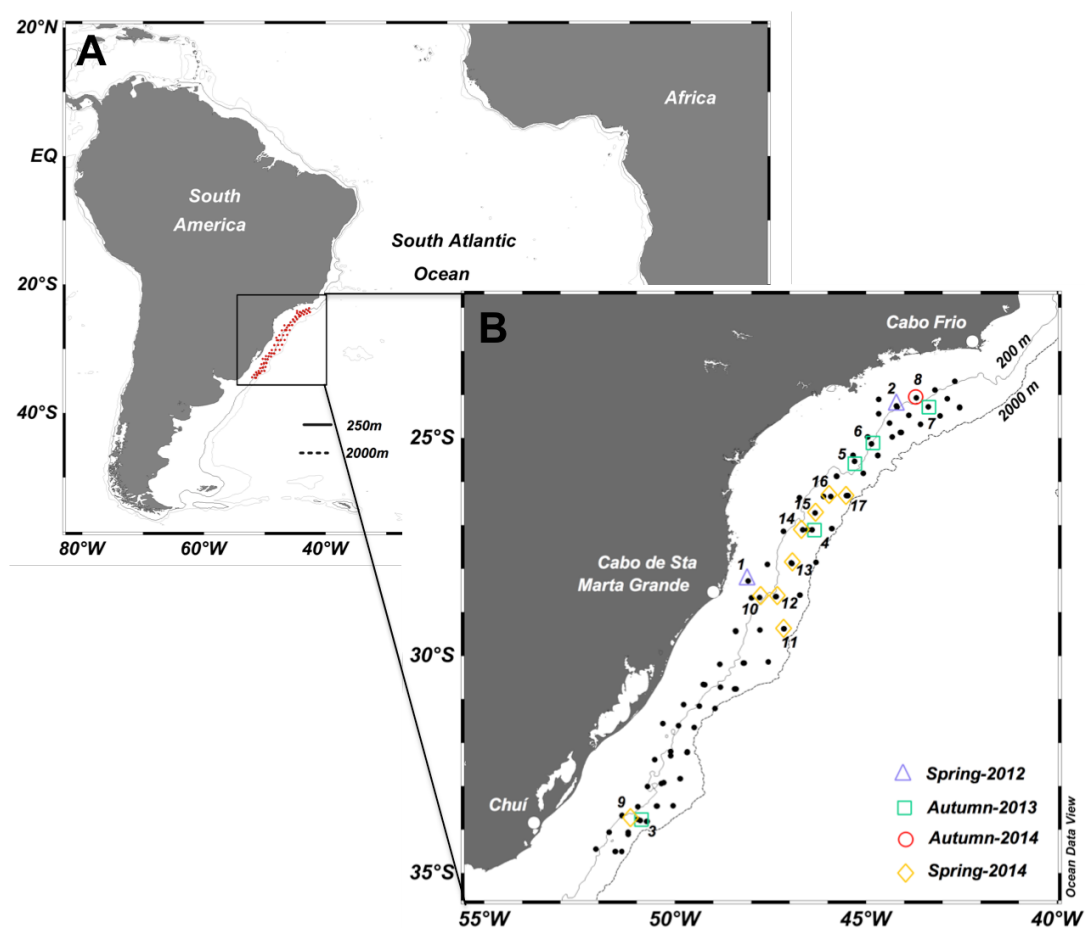
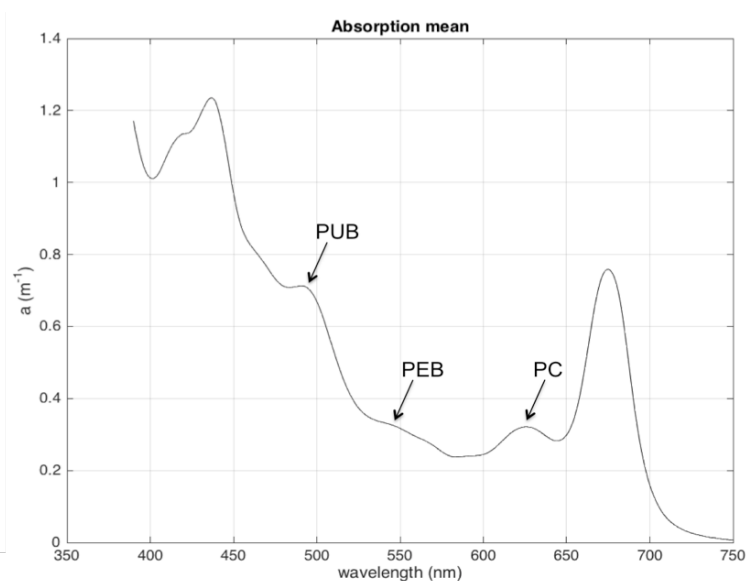


Figura 2. Espectro de absorção da luz médio do grupo “Slicks” (380 a 750 nm) das manchas de *Trichodesmium* amostradas. As setas indicam a localização dos picos de absorção referentes aos principais pigmentos presentes em *Trichodesmium*. A tabela abaixo, (McKinna 2015) mostra as abreviações e os picos aproximados dos pigmentos característicos em *Trichodesmium*.



Pigment name	Abbreviation	Absorption peaks/center (nm) (approximate)
Microsporine-like amino acids	MAAs	330,360
Chlorophyll-a	Chlo-a	438,676
Carotenoids	-	463
Phycourobilian	PUB	496
Phycoerythrobilian	PEB	545
Phycoerythrocyanin	PEC	578
Phycocyanin	PC	621

Figura 3. Espectros de absorção da luz do fitoplâncton (380 a 750 nm) das manchas de *Trichodesmium* amostradas (A) e das estações oceanográficas amostradas fora das manchas de *Trichodesmium* (B).

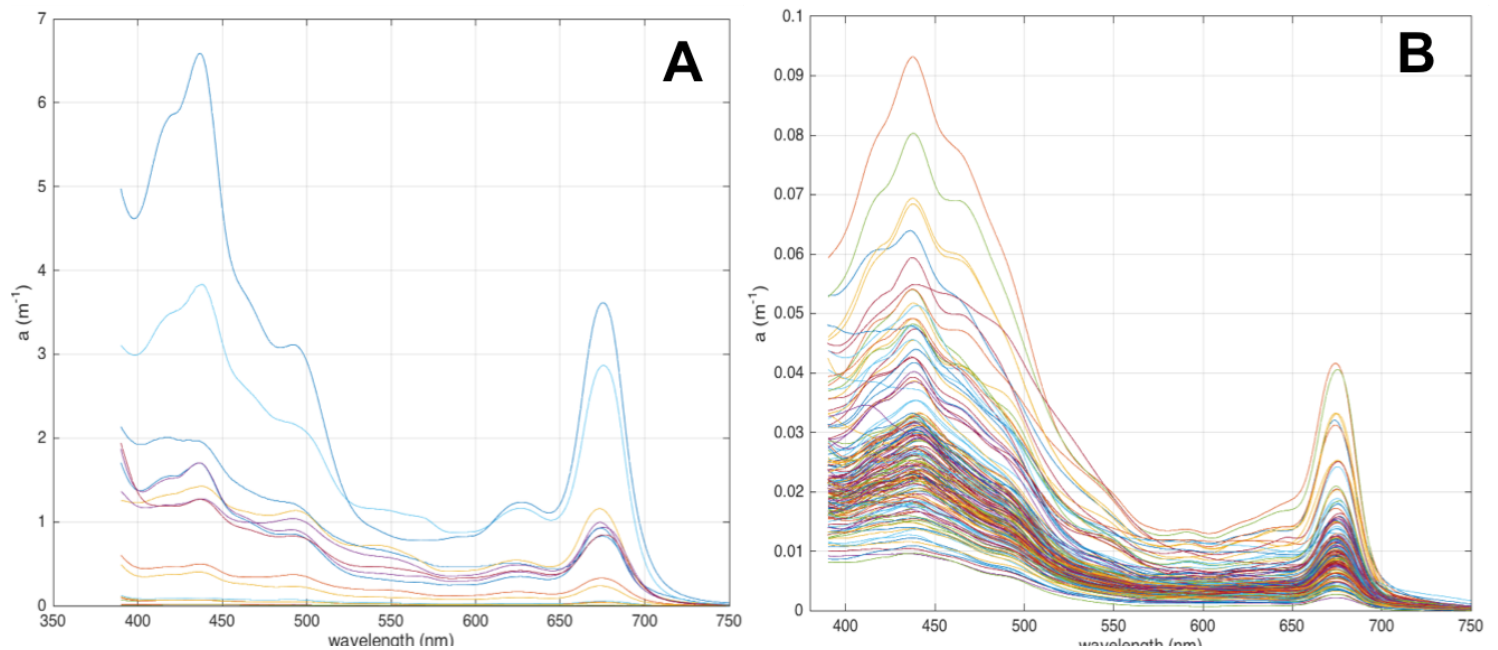


Figura 4. Relação entre a densidade de tricomas totais (tricomas L^{-1}) e o total de concentração da clorofila-*a* ($mg\ m^{-3}$) para o conjunto de dados total (“Slicks” e “No Slicks”). Os pontos em cinza representam o conjunto de dados das amostras “No Slicks”, e os pontos em vermelho representam as amostras “Slicks”.

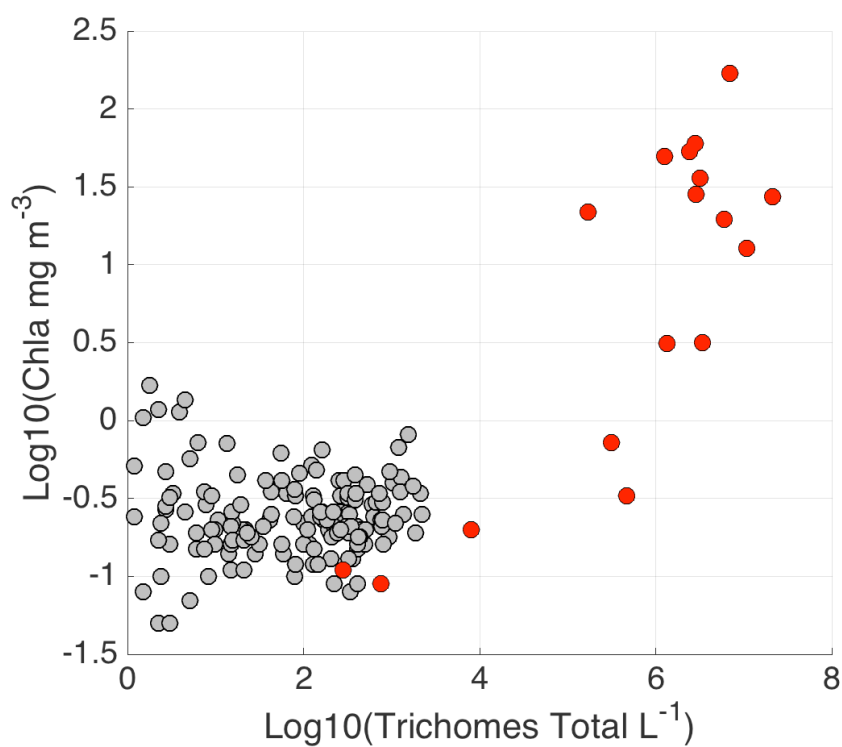


Figura 5. Espectros da absorção de luz por manchas de *Trichodesmium* referentes aos grupos G1 e G2. As linhas finas representam cada amostra das manchas e as linhas grossas representam o espectro de absorção da luz médio. As barras dos gráficos de barra representam as densidades médias de tricomas individuais (barra azul) e de colônias (barra vermelha) para os respectivos grupos.

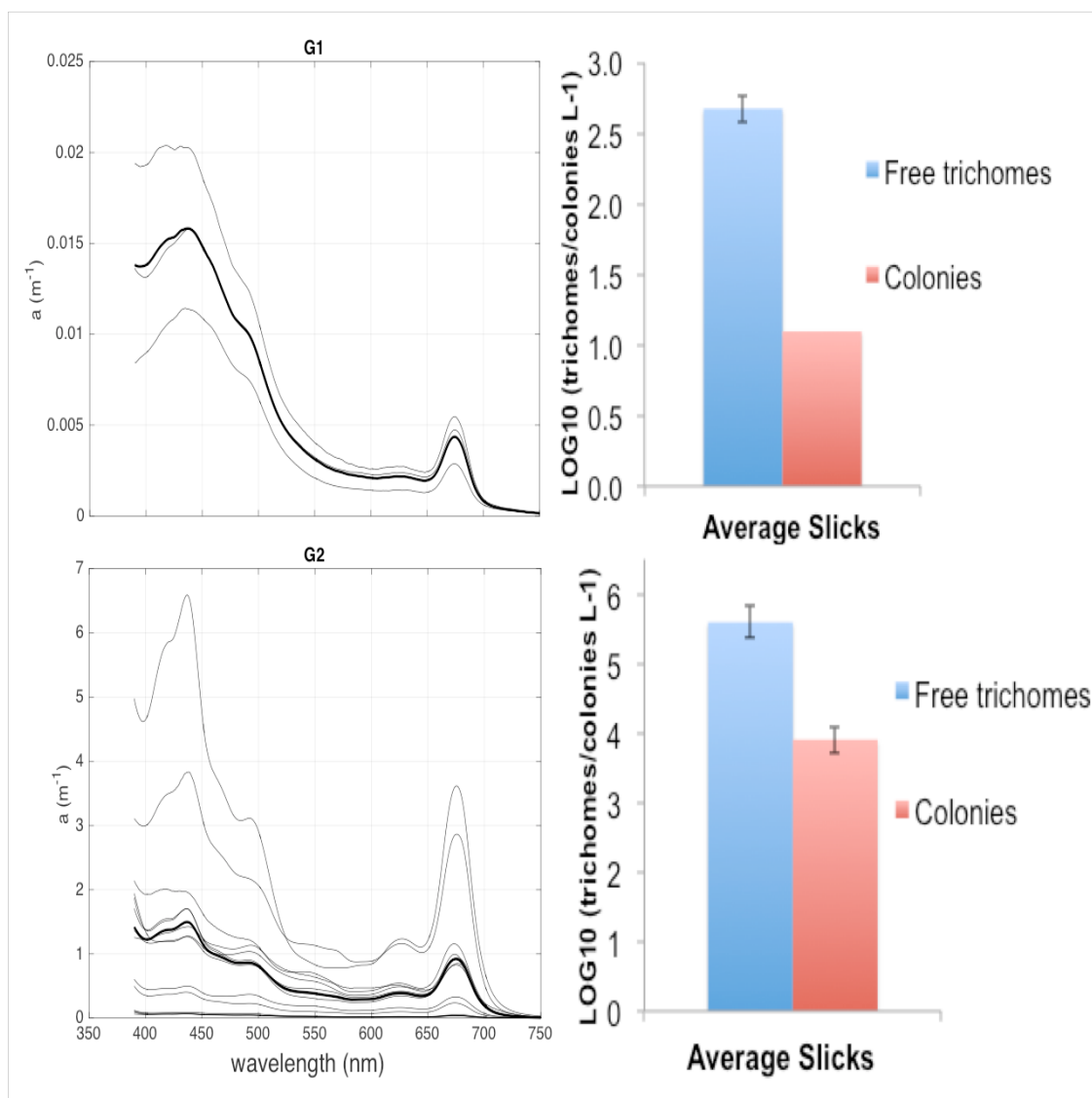


Figura 6. Correlação entre densidade de tricoma (grupo “Slicks”) total e a absorção da luz pelo fitoplâncton em PUB (496 nm), e a variabilidade da razão entre a absorção pelo detrito em 443 nm e absorção pelo material particulado em 443 nm (A). Correlação entre densidade de tricoma total e a absorção da luz pelo fitoplâncton em PEB (545 nm), e a variabilidade da razão entre a absorção pelo fitoplâncton em 496 nm e absorção pelo fitoplâncton em 676 nm (B). Correlação entre densidade de tricomas e a absorção do fitoplâncton em PC (621 nm) e a variabilidade da razão entre a absorção do fitoplâncton em PUB (496 nm) e absorção do fitoplâncton PEB (545 nm) (C).

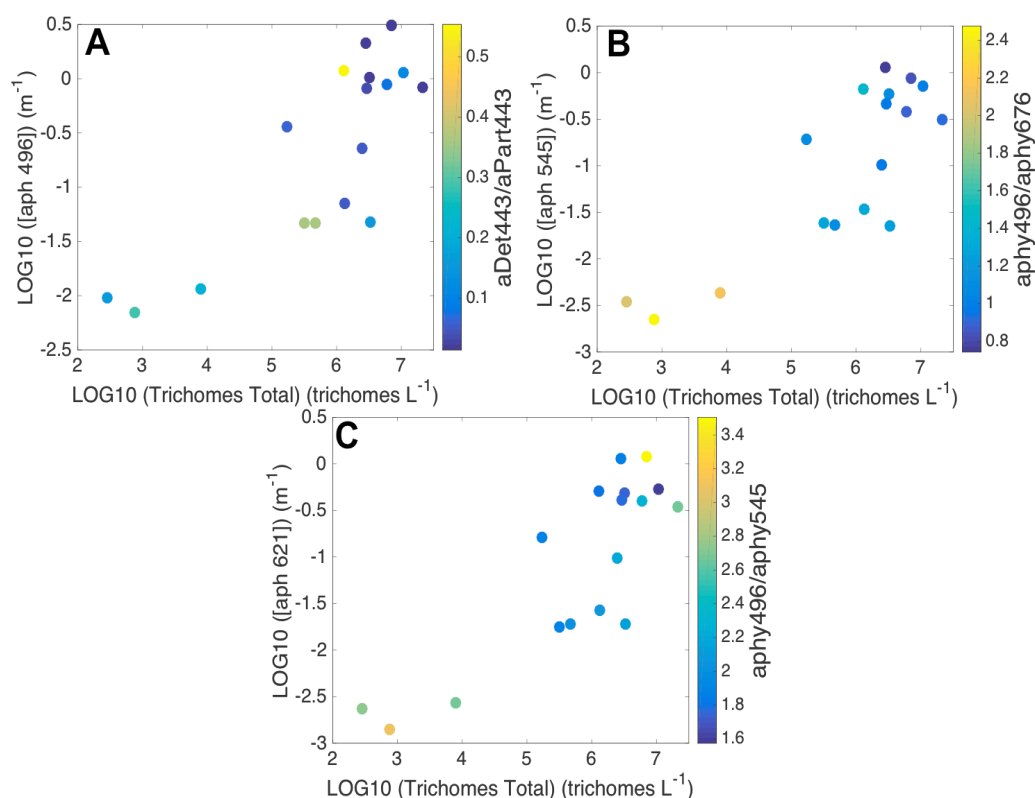


Tabela 1. Número de identificação de cada mancha de *Trichodesmium* (grupo “Slicks”) amostrada, data e horário de coleta, coordenadas (latitude e longitude) das localizações das manchas, densidades de tricoma total, tricoma livre e colônia contados em cada mancha de *Trichodesmium*.

Slicks	Date	Time (GMT)	Lat	Long	Tri tot ($L^{-1} \times 10^5$)	Free tri ($L^{-1} \times 10^5$)	Col ($L^{-1} \times 10^3$)
1	11/11/2012	17:20	-28.28	-48.09	4.7	1	2
2	11/20/2012	13:10	-24.29	-44.19	3.2	0.2	1.5
3	5/13/2013	20:50	-33.79	-50.90	12.7	2	5.2
4	6/4/2013	10:30	-27.11	-46.41	1.7	0.5	0.6
5	6/7/2013	13:50	-25.53	-45.30	109.0	0.4	54.3
6	6/8/2013	12:06	-25.13	-44.86	32	3	15
7	6/11/2013	19:00	-24.28	-43.37	33.6	13	10.5
8	6/4/2014	11:56	-24.07	-43.68	13.5	6	4
9	11/14/2014	15:00	-33.76	-50.98	0.1	0.005	0.04
10	12/5/2014	09:30	-28.66	-47.79	212.6	47	83
11	12/5/2014	13:25	-28.64	-47.35	60.5	5.3	27.6
12	12/7/2014	17:25	-27.11	-46.41	24.5	17	4
13	12/8/2014	11:30	-26.72	-46.33	28.2	9	9.5
14	12/9/2014	08:45	-26.34	-45.92	70.1	30	20
15	12/9/2014	11:50	-26.32	-45.47	28.8	8	10.5
16	12/4/2014	14:12	-29.38	-47.14	0.003	0.003	0
17	12/6/2014	15:31	-27.87	-46.95	0.008	0.008	0

Tabela 2. Valores do coeficiente de determinação (r^2) do grupo “Slicks”, a partir da regressão polinomial de ordem 2, entre a absorção da luz nos comprimentos de onda da Chl-a (438 e 676 nm), carotenoides (463 nm), PUB (496 nm), PEB (545 nm) e PC (621 nm) e, densidade de colônias, densidade de tricomas individuais e densidade de tricomas total. Os valores sombreados em cinza destacam os maiores valores de r^2 que correspondem aos comprimentos de onda de absorção da luz pelos pigmentos específicos de *Trichodesmium*.

r^2 - SLICKS			
	Colonies	Free trichomes	Total trichomes
Chl-a (438 nm)	0.27	0.35	0.34
Carotenoids (463 nm)	0.3	0.3	0.36
PUB (496 nm)	0.34	0.27	0.4
PEB (545 nm)	0.36	0.11	0.37
PC (621 nm)	0.33	0.22	0.38
Chl-a (676 nm)	0.3	0.3	0.37

APÊNDICE 4

Este apêndice refere-se ao artigo intitulado "*Trichodesmium distribution variability between model and observed data in the southwestern Atlantic Ocean*". O artigo está em fase de preparação.

***Trichodesmium* distribution variability between model and observed data in the
southwestern Atlantic Ocean**

Amália Maria Sacilotto Detoni^{a*}

Paulo Henrique Rezende Calil^b

Stephanie Dutkiewicz^c

Michael J. Follows^c

*^aLaboratório de Cianobactéria e Ficotoxinas – Instituto de Oceanografia –
Universidade Federal do Rio Grande, Av. Italia, km 8, Rio Grande, RS: 96203-900,
Brazil*

*^bLaboratório de Dinâmica e Modelagem Oceânica (DinaMO) – Instituto de
Oceanografia – Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália, km 8, Rio Grande,
RS: 96203-900, Brazil*

*^cDepartment of Earth, Atmospheric and Planetary Sciences, Institute of Technology,
Cambridge, Massachusetts 02139, USA*

*Corresponding author: Tel. +55 53 32336737, e-mail: amaliadetoni@gmail.com

Abstract

Throughout tropical and subtropical seas, *Trichodesmium* contributes significantly to marine fixation of atmospheric di-nitrogen and influences the global carbon cycle. The studies about distribution of *Trichodesmium* have largely focused on the western tropical North Atlantic and Pacific Oceans, with the southwestern Atlantic largely undersampled. For that, we used the modeling framework in order to evaluate the veracity of the modeled *Trichodesmium* and environmental factors. We studied the latitudinal distribution of *Trichodesmium* along the western Tropical and South Atlantic, using *Trichodesmium* trichomes counts from three oceanographic cruises and *Trichodesmium* components from an ecological-biogeochemical model, associated with environmental factors. Our results indicate that the magnitude of *Trichodesmium* trichomes in the western area of the South Atlantic is driven primarily by horizontal advection of a western boundary current, which transports trichomes from areas with high trichomes densities (Tropical Atlantic) to areas with low trichomes densities (western South Atlantic), where they are supported by high sea surface temperature. This work provides a first highlight to development of regional models of *Trichodesmium* distribution and its domain on diazotrophs community.

Introduction

The marine cyanobacterium *Trichodesmium* is a nitrogen fixer with a wide distribution in the tropical and subtropical oceans, where *Trichodesmium* may form enormous surface accumulations (Tyrrell et al. 2003, Carpenter et al. 2004, Bergman et al. 2013). *Trichodesmium* reconciles oxygenic photosynthesis and oxygenophobic N₂ fixation within its “heterocyst-free” physiology (Fredriksson and Bergman, 1997), such that *Trichodesmium* may use this strategy to flexibly adapt by incorporating carbon and

new nitrogen in oligotrophic waters having an importante role in the biogeochemical cycles (Carpenter and Capone 2008).

The *Trichodesmium* observations are sparse in the central South Atlantic Ocean (Monteiro et al. 2010) with most of them originating from the AMT (Atlantic Meridional Transect) cruises conducted in the middle of the South Atlantic subtropical gyre, and away from the western boundary, where the Brazil Current transports tropical waters southward.

Trichodesmium is found both as microscopic free filaments called trichomes (chains of approximately 100 – 150 cells) and as macroscopic aggregates composed of several hundred trichomes. *Trichodesmium* distribution is reported to be roughly limited by the 20°C isotherm, and while the organisms may be found in cooler water their activity is low and their growth slow (Tyrrell et al. 2003, Breitbarth et al. 2007). However, few studies have been conducted in the Atlantic south of the equator. Moore et al. (2014) showed that the western South Atlantic has lower than expected nitrogen fixation rates. On the other hand, occurrence of *Trichodesmium* slicks has been reported in the southwertern of South Atlantic associated with the Brazil Current (BC) (Detoni et al. 2016).

The BC flows southward along the shelf-break and slope with an average speed of, approximately, 50 cm s⁻¹ (da Silveira et al. 2000). It roughly occupies the upper 500 m at the water column (Piola and Matano 2001) and is associated with intense mesoscale activity (Calado et al. 2006). Nevertheless, the factors controlling the distribution of *Trichodesmum* in this region are poorly understood.

Here we will describe the model output and certain key characteristics of the *Trichodesmium* distribution, and then compare those components to observated data. We use output from a three-dimensional global ecosystem model to explore the

advection of *Trichodesmium* from the hot spot in the equatorial region through BC flow. The main goal of this study is to provide a clear and simple interpretation of the *Trichodesmium* distribution along the western Tropical and South Atlantic.

We have analysed the distribution of the surface biomass of *Trichodesmium* from the model output and trichomes densities from in-situ observations. Multiple linear regression was applied to investigate the relative importance of specific parameters that control surface *Trichodesmium* abundance in the southwestern Atlantic Ocean. With this we intend to improve the global ecosystem and biogeochemical model, or perhaps highlight the importance of developing a regional ecosystem and biogeochemical model, in order to gain an understanding of the ecological controls of diazotrophs, nondiazotrophs, and the resources on which they depend.

Materials and methods

Oceanographic cruises

Three oceanographic cruises were undertaken on board the N/Oc Atlântico Sul, from May 10 to June 12, 2013 (Autumn 2013, 61 oceanographic stations), May 07 to June 05, 2014 (Autumn 2014, 60 oceanographic stations) and November 11 to December 10, 2014 (Spring-2014, 46 oceanographic stations) (Fig. 1). The sampling area extends from Cabo Frio (23°S) to Chuí (33°S) and is restricted to the area between the outer continental shelf and the continental slope, and between the approximate isobaths of 200 m and 2000 m (Fig. 1). Over the latitude range, the study area is divided into two major regions: Cabo Frio–Cabo de Santa Marta Grande (23°–28°S), known as the South Brazil Bight (SBB) and the Southern Subtropical Shelf (SSS) (28°–33°S).

Nutrients Analyzes

Nutrients were measured on alternate transects (78 oceanographic stations and 14 *Trichodesmium* slicks). Water samples were collected from a depth of 15 m using a Van Dorn bottle for dissolved inorganic nutrient analyses, including phosphate, nitrate, nitrite and ammonium. Each sample was filtered through a cellulose acetate filter (0.45 μm), and the filtrate was immediately frozen for later analysis in the laboratory by spectrophotometry (Aminot and Chaussepied 1983, Grasshoff et al. 1999). Concentrations of nitrate, nitrite and ammonium were combined in order to represent the total dissolved inorganic nitrogen (DIN).

Trichomes counts

Samples for *Trichodesmium* trichomes counts were collected at the surface (at each oceanographic sampling station and in the *Trichodesmium* slicks) and preserved in 4% formaldehyde inside dark glass bottles (120 mL). At each oceanographic station 10 L of surface seawater were concentrated through a 5 μm plankton net and then washed with filtered seawater to gently remove the retained material. The *Trichodesmium* slick samples were not concentrated.

Counts were performed in a settling chamber (50 mL settling volumes for oceanographic stations samples and 2 mL for *Trichodesmium* slicks) using the Utermöhl (1958) method, at 100 $\times$ magnification, with an inverted microscope. Before counting colonies and trichomes, 1 mL of acetic acid was added to samples to collapse the gas vesicles in the *Trichodesmium* cells, to facilitate sedimentation (adapted from Cronberg et al. 2004). Trichomes and colonies were counted in half or full chambers. For computing the total trichome count, the number of free trichomes was added to the number of colonies and converted into trichome equivalent per liter using an estimation of 200 trichomes col^{-1} (Carpenter 1983). This value was assumed for all colonies

independently of their size or shape, for estimation of total density of trichomes (free trichomes + colony's trichomes).

Physical parameters

Temperature, salinity and pressure data were obtained from the CTD (Conductivity, Temperature and Depth) downcast profiles (SeaBird CTD/Carrousel 911+system®). The potential density of seawater was determined from the temperature and salinity profiles, and the mixed-layer depth (MLD) was determined from the derived vertical profile using the finite difference criteria method (modified from Glover and Brewer 1988 and Kara et al. 2000).

Water column stability was calculated by the Brunt-Väisälä frequency (BV) ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$), which considers the atmospheric gravity (m s^{-2}) and the potential density of seawater (kg m^{-3}). Because *Trichodesmium* has strong gas vesicles, allowing trichomes to remain in the ocean surface layers (Walsby 1994, Villareal and Carpenter 2003, White et al. 2006), the average BV over the upper 25 m of the water column was adopted.

Wind data

Wind speed data were obtained from the Advanced Scatterometer (ASCAT) aboard the Meteorological Operational Polar Satellite (MetOp-A) at a spatial resolution 0.25° . The data were acquired from the <ftp://ftp.ifremer.fr/ifremer/cersat/products/gridded/mwf-ascats/data/daily/Netcdf/> site of the Laboratoire D'Océanographie Spatiale, the French Research Institute for Exploration of the Sea.

Wind divergent motion was calculated by the derived component of the zonal and meridional velocities of the wind data extracted from the ASCAT scatterometer.

Model data sets

Estimates of biomass (mgC m^{-3}), growth (s^{-1}) and losses (s^{-1}) of *Trichodesmium*, concentrations of dissolved inorganic nitrogen (DIN) (μM), phosphate (μM) and,

silicate (μM), sea surface temperature ($^{\circ}\text{C}$) and salinity and, mixed layer depth (m) were obtained from the MIT model. Those parameters use the physical ocean fields to driven an ocean biogeochemistry and ecosystem model from Dutkiewicz et al. 2015. The ecological model resolves nine phytoplankton functional types, among them the nitrogen-fixation *Trichodesmium* (more details about ecosystem and biogeochemical model see Dutkiewicz et al. 2015).

We have used the physical ocean field MIT Integrated Global Systems Model (IGSM/MIT) coupled to the biogeochemistry and ecosystem model. The IGSM/MIT is an earth system model, which has a three-dimensional ocean circulation component embedded in it (Dutkiewicz et al. 2013, Dutkiewicz et al. 2014). In this study the ocean has horizontal resolution of $2^{\circ} \times 2.5^{\circ}$ (22 levels).

In order to investigate the drift of trichomes of *Trichodesmium*, we have calculated the net local growth rate (μ_{NET}) of *Trichodesmium* biomass, which considers the rate of change the *Trichodesmium* total biomass in a grid cell and the transport, as advection by currents, at function of the time-scale, as such as defined in Clayton et al. (2013). In this way we have an index to describe whether the total biomass of *Trichodesmium* is from physical processes, including transport, or whether the *Trichodesmium* biomass is generated by local net growth. Thus we can separate into two categories at each location, or grid cell, identified spatially by: immigrant trichomes (μ_{NET} below 0), and locally adapted trichomes (μ_{NET} above 0).

Statistical Analysis

We have applied the multiple linear regression in the cruises dataset to determine the influence of environmental factors on the trichomes abundance. The following covariates were included in the analyses: temperature, concentration of dissolved inorganic nitrogen components (nitrate + nitrite + ammonium) (DIN), dissolved

inorganic phosphorus concentration, upper mixed-layer depth (MLD), mean stability in the upper water column (0-25 m), wind speed and wind divergence. The dependent variable (trichome density) in the multiple regression analysis was standardized applying the Box-Cox transformation, in order to improve the normality of dependent variable. The model that presented the best fit for the dependent variable was chosen by the minimum AIC (Akaike's information criterion) index, previously applied by the stepwise regression, which verifies the adequacy of the model according to selection of the covariates showing highly significant correlations with the dependent variable.

The multiple regression analyses were also applied to the model output dataset, in which the dependent variables considered were: growth and biomass of *Trichodesmium*. The covariables included were: phosphate, DIN, silicate, MLD, temperature and salinity. In both multiple regression analyses, either with growth or biomass, were not found the normal distribution of probability of dependent variable, however the residuals of those models presented the normality of Shapiro-Wilk. The analyses were performed in R programming language [R Development Core Team, 2013].

Results

Latitudinal variability of trichomes density and thermohaline parameters

Temperature and salinity of the three cruises ranged from $< 18^{\circ}\text{C}$ to $< 25^{\circ}\text{C}$ and from 32 to 37.4 (PSS-78), respectively. The distribution of surface temperature shows the warmer waters in the north sector of the study area and colder waters in the south sector (Fig. 1A and 1C). The similar behavior is showed in the distribution of trichomes numbers (Fig. 1B and 1D). In the average surface water temperature, the salinity 36

isoline marks the limit of the Tropical Water (TW), which is carried by the BC (Fig. 1A) and is located where higher numbers of trichomes were found (Fig. 1B).

The IGSM/MIT shows the behaviour of South Equatorial Current (SEC), which flows westward and then bifurcates close to the South American coast near 15° S (e.g. Stramma and Schott, 1999) (Fig. 2A). The T/S diagram indicates the presence of four different water masses that have been found in the study area: TW, Shelf Water (SW), Subtropical Shelf Water (STSW), and Plata River Plume Water (PPW) (Fig. 2B). The highest numbers of trichomes are located into TW (Fig. 2B).

The satellite images from MODIS-Aqua, spatial resolution 4km, show the average retrieval for the days of the each cruises of the sea surface temperature and chlorophyll-a concentration (Fig. 3 left and middle columns, respectively). The highest *Trichodesmium* densities (Fig. 3 right column) are located in waters with higher temperature and lower chlorophyll-a. The *Trichodesmium* distribution seems be restricted in the north sector of the study area, where the BC is dominant and there is no contribution of continental runoff (Fig. 3).

Statistical analyses from cruises data set

The multiple regression for the all data set from cruises ($N = 77$) explains 62% of variability of *Trichodesmium* density. However, the most important variables related to increase of trichomes number, and also that presented statistical significance, are: low wind speed (negative coefficient), low DIN concentrations (negative coefficient), high phosphate concentrations (positive coefficient), high temperature (positive coefficient), high salinity (positive coefficient) and wind convergent movement (negative coefficient) (Table 1).

Variability of biomass and residual growth of *Trichodesmium*

The average of *Trichodesmium* biomass, from the 5 years output model, shows higher *Trichodesmium* abundance in the western Tropical Atlantic and southern South Atlantic (Fig. 4A). Both places are influenced by large continental runoffs through the plume of rivers: Amazon River and La Plata River, respectively.

From the model output, the net growth of *Trichodesmium* (μ_{NET}) was investigated in order to analyze, according to Clayton et al. (2013), whether there is an immigration of the trichomes by BC transport (μ_{NET} below zero), or whether there is a favorable condition for a local growth of the *Trichodesmium* (μ_{NET} above zero). Clayton et al. (2013) state that within a control area (a model grid cell), any particular phytoplankton type will persist because it either has a net biological source balanced by physical export or there is a source due to immigration balanced by a net biological loss. Here we calculated the μ_{NET} as following: the growth term minus the losses term multiplied by *Trichodesmium* biomass.

In the region of interest (Fig. 4B, black square), the μ_{NET} values are negative in the north sector, i.e., *Trichodesmium* spp. seem to be transported by BC. However, in the south sector of the black square, the μ_{NET} values are positive, indicating local growth of *Trichodesmium* and adaptation to local conditions. The same performance is observed in the western of Tropical Atlantic, in the tropical and warm waters, positive values of μ_{NET} show local growth of *Trichodesmium* spp..

In order to analyze the performance of the model in terms of relationship among *Trichodesmium* abundance, sea surface temperature and values of growth minus losses for *Trichodesmium*, we have been investigating the temporal variability along of the time (Jan 1995 to Dec 1999, N = 60 months) (Fig. 5).

For the latitude 4° N the *Trichodesmium* biomass showed a weak correlation with the temperature ($R = 0.24$), and the biomass is high when the residual growth is positive, indicating the behaviour of a local and adapted growth of *Trichodesmium* (Fig. 5).

In the latitude 24° S, the biomass and temperature present a strong correlation ($R = 0.80$), and the residual growth is negative when the biomass is high, i.e., *Trichodesmium* does not have a local growth, but probably occurs an advected immigration of its biomass (Fig. 5).

For the latitude 32° S, the biomass of *Trichodesmium* is not correlated with temperature ($R = -0.24$), and the residual growth is positive when the *Trichodesmium* biomass is lower (Fig. 5).

Statistical analyses on the model output

For the model output dataset was applied the multiple regression on each one of the three chosen latitudes. In this regard, we have investigated the behavior of the model output in terms of variability of *Trichodesmium* growth and biomass related to environmental factors.

For the latitude 4° N the linear model explains 72% of dependent variable variability. The covariables phosphate, dissolved inorganic nitrogen (DIN), mixed layer depth (MLD) and silicate were the most significant (lowest P-value) factors in which explained the variability of *Trichodesmium* growth in this area (Table 2). In other words, the increase in phosphate (positive coefficient), decrease in DIN concentration (negative coefficient), and increase in MLD and silicate are important to control the temporal magnitude of *Trichodesmium* growth (Table 2). These results demonstrate that the model is working well. Indeed the low DIN available in seawater is the main factor that controls the dominant occurrence of others phytoplankton or *Trichodesmium*.

In the area at the latitude 24° S the linear model explains 68% of dependent variable variability and, the covariables MLD, DIN and temperature were the most significant factors in order to explain the temporal variability of *Trichodesmium* growth in this area. With the increase of MLD, DIN concentration and high surface temperature (positive coefficient) acting together favors the increase of the magnitude of *Trichodesmium* growth, according to model output (Table 2).

For the latitude 32°S, the covariables temperature, phosphate, salinity, MLD and silicate were the most significant factors that controled the dependent variable variability and the linear model can explain 91% of temporal variability of *Trichodesmium* growth in this latitude. The model from the multiple regression shows that low surface temperature (negative coefficient), increase of phosphate concentration (positive coefficient), increase in salinity (positive coefficient), shallow MLD (negative coefficient), and decrease in silicate concentration (negative coefficient) are the most important environmental factors that together favor the increase of the magnitude *Trichodesmium* growth (Table 2). Nonetheless, these results as low temperature and shallow MLD, indicate the influence of PPW, i.e, more nutrients supplied and dominant occurrence of the others phytoplankton.

Discussion

Hydrographic scenario and *Trichodesmium* distribution

The southern sector of SEC curves toward the south along the coast of Brazil, and forms the western boundary current BC, which transports the water mass TW. From the cruises dataset, the latitudinal distributions of temperature and salinity averages at the sea surface showed higher values ($> 23^{\circ}\text{C}$ and 35) at the northern of 28°S, due to the strong influence of TW, and lower values ($< 23^{\circ}\text{C}$ and 35) at the southern of this

latitude, with the presence of STSW (Fig. 1A). This latitudinal distribution is marked by displacement of the BC, which flows southward, and that due to changes in the bottom topography, modifies its direction and can occupy the continental shelf along the coast southeastern-south of Brazil (Calado et al. 2006, Palma and Matano 2009).

During the three cruises, the *Trichodesmium* density followed a strong correlation with the surface temperature along the latitudinal distribution (see Fig. 1C and 1D). Also, since the surface currents velocities from the model output (Fig. 2A) shows, the BC, carrying tropical water from equatorial region to southward, following the continental slope bathymetry, where, indeed, there are evidences of the *Trichodesmium* presence along the southwestern Atlantic Ocean (LaRoche et al. 2005, Detoni et al. 2016).

The isoline of 36 salinity indicates the location of the TW (Fig. 1A), showing that the highest trichomes densities ($> 5 \times 10^3$ trichomes L^{-1}) were associated with the TW, which probably supports *Trichodesmium* better than the thermohaline conditions of the STSW and SW water masses. The correlation between temperature and density of trichomes ($R^2 = 0.4$, P-value < 0.01) shows that, within the variation in temperature, there is a range between 22°C to 25.4°C, in which trichomes densities were higher.

The TW on its poleward flow, is mixed with coastal water which is cooler and fresher, forming the SW, north of 28° S, and the STSW, south of this latitude. However, as shown in the cruises data (Fig. 2B), the TW is characterized by temperatures higher than 20°C and salinity above 36, off shore southeastern Brazil (da Silveira et al. 2000). As observed in the monthly satellite images of sea surface temperature and of chlorophyll-a concentration (Fig. 3), the BC domain sector is remarkably warmer and with lower chlorophyll-a concentration and, also as it is known, poorer in nutrients, but able to support *Trichodesmium*. A similar scenario is found in the Equatorial region between 5°S – 15°N, where the highest *Trichodesmium* abundance are supported

(Carpenter et al. 2004, Monttoya et al. 2007, Fernandez et al. 2010) by the increase in water column stability (Fernandez et al. 2010), which prevents the input of nutrients from deeper water.

The BC is the western boundary current associated to the wind-driven circulation of the South Atlantic. The SEC bifurcates to drive the BC; however, 15 to 22 Sv of the volume transported by the SEC flows northward as part of the inter-hemispheric flux of the North Brazil Current/Undercurrent (da Silveira et al. 1994), leaving a relatively weak BC when compared to its northern hemisphere counterparts, such as the Gulf Stream and the Kuroshio Current (Mata et al. 2012).

The opposite current to BC in the western of the tropical Atlantic, the North Brazil Current, flows northwestward toward the Caribbean Sea, meets the Amazon River plume (Bulgakov et al. 1998) and then, in the Straits of Florida, becoming the Gulf Stream, which is known as the fastest western boundary current (Richardson et al. 1994, Hogg and Johns 1995). *Trichodesmium* spp. are generally found in tropical regions where temperature is at least 20°C; however, in the North Atlantic, trichomes are found in higher latitudes where they can be drifted via the Gulf Stream (LaRoche et al. 2005). Thus, it has been proposed that the same could occur in the South Atlantic, even taking into account the weaker poleward-directed BC flows.

Since *Trichodesmium* are able to acclimate and grow at temperatures ranging from 20° to 34°C (Breitbarth et al. 2007), we expected that *Trichodesmium* would be absent below 28°S latitude (based on Fig. 3 left column). Nonetheless, the model seems to show the opposite in the south sector of southwestern Atlantic (south sector of the black square), where have been found the high biomass and positive values of μ_{NET} of *Trichodesmium* were predicted by the model (Fig. 4).

Trichodesmium spp. are limited by cold waters (under 20°C) and have a low competitive performance to uptake nutrients in waters which are rich in nutrients (Breitbarth et al. 2007). In contrast, in the western Tropical Atlantic with warm waters, the biomass and μ_{NET} are also predicted to be positive, indicating local growth of *Trichodesmium* spp. in this region.

High abundance of *Trichodesmium* has been associated with western boundary currents in the tropical portions of gyres and ocean margin seas (Church et al. 2009, Snow et al. 2015). However, the BC remains one of the least studied and understood of all western boundary currents regarding *Trichodesmium* and other diazotrophs abundance, and the dynamics of their abundance is not yet well understood.

Furthermore, the influences of the BC on the coastal ocean are strong because of its proximity to the shelf and, probably, it transports *Trichodesmium* from the equatorial to the southern region. Therefore, it is very important to develop a regional biogeochemical-ecosystem model for this area, since *Trichodesmium* patches have often been observed during research cruises, sailors and airplanes in this region.

Environmental controls on the *Trichodesmium* distribution

Trichodesmium rely on warm temperature to undertake the energetically expensive process of nitrogen fixation (Breitbarth et al. 2007). Based on the MIT model assumptions, *Trichodesmium* biomass is not directly dependent on temperature, such that *Trichodesmium* could be adapted to either warm or cold environments, but nutrients resource availability is the primary control for *Trichodesmium* growth and biomass. The numerical model predicts that diazotrophs require waters with low nitrogen levels, but sufficient iron and phosphate to a level described by simple ecological theory, which sets the distribution of marine diazotrophs and that high light and temperature requirements are adaptations to these particular environments

(Monteiro et al. 2011). However, the cruises data collected in the southwestern South Atlantic show that the temperature is one of the most important factors in explaining the variability of the *Trichodesmium* density in this region, combined with low wind speed, low DIN and high phosphate concentrations (Table 1).

The biogeochemical-ecological model resolves the biomass of nine phytoplankton types, which differ in their elemental composition (e.g. diatoms require silica), maximum growth rate, nutrient half-saturation constants, sinking rates, maximum Chl-a:C, and palatability to grazers (Dutkiewicz et al. 2015); however, biomass and growth of *Trichodesmium* are not limited by temperature.

In the distribution of trichomes density in three cruises it is clearly observed that *Trichodesmium* density decreases toward the higher latitudes, i.e. lower sea surface temperatures. Perhaps, this would be the reason why the biogeochemical-ecological model has been underestimated the *Trichodesmium* biomass for the southwestern South Atlantic. Although the model is able to reproduce well the temporal variability of *Trichodesmium* biomass and growth where the BC is dominant (Table 2, see the multiple regression for 24°S) and also in the Tropical Atlantic waters (Table 2, see the multiple regression for 4°N).

From μ_{NET} of the buoyant *Trichodesmium*, immigrant trichomes were observed (negatives values of μ_{NET}) in the area corresponding to the cruises, which are maintained by a source due to transport from equatorial region southwards, likely by the BC (Fig. 4B). Likely *Trichodesmium* is not well adapted to local environmental factors in this area, and the temporal variability in its growth is driven by environmental conditions that occur in sporadic events, such as increase in MLD, increase of DIN and high temperature, according with the model output (Table 2, see latitude 24°S).

In the model output from IGSM/MIT, the source that supports *Trichodesmium* growth is balanced by losses, like exclusion by competition or sinking. In this regard, at the 24°S latitude, if the advection shut off probably trichomes would disappear from the local population, taking in consideration that *Trichodesmium* has not many known natural predators. Conversely, trichomes locally adapted thrive in the equatorial environment, as well as in the Tropical Atlantic, where the temporal variability of *Trichodesmium* seems to be mainly driven by low DIN concentrations. It leads to a net population growth, balanced by an export by advection, e.i. by the BC flowing to the south.

Shiozaki et al. (2013) showed that southward transport of nitrogen-fixing phytoplankton can play an important role in stimulating productivity in the normally oligotrophic western Pacific warm pool. Also, the western boundary current Kuroshio presents a high abundance of *Trichodesmium* ($> 20 \times 10^3$ trichomes L^{-1}) correlated with nitrogen fixation activity (Shiozaki et al. 2015). The authors suggest, by numerical particle-tracking experiments, that *Trichodesmium* spp. are advected by Kuroshio Current from areas around the Miyako Islands to the mainstream of the Kuroshio.

The highest rates of N_2 fixation have been shown in the western section of the Tropical Atlantic and lowest in the eastern part, being the activity more strongly dominated by *Trichodesmium* than small diazotrophs (Montoya et al. 2007, Benavides et al. 2016). However, whether the primary source of excess hydrogen is nitrogen fixation and has a hydrogen release ratio similar to *Trichodesmium*, then nitrogen fixation rates are underestimated in the western sector of the South Atlantic Ocean due to undersampling in this region (Moore et al. 2014). These authors also suggested that unicellular diazotrophs have been underrepresented in studies of nitrogen fixation in the South Atlantic, or their activity underestimated, and also there are no reports of hydrogen

release by endosymbiotic diazotrophs such as *Richelia intracellularis*. Furthermore, given that environmental characteristics of the equatorial region favor increase in *Trichodesmium* abundance (Carpenter et al. 2004, Fernandez et al. 2010, Snow et al. 2015) and that they might be transported from equator southwards by the BC, this can also explain why *Trichodesmium* distribution has been underestimated in Moore et al. 2014.

The *Richelia intracellularis* symbiont of *Rhizosolenia* spp. and *Hemiaulus* spp. was also observed in all three cruises. It suggests that, probably silicate input from the PPW and Patos Lagoon runoff favoured the symbiotic diatom diazotrophic association, as found in the Amazon River plume by Foster et al. (2007) and Goebel et al. (2010).

Trichodesmium is normally absent in cold and rich nutrient waters as at the high latitudes, where it is not able to grow under competitive pressure by space with the phytoplankton community (Spungin et al. 2014), in addition to being exposed to lower temperature. On the other hand, diatoms are able to grow better in rich and cold waters than *Trichodesmium* and this can explain the locally adapted trichomes which thrive in the south of the study area (32°S), where have μ_{NET} of *Trichodesmium* presented positivies values. Also, Gonçalves et al. (2012) have found the presence of diatoms genus (*Rhizosolenia* spp.) that are potential symbiotic with *Richelia intracellularis*, associated to La Plata River plume. Therefore, probably the biogeochemical-ecosystem model is confusing the *Richelia intracellularis* abundance with *Trichodesmium*.

Studies on *Trichodesmium* and diazotrophs distribution along the BC are fairly limited, and the present study contributes to highlight the importance to investigate *Trichodesmium* density associated with this western boundary current.

Concluding remarks

We have analysed the performance of the IGSM/MIT model output about the biomass and growth of *Trichodesmium* in the western of Tropical Atlantic and southern South Atlantic. A combination of cruises dataset and biogeochemical-ecosystem model dataset were used.

In general, the model IGSM/MIT has performed well when compared to observations in the BC location. A multiple regression conducted with three cruises data show similar environmental factors that control the variability of *Trichodesmium* density as compared with the multiple regression from the biogeochemical-ecosystem model output data.

From the model output, *Trichodesmium* might be transported since the southerly SEC bifurcation that supplies the BC, which carries the TW and supports *Trichodesmium*. In this regard, the cruises dataset showed that higher densities of trichomes were associated with the TW, and isolated patches of *Trichodesmium* could be formed in the continental shelf-break when sporadic environmental components play together.

The IGSM/MIT retrieved *Trichodesmium* parameters (biomass and growth) compatible with observed in the Tropical Atlantic (4° N) and in sites dominated by BC (24° S). On the other hand, *Trichodesmium* is not being well represented in the south area (32° S), but *Richelia intracellularis* in symbiotic diatoms association probably occurs in this area. Thus, studies are required in order to develop a regional biogeochemical-ecosystem model, and estimate the abundance of *Trichodesmium* along the western of South Atlantic, where could be better understanding the *Trichodesmium* biomass in the south sector of the BC.

Acknowledgement

The authors would like to thank the Mick J. Follows and Stephanie Dutkiewicz for all the support offered, and the TALUDE Project, which were financed by Chevron Brazil, for the opportunity to collect data. PHRC acknowledges support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processes: 457118/2012-1 and 307385/2013-2). Detoni, A.M.S. was funded by the CNPq during her stay at the Department of Earth, Atmospheric and Planetary Science, Massachusetts Institute of Technology.

References

FIGURES AND TABLES CAPTIONS

Figure 1. Map of latitudinal distribution of the surface average temperature collected in the cruises, presenting the classification of water masses found in the study area. The black line represents the isoline of salinity 36, which corresponds to the threshold salinity of AT (A). Map latitudinal distribution of the surface trichomes average density (log10 scale) collected in the cruises, and inset figure represents the latitudinal distribution of surface average salinity collected in the cruises (B). The relationship between latitude and temperature for each performed cruise (C). The relationship between latitude and trichomes density for each performed cruise (D).

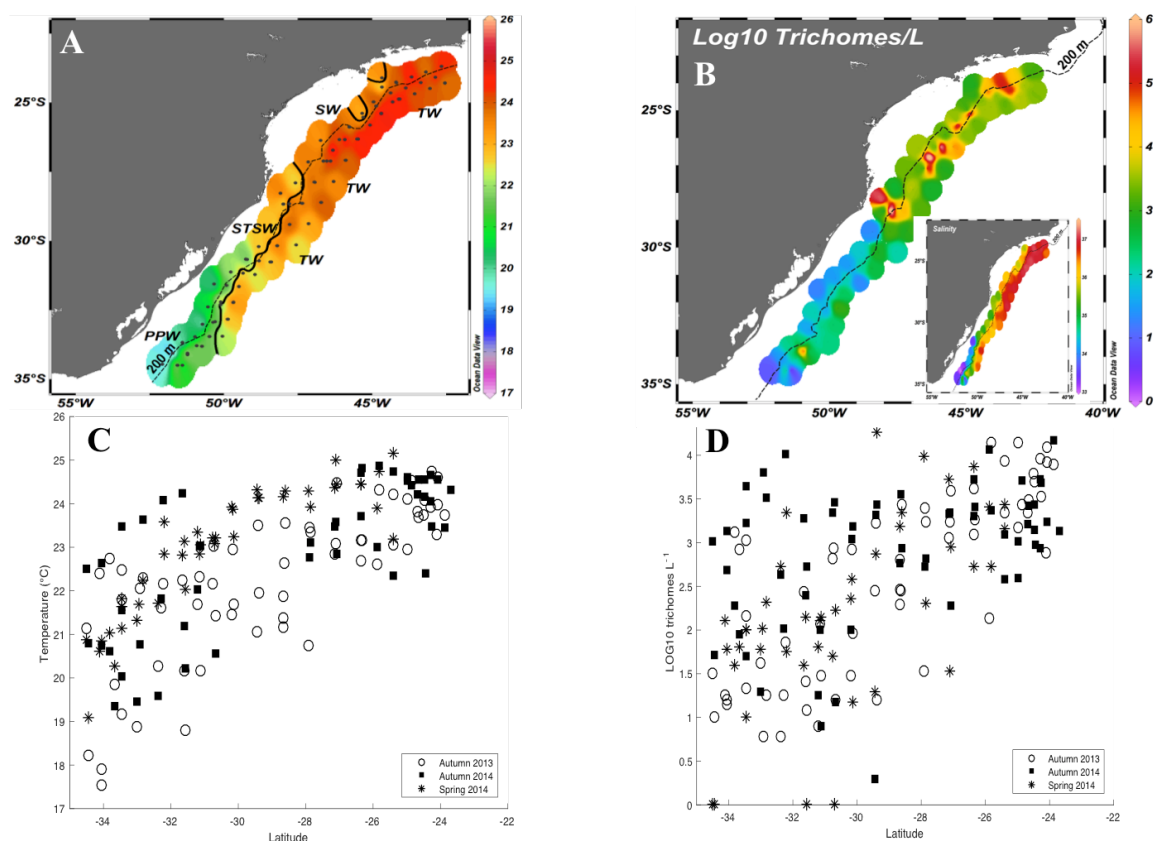


Figure 2. Distribution map of the average velocity of the surface currents derived from the model IGSM/MIT (A). Diagram T/S for the classification of water masses found in the data set of oceanographic cruises, and their trichomes density found in every water mass (B).

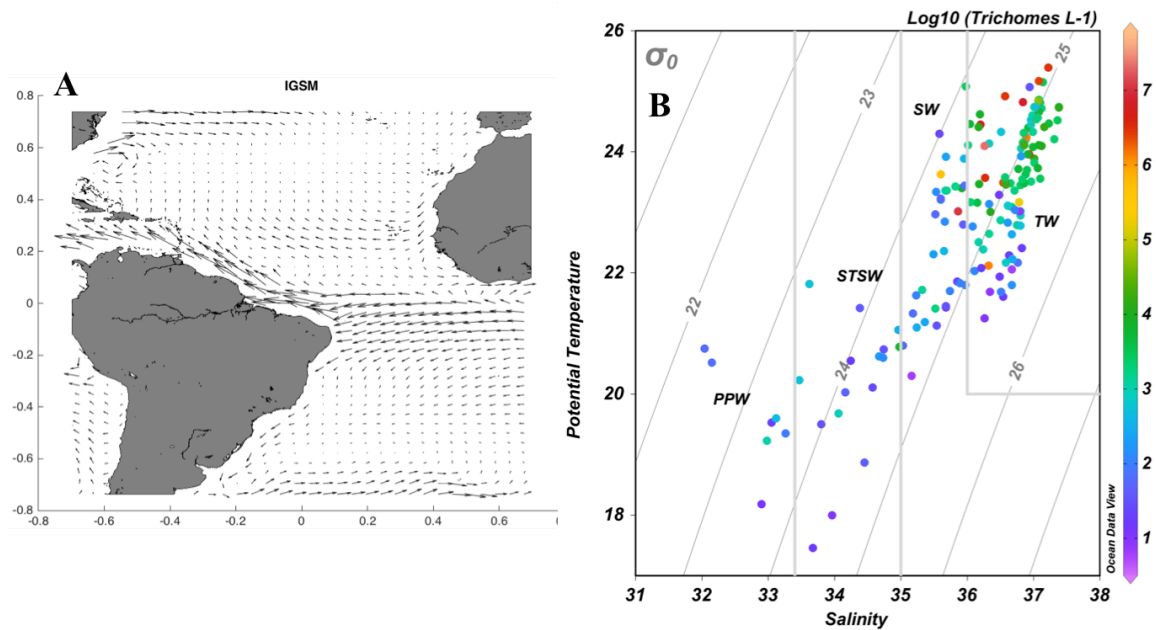


Figure 3. Images of MODIS-Aqua sensor, spatial resolution 4km, the average temperature of the ocean surface (left column), average concentration of chlorophyll-a (middle column) and average density of trichomes (right column) to the days of conducted cruises. The black points correspond to the location of oceanographic data collection points and trichomes count by microscopy.

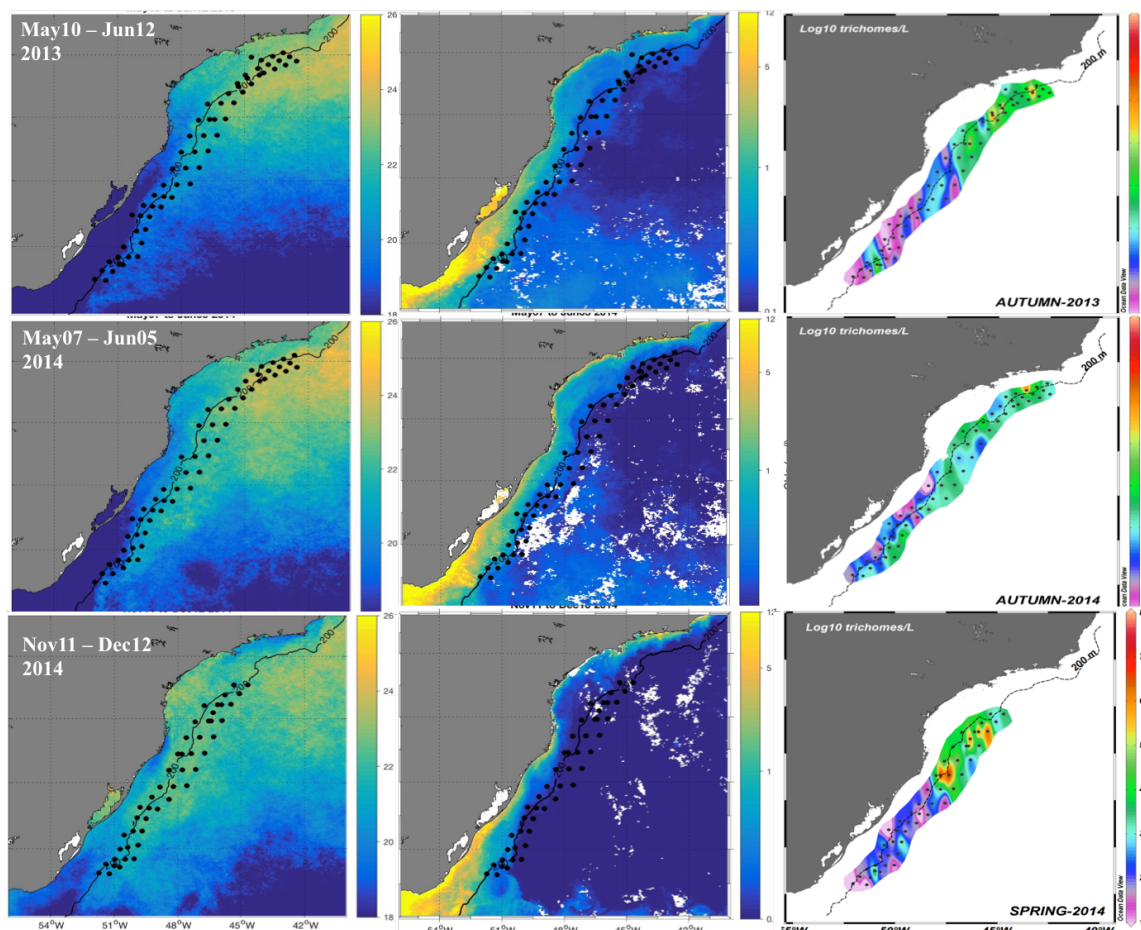


Figure 4. Distribution of average biomass *Trichodesmium* estimated by IGSM/MIT model for 60 months (Jan 1995 to Dec 1999) (A). Distribution of the μ_{NET} *Trichodesmium* calculated from the output parameters of IGSM/MIT model, according to Clayton et al. (2013) (B). The rectangle in black corresponds to the area where the cruises were conducted.

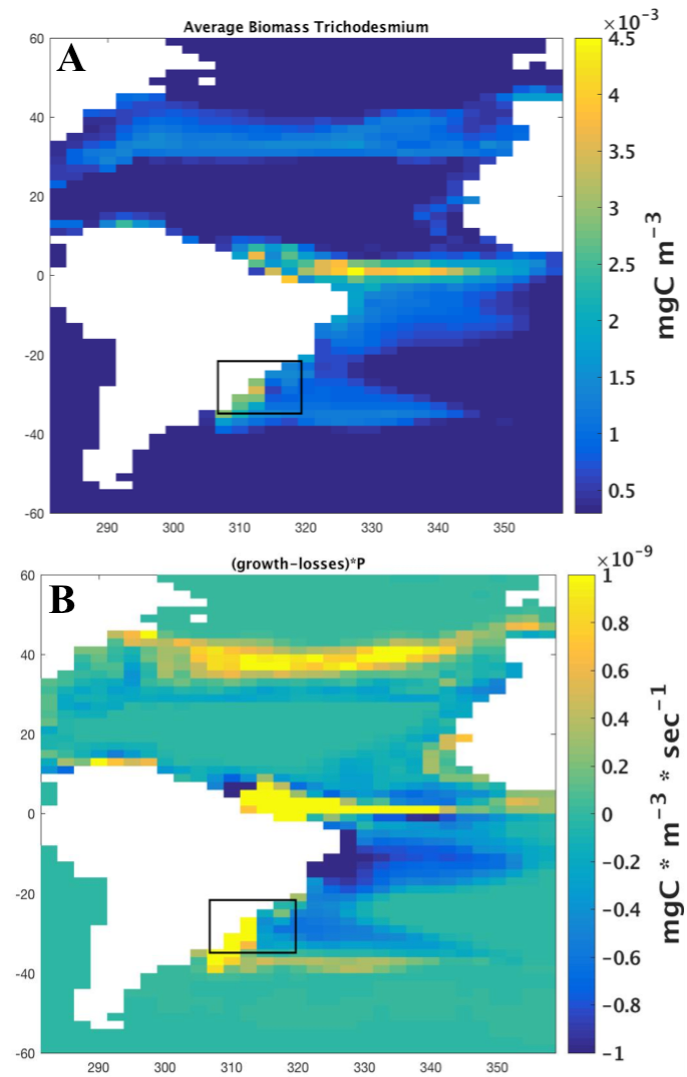


Figure 5. Temporal variability (Jan 1995 to Dec 1999) of the *Trichodesmium* biomass, sea surface temperature, and residual growth rate of *Trichodesmium* derived from the output data IGSM/MIT model to 4° N latitude (top row), 24° S (middle line) and 32° S (bottom row).

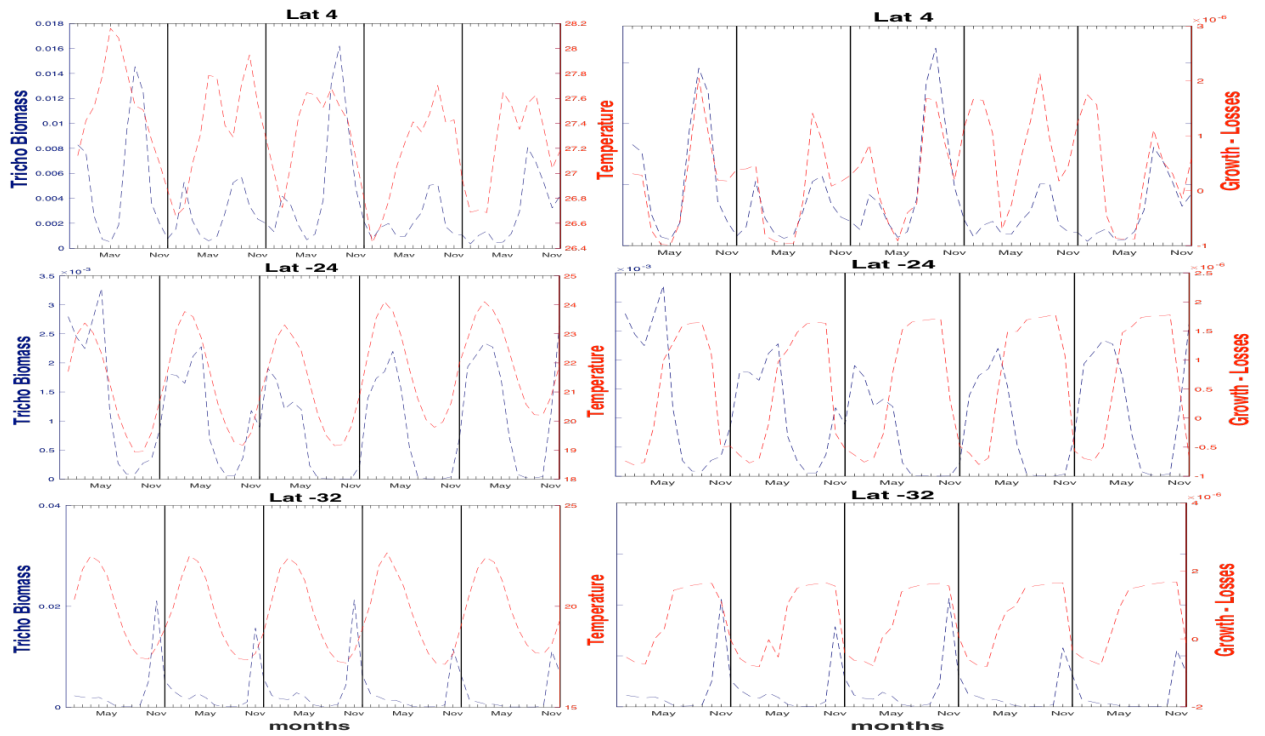


Table 1. Explanatory variables, the linear regression coefficients, standard deviation and p-value corresponding to multiple linear regression analysis of the data set of the cruises performed. “PO4” is the phosphate concentration, “DIN” is the dissolved inorganic nitrogen concentration, “Wind Speed” is the wind speed at the ocean surface, “MLD” is the mixed layer depth, “BV_25m” is the average of Brunt-Vaissala frequency for the first 25 m of water column, “Temp” is the surface temperature of the seawater, “Sal” is the surface salinity of the seawater and “Wind Divergence” is the wind of the divergent movement at the ocean surface.

	Variables	Coeffic	St Dev	P-value
Cruises ($r^2 = 0.62$)	Intercept	3.5	0.1	$< 2 \times 10^{-16}$
	PO4	0.5	0.1	0.003 *
	DIN	-0.5	0.1	0.003 *
	Wind Speed	-0.5	0.1	0.002 *
	MLD	-0.3	0.1	0.03 *
	BV_25m	0.06	0.2	0.8
	Temp	0.6	0.2	0.008 *
	Sal	0.8	0.3	0.02 *
	Wind Divergence	-0.2	0.1	0.03 *

(*) Variables with significant influence (P-value < 0.05) on the density of trichomes

Table 2. Explanatory variables, the linear regression coefficients, standard deviation and p-value corresponding to the analysis of multiple linear regression of the set of output data model IGSM/MIT for their latitudes. “PO4” is the phosphate concentration, “DIN” is the dissolved inorganic nitrogen concentration, “SiO2” is the silicate concentration, “MLD” is the mixed layer depth, “Temp” is the surface temperature of the seawater and “Sal” is the surface salinity of the seawater.

	Variables	Coeffic	St Dev	P-value
Lat. 4N ($r^2 = 0.72$)	Intercept	1.9×10^{-6}	6.5×10^{-8}	$< 2 \times 10^{-16}$
	PO4	4.2×10^{-7}	7.3×10^{-8}	$4 \times 10^{-7} *$
	DIN	-3.4×10^{-7}	7.9×10^{-8}	$7.8 \times 10^{-5} *$
	SiO2	2.2×10^{-7}	7.9×10^{-8}	$0.008 *$
	MLD	2.3×10^{-7}	8.1×10^{-8}	$0.007 *$
	Temp	3.5×10^{-8}	1.1×10^{-7}	0.7
	Sal	-1.7×10^{-7}	1.1×10^{-7}	0.1
Lat. 24S ($r^2 = 0.68$)	Intercept	1.6×10^{-6}	7.4×10^{-8}	$< 2 \times 10^{-16}$
	PO4	1.4×10^{-7}	2×10^{-7}	0.5
	DIN	2.1×10^{-7}	7.7×10^{-8}	$0.008 *$
	SiO2	-8.3×10^{-8}	1.1×10^{-7}	0.46
	MLD	1.2×10^{-6}	1.8×10^{-7}	$1.6 \times 10^{-8} *$
	Temp	6×10^{-7}	2.4×10^{-7}	$0.02 *$
	Sal	3.1×10^{-8}	1.5×10^{-7}	0.8
Lat. 32S ($r^2 = 0.91$)	Intercept	1.6×10^{-6}	3.6×10^{-8}	$< 2 \times 10^{-16}$
	PO4	5.9×10^{-7}	7.5×10^{-8}	$1.8 \times 10^{-10} *$
	DIN	3.3×10^{-8}	4.3×10^{-8}	0.44
	SiO2	-1.3×10^{-7}	4.2×10^{-8}	$0.003 *$
	MLD	-4.8×10^{-7}	1.4×10^{-7}	$0.001 *$
	Temp	-9.8×10^{-7}	1.1×10^{-7}	$5.2 \times 10^{-12} *$
	Sal	3.4×10^{-7}	6×10^{-8}	$7.6 \times 10^{-7} *$

(*) Variables with significant influence (P-value < 0.05) on the *Trichodesmium* growth