

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

**CARACTERIZAÇÃO DAS COMUNIDADES
FITOPLANCTÔNICAS AO LONGO DO TALUDE
CONTINENTAL SUDESTE-SUL DO BRASIL**

CAMILA RODRIGUES LIMA

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Rafael Borges Mendes

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Resende Secchi

Rio Grande
Junho 2018

AGRADECIMENTOS

Aos professores Dr. Eduardo Resende Secchi e a Dra. Virginia Maria Tavano, e em especial ao meu orientador Dr Carlos Rafael Borges Mendes pela oportunidade de trabalho, paciência, ensinamentos, incentivos e confiança. Sempre dispostos a ajudar e tornando este trabalho o melhor possível.

A todos da Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia e ao PPGOB por possibilitarem todo o desenvolvimento deste trabalho e pela oportunidade oferecida. A CAPES pelo apoio financeiro ao conceder a bolsa de estudos.

Aos membros da banca, Dra. Clarisse Odebrecht, Dra. Virginia M. Tavano e Dra Silvia Nascimento por aceitarem participar e pelo tempo disponibilizado para avaliação desta dissertação.

A todos do projeto TALUDE pela coleta das amostras, sem a contribuição de vocês este trabalho não poderia ser realizado. Em especial a Amália Detoni, por toda a ajuda e tempo disponibilizados na elaboração do trabalho.

A todos os amigos, colegas e professores do Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Não poderia ter encontrado melhores pessoas para todo o período do curso.

A todos os meus amigos, sem os quais este trabalho teria sido muito mais difícil. Agradeço a vocês pela amizade, apoio, conversas e saídas.

Por fim, gostaria de agradecer a minha família e ao meu namorado pelo apoio, amor, dedicação e pelo incentivo. Apesar da distância vocês se mostraram sempre presentes em todos os aspectos.

Sem a contribuição e o empenho de cada um vocês não teria conseguido chegar até este momento. Portanto, deixo aqui o meu muito obrigada.

ÍNDICE

	Página
Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. Introdução	3
1.1. Relevância do fitoplâncton	3
1.2. Área de estudo: Talude Continental Sudeste Sul do Brasil	4
1.3. <i>Trichodesmium</i>	7
1.4. Pigmentos fitoplanctônicos: HPLC-CHEMTAX	7
2. Objetivos	9
2.1. Objetivo Geral.....	9
2.2. Objetivos específicos	9
3.1. Amostragem.....	10
3.2. Parâmetros físico-químicos.....	11
3.3. Análise de nutrientes.....	12
3.4. Contagem de tricomas	12
3.5. Análise dos pigmentos por HPLC	13
3.6. Aplicação do programa CHEMTAX	15
3.7. Análises Estatísticas.....	17
4. Resultados e Discussão	17
4.1. Estrutura da comunidade fitoplanctônica em relação as massas de água	18
4.2. Comparação dos métodos para estimativa da biomassa de <i>Trichodesmium</i> ...	21
5. Referências Bibliográficas.....	23

Resumo

A composição, distribuição e biomassa das comunidades fitoplanctônicas no Talude Continental Sudeste Sul do Brasil foram investigadas através de análise quimiotaxonômica (HPLC-CHEMTAX). As amostras foram coletadas, em superfície, durante a realização de cinco cruzeiros oceanográficos entre os anos de 2012 e 2014 durante a primavera e o outono. Quatorze florações de *Trichodesmium* (manchas) foram registradas ao longo da coleta das amostras. A biomassa de *Trichodesmium* foi estimada pela técnica do HPLC-CHEMTAX e a abundância de tricomas por microscopia ótica, com correlação significativamente positiva entre os dois métodos, exceto em algumas manchas. A mixoxantofila, pigmento biomarcador de *Trichodesmium* geralmente utilizado no CHEMTAX, foi detectada em apenas sete amostras das estações com manchas demonstrando que à sua utilização em análises quimiotaxonômicas deveria ser realizada com cuidado, visto que pode causar erros ao estimar a biomassa de *Trichodesmium*. Quatro massas de água foram identificadas na superfície da região: Água da Pluma do Rio da Prata (PRP), Água Subtropical de Plataforma (ASTP), Água de Plataforma (AP) e Água Tropical (AT). A distribuição, composição e abundância dos grupos fitoplanctônicos variou em função das massas de água presentes na região. A TW, associada à Corrente do Brasil, foi a massa de água dominante tanto no outono quanto na primavera em todos os cruzeiros. As águas da região foram, na maioria, caracterizadas pela baixa concentração de *Chl a* e de nutrientes. A concentração de *Chl a* variou entre 0.04 e 2.44 mg.m⁻³ (média de 0.27 mg.m⁻³) nas estações sem mancha, com valores mais altos de biomassa (>1 mg.m⁻³) registrados nas estações sob a influência de PRP e ASTP. *Prochlorococcus*, haptófitas, *Synechococcus* e *Trichodesmium* foram os grupos dominantes da comunidade fitoplanctônica, com contribuições superiores a 70% do total de *Chl a* na primavera e no outono. Os demais grupos fitoplanctônicos (prasinófitas, criptófitas e dinoflagelados) representaram uma pequena fração da comunidade com contribuição menor que 15% do total de *Chl a*. A Análise de Correspondência Canônica (CCA) mostrou que as haptófitas, *Synechococcus*, *Prochlorococcus* e *Trichodesmium* foram positivamente associadas com menor estabilidade da coluna de água, camada de mistura mais profunda e estações com maior temperatura e salinidade, associadas com a AT e AP. Criptófitas, dinoflagelados,

prasinófitas e diatomáceas foram associados a menor estabilidade e maior concentração de nutrientes (DIN e PO₄), relacionados a ASTP e PRP.

Palavras-chave: fitoplâncton; pigmentos; HPLC; CHEMTAX; Talude Continental

Abstract

The composition and distribution of the phytoplankton community on the southeastern Brazilian continental shelf and continental slope were evaluated through chemotaxonomic analyses (HPLC-CHEMTAX). The samples were collected during five oceanographic cruises from 2012 to 2014 in spring and autumn. Fourteen surface blooms of *Trichodesmium* (slicks) were registered during the field surveys. The *Trichodesmium* biomass was estimated by both pigment analyses and microscope counts, with significant correlation found between the methods, except in some slicks. However, myxoxanthophyll, a *Trichodesmium* pigment biomarker generally used in CHEMTAX, was detectable only in seven samples from stations with *Trichodesmium* slicks, indicating that their use in pigment chemotaxonomic approaches should be taken with caution, because it could lead to errors in the estimation of *Trichodesmium* biomass. Four water masses were identified at surface: Plata Plume Water (PPW), Subtropical Shelf Water (STSW), Shelf Water (SW) and Tropical Water (TW). The identified water masses seem to be the main driving factor influencing the composition, distribution and biomass of phytoplankton groups in the study region. The salty-warm oligotrophic TW, associated with the Brazil Current, was the dominant surface water mass in both autumn and spring. The surface waters in this work were generally associated with low values of both total chlorophyll *a* (TChl *a*) and nutrient concentration. In no slicks conditions, surface TChl *a* concentration was low ranging between 0.04–2.44 mg m⁻³ (mean 0.27 mg m⁻³) in almost all oceanographic stations. The highest biomass concentrations were recorded in stations under influence of both PPW and STSW. Overall, *Prochlorococcus*, haptophytes, *Synechococcus*, and *Trichodesmium* dominated the phytoplankton community and their contributions were above 70% to total Chl *a* in both spring and autumn. The other phytoplankton groups (prasinophytes, cryptophytes and dinoflagellates) represented a minor fraction with values below 15% of the total biomass. A Canonical Correspondence Analysis showed that *Prochlorococcus*, haptophytes, *Synechococcus* and *Trichodesmium* were related with both TW and SW and were also positively associated with weaker water column stability, deeper mixed layer, temperature and salinity. In turn, cryptophytes, dinoflagellates, prasinophytes and diatoms, associated with STSW and PPW, were correlated with higher stability and nutrients (nitrogen and phosphorus), and negatively associated with both temperature and salinity. Our results showed that the pigment analysis (HPLC-CHEMTAX) allowed a detailed mapping of phytoplankton communities' distribution in the south and southeastern Brazilian continental shelf and shelf-break, and that the *Trichodesmium* biomass, as currently estimated by this approach, should be carefully revised.

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

Esta dissertação é composta por uma introdução e metodologia detalhadas, junto com um resumo dos principais resultados e discussão do trabalho. Maiores pormenores, bem como a discussão completa, encontram-se no manuscrito resultante deste trabalho apresentado no **Apêndice I**. Os gráficos, tabelas e figuras estão citados como apêndice I e com a numeração utilizada no manuscrito no decorrer da dissertação.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Relevância do fitoplâncton

Os ecossistemas marinhos são mantidos pelo fluxo de energia dos produtores primários, na base da teia trófica, para os consumidores e do retorno de parte dessa energia para o sistema através das vias de decomposição (Doney et al. 2011). A produção primária marinha desempenha um papel importante na dinâmica das teias tróficas e nos ciclos biogeoquímicos (Falkowski 1994, Falkowski et al. 1998). O conhecimento da distribuição e composição do fitoplâncton marinho é de grande importância, pois estes microorganismos são a base da teia trófica e os principais produtores primários dos oceanos ao contribuir com mais de 90% da fixação de carbono. O fitoplâncton atua diretamente nos processos de regulação dos níveis de dióxido de carbono nas camadas superficiais do oceano e consequentemente nos processos de regulação do clima do planeta (Häder & Gao 2015). O ciclo do carbono é totalmente dependente da produção primária líquida, definida como a quantidade de carbono fixado fotossinteticamente e disponível para os outros níveis tróficos (Falkowski et al. 1998). No entanto, a biomassa de fitoplâncton nos oceanos é de apenas 1-2 % do total da biomassa dos produtores primários marinhos (Falkowski & Woodhead 2013). Porém, apesar da baixa biomassa esses organismos são responsáveis por aproximadamente 40-50% da produtividade primária global (Field et al. 1998).

O fitoplâncton consome carbono inorgânico e o fixa como carbono orgânico durante a fotossíntese, sendo uma parte essencial do transporte de carbono orgânico da superfície para as águas do oceano profundo em um processo denominado “bomba biológica” (Ducklow et al. 2001, Sigman & Haug 2003). Através do afundamento da matéria orgânica fixada, os produtores primários atuam como uma “bomba” que remove

carbono da superfície do oceano para regiões mais profundas (Ducklow et al. 2001, Sigman & Haug 2003).

Com relação aos grupos fitoplanctônicos, as diatomáceas são mais eficientes na exportação de carbono para o oceano profundo por serem mais pesadas (maior tamanho e com frústula de sílica) e por normalmente terem alta taxa de divisão, o que causa um excedente de biomassa que não é predada pelo zooplâncton e, portanto é exportada para o fundo. Por outro lado, os grupos fitoplanctônicos de menor tamanho (por exemplo, cianobactérias pico-planctônicas), por serem mais leves, apresentam uma menor taxa de afundamento do que as diatomáceas, sendo menos eficientes no transporte de carbono para o oceano profundo, estando por isso mais associados com os processos de reciclagem de nutrientes inorgânicos e carbono na superfície (Smetacek 1999, Cermeño et al. 2008). As modificações na composição e abundância do fitoplâncton são determinadas por fatores ambientais como luminosidade, disponibilidade de nutrientes, pastagem pelo zooplâncton e mecanismos físicos de ressurgência, convergência, divergência, turbulência, entre outros, os quais atuam de forma dependente e variam no tempo e no espaço (Falkowski 1994, Häder & Gao 2015). Portanto, qualquer mudança na contribuição do fitoplâncton pode resultar em um impacto no estoque de carbono e na biogeoquímica dos oceanos, assim como na estruturação das teias tróficas marinhas (Field et al. 1998, Falkowski et al. 1998, Smetacek 1999, Cermeño et al. 2008, Doney et al. 2011). O estudo das comunidades de fitoplâncton em diferentes escalas temporais e espaciais é muito importante na avaliação, monitoramento ambiental e modelagem dos ecossistemas. Além disso, este estudo pode servir de base para supostas mudanças estruturais nas comunidades fitoplanctônicas decorrentes de alterações ambientais.

1.2. Área de estudo: Talude Continental Sudeste Sul do Brasil

O talude continental SUDESTE/SUL faz parte da Região Sul, uma das quatro divisões da Zona Econômica Exclusiva (ZEE) do Brasil. A região sudeste-sul é limitada ao norte pelo cabo de São Tomé-RJ (22°S) e ao sul pelo Arroio Chuí-RS (34°40'S) (Franco et al. 2006). A plataforma continental apresenta topografia suave e largura variável, e o talude continental apresenta em média 120 km de largura, sendo limitado

pelas isóbatas de 200 e 2000 m (Mahiques et al. 2004, Franco et al. 2006). A região da margem continental brasileira, compreendida entre a plataforma continental externa e o talude intermediário, é fortemente influenciada pelo sistema de correntes oceânicas de contorno oeste associadas ao giro subtropical do Atlântico Sul (Peterson & Stramma 1991). A Corrente do Brasil (CB), de origem tropical, é a feição oceânica mais importante na superfície da região, fluindo no sentido sudoeste e acompanhando a linha de quebra da plataforma continental (Silveira et al. 2000). Entre 33 e 38°S, a CB se encontra com a Corrente das Malvinas (CM), de origem subantártica, formando a Convergência Subtropical do Atlântico Sudoeste (Olson et al. 1988, Gordon 1989, Peterson & Stramma 1991, Matano et al. 2010). A CB carrega águas quentes e oligotróficas em direção às altas latitudes, enquanto a CM transporta águas frias e menos salinas em direção ao norte. As características da CB são derivadas principalmente da presença da Água Tropical (AT) localizada na camada superficial da coluna de água (0-200 m) e da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) localizada na região da picnoclina entre 200 e 500m (Silveira et al. 2000, Mendonça et al. 2017). A AT mistura-se com águas de origem costeira mais frias e de menor salinidade, formando a Água Subtropical de Plataforma (ASTP) ao sul de 28°S e a Água de Plataforma (AP) ao norte desta mesma latitude. A AT é caracterizada por uma temperatura >20°C, salinidade >36 e baixas concentrações de nutrientes (oligotrófica), sendo a massa de água dominante sobre o talude continental (Silveira et al. 2000, Möller et al. 2008).

A região de estudo é dividida latitudinalmente em duas áreas com base em suas respectivas características oceanográficas: região Norte, entre Cabo Frio e Cabo de Santa Marta Grande (CFCSM) (23° – 28°S) e região Sul, Plataforma Subtropical Sul (PSS) (28° – 33° S). Uma característica marcante da circulação na CFCSM é a intensa atividade de processos de mesoescala devido à ocorrência de meandros e vórtices (ciclônicos e anti-ciclônicos) associados à CB (Calado et al. 2006). Nesta área, sobre a plataforma continental, também se encontra em superfície a AP. Além disso, a presença de ressurgência de quebra de plataforma induzida por meandros ciclônicos favorece a intrusão da ACAS nas regiões externas da plataforma da Bacia de Santos (Campos et al. 2000, Palma & Matano 2009). Estas ressurgências no talude têm implicações importantes na produção primária das áreas oceânicas, onde a intrusão de nutrientes

para a camada eufótica, a partir de camadas mais profundas, é normalmente limitada por uma termoclina permanente (Brandini & Fernandes 1996). Os fenômenos de ressurgência fertilizam a zona eufótica resultando em um possível aumento na produção fitoplanctônica, importante para a sustentação dos demais níveis tróficos da região (Brandini 1988a, Gaeta & Brandini 2006, Brandini et al. 2014). Na PSS (região Sul) encontramos em superfície a pluma do Rio da Prata (PRP), formada a partir da entrada de água doce proveniente das descargas continentais (Rio da Prata e Lagoa dos Patos), e a Água Subtropical de Plataforma (ASTP). Esta última massa de água é resultante da mistura da pluma do Rio da Prata (PRP) com a AT, podendo se estender por toda a plataforma continental na parte Sul (Möller et al. 2008, Macedo-Soares et al. 2014, Ciotti et al. 2014). No entanto, as características termo-halinas das massas de água na plataforma continental Sul do Brasil são altamente sazonais devido a mudanças no regime de ventos e na descarga continental (Mendonça et al. 2017).

O talude continental é uma área ecologicamente pouco estudada, mas de grande interesse econômico para o país, principalmente para a indústria pesqueira e petroleira (Matsuura 1996, Castello et al. 2009). A maioria dos trabalhos sobre a composição, biomassa e produção primária do fitoplâncton da região SE/S do Brasil concentram-se em áreas próximas da costa, fazendo com que as regiões de plataforma externa e áreas mais oceânicas continuem deficitárias em relação a estudos sobre a ecologia destes importantes produtores primários marinhos (Brandini 1988a, b). Além disso, grande parte desses estudos na região do talude continental têm sido realizados utilizando dados de sensoriamento remoto, sendo ainda poucos os estudos que utilizam dados “*in situ*” para a caracterização da comunidade fitoplanctônica (Brandini & Moraes 1986, Brandini 1988a, b, 1990, Gonzales-Silvera 2004; Ciotti et al. 2010; Islabão et al. 2017). Estes trabalhos evidenciaram que para as regiões oceânicas (plataforma continental externa e talude continental) a composição e distribuição espacial das comunidades fitoplanctônicas são determinadas em função das propriedades das massas de água presentes na região. Grandes densidades fitoplanctônicas podem ser encontradas próximas ao talude continental em áreas de ressurgência onde afloram águas profundas ricas em nitrogênio e fósforo inorgânico (Brandini 1988b, Brandini et al. 2014).

1.3. *Trichodesmium*

A cianobactéria filamentosa pertencente ao gênero *Trichodesmium* é um dos principais fixadores de nitrogênio molecular dos oceanos (Capone et al. 1997, Carpenter et al. 2004). Esta cianobactéria é amplamente distribuída nos oceanos tropical e subtropical do Atlântico, Pacífico, Índico, Caribe e Sul da China (Capone et al. 1998, Chang et al. 2000, Capone et al. 2005, Fernández et al. 2010, Sohm et al. 2011, Shiozaki et al. 2015). O conhecimento da distribuição global de *Trichodesmium* é muito importante devido à sua capacidade de fixar nitrogênio molecular, principalmente em regiões onde o nitrogênio inorgânico é um elemento limitante (Arrigo 2004). Estima-se que o *Trichodesmium* possa ser responsável globalmente pela entrada de ~ 100-200 Tg de nitrogênio por ano nos oceanos (Gruber & Sarmiento 1997, Karl et al. 2002). Desta forma, o *Trichodesmium* atua como um importante agente nos processos de ciclagem biogeoquímica dos nutrientes, principalmente nas regiões oligotróficas dos oceanos (Carpenter et al. 2004, Capone et al. 2005). No entanto, essas estimativas estão sujeitas a incertezas em razão do conhecimento limitado sobre a biomassa e a produtividade de *Trichodesmium*, assim como de outros organismos fixadores de N₂ pelos métodos tradicionais. As dificuldades estão relacionadas à sua esparsa distribuição e à natureza transitória dos seus florescimentos (Capone et al. 1997, Tyrrell et al. 2003, Fernández et al. 2010). Estudos sobre essa cianobactéria são ainda mais limitados no Oceano Atlântico Sul, sobretudo na costa sudoeste onde poucos estudos foram realizados até o presente momento (Gonzalez-Silveira et al. 2004, Detoni et al. 2016a, Detoni et al. 2016b, Bif & Yunes 2017). O *Trichodesmium* pode ser encontrado em tricomas livres (filamentos), forma predominante em cultivo e no ambiente, e/ou em agregações de tricomas. A capacidade de formar agregações de pequena a grande escala, muitas vezes observadas na superfície, referidas como “manchas” ou “blooms de superfície”, é um aspecto característico dessa cianobactéria. A observação de frequentes agregações de *Trichodesmium* durante levantamentos de campo na área de interesse motivou o desenvolvimento do presente estudo.

1.4. Pigmentos fitoplanctônicos: HPLC-CHEMTAX

O fitoplâncton contém três tipos de pigmentos envolvidos no processo de absorção de luz (fotossintéticos e fotoprotetores): clorofilas, carotenóides e ficobilinas (Wright & Jeffrey 2006). A clorofila *a* (Cl *a*) é o principal pigmento interveniente na absorção de luz para a fotossíntese, sendo a única molécula capaz de converter energia luminosa em energia química pelos chamados “centros de reação”, tipos especiais de Cl *a*. Por outro lado, a Cl *a* pode ser usada como um índice da biomassa fitoplanctônica, visto que está presente em praticamente todos os grupos fitoplanctônicos, com exceção de *Prochlorococcus* que, em substituição da Cl *a*, possui a divinil-clorofila *a* (Dv-Cl *a*) (Wright & Jeffrey 2006). Além da Cl *a* existem outros pigmentos, denominados pigmentos acessórios (carotenóides e ficobilinas), que aumentam o espectro de absorção da luz visível, aumentando a eficiência da fotossíntese ao capturar a luz em faixas onde a Cl *a* não absorve. Por outro lado, alguns carotenóides têm como função proteger a célula contra danos no aparato fotossintético resultantes dos efeitos da alta irradiância, sendo denominados fotoprotetores (Takaichi & Mochimaru 2007).

Os pigmentos fitoplanctônicos apresentam características favoráveis que os qualificam como biomarcadores taxonômicos: (1) presentes em todas as microalgas fotossintéticas, não sendo encontrados na maioria das bactérias, protozoários ou detritos, permitindo que o fitoplâncton seja discriminado dos outros componentes da comunidade microbiana; (2) específicos (diagnósticos) de uma determinada classe ou gênero, como por exemplo a aloxantina para as criptófitas e a Dv-Cl *a* para o *Prochlorococcus* (Wright & Jeffrey 2006, Roy et al. 2011). Os pigmentos determinados pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), em conjunto com o programa estatístico CHEMTAX (Mackey 1996), podem ser utilizados para mapear as comunidades fitoplanctônicas em diferentes regiões. O programa CHEMTAX permite calcular a contribuição dos principais grupos fitoplanctônicos para o total de Cl *a* utilizando as razões pigmentares (pigmento marcador: Cl *a*) e a partir das concentrações dos pigmentos obtidas através do HPLC. Apesar das razões pigmentares variarem em função de alterações na composição da comunidade, estado fisiológico e nutricional, vários trabalhos têm demonstrado que a relação entre o total de pigmentos acessórios e a Cl *a* é relativamente constante em amostras de diferentes ambientes (por exemplo, Trees et al. 2000). A técnica do HPLC-CHEMTAX tem sido amplamente empregada com eficácia em diferentes regiões do globo (e.g., Wright et al. 2009,

Schlüter et al. 2011, Mendes et al. 2012, Madhu et al. 2014, Islabão et al. 2017). Esta técnica tem a vantagem de ser mais rápida e permite uma melhor discriminação de grupos fitoplanctônicos de pequeno tamanho (nano e pico-fitoplâncton), quando comparada com métodos de identificação mais tradicionais (e.g., microscopia ótica). A boa concordância entre os resultados obtidos das análises microscópicas e de pigmentos (HPLC-CHEMTAX) para o cálculo da biomassa fitoplanctônica foi demonstrada nos mais distintos ambientes como água doce, estuários, águas costeiras e regiões oceânicas (Andersen et al. 1996, Havskum et al. 2004, Schlüter et al. 2006, Kozłowski et al. 2011, Mendes et al. 2017). Os pigmentos podem atuar como traçadores em estudos de composição e distribuição das comunidades fitoplanctônicas, contribuindo no estudo dos fluxos de carbono entre os oceanos e a atmosfera, assim como os ciclos biogeoquímicos.

Nesse contexto o presente estudo tem como foco a caracterização da comunidade fitoplanctônica ao longo do Talude SE/S do Brasil utilizando a abordagem do HPLC-CHEMTAX.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterização das comunidades fitoplanctônicas ao longo do Talude Continental Sudeste-Sul do Brasil através da análise quimiotaxonômica e validação da abordagem do HPLC-CHEMTAX para o gênero *Trichodesmium*.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar a composição e concentração dos principais pigmentos na região de estudo.
2. Determinar composição e concentração (absoluta e relativa) dos grupos fitoplanctônicos.

3. Descrever o padrão das comunidades fitoplanctônicas em relação a variabilidade espacial e sazonal (outono vs. primavera).
4. Avaliar a influência das condições ambientais no padrão de distribuição e composição das comunidades fitoplanctônicas.
5. Comparar os resultados da microscopia com os derivados da análise pigmentar para validação da aplicação do HPLC-CHEMTAX ao estudo de *Trichodesmium*.

3. Material e Métodos

3.1. Amostragem

As amostras utilizadas neste estudo foram coletadas seguindo a metodologia adotada pelo Projeto TALUDE (“Avaliação da distribuição e abundância de cetáceos no talude e plataforma externa do Sudeste-Sul do Brasil: uma abordagem ecossistêmica”). Os cruzeiros, com duração aproximada de 35 dias, foram realizados a bordo do Navio Oceanográfico Atlântico Sul durante o outono e primavera. Um total de 5 cruzeiros foram realizados durante o outono de 2012 (10 maio a 28 Junho, 60 estações oceanográficas), primavera de 2012 (11 a 24 de novembro, 65 estações oceanográficas), outono de 2013 (10 de maio a 12 de junho, 64 estações oceanográficas), outono de 2014 (7 de maio a 5 de junho, 61 estações oceanográficas) e na primavera de 2014 (11 de novembro a 10 de dezembro, 46 estações oceanográficas) (Tabela 1; apêndice I). A área de estudo se estendeu entre Cabo Frio, RJ (23°00’S/41°30’W) e o Chuí, RS (33°44’S/53°16’W), abrangendo a porção final da plataforma continental externa sudeste-sul e o talude continental superior em isóbatas de aproximadamente 200 a 2000 metros de profundidade (Figura 1; apêndice I). A área de estudos foi dividida latitudinalmente em duas regiões: setor norte, Cabo Frio – Cabo de Santa Marta (CFCSM: 23° – 28°S) e setor sul, Cabo de Santa Marta – Chuí (PSS: 28° – 33°S). No presente estudo, 14 florações (manchas) de *Trichodesmium* foram observados/registados durante as amostragens. As manchas foram caracterizadas por apresentarem valores de Cl *a* superiores a 1.5 mg.m⁻³ e uma contribuição de *Trichodesmium* superior a 60% para o

total da biomassa de fitoplâncton (TCl a ; Cl a + Dv-Cl a), dominância que também foi confirmada através do microscópio. Uma descrição detalhada da relação das condições ambientais com a distribuição e formação das manchas de *Trichodesmium* pode ser encontrada em Detoni et al. 2016a.

3.2. Parâmetros físico-químicos

Os valores de temperatura, salinidade e pressão foram obtidos dos perfis verticais realizados em cada estação através do sistema CTD (SeaBird CTD/Carrousel 911+system®). Para avaliar a estrutura da coluna de água foram calculados a densidade da água do mar e a profundidade da camada de mistura (UMLD) com base nos dados obtidos do CTD. A UMLD foi calculada utilizando o método de critérios de diferença finita adaptado de Glover & Brewer (1988) e Kara et al. (2000). A estabilidade da coluna de água foi estimada pela frequência de Brunt-Väisälä (BV) ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$) considerando a gravidade atmosférica (m.s^{-2}) e a densidade da água do mar (kg.m^{-3}). A estabilidade estática (E) é uma medida do trabalho (da energia) que é necessária realizar para mover uma partícula de água para cima ou para baixo na coluna de água, sendo calculada pela equação:

$$E \approx -\frac{1}{\rho} \frac{d\rho}{dz}$$

onde:

ρ = densidade da água do mar

z = profundidade

Como critério para determinar a importância da estabilidade da coluna de água, pode-se usar o parâmetro de estabilidade, dado pela Equação de Estabilidade (acima).

$E > 0$, situação estável

$E = 0$, estabilidade neutra

$E < 0$, situação instável

Para o cálculo final da estabilidade foi calculado (considerado) o valor médio de BV ao longo dos 25m superiores da coluna de água, representativos da camada superficial. Os intervalos termo-halinos usados para classificar as massas de água foram baseados em trabalhos publicados na região (Silveira et al. 2000, Möller et al. 2008, Macedo-Soares et al. 2014).

3.3. Análise de nutrientes

A concentração de nutrientes foi determinada em três dos cinco cruzeiros amostrados (referente ao outono de 2013, outono de 2014 e primavera de 2014) em um total de 78 estações oceanográficas. As amostras de água foram coletadas com uma garrafa Van-Dorn, a 15 m de profundidade, onde foram determinadas as concentrações dos seguintes nutrientes inorgânicos dissolvidos: nitrito, nitrato, amônia e fosfato. Cada amostra foi filtrada usando um filtro de acetato de celulose com 0,45 μm de porosidade, e as amostras foram imediatamente armazenadas em freezer para posterior análise em laboratório por técnicas espectrofotométricas conforme o modelo proposto por Aminot & Chaussepied (1983) e Grasshoff et al. (2009). A soma das concentrações de nitrato, nitrito e amônia representam o total de nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN).

3.4. Contagem de tricomas

As amostras para contagem de tricomas de *Trichodesmium* foram coletadas, na superfície, em todas as estações oceanográficas (incluindo nas manchas), as quais eram visualmente detectadas em todos os cruzeiros, com exceção do cruzeiro correspondente ao outono de 2012. Em cada estação, 10 L de água foram filtradas em rede de plâncton com malha de 5 μm . A rede foi lavada com água do mar filtrada para remover o material retido, sendo então armazenado em frascos de âmbar de 150 mL com formol 4%. As contagens de tricomas e colônias foram realizadas com aumento de 100 x em microscópio invertido. Seguindo o método proposto por Utermöhl (1958), uma câmara

de sedimentação de 2 mL foi utilizada para contagem nas estações de mancha e câmara de 50 mL foram utilizadas nas demais estações. Antes do início do processo de sedimentação das amostras, foi adicionado 1 mL de ácido acético para romper as vesículas de gás das células de *Trichodesmium* para facilitar a sua sedimentação (adaptado de Cronberg et al. 2003). Tricomas individuais e colônias foram contados em meia (manchas) ou câmara inteira (sem presença das manchas). Para o cálculo do total de tricomas foi somado número de tricomas individuais ao número de colônias, sendo este último convertido em tricomas equivalentes por litro utilizando uma estimativa de 200 tricomas por colônia (Carpenter 1983). Portanto, para a densidade total de tricomas foi considerada a contagem total dos tricomas (tricomas livres + tricomas em colônias).

Com relação ao estudo de *Trichodesmium* este trabalho é uma complementação ao estudo feito por Detoni et al. 2016a, que teve como objetivo avaliar a distribuição latitudinal de *Trichodesmium* nas condições com mancha e sem mancha na mesma região do presente estudo. Portanto, como a concentração de nutrientes (DIN e PO₄) e a contagem de tricomas foram obtidas de Detoni et al. 2016a essas variáveis não foram quantificadas em todos os cruzeiros amostrados e nem todos os nutrientes geralmente utilizados, como a sílica, foram utilizados no presente estudo.

3.5. Análise dos pigmentos por HPLC

Para análise dos pigmentos fitoplanctônicos, amostras de água da superfície (profundidade até 5 m) foram coletadas em volumes entre 60-500 ml para as estações que apresentaram manchas de *Trichodesmium*, e de 1-2 L para as demais estações oceanográficas. As amostras de água foram filtradas a vácuo em filtros Whatman GF/F (tamanho de poro 0,7 µm; diâmetro 25 mm). Os filtros foram armazenados e transportados para o laboratório em nitrogênio líquido e acondicionados em ultrafreezer a - 80°C para posterior análise. Para a extração dos pigmentos, os filtros foram colocados em tubos de ensaio com 3 ml de metanol, solução de extração, 95% tamponado (2% de acetato de amônio) contendo 0,05 mg.l⁻¹ de trans-β-apo-8'-carotenal como padrão interno. Os filtros foram macerados com bastão de vidro e ficaram imersos

nessa solução por 30 minutos em temperatura de -20°C . Em seguida, foram ultrasonificados por cinco minutos em banho frio e refrigerados novamente por 30 minutos a -20°C para garantir total eficiência na extração dos pigmentos, sendo ao final do processo centrifugados a 1100 rpm, durante 5 minutos, a uma temperatura de 4°C . O sobrenadante foi filtrado utilizando um filtro Fluoropore PTFE ($0,2\mu\text{m}$ de poro) e 1000 μl da solução foi misturada com 400 μl de água Milli-Q em frascos de análise específicos, sendo então imediatamente colocado no auto-injetor do instrumento de HPLC (*Shimadzu*) refrigerado a 4°C .

O sistema do HPLC é composto por um módulo distribuidor de solventes (LC-20AD), um sistema de controle (CBM-20A) um detector de fotodiodos (SPD-M20A; comprimento de onda 190 a 800 nm; 1 nm de resolução espectral) e um detector de fluorescência (RF-10AXL; excitação 430nm/emissão 670nm). A separação cromatográfica dos pigmentos no instrumento foi efetuada com uma coluna monomérica C8 (fase estacionária) e uma fase móvel contendo piridina, seguindo o método de análise proposto por Zapata et al. (2000). Os limites de detecção e os procedimentos de quantificação dos pigmentos foram realizados de acordo com Mendes et al. (2007). Os pigmentos foram identificados a partir dos seus respectivos espectros de absorção e tempos de retenção, enquanto as concentrações foram calculadas através dos sinais do detector de fotodiodos e/ou do detector de fluorescência. A quantificação dos pigmentos foi realizada através da integração de seus picos de retenção com o programa *LC-solution*, porém todas as integrações foram checadas manualmente e corrigidas sempre que necessário. Para a identificação e quantificação dos picos o sistema de HPLC foi previamente calibrado com padrões comerciais de concentração conhecida adquiridos ao DHI (Institute for Water and Environment, Denmark). Para a correção das perdas e alterações de volume a concentração dos pigmentos foi normalizada com base no padrão interno. Todos os pigmentos detectados acima do limite de quantificação e utilizados neste estudo encontram-se na Tabela S1 (material suplementar, **Apêndice I**). O método utilizado no HPLC permite a separação de todos os pigmentos, exceto a clorofila *b* e a divinil clorofila *b*, que apresentam o mesmo tempo de retenção e foram quantificados juntos, conseqüentemente, foram considerados em conjunto como total de clorofila *b* (TC1 *b*) neste estudo.

Um controle de qualidade foi aplicado aos dados de pigmentos em todos os cruzeiros utilizando a metodologia proposta por Aiken et al. (2009). Esse controle de qualidade estabelece a existência de uma relação linear entre os pigmentos acessórios (AP; soma de todos os carotenoides mais a clorofila *b* e *c*) e o total de clorofila *a* (TCl *a*; soma da monovinil clorofila *a*, divinil clorofila *a* e clorofilide *a*). Os critérios são: (1) a diferença entre o TCl *a* e AP deve ser inferior a 30 % da concentração total dos pigmentos (TP; soma de todos os pigmentos); (2) na regressão linear entre TCl *a* e AP o declive da reta deve apresentar valores entre 0,7-1,4, e deve explicar mais de 90% da variância total ($r^2 > 0.9$); (3) os dados do cruzeiro só serão considerados se o número de amostras que cumprirem os critérios anteriores for maior do que 85 % do total de amostras. Neste estudo as amostras cumpriram os critérios de qualidade estabelecidos anteriormente, com o declive da reta variando entre 0.9 e 1.1 e com um $r^2 > 0.91$ em todos os cruzeiros.

3.6. Aplicação do programa CHEMTAX

A contribuição dos grupos fitoplanctônicos para a biomassa total foi calculada utilizando o programa CHEMTAX v1.95 (Mackey et al. 1996). O CHEMTAX utiliza um fator de análise iterativo de fatorização matricial que melhor se adequa aos dados da matriz inicial. Para a construção da matriz é preciso identificar as classes esperadas (informação obtida através de uma prévia visualização ao microscópio e/ou através da detecção de determinados pigmentos) e as razões pigmentares (razão entre o respectivo pigmento marcador e a clorofila *a*) iniciais dessas mesmas classes. As razões pigmentares utilizadas na matriz de entrada são baseadas em trabalhos publicados que utilizaram a mesma metodologia em regiões geograficamente semelhante e trabalhos laboratoriais com culturas de espécies e/ ou grupos semelhantes. Neste trabalho, as razões pigmentares iniciais utilizadas foram obtidas de Higgins et al. (2011), cujo trabalho compila conjuntos de dados pigmentares provenientes dos mais diversos ambientes/ecossistemas marinhos. As informações contidas na matriz inicial são introduzidas no programa CHEMTAX em conjunto com as concentrações dos diversos pigmentos biomarcadores, derivados do HPLC, determinados para a nossa área de estudo. O resultado permite estimar a fração de cada grupo quimiotaxonômico para a

biomassa total (TCl *a*). A mesma matriz inicial foi utilizada nos dados obtidos nos cinco cruzeiros, sendo que cada um deles foi executado separadamente, com o objetivo de minimizar potenciais variações nos processos de otimização do CHEMTAX entre os cruzeiros. Os procedimentos estatísticos e cálculos matemáticos efetuados pelo programa estão integralmente descritos em Mackey et al. (1996). A clorofila *a* foi utilizada para o cálculo da biomassa de todos os grupos, com exceção do *Prochlorococcus*, no qual foi usada a divinil clorofila *a*. Portanto, o índice de biomassa total fitoplanctônica (TCl *a*) utilizado neste estudo é resultante da soma da clorofila *a* e da divinil clorofila *a*.

Para otimizar os resultados da matriz de saída, uma série de 60 matrizes foram geradas ao multiplicar cada razão pigmentar da matriz inicial por uma função aleatória como descrito em Wright et al. 2009. Cada uma das 60 matrizes foi utilizada como matriz de entrada no CHEMTAX e a média das 6 melhores matrizes de saída (com menores resíduos) foi utilizada para determinar a concentração relativa e absoluta dos grupos quimiotaxonômicos (Wright et al. 2009). As matrizes de entrada e saída, assim como as classes utilizadas estão na Tabela S2 (material suplementar, **Apêndice I**).

No caso em particular de *Trichodesmium* tem a problemática do uso da mixoxantofila, pigmento biomarcador geralmente utilizado na discriminação deste gênero de cianobactéria no CHEMTAX conforme sugerido/utilizado em vários estudos anteriores (Mackey et al. 1996, 1997, Rodrigues et al. 2014). No entanto, no presente estudo a mixoxantofila não foi detectada na maioria das amostras, sendo que em apenas sete estações dentre as catorze onde foram observadas as manchas de *Trichodesmium* apresentaram concentrações detectáveis deste pigmento. Conseqüentemente, a mixoxantofila foi excluída da análise quimiotaxonômica e a razão inicial aplicada para a determinação da biomassa de *Trichodesmium* no CHEMTAX foi calculada a partir da média das razões de zeaxantina:Cl *a* e de $\beta\beta$ -Car:Cl *a* obtida das manchas observadas, ou seja, com razões da própria região de estudo. Porém, ao utilizar a zeaxantina (pigmento marcador de cianobactérias) o *Synechococcus* e o *Trichodesmium* apresentam os mesmos pigmentos na matriz de entrada, porém as razões desses pigmentos em relação à Cl *a* são diferentes, permitindo que o programa separe as suas respectivas contribuições. Para validação da análise quimiotaxonômica duas técnicas diferentes,

microscopia e HPLC/CHEMTAX, foram aplicadas para quantificar a abundância e biomassa de *Trichodesmium*.

3.7. Análises Estatísticas

Com o objetivo de correlacionar os valores de densidade de tricomas obtidos das análises microscópicas com a biomassa de *Trichodesmium* derivada dos resultados do HPLC-CHEMTAX, análises de regressão linear foram aplicadas e os coeficientes paramétricos de correlação de Pearson-r foram calculados. A correlação entre os métodos foi estabelecida para todos os cruzeiros em conjunto, mas analisada detalhadamente para as situações onde ocorreram as manchas de *Trichodesmium*.

As relações existentes entre os grupos do fitoplâncton e as variáveis ambientais foram exploradas através de análise de correspondência canônica (CCA; Ter Braak & Prentice 1988) utilizando o programa CANOCO 4.5 para Windows. A análise foi realizada com o objetivo de determinar quais fatores ambientais estão mais associados com a comunidade fitoplanctônica encontrada. As variáveis bióticas foram representadas pela biomassa dos grupos taxonômicos ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ de TCl *a*) derivados do CHEMTAX, enquanto as variáveis ambientais incluídas no programa foram: profundidade da camada de mistura (UMLD), temperatura, salinidade, nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN), fóstato (PO_4), estabilidade da coluna de água (estabilidade) e o total de clorofila-a (TCl *a*). O TCl *a*, nesta análise multivariada, foi considerada uma variável ambiental por representar o índice da biomassa fitoplanctônica total. Posteriormente, o teste de Monte Carlo foi executado com base em 499 permutações em um modelo reduzido ($p < 0.05$) para avaliar a significância da CCA.

4. Resultados e Discussão

Esta seção é uma síntese dos principais resultados do presente trabalho. Os detalhes e a discussão completa dos mesmos encontram-se no manuscrito “**Chemotaxonomy-based mapping of phytoplankton communities in the subtropical Southwestern Atlantic Ocean, with emphasis on the marine cyanobacterium *Trichodesmium***” submetido

no periódico *Progress in Oceanography* (Apêndice I). Os gráficos, tabelas e figuras podem ser visualizadas no **apêndice I**.

4.1. Estrutura da comunidade fitoplanctônica em relação as massas de água

Os valores de temperatura e salinidade nos cinco cruzeiros variaram entre 15.6 – 26.3°C e 31.3 – 37.2, respectivamente. Os valores médios de temperatura da superfície foram semelhantes entre os cruzeiros, com o menor valor observado na primavera de 2012 e o maior no outono de 2012. Quatro massas de água foram identificadas, em superfície, na área de estudo: Pluma do Rio da Prata (PRP), Água Subtropical de Plataforma (ASTP), Água de Plataforma (AP) e Água Tropical (AT), com exceção do outono de 2012 onde a PRP não foi identificada. A média e o desvio padrão das variáveis ambientais (temperatura, salinidade, estabilidade da coluna de água, DIN e fosfato) em cada massa identificada nos cinco cruzeiros está disponível na tabela 1. Grande porcentagem (aproximadamente 67%) do total de estações oceanográficas estavam sob a influência da AT (quente, salina e oligotrófica) nas duas estações do ano. A concentração do TCl *a* (índice de biomassa fitoplanctônica) variou entre 0.04 e 166.3 mg.m⁻³, com os maiores valores médios encontrados no Outono de 2013 (2.26 mg.m⁻³) e Primavera de 2014 (7.17 mg.m⁻³). Um total de 14 manchas de *Trichodesmium* foram identificadas durante este estudo, as quais foram associadas com os valores máximos de biomassa encontrados em cada época amostrada (outono e primavera). As manchas foram observadas principalmente na parte norte da região de estudo (CFCSM) sob influência da AT, a sua formação é geralmente induzida por alta concentração de fosfato na coluna de água como consequência de uma estabilidade da coluna de água mais fraca gerada por ventos divergentes devido a processos de mesoescala e fenômenos de ressurgência na região (Detoni et al. 2016a). A concentração de TCl *a*, nas estações sem manchas, foi baixa na maioria das estações oceanográficas, variando entre 0.04 e 2.44 mg.m⁻³ (média de 0.27 mg.m⁻³), com exceção de algumas estações. Nessas condições, os maiores valores de biomassa foram encontrados na primavera de 2012 (2.44 mg.m⁻³) e outono de 2013 (1.69 mg.m⁻³), ambas na parte sul da área de estudo e associadas à Pluma do Rio da Prata e a Água Subtropical de Plataforma.

A composição da comunidade fitoplanctônica foi influenciada principalmente pelas características das massas de água presentes na região. Desta forma, a divisão da área de estudo em duas partes (norte e sul), apesar das diferenças citadas, não se mostrou adequada para a caracterização das comunidades. Portanto, as informações obtidas, assim como os resultados e a discussão foram estruturadas, ao longo desta seção e no manuscrito submetido, em função das propriedades das massas de água.

A contribuição absoluta média dos grupos fitoplanctônicos para o total de clorofila *a*, derivadas do HPLC-CHEMTAX, associadas com as massas de água da região estão na Figura 3 (**Apêndice I**). Os maiores valores de biomassa ($> 1 \text{ mg.m}^{-3}$) foram encontrados nas estações oceanográficas sob influência da PPW, com maiores contribuições de diatomáceas e haptófitas na primavera. Por outro lado, no outono, os grupos fitoplanctônicos dominantes nesta região foram os dinoflagelados e as prasinófitas, coincidindo com a diminuição da contribuição das diatomáceas. A ASTP também apresentou alta biomassa ($> 1 \text{ mg.m}^{-3}$) com contribuições relevantes de diatomáceas, haptófitas e prasinófitas. A AP foi dominada pelas haptófitas, prasinófitas e por *Prochlorococcus*, exceto no outono e primavera de 2012, quando o *Synechococcus* e as diatomáceas também foram importantes contribuidores para a biomassa total. Na AT, massa de água dominante na região, a comunidade fitoplanctônica foi composta predominantemente por *Prochlorococcus*, haptófitas e *Synechococcus*. É importante ressaltar as contribuições significativas das haptófitas em todas as massas de água e um aumento acentuado na concentração de *Trichodesmium* na parte norte da região, especialmente devido à ocorrência de manchas, associadas com a AT (Figura 3; apêndice I). Em geral, *Prochlorococcus*, haptófitas, *Synechococcus* e *Trichodesmium* dominaram a comunidade fitoplanctônica, sendo que a soma desses grupos representou mais de 70% em termos de contribuição para o total de biomassa em todos os cruzeiros. Os demais grupos fitoplanctônicos representam apenas uma pequena fração da comunidade, geralmente não ultrapassando 15 % da biomassa total. Águas oligotróficas como a AT, estão geralmente associadas com baixa concentração de clorofila *a* ($\sim 0,1 \text{ mg.m}^{-3}$) e abundância de organismos pertencentes ao nano e picoplâncton como as cianobactérias *Prochlorococcus* e *Synechococcus*. A maioria dos estudos realizados na plataforma e talude continental demonstraram que a AT está associada a baixa biomassa fitoplanctônica, distribuição horizontal uniforme da

clorofila *a*, assim como a baixas densidades celulares nas regiões oceânicas (Brandini & Moraes 1986, Brandini 1988a, b, 1990, Rodrigues et al. 2014). O domínio de grupos fitoplanctônicos do nano e pico-plâncton na AT ocorre por serem adaptados a condições de baixa concentração de nutrientes devido à maior relação superfície/volume, o que possibilita maior facilidade na absorção de nutriente sob concentrações baixas e, conseqüentemente, maior taxa de crescimento nestas condições. Por outro lado, os grupos maiores (e.g., diatomáceas) necessitam de maior concentração de nutrientes para o seu crescimento, sendo encontrados majoritariamente em regiões próximas da costa onde o aporte de nutrientes de origem continental é maior, o que favorece estes grupos em águas com maior concentração de nutrientes (Friebele et al. 1978, Eppley et al. 2003). O sucesso de *Trichodesmium* em águas tropicais oligotróficas se deve a algumas características como: (1) capacidade de fixação de nitrogênio molecular, (2) flutuabilidade natural devido a presença de vesículas de gás, o que mantém os indivíduos na coluna de água superior, (3) aparato fotossintético adaptado a alta irradiância, (4) baixa taxa de crescimento a ausência de predadores naturais (Capone, 1997).

Através da CCA foi possível relacionar a distribuição espacial dos grupos fitoplanctônicos com as variáveis ambientais e massas de água encontradas na região de estudo (Figura 6, **apêndice I**). Sete variáveis ambientais (temperatura, salinidade, DIN, fosfato, TChl *a*, UMLD e estabilidade) explicaram significativamente a variabilidade dos dados ($P < 0.002$) de todos os cruzeiros, com exceção das estações de mancha (consideradas outliers). Os dois primeiros eixos explicaram 89.4 % da variância associada à relação entre os grupos fitoplanctônicos e as variáveis ambientais (74.7% e 14.7% no primeiro e segundo eixo, respectivamente). O primeiro eixo mostrou que as haptófitas, *Synechococcus*, *Prochlorococcus* e *Trichodesmium* estão positivamente associados com menor estabilidade da coluna de água, camada de mistura mais profunda e com maiores valores de temperatura e salinidade, associadas principalmente com AT e AP. Criptófitas, dinoflagelados, prasinófitas e diatomáceas associadas com a ASTP e PRP, apresentaram um padrão oposto, estando positivamente associadas com maior estabilidade e concentração de nutrientes (DIN e fosfato) e negativamente associadas com temperatura e salinidade. As diatomáceas apareceram relacionadas com

maiores valores de TCI *a* e maior estabilidade, principalmente nas estações oceanográficas sobre influência da PPW.

4.2. Comparação dos métodos para estimativa da biomassa de *Trichodesmium*

A relação entre a biomassa de *Trichodesmium* estimada por HPLC-CHEMTAX e a densidade de tricomas apresentaram correlações significativamente positivas em todos os cruzeiros. A fim de avaliar a correlação entre estes dois métodos em toda a área de estudo, os dados de todos os cruzeiros foram correlacionados em conjunto (Figura 4, gráfico principal; apêndice I). As estações com mancha foram analisadas separadamente e o resultado está indicado na inserção da Figura 4. Houve correlação significativamente positiva entre os dois métodos, exceto nas manchas M2, M5, M9 e M13 (Figura 4, **apêndice I**). Nessas amostras, a concentração de tricomas obtidos por microscopia apresentaram valores maiores em comparação com a biomassa determinada pelo HPLC-CHEMTAX. As diferenças encontradas entre os dois métodos podem ter ocorrido em função da presença de diferentes espécies de *Trichodesmium* nas manchas ou do estado fisiológico das mesmas. Cada uma das manchas pode apresentar diferentes espécies dominantes resultando em uma variação na produção e composição dos pigmentos fitoplanctônicos, visto que estes podem variar entre membros de um gênero, ou mesmo entre cepas de uma mesma espécie (Stolte et al. 2003, Zapata et al. 2004, Laza-Martinez et al. 2007). Além disso, as manchas podem estar no estágio de senescência, fase em que ocorre a morte e diminuição do número de células e, por isso, a concentração de pigmentos é menor devido à diminuição da síntese de pigmentos pelas células. O uso de um fator fixo (200 tricomas por colônias) para o cálculo de tricomas nas colônias também pode ter influenciado o resultado da contagem final de tricomas, superestimando ou subestimando os valores. No entanto, a contagem de cada um dos tricomas é inviável devido ao grande número e difícil separação, optando por um fator fixo utilizado na literatura para o gênero (Carpenter 1983).

Em vários trabalhos que utilizam a abordagem do HPLC-CHEMTAX, a mixoxantofila é considerada (utilizada) como pigmento marcador de *Trichodesmium* (Mackey et al. 1996, 1997, Rodrigues et al. 2014). No entanto, essa relação não foi de fato comprovada neste estudo, uma vez que a mixoxantofila não foi detectada em todas

as manchas. Este resultado demonstra que a utilização desse pigmento no CHEMTAX dever ser realizado com cuidado, pois pode causar erros ao estimar a biomassa de *Trichodesmium*.

Síntese

A caracterização das comunidades fitoplanctônicas ao longo do talude continental Sudeste/Sul foi realizada a partir da informação quimiotaxonômica obtida dos pigmentos fitoplanctônicos. A análise dos pigmentos através da abordagem do HPLC-CHEMTAX se mostrou uma ferramenta importante para o mapeamento e monitoramento das comunidades fitoplanctônicas em ambiente natural, incluindo o estudo de *Trichodesmium*. Este trabalho forneceu um panorama geral em relação à distribuição, composição e abundância dos grupos fitoplanctônicos da região do Talude Continental. As informações obtidas podem ser utilizadas como indicadores de produção primária, servindo de base para o conhecimento da estruturação das teias tróficas da região, assim como em estudos dos outros componentes da teia trófica, desde os consumidores primários aos animais de topo.

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão das variáveis ambientais em cada massa de água nos cinco cruzeiros amostrados. Temperatura (°C), Salinidade, UMLD (m), Estabilidade ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$), Nitrogênio Inorgânico Dissolvido (DIN, μM) e Fósforo (μM). Nos dois primeiros cruzeiros os dados de concentração dos nutrientes não estão disponíveis.

	PPW	STSW	SW	TW
a) Primavera 2012				
Temperatura (°C)	-	23.06±1.62	23.38±0.88	24.67±1.04
Salinidade	-	34.89±1.62	35.69±0.21	34.43±0.28
UMLD (m)	-	9.48±6.89	22.61±11.52	40.83±15.42
Estabilidade ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$)	-	$4.29 \times 10^{-5} \pm 1.73 \times 10^{-5}$	$1.38 \times 10^{-5} \pm 1.68 \times 10^{-5}$	$2.72 \times 10^{-6} \pm 5.87 \times 10^{-6}$
DIN (μM)	-	-	-	-
Fósforo (μM)	-	-	-	-
b) Outono 2012				
Temperatura (°C)	16.31±0.72	18.20±1.01	21.84±1.21	23.25±1.03
Salinidade	33.36±0.10	34.35±0.54	35.81±0.14	36.73±0.38
UMLD (m)	6.08±0.63	7.87±3.56	11.89±6.32	17.07±13.85
Estabilidade ($\text{rad}^2 \text{s}^{-2}$)	$2.63 \times 10^{-6} \pm 4.73 \times 10^{-6}$	$1.72 \times 10^{-6} \pm 8.57 \times 10^{-6}$	$1.80 \times 10^{-5} \pm 1.09 \times 10^{-5}$	$7.30 \times 10^{-6} \pm 7.50 \times 10^{-6}$
DIN (μM)	-	-	-	-
Fósforo (μM)	-	-	-	-

c) Outono 2013

Temperatura (°C)	18.98±0.18	19.70±1.04	22.27±0.83	23.12±0.87
Salinidade	33.23±0.25	34.55±0.36	35.76±0.12	36.76±0.34
UMLD (m)	9.5±7.5	14.44±7.05	29.38±0	48.76±32.51
Estabilidade (rad ² s ⁻²)	2.5×10 ⁻⁴ ±0	2.01×10 ⁻⁴ ±1.29×10 ⁻⁴	9.63×10 ⁻⁵ ±1.14×10 ⁻⁴	3.53×10 ⁻⁵ ±5.73×10 ⁻⁵
DIN (µM)	0.86±0	0.48±0.50	0.32±0.32	0.20±0.39
Fosfato (µM)	1.53±0	1.73±0.27	0.99±0.10	1.05±0.11

d) Outono 2014

Temperatura (°C)	19.66±0.34	20.59±0.26	21.70±0.48	23.78±0.80
Salinidade	33.24±0.14	34.63±0.33	35.57±0.13	36.79±0.28
UMLD (m)	8.75±4.15	12.73±4.85	13.33±11.79	43.57±24.61
Estabilidade (rad ² s ⁻²)	4.56×10 ⁻⁴ ±1.30×10 ⁻⁴	1.70×10 ⁻⁴ ±7.67×10 ⁻⁵	1.27×10 ⁻⁴ ±9.29×10 ⁻⁵	1×10 ⁻⁵ ±1.97×10 ⁻⁵
DIN (µM)	0.63±0.34	0.20±0.10	0.02±0	0.38±1.48
Fosfato (µM)	0.20±0.18	0.19±0.09	0.43±0	1.41±4.34

e) Primavera 2014

Temperatura (°C)	20.07±0.73	21.38±0.40	23.22±0.77	24.27±0.90
Salinidade	32.06±0.58	34.38±0.59	35.76±0.18	36.68±0.36
UMLD (m)	13.33±4.71	17.83±9.32	31.39±14.12	36.45±22.95
Estabilidade (rad ² s ⁻²)	5.33×10 ⁻⁴ ±1.55×10 ⁻⁵	3.23×10 ⁻⁴ ±2.81×10 ⁻⁴	8×10 ⁻⁵ ±1.29×10 ⁻⁴	6.68×10 ⁻⁵ ±7.74×10 ⁻⁵
DIN (µM)	0.28±0	0.19±0.04	0.14±0.06	0.08±0.05
Fosfato (µM)	1.50±0	1.32±0.25	1.27±0.37	1.14±0.48

5. Referências Bibliográficas

Aiken J, Pradhan Y, Barlow R, Lavender S, Poulton A, Holligan P, Hardman-Mountford N (2009) Phytoplankton pigments and functional types in the Atlantic Ocean: A decadal assessment, 1995–2005. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 56:899–917

Aminot A, Chaussepied M (1983) *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*.

Andersen RA, Bidigare RR, Keller MD, Latasa M (1996) A comparison of HPLC pigment signatures and electron microscopic observations for oligotrophic waters of the North Atlantic and Pacific Oceans. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 43:517–537

Arrigo KR (2004) Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature* 437:349

- Bif MB, Yunes JS (2017) Distribution of the marine cyanobacteria *Trichodesmium* and their association with iron-rich particles in the South Atlantic Ocean. *Aquat Microb Ecol* 78:107–119
- Brandini FP (1988a) Composição e distribuição do fitoplâncton na Região Sueste e suas relações com as massas d'água (Operação Sueste I-Inverno/1982). *Ciênc Cult, S Paulo* 40
- Brandini FP (1988b) Hydrography, phytoplankton biomass and photosynthesis in shelf and oceanic waters off southeastern Brazil during autumn (may/june, 1983). *Boletim do Instituto Oceanográfico* 36:63–72
- Brandini FP (1990) Hydrography and characteristics of the phytoplankton in shelf and oceanic waters off southeastern Brazil during winter (July/August 1982) and summer (February/March 1984). *Hydrobiologia* 196:111–148
- Brandini FP, Fernandes LF (1996) Microalgae of the continental shelf off Paraná State, southeastern Brazil: a review of studies. *Revista Brasileira de Oceanografia* 44:69–80
- Brandini FP, Moraes CLB (1986) Composição e distribuição do fitoplâncton em áreas costeiras e oceânicas da reoiao sueste do Brasil. *Revista Nerítica* 1
- Brandini FP, Nogueira M, Simião M, Codina JCU, Noernberg MA (2014) Deep chlorophyll maximum and plankton community response to oceanic bottom intrusions on the continental shelf in the South Brazilian Bight. *Continental Shelf Research* 89:61–75
- Calado L, Gangopadhyay A, Da Silveira I (2006) A parametric model for the Brazil Current meanders and eddies off southeastern Brazil. *Geophysical research letters* 33
- Campos EJ, Velhote D, Silveira IC da (2000) Shelf break upwelling driven by Brazil Current cyclonic meanders. *Geophysical Research Letters* 27:751–754
- Capone DG, Burns James A., Montoya Joseph P., Subramaniam Ajit, Mahaffey Claire,

- Gunderson Troy, Michaels Anthony F., Carpenter Edward J. (2005) Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: An important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 19
- Capone DG, Subramaniam A, Montoya JP, Voss M, Humborg C, Johansen AM, Siefert RL, Carpenter EJ (1998) An extensive bloom of the N₂-fixing cyanobacterium *Trichodesmium* erythraeum in the central Arabian Sea. *Marine Ecology Progress Series* 172:281–292
- Capone DG, Zehr JP, Paerl HW, Bergman B, Carpenter EJ (1997) *Trichodesmium*, a Globally Significant Marine Cyanobacterium. *Science* 276:1221
- Carpenter EJ (1983) Nitrogen fixation by marine *Oscillatoria*. In: Carpenter EJ, Capone DG (eds) *Nitrogen in the marine environment*. Elsevier, New York, p 65–103
- Carpenter EJ, Subramaniam A, Capone DG (2004) Biomass and primary productivity of the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. in the tropical North Atlantic ocean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 51:173–203
- Castello PJ, Sunyé SP, Haimovici M, Hellebrandt D (2009) Fisheries in southern Brazil: a comparison of their management and sustainability. *Journal of Applied Ichthyology* 25:287–293
- Cermeño P, Dutkiewicz S, Harris RP, Follows M, Schofield O, Falkowski PG (2008) The role of nutricline depth in regulating the ocean carbon cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:20344
- Chang J, Chiang K-P, Gong G-C (2000) Seasonal variation and cross-shelf distribution of the nitrogen-fixing cyanobacterium, *Trichodesmium*, in southern East China Sea. *Continental Shelf Research* 20:479–492
- Ciotti AM, Garcia CAE, Jorge DSF (2010) Temporal and meridional variability of Satellite-estimates of surface chlorophyll concentration over the Brazilian continental shelf. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 5:236–253

- Cronberg G, Carpenter E, Carmichael W (2003) Taxonomy of harmful cyanobacteria. In: Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD (eds) Manual on harmful marine microalgae. Unesco Publishing, France
- Detoni AMS, Ciotti AM, Calil PH, Tavano V., Yunes J. (2016a) *Trichodesmium* latitudinal distribution on the shelf break in the southwestern Atlantic Ocean during spring and autumn. *Global Biogeochemical Cycles* 30:1738–1753
- Detoni AMS, Costa LDF, Pacheco LA, Yunes JS (2016b) Toxic *Trichodesmium* bloom occurrence in the southwestern South Atlantic Ocean. *Toxicon* 110:51–55
- Doney SC, Ruckelshaus M, Emmett Duffy J, Barry JP, Chan F, English CA, Galindo HM, Grebmeier JM, Hollowed AB, Knowlton N, Polovina J, Rabalais NN, Sydeman WJ, Talley LD (2011) Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annu Rev Mar Sci* 4:11–37
- Ducklow HW, Steinberg DK, Buesseler KO (2001) Upper ocean carbon export and the biological pump. *Oceanography* 14:50–58
- Eppley WR, Rogers JN, McCarthy JJ (2003) Half saturation constants for uptake of nitrate and ammonium by marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 14:912–920
- Falkowski PG (1994) The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles. *Photosynthesis Research* 39:235–258
- Falkowski PG, Barber RT, Smetacek V (1998) Biogeochemical Controls and Feedbacks on Ocean Primary Production. *Science* 281:200
- Falkowski PG, Woodhead AD (2013) Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea. Springer Science & Business Media
- 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

- Field CB, Behrenfeld MJ, Randerson JT, Falkowski P (1998) Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science* 281:237
- Franco BC, Muelbert JH, Mata M (2006) Mesoscale physical processes and the distribution and composition of ichthyoplankton on the southern Brazilian shelf break. *Fisheries Oceanography* 15:37–43
- Friebele ES, Correll DL, Faust MA (1978) Relationship between phytoplankton cell size and the rate of orthophosphate uptake: in situ observations of an estuarine population. *Marine Biology* 45:39–52
- Gaeta S, Brandini F (2006) Produção primária do fitoplâncton na região entre o Cabo de São Tomé (RJ) e o Chuí (RS). In: Rossi-Wongtschowski CLDB, Madureira LS (eds) *O ambiente oceanográfico da plataforma continental e do talude na região sudeste-sul do Brasil*. EDUSP, São Paulo, SP, Brasil, p 219–264
- Glover DM, Brewer PG (1988) Estimates of wintertime mixed layer nutrient concentrations in the North Atlantic. *Deep Sea Research Part A Oceanographic Research Papers* 35:1525–1546
- Gonzalez-Silvera A, Santamaria-del-Angel E, Garcia VMT, Garcia CAE, Millán-Nuñez R, Muller-Karger F (2004) Biogeographical regions of the tropical and subtropical Atlantic Ocean off South America: classification based on pigment (CZCS) and chlorophyll-a (SeaWiFS) variability. *Continental Shelf Research* 24:983–1000
- Gordon AL (1989) Brazil-Malvinas Confluence–1984. *Deep Sea Research Part A Oceanographic Research Papers* 36:359–384
- Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M (2009) *Methods of seawater analysis*. John Wiley & Sons
- Gruber N, Sarmiento LJ (1997) Global patterns of marine nitrogen fixation and denitrification. *Global Biogeochemical Cycles* 11:235–266
- Häder D-P, Gao K (2015) Interactions of anthropogenic stress factors on marine

- phytoplankton. *Frontiers in Environmental Science* 3:14
- Havskum H, Schlüter L, Scharek R, Berdalet E, Jacquet S (2004) Routine quantification of phytoplankton groups—microscopy or pigment analyses? *Marine Ecology Progress Series* 273:31–42
- Higgins HW, Wright SW, Schluter L (2011) Quantitative interpretation of chemotaxonomic pigment data. In: Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johansen AM (eds) *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press, p 257–313
- Islabão CA, Mendes CRB, Detoni AMS, Odebrecht C (2017) Phytoplankton community structure in relation to hydrographic features along a coast-to-offshore transect on the SW Atlantic Continental Shelf. *Continental Shelf Research* 151:30–39
- Kara AB, Rochford PA, Hurlburt HE (2000) An optimal definition for ocean mixed layer depth. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 105:16803–16821
- Karl D, Michaels A, Bergman B, Capone D, Carpenter E, Letelier R, Lipschultz F, Paerl H, Sigman D, Stal L (2002) Dinitrogen fixation in the world's oceans. *Biogeochemistry* 57:47–98
- Kozłowski WA, Deutschman D, Garibotti I, Trees C, Vernet M (2011) An evaluation of the application of CHEMTAX to Antarctic coastal pigment data. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 58:350–364
- Laza-Martinez A, Seoane S, Zapata M, Orive E (2007) Phytoplankton pigment patterns in a temperate estuary: from unialgal cultures to natural assemblages. *Journal of Plankton Research* 29:913–929
- Macedo-Soares LCP de, Garcia CAE, Freire AS, Muelbert JH (2014) Large-scale ichthyoplankton and water mass distribution along the South Brazil Shelf. *PloS one* 9:e91241
- Mackey M, Higgins H, Mackey D, Wright S (1997) CHEMTAX user's manual: a

program for estimating class abundances from chemical markers-application to HPLC measurements of phytoplankton pigments.

Mackey MD, Mackey DJ, Higgins HW, Wright SW (1996) CHEMTAX—a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144:265–283

Madhu NV, Ullas N, Ashwini R, Meenu P, Rehitha TV, Lallu KR (2014) Characterization of phytoplankton pigments and functional community structure in the Gulf of Mannar and the Palk Bay using HPLC–CHEMTAX analysis. *Continental Shelf Research* 80:79–90

Mahiques MM de, Tessler MG, Ciotti AM, Silveira ICA da, Sousa SH de M e, Figueira RCL, Tassinari CCG, Furtado VV, Passos RF (2004) Hydrodynamically driven patterns of recent sedimentation in the shelf and upper slope off Southeast Brazil. *Continental Shelf Research* 24:1685–1697

Matano R, Palma ED, Piola AR (2010) The influence of the Brazil and Malvinas Currents on the Southwestern Atlantic Shelf circulation. *Ocean Science* 6:983–995

Matsuura Y (1996) A probable cause of recruitment failure of the Brazilian sardine *Sardinella aurita* population during the 1974/75 spawning season. *South African Journal of Marine Science* 17:29–35

Mendes CRB, Cartaxana P, Brotas V (2007) HPLC determination of phytoplankton and microphytobenthos pigments: comparing resolution and sensitivity of a C18 and a C8 method. *Limnology and Oceanography: Methods* 5:363–370

Mendes CRB, Odebrecht C, Tavano VM, Abreu PC (2017) Pigment-based chemotaxonomy of phytoplankton in the Patos Lagoon estuary (Brazil) and adjacent coast. *Marine Biology Research* 13:22–35

Mendes CRB, Souza MS de, Garcia VMT, Leal MC, Brotas V, Garcia CAE (2012) Dynamics of phytoplankton communities during late summer around the tip of the Antarctic Peninsula. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research*

Papers 65:1–14

- Mendonça FL, Souza R. B., Aseff C. R. C., Pezzi L. P., Möller O. O., Alves R. C. M. (2017) Regional modeling of the water masses and circulation annual variability at the Southern Brazilian Continental Shelf. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 122:1232–1253
- Möller OO, Piola AR, Freitas AC, Campos EJD (2008) The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. *Continental Shelf Research* 28:1607–1624
- Olson DB, Podestá GP, Evans RH, Brown OB (1988) Temporal variations in the separation of Brazil and Malvinas Currents. *Deep Sea Research Part A Oceanographic Research Papers* 35:1971–1990
- Palma ED, Matano RP (2009) Disentangling the upwelling mechanisms of the South Brazil Bight. *Continental Shelf Research* 29:1525–1534
- Peterson RG, Stramma L (1991) Upper-level circulation in the South Atlantic Ocean. *Progress in oceanography* 26:1–73
- Rodrigues SV, Marinho MM, Cubas Jonck CC, Gonçalves ES, Brant VF, Paranhos R, Curbelo MP, Falcão AP (2014) Phytoplankton community structures in shelf and oceanic waters off southeast Brazil (20°–25°S), as determined by pigment signatures. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 88:47–62
- Rodríguez F, Chauton M, Johnsen G, Andresen K, Olsen LM, Zapata M (2006) Photoacclimation in phytoplankton: implications for biomass estimates, pigment functionality and chemotaxonomy. *Marine Biology* 148:963–971
- Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johnsen G (2011) *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press
- Schlüter L, Henriksen P, Nielsen TG, Jakobsen HH (2011) Phytoplankton composition and biomass across the southern Indian Ocean. *Deep Sea Research Part I:*

Oceanographic Research Papers 58:546–556

- Schlüter L, Lauridsen TL, Krogh G, Jørgensen T (2006) Identification and quantification of phytoplankton groups in lakes using new pigment ratios – a comparison between pigment analysis by HPLC and microscopy. *Freshwater Biology* 51:1474–1485
- Shiozaki T, Takeda S, Itoh S, Kodama T, Liu X, Hashihama F, Furuya K (2015) Why is *Trichodesmium* abundant in the Kuroshio? *Biogeosciences* 12:6931–6943
- Sigman DM, Haug GH (2003) 6.18 - The Biological Pump in the Past A2 - Holland, Heinrich D. In: Turekian KK (ed) *Treatise on Geochemistry*. Pergamon, Oxford, p 491–528
- Silveira ICA da, Schmidt ACK, Campos EJD, Godoi SS de, Ikeda Y (2000) A corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. *Revista Brasileira de Oceanografia* 48:171–183
- Smetacek V (1999) Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist* 150:25–32
- Sohm AJ, Subramaniam Ajit, Gunderson Troy E., Carpenter Edward J., Capone Douglas G. (2011) Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp. and unicellular diazotrophs in the North Pacific Subtropical Gyre. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 116
- Stolte W, Kraay GW, Noordeloos AAM, Riegman R (2003) Genetic and physiological variation in pigment composition of *Emiliana huxleyi* (prymnesiophyceae) and the potential use of its pigment ratios as a quantitative physiological marker. *Journal of Phycology* 36:529–539
- Takaichi S, Mochimaru M (2007) Carotenoids and carotenogenesis in cyanobacteria: unique ketocarotenoids and carotenoid glycosides. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64:2607
- Ter Braak CJF, Prentice IC (1988) A Theory of Gradient Analysis. In: Begon M, Fitter AH, Ford ED, Macfadyen A (eds) *Advances in Ecological Research*. Academic

Press, p 271–317

- Trees CC, Clark DK, Bidigare RR, Ondrusek ME, Mueller JL (2000) Accessory pigments versus chlorophyll a concentrations within the euphotic zone: A ubiquitous relationship. *Limnology and Oceanography* 45:1130–1143
- Tyrrell T, Marañón E, Poulton AJ, Bowie AR, Harbour DS, Woodward EMS (2003) Large-scale latitudinal distribution of *Trichodesmium* spp. in the Atlantic Ocean. *Journal of Plankton Research* 25:405–416
- Utermohl H (1958) Zur Vervollkommung der quantitativen phytoplankton-methodik. *Mitt Int Ver Limnol* 9:38
- Wright SW, Ishikawa A, Marchant HJ, Davidson AT, Enden RL van den, Nash GV (2009) Composition and significance of picophytoplankton in Antarctic waters. *Polar Biology* 32:797–808
- Wright SW, Jeffrey SW (2006) Pigment Markers for Phytoplankton Production. In: Volkman JK (ed) *Marine Organic Matter: Biomarkers, Isotopes and DNA*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, p 71–104
- Zapata M, Jeffrey SW, Wright SW, Rodríguez F, Garrido JL, Clementson L (2004) Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: *Marine Ecology Progress Series* 270:83–102
- Zapata M, Rodríguez F, Garrido JL (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195:29–45