

**FERNANDO SCHERNER**

**IMPACTOS ANTROPOGÊNICOS SOBRE COMUNIDADES DE  
MACROALGAS MARINHAS**

**Recife  
2013**

**FERNANDO SCHERNER**

**IMPACTOS ANTROPOGÊNICOS SOBRE COMUNIDADES DE  
MACROALGAS MARINHAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Botânica.

Orientadora:

Dra. Sonia Maria Barreto Pereira

Conselheiro:

Dr. Paulo Antunes Horta

**Recife**

**2013**

Ficha catalográfica

S326i Scherner, Fernando  
Impactos antropogênicos sobre comunidades de macroalgas  
marinhas / Fernando Scherner. – Recife, 2013.  
133 f. : il.

Orientadora: Sonia Maria Barreto Pereira.  
Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural  
de Pernambuco, Departamento de Biologia, Recife, 2013.  
Referências.

1. Urbanização costeira 2. Biodiversidade marinha  
3. Regiões ficogeográficas 4. Mudanças climáticas 5. Fisiologia  
6. Metais pesados 7. Fotossíntese 8. CO<sub>2</sub> I. Pereira, Sonia Maria  
Barreto, orientadora II. Título

CDD 581

**IMPACTOS ANTROPOGÊNICOS SOBRE COMUNIDADES DE MACROALGAS MARINHAS**

**FERNANDO SCHERNER**

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora:

**Orientadora:**

---

**Dra. Sonia Maria Barreto Pereira – Presidente**  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Examinadores:**

---

**Dra. Yocie Yoneshigue Valentin – Titular**  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

**Dra. Mutue Toyota Fujii – Titular**  
Instituto de Botânica de São Paulo

---

**Dra. Enide Eskinazi Leça – Titular**  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Dr. Ênio Wocylí Dantas – Titular**  
Universidade Estadual da Paraíba

Data de aprovação:        /        / 2013

**Recife**

**2013**

*À Dani e Clara, meus amores.*

**AGRADECIMENTOS**

- *À Coordenação Nacional de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que custeou grande parte dos estudos apresentados aqui e concedeu a bolsa de doutorado.*
- *À minha orientadora Sonia Maria Barreto Pereira por todo apoio, pela confiança depositada, pelas conversas descontraídas e pela receptividade.*
- *Ao meu co-orientador Paulo Antunes Horta da Universidade Federal de Santa Catarina pelas sugestões e apoio para a realização dos experimentos e coletas.*
- *Ao Eurico Cabral de Oliveira por ter me acompanhado nas duas excursões ao litoral de São Paulo e por sua importante contribuição neste trabalho.*
- *Aos colaboradores da Universidade Federal de Santa Catarina, Eduardo Bastos, Ticiane Rover, José Carlos Simonassi, José Bonomi Barufi e outros.*
- *Aos colaboradores do Projeto Coral vivo, Clóvis Barreira e Castro, Gustavo Duarte, Cristiano Pereira e todos outros integrantes do projeto e pesquisadores associados, por todo apoio e ajuda na realização dos experimentos realizados na Bahia.*
- *À Diógina Barata da Universidade Federal do Espírito Santo e seus alunos pela grande ajuda nas coletas naquele Estado.*
- *Aos colegas do Laboratório de Ficologia (LaboFic) da UFRPE: Beth, Manoel, Vanessa, Léo, Douglas, Fátima, Cássio, Mayara, Khey, Andréa, Samara, Carol e Nahum.*
- *Aos professores Ulysses Paulino de Albuquerque, Ênio Wocyli Dantas, Carmen Zickel, Ariadne Moura, Adilma Cocentino, que revisam partes desta tese durante o seminário B e qualificação, contribuindo para o aperfeiçoamento desta tese.*
- *Aos meus pais pelo apoio que sempre deram.*
- *À minha esposa, Dani, pela paciência, apoio e compreensão, e à minha filha, Clara, pelos sorrisos lindos e toda a felicidade que nos trouxe.*

VI  
**SUMÁRIO**

<b>Lista de figuras</b> .....	<b>VII</b>
<b>Lista de tabelas</b> .....	<b>IX</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>X</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>XII</b>
<b>1. Introdução Geral</b> .....	<b>14</b>
<b>2. Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>19</b>
<b>3. Referências Bibliográficas</b> .....	<b>26</b>
<b>4. Artigo 1: Urbanização costeira causa perda de espécies e alterações marcantes em comunidades macroalgais no sudoeste do Atlântico</b> .....	<b>31</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>32</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>32</b>
<b>Material e Métodos</b> .....	<b>33</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>38</b>
<b>Discussão</b> .....	<b>41</b>
<b>Referências</b> .....	<b>44</b>
<b>5. Artigo 2: Alterações fisiológicas da alga pantropical <i>Halimeda cuneata</i> Hering (Bryopsidales) pela poluição com metais pesados no Atlântico sul</b> ..	<b>59</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>60</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>60</b>
<b>Material e Métodos</b> .....	<b>61</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>64</b>
<b>Discussão</b> .....	<b>65</b>
<b>Referências</b> .....	<b>67</b>
<b>6. Artigo 3: Efeitos de aumentos de temperatura e da acidificação oceânica sobre a fotossíntese de macroalgas tropicais</b> .....	<b>76</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>77</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>77</b>
<b>Material e Métodos</b> .....	<b>79</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>82</b>
<b>Discussão</b> .....	<b>83</b>
<b>Referências</b> .....	<b>86</b>
<b>7. Conclusões gerais</b> .....	<b>95</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>98</b>

**LISTA DE FIGURAS****Artigo 1**

- Figura 1.** Áreas amostradas ao longo de um gradiente latitudinal no sudoeste do Atlântico (▼ = áreas urbanas; ▲ = áreas referência).....**54**
- Figura 2.** Valores médios ( $\pm$  EP) de índices ecológicos obtidos em todas as áreas urbanas e referência amostradas ao longo do sudoeste do Atlântico e do Arquipélago de Fernando de Noronha no período de 2011 a 2012. Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com ANOVA aninhada (n = 10 áreas urbanas, 15 áreas referência).....**55**
- Figura 3.** Correlações entre os índices ecológicos e os diferentes aspectos da urbanização avaliados (n = 75).....**56**
- Figura 4.** Médias de cobertura percentual ( $\pm$  EP) de Rhodophyta, Chlorophyta e Phaeophyceae nas diferentes regiões ficogeográficas (▲ = áreas urbanas; n = 3, tropical; 4, zona de transição; 3, temperada quente; ● áreas referência; n = 3, ilha oceânica, 3 continente (tropical); 5, zona de transição; 4, temperada quente).....**57**
- Figura 5.** Gráficos multidimensionais de escala não métrica (NMDS) das comunidades de algas de áreas urbanas e áreas referência nas diferentes regiões ficogeográficas do litoral brasileiro. (a) Dados de cobertura percentual, (b) Dados qualitativos.....**58**

**Artigo 2**

- Figura 1.** Rendimento de biomassa fresca de *Halimeda cuneata* K. Hering após dez dias de cultivo em diferentes temperaturas e tratamentos de enriquecimento com metal (barras pretas = somente água do mar, barras cinzas = recuperação após 72 h de exposição a água do mar enriquecida com metais; barras brancas = pulsos de enriquecimento com metal a cada 72 h). As barras representam os valores de rendimento médio de biomassa fresca (n = 5)  $\pm$  EP. Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls (p <0,05).....**73**
- Figura 2.** Valores de rendimento quântico ótimo de *Halimeda cuneata* K. Hering após 72 e 144 h cultivadas em diferentes temperaturas e tratamentos de exposição a metais (S, somente água do mar, R, recuperação após 72 h de exposição a água do mar enriquecida com metais; P, pulsos de enriquecimento com metal a cada 72 h). As barras representam valores médios (n = 5)  $\pm$  EP de medições feitas 72 horas e 144 horas após o primeiro pulso de enriquecimento com metal (barras brancas e pretas, respectivamente). Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls (p < 0,05). .....**74**



- Figura 3.** Concentrações de clorofila a de *Halimeda cuneata* K Hering após dez dias de cultivo em diferentes temperaturas e tratamentos de enriquecimento com metais (barras pretas = somente água do mar; barras cinzas = recuperação após 72 h de exposição a água do mar enriquecida com metais; barras brancas = pulsos de enriquecimento com metal a cada 72 h). As barras representam os valores médios de concentração ( $n = 5$ )  $\pm$  EP. Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).....**75**

### Artigo 3

- Figura 1.** Valores de rendimento quântico ótimo das macroalgas estudadas em resposta aos diferentes tratamentos de aumento de temperatura, obtidos por três medições (T1, T2 e T3), durante 15 dias de experimento ( $n=4 \pm$  desvio padrão). .....**93**
- Figura 2.** Valores de integrais definidas de rendimento quântico efetivo (Y(II)) e dos parâmetros dissipativos YNO, YNPQ e YNPQ/YNO obtidos das espécies de macroalgas estudadas após 24 dias de exposição a diferentes tratamentos de acidificação ( $n = 4 \pm$  desvio padrão). Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).....**94**

**LISTA DE TABELAS****Artigo 1**

- Tabela I.** Áreas de estudo, suas localizações, classificações e parâmetros de urbanização, determinados para um perímetro de 2 km de cada área. ....**50**
- Tabela II.** Relação das espécies que mais contribuíram para as diferenças entre as áreas urbanas e referência (calculado usando semelhanças de percentagens (SIMPER)).....**51**
- Tabela A1.** Valores médios ( $\pm$  EP) de índices ecológicos obtidos de amostragens em áreas urbanas e referência nas diferentes regiões ficogeográficas nos verões de 2011 e 2012 no litoral brasileiro. ....**53**

**Artigo 2**

- Tabela 1.** Porcentagem de carbonato de *Halimeda cuneata* K. Hering após dez dias de cultivo em diferentes temperaturas e tratamentos de enriquecimento com metal (valores percentuais médios,  $n = 5 \pm$  EP). Letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ). ....**71**

**Artigo 3**

- Tabela I.** Sumário de ANOVA de repetição realizada com os dados de rendimento quântico ótimo ( $F_v/F_m$ ) obtidos das macroalgas expostas aos tratamentos de aumento de temperatura. Valores em negrito representam diferenças significativas como demonstrado pelo teste *a posteriori* Student Newman-Keuls (SNK) ( $n = 4$ ). ....**89**
- Tabela II.** Sumário de ANOVA realizada com os dados dos parâmetros fotossintéticos ( $F_v/F_m$  e  $ETR_{max}$ ) e das integrais definidas de rendimento quântico efetivo ( $Y(II)$ ) e dos parâmetros dissipativos YNO, YNPQ e YNPQ/YNO. Valores em negrito representam diferenças significativas ( $n = 4$ ). ....**90**
- Tabela III.** Parâmetros fotossintéticos das espécies de macroalgas estudadas após 24 dias de exposição a diferentes tratamentos de acidificação ( $n = 4 \pm$  desvio padrão). ....**91**

Scherner, Fernando, doutorando pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, novembro de 2013. Impactos antropogênicos sobre comunidades de macroalgas marinhas. Sonia Maria Barreto Pereira (Orientadora), Paulo Antunes Horta (Conselheiro).

## RESUMO

As atividades humanas têm causado alterações ambientais com consequências sobre comunidades biológicas marinhas. Essas alterações vêm ocorrendo em escala local, como é o caso da urbanização e poluição costeira, e global, por meio das mudanças climáticas e acidificação dos oceanos causado por maiores concentrações de CO<sub>2</sub> na atmosfera. A urbanização costeira está se expandindo rapidamente no mundo todo. Este fenômeno tem levado à contaminação do ambiente marinho por diversos poluentes, entre eles os metais pesados. Os efeitos da referida urbanização sobre as comunidades de macroalgas ainda necessitam de estudos que considerem os limites de distribuição latitudinal destes organismos. Semelhantemente, estudos sobre os potenciais efeitos das mudanças climáticas, como o aumento da temperatura e acidificação oceânica, sobre comunidades macroalgais, são recentes e ainda relativamente escassos. Nesse contexto, esse estudo teve como objetivos: 1) Avaliar os impactos da urbanização sobre comunidades de macroalgas marinhas nas diferentes províncias ficogeográficas do litoral brasileiro; 2) Compreender os mecanismos fisiológicos da contaminação do ambiente marinho por metais pesados sobre a alga pantropical *Halimeda cuneata* Hering em temperaturas que ocorrem em seus limites de distribuição no sudoeste do Atlântico; 3) Avaliar os efeitos do aumento de temperatura e da acidificação oceânica por adição de CO<sub>2</sub> sobre a fotossíntese de macroalgas marinhas. Para o primeiro, uma fração significativa do litoral brasileiro foi estudada, incluindo áreas amostrais nas três províncias ficogeográficas brasileiras (Temperada quente, Zona

de transição e Tropical) onde a estrutura e composição das comunidades foram determinadas em áreas urbanizadas e áreas referências. Para o segundo, um experimento com enriquecimento por metais foi realizado em laboratório, avaliando o efeito de metais em temperaturas que ocorrem dentro dos limites de distribuição de *H. cuneata* na costa brasileira e o seu potencial de recuperação nas diferentes temperaturas. Com relação ao terceiro, experimentos foram realizados em mesocosmos recifal em região tropical no litoral brasileiro, utilizando espécies de macroalgas calcificadas, avaliando o efeito de aumentos de temperatura e da acidificação da água por adição de CO<sub>2</sub> sobre a performance fotossintética das macroalgas. Os resultados são apresentados aqui em três capítulos. O primeiro mostra que a urbanização leva a diminuições substanciais no número de espécies e causa alterações profundas em comunidades macroalgais marinhas. O segundo evidencia os efeitos deletérios de metais pesados sobre as funções fisiológicas de *H. cuneata*, com destaque para a ausência de recuperação fotossintética em temperaturas que ocorrem no seu limite de distribuição no Atlântico sul. O terceiro indica uma alta adaptabilidade fotossintética das macroalgas estudadas diante de elevações de temperatura e acidificação, o que pode estar relacionado às possibilidades de utilização de diferentes espécies de carbono inorgânico por estas algas.

Scherner, Fernando, Ph.D. student at Universidade Federal Rural de Pernambuco, November 2013. Anthropogenic impacts on marine macroalgae communities. Sonia Maria Barreto Pereira (Advisor), Paulo Antunes Horta (Co-advisor).

## ABSTRACT

Human activities have been causing environmental alterations with consequences to marine biological communities. These changes have been occurring at local scale, such as urbanization and coastal pollution, and globally, through climate change and ocean acidification caused by higher CO<sub>2</sub> concentrations in the atmosphere. Coastal urbanization is rapidly expanding worldwide. This phenomenon has been leading to the contamination of the marine environment by a variety of pollutants, such as heavy metals. However, the effects of coastal urbanization on marine macroalgae communities still need further studies that consider their latitudinal limits of distribution. Likewise, studies on the effects of climate change, such as temperature increases and ocean acidification, on macroalgal communities are recent and still relatively limited. Thus, the aims of the present study were: 1) Evaluate the impacts of urbanization on marine macroalgae communities within different phycogeographical regions along the Brazilian coast; 2) Assess the physiological effects of heavy metal contamination at concentrations observed in polluted regions within the temperature ranges of distribution of the seaweed *Halimeda cuneata* Hering in the SW Atlantic; 3) Evaluate the effects of increased temperatures and CO<sub>2</sub> driven ocean acidification on the photosynthesis of marine macroalgae. For the first, a significant fraction of the Brazilian coast was studied, including sampling areas on the three phycogeographical regions (warm temperate, transition zone, and tropical) where the structure and composition of the communities were determined in urban and reference areas. For the second, an experiment of metal enrichment was

### XIII

performed in laboratory, assessing the effects of metals at temperatures that occur within the limits of distribution of *H. cuneata* on the Brazilian coast and its recovery potential at the different temperatures. The third consisted of performing experiments in a reef mesocosms in a tropical region on the Brazilian coast, using calcified macroalgae species, evaluating the effects of temperature increases and CO<sub>2</sub> driven acidification on the macroalgae photosynthetic performance. The results are presented here in three chapters. The first shows that urbanization leads to substantial declines in species number and causes drastic changes on marine macroalgae communities. The second provides evidence of the negative effects of heavy metals on the physiology of *H. cuneata*, which showed no photosynthetic recover at temperatures that occur on its limit of distribution in the south Atlantic. The third indicates a high photosynthetic adaptability of the studied macroalgae in face of temperature increases and acidification, which can be related to the possibilities of utilization of different inorganic carbon species by these algae.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As atividades humanas têm causado alterações ambientais com consequências sobre comunidades biológicas marinhas (VITOUSEK *et al.* 1997). Os impactos dessas alterações são observados tanto em escala local quanto global. Em escala local incluem-se as alterações causadas pela crescente urbanização e poluição em áreas costeiras, enquanto em escala global, incluem-se as mudanças climáticas e acidificação dos oceanos devido às maiores concentrações de gases de efeito estufa na atmosfera. Esses fatores tem colocado os ecossistemas marinhos sob forte pressão antrópica, característica do antropoceno (STEFFEN *et al.*, 2011), gerando preocupações sobre a resiliência de comunidades marinhas diante destas pressões.

As áreas costeiras têm sido, historicamente, objeto de assentamentos humanos (DILLEHAY *et al.*, 2008) de tal forma que atualmente cerca de 60% da população está concentrada dentro de 100 km da costa, afetando as produtivas zonas costeiras (VITOUSEK *et al.*, 1997; LOTZE *et al.*, 2006). Alguns estudos tem observado em escala local que os processos ligados à urbanização costeira têm levado à perda de biodiversidade marinha e a alterações de comunidades macroalgais em diversas partes do mundo (ERIKSSON *et al.* 2002; TERLIZZI *et al.* 2002; OLIVEIRA e Qi, 2003; LIU *et al.* 2007; MARTINS *et al.* 2012). Porém, avaliações do impacto da urbanização sobre comunidades de macroalgas em escala continental abrangendo regiões com diferentes características ficogeográficas, ainda são inexistentes.

A urbanização em zonas costeiras tem sido relacionada à contaminação do ambiente marinho por diversos poluentes. Entre os principais contaminantes, estão os metais pesados, que tem gerado grande preocupação ambiental em todo o mundo (HAIYAN e STUANES, 2003). Os metais estão geralmente presentes em

baixas concentrações nos oceanos (ASH e STONE, 2003), mas podem ocorrer em concentrações muito mais elevadas nas águas costeiras devido às atividades antropogênicas (MORILLO *et al.*, 2004; MENG *et al.*, 2008).

As macroalgas são importantes produtores primários costeiros. Juntamente com as gramas marinhas elas exercem muitos dos bens e serviços fornecidos pelos ambientes costeiros (BEAUMONT *et al.*, 2007; HARLEY *et al.*, 2012), proporcionando berçários, habitats e alimentos para a fauna marinha (GRALL *et al.*, 2006), remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos da água do mar (WANG e ZHAO, 2007) e sequestro de carbono (KOCH *et al.*, 2013). Além disso, as algas fornecem alimento para os seres humanos e tem uma variedade de aplicações em medicina, na indústria de alimentos, agricultura, cosméticos e alimentação animal (ZEMKE-WHITE e OHNO, 1999). Porém, distúrbios antropogênicos, podem alterar os padrões de variações naturais em várias escalas de organização de comunidades macroalgais. A exclusão ou extinção de produtores primários propaga-se através da cadeia trófica causando perdas dramáticas de fauna em níveis tróficos múltiplos, alterando a estrutura trófica da comunidade, resultando em perda de qualidade ambiental e em prejuízos para a indústria aquícola e pesqueira (AIROLDI *et al.*, 2008; HADDAD *et al.*, 2009).

É de grande importância se entender os padrões de variações naturais para distinguí-los das variações induzidas pelos distúrbios humanos em habitats marinhos (UNDERWOOD, 1994; TERLIZZI *et al.*, 2002). Nesse sentido, a caracterização da estrutura de comunidades macrofitobênticas tem sido utilizada como uma importante ferramenta complementar para o diagnóstico de alterações destas comunidades. Além disso, diante das perdas de biodiversidade marinha que vem sendo observados, os mecanismos fisiológicos que ocorrem em condições de estresse levando ao declínio de produtores primários e seus efeitos sinérgicos com fatores



ambientais, ainda carecem de maiores informações (MACINNIS-NG e RALPH, 2002; WILSON *et al.*, 2004). Portanto, além de caracterização de comunidades, também é importante se entender as condições e mecanismos que levam a perda de habitats, com o objetivo de prevenir futuros declínios de biodiversidade (CONNEL *et al.*, 2008).

Os efeitos de metais sobre a fisiologia de macroalgas têm sido amplamente estudados (COLLEN *et al.*, 2003; BAUMANN *et al.*, 2009; BOUZON *et al.*, 2011) porém a maioria dos estudos concentraram-se na avaliação dos efeitos causados por metais isolados, e não por uma combinação de metais, que representa a realidade em contaminações causadas pela urbanização.

Padrões de distribuição de espécies marinhas são determinados principalmente por fatores ambientais (CLARKE, 2003), entre os quais a temperatura é um fator chave na definição de limites de distribuição latitudinal (LIMA *et al.*, 2007). Organismos que vivem em seus limites de temperatura podem ter limitações fisiológicas que levam às limitações de crescimento e reprodução, e eventualmente, à morte (BREEMAN, 1988; SOMERO, 2002). Neste contexto, os estressores antropogênicos como a poluição ambiental (TORRES *et al.*, 2008), atuam como uma fonte adicional de estresse ao organismo. Os efeitos sinérgicos das variáveis ambientais naturais com estressores antropogênicos podem determinar o resultado da vida de um organismo, de acordo com as respostas fisiológicas das espécies para a nova combinação de condições ambientais formada. Em última análise, a tolerância ou a sensibilidade de uma espécie de alga a fatores ambientais podem levar a um aumento da abundância ou ao desaparecimento de espécies de determinadas áreas ou regiões (SCHERNER *et al.*, 2012a).

A costa brasileira tem aproximadamente 8000 km de extensão, com um conjunto diversificado de condições oceanográficas e ecológicas. Horta *et al.* (2001)

dividiram o litoral em três distintas regiões ficogeográficas (RFs): Província Temperada Quente, Zona de Transição, e Província Tropical. As diferenças na flora estão em função, principalmente, das diferenças na disponibilidade de substrato e na temperatura da água. Nesse cenário, algas tropicais, como *Halimeda cuneata* que estão limitadas a província tropical e a zona de transição, se colocam como um modelo interessante para o estudo do efeito de estressores antropogênicos em temperaturas que ocorrem nos limites de distribuição de certas macroalgas marinhas.

As mudanças climáticas são uma importante ameaça global aos ecossistemas oceânicos (HALPERN *et al.*, 2008). Alterações na química oceânica e aquecimento da água do mar, relacionadas aos aumentos de gases de efeito estufa na atmosfera tem potencial para afetar a fisiologia de organismos marinhos (PORTNER e FARRELL, 2008) causando mudanças em cadeias tróficas (BROWN *et al.*, 2010) e levando a alterações substanciais em comunidades marinhas (HARLEY *et al.*, 2006). As próximas décadas devem apresentar as maiores alterações ecológicas se compararmos com as mudanças observadas até o momento (HARLEY *et al.*, 2012), pois de acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) o aquecimento e acidificação dos oceanos estão apenas começando diante dos cenários mais negativos esperados pelos climatologistas (MEEHL *et al.*, 2007). Assim, a compreensão dos efeitos fisiológicos e ecológicos do aumento de temperatura e da acidificação oceânica sobre organismos marinhos é fundamental para subsidiar previsões de alterações futuras, auxiliando nos novos desafios de gerenciamento dos ecossistemas marinhos.

Diferentes respostas aos aumentos de temperatura e acidificação oceânica por macroalgas marinhas têm sido observadas. Alguns estudos tem mostrado espécies que se beneficiam de maiores níveis de CO<sub>2</sub> apesar da maior acidez da

água, sofrendo aumento da performance fotossintética (JOHNSON *et al.*, 2012), enquanto outras espécies apresentam declínios significativos de fotossíntese (SINUTOK *et al.*, 2012), e outras não sofrem alterações significativas sobre a fotossíntese (ISRAEL e HOPHY, 2002; HOFMANN *et al.*, 2012). Da mesma forma, diante de elevações de temperatura, diferentes respostas têm sido observadas sobre a fotossíntese de macroalgas marinhas (ANDERSON, 2006; SINUTOK *et al.*, 2012). Essas diferenças na susceptibilidade de macroalgas a aumentos de temperatura e acidificação oceânica devido a maiores concentrações de CO<sub>2</sub>, podem gerar respostas em nível de espécies através de adaptação, migração e extinção (HARLEY *et al.*, 2012), causando mudanças substanciais em ecossistemas marinhos costeiros.

Desta forma, considerando o exposto anteriormente, o presente estudo teve como objetivos: 1) estudar as alterações causadas pela urbanização costeira sobre a estrutura e composição de comunidades de macroalgas marinhas nas diferentes províncias ficogeográficas da costa brasileira; 2) entender os efeitos da poluição por metais pesados sobre a espécie de macroalga pantropical *H. cuneata* em temperaturas que ocorrem no seu limite de distribuição no Atlântico sul-ocidental; 3) avaliar os efeitos dos aumentos de temperatura e acidificação oceânica por adição de CO<sub>2</sub> sobre a fotossíntese de macroalgas marinhas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### ***I. Impactos da urbanização sobre a estrutura de comunidades macroalgais no Brasil***

O primeiro trabalho a focar poluição como causa de mudanças em comunidades macroalgais no Brasil foi feito por Oliveira e Berchez (1978). Os autores fizeram uma comparação com o trabalho realizado por Joly (1957) na Baía de Santos e encontraram apenas 69 espécies das 105 referidas por Joly anteriormente. Essa redução de biodiversidade foi atribuída ao aumento de poluição.

Outro estudo comparativo foi realizado em Niterói (RJ) por Taouil e Yoneshigue-Valentin (2002), com o objetivo de inventariar a flora algácea da praia de Boa Viagem e compará-la com levantamentos realizados há três décadas por Yoneshigue-Braga (1970a, 1970b, 1971, 1972a, 1972b). Os resultados mostraram desaparecimento de 30 táxons (49%) e novas ocorrências de 14 espécies (23%). A flora atual é dominada por *Ulva fasciata* Delile e *Ulva compressa* L. (como *Enteromorpha compressa*) espécies, potencialmente, indicadoras de poluição orgânica.

Em outro artigo, Oliveira e Qi (2003) apresentaram os resultados de um novo levantamento realizado na Baía de Santos em 1998 e 1999, dando continuidade às comparações feitas por Oliveira e Berchez (1978) e Joly (1957). Neste estudo algumas espécies observadas inicialmente por Joly na década de 50 apareceram novamente, incluindo o reaparecimento de sete espécies de algas pardas. Esse aumento no número de espécies foi atribuído aos esforços feitos pelo governo para reduzir a poluição no local.

Bouzon *et al.* (2006) realizaram estudos de composição florística nas baías da Ilha de Santa Catarina, considerando que estes ambientes vêm sofrendo interferências antrópicas com o avanço da urbanização. Foram selecionadas 12

estações amostrais nas duas baías, representando as suas distintas fisionomias. Foram identificados 107 táxons infragenéricos, alguns citados pela primeira vez para a região sul do Brasil, como *Pleonosporium polysthicum* E. C. Oliveira, *Acinetospora crinita* (Carmichael) Kornmann e *Neosiphonia sphaerocarpa* (Børgesen) M. S. Kim e I. K. Lee. Os índices fitogeográficos de Feldmann e de Cheney caracterizaram a região como pertencente à província Temperada Quente, assim como analisado anteriormente por outros autores. Os autores concluíram que as áreas mais urbanizadas demonstraram estar fora dos padrões fitogeográficos descritos anteriormente, principalmente devido à distinta vulnerabilidade que alguns grupos de macroalgas apresentam sob situações de estresse; e que os impactos da urbanização nos ambientes costeiros têm o potencial de alterar padrões ecológicos e até biogeográficos, representando forças evolutivas importantes nos processos modernos de seleção natural.

Ainda no estado de Santa Catarina, Martins *et al.* (2012) observaram um maior número de táxons e um aumento da ocorrência de espécies de Rhodophyta em áreas preservadas em relação à áreas urbanizadas. Em contraste, áreas urbanizadas foram dominadas por algas oportunistas, tais como *Cladophora* Kuetz., e *Ulva* spp. Foi observada uma maior riqueza de espécies e diversidade de Shannon-Wiener em áreas preservadas em comparação com áreas urbanizadas.

## **II. Impactos da urbanização sobre a estrutura de comunidades macroalgais no mundo**

Borowitzka (1972) observou em Sydney, Austrália, reduções em riqueza e diversidade em regiões próximas a descargas de poluentes, sendo que a maior parte dos táxons que desapareceram eram espécies de feofíceas, e rodofíceas.

Eriksson *et al.* (2002) apresentaram um levantamento das macroalgas feito em 1998 na Ilha de Stora Borno na costa da Suécia e o compararam com outro

estudo anterior feito no mesmo local, em 1941. A composição da comunidade e distribuição batimétrica, foram comparadas com base em grupos funcionais. Uma diminuição significativa na extensão batimétrica por macroalgas foi observada, além de um grande declínio na riqueza de espécies no infralitoral em relação ao observado em 1941. Os autores concluem que as alterações observadas são consistentes com um aumento na disponibilidade de nutrientes durante o período entre os levantamentos.

Terlizzi *et al.* (2002) avaliaram os impactos de emissários de esgotos urbanos sobre comunidades de macroalgas no Mar Mediterrâneo. Os autores observaram uma forte influência negativa dos emissários sobre as comunidades macroalgais e a presença exclusiva de certos táxons como *Colpomenia sinuosa* (Roth) Derbés e Solier e espécies de Gelidiales em áreas impactadas. Liu *et al.* 2007 realizaram um estudo similar no Mar Amarelo, na China, tendo sido observadas diferenças evidentes na composição e estrutura das comunidades macroalgais devido à emissão de esgotos urbanos. As macroalgas efêmeras e filamentosas foram dominantes nas áreas impactadas enquanto que espécies de crescimento lento dominaram nas áreas não impactadas.

Diferenças da sensibilidade de espécies macroalgais por impactos antropogênicos foram usadas por Wilkinson *et al.* (2007) para avaliar o status ecológico de estuários nas ilhas Britânicas. Os autores propõem que a extensão da penetração de algas fucóides na direção de estuários pode ser utilizada como um eficiente parâmetro indicativo da qualidade ambiental de regiões estuarinas.

Connell *et al.* (2008) avaliaram o impacto da região metropolitana de Adelaide, Austrália, por uma perspectiva histórica. Eles observaram que as perdas de algas formadoras de dossel chegam a 70% em partes da costa na região metropolitana.

Johnston e Roberts (2009) fizeram meta-análise com dados de 216 estudos que avaliaram os efeitos de contaminantes sobre comunidades de organismos marinhos. Os autores observaram que os índices ecológicos mais utilizados foram riqueza e os índices de Shannon-Wiener e equitatividade de Pielou. Além disso, eles notaram que áreas poluídas estavam associadas a comunidades marinhas que continham menos espécies ou táxons que áreas preservadas e colocam que a susceptibilidade a contaminantes não varia de acordo com diferentes habitats.

### **III. Respostas fisiológicas de macroalgas a metais pesados**

Barraza e Carballeira (1999) monitoraram os efeitos de cádmio e cobre sobre a fotossíntese da alga *Ulva rigida* C. Agardh. Os autores observaram menor rendimento quântico ótimo e eficiência fotossintética em algas expostas aos metais.

Eklund e Kautsky (2003) fizeram uma revisão sobre a toxicidade em macroalgas marinhas. Eles concluem que pouco se sabe sobre o assunto com macroalgas marinhas devido à ausência de padronização dos métodos aplicados. Entretanto eles observaram que muitos estágios no ciclo de vida de macroalgas foram frequentemente mais sensíveis a substâncias tóxicas do que outros organismos aquáticos, concluindo que testes que utilizem macroalgas devem detectar toxicidade antecipadamente, conseqüentemente também protegendo a fauna.

Wilson *et al.* (2004) realizaram um experimento para testar o efeito de um único pulso de metais combinados (Zn, Pb, Ni, Cu, Cd) representando um efluente industrial sobre a alga calcárea *Phymatolithon calcareum* (Pallas) W.H. Adey e D.L. McKibbin. Os autores observaram uma recuperação do rendimento quântico ótimo da alga após uma semana de exposição ao pulso inicial de metais.

Xia *et al.* (2004) avaliaram os efeitos de cobre e cádmio separadamente sobre o crescimento, fotossíntese e pigmentação de *Gracilaria lemaneiformis* (Bory

de Saint-Vincent) Greville. Foram observados reduções no crescimento e fotossíntese com o aumento da concentração dos metais. Reduções no conteúdo clorofila a e carotenóides foram observadas com a exposição ao cádmio.

Han *et al.* (2008) avaliaram as respostas fisiológicas de *Ulva pertusa* Kjellman e *U. armoricana* P. Dion, B. de Reviers e G. Coat à exposições com cobre. Foram avaliados os efeitos sobre o crescimento, pigmentação, fluorescência da clorofila, capacidade antioxidante e atividade enzimática do nitrato redutase. Foram observadas diferenças na sensibilidade das duas espécies ao cobre. Os autores sugerem que essas diferenças podem influenciar nas interações competitivas das espécies nas águas costeiras coreanas.

Baumann *et al.* (2009) estudaram os efeitos de cinco metais (Cu, Cr, Zn, Cd, Pb) sobre a atividade fotossintética de sete espécies de macroalgas, incluindo clorofíceas, rodofíceas e feofíceas. Observaram que as respostas nas concentrações de clorofila “a” sobre o enriquecimento com metais variam de acordo com a identidade do metal, suas concentrações e espécies de algas.

Bouzon *et al.* (2011) avaliaram a influência de cádmio sobre a ultraestrutura e metabolismo da macroalga *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamouroux. Foram observadas reduções nas taxas de crescimento, despigmentação, redução da performance fotossintética e alterações na arquitetura da alga após exposição ao cádmio.

#### **IV. Impactos globais sobre comunidades marinhas**

Vitousek *et al.* (1997) fizeram uma revisão dos impactos antrópicos sobre os ecossistemas terrestres, concluindo que desde a revolução industrial o nível de dióxido de carbono aumentou 30% na atmosfera, o que trará amplas consequências para diversos ecossistemas. Além disto, os autores colocam que as produtivas zonas costeiras têm sido fortemente afetadas devido à forte ocupação humana,



destacando que 60% da população mundial vivem em uma faixa de 100 km da costa.

A preocupação sobre os efeitos da acidificação oceânica e dos aumentos de temperatura sobre as macroalgas marinhas é relativamente nova, sendo a maior parte dos trabalhos publicados a partir de 2000. Russel *et al.* (2009) estudaram os potenciais efeitos sinérgicos das mudanças climáticas com fatores de estresse locais, comparando a biomassa, cobertura percentual e eficiência fotossintética de algas calcárias com tapetes algais. Os autores observaram que o aumento de CO<sub>2</sub> combinado ao aumento de nutrientes, causa uma diminuição da biomassa, cobertura e fotossíntese de algas calcárias e um aumento dos referidos parâmetros nos tapetes algais. Diaz-Pulido *et al.* (2011) demonstraram que aumentos na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico deve ser um processo adicional, levando à dominância de macroalgas em recifes de corais. Porzio *et al.* (2011) descreveram os efeitos do aumento de CO<sub>2</sub> sobre comunidades de macroalgas ao longo de um gradiente de pH causando por ventos vulcânicos. Os autores demonstram que muitas espécies de macroalgas são tolerantes a elevações de longo período nos níveis de CO<sub>2</sub>, porém concluem que habitats de macroalgas são alterados significativamente com a diminuição do pH. Johnson *et al.* (2012) também avaliaram os efeitos de gradientes naturais de CO<sub>2</sub> causados por ventos vulcânicos sobre populações de *Padina* spp. Eles constataram aumentos da abundância de *Padina* spp., em direção às regiões mais ácidas, coincidindo com aumentos da performance fotossintética e talos menos calcificados, além de uma menor abundância de ouriços, e portanto, menores pressões de herbivoria sobre essas populações de macroalgas.

Sinutok *et al.* (2012) investigaram os efeitos da acidificação e de aumentos de temperatura sobre duas espécies do gênero *Halimeda*. Os autores observaram

declínios significativos da performance fotossintética e de taxas de calcificação de ambas espécies diante de aumentos de temperatura, acidificação, e dos dois fatores em sinergia. Por outro lado, Israel e Hophy (2002) não observaram respostas de maiores concentrações de CO<sub>2</sub> sobre a atividade fotossintética de diversas espécies de macroalgas, o que segundo os autores pode ser devido aos mecanismos de concentração de carbono baseados na aquisição de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Da mesma forma, Hofmann *et al.* (2012) não observaram respostas significativas sobre o rendimento quântico ótimo e taxa de transporte de elétrons da alga calcárea *Corallina officinalis* Linnaeus, diante de maiores concentrações de CO<sub>2</sub>. Koch *et al.* (2013) apresentaram uma revisão sobre os efeitos das mudanças climáticas e acidificação oceânica sobre gramas e macroalgas marinhas tropicais e subtropicais, abordando principalmente os possíveis mecanismos utilizados para aquisição de carbono por esses autotrófos marinhos e suas respostas fotossintéticas diante de aumentos de temperatura e acidificação.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIROLDI, L., BALATA, D., BECK, M.W. The Gray Zone: Relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 366, p. 8-15, 2008.
- ANDERSON, B.C. 2006. Response of Tropical Marine Macroalgae to Thermal Stress. Dissertação de mestrado, Florida Atlantic University, Boca Raton, FL.
- BARRAZA, J.E., CARBALLEIRA, A. Chlorophyll fluorescence analysis and cadmium-copper bioaccumulation in *Ulva rigida* (C. Agardh). *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, v. 15, p. 395-399, 1999.
- BAUMANN, H.A., MORRISON, L., STENGEL, D.B. Metal accumulation and toxicity measured by PAM - chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 72, p. 1063-1075, 2009.
- BOUZON, J.L., SALLES, J., BOUZON, Z., HORTA, P.A. Aspectos florísticos e biogeográficos das macroalgas marinhas das Baías da Ilha de Santa Catarina. *Insula*, v. 35, p. 69-84, 2006.
- BOUZON, Z.L., FERREIRA, E.C., DOS SANTOS, R., SCHERNER, F., HORTA, P. A., MARASCHIN, M., SCHMIDT, E.C. Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in vitro. *Protoplasma*, v. 249, p. 637-650, 2011.
- BROWN, C.J., FULTON, E.A., HOBDAI, A.J., MATEAR, R.J., POSSINGHAM, H.P., BULMAN, C., CHRISTENSEN, V., FORREST, R.E., GEHRKE, P.C., GRIBBLE, N.A., GRIFFITHS, S.P., LOZANO-MONTES, H., MARTIN, J.M., METCALF, S., OKEY, T.A., WATSON, R., RICHARDSON, A.J. Effects of climate-driven primary production change on marine food webs: implications for fisheries and conservation. *Global Change Biology*, v. 16, p. 1194-1212, 2010.
- CONNELL, S.D., RUSSELL, B.D., TURNER, D.J., SHEPHERD, S.A., KILDEA, T., MILLER, D., AIROLDI, L., CHESHIRE, A. Recovering a lost baseline: missing kelp forests from a metropolitan coast. *Marine Ecology Progress Series*, v. 360, p. 63-72, 2008.
- DILLEHAY, T.D., RAMÍREZ, C., PINO, M., COLLINS, M. B., ROSSEN, J., PINO-NAVARRO, J. D. Monte Verde: Seaweed, Food, Medicine, and the Peopling of South America. *Science*, v. 320, p. 784, 2008.

- ERIKSSON, B.K., JOHANSSON, G., SNOEIJIS, P. Long-term changes in the macroalgal vegetation of the inner Gullmar. Fjord, Swedish Skagerrak coast. *Journal of Phycology*, v. 38, p. 284-296, 2002.
- EKLUND, B.T., KAUTSKY, L. Review on toxicity testing with marine macroalgae and the need for method standardization — exemplified with copper and phenol. *Marine Pollution Bulletin*, v. 46, p. 171-181, 2003.
- HADDAD, N.M., CRUTSINGER, G.M., GROSS, K., HAARSTAD, J., KNOPS, J.M.H., TILMAN, D. Plant species loss decreases arthropod diversity and shifts trophic structure. *Ecology Letters*, v. 12, p. 1029-1039, 2009.
- HALPERN, B.S., WALBRIDGE, S., SELKOE, K.A., KAPPEL, C.V., MICHELI, F., D'AGROSA, C., BRUNO, J.F., CASEY, K.S., EBERT, C., FOX, H.E., FUJITA, R., HEINEMANN, D., LENIHAN, H.S., MADIN, E.M.P., PERRY, M.T., SELIG, E.R., SPALDING, M., STENECK, R., WATSON, R. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, v. 319, p. 948-52, 2008.
- HAN, T., KANG, S.H., PARK, J.S., LEE, H.K., BROWN, M.T. Physiological responses of *Ulva pertusa* and *U. armoricana* to copper exposure. *Aquatic Toxicology*, v. 86, p. 176-84, 2008.
- HARLEY, C.D.G., A.R. HUGHES, K.M. HULTGREN, B.G. MINER, C.J.B. SORTE, C. S. THORNBER, L.F. RODRIGUEZ, L. TOMANEK, S.L. WILLIAMS. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters*, v. 9, p. 228-241, 2006.
- HARLEY, C.D.G., ANDERSON, K.M., DEMES, K.W., JORVE, J.P., KORDAS, R.L., COYLE, T.A., GRAHAM, M.H. Effects of Climate Change on Global Seaweed Communities. *Journal of Phycology*, v. 48, p. 1064-1078, 2012.
- HOFMANN, L.C., YILDIZ, G., HANELT, D., BISCHOF, K. Physiological responses of the calcifying rhodophyte, *Corallina officinalis* (L.), to future CO<sub>2</sub> levels. *Marine Biology*, v. 159, p. 783–792, 2012.
- HORTA, P.A., AMANCIO, E., COIMBRA, C.S., OLIVEIRA, E.C. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* v. 28, p. 243-255, 2001.
- ISRAEL, A., HOPHY, M. Growth, photosynthetic properties and Rubisco activities and amounts of marine macroalgae grown under current and elevated seawater CO<sub>2</sub> concentrations. *Global Change Biology*, v. 8, p. 831-840, 2002.

- JOLY, A.B. Contribuição ao conhecimento da flora ficológica marinha da Baía de Santos e Arredores. *Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de Sao Paulo, Botânica*, v. 14, p. 3-199, 1957.
- JOHNSON, V.R., RUSSELL, B.D., FABRICIUS, K.E., BROWNLEE, C., HALL-SPENCER, J.M. Temperate and tropical brown macroalgae thrive, despite decalcification, along natural CO<sub>2</sub> gradients. *Global Change Biology*, v. 18, p. 2792–2803, 2012.
- KOCH, M., BOWES, G., ROSS, C., ZHANG, X.H. Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biology*, v. 19, p. 103–132, 2013.
- LIU, D., BAI, J., SONG, S., ZHANG, J., SUN, P., LI, Y., HAN, G. The Impact of Sewage Discharge on the Macroalgae Community in the Yellow Sea Coastal Area around Qingdao, China. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 7, p. 683–692, 2007.
- LOTZE, H.K., LENIHAN, H.S., BOURQUE, B.J., BRADBURY, R.H., COOKE, R.G., KAY, M.C., KIDWELL, S.M., KIRBY, M.X., PETERSON, C.H., JACKSON, J.B.C. Depletion, Degradation, and Recovery Potential of Estuaries and Coastal Seas. *Science* v. 312, p. 1806, 2006.
- MACINNIS-NG, C.M.; RALPH, P.J. Towards a more ecologically relevant assessment of the impact of heavy metals on the photosynthesis of the seagrass *Zostera capricorni*. *Marine Pollution Bulletin*, v. 45, p. 100–106, 2002.
- MEEHL, G.A., STOCKER, T.F., COLLINS, W.D., FRIEDLINGSTEIN, P., GAYE, A.T., GREGORY, J.M., KITO, A. et al. Global climate projections. In Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M. e Miller, H. L. [Eds.] *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 747–845, 2007.
- OLIVEIRA, E.C., BERCHEZ, F.A.S. Marine benthic algae of Santos Bay – Changes in the flora between 1957 – 1978. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* v. 6, p. 49-59, 1978.
- OLIVEIRA, E.C., QI, Y. Decadal Changes in a Polluted Bay as Seen from Its Seaweed Flora: The Case of Santos Bay in Brazil. *Ambio* v. 32, p. 403-405, 2003.

- PORTNER, H.O., FARRELL, A.P. Physiology and climate change. *Science*, v. 322, p. 690–692, 2008.
- PORZIO, L., BUIA, M.A., HALL-SPENCER, J.M. Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 400, p. 278–287, 2011.
- SINUTOK, S., HILL, R., DOBLIN, M.A., KÜHL, M., RALPH, P.J. Microenvironmental changes support evidence of photosynthesis and calcification inhibition in *Halimeda* under ocean acidification and warming. *Coral Reefs*, v. 31, p. 1201-1213, 2012.
- STEFFEN, W., PERSSON, Å., DEUTSCH, L., ZALASIEWICZ, J., WILLIAMS, M., RICHARDSON, K., CRUMLEY, C., CRUTZEN, P., FOLKE, C., GORDON, L., MOLINA, M., RAMANATHAN, V., ROCKSTRÖM, J., SCHEFFER, M., SCHELLNHUBER, H.J., SVEDIN, U. The Anthropocene: From Global Change to Planetary Stewardship. *Ambio*, v. 40, p. 739-761, 2011.
- TAOUIL, A., YONESHIGUE-VALENTIN, Y. Changes in the marine flora of the Boa Viagem Beach (Niterói, RJ). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 25, p. 405-412, 2002.
- TERLIZZI, A., FRASCHETTI, S., GUIDETTI, P., BOERO, F. 2002. The effects of sewage discharge on shallow hard substrate sessile assemblages. *Marine Pollution Bulletin*, v. 44, p. 544-550, 2002.
- UNDERWOOD, A.J. On beyond BACI: sampling designs that might reliably detect environmental disturbances. *Ecological Applications*, v. 4, p. 3–15, 1994.
- VITOUSEK, P.M., MOONEY, H.A., LUBCHENCO, J., MELILLO, J.M. Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science*, v. 277, p. 494, 1997.
- WANG, X.-C., ZHAO, H.-M. Uptake and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Seaweed. *Journal of Coastal Research*, v. 50, p. 1056–1061, 2007.
- WILKINSON, M., WOOD, P., WELLS, E., SCANLAN, C. Using attached macroalgae to assess ecological status of British estuaries for the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, v. 55, p. 136-150, 2007.
- WILSON, S., BLAKE, C., BERGES, J.A., MAGGS, C.A. Environmental tolerances of free-living coralline algae (maerl): implications for European marine conservation. *Biological Conservation*, v. 120, p. 279-289, 2004.

- XIA, J.R., LI, Y.J., LU, J., CHEN, B. Effects of copper and cadmium on growth, photosynthesis, and pigment content in *Gracilaria lemaneiformis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 73, p. 979–986, 2004.
- YONESHIGUE-BRAGA, Y. Flora marinha bentônica da Baía de Guanabara e cercanias. I. - Chlorophyta. *Instituto de Pesquisas da Marinha*, v. 42, p.1-55, 1970a.
- YONESHIGUE-BRAGA, Y. Flora marinha bentônica da Baía de Guanabara e cercanias. II. - Phaeophyta. *Instituto de Pesquisas da Marinha*, v. 45, p.1-31, 1970b.
- YONESHIGUE-BRAGA, Y. Flora marinha bentônica da Baía de Guanabara e cercanias. III. - Rhodophyta. 1. Goniotrichales, Bangiales, Compsopogonales, Nemalionales e Gelidiales. *Instituto de Pesquisas da Marinha*, v. 55, p.1-36, 1971.
- YONESHIGUE-BRAGA, Y. Flora marinha bentônica da Baía de Guanabara e cercanias. III. - Rhodophyta. 2. Cryptonemiales, Gigartinales e Rhodymeniales. *Instituto de Pesquisas da Marinha*, v. 62, p.1-39, 1972a.
- YONESHIGUE-BRAGA, Y. Flora marinha bentônica da Baía de Guanabara e cercanias. III. - Rhodophyta. 3. Ceramiales. *Instituto de Pesquisas da Marinha*, v. 65, p.1-49, 1972b.

#### 4. Artigo 1: Urbanização costeira causa perda de espécies e alterações marcantes em comunidades macroalgais no sudoeste do Atlântico

Fernando Scherner <sup>1\*</sup>, Paulo Antunes Horta <sup>2</sup>, Eurico Cabral de Oliveira <sup>3</sup>, José Carlos Simonassi <sup>4</sup>, Jason M. Hall-Spencer <sup>5</sup>, Fungyi Chow <sup>6</sup>, José Marcos C. Nunes <sup>7</sup>, Sonia Maria Barreto Pereira <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia. R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica, Trindade, 88010-970 Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências. Rua do Matão, Trav. 14, N. 321. 05508-900 São Paulo, SP, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Núcleo de Estudos do Mar, Campus Universitário, Trindade, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>5</sup> Marine Biology and Ecology Research Centre, Plymouth University, Plymouth, PL4 8AA, UK,

<sup>6</sup> Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Caixa Postal 11461, 05422-970 São Paulo, SP, Brasil.

<sup>7</sup> Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica. Rua Barão de Geremoabo, s/n, Ondina, 40170-115 Salvador, BA, Brasil.

\* Autor para correspondência: Phone: +55 81 33206361; Fax: +55 81 33206360; E-mail: fscherner@yahoo.com

*Artigo publicado na revista Marine Pollution Bulletin (Scherner et al. Coastal urbanization leads to remarkable seaweed species loss and community shifts along the SW Atlantic. Mar. Pollut. Bull. (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.09.019>)*



## Resumo

A urbanização costeira está se expandindo rapidamente em todo o mundo. Seus impactos sobre a biota costeira têm sido documentados, pouco a pouco, em escala local, mas as avaliações em escala continental sobre as comunidades de macroalgas ainda são desconhecidas. Neste trabalho foi avaliado o impacto da urbanização ao longo de um gradiente latitudinal extenso, abrangendo três regiões ficogeográficas no sudoeste do Atlântico. Dados do percentual de cobertura de macroalgas e amostras de sedimentos foram obtidos de áreas de amostragem ao longo da margem continental. Concentrações de clorofila *a* foram utilizadas como um indicador da qualidade da água. Densidade de população humana, o número de habitações, e cobertura de vegetação terrestre foram determinadas para cada área amostral, e correlacionados com índices de diversidade, calculados a partir de dados percentuais de cobertura de macroalgal. As áreas urbanas apresentaram significativa menor cobertura de algas calcárias (-38%), e o carbonato foi significativamente menor no sedimento em áreas urbanas do que em áreas referência. A riqueza específica foi em média 26% menor em áreas urbanas do que em áreas referência. Observou-se um declínio marcante das feofíceas e um aumento substancial das clorofíceas em áreas urbanas ao longo de um amplo gradiente latitudinal. Os dados do presente trabalho demonstram que a urbanização costeira está causando perda substancial da biodiversidade de algas marinhas no sudoeste do Atlântico, mudando radicalmente assembléias macroalgais.

Palavras-chave: Macroalgas, Regiões Ficogeográficas; Sudoeste do Atlântico; Perda de biodiversidade; Consequências da urbanização.

### 1. Introdução

A urbanização costeira está avançando rapidamente em uma escala global, embora áreas relativamente intactas, ainda permaneçam na América do Sul. A cobertura vegetal terrestre está sendo substituída por superfícies impermeáveis, como asfalto e concreto (Yuan e Bauer, 2007), e em combinação com o crescimento da população humana está causando um aumento do escoamento de águas contaminadas em mares costeiros (Marsalek et al. 1999; Bay et al. 2003, Scherner et al. 2012a). Quase 60% da população humana vive a menos de 100 km das costas, afetando adversamente as produtivas margens costeiras oceânicas (Vitousek et al. 1997; Lotze et al. 2006; Worm et al. 2006; Halpern et al. 2008), reduzindo a qualidade dos ecossistemas costeiros marinhos (Halpern et al. 2012). Perdas da biodiversidade

marinha e alterações em comunidades biológicas estão entre os efeitos da poluição costeira. Tais efeitos sobre as comunidades de algas foram documentados em todo o mundo, no entanto, a maioria dos estudos foi concebida para detectar impactos locais (ex. Terlizzi et al, 2002; Oliveira e Qi, 2003; Liu et al. 2007; Martins et al. 2012). Contudo, avaliações do impacto da urbanização sobre comunidades de macroalgas em escala continental abrangendo regiões com diferentes características ficogeográficas, ainda são inexistentes.

As macroalgas são importantes produtores primários costeiros e juntamente com gramas marinhas elas exercem muitos dos bens e serviços fornecidos por ambientes costeiros (Beaumont et al. 2007; Harley et al. 2012), proporcionando berçários, habitats e alimentos para a fauna marinha (Grall et al. 2006), remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos da água do mar (Wang e Zhao, 2007) e sequestro de carbono (Koch et al. 2013). Além disso, as algas fornecem alimento para os seres humanos e tem uma variedade de aplicações em medicina, na indústria de alimentos, agricultura, cosméticos e alimentação animal (Zemke-White e Ohno, 1999). Algas calcárias, como *Halimeda* J.V. Lamour., e Coralináceas fornecem serviços essenciais ecológicos no ambiente marinho, em especial em ecossistemas de recifes de coral em que desempenham um papel importante no balanço do carbono e carbonato (Littler e Littler, 1988; Sinutok et al. 2012). Estes organismos são adaptados para ambientes oligotróficos, portanto a poluição costeira se constitui um risco para estes organismos e, conseqüentemente, para os ambientes recifais (Hallock e Schlager, 1986).

A costa brasileira tem em torno de 8000 km de extensão, com um conjunto diversificado de condições oceanográficas e ecológicas. Horta et al. (2001) dividiram o litoral em três regiões ficogeográficas (RFs): Província temperada quente, Zona de transição, e a Província tropical. As diferenças na flora são devidas principalmente a diferenças na disponibilidade de substrato e à temperatura da água do mar. Neste contexto, no presente estudo foram avaliados os efeitos da urbanização costeira sobre as diferentes comunidades de algas marinhas no Atlântico sul-ocidental. Foram testadas as hipóteses de que intensa urbanização costeira causa: 1. Perda de espécies e alterações em comunidades de macroalgas marinhas; 2. Diminuições na riqueza e cobertura de espécies de algas calcificadas; 3. Diminuições de carbonato no sedimento; 4. Declínios de feofíceas e aumentos de clorófitas.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Área de estudo

A ocorrência de recifes é frequente ao longo da costa brasileira, ocorrendo em pelo menos um terço do litoral, com recifes de corais e recifes de arenito predominantes no norte (0°52' N, -19° S) e recifes rochosos no sul (20°, -28°) (Floeter et al. 2006). No estado de

Pernambuco a plataforma continental apresenta pouca profundidade, declive suave, cobertura sedimentar composta por sedimentos terrígenos e carbonáticos biogênicos (Manso et al. 2003). A presença de linhas de arenito paralelas à praia é constante na plataforma continental, servindo como substrato para o desenvolvimento de organismos recifais (Manso et al. 2003). O litoral do Espírito Santo apresenta costões rochosos e recifes de arenito em abundância Guimarães (2003) proporcionando uma variedade de substratos para colonização por organismos bêntônicos. A região costeira estudada no litoral de São Paulo apresenta extensões perpendiculares da Serra do Mar que alcançam o mar, formando baías, enseadas e ilhas (SMA, 1996). Desta forma, a ocorrência de costões rochosos é abundante, especialmente no litoral norte do estado. A temperatura da água do mar aumenta em direção ao norte, com temperaturas de superfície média de 24°C no litoral de São Paulo e no Espírito Santo, na região sudeste, e 28°C na costa de Pernambuco, no nordeste. O litoral do Espírito Santo sofre a influência de águas com baixa temperatura e ricas em nutrientes, derivadas de uma zona de ressurgência.

A maior parte dos 17 estados costeiros brasileiros têm suas capitais próximas à costa. Mesmo quando a capital não está localizada na costa, grandes cidades foram formadas nestas regiões, como a área metropolitana da Baixada Santista, no litoral de São Paulo, com uma população de 1,7 milhões. No Espírito Santo, a expansão urbana costeira em torno de Vitória também tem 1,7 milhões de pessoas enquanto que no estado nordestino de Pernambuco, Recife e cidades vizinhas têm 3,7 milhões de pessoas (IBGE, 2010). Além disso, há cidades costeiras de tamanho médio com um número relativamente elevado de habitações, e que, devido ao turismo nos feriados e nos meses de verão, sofre aumento da densidade populacional.

O Arquipélago de Fernando de Noronha, (3°51' S, -32°25' O), situa-se a 360 km do continente e compreende 21 ilhas, cobrindo 26 km<sup>2</sup>. A temperatura média anual da superfície da água do mar é de cerca de 28°C. O arquipélago tem 3500 habitantes todos concentrados na ilha principal. Desde 1988, 2/3 do seu território terrestre é protegido como um Parque Nacional e o território restante são ocupados com restrições, como Área de Proteção Ambiental. Assim, a urbanização no arquipélago é muito baixa, especialmente ao longo da costa.

## 2.2. Desenho amostral

O desenho amostral foi planejado para representar áreas sob alta e baixa pressão urbana. As costas dos estados de São Paulo, Espírito Santo e Pernambuco, e do arquipélago de Fernando de Noronha, foram amostradas, representando, respectivamente, a Província

Temperada Quente, a Zona de Transição, e a Província Tropical, no último caso, incluindo o continente e uma ilha oceânica, respectivamente (Fig. 1). As amostragens foram realizadas durante os verões de 2011 e 2012, sendo que no primeiro ano foram amostradas as Províncias Temperada Quente e Tropical, e no segundo, a Zona de Transição. Um total de 25 áreas foram selecionadas ao longo da costa brasileira e no arquipélago de Fernando de Noronha. As áreas foram selecionadas com base principalmente nos aspectos que determinam os centros urbanos. Os principais parâmetros utilizados para determinar as áreas urbanas foram: densidade de população humana, o número de habitações e índice de vegetação (Índice de Vegetação por Diferença Normalizada – NDVI). Dados populacionais e habitações foram obtidos a partir do censo de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010). Para se ter uma quantificação precisa das áreas de amostragem individualmente, uma circunferência de 2 km de raio foi gerada a partir de cada área amostral, utilizando técnicas de geoprocessamento, e os parâmetros de urbanização mencionados anteriormente foram adquiridos apenas para as áreas situadas dentro dos perímetros gerados. Foram consideradas como áreas urbanas aquelas com número de domicílios acima de 7000 dentro dos perímetros de dois quilômetros. As áreas que apresentaram valores abaixo destes, foram consideradas áreas sob pressão urbana baixa, e neste estudo elas serão designadas como áreas referência. Além disso, os critérios de seleção das áreas amostrais consideraram a homogeneidade de fatores ambientais entre as áreas, tais como inclinação vertical de substratos e variações de salinidade, evitando-se estuários e áreas de mangue.

Sete áreas foram selecionadas ao longo da província temperada quente, entre as quais três localizadas em centros urbanos e quatro em áreas referência. Ao longo da zona de transição nove áreas foram escolhidas, entre as quais quatro localizadas em centros urbanos e cinco em áreas referência. Finalmente, nove áreas foram selecionadas na província tropical, três áreas urbanas no continente e outras seis áreas referência, dentre as quais três no continente e outras três no arquipélago de Fernando de Noronha. A tabela I apresenta um resumo das áreas de estudo e seus respectivos parâmetros de urbanização.

As assembléias de macroalgas foram avaliadas quantitativamente na parte inferior da zona entre marés, nas porções emersas durante as marés baixas, usando fotoquadrados (625 cm<sup>2</sup>). Em cada área três sub-áreas de 50 m de distância foram amostradas e consideradas triplicatas. Um transecto de 30 metros foi posicionado paralelo à costa e 30 fotografias foram feitas ao longo do transecto, em cada sub-área. As fotografias foram tiradas com uma câmera digital Canon G12 (Canon, Japão). Amostragens qualitativas foram realizadas para identificar os táxons presentes em cada área e dar suporte taxonômico à análise fotográfica. Macroalgas foram identificadas ao nível taxonômico mais detalhado possível; porém quando a

identificação a esse nível não foi possível, algumas algas foram agrupadas nas categorias morfo funcionais de Steneck e Dethier (1994) ou mantidas a nível de gênero. A nomenclatura foi baseada em Wynne (2011).

As amostras de sedimento foram coletadas nas áreas mais próximas da região inferior da zona entre marés que apresentavam substratos arenosos disponíveis, usando um tubo de PVC (8 cm de diâmetro e 3,5 cm de altura). Três réplicas foram amostradas por área, com cerca de 30 m de distância entre si.

### *2.3. Cobertura de vegetação terrestre*

Os valores do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI) foram calculados usando imagens do Resource-Sat-1, com sensores LISS3 abrangendo os períodos de 2011 e 2012. As imagens foram retificadas para o sistema de projeção UTM e foram georreferenciadas por um mapa base do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Mapas de NDVI foram gerados para todas as imagens utilizando o seguinte cálculo:

$$\text{NDVI} = \text{RNIR} - \text{Rred} / \text{RNIR} + \text{Rred}$$

Onde RNIR e Rred são o infravermelho próximo e a reflectância espectral do vermelho, respectivamente. Esta equação gera os valores no intervalo de -1 a 1. Os valores negativos que se aproximam de -1 correspondem à água. Valores próximos de zero representam, geralmente, superfícies sem vegetação, como pedra e areia. Baixos valores positivos indicam pastagens e arbustos, enquanto valores altos correspondem a florestas densas. Neste estudo, como o foco foi a avaliação da vegetação terrestre, valores negativos não foram considerados para análise.

Um total de 200 pontos aleatórios foram plotados no perímetro de 2 km determinado para cada área amostral. O valor de NDVI de um pixel relativo a cada ponto foi adquirido, resultando em 200 valores de NDVI. O valor médio foi utilizado para as análises estatísticas. Esses procedimentos foram realizados utilizando o programa Quantum GIS 1.8.0 (Quantum GIS Development Team, 2012).

### *2.4. Análises de sedimentos*

Amostras de sedimento foram transportadas para o laboratório em sacos de polietileno e armazenadas a 4°C. Análises granulométricas foram realizadas utilizando uma peneira padrão (2 mm-63 µm) e técnicas de pipeta (<63µm). Conteúdos de carbonato (CaCO<sub>3</sub>) foram estimados pela diferença de peso após a adição de HCl 1N.

### *2.5. Clorofila a como um indicador da qualidade da água*

A clorofila é considerada uma variável fundamental na aplicação como indicador do estado trófico e qualidade da água (Boyer et al. 2009). Ela reflete o efeito de fatores múltiplos de qualidade da água que podem ser relacionados com a urbanização. Além disso, os dados de clorofila *a* estão disponíveis para uma ampla região espacial, e de forma acessível. Pelas razões apresentadas acima, concentrações de clorofila *a* foram usadas aqui como um indicador da qualidade da água. Concentrações ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ) de médias temporais de clorofila *a* baseadas em climatologias mensais (2002-2009) foram obtidos a partir do conjunto de dados globais do Bio-ORACLE (Tyberghein et al. 2012). Três valores mais próximos de cada área de pesquisa foram adquiridos e utilizados como triplicatas para análise de qualidade da água.

#### 2.6. Percentagem de cobertura macroalgal e determinação de índices ecológicos

Fotoquadrados foram analisados utilizando o programa Coral Point Count com extensões do Microsoft Excel (CPCE, Kohler e Gill, 2006). Cinquenta pontos foram aleatoriamente inseridos em cada imagem digital de fotoquadrado. Os táxons de macroalgas ou grupos funcionais que ocorreram em cada ponto permitiram a estimativa de percentagem de cobertura. A maior parte das macroalgas foram identificadas em nível de espécies, embora alguns poucos táxons puderam ser identificados somente em nível de gênero ou família. Tapetes algais e coralináceas incrustantes foram alocados em grupos funcionais. A cobertura percentual de espécies que apresentam qualquer nível de calcificação (ex. *Padina*, *Galaxaura*, *Halimeda*, coralináceas geniculadas e incrustantes) foi selecionada para verificar o efeito da urbanização sobre estes organismos, também isoladamente.

Os dados de cobertura percentual foram utilizados para calcular os índices de Margalef, Shannon-Wiener ( $H'$ ) e Equitatividade de Pielou ( $J$ ). Para estes cálculos, dados de cada transecto foram tratados como réplicas, assim, três valores de cada índice ecológico foram obtidos para cada área. Os índices foram calculados utilizando o programa PRIMER 6 Beta (Plymouth Marine Laboratory, UK).

#### 2.7. Estatística

Análises univariadas foram utilizadas para avaliar a relação entre os índices ecológicos e a urbanização. Normalidade e homogeneidade de variância foram previamente avaliados utilizando o Qui-quadrado e testes de Cochran, respectivamente, e quando foram verificados a existência dos pressupostos da estatística paramétrica, esta foi aplicada. ANOVA hierárquica aninhada foi utilizada para testar diferenças significativas gerais entre áreas urbanas e referência (aninhadas dentro de RFs). A análise de correlação de Pearson foi utilizada para

examinar a relação entre os índices ecológicos e os diferentes parâmetros de urbanização descritos anteriormente.

Devido à natureza não-paramétrica de cobertura percentual de algas calcárias, de dados de carbonato nos sedimentos, e os valores de clorofila *a*, o teste de Mann-Whitney foi utilizado para testar a diferença nestas variáveis entre áreas urbanas e referência. O teste de Kruskal-Wallis H seguido por um teste de comparação múltipla foi utilizado para comparações entre as RFs. MANOVA foi realizada para os dados granulométricos. Todos os procedimentos univariados foram realizados utilizando o software de análise de dados do sistema STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc. 2004).

A análise multivariada foi realizada para os dados de percentagem de cobertura de macroalgas, grupos funcionais e filos, para testar as diferenças na estrutura da comunidade macroalgal entre áreas urbanizadas e referência, dentro das RFs (condição urbana aninhada dentro de RFs), utilizando o software PRIMER 6.1.15 & PERMANOVA 1.0. 5 (PRIMER-E Ltd. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, Reino Unido). Uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis foi gerada utilizando todas as amostras com dados de raiz quadrada transformadas (Clarke e Warwick, 1994). A análise qualitativa foi realizada utilizando o coeficiente de Sorensen. Dados de cobertura percentual e dados qualitativos obtidos em cada subárea foram tratados como réplica individual. Gráficos multidimensionais de escala não métrica (NMDS) foram criados para retratar as relações entre as áreas estudadas. O percentual de contribuição de cada espécie para as diferenças observadas nas assembléias das comunidades de áreas urbanas e referência, foram determinados através de percentagens de similaridade – contribuição de espécies (SIMPER) (Clarke, 1993).

### **3. Resultados**

#### *3.1. Caracterização de sedimentos*

A percentagem de carbonato nos sedimentos foi significativamente diferente entre todas as RFs ( $p < 0,0001$ ) e entre áreas urbanas e referência ( $p < 0,05$ ). Entre RFs, os maiores valores percentuais médios foram observados na região tropical 52,2 (ilha oceânica 92,9) e continente (31,9), zona de transição (30,8) e região de clima temperado quente (4,0). Uma diminuição de 58% nos valores percentuais médios de carbonato foi observada em áreas urbanas em comparação com áreas referência (17,5 e 42,4, respectivamente). Não houveram diferenças significativas na granulometria entre áreas urbanas e áreas referência (MANOVA,  $F = 1,09$ ,  $p < 0,38$ ).

#### *3.2. Qualidade da água*

As concentrações de clorofila *a* foram significativamente maiores em áreas urbanas do que nas áreas referência ( $p < 0,05$ ), com média ( $\pm$  EP) de  $2,8 \pm 0,5$  e  $1,8 \pm 0,3$  mg/m<sup>3</sup> em áreas urbanas e referência, respectivamente. Entre RFs, valores médios ( $\pm$  SE) significativamente menores foram observados na região tropical  $0,8 \pm 0,2$ , em comparação com a zona de transição de  $3,3 \pm 0,3$  e na região temperada quente  $2,5 \pm 0,4$  ( $p < 0,0001$ ). Não foram observadas diferenças entre as duas últimas RFs.

### 3.3. Comunidade de macroalgas

#### 3.3.1. Algas calcárias

Uma redução significativa de 38% da cobertura da percentagem média de algas calcárias foi observada em áreas urbanas comparando com áreas referência, como indicado pelo teste Mann-Whitney U ( $p < 0,05$ ). Tais declínios foram observados com intensidades diferentes dentro de todas as RFs (95% tropical; 68% temperada quente; 10% zona de transição). Em áreas referência, algas calcárias representaram 21% da cobertura total de macroalgas, enquanto macroalgas não carbonatadas corresponderam a 79%. Em áreas urbanas algas calcárias representaram 13% da cobertura total. Foram observadas diferenças significativas entre as RFs ( $p < 0,0001$ ). O teste *a posteriori* de comparação mostra os valores percentuais de cobertura significativamente mais altos para a zona de transição em comparação com as outras RFs.

#### 3.3.2. Índices ecológicos

O número médio de espécies que ocorrem em áreas urbanas ( $15 \pm$  SE 1.4,  $n = 10$ ) foi significativamente menor do que o número médio observado nas áreas referência ( $20,3 \pm$  SE 1.1,  $n = 15$ ) ( $F = 11,04$ ,  $p < 0,0001$ ). O mesmo padrão foi observado para os índices de Margalef e Shannon-Wiener ( $F = 11,04$ ,  $p < 0,0001$  e  $F = 6,41$ ,  $p < 0,001$ , respectivamente), enquanto a Equitatividade de Pielou não apresentou diferenças significativas entre as áreas urbanas e áreas referência ( $F = 2,07$ ,  $p = 0,11$ ) (Fig. 2). Os valores médios dos índices ecológicos para cada área estão disponíveis como dados complementares (Tabela A1).

O índice de Margalef apresentou correlações negativas significativas com a densidade populacional e número de habitações, e correlações positivas significativas com índice de vegetação (Fig. 3). Embora com menores coeficientes de correlação, correlação negativa significativa foi observada para Shannon-Wiener para os dois primeiros parâmetros, enquanto uma correlação positiva foi detectada para o índice de vegetação. A Equitatividade de Pielou não apresentou correlação significativa com qualquer dos aspectos da urbanização avaliada.



### 3.3.3. Padrões de comunidade macroalgais

A porcentagem de cobertura de rodofíceas, clorofíceas e feofíceas diferiram significativamente entre as áreas urbanas e áreas referência (PERMANOVA Pseudo-F = 7,10,  $p < 0,001$ ), mas não entre regiões ficogeográficas (Pseudo-F = 2,04,  $p = 0,14$ ). Os resultados mostram um aumento de cobertura percentual de clorofíceas e redução de rodofíceas e feofíceas em áreas urbanas. No entanto, tais mudanças não ocorrem dentro de todas as RFs. Variações foram observadas nas regiões tropicais e temperadas, mas não dentro da zona de transição (Fig. 4). Isto é corroborado pelo SIMPER, que mostra que a abundância percentual média destes grupos foram: 60,9, 18,4 e 17,5 em áreas referência e 53,7, 35,0 e 9,4 em áreas urbanas, para Rhodophyta, Chlorophyta e Phaeophyceae, respectivamente. A contribuição percentual destes grupos para as diferenças nas comunidades de algas marinhas entre as áreas urbanas e referência foram, nesta mesma ordem: 38,6, 37,7 e 23,6.

Um total de 193 táxons de algas ocorreram nos fotoquadrados em todas as áreas pesquisadas. Em áreas referência, um total de 169 táxons foram observados enquanto que em áreas urbanas alcançou 102, resultando em uma redução total de 40% no número de espécies em áreas urbanas comparadas às áreas referência. Comunidades macroalgais foram significativamente diferentes entre as áreas urbanas e áreas referência dentro das RFs (Pseudo-F = 7,59,  $p < 0,001$ ) e entre as RFs (Pseudo-F = 2,41,  $p < 0,05$ ). Da mesma forma, a análise qualitativa apresentou diferenças significativas entre as áreas urbanas e áreas referência dentro das RFs (Pseudo-F = 10,26,  $p < 0,001$ ) e entre RFs (Pseudo-F = 3,07,  $p < 0,05$ ).

O NMDS (Clarke e Warwick, 2001), baseado na cobertura percentual de macroalgas (Fig. 5 a) e em dados qualitativos (Fig. 5 b) indica a formação de três grupos principais, devido à divergência entre as RFs. Agrupamentos secundários foram formados dentro dos grupos de RFs, ilustrando as diferenças entre áreas urbanas e referência dentro das RFs, embora isto foi mais pronunciado nas regiões tropical e temperada quente.

Os resultados de SIMPER mostram que os táxons mais abundantes em áreas referência foram: *Palisada perforata*, *Hypnea musciformis* e *Gellidiella acerosa*, enquanto nas zonas urbanas as mais abundantes foram *Ulva* spp, *Ceratodictyon planicaule*, *Chondracanthus acicularis* e *Colpomenia sinuosa*. A tabela II apresenta os táxons com maior contribuição percentual para as diferenças nas comunidades macroalgais, entre áreas urbanas e referência, com seus valores de contribuição e abundâncias médias correspondentes.

#### 4. Discussão

Considerando a taxa exponencial de desenvolvimento costeiro atual ao longo do sudoeste do Atlântico, há uma necessidade urgente para o levantamento da sua biodiversidade (Turra et al. 2013). Estudos de base são importantes para dar uma dimensão das mudanças ambientais causadas pela urbanização, como para fornecer informações valiosas para prever futuras mudanças, e assim, planejar medidas de mitigação eficazes e estratégias de conservação. Neste sentido, este estudo é um esforço para se avaliar o que está sendo perdido devido à pressão urbana ao longo da costa sudoeste do Atlântico.

Os nossos dados mostraram uma redução marcante de algas calcárias acompanhada por reduções no teor de carbonato no sedimento em áreas com elevada pressão urbana. É provável que isto seja o resultado do enriquecimento da água com nutrientes. Hallock e Schlager (1986) propuseram os seguintes mecanismos para explicar como o excesso de nutrientes é prejudicial para as comunidades recifais e para a produtividade de carbonato de cálcio: 1. Redução na transparência da água causado pelo aumento da quantidade de fitoplâncton, 2. inibição da formação de cristais de carbonato pelo fosfato de cálcio, 3. perturbações bióticas, e 4. aumento de bioerosão. Experimentos em ambientes recifais têm mostrado que o aumento de nutrientes ocorrendo juntamente com reduções de herbivoria, levou a um aumento da dominância das macroalgas frondosas (Belliveau e Paulo, 2002; McClanahan et al. 2003). Além disso, a eutrofização das águas costeiras aumenta a acidez (Cai et al. 2011). Tais acontecimentos locais têm potencial para atuar sinergicamente com o processo global de acidificação dos oceanos (Martin et al. 2008; Johnson et al. 2012; Roberts et al. 2013), acelerando a perda de organismos calcários em áreas enriquecidas com nutrientes (Anthony et al. 2011). Embora se tenha usado clorofila *a* como um indicador da qualidade da água, é importante considerar que uma grande variedade de contaminantes, como metais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) e herbicidas, com conhecidos efeitos deletérios sobre algas, muitas vezes são lançadas em áreas urbanas costeiras (Hoffman et al. 1984; Pagliosa e Barbosa, 2006; Torres et al. 2008; Lewis et al. 2009).

Os efeitos da urbanização sobre as comunidades de algas marinhas ao longo da costa brasileira levaram a reduções em biodiversidade, observado pelo reduzido número médio de espécies (Oliveira e Qi, 2003) e nos índices de Margalef e Shannon-Wiener. No entanto, alterações na dominância de espécies não foram observadas como consequência da urbanização. Estudos anteriores encontraram resultados semelhantes para as comunidades entre marés (Johnston e Roberts, 2009). A diminuição da diversidade algal observada no presente estudo esteve mais estreitamente relacionada com reduções na riqueza que com o aumento da dominância de espécies tolerantes.

Os níveis de significância e força de correlação entre os aspectos de urbanização e os índices ecológicos avaliados aqui aumentaram na direção dos índices que têm maior componente de riqueza de espécies (em ordem crescente: Equatividade de Pielou, Shannon-Wiener e Margalef). Os aspectos de urbanização que apresentaram correlação negativa com os índices de Margalef e Shannon-Wiener: densidade populacional e número de domicílios indicam que a ocupação humana extensiva em áreas costeiras impacta significativamente a diversidade de algas marinhas. Além disso, mostra que as áreas turísticas, mesmo com baixa população residente, mas que apresentam número substancial de moradias, utilizadas como casas de veraneio, estiveram relacionadas a um declínio de diversidade de algas marinhas (ex. Itamaracá, PE). Por outro lado, a vegetação terrestre (NDVI) apresenta correlações positivas com esses dois índices. Isto é esperado porque geralmente áreas altamente urbanizadas têm menos cobertura de vegetação, e apesar de as áreas menos urbanizadas poderem ser deficientes em vegetação por razões diferentes (ex. mineração, preparo do solo para a agricultura), que não estão necessariamente associados à urbanização, as áreas referência escolhidas aqui evitaram tais atividades. O fato de NDVI estar negativamente correlacionado com superfícies impermeáveis (Carlson e Arthur, 2000) fornece uma boa indicação do potencial de escoamentos urbanos (Corbett et al. 1997) e, portanto, da consequente contaminação do ambiente marinho. Além disso, maiores volumes de escoamento levam a uma variação maior na salinidade (Scherner et al. 2012<sup>a</sup>), que tem potencial para causar alterações de comunidades macroalgais dominadas por algas perenes para dominadas por algas efêmeras (Scherner et al. 2012<sup>b</sup>).

Alterações marcantes também foram observadas na estrutura de comunidades macroalgais considerando os diferentes níveis de organização taxonômica. Os fortes declínios de espécies de feofíceas observadas em áreas urbanas das RFs tropical e temperada quente foram acompanhados por aumentos substanciais de espécies de clorofíceas. Isto está de acordo com outros estudos que relataram o mesmo padrão ocorrendo em áreas impactadas por diferentes atividades antrópicas (ex. Oliveira e Qi, 2003). Isso está relacionado à sensibilidade da maioria das espécies de feofíceas a contaminantes antrópicos, desde efeitos negativos sobre a germinação e divisão celular (Kevekordes, 2001) à diminuições da performance fotossintética (Scherner et al. 2012<sup>a</sup>), enquanto numerosas espécies de clorofíceas se beneficiam ou não são afetadas negativamente por tais estressores (Tewari e Joshi, 1988; Liu et al. 2009; Teichberg et al. 2010; Scherner et al. 2012<sup>a</sup>). Em contraste, as alterações em grupos taxonômicos superiores não foram observadas entre áreas referência e áreas urbanas dentro da zona de transição. Dentre as feofíceas isso pode ser explicado pela alta contribuição de *Colpomenia sinuosa* nas áreas urbanas dentro desta RF, uma espécie que tem sido

associada à áreas impactadas por descargas de esgoto (Terlizzi et al. 2002). Porém, em geral, as características singulares desta região podem ter um papel importante na sustentação dos padrões observados. Esta região apresenta características singulares que beneficiam tanto espécies de algas tropicais e de regiões temperadas, conseqüentemente apresentando a mais rica flora de algas marinhas no Atlântico Sul Ocidental (Horta et al. 2001). Esta região apresenta uma grande diversidade de habitats para a colonização, e a influência da água de ressurgência, mais fria, rica em nutrientes derivada de uma zona de ressurgência vizinha na região de Cabo Frio, que favorece o crescimento de algas.

A estrutura das comunidades de macroalgas representadas por táxon infragênicos apresentou um padrão claro de segregação entre as áreas urbanas e as áreas referência dentro de suas respectivas RFs. Isso mostra que os impactos da urbanização não alteram o caráter ficogeográfico das comunidades de algas, mas provocam mudanças de sistemas dominados por espécies sensíveis a sistemas dominados por espécies tolerantes. Tais mudanças estão relacionadas tanto com diminuições substanciais de espécies sensíveis à poluição como *Palisada perforata*, *Hypnea musciformis*, *Gelidiella acerosa* e coralináceas incrustantes e a marcante colonização de espécies tolerantes, como *Ulva* spp., *Ceratodictyon planicaule*, *Chondracanthus acicularis* e *Colpomenia sinuosa* em áreas urbanas. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores (Terlizzi et al. 2002). Como evidenciado pelas alterações não significativas na equitatividade entre as áreas urbanas e referência mencionados acima, as mudanças observadas não alteraram a percentagem de espécies dominantes. Isto pode ser devido a um contrabalanceamento, uma vez que a perda de espécies sensíveis foi acompanhada por colonização de espécies tolerantes.

Estudos de grande escala que avaliam múltiplas áreas impactadas e referência têm poder  $(1-\beta)$  aumentado, portanto, são mais susceptíveis de detectar impactos (Underwood e Chapman, 2003). Neste estudo foi demonstrado em uma escala continental que a urbanização leva a mudanças nas assembléias de macroalgas, reduzindo consideravelmente a riqueza, especialmente de algas calcárias e feofíceas, como conseqüência da diminuição na qualidade da água. A perda dos produtores primários é altamente prejudicial para o ambiente marinho, pois ela se propaga através da cadeia alimentar, causando a perda dramática de fauna em vários níveis, alterando a estrutura trófica das comunidades marinhas (Airoldi et al. 2008; Haddad et al. 2009). Neste contexto, o uso do solo de forma mais eficiente em áreas urbanas é importante para mitigar os impactos da urbanização e o crescimento da população humana na zona costeira sobre a biodiversidade marinha (Sushinsky et al. 2013). Considerando os resultados apresentados aqui e o rápido crescimento do processo de urbanização costeira no mundo, políticas públicas devem considerar uma combinação de expansão de esforços de

conservação de sistemas terra-mar, e técnicas para mitigar a contaminação do meio ambiente marinho por poluentes antropogênicos em áreas urbanas.

### **Agradecimentos**

Os autores expressam seus agradecimentos a Coordenação Nacional de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro ao projeto PNADB, n ° 17/2009 e à Rede Nacional de Pesquisa em Biodiversidade Marinha – SISBIOTamar. Este trabalho foi realizado com o apoio, tanto no campo como no laboratório, de vários colaboradores da Universidade de São Paulo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, da Universidade Federal do Espírito Santo, e da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **Referências**

- Airoidi, L., Balata, D., Beck, M.W., 2008. The Gray Zone: relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366, 8–15.
- Anthony, K.R.N., Maynard, J.A., Diaz-Pulido, G., Mumby, P.J., Marshall, P.A., Cao, L., Hoegh-Guldberg, O., 2011. Ocean acidification and warming will lower coral reef resilience. *Global Change Biology* 17, 1798-1808.
- Bay, S., Jones, B.H., Schiff, K., 2003. Water quality impacts of stormwater discharges to Santa Monica Bay. *Marine Environmental Research* 56, 205-223.
- Beaumont, N.J., Austen, M.C., Atkins, J.P., Burdon, D., Degraer, S., Dentinho, T.P., Deros, S., Holm, P., Horton, T., van Ierland, E., Marboe, a H., Starkey, D.J., Townsend, M., Zarzycki, T., 2007. Identification, definition and quantification of goods and services provided by marine biodiversity: implications for the ecosystem approach. *Marine Pollution Bulletin* 54, 253-65.
- Belliveau, S.A., Paul, V.J., 2002. Effects of herbivory and nutrients on the early colonization of crustose coralline and fleshy algae. *Marine Ecology Progress Series* 232, 105-114.
- Boyer, J.N., Kelble, C.R., Ortner, P.B., Rudnick, D.T. 2009. Phytoplankton bloom status: Chlorophyll *a* biomass as an indicator of water quality condition in the southern estuaries of Florida, USA. *Ecological Indicators* 9S, S56-S67.
- Cai, W.-jun, Hu, X., Huang, W.-jen, Murrell, M.C., Lehrter, J.C., Lohrenz, S.E., Chou, W.-chen, Zhai, W., Hollibaugh, J.T., Wang, Y., Zhao, P., Guo, X., Gundersen, K., Dai, M., Gong, G.-ching, 2011. Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. *Nature Geoscience* 4, 766-770.

- Carlson, T.N., Arthur, S.T., 2000. The impact of land use — land cover changes due to urbanization on surface microclimate and hydrology: a satellite perspective. *Global and Planetary Change* 25, 49-65.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* 18, 117–143.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 1994. *Changes in Marine Communities: an Approach to Statistical Analysis and Interpretation*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 2001. *Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation*, 2<sup>nd</sup> edn. PRIMER-E, Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK. 172 pp.
- Corbett, C.W., Wahl, M., Porter, D.E., Edwards, D., Moise, C., 1997. Nonpoint source runoff modeling A comparison of a forested watershed and an urban watershed on the South Carolina coast. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 213, 133-149.
- Floeter, S.R., Halpern, B.S., Ferreira, C.E.L., 2006. Effects of fishing and protection on Brazilian reef fishes. *Biological Conservation* 128, 391-402.
- Grall, J., Le, F., Guyonnet, B., Riera, P., 2006. Community structure and food web based on stable isotopes (  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  ) analysis of a North Eastern Atlantic maerl bed. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 338, 1-15.
- Guimaraes, S.M.P.B., 2003. Uma análise da diversidade da flora marinha bentônica do estado do Espírito Santo, Brasil. *Hoehnea* 30, 11-19.
- Haddad, N.M., Crutsinger, G.M., Gross, K., Haarstad, J., Knops, J.M.H., Tilman, D., 2009. Plant species loss decreases arthropod diversity and shifts trophic structure. *Ecology Letters* 12, 1029–1039.
- Hallock, P., Schlager, W., 1986. Nutrient excess and the demise of coral reefs and carbonate platforms. *Palaios* 1, 389–398.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K. A, Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T., Selig, E.R., Spalding, M., Steneck, R., Watson, R., 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science* 319, 948-52.
- Halpern, B.S., Longo, C., Hardy, D., McLeod, K.L., Samhouri, J.F., Katona, S.K., Kleisner, K., Lester, S.E., O'Leary, J., Ranelletti, M., Rosenberg, A. A, Scarborough, C., Selig, E.R., Best, B.D., Brumbaugh, D.R., Chapin, F.S., Crowder, L.B., Daly, K.L., Doney, S.C., Elfes, C., Fogarty, M.J., Gaines, S.D., Jacobsen, K.I., Karrer, L.B., Leslie, H.M., Neeley, E., Pauly, D., Polasky, S., Ris, B., St Martin, K., Stone, G.S., Sumaila, U.R.,

- Zeller, D., 2012. An index to assess the health and benefits of the global ocean. *Nature* 488, 615-20.
- Harley, C.D.G., Anderson, K.M., Demes, K.W., Jorve, J.P., Kordas, R.L., Coyle, T. A., Graham, M.H., 2012. Effects of Climate Change on Global Seaweed Communities. *Journal of Phycology* 48, 1064-1078.
- Hoffman, E.J., Mills, G.L., Latimer, J.S., Quin, J.G. 1984. Urban runoff as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons to coastal waters. *Environmental Science & Technology* 18, 580–587.
- Horta, P.A., Amancio, E., Coimbra, C.S., Oliveira, E.C., 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* 28, 243-265.
- IBGE – Brazilian Institute of Geography and Statistics, 2010. Censo demográfico de 2010.
- Johnston, E.L., Roberts, D. A, 2009. Contaminants reduce the richness and evenness of marine communities: a review and meta-analysis. *Environmental Pollution* 157, 1745-52.
- Johnson, V. R., Russell, B. D., Fabricius, K. E., Brownlee, C., Hall-Spencer, J., 2012. Temperate and tropical brown macroalgae thrive, despite decalcification, along natural CO<sub>2</sub> gradients. *Global Change Biology* 18, 2792–2803.
- Kevekordes, K., 2001. Toxicity tests using developmental stages of *Hormosira banksii* (Phaeophyta ) identify ammonium as a damaging component of secondary treated sewage effluent discharged into Bass Strait . *Marine Ecology Progress Series* 219, 139-148.
- Koch, M., Bowes, G., Ross, C., Zhang, X.-H., 2013. Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biology* 19, 103-132.
- Kohler, K.E., Gill, S.M., 2006. Coral Point Count with Excel extensions ( CPCe ): A Visual Basic program for the determination of coral and substrate coverage using random point count methodology. *Computers & Geosciences* 32, 1259-1269.
- Lewis, S.E., Brodie, J.E., Bainbridge, Z.T., Rohde, K.W., Davis, A.M., Masters, B.L., Maughan, M., Devlin, M.J., Mueller, J.F., Schaffelke, B., 2009. Herbicides: A new threat to the Great Barrier Reef. *Environmental Pollution* 157, 2470-2484.
- Littler, M. M., Littler, D. S., 1988. Structure and role of algae in tropical reef communities, in: Lembi, C.A., Waaland, J.R. [Eds.], *Algae and Human Affairs*. Vol. 28. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 29–56.
- Liu, D., Keesing, J.K., Xing, Q., Shi, P., 2009. World’s largest macroalgal bloom caused by expansion of seaweed aquaculture in China. *Marine Pollution Bulletin* 58, 888-895.

- Liu, D., Bai, J., Song, S., Zhang, J., Sun, P., Li, Y., Han, G., 2007. The Impact of Sewage Discharge on the Macroalgae Community in the Yellow Sea Coastal Area Around Qingdao, China. *Water Air and Soil Pollution: Focus* 7, 683-692.
- Lotze, H.K., Lenihan, H.S., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R.G., Kay, M.C., Kidwell, S.M., Kirby, M.X., Peterson, C.H., Jackson, J.B.C., Bay, M., 2006. Depletion, Degradation, and Recovery Potential of Estuaries and Coastal Seas. *Science* 312, 1806-1809.
- Manso, V.A.V., Correa, I.C.S., Guerra, N.C., 2003. Morfologia e Sedimentologia da Plataforma Continental Interna entre as Praias Porto de Galinhas e Campos – Litoral Sul de Pernambuco, Brasil. *Revista Pesquisas em Geociencias* 30, 17-25.
- Marsalek, J., Rochfort, Q., Brownlee, B., Mayer, T., Servos, M., 1999. An Exploratory Study of Urban Runoff Toxicity. *Water Science and Technology* 39, 33-39.
- Martin, S., Rodolfo-Metalpa, R., Ransome, E., Rowley, S., Buia, M.-C., Gattuso, J.-P., Hall-Spencer, J., 2008. Effects of naturally acidified seawater on seagrass calcareous epibionts. *Biology Letters* 4, 689-92.
- Martins, C.D.L., Arantes, N., Faveri, C., Batista, M.B., Oliveira, E.C., Pagliosa, P.R., Fonseca, A.L., Nunes, J.M.C., Chow, F., Pereira, S.B., Horta, P. A., 2012. The impact of coastal urbanization on the structure of phyto-benthic communities in southern Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 64, 772-8.
- McClanahan, T.R., Sala, E., Stickels, P.A., Cokos, B.A., Baker, A.C., Starger, C.J., Jones IV, S.H., 2003. Interaction between nutrients and herbivory in controlling algal communities and coral condition on Glover's Reef, Belize. *Marine Ecology Progress Series* 261, 135-147.
- Oliveira, E.C., Qi, Y., 2003. Decadal Changes in a Polluted Bay As Seen from Its Seaweed Flora: The Case of Santos Bay in Brazil. *Ambio* 32, 403-405.
- Pagliosa, P.R., Barbosa, F.A.R., 2006. Assessing the environment–benthic fauna coupling in protected and urban areas of southern Brazil. *Biological Conservation* 129, 408–417.
- Quantum GIS Development Team, 2012. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- Roberts, D.A., Birchenough, S.N.R., Lewis, C., Sanders, M.B., Bolam, T., Sheahan, D., 2013. Ocean acidification increases the toxicity of contaminated sediments. *Global Change Biology* 19, 340-351.
- Scherner, F., Barufi, J.B., Horta, P.A., 2012. Photosynthetic response of two seaweed species along an urban pollution gradient: Evidence of selection of pollution-tolerant species. *Marine Pollution Bulletin* 64, 2380-2390.



- Schermer, F., Ventura, R., Barufi, J.B., Horta, P.A., 2012. Salinity critical threshold values for photosynthesis of two cosmopolitan seaweed species: providing baselines for potential shifts on seaweed assemblages. *Marine Environmental Research* 1-12.
- Sinutok, S., Hill, R., Doblin, M. a., Kühl, M., Ralph, P.J., 2012. Microenvironmental changes support evidence of photosynthesis and calcification inhibition in *Halimeda* under ocean acidification and warming. *Coral Reefs* 31, 1201-1213.
- SMA, 1996. Atlas das unidades de conservação ambiental do estado de São Paulo. Parte I. Litoral. Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo.
- Steneck, R.S., Dethier, M.N., 1994. A functional group approach to the structure of algal-dominated communities. *Oikos* 69, 476-498.
- Sushinsky, J.R., Rhodes, J.R., Possingham, H.P., Gill, T.K., Fuller, R.A., 2013. How should we grow cities to minimize their biodiversity impacts? *Global Change Biology* 19, 401–410, doi: 10.1111/gcb.12055.
- Terlizzi, A., Frascchetti, S., Guidetti, P., Boero, F., 2002. The effects of sewage discharge on shallow hard substrate sessile assemblages. *Marine Pollution Bulletin* 44, 544-550.
- Teichberg, M., Fox, S.E., Olsen, Y.S., Valiela, I., Martinetto, P., Iribarne, O., Muto, E.Y., Petti, M.A.V., Corbisier, T.N., Soto-Jiménez, M., Pães-Osuna, F., Castro, P., Freitas, H., Zitelli, A., Cardinaletti, M., Tagliapietra, D., 2010. Eutrophication and macroalgal blooms in temperate and tropical coastal waters: nutrient enrichment experiments with *Ulva* spp. *Global Change Biology* 16, 2624-2637.
- Tewari, A., Joshi, H.V., 1988. Effect of domestic sewage and industrial effluents on biomass and species diversity of seaweeds. *Botanica Marina* 31, 389–397.
- Torres, M.A., Barros, M.P., Campos, S.C.G., Pinto, E., Rajamani, S., Sayre, R.T., Colepicolo, P., 2008. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71, 1–15.
- Turra A, Cróquer A, Carranza A, Mansilla, A., Areces, A., Werlinger, C., Martínez-Bayón, C., Nassar, C., Plastino, E., Schwindt, E., Scarabino, F., Chow, F., Figueroa, F.L., Berchez, F., Hall-Spencer, J., Soto, L.A., Buckeridge, M.S., Copertino, M., Széchy, M.T., Ghilardi-Lopes, N., Horta, P., Coutinho, R., Frascchetti, S., Leão, Z. 2013. Global environmental changes: setting priorities for Latin American coastal habitats. *Global Change Biology* DOI: 10.1111/gcb.12186.
- Tyberghein, L., Verbruggen, H., Pauly, K., Troupin, C., Mineur, F., De Clerck, O., 2012. Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling. *Global Ecology and Biogeography* 21, 272–281.

- Underwood, A.J., Chapman, M.G., 2003. Power, precaution, Type II error and sampling design in assessment of environmental impacts. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 296, 49 - 70.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human Domination of Earth ' s Ecosystems. *Science* 277, 494-499.
- Wang, X., Zhao, H., 2007. Uptake and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Seaweed. *Journal of Coastal Research* 1056-1061.
- Worm, B., Barbier, E.B., Beaumont, N., Duffy, J.E., Folke, C., Halpern, B.S., Jackson, J.B.C., Lotze, H.K., Micheli, F., Palumbi, S.R., Sala, E., Selkoe, K.A., Stachowicz, J.J., Watson, R., 2006. Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science* 314, 787–790.
- Wynne, M.J., 2011. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western atlantic: third revision. *Nova Hedwigia* 140, 1-166.
- Yuan, F., Bauer, M.E., 2007. Comparison of impervious surface area and normalized difference vegetation index as indicators of surface urban heat island effects in Landsat imagery. *Remote Sensing of Environment* 106, 375-386.
- Zemke-White, W.L., Ohno, M., 1999. World seaweed utilisation: An end-of-century summary. *Journal of Applied Phycology* 11, 369-376.

**Tabela I.** Áreas de estudo, suas localizações, classificações e parâmetros de urbanização, determinados para um perímetro de 2 km de cada área.

Área de estudo	Coordenadas	RFs	Classificação	População	Densidade Populacional	Domicílios	NDVI
Itamaracá	(-7.7841,-34.8356)	Tropical	Urban	7021	907	7248	0.29
Pina	(-8.0899,-34.8805)	Tropical	Urban	61336	23471	22843	0.01
Piedade	(-8.1775,-34.9161)	Tropical	Urban	119817	19340	40747	0.02
Ponta de Pedras	(-7.6221,-34.8072)	Tropical	Reference	3753	3707	2996	0.31
Itapoama	(-8.2992,-34.9513)	Tropical	Reference	2373	314	3128	0.38
Muro Alto	(-8.4360,-34.9791)	Tropical	Reference	732	16	259	0.31
Praia do Leão (FN)	(-32.4406,-3.8712)	Tropical	Reference	2120	359	660	0.67
Praia do Porto (FN)	(-32.4028,-3.8349)	Tropical	Reference	2630	305	831	0.58
Caieira (FN)	(-32.3985,-3.8377)	Tropical	Reference	2630	305	831	0.58
Ilha do Boi	(-20.3092,-40.2789)	Transition zone	Urban	35241	16149	15580	0.07
Ilha do Frade	(-20.3030,-40.2808)	Transition zone	Urban	40373	18705	17847	0.04
Praia da Costa	(-20.3336,-40.2734)	Transition zone	Urban	33624	23822	14860	0.12
Castanheiras	(-20.6778,-40.5016)	Transition zone	Urban	32639	7735	20092	0.17
Coqueiral de Aracruz	(-19.9203,-40.1019)	Transition zone	Reference	1501	427	1160	0.45
Enseada das Garças	(-20.0307,-40.1586)	Transition zone	Reference	987	139	918	0.33
Castelhanos	(-20.8126,-40.6349)	Transition zone	Reference	6516	2510	3326	0.32
Bacutia	(-20.7352,-40.5318)	Transition zone	Reference	3550	924	4236	0.27
Parati	(-20.8029,-40.5986)	Transition zone	Reference	2974	405	1646	0.29
Pereque Açú	(-23.4257,-45.0645)	Warm temperate	Urban	16561	1477	11548	0.23
Ilha Porchat	(-23.9754,-46.3719)	Warm temperate	Urban	55533	34324	36043	0.11
Prainha	(-23.9784,-46.3858)	Warm temperate	Urban	62502	30922	35473	0.09
Praia do Costa	(-23.5158,-45.1665)	Warm temperate	Reference	1143	16	1529	0.60
Juréia	(-23.7649,-45.7860)	Warm temperate	Reference	1413	273	1891	0.51
Praia Branca	(-23.8660,-46.1357)	Warm temperate	Reference	1102	61	999	0.55
Praia Preta	(-23.8748,-46.1394)	Warm temperate	Reference	1102	61	999	0.56

FN = Arquipélago de Fernando de Noronha.

**Tabela II.** Relação das espécies que mais contribuíram para as diferenças entre as áreas urbanas e referência (calculado usando semelhanças de percentagens (SIMPER)).

	Abundância média		Dissimilaridade média	Dissimilaridade (SD)	Contribuição (%)	Contribuição cumulativa (%)
	Referência	Urbano				
<i>Ulva</i> spp.	4.8	21.2	10.5	0.9	11.5	11.5
<i>Palisada perforata</i>	15.6	1.9	7.9	0.7	8.7	20.2
<i>Ceratodictyon planicaule</i>	0.1	10.5	5.3	0.4	5.8	25.9
<i>Hypnea musciformis</i>	7.5	4.2	4.7	0.7	5.1	31.0
<i>Chondracanthus acicularis</i>	0.0	8.6	4.3	0.6	4.7	35.7
<i>Colpomenia sinuosa</i>	1.6	5.3	2.9	0.7	3.2	38.9
<i>Gelidiella acerosa</i>	5.2	0.7	2.7	0.6	2.98	41.9

**Legendas das figuras:**

Fig. 1. Áreas amostradas ao longo de um gradiente latitudinal no sudoeste do Atlântico (▼ = áreas urbanas; ▲ = áreas referência).

Fig. 2. Valores médios ( $\pm$  EP) de índices ecológicos obtidos em todas as áreas urbanas e referência amostradas ao longo do sudoeste do Atlântico e do Arquipélago de Fernando de Noronha no período de 2011 a 2012. Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com ANOVA aninhada ( $n = 10$  áreas urbanas, 15 áreas referência).

Fig. 3. Correlações entre os índices ecológicos e os diferentes aspectos da urbanização avaliados ( $n = 75$ ).

Fig. 4. Médias de cobertura percentual ( $\pm$  EP) de Rhodophyta, Chlorophyta e Phaeophyceae nas diferentes regiões ficogeográficas (▲ = áreas urbanas;  $n = 3$ , tropical; 4, zona de transição; 3, temperada quente; ● = áreas referência;  $n = 3$ , ilha oceânica, 3 continente (tropical); 5, zona de transição; 4, temperada quente).

Fig. 5. Gráficos multidimensionais de escala não métrica (NMDS) das comunidades de algas de áreas urbanas e áreas referência nas diferentes regiões ficogeográficas do litoral brasileiro. (a) Dados de cobertura percentual, (b) Dados qualitativos.

**Dados suplementares:**

Tabela A1. Valores médios ( $\pm$  EP) de índices ecológicos obtidos de amostragens em áreas urbanas e referência nas diferentes regiões ficogeográficas nos verões de 2011 e 2012 no litoral brasileiro.

	<b>RFs</b>	<b>Classificação</b>	<b>Margalef</b>		<b>Equitatividade de Pielou</b>			<b>Shannon-Wiener</b>	
<b>Praia do Leão</b>	Tropical (FN)	Referência	3.47	$\pm$ 0	0.58	$\pm$ 0.05	1.65	$\pm$ 0.14	
<b>Porto</b>	Tropical (FN)	Referência	3.19	$\pm$ 0.32	0.73	$\pm$ 0.05	2	$\pm$ 0.07	
<b>Caieiras</b>	Tropical (FN)	Referência	3.76	$\pm$ 0.62	0.57	$\pm$ 0.06	1.67	$\pm$ 0.27	
<b>Itamaracá</b>	Tropical	Urbana	1.95	$\pm$ 0.13	0.44	$\pm$ 0.03	1.01	$\pm$ 0.05	
<b>Pina</b>	Tropical	Urbana	2.75	$\pm$ 0.14	0.7	$\pm$ 0.04	1.82	$\pm$ 0.08	
<b>Piedade</b>	Tropical	Urbana	2.53	$\pm$ 0.36	0.65	$\pm$ 0.04	1.63	$\pm$ 0.10	
<b>Ponta de Pedras</b>	Tropical	Referência	5.14	$\pm$ 0.32	0.7	$\pm$ 0.03	2.25	$\pm$ 0.13	
<b>Itapoama</b>	Tropical	Referência	3.69	$\pm$ 0.25	0.62	$\pm$ 0.02	1.78	$\pm$ 0.02	
<b>Muro Alto</b>	Tropical	Referência	2.1	$\pm$ 0.19	0.46	$\pm$ 0.10	1.11	$\pm$ 0.29	
<b>Ilha do Boi</b>	Zona de transição	Urbana	3.98	$\pm$ 0.44	0.63	$\pm$ 0.03	1.85	$\pm$ 0.12	
<b>Ilha do Frade</b>	Zona de transição	Urbana	2.61	$\pm$ 0.22	0.7	$\pm$ 0.05	1.79	$\pm$ 0.12	
<b>Praia da Costa</b>	Zona de transição	Urbana	3.69	$\pm$ 0.33	0.69	$\pm$ 0.06	1.97	$\pm$ 0.14	
<b>Castanheiras</b>	Zona de transição	Urbana	4.92	$\pm$ 0.64	0.76	$\pm$ 0.06	2.42	$\pm$ 0.26	
<b>Coqueiral</b>	Zona de transição	Referência	5.43	$\pm$ 0.57	0.74	$\pm$ 0.02	2.41	$\pm$ 0.02	
<b>Enseada</b>	Zona de transição	Referência	4.56	$\pm$ 0.55	0.67	$\pm$ 0.02	2.07	$\pm$ 0.16	
<b>Castelhanos</b>	Zona de transição	Referência	4.13	$\pm$ 0.38	0.67	$\pm$ 0.03	2.02	$\pm$ 0.13	
<b>Bacutia</b>	Zona de transição	Referência	4.34	$\pm$ 0.13	0.74	$\pm$ 0.06	2.25	$\pm$ 0.15	
<b>Parati</b>	Zona de transição	Referência	5.36	$\pm$ 0.32	0.79	$\pm$ 0.01	2.57	$\pm$ 0.04	
<b>Pereque Açú</b>	Temperada quente	Urbana	3.91	$\pm$ 0	0.69	$\pm$ 0.01	2.03	$\pm$ 0.02	
<b>Ilha Porchat</b>	Temperada quente	Urbana	2.17	$\pm$ 0	0.57	$\pm$ 0.13	1.36	$\pm$ 0.30	
<b>Prainha</b>	Temperada quente	Urbana	1.95	$\pm$ 0.58	0.61	$\pm$ 0.10	1.42	$\pm$ 0.42	
<b>Praia do Costa</b>	Temperada quente	Referência	5.5	$\pm$ 0.38	0.71	$\pm$ 0.01	2.33	$\pm$ 0.06	
<b>Juréia</b>	Temperada quente	Referência	3.62	$\pm$ 0.51	0.68	$\pm$ 0.03	1.94	$\pm$ 0.17	
<b>Praia Branca</b>	Temperada quente	Referência	4.13	$\pm$ 0.33	0.76	$\pm$ 0.01	2.28	$\pm$ 0.07	
<b>Praia Preta</b>	Temperada quente	Referência	4.42	$\pm$ 0.40	0.78	$\pm$ 0.07	2.39	$\pm$ 0.25	

FN = Arquipélago de Fernando de Noronha.

Fig. 1

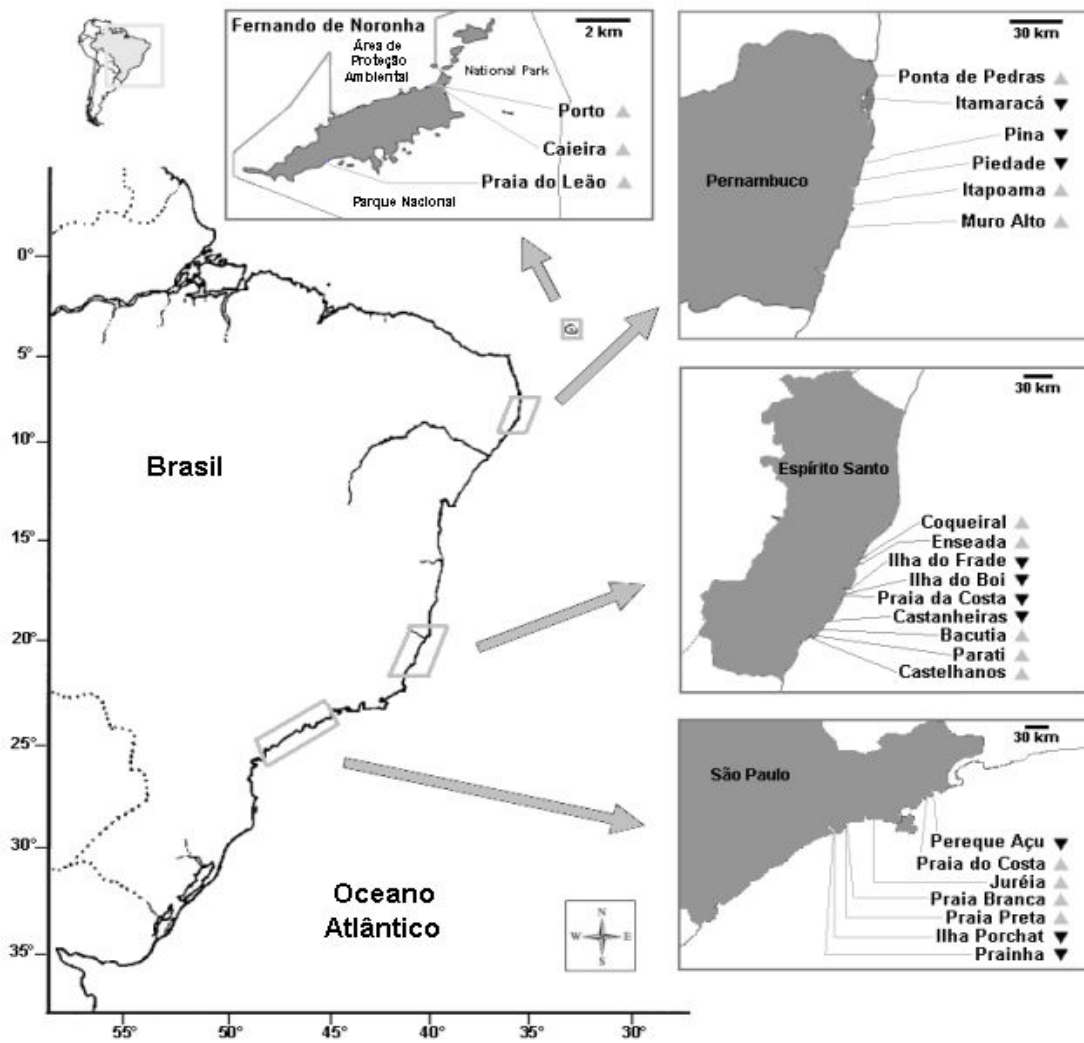


Fig. 2

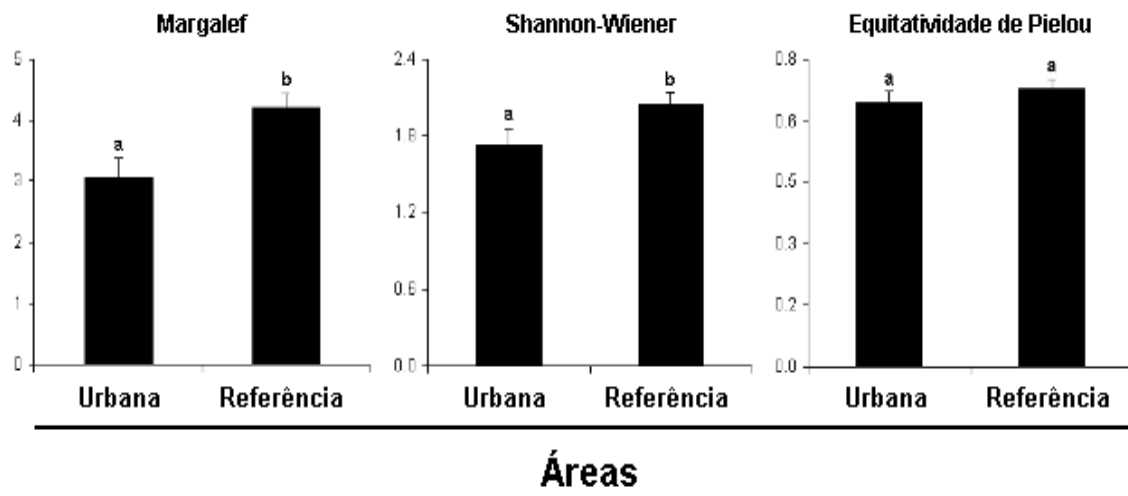




Fig. 3

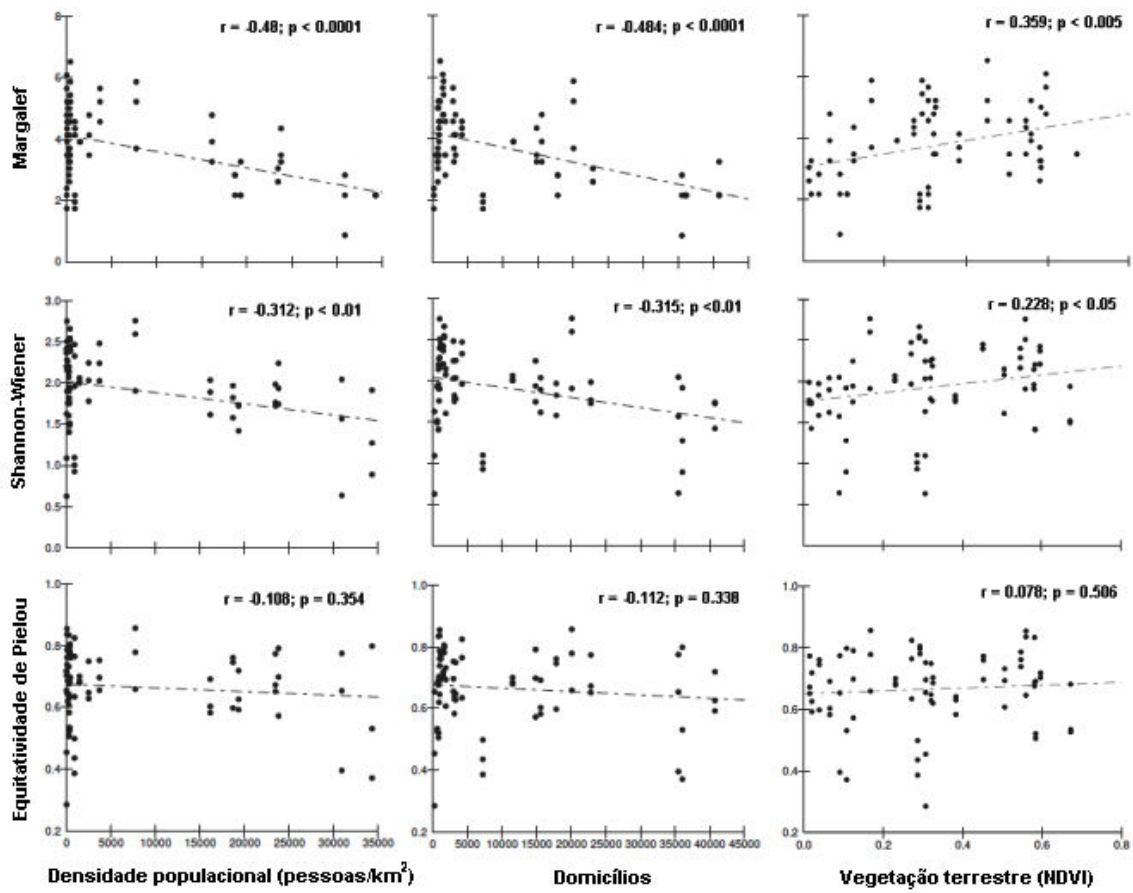


Fig. 4

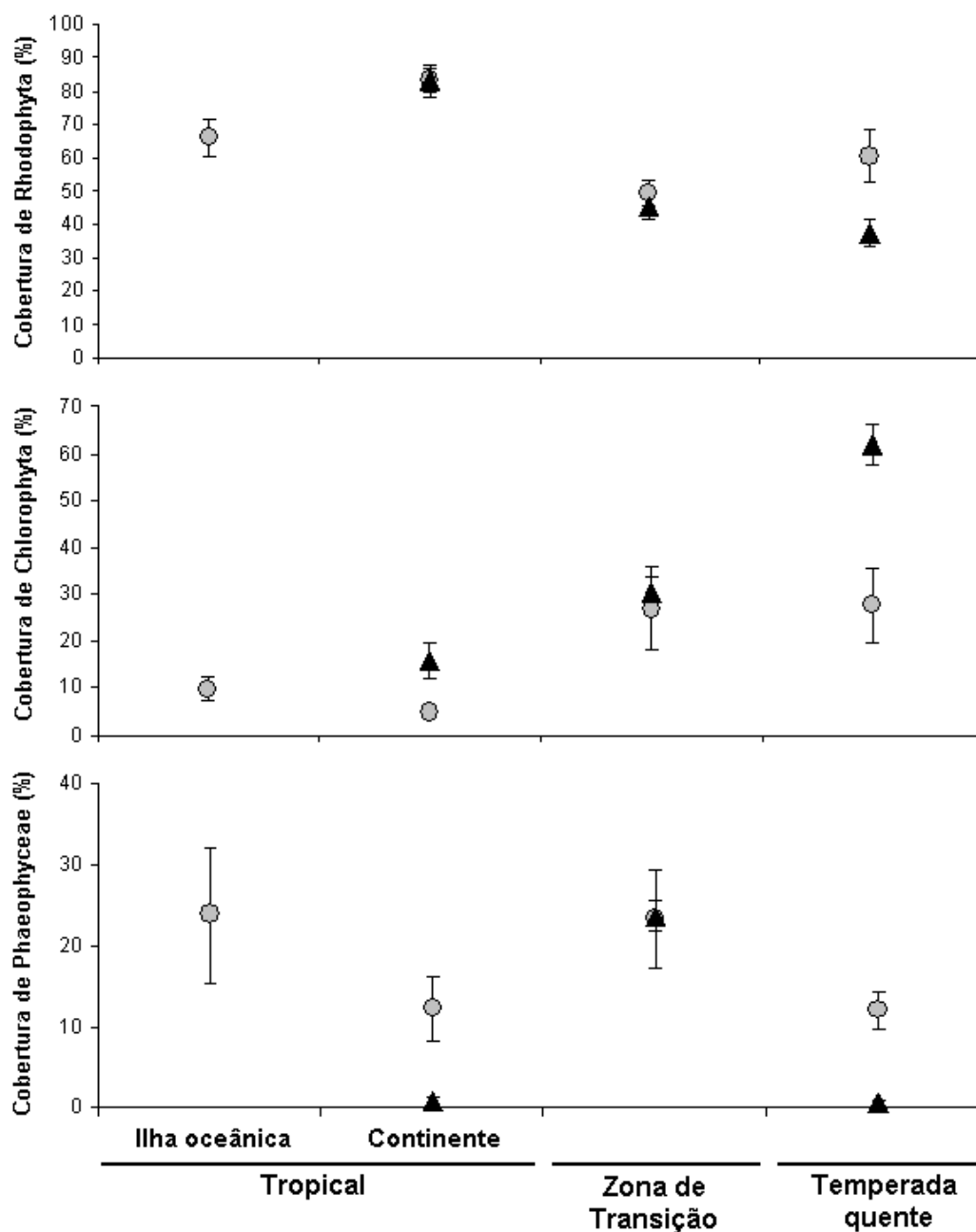
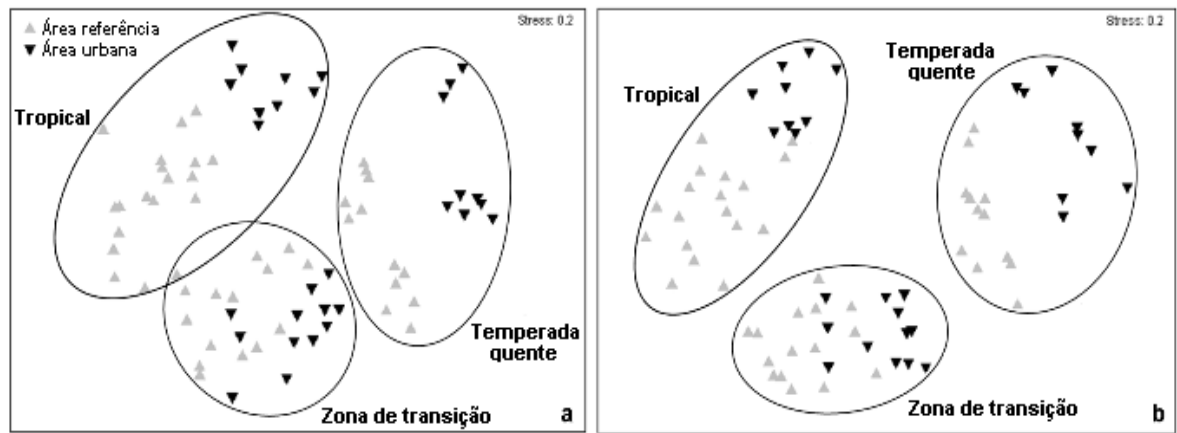


Fig. 5



## **5. Artigo 2: Alterações fisiológicas da alga pantropical *Halimeda cuneata* K. Hering (Bryopsidales) pela poluição com metais pesados no Atlântico sul**

Fernando Scherner <sup>1\*</sup>, Eduardo Bastos <sup>2</sup>, Ticiane Rover <sup>3</sup>, Paulo Antunes Horta <sup>2</sup>, Eliana de Medeiros Oliveira <sup>4</sup>, Rafael Almeida <sup>2</sup>, Zenilda Laurita Bouzon <sup>3,4</sup>, Sonia Maria Barreto Pereira <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica, Trindade, 88010-970 Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Trindade, 88049-900 Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Laboratório Central de Microscopia Eletrônica, Trindade, 88049-900 Florianópolis, SC, Brasil.

\* Autor para correspondência: E-mail: fscherner@yahoo.com; Phone: +55 81 33206361; Fax: +55 81 33206360

## Resumo

Algas que vivem em temperaturas que ocorrem em seus limites de distribuição estão naturalmente expostas a estressores fisiológicos, sofrendo estresse adicional quando expostas à poluição costeira. Nesse contexto, as respostas fisiológicas de algas às condições ambientais que combinam estressores naturais e antropogênicos fornecem informações importantes sobre a sua vulnerabilidade. Foram avaliados os efeitos fisiológicos e potencial de recuperação após exposição em água enriquecida com metais pesados em concentrações observadas em regiões poluídas, dentro das faixas de temperatura de distribuição de *Halimeda cuneata*, um componente importante de recifes tropicais em todo o mundo. A produção de biomassa e fotossíntese declinaram substancialmente em amostras expostas a metais, embora a fotossíntese tenha recuperado parcialmente na temperatura mais elevada. A produção de biomassa foi positivamente correlacionada com o rendimento quântico ótimo dentro de todas as temperaturas. A percentagem de carbonato apresentou correlações antagônicas com rendimento quântico ideal para as temperaturas mínimas e máximas. A poluição por metais causou grave deterioração de parâmetros fisiológicos importantes de *H. cuneata* em todas as temperaturas. A ausência de recuperação nas temperaturas mais baixas sugere maior vulnerabilidade da espécie nas temperaturas que ocorrem em seus limites de distribuição no Atlântico sul-ocidental.

**Palavras-chave:** Cloroplasto; Ultraestrutura; Metais pesados; Fotossíntese; Recuperação fisiológica; Limites de distribuição.

## Introdução

Padrões de distribuição de espécies marinhas são determinados principalmente por fatores ambientais (Clarke, 2003), entre os quais a temperatura é um fator chave na definição de limites de distribuição latitudinal (Lima et al., 2007). Organismos que vivem em seus limites de temperatura podem ter limitações fisiológicas que levam à limitações de crescimento e reprodução, e eventualmente, à morte (Breeman, 1988; Somero, 2002). Neste contexto, os estressores antropogênicos como a poluição ambiental (Torres et al., 2008), atuam como uma fonte adicional de estresse ao organismo. Os efeitos sinérgicos das variáveis ambientais naturais com estressores antropogênicos podem determinar o resultado da vida de um organismo, de acordo com as respostas fisiológicas das espécies para a nova combinação de condições ambientais formada. Em última análise, a tolerância ou a sensibilidade de uma

espécie de alga a fatores ambientais pode levar a um aumento da abundância ou ao desaparecimento de espécies de determinadas áreas ou regiões (Scherner et al., 2012<sup>a</sup>).

O gênero de alga pantropical *Halimeda* J.V.F. Lamour. É um componente comum de águas tropicais e subtropicais, que responde por até 90% da formação da areia de praias tropicais e rocha carbonática de recifes tropicais (Verbruggen et al., 2005). Estas algas desempenham papéis ecológicos importantes, com uma produtividade primária considerável, fornecendo alimento e habitat para a fauna e epiflora (Verbruggen et al., 2009). O gênero é caracterizado por talos achatados, de cor verde, segmentados e calcificados (Hillis-Colinvaux, 1980). Segmentos consistem de uma rede de sífões com porções expandidas, os utrículos (Bandeira-Pedrosa et al., 2003). *H. cuneata* Hering se estende de 05° 09' e 21° 18'S ao longo da costa brasileira, desde a zona entre marés até mais de 20 m de profundidade (Bandeira-Pedrosa et al., 2004).

A poluição por metais pesados gera grande preocupação ambiental em todo o mundo (Haiyan e Stuanes, 2003). Os metais estão geralmente presentes em baixas concentrações nos oceanos (Ash e Stone, 2003), mas podem ocorrer em concentrações muito mais elevadas nas águas costeiras devido às atividades antropogênicas (Morillo et al., 2004; Meng et al., 2008). Os efeitos de metais sobre a fisiologia das algas têm sido amplamente estudados (ex. Collen et al., 2003; Baumann et al., 2009; Bouzon et al., 2011) embora a maioria dos estudos concentram-se na avaliação dos efeitos causados por metais isolados, e não por uma combinação de metais. No entanto, é importante se avaliar os efeitos combinados de metais pesados em concentrações ambientais relevantes, representando um retrado da realidade de áreas costeiras contaminadas (ex. Meng et al., 2008).

Este trabalho está baseado na hipótese de que *H. cuneata* é mais sensível à contaminação por metais em temperaturas que ocorrem no seu limite de distribuição. Para testar esta hipótese, este estudo foi concebido para avaliar as respostas fisiológicas e recuperação de *H. cuneata* a uma combinação de metais pesados em concentrações normalmente observadas em regiões poluídas ou a diferentes temperaturas representativas do gradiente latitudinal de ocorrência natural desta espécie.

## Material e métodos

### *Desenho e procedimentos experimentais*

Amostras de *Halimeda cuneata* foram coletadas em um recife de franja em Arraial D'ajuda, uma aldeia no município de Porto Seguro, Bahia (-16,49, -39,06). Em laboratório, as algas foram aclimatadas em baixa irradiância (40 mmol fôtons.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>), por sete dias antes de iniciar os procedimentos experimentais. Segmentos de *H. cuneata* foram incubadas em

Erlenmeyers de 500 mL (total de 5 g de peso fresco por frasco) em três câmaras com temperatura controlada ( $28^{\circ}\text{C} \pm 1$ ,  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$  e  $18^{\circ}\text{C} \pm 1$ ). Estas temperaturas replicam os valores médios obtidos na superfície da água na região em que foram coletadas as algas, a temperatura média ocorrendo no limite de distribuição da espécie na costa brasileira no estado do Espírito Santo, e as temperaturas que têm sido observadas como resultado de anomalias climáticas nesse mesmo Estado, respectivamente.

Um desenho bi-factorial foi ajustado para avaliar os efeitos combinados de temperatura e de enriquecimento de metal sobre a fisiologia de *H. cuneata*, bem como sua capacidade de recuperação. Os tratamentos foram preparados usando água do mar não poluída coletada da instalação de aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, na Barra da Lagoa, Florianópolis, SC. As bombas de ar foram instaladas e distribuídas uniformemente entre as réplicas experimentais de forma a melhorar a circulação e evitar estagnação. A irradiância foi mantida constante e igual nas três câmaras ( $80 \pm 2$  mol fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e o fotoperíodo foi ajustado em 12:12 h (claro:escuro), durante o curso do experimento. Durante os períodos de iluminação os frascos tiveram sua posição alterada periodicamente para assegurar a homogeneidade da luz incidente entre as réplicas. Cinco Erlenmeyers foram utilizados como réplicas para cada tratamento.

Para avaliar os efeitos do enriquecimento de metal sobre a fisiologia de algas, amostras de *H. cuneata* foram expostas à água do mar enriquecida com Cu, Zn e Hg a concentrações normalmente encontradas em baías urbanas poluídas (4.1, 55 e  $0.09 \text{ gL}^{-1}$ ) respectivamente (Meng et al., 2008). As algas foram aclimatadas somente com água do mar por três dias nas três temperaturas aplicadas antes da substituição inicial por água enriquecida com metal. A partir daí, para avaliar os efeitos dos pulsos de metal, a água foi substituída a cada três dias por novos lotes de água enriquecida com metal. Para avaliar a recuperação de *H. cuneata*, após a exposição inicial aos tratamentos com água enriquecida com metal durante três dias, as substituições subsequentes foram feitas apenas com água do mar. As amostras controle tiveram a água substituída nos mesmos períodos apenas com água do mar. As amostras de *H. cuneata* tiveram o peso fresco aferido antes e após o experimento para avaliação do rendimento de biomassa.

#### *Análise de fluorescência da clorofila a*

Um fluorímetro de pulso com amplitude modulada (Diving-PAM; Walz, Effeltrich, Alemanha) foi utilizado para avaliar o desempenho fotossintético de *H. cuneata* por medição da fluorescência da clorofila *a*. As medições foram aplicadas duas vezes durante o

experimento, após 72 h da primeira troca de água, e novamente após 72 h, a partir da segunda troca.

As configurações ideais do equipamento foram definidas de acordo com uma avaliação prévia para a espécie (Gain = 2 e Intensidade da luz de medida = 8 unidades do PAM). As medições foram aplicadas usando um adaptador em forma de anel ajustados para manter uma distância constante de 0.5 cm entre a alga e o sensor de fibra óptica. Antes da medição as amostras foram aclimatadas no escuro durante 30 minutos, de forma a permitir a obtenção do máximo rendimento quântico da amostra. A quantidade de fluorescência basal da amostra ( $F_0$ ) foi obtida antes do primeiro pulso saturante (intensidade = 8 unidades do PAM, durante 0,8 s), o que proporcionou a emissão de fluorescência máxima pelas algas. Isso permitiu o cálculo do rendimento quântico ótimo ( $F_v/F_m$ ) (obtida como  $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ ). Para minimizar os efeitos indesejáveis das heterogeneidades dos talos, duas medições de fluorescência foram aplicadas em diferentes segmentos de cada repetição. Esse procedimento evitou a subestimação do rendimento quântico máximo devido à recuperação dos fotossistemas por repetidos pulsos de luz saturantes (Schermer et al., 2012b). A partir dos dois valores de  $F_v/F_m$  obtidos para cada réplica, foi calculada a média para a análise estatística, a fim de evitar pseudoreplicação.

#### *Quantificação de clorofila a*

Cinco réplicas amostrais de *H. cuneata* ( $1 \pm 0,05$  g de peso fresco) foram utilizadas para a quantificação de clorofila. As amostras foram trituradas e os pigmentos foram extraídos usando 12 ml de acetona 90% em baixa temperatura. As soluções foram, em seguida, transferidas para tubos falcon e centrifugadas a 1000 rpm durante 10 min para decantação do sobrenadante. As concentrações de pigmentos foram calculadas pelos espectros de absorção em comprimentos de onda (650 e 750 nm) com espectrofotometria. Os cálculos seguiram Ritchie, R. J. (2006).

#### *Carbonato de cálcio*

As amostras de *H. cuneata* foram secadas a 60°C durante 48h e pesadas utilizando uma balança de precisão. O percentual de carbonato ( $\text{CaCO}_3$ ) foi obtido pela diferença de peso seco após adição de HCl 1N.

#### *Estatística*

Os dados foram verificados quanto à normalidade e homogeneidade das variâncias. Uma vez que os pressupostos foram obtidos, a Análise Aninhada Hierárquica de Variância



(ANOVA) foi realizada para os dados de biomassa, clorofila *a*, e dados percentuais de carbonato (tratamentos com metais aninhado dentro de temperatura) e medidas repetidas de ANOVA para dados ótimos de rendimento quântico, com temperatura e tratamento com metal como fatores. Quando foram observadas diferenças significativas, o teste de Student Newman-Keuls foi aplicado para a análise post-hoc. O software Statistica 7,0 (StatSoft, Inc., 2004) foi utilizado para todos os procedimentos estatísticos.

## Resultados

### *Biomassa*

Diferenças significativas na produção de biomassa entre os tratamentos com metal foram observadas de acordo com ANOVA ( $F = 20,1$ ,  $p < 0,0001$ ). O teste de Newman-Keuls indica que os valores médios de rendimento de biomassa mais baixas foram observadas para as amostras expostas a metais, tanto nos tratamentos de recuperação quanto para tratamentos de enriquecimento por pulsos, enquanto que não foram observadas diferenças entre estes dois tratamentos (fig. 1). Por outro lado, diferentes temperaturas não exerceram diferenças significativas sobre a produção de biomassa.

### *Desempenho fotossintético*

Algas cultivadas sob diferentes temperaturas e tratamentos apresentaram diferentes respostas fotossintéticas. De acordo com os resultados globais de RM-ANOVA os efeitos da temperatura e dos tratamentos com metais foram significativos ( $F = 13,07$ ,  $p < 0,0001$ ) e ( $F = 402,41$ ,  $p < 0,0001$ ), respectivamente. Foi observada interação significativa entre esses fatores ( $F = 3,17$ ,  $p < 0,05$ ). De acordo com o teste de Newman-Keuls, temperaturas mais baixas e tratamentos com metal resultaram em decréscimos significativos no rendimento quântico ótimo de *H. cuneata* (Fig. 2). Efeitos significativos de temperaturas mais baixas foram detectados apenas depois de 216 horas quando as amostras expostas às temperaturas mais baixas (22 a 18°C) tiveram menor rendimento quântico ótimo do que aqueles mantidos a 28°C. A recuperação foi observada apenas a temperatura de 28°C, quando as amostras selecionadas para recuperar apresentaram um aumento significativo no rendimento quântico ótimo em comparação com a medição anterior, 72 horas após o primeiro pulso de enriquecimento com metais (Fig. 2). Todas as amostras que foram expostas a pulsos de enriquecimento com metal apresentaram declínios significativos no rendimento quântico ótimo independente da temperatura. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos de pulso nem em relação ao tempo de exposição, nem a diferentes temperaturas (Fig. 2).

### *Alterações de clorofila a*

Diferenças significativas entre diferentes temperaturas ( $F = 6,17$ ,  $p < 0,005$ ) e tratamentos com metal ( $F = 4,66$ ,  $p < 0,005$ ) foram observadas de acordo com ANOVA. O teste de Newman-Keuls, indica que as amostras cultivadas em água do mar a  $22^{\circ}\text{C}$  apresentaram uma concentração média significativamente maior de clorofila *a*, comparando com as amostras de outras temperaturas e tratamentos. Não foram observadas diferenças significativas entre os outros tratamentos a  $28$  e  $18^{\circ}\text{C}$  (Fig. 3).

### *Carbonato*

A percentagem de carbonato nas algas apresentou diferenças significativas tanto para a temperatura ( $F = 5,08$ ,  $p < 0,01$ ) quanto para o tratamento com metais ( $F = 2,4$ ,  $p < 0,05$ ). O teste de Newman-Keuls não apresentou diferenças significativas para os tratamentos com metal nas diferentes temperaturas. No entanto, amostras expostas ao tratamento com metais a  $28^{\circ}\text{C}$  apresentaram percentagens de carbonato significativamente maiores do que as expostas ao tratamento com metais e recuperação a  $22^{\circ}\text{C}$  (Tabela 1).

## **Discussão**

Os resultados deste trabalho indicam efeitos negativos substanciais do enriquecimento com metais em diferentes temperaturas sobre o desempenho fisiológico de *H. cuneata*. Os efeitos mais notáveis foram observados no rendimento de biomassa e desempenho fotossintético. O enriquecimento com metais nas temperaturas mais baixas proporcionou reduções substanciais no desempenho fotossintético, sendo o potencial de recuperação observado apenas na temperatura mais elevada. Apesar de a biomassa ter apresentado uma resposta semelhante, sua recuperação a  $28^{\circ}\text{C}$  e variações devido à temperatura não foram observadas, o que pode estar associado a uma resposta atrasada entre a recuperação do sistema fotossintético e seu consequente reflexo sobre o rendimento de biomassa. Efeitos negativos de enriquecimento com metais isolados em altas concentrações sobre o desempenho fotossintético e crescimento têm sido observado por vários estudos (ex. Barraza e Carballeira, 1999; Eklund e Kautsky, 2003; Bouzon et al., 2011). Entretanto, outro estudo observou a recuperação do rendimento quântico ótimo da alga calcárea *Phymatolithon calcareum* (Pallas) W. H. Adey e D. L. McKibbin após uma semana de exposição a um único pulso inicial de metais combinados (Zn: Pb: Ni: Cu: Cd), representando um efluente industrial (Wilson et al., 2004). No presente estudo, a recuperação pelo stress do enriquecimento com metal, a partir de um único evento de enriquecimento, foi observado apenas à temperatura mais alta, indicando um efeito sinérgico de metais com a temperatura na resposta fotossintética de *H. cuneata*. Isto

sugere que a recuperação do estresse causado pelo enriquecimento com metais é facilitada pela temperatura ótima de ocorrência desta espécie. Não foi observada a recuperação para o tratamento com pulsos periódicos de enriquecimento de metal, em todas as temperaturas, indicando que a poluição crônica tem um efeito mais grave do que os eventos individuais, quando se consideram os limites de distribuição de temperatura.

Embora alguns metais traço como cobre e zinco sejam micronutrientes essenciais para as algas, em altas concentrações eles estão geralmente associados a efeitos negativos sobre o crescimento e fotossíntese. A toxicidade dos metais pesados está geralmente associada com a formação de espécies reativas de oxigênio, causando o estresse oxidativo (Collen et al., 2003). Espécies reativas de oxigênio induzem alterações em moléculas tais como proteínas, lípidos e DNA. Para se defender contra esses efeitos, organismos fotossintéticos produzem defesas antioxidantes e, conseqüentemente, a energia que deveria ser usada para o crescimento é realocada para combater os efeitos causados pelas espécies reativas de oxigênio (Bouzon et al., 2011). Isto corrobora a nossa observação de crescimento próximo de zero em amostras expostas a metais. Declínios no desempenho fotossintético estão geralmente relacionados a mudanças na organização dos cloroplastos e aos efeitos inibitórios de metais sobre os fotossistemas I e II (Barón et al., 2006). No entanto, no presente estudo, quando o enriquecimento com metais foi interrompido para avaliação da recuperação, é possível que os mecanismos utilizados pelas algas para a desintoxicação tenham levado a uma recuperação parcial do desempenho fotossintético.

As respostas nas concentrações de clorofila *a* sobre o enriquecimento com metais variam de acordo com a identidade do metal, suas concentrações e espécies de algas (ex. Collen et al., 2003; Han et al., 2008; Baumann et al., 2009; Bouzon et al., 2011), entre outras variáveis. Neste estudo, em geral foi observada uma redução devido ao enriquecimento com metais, assim como diferenças relacionadas às diferentes temperaturas, indicando que a temperatura também desempenha um papel importante no controle de níveis de clorofila em *H. cuneata*. Declínios nas concentrações de clorofila *a* em plantas conforme aumentam as concentrações de Cu têm sido relatados (Pätsikkä et al., 2002). Isto tem sido associado à inibição da absorção de Fe. Este elemento é necessário para a biossíntese de clorofila e vem sendo demonstrado que sua deficiência provoca diminuições nas concentrações de clorofila e da atividade fotossintética (Ouzounidou et al., 1992; Fodor et al., 1995). No entanto, outros estudos verificaram um aumento nas concentrações de clorofila *a* conforme aumentam as concentrações de Cu (ex. Han et al., 2008), enquanto Xia et al., (2004) não observaram alterações nos níveis de clorofila *a* em *Gracilaria lemaneiformis* exposta a Cu, apesar da ocorrência de diminuições significativas na fotossíntese.

A calcificação em *Halimeda* é influenciada por vários fatores bióticos como fotossíntese, respiração e taxas de crescimento e abióticos como luz, pH e concentração de fosfato (Sinutok et al., 2008), estando fortemente associada à fotossíntese, devido à mudança no sistema de carbonato pela absorção de dióxido de carbono e o conseqüente aumento da alcalinidade, o que aumenta a precipitação do carbonato de cálcio (Larkum e De Beer, 2001). No entanto, no presente estudo, a relação entre produção de carbonato e fotossíntese não foi direta. As relações antagônicas entre  $F_v/F_m$  e carbonato nas diferentes temperaturas sugerem a existência de interações entre temperatura e metal, assim, a temperatura pode ter um papel importante no controle de calcificação em água do mar enriquecida com metal. Fatores relacionados com a química da água do mar devem ter um papel importante na regulação da calcificação de *H. cuneata* através de diferentes disponibilidades de fosfato, uma vez que elevadas concentrações de fosfato suprimem a produção de carbonato de cálcio (Hallock e Schlager, 1986).

Os efeitos combinados de temperaturas mais baixas e de enriquecimento com metais geraram sinais notáveis de distúrbios fisiológicos em *H. cuneata*. Nas temperaturas que ocorrem no seu limite latitudinal de distribuição no Atlântico sul-ocidental (Bandeira-Pedrosa et al., 2004), a espécie apresenta uma menor resistência fisiológica, quando comparado com a temperatura média observada em latitudes mais baixas. No entanto, a menor capacidade fisiológica de *H. cuneata* observada às temperaturas mais baixas é drasticamente agravada pelo enriquecimento com metais, revelando uma ausência no potencial de recuperação nestas condições, indicando que esta espécie é mais vulnerável à poluição do metal em seus limites meridionais de distribuição.

### Agradecimentos

F.S., E.B. e T.R. tiveram bolsa de doutorado concedida pela Coordenação Nacional de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Rorig, L. fez comentários sobre o desenho experimental e Barufi, J.B. ajudou com as extrações de clorofila *a*. Wegher, D. deu assistência durante os procedimentos experimentais. Yokoya, N. leu criticamente este manuscrito dando sugestões para sua melhoria.

### Referências

- Ash, C., Stone, R., 2003. A question of dose. *Science* 300, 925.
- Bandeira-Pedrosa, M.E., Bouzon, Z.L., Pereira, S.M.B., Oliveira E.C., 2003. Ultrastructure of some species of *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta) from Brazil. *Cryptogamie Algologie* 24, 219-231.

- Bandeira-Pedrosa, M.E., Pereira, S.M.B., Bouzon, Z.L., Oliveira, E.C., 2004. *Halimeda cuneata* (Bryopsidales, Chlorophyta), a new record for the Atlantic Ocean. *Phycologia* 43, 50-57.
- Barón, M., Arellano, J.B., Gorgé, J.L. 1995. Copper and photosystem II: A controversial relationship. *Physiologia Plantarum* 94, 174–180.
- Barraza, J.E., Carballeira, A., 1999. Chlorophyll fluorescence analysis and cadmium- copper bioaccumulation in *Ulva rigida* (C. Agardh ). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 15, 395-399.
- Baumann, H.A., Morrison, L., Stengel, D.B., 2009. Metal accumulation and toxicity measured by PAM--chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1063-1075.
- Breeman, A.M., 1988. Relative importance of temperature and other factors in determining geographical boundaries of seaweeds: experimental and phenological evidence. *Helgolaender Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, 42, 199–241.
- Bouzon, Z.L., Ferreira, E.C., Dos Santos, R., Scherner, F., Horta, P. A, Maraschin, M., Schmidt, E.C., 2011. Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in vitro. *Protoplasma* 249, 637-650.
- Clarke A., 2003 Costs and consequences of evolutionary temperature adaptation. *Trends in Ecology and Evolution*, 18, 573–581.
- Collén, J., Pinto, E., Pedersén, M., Colepicolo, P., 2003. Induction of Oxidative Stress in the Red Macroalga *Gracilaria tenuistipitata* by Pollutant Metals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 45, 337-342.
- De Beer, D., Larkum, A.W.D., 2001. Photosynthesis and calcification in the calcifying algae *Halimeda discoidea* studied with microsensors. *Plant, Cell and Environment* 24, 1209-1217.
- Eklund, B.T., Kautsky, L., 2003. Review on toxicity testing with marine macroalgae and the need for method standardization — exemplified with copper and phenol. *Marine Pollution Bulletin* 46, 171-181.
- Fodor, F., Böddi, B., Sárvári, É., Záray, G., Cseh, E., Láng, F., 1995. Correlation of iron content, spectral forms of chlorophyll and chlorophyll-proteins in iron deficient cucumber (*Cucumis sativus*). *Physiol Plant* 93, 750–756.
- Haiyan, W., Stuanes, A.O., 2003. Heavy metal pollution in Air-Water-Soil-Plant system of Zhuzhou City, Hunan province, China. *Water, Air, and Soil Pollution* 147, 79-107.

- Hallock, P., Schlager, W., 1986. Nutrient excess and the demise of coral reefs and carbonate platforms. *Palaios* 1, 389–398.
- Han, T., Kang, S.-H., Park, J.-S., Lee, H.-K., Brown, M.T., 2008. Physiological responses of *Ulva pertusa* and *U. armoricana* to copper exposure. *Aquatic Toxicology* 86, 176-84.
- Hillis-Colinvaux, L., 1980. Ecology and taxonomy of *Halimeda*: primary producer of coral reefs. *Advances in Marine Biology*, 17, 1–327.
- Lima, F.P., Ribeiro, P.A., Queiroz, N., Hawkins, S.J., Santos, A.M., 2007. Do distributional shifts of northern and southern species of algae match the warming pattern? *Global Change Biology* 13, 2592-2604.
- Meng, W., Qin, Y., Zheng, B., Zhang, L., 2008. Heavy metal pollution in Tianjin Bohai Bay, China. *Journal of environmental sciences* 20, 814-9.
- Morillo, J., Usero, J., Gracia, I., 2004. Heavy metal distribution in marine sediments from the Southwest Coast of Spain. *Chemosphere* 55, 431–442.
- Ouzounidou, G., Elefteriou, E.P., Karataglis, S., 1992. Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlapsi ochroleucum* (Cruciferae) *Canadian Journal of Botany* 70, 947–957.
- Pätsikkä, E., Kairavuo, M., Frantisek, S., Aro, E.-mari, Tyystjärvi, E., 2002. Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll. *Plant physiology* 129, 1359-1367.
- Ritchie, R.J., 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research* 89, 27–41.
- Scherner, F., Barufi, J.B., Horta, P.A., 2012b. Photosynthetic response of two seaweed species along an urban pollution gradient: Evidence of selection of pollution-tolerant species. *Marine Pollution Bulletin* 64, 2380-2390.
- Scherner, F., Ventura, R., Barufi, J.B., Horta, P.A., 2012a. Salinity critical threshold values for photosynthesis of two cosmopolitan seaweed species: providing baselines for potential shifts on seaweed assemblages. *Marine Environmental Research* 1-12.
- Sinutok, S., Pongparadon, S., Prathep, A., 2008. Seasonal variation in density, growth rate and calcium carbonate accumulation of *Halimeda macroloba* Decaisne at Tangkhen Bay. *Malaysian Journal of Science* 27, 1-8.
- Somero, G.H., 2002. Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living. *Integrative and Comparative Biology*, 42, 780–789.

- Torres, M.A., Barros, M.P., Campos, S.C.G., Pinto, E., Rajamani, S., Sayre, R.T., Colepicolo, P., 2008. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71, 1-15.
- Verbruggen, H., Clerck, O.D., Schils, T., Kooistra, W.H.C.F., Coppejans, E., 2005. Evolution and phylogeography of *Halimeda* section *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37, 789-803.
- Verbruggen, H., Tyberghein, L., Pauly, K., Vlaeminck, C., Nieuwenhuyze, K.V., Kooistra, W.H.C.F., Leliaert, F., Clerck, O.D., 2009. Macroecology meets macroevolution: evolutionary niche dynamics in the seaweed *Halimeda*. *Global Ecology and Biogeography* 18, 393-405.
- Wilson, S., Blake, C., Berges, J.A., Maggs, C.A., 2004. Environmental tolerances of free-living coralline algae (maerl): Implications for European marine conservation. *Biological Conservation* 120, 279-289.
- Xia, J.R., Li, Y.J., Lu, J., Chen, B. 2004. Effects of copper and cadmium on growth, photosynthesis, and pigment content in *Gracilaria lemaneiformis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 73, 979-986.

Tabela 1. Porcentagem de carbonato de *Halimeda cuneata* K. Hering após dez dias de cultivo em diferentes temperaturas e tratamentos de enriquecimento com metal (valores percentuais médios,  $n = 5 \pm EP$ ). Letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

	18°C				22°C				28°C			
<b>Água do mar</b>	71.8	±	2.2	ab	64.3	±	2.3	ab	62.3	±	1.7	ab
<b>Recuperação</b>	61.3	±	2.8	ab	57.9	±	3.5	b	71.2	±	4.3	ab
<b>Pulsos</b>	62.8	±	4.2	ab	56.9	±	5.9	b	74.7	±	2.9	a



**Legendas das figuras:**

FIG. 1. Rendimento de biomassa fresca de *Halimeda cuneata* K. Hering após dez dias de cultivo em diferentes temperaturas e tratamentos de enriquecimento com metal (barras pretas = somente água do mar, barras cinzas = recuperação após 72 h de exposição a água do mar enriquecida com metais; barras brancas = pulsos de enriquecimento com metal a cada 72 h). As barras representam os valores de rendimento médio de biomassa fresca ( $n = 5$ )  $\pm$  EP. Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

FIG. 2. Valores de rendimento quântico ótimo de *Halimeda cuneata* K. Hering após 72 e 144 h cultivadas em diferentes temperaturas e tratamentos de exposição a metais (S, somente água do mar, R, recuperação após 72 h de exposição a água do mar enriquecida com metais; P, pulsos de enriquecimento com metal a cada 72 h). As barras representam valores médios ( $n = 5$ )  $\pm$  EP de medições feitas 72 horas e 144 horas após o primeiro pulso de enriquecimento com metal (barras brancas e pretas, respectivamente). Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

FIG. 3. Concentrações de clorofila a de *Halimeda cuneata* K Hering após dez dias de cultivo em diferentes temperaturas e tratamentos de enriquecimento com metais (barras pretas = somente água do mar; barras cinzas = recuperação após 72 h de exposição a água do mar enriquecida com metais; barras brancas = pulsos de enriquecimento com metal a cada 72 h). As barras representam os valores médios de concentração ( $n = 5$ )  $\pm$  EP. Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

Fig. 1

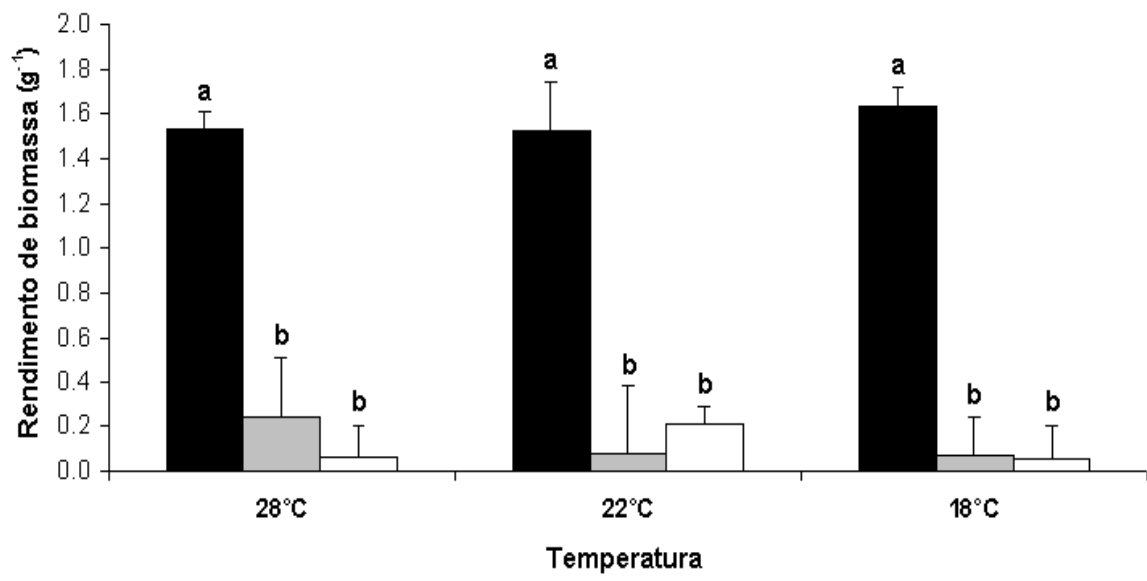


Fig. 2

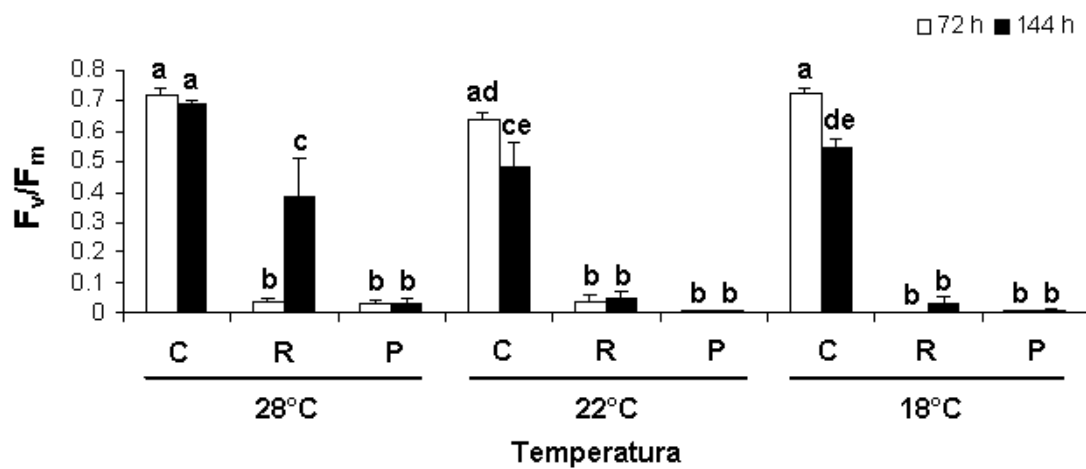
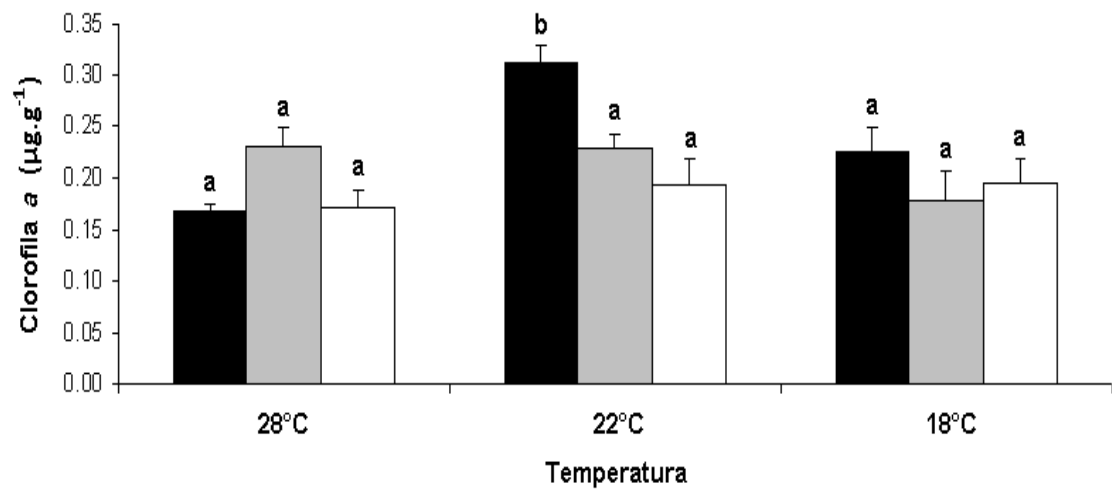


Fig. 3



## **6. Artigo 3: Efeitos de aumentos de temperatura e da acidificação oceânica sobre a fotossíntese de macroalgas tropicais**

Fernando Scherner <sup>1\*</sup>, Cristiano Macedo Pereira <sup>2</sup>, Gustavo Adolpho Santos Duarte <sup>3</sup>, José Bonomi Barufi <sup>4</sup>, Paulo Antunes Horta <sup>4</sup>, Clóvis Barreira e Castro <sup>3</sup>, Sonia Maria Barreto Pereira <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup> Projeto Coral Vivo, Estrada da Balsa, km 4,5, Arraial d'Ajuda, 45816-000 Porto Seguro, BA, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Departamento de Invertebrados, Quinta da Boa Vista, s/n, São Cristóvão, 20940-040 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica, Trindade, 88010-970 Florianópolis, SC, Brasil.

\*Autor para correspondência: E-mail: fscherner@yahoo.com; Phone: +55 81 33206361; Fax: +55 81 33206360

### Resumo

As mudanças climáticas são um fenômeno global que tem sido considerado uma importante ameaça aos ecossistemas marinhos. Aumentos de temperatura e acidificação oceânica estão entre as consequências deste fenômeno. A compreensão dos efeitos destas alterações sobre os organismos marinhos, em particular sobre as macroalgas calcificadas, são ainda modestas, apesar de sua grande importância. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi de avaliar experimentalmente os efeitos do aumento de temperatura e da acidificação oceânica por adição de CO<sub>2</sub> sobre a fotossíntese de macroalgas. Os experimentos foram realizados em mesocosmos recifal em região tropical no litoral brasileiro, utilizando três espécies de macroalgas calcificadas frondosas: *Halimeda cuneata*, *Padina gymnospora*, e *Tricleocarpa cylindrica*, e algas calcáreas incrustantes. O experimento de temperatura consistiu em três tratamentos com temperaturas acima da que ocorre naturalmente no local (+1, +2 e +4°C). Para o experimento de acidificação foram utilizados três valores de pH menores que o da água local (-0.3, -0.6, -0.9). Os efeitos significativos se limitaram a uma melhor performance fotossintética por *H. cuneata* porém apenas diante de um aumento modesto de temperatura (+1°C). Os resultados do experimento de acidificação indicaram um aumento no rendimento quântico ótimo de *T. cylindrica* e um declínio do mesmo parâmetro por algas calcáreas incrustantes, porém ambos apenas no tratamento de acidificação extremo. Os mecanismos de dissipação de energia destas algas também foram alterados diante desta condição extrema. Em geral, os resultados indicam uma grande capacidade de adaptação da performance fotossintética das macroalgas estudadas diante de aumentos de temperatura e acidificação. Isto pode estar relacionado às possibilidades de utilização de diferentes espécies de carbono inorgânico por estas algas.

**Palavras-chave:** CO<sub>2</sub>; Mudanças climáticas; Macroalgas marinhas; Respostas fotossintéticas.

### Introdução

As mudanças climáticas são uma importante ameaça global aos ecossistemas oceânicos (Halpern et al., 2008). Alterações na química oceânica e aquecimento da água do mar associadas aos aumentos de gases de efeito estufa na atmosfera tem potencial para afetar a fisiologia de organismos marinhos (Portner e Farrell, 2008) causando mudanças em cadeias tróficas (Brown et al., 2010) e levando a alterações profundas em comunidades marinhas (Harley et al., 2006). As próximas décadas devem apresentar as maiores alterações ecológicas em comparação às mudanças observadas até os dias atuais (Harley et al., 2012). Isto porque de acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC), o

aquecimento e acidificação dos oceanos estão apenas começando diante dos cenários mais negativos esperados pelos climatologistas (Meehl et al. 2007). Desta forma, a compreensão dos efeitos fisiológicos e ecológicos do aumento de temperatura e da acidificação oceânica sobre organismos marinhos, é fundamental para prever mudanças futuras e auxiliar nos novos desafios de gerenciamento dos ecossistemas marinhos.

Macroalgas marinhas são um componente importante de ecossistemas costeiros, sustentando uma alta biodiversidade e formando a base de cadeias tróficas marinhas (Wilson et al., 1990; Airoidi et al., 2008). No entanto, apesar de sua importância ecológica, pouca atenção tem sido dada aos efeitos das mudanças climáticas sobre as macroalgas (Harley et al. 2012). Algas calcificadas são elementos comuns em recifes tropicais, contribuindo significativamente para produção biogênica de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) em ecossistemas recifais (Wefer, 1980; Nelson, 2009). Porém, os esforços experimentais para se entender as respostas fisiológicas das algas calcificadas aos aumentos de temperatura e acidificação oceânica, tem sido ainda modestos. Portanto, há uma necessidade urgente de pesquisas sobre as respostas de macroalgas calcificadas às mudanças climáticas (Nelson, 2009).

Tem sido observadas respostas variadas aos aumentos de temperatura e acidificação oceânica por macroalgas marinhas. Há estudos demonstrando que algumas espécies se beneficiam de maiores níveis de  $\text{CO}_2$  apesar da maior acidez, aumentando a performance fotossintética (Johnson et al., 2012) enquanto outros observaram espécies apresentando declínios significativos de fotossíntese (Sinutok et al., 2012) enquanto que outros não detectaram alterações significativas sobre a fotossíntese de macroalgas (Israel and Hophy, 2002; Hofmann et al., 2012). Da mesma forma, diante de elevações de temperatura, diferentes respostas têm sido observadas sobre a fotossíntese de espécies de macroalgas marinhas (Anderson, 2006; Sinutok et al., 2012). Essas diferenças na susceptibilidade de macroalgas a aumentos de temperatura e acidificação oceânica, causada pelas maiores concentrações de  $\text{CO}_2$ , podem gerar respostas em nível de espécies através de adaptação, migração, e extinção (Harley et al. 2012) e causar mudanças substanciais em ecossistemas marinhos costeiros.

O objetivo deste estudo foi o de avaliar os efeitos dos aumentos de temperatura e acidificação oceânica por adição de  $\text{CO}_2$  sobre a fotossíntese de macroalgas, por meio de experimentos em mesocosmos. Nós testamos estes fatores sobre a fotossíntese de algas calcificadas tropicais, entre as quais, três espécies frondosas, representando as três divisões do grupo de algas: *Halimeda cuneata* (Chlorophyta), *Padina gymnospora* (Ocrophyta, Phaeophyceae), e *Tricleocarpa cylindrica* (Rhodophyta), e sobre um grupo de algas calcáreas incrustantes (Rhodophyta).

## **Materiais e métodos**

### *Desenho e procedimentos experimentais*

Os experimentos foram realizados em mesocosmos localizado em Arraial D'ajuda, um vilarejo localizado no município de Porto Seguro, Bahia, no nordeste do Brasil (16° 26' 59" S, 39° 03' 53" W). A água marinha utilizada nos experimentos foi bombeada continuamente a partir do recife de franja situado a 300 m das instalações do mesocosmos. Essa água foi então mantida em reservatórios subterrâneos para evitar aquecimento excessivo. Nesses reservatórios a água foi submetida aos tratamentos (ver abaixo para detalhes dos tratamentos de aumento de temperatura e enriquecimento com CO<sub>2</sub>). A partir dos reservatórios subterrâneos a água foi bombeada para reservatórios elevados, onde a água foi monitorada antes de sua entrada nos tanques experimentais. Esse sistema garantiu que a água mantivesse as mesmas características observadas no recife de franja, a não ser pelas novas condições dos tratamentos aplicados. Hidrodinamismo dentro dos tanques experimentais foi mantido por sistemas de re-circulação de água instalados em cada tanque. Os tanques foram cobertos por uma rede para redução de 50% da radiação solar, de forma que a irradiância dentro dos tanques correspondesse aos níveis observados nos recifes onde as algas foram coletadas durante a maré alta.

Os efeitos dos aumentos de temperatura e acidificação foram testados em algas calcárias incrustantes, representados por pools de diferentes espécies, e em três espécies de algas frondosas calcificadas: a rodófito *Tricleocarpa cylindrica*, a clorófito *Halimeda cuneata*, e a feofíceo *Padina gymnospora*. As macroalgas foram coletadas no recife de franja situado em frente ao mesocosmos. Quatro tanques foram usados como replicas de cada tratamento, totalizando 16 tanques para os quatro tratamentos realizados em cada etapa, os quais foram posicionados aleatoriamente. Grades de plástico foram colocadas em cada tanque de forma a manter as macroalgas com um certo nível de elevação do fundo dos tanques, minimizando a carga de sedimentação acima deles. Algas calcárias incrustantes foram colocadas com suas faces vivas na direção do fundo dos tanques, de forma a evitar excesso de irradiação. Assim elas foram expostas a uma irradiância média de 15  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

### **Experimento de temperatura**

Para avaliar os efeitos do aumento de temperatura sobre a fotossíntese das macroalgas, foram determinados três tratamentos com diferentes temperaturas acima dos valores que naturalmente ocorrem naquela região de coleta da água no mês de março (27°C), sendo este experimento realizado neste mesmo mês em 2012. As temperaturas avaliadas correspondem aos aumentos de temperatura de água previstos pelo Painel Intergovernamental de Mudanças



Climáticas (IPCC) em três cenários diferentes, de +1, +2 e +4°C (Meehl et al., 2007). As temperaturas variaram de acordo com as variações naturais que ocorreram no mar. Um sistema automático (Reef Angel Controller, Reef Angel) apoiado por termostatos, garantiu o controle das temperaturas nos níveis desejados, mantendo a água nos níveis desejados acima da temperatura da água controle. Loggers de temperatura (HOBO Water Temperatura Pro v2 Data Logger - U22-001) foram instalados nos reservatórios elevados para posterior aquisição dos dados.

As amostras de macroalgas coletadas foram presas a substratos plásticos. Três espécimens de cada espécie de alga calcárea incrustante foram colocadas em cada tanque. As amostras foram aclimatadas nos tanques por 18 dias antes do início do experimento e ficaram expostas aos tratamentos por 15 dias.

### **Experimento de acidificação**

Os tratamentos de acidificação consistiram no enriquecimento da água do mar com CO<sub>2</sub> em diferentes concentrações. Os efeitos destes tratamentos foram avaliados em relação às condições controle, sem adição de CO<sub>2</sub>. Este desenho experimental representa os valores de pH relativos aos níveis atuais de CO<sub>2</sub> atmosférico de 400 ppm (pH aproximadamente 8.1) e as condições futuras esperadas de acidificação oceânica correspondendo às projeções para a metade e final do século 21, com concentrações de 560 ppm (pH: aproximadamente 7.85) e 1140 ppm (pH: aproximadamente 7.60) pelo cenário A1F1 do IPCC (Meehl et al., 2007). Um nível adicional de pH mais baixo também foi preparado (pH: aproximadamente 7.2) para investigar os possíveis limites de acidificação sobre a fisiologia das macroalgas selecionadas. O pH da água foi continuamente monitorado pelo Reef Angel, que com o apoio de sensores de pH e válvulas solenoids, garantiu o controle de pH permanentemente nos respectivos tratamentos, mantendo-os em níveis aceitáveis dentro dos valores de pH desejados.

As amostras de macroalgas coletadas foram mantidas em seus substratos naturais para este experimento. Dois espécimens de cada espécie frondosa e quatro de algas calcáreas incrustantes foram colocadas em cada tanque. As algas foram aclimatadas nos tanques por 10 dias antes do início do experimento. As amostras foram mantidas nas condições experimentais por 24 dias, sendo o experimento realizado em novembro de 2012.

### *Medições da fotossíntese e análises*

A performance fotossintética das macroalgas foi avaliada usando um fluorômetro de pulso de amplitude modulada (Diving-PAM underwater fluorometer; Walz, Effeltrich, Alemanha) através da fluorescência da clorofila *a*. As medições foram aplicadas três vezes

durante o experimento de temperatura, seguindo 4, 11 e 15 dias do início do experimento, e apenas uma vez no experimento de acidificação, seguindo 23 do início do experimento nas algas frondosas e 24 dias nas algas calcáreas incrustantes. Uma medida foi aplicada em cada pseudoreplica, totalizando três medições em cada espécie por tanque no experimento de temperatura e duas medições em algas frondosas e quatro medições em algas calcáreas incrustantes, por tanque, no experimento de acidificação. Para evitar pseudoreplicagem, as médias destas medidas de cada tanque foram utilizadas para as análises estatísticas. Para o experimento de temperatura foram obtidos apenas o rendimento quântico ótimo ( $F_v/F_m$ ) das algas enquanto para o experimento de acidificação foram realizadas curvas de luz, que por sua vez forneceram outros parâmetros fotossintéticos além de  $F_v/F_m$ , como detalhado abaixo.

O fluorômetro teve suas configurações definidas baseado em medições realizadas previamente em cada espécie. As configurações usadas para as espécies frondosas (Gain=2 e Measuring Light Intensity=8 unidades do PAM) foram diferentes daquelas utilizadas para algas calcáreas incrustantes (Gain=2 e Measuring Light Intensity=8 unidades do PAM) devido às grandes diferenças na utilização de luz entre estes grupos. As medições foram aplicadas usando um adaptador em forma de anel ajustado de forma a manter a amostra a uma distância constante de 0.5 cm do sensor de fibra ótica. As amostras foram aclimatadas no escuro antes das medições por 30 minutos para obtenção do rendimento quântico máximo. Períodos iguais de aclimação foram aplicados para cada amostra de forma a se evitar diferenças mascaradas por mecanismos de reparo (Schermer et al. 2012). A fluorescência basal ( $F_o$ ) foi obtida antes do primeiro pulso de saturação (intensidade=8 unidades do PAM, durante 0.8 s), que provocou a emissão da fluorescência máxima pelas amostras. Isto permitiu o cálculo do rendimento quântico ótimo (obtido por  $F_v/F_m=(F_m-F_o)/F_m$ ). Estes procedimentos foram seguidos por oito curtas aplicações de luz actínica por 5 s, seguidos por curtos e fortes pulsos de luz saturantes, através da aplicação da opção Rapid Light Curve (RLC) do Diving-PAM. Cada pulso saturante de luz permitiu medidas subsequentes de fluorescência estacionária ( $F_t$ ) e valores de fluorescência máxima ( $F_m'$ ). A partir destes valores o rendimento quântico efetivo (Y(II)):  $Y(II) = (F_m' - F_t) / F_m'$  foi calculado (Schreiber et al. 1994) e taxas de transporte de elétrons relativas (rETR):  $rETR = Y(II)*PAR*ETR-factor*FII$  foram precisamente estimadas. O fator ETR aplicado foi 0.84 para todas as espécies. O parâmetro FII é relativo à proporção de clorofila *a* no PSII, e seus valores foram 0.8 para *P. gymnospora*, 0.5 para *H. cuneata*, e 0.15 para *T. cylindrica* e algas calcáreas incrustantes (Grzyski et al. 1997). Adicionalmente ao  $F_v/F_m$ , outro parâmetro descritivo, a taxa máxima de transporte de elétrons ( $ETR_{max}$ ), foi calculado através do ajuste de cada curva de rETR à função de Platt e Gallegos (1980).

Parâmetros complementares foram determinados para investigar possíveis alterações nos mecanismos de dissipação de energia causados pelos tratamentos.  $Y(NO)$  e  $Y(NPQ)$  foram calculados usando equações de parâmetros dissipativos ( $F_v/F_m$  and  $F_v/F_m'$ ) de Klughammer and Schreiber (2008) modificados de Kramer et al. (2004). Enquanto  $Y(NO)$  corresponde à fração de energia que é passivamente dissipada como calor e fluorescência (em sua maior parte devido ao fechamento dos centros de reação),  $Y(NPQ)$ , reflete a fração de energia dissipada como calor via mecanismo de foto-proteção regulada de dissipação não-fotoquímica. Estes parâmetros foram determinados a partir de valores de  $F_t$ ,  $F_m$  e  $F_m'$  obtidos após cada pulso de saturação, e calculados como  $Y(NO) = F_t/F_m$  e  $Y(NPQ) = (F_t/F_m') - Y(NO)$ . Adicionalmente, a dissipação não-fotoquímica (NPQ):  $NPQ = Y(NPQ)/Y(NO)$  foi calculada baseado na relação entre estes dois parâmetros. Para permitir comparações entre tratamentos, as integrais definidas de cada curva dos parâmetros dissipativos e de  $Y(II)$  foram calculadas usando a regra do trapézio (Schermer et al., 2012).

#### *Análises estatísticas*

Os efeitos fisiológicos dos tratamentos sobre as macroalgas foram analisados usando estatística paramétrica. Após a verificação da normalidade, os dados de fotossíntese foram testados quanto à homogeneidade das variâncias usando o teste de Cochran. Visto que as suposições foram obtidas, as Análises de Variância (ANOVA) foram realizadas. ANOVA de repetições foi aplicada para os dados de fotossíntese obtidos pelo experimento de temperatura, com tratamentos de temperatura como fator. One-Way ANOVA foi realizado para os dados obtidos do experimento de acidificação, verificando a existência de diferenças significativas entre os tratamentos de pH. Quando diferenças significativas foram observadas, o teste *a posteriori* de comparação múltipla de Newman-Keuls foi aplicado. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados usando o programa STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc. 2004).

## **Resultados**

### *Fotossíntese*

#### **Temperatura**

Algas calcáreas incrustantes, *T. cylindrica* e *P. gymnospora* não apresentaram respostas nos valores de  $F_v/F_m$  diante de aumentos de temperatura ao longo do período experimental. *H. cuneata* apresentou valores de  $F_v/F_m$  mais altos apenas no tratamento  $+1^\circ\text{C}$  em relação ao controle e ao tratamento  $+4.5^\circ\text{C}$  (Tabela I; Fig. 1).

### Acidificação

Algas calcáreas incrustantes apresentaram menores valores de  $F_v/F_m$  no T(-0.9) em comparação com os outros tratamentos (Tabela II; Tabela III), enquanto entre as macroalgas frondosas, efeitos significantes foram observados apenas para *T. cylindrica*, que apresentou valores de  $F_v/F_m$  mais altos no T(-0.9) em comparação com T(0). Valores de  $ETR_{max}$  não apresentaram diferenças significantes entre tratamentos, tanto para algas calcáreas incrustantes quanto para as espécies frondosas.

As integrais definidas obtidas a partir das curvas de Y(II) não apresentaram diferenças entre tratamentos para nenhuma alga (Tabela II; Fig. 2). Considerando os mecanismos de dissipação, diferenças significantes entre tratamentos nos valores de integrais definidas de suas respectivas curvas foram observadas apenas para algas calcáreas incrustantes e *T. cylindrica* (Tabela II). O primeiro grupo apresentou maiores valores de dissipação de energia não regulada (Y(NO)) e menores valores de Y(NPQ) e NPQ no T(-0.9) em comparação com os outros tratamentos. Similarmente, *T. cylindrica* apresentou maiores valores de Y(NO) e menores valores de Y(NPQ) e NPQ no T(-0.9), mas apenas em relação ao T(0).

### Discussão

#### *Efeitos de aumentos da temperatura*

A ausência efeitos significantes dos aumentos de temperatura sobre a fotossíntese de algas calcáreas incrustantes, de *T. cylindrica* e de *P. gymnospora* estão de acordo com os resultados obtidos com outras espécies (Anderson, 2006), indicando um alto potencial de tolerância termal dessas macroalgas. Entretanto, *H. cuneata* apresentou aumentos nos valores de  $F_v/F_m$  nos aumentos de temperatura mais modestos, o que não é uma surpresa, devido à sua natureza tropical, ocorrendo abundantemente em regiões tropicais (Bandeira-Pedrosa et al., 2004; Verbruggen et al., 2005). Apesar desta afinidade a temperaturas um pouco mais elevadas, o aumento mais extremo de 4.5°C em relação à água controle de 27°C, gerou menores valores de  $F_v/F_m$  do que aqueles observados em aumentos modestos de temperatura. Embora esses valores são ainda comparáveis àqueles obtidos das amostras controle, esse declínio pode sugerir que aumentos maiores de temperatura podem reverter as respostas positivas obtidas nos aumentos de temperaturas menores. Isso é corroborado por outro estudo realizado com *H. macroloba* e *H. cylindracea*, que observaram declínios significantes nos valores de  $F_v/F_m$  das duas espécies a 32°C (Sinutok et al. 2012). Isso sugere que alterações biogeográficas podem ocorrer com espécies de *Halimeda*, com possíveis migrações latitudinais, de regiões de baixas latitudes para regiões de altas latitudes, se as temperaturas

aumentaram além dos limites de uma performance fisiológica adequada, podendo desaparecer de área excessivamente quentes e ocupando novas áreas com temperaturas adequadas.

#### *Efeitos da acidificação*

Efeitos significativos da acidificação sobre a performance fotossintética das algas estudadas foram restritas as algas calcáreas incrustantes e *T. cylindrica*, que apresentaram alterações significativas apenas no tratamento mais extremo de pH -0.9 abaixo dos níveis naturais presentes observados na região de estudo. Nesta condição, um padrão interessante foi observado, com algas calcárias incrustantes apresentando declínios nos valores de  $F_v/F_m$  enquanto *T. cylindrica* apresentou aumento nos valores de  $F_v/F_m$ . Apesar deste padrão nos valores de  $F_v/F_m$  ambas apresentaram aumentos nos valores de  $Y(NO)$  e diminuições nos valores de  $Y(NPQ)$  and  $NPQ$ . Estes parâmetros representam diferentes destinos de energia de excitação no PSII, fornecendo informações sobre a capacidade do organismo de adaptar ao excesso de energia de excitação em diferentes condições. Considerando que  $Y(II)$  representa a fração de energia que é foto-quimicamente transformada no PSII, a energia residual corresponde ao rendimento quântico total de todos processos de perda energética. Esta fração restante pode ser dividida em dois componentes,  $Y(NO)$  and  $Y(NPQ)$ . Aumentos nos valores de  $Y(NO)$  indicam uma menor habilidade da alga de se proteger contra fotodanos, enquanto aumentos nos valores de  $Y(NPQ)$  correspondem a uma melhor capacidade de foto-proteção (Klughammer and Schreiber, 2008). Portanto, nossos resultados indicam uma diminuição na capacidade de foto-proteção das algas calcáreas incrustantes e de *T. cylindrica* em pH -0.9 mais baixo que o natural nas condições atuais.

Apesar dos efeitos negativos observados sobre a fotossíntese de algas calcáreas incrustantes e de *T. cylindrica* no pH mais baixo, o declínio de pH esperado para o século 21 em seu cenário mais negativo fica dentro da faixa de 0.6 (Dias-Pulido et al., 2012). Dentro desta variação de pH, nossos resultados não indicam efeitos significativos sobre a fotossíntese de todas as algas avaliadas, contrapondo às expectativas de aumentos das taxas fotossintéticas por macroalgas não calcificadas diante de maiores concentrações de  $CO_2$  (Koch et al., 2013). Os padrões observados aqui sugerem que as taxas fotossintéticas são saturadas pelas concentrações atuais de carbono inorgânico ( $C_i$ ) na água do mar. Contudo, as informações disponíveis na literatura são ainda inconclusivas a este respeito, com estudos indicando aumento de performance fotossintética de espécies de macroalgas diante de aumentos de carbono inorgânico dissolvido (ver revisão em Koch et al., 2013), enquanto outros não observaram mudanças na performance fotossintética (Israel and Hophy 2002; Hofmann et al., 2012). Israel and Hophy (2002) sugerem que o mecanismo de concentração de  $CO_2$  (MCC) comumente presente em macroalgas marinhas é o provável razão da ausência de respostas

fotossintéticas de macroalgas às maiores concentrações de CO<sub>2</sub>. A maioria das macroalgas usam HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> para fotossíntese, com poucas exceções, independentemente da divisão a que pertencem (Koch et al., 2013). Esta habilidade de adquirir HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> é importante para aumentar a aquisição de carbono na água marinha, onde a difusão de CO<sub>2</sub> é limitada. Porém, existem evidências que o uso de CO<sub>2</sub> aumentou em comparação ao HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> em condições de aumento de CO<sub>2</sub> pela alga verde *Ulva* sp. (Cornwall et al., 2012). Assim, em um futuro cenário com elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> nos oceanos ocorrerão aumentos de carbono inorgânico dissolvido (DIC) e alterações na proporção relativa das diferentes espécies de DIC. Neste cenário, a proporção de CO<sub>2</sub> terá o maior aumento entre as espécies de DIC de mais de 250%, enquanto o pool de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> aumentará apenas em torno de 24%, mesmo que em quantidades absolutas ele aumentará mais do que o CO<sub>2</sub> (Koch et al., 2013). Portanto, esta habilidade de alterar a proporção de dependência a cada espécie de DIC de acordo com as novas condições, fornece uma alternativa importante em um cenário de altas concentrações de CO<sub>2</sub> porque isso minimiza a alocação de energia utilizada no processo de aquisição de carbono, resultando em uma possível vantagem competitiva (Koch et al., 2013).

Estudos recentes com espécies de *Halimeda* (Ries et al. 2009; Price et al. 2011; Sinutok et al. 2012) e *Padina* (Johnson et al. 2012) observaram respostas fotossintéticas diferentes diante de aumentos nas concentrações de CO<sub>2</sub>, contrastando às nossas observações de ausência de resposta por *H. cuneata* e *P. gymnospora*, mesmo no tratamento mais extremo. Estas respostas conflitantes podem estar relacionadas à diferentes períodos de exposição à altas concentrações de CO<sub>2</sub>, e também à variações fisiológicas que podem ocorrer entre espécies próximas (Porzio et al., 2011). A diversidade genética pode ser um componente importante na regulação das respostas fisiológicas de macroalgas diante de um cenário de altas concentrações de CO<sub>2</sub>, embora pouco tenha sido relatado sobre o papel da diversidade genética diante do processo de acidificação oceânica até o momento. Portanto estudos futuros devem considerar, além de outros fatores fisiológicos, o papel da diversidade genética na resposta destes organismos aos aumentos de temperatura e acidificação oceânica.

### **Agradecimentos**

F.S. recebeu bolsa de doutorado concedida pela Coordenação Nacional de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Este estudo foi realizado com o apoio da Rede de Pesquisas do Projeto Coral Vivo e seus patrocinadores - Petrobras, através do Programa Petrobras Ambiental, e Arraial d'Ajuda Eco Parque.

**Referências**

- Anderson, B.C. 2006. Response of Tropical Marine Macroalgae to Thermal Stress. MS thesis, Florida Atlantic University, Boca Raton, FL.
- Bandeira-Pedrosa, M.E., Pereira, S.M.B., Bouzon, Z.L., Oliveira, E.C. 2004. *Halimeda cuneata* (Bryopsidales, Chlorophyta), a new record for the Atlantic Ocean. *Phycologia* 43, 50-57.
- Brown, C.J., Fulton, E.A., Hobday, A.J., Matear, R.J., Possingham, H.P., Bulman, C., Christensen, V., Forrest, R.E., Gehrke, P.C., Gribble, N.A., Griffiths, S.P., Lozano-Montes, H., Martin, J.M., Metcalf, S., Okey, T.A., Watson, R., Richardson, A.J. 2010. Effects of climate-driven primary production change on marine food webs: implications for fisheries and conservation. *Global Change Biology* 16, 1194-1212.
- Cornwall, C.E., Hepburn, C.D., Pritchard, D., Currie, K.I., McGraw, C.M., Hunter, K.A., Hurd, C.L. 2012. Carbon-use strategies in macroalgae: differential responses to lowered pH and implications for ocean acidification. *Journal of Phycology*, 48, 137–144.
- Diaz-Pulido, G., Anthony, K.R.N., Kline, D.I., Dove, S., Hoegh-Guldberg, O. 2012. Interactions between ocean acidification and warming on the mortality and dissolution of coralline algae. *Journal of Phycology* 48, 32–39.
- Grzymiski, J., Johnsen, G., Sakshaug, E. 1997. The significance of intracellular self-shading on the biooptical properties of brown, red and green macroalgae. *Journal of Phycology* 33, 408-414.
- Haglund, K., Björk, M., Ramazanov, Z., García-Reina, G., Pedersén, M. 1992. Role of carbonic anhydrase in photosynthesis and inorganic-carbon assimilation in the red alga *Gracilaria tenuistipitata*. *Planta* 187, 275-281.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T., Selig, E.R., Spalding, M., Steneck, R., Watson, R. 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science* 319, 948-52.
- Harley, C.D.G., Hughes, A.R., Hultgren, K.M., Miner, B.G., Sorte, C.J.B., Thornber, C.S., Rodriguez, L.F., Tomanek, L., Williams S.L. 2006. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* 9, 228-241.
- Harley, C.D.G., Anderson, K.M., Demes, K.W., Jorve, J.P., Kordas, R.L., Coyle, T.A., Graham, M.H. 2012. Effects of Climate Change on Global Seaweed Communities. *Journal of Phycology* 48, 1064-1078.

- Hofmann, L.C., Yildiz, G., Hanelt, D., Bischof, K. 2012. Physiological responses of the calcifying rhodophyte, *Corallina officinalis* (L.), to future CO<sub>2</sub> levels. *Marine Biology*, 159, 783–792.
- Israel, A., Hophy, M. 2002. Growth, photosynthetic properties and Rubisco activities and amounts of marine macroalgae grown under current and elevated seawater CO<sub>2</sub> concentrations. *Global Change Biology* 8, 831-840.
- Johnson, V.R., Russell, B.D., Fabricius, K.E., Brownlee, C., Hall-Spencer, J.M. 2012. Temperate and tropical brown macroalgae thrive, despite decalcification, along natural CO<sub>2</sub> gradients. *Global Change Biology*, 18, 2792–2803.
- Klughammer, C., Schreiber, U. 2008. Complementary PSII quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Application Notes* 1, 27 -35.
- Kramer, D.M., Johnson, G., Kiirats, O., Edwards, G.E. 2004. New fluorescence parameters for the determination of Q<sub>A</sub> redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research* 79, 209-218.
- Koch, M., Bowes, G., Ross, C., Zhang, X-H. 2013. Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biology* 19, 103–132.
- Meehl, G.A., Stocker, T.F., Collins, W.D., Friedlingstein, P., Gaye, A.T., Gregory, J.M., Kitoh, A., et al. 2007. Global climate projections. In Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M. e Miller, H. L. [Eds.] *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 747–845.
- Nelson, W.A. 2009. Calcified macroalgae – critical to coastal ecosystems and vulnerable to change: a review. *Marine and Freshwater Research*, 60, 787–801.
- Platt, T., Gallegos, C.L. 1980. Modelling primary production. In: Falkowski, P. (Ed.) *Primary productivity in the sea*. Plenum Press, New York, p. 339-362.
- Portner, H.O., Farrell, A.P., 2008. Physiology and climate change. *Science* 322, 690–692.
- Porzio, L., Buia, M.A., Hall-Spencer, J.M. 2011. Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 400, 278–287.
- Price, N.N., Hamilton, S.L., Tootell, J.S., Smith, J.E. 2011. Species-specific consequences of ocean acidification for the calcareous tropical green algae *Halimeda*. *Marine Ecology Progress Series*, 440, 67–78.
- Ries, J.B., Cohen, A.L., McCorkle, D.C. 2009. Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO<sub>2</sub>-induced ocean acidification. *Geology*, 37, 1131–1134.



- Schermer, F., Ventura, R., Barufi, J.B., Horta, P.A. 2012. Salinity critical threshold values for photosynthesis of two cosmopolitan seaweed species: providing baselines for potential shifts on seaweed assemblages. *Mar Environ Res* 1-12. DOI: 10.1016/j.marenvres.2012.05.007.
- Schreiber, U., Bigler, W., Neubauer, C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze, E.-D., Caldwell, M.M. (Eds.), *Ecophysiology of Photosynthesis*, vol. 100. Springer, Berlin and Heidelberg, New York, pp. 49–70.
- Sinutok, S., Hill, R., Doblin, M.A., Kühl, M., Ralph, P.J. 2012. Microenvironmental changes support evidence of photosynthesis and calcification inhibition in *Halimeda* under ocean acidification and warming. *Coral Reefs*, 31, 1201-1213.
- Verbruggen, H., Clerck, O.D., Schils, T., Kooistra, W.H.C.F., Coppejans, E. 2005. Evolution and phylogeography of *Halimeda* section *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta). *Molecular phylogenetics and evolution* 37, 789-803.
- Wefer, G. 1980. Carbonate production by algae *Halimeda*, *Penicillus*, and *Padina*. *Nature*, 285, 323–324.

**Tabela I.** Sumário de ANOVA de repetição realizada com os dados de rendimento quântico ótimo ( $F_v/F_m$ ) obtidos das macroalgas expostas aos tratamentos de aumento de temperatura. Valores em negrito representam diferenças significativas como demonstrado pelo teste *a posteriori* Student Newman-Keuls (SNK) ( $n=4$ ).

	df	MS	F	p	SNK
<b>Algas calcáreas incrustantes</b>					
Temperatura	3	0.008	0.71	0.55	
Tempo	2	0.006	1.65	0.21	
Tempo*Temperatura	6	0.006	1.59	0.19	
<b><i>Tricleocarpa cylindrica</i></b>					
Temperatura	3	0.0007	0.25	0.86	
Tempo	<b>2</b>	<b>0.17</b>	<b>34.45</b>	<b>0</b>	T3 < T2 < T1
Tempo*Temperatura	6	0.0018	0.369	0.89	
<b><i>Halimeda cuneata</i></b>					
Temperatura	<b>3</b>	<b>0.016</b>	<b>5.6</b>	<b>0.012</b>	+1°C > C, +4.5°C
Tempo	2	0.018	2.95	0.07	
Tempo*Temperatura	6	0.003	0.624	0.7	
<b><i>Padina gymnospora</i></b>					
Temperatura	3	0.0058	1.65	0.220	
Tempo	<b>2</b>	<b>0.016</b>	<b>6.68</b>	<b>0.004</b>	T3 < T1
Tempo*Temperatura	6	0.0008	0.33	0.91	

**Tabela II.** Sumário de ANOVA realizada com os dados dos parâmetros fotossintéticos ( $F_v/F_m$  e  $ETR_{max}$ ) e das integrais definidas de rendimento quântico efetivo ( $Y(II)$ ) e dos parâmetros dissipativos YNO, YNPQ e YNPQ/YNO. Valores em negrito representam diferenças significativas (n=4).

	<b>Algas calcáreas incrustantes</b>				<i>Tricleocarpa cylindrica</i>				<i>Halimeda cuneata</i>				<i>Padina gymnospora</i>			
	df	MS	F	p	df	MS	F	p	df	MS	F	p	df	MS	F	p
$F_v/F_m$	3	<b>0.006</b>	<b>5.296</b>	<b>0.014</b>	3	<b>0.004</b>	<b>3.569</b>	<b>0.047</b>	3	0.008	1.702	0.219	3	0.0004	0.99	0.428
$ETR_{max}$	3	0.004	0.243	0.864	3	0.052	0.554	0.655	3	1.069	0.856	0.49	3	7.012	2.52	0.107
Y(II)	3	2.122	0.218	0.881	3	21.52	0.443	0.726	3	34.74	0.538	0.664	3	121.28	3.03	0.07
Y(NO)	3	<b>494</b>	<b>4.14</b>	<b>0.031</b>	3	<b>2617</b>	<b>3.813</b>	<b>0.039</b>	3	333	1.28	0.325	3	629	0.88	0.478
Y(NPQ)	3	<b>481.9</b>	<b>4.7</b>	<b>0.021</b>	3	<b>2392</b>	<b>4.017</b>	<b>0.034</b>	3	96.01	2.373	0.121	3	218.3	0.53	0.673
YNPQ/YNO	3	<b>1696.3</b>	<b>5.341</b>	<b>0.014</b>	3	<b>5099</b>	<b>4.418</b>	<b>0.025</b>	3	119.5	2.29	0.13	3	564.6	0.63	0.608

**Tabela III.** Parâmetros fotossintéticos das espécies de macroalgas estudadas após 24 dias de exposição a diferentes tratamentos de acidificação (n = 4 ± desvio padrão).

	Tratamentos															
	T(0)			T(-0.3)			T(-0.6)			T(-0.9)						
<b>Algas calcáreas incrustantes</b>																
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0.47	±	0.03	a	0.49	±	0.03	a	0.47	±	0.05	a	0.40	±	0.03	b
ETR <sub>max</sub>	0.73	±	0.12	a	0.76	±	0.10	a	0.68	±	0.13	a	0.71	±	0.17	a
<b><i>Tricleocarpa cylindrica</i></b>																
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0.50	±	0.05	a	0.55	±	0.05	ab	0.56	±	0.03	ab	0.62	±	0.01	b
ETR <sub>max</sub>	1.22	±	0.41	a	1.21	±	0.42	a	0.97	±	0.13	a	1.15	±	0.14	a
<b><i>Halimeda cuneata</i></b>																
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0.55	±	0.02	a	0.50	±	0.05	a	0.44	±	0.09	a	0.49	±	0.09	a
ETR <sub>max</sub>	4.66	±	0.52	a	4.88	±	0.73	a	4.32	±	1.80	a	3.70	±	0.98	a
<b><i>Padina gymnospora</i></b>																
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0.65	±	0.02	a	0.65	±	0.02	a	0.65	±	0.02	a	0.67	±	0.02	a
ETR <sub>max</sub>	11.15	±	1.49	a	9.60	±	1.22	a	11.03	±	1.68	a	12.83	±	2.15	a

**Legendas das figuras:**

**Figura 1.** Valores de rendimento quântico ótimo das macroalgas estudadas em resposta aos diferentes tratamentos de aumento de temperatura, obtidos por três medições (T1, T2 e T3), durante 15 dias de experimento ( $n=4 \pm$  desvio padrão).

**Figura 2.** Valores de integrais definidas de rendimento quântico efetivo ( $Y(II)$ ) e dos parâmetros dissipativos YNO, YNPQ e YNPQ/YNO obtidos das espécies de macroalgas estudadas após 24 dias de exposição a diferentes tratamentos de acidificação ( $n = 4 \pm$  desvio padrão). Letras acima das barras indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

Figura 1

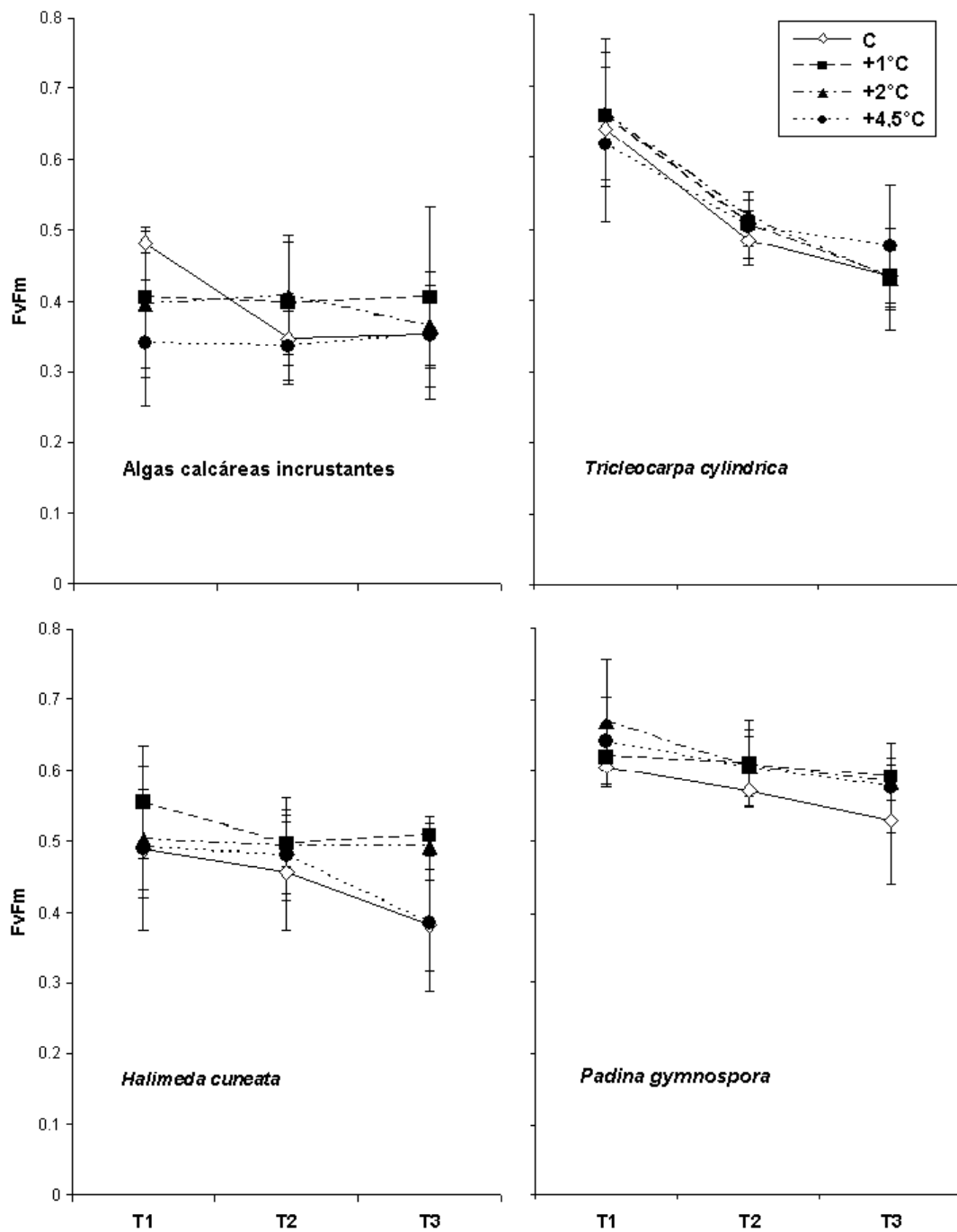
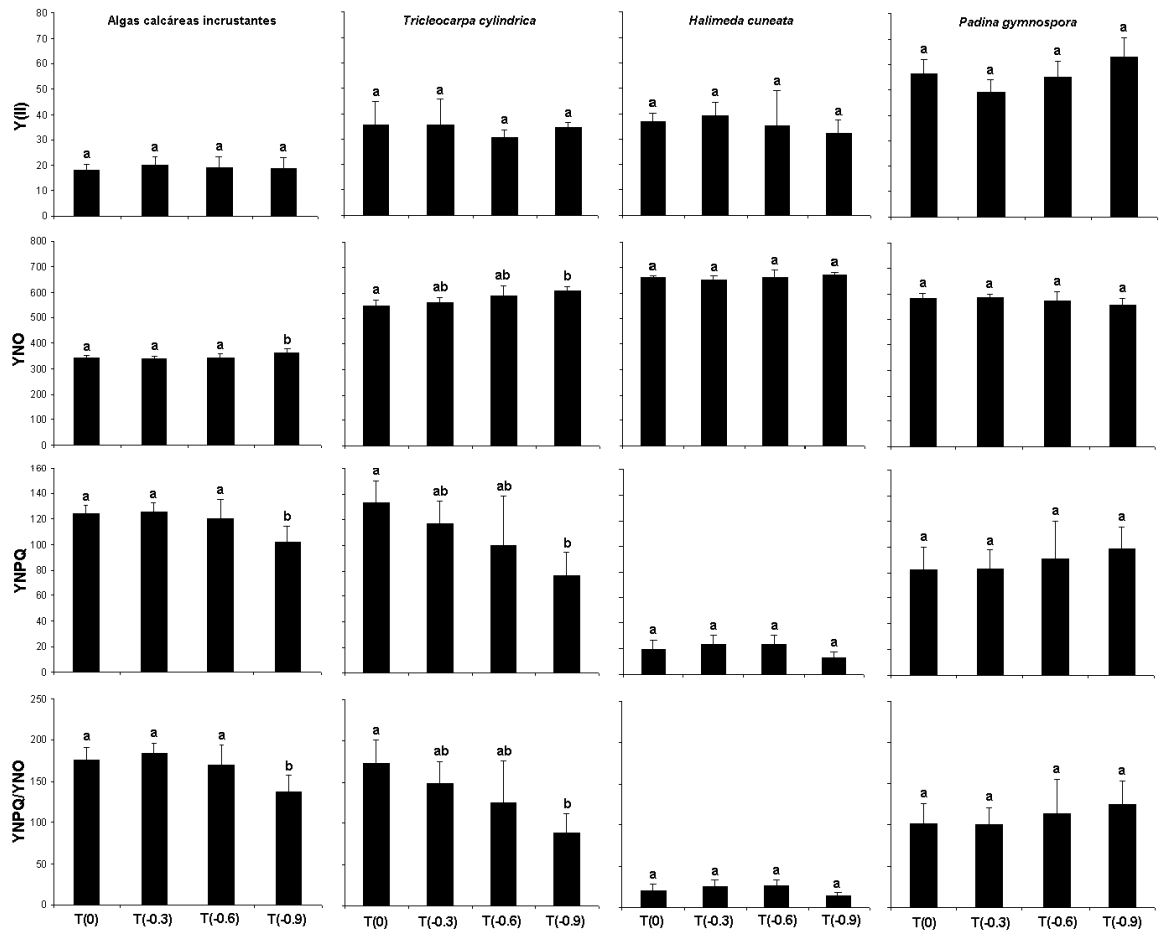


Figura 2



## 7. CONCLUSÕES GERAIS

Os estudos realizados evidenciam os impactos da urbanização costeira sobre macroalgas em diferentes aspectos, porém correlacionados, o primeiro indicando alterações substanciais de comunidades macroalgais e o segundo demonstrando os efeitos deletérios da poluição por metais pesados sobre a fisiologia do organismo. Já com relação aos efeitos do aumento de temperatura e acidificação oceânica sobre a fotossíntese das espécies de macroalgas estudadas, a ausência de respostas dentro dos níveis esperados para o século 21, indica uma alta capacidade adaptativa na fisiologia dessas espécies, diante das diferentes condições ambientais avaliadas.

No que concerne às alterações de comunidades, os resultados indicam que a pressão urbana costeira tem levado a reduções substanciais no número de espécies. As reduções observadas, especialmente de algas calcárias e algas pardas, normalmente estão associadas ao desaparecimento de espécies perenes, de crescimento lento e que sustentam uma grande diversidade de organismos. Por outro lado, essas algas são substituídas por espécies efêmeras, oportunistas, de rápido crescimento, em sua maioria compostas por representantes de algas verdes. As alterações nas comunidades de macroalgas ocorreram em todas as províncias ficogeográficas, porém quando consideramos apenas os filos, a zona de transição não mostrou diferenças entre áreas urbanas e referência. Dentre as feofíceas isso pode ser explicado pela alta contribuição de *Colpomenia sinuosa* nas áreas urbanas dentro desta RF, uma espécie que tem sido associada à áreas impactadas. Porém, as peculiaridades desta região, que tem características tanto da região temperada quanto da tropical, parecem ter um papel importante na sustentação dos padrões observados.

Da mesma forma, a exposição a metais pesados, um dos principais grupos de contaminantes em áreas urbanas costeiras, causaram efeitos deletérios sobre as



funções fisiológicas de *H. cuneata*. A hipótese de que *H. cuneata* é mais sensível à contaminação por metais em temperaturas que ocorrem no seu limite de distribuição foi comprovada. O potencial de recuperação da espécie visto pela performance fotossintética foi observado apenas na temperatura de ampla ocorrência da espécie, nas latitudes mais baixas. A ausência de recuperação nas temperaturas mais baixas sugere maior vulnerabilidade da espécie nas temperaturas que ocorrem em seus limites de distribuição no Atlântico sul-ocidental.

O estudo dos efeitos dos aumentos de temperatura sobre a fotossíntese das macroalgas calcificadas avaliadas sugere que *H. cuneata* pode se beneficiar de aumentos de temperatura modestos, o que poderia proporcionar alterações em comunidades e em distribuições geográficas desta espécie. Por outro lado, outras espécies testadas se mostraram indiferentes aos aumentos de temperatura durante o período experimental. Com relação à acidificação por adição de CO<sub>2</sub>, efeitos significativos somente foram observados em condições extremas de pH substancialmente abaixo do natural. Porém, apesar destas condições serem importantes para se estudar o limiar fisiológico das espécies e seus mecanismos de dissipação energética, declínios de pH desta magnitude são improváveis de ocorrer ao longo do século 21. Assim, os resultados apresentados aqui demonstram uma alta capacidade de adaptação fotossintética das macroalgas testadas diante dos aumentos de acidez provocados por maiores concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico esperados para este século. Contudo, é importante ressaltar que a fotossíntese é apenas mais um parâmetro fisiológico dentre outros igualmente importantes. Por exemplo, alguns estudos demonstram efeitos deletérios da acidificação sobre taxas de calcificação, apesar de terem observado melhores performances fotossintéticas. Assim, outros estudos que avaliem mais aspectos fisiológicos de macroalgas devem ser realizados, contribuindo para aumentar nossa capacidade preditiva das possíveis

alterações em comunidades de macroalgas marinhas, diante do processo de aumento de temperatura e acidificação oceânica.

Os resultados do presente estudo sugerem a necessidade de políticas públicas que considerem uma combinação de maior eficiência no uso do solo, expansão de esforços de conservação de sistemas terra-mar, e técnicas para mitigar a contaminação do meio ambiente marinho por poluentes antropogênicos em áreas urbanas, diante do rápido crescimento do processo de urbanização costeira no mundo, visto que esses fatores de cunho local podem atuar em sinergismo com os fenômenos globais, exarcebando os efeitos deletérios da urbanização e poluição costeira observados neste estudo.

## **ANEXOS**



# MARINE POLLUTION BULLETIN

The International Journal for Marine Environmental Scientists, Engineers,  
Administrators, Politicians and Lawyers

## AUTHOR INFORMATION PACK

### TABLE OF CONTENTS

●	<b>Description</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Audience</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Impact Factor</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Abstracting and Indexing</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Editorial Board</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Guide for Authors</b>	<b>p.3</b>



ISSN: 0025-326X

### DESCRIPTION

*Marine Pollution Bulletin* is concerned with the rational use of maritime and **marine resources** in estuaries, the seas and oceans, as well as with documenting **marine pollution** and introducing new forms of measurement and analysis. A wide range of topics are discussed as news, comment, reviews and research reports, not only on **effluent disposal** and **pollution control**, but also on the **management, economic** aspects and **protection** of the **marine environment** in general.

A distinctive feature of *Marine Pollution Bulletin* is the number of different categories of articles which are published. Papers ('Reports') form the core of the journal, while 'Baselines' document measurements which are expected to have value in the future. 'Reviews' are generally invited by the [editors](#) on subjects which cross traditional lines, but suggestions for topics are welcomed. 'Viewpoints' are a less formal forum for scientists to comment freely on matters of relevant national and international importance. Other sections of the *Bulletin* include 'News', 'New Products', 'Conference Reports', 'Conference Diary', 'Correspondence' and 'Book Reviews'. Two volumes are published annually, one of which contains a series of special issues on topics of particular current interest. The importance and influence of these special issues, which address the major marine environmental concerns of our time, is increasingly being recognised not just by the wider scientific community, but also by environmental policy makers at national and international level.

#### Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

### AUDIENCE

Marine pollution environmental scientists, engineers, administrators, managers, politicians and lawyers.

### IMPACT FACTOR

2012: 2.531 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2013

## ABSTRACTING AND INDEXING

---

Aqualine Abstracts  
BIOSIS  
Cambridge Scientific Abstracts  
Chemical Abstracts  
Current Contents/ASCA  
Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences  
EMBASE  
EMBiology  
Elsevier BIOBASE  
Environmental Periodicals Bibliography  
Fish and Fisheries Worldwide  
GEOBASE  
Health and Safety Science Abstracts  
Marine Literature Review  
Oceanographic Literature Review  
Petroleum Abstracts  
Science Citation Index  
Scopus  
Tox Abstr Environment Abstracts

## EDITORIAL BOARD

---

### **Editor**

**Charles Sheppard**, Dept. of Biological Sciences, University of Warwick, Gibbet Hill Road, Coventry, CV4 7AL, UK, **Email:** [charles.sheppard@warwick.ac.uk](mailto:charles.sheppard@warwick.ac.uk)

### **Baseline Editor**

**B.J. Richardson**, Dept. of Biology and Chemistry, City University of Hong Kong, 83 Tat Chee Avenue, Kowloon, Hong Kong, **Email:** [baseline@sti.net](mailto:baseline@sti.net)

### **News Editor**

**P. Kingston**, Torryburn, Fife, UK, **Email:** [p.f.kingston@hw.ac.uk](mailto:p.f.kingston@hw.ac.uk)

### **Editorial Board**

**A. Borja**, Pasaia, Spain  
**P.M. Chapman**, Burnaby, BC, Canada  
**G. Cognetti**, Pisa, Italy  
**J.C. Dauvin**, Wimereux, France  
**M. Elliott**, Hull, UK  
**D.A. Holdway**, Bundoora, VIC, Australia  
**P. Hutchings**, Sydney, NSW, Australia  
**R.J. Law**, Burnham-On-Crouch, UK  
**K.M.Y. Leung**, Hong Kong, China  
**M. Martin**, Marposa, CA, USA  
**T. McClanahan**, Mombassa, Kenya  
**B. Morton**, London, UK  
**J. Pearce**, Falmouth, MA, USA  
**D.J.H. Phillips**, Vidauban, France  
**J.W. Readman**, Hoe, Plymouth, UK  
**K. Schiff**, Costa Mesa, CA, USA  
**S. Tanabe**, Matsuyama, Japan  
**R.S. Tjeerdema**, Davis, CA, USA  
**V. Wepener**, Auckland Park, Johannesburg, South Africa

## GUIDE FOR AUTHORS

---

*Your Paper Your Way*

[ypyw-gfa-banner.gif](#) your paper your way

### INTRODUCTION

#### **Types of paper**

Research Reports; Shorter Research Notes; Baseline Records of Contamination Levels; Viewpoint Articles; Letters to the Editor; Focus Articles (short reviews of 1500 words); Reviews.

### BEFORE YOU BEGIN

#### **Ethics in publishing**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

#### **Conflict of interest**

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: [http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/286/p/7923](http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923).

#### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

#### **Contributors**

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

#### **Changes to authorship**

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

*Before the accepted manuscript is published in an online issue:* Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

*After the accepted manuscript is published in an online issue:* Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

#### **Copyright**

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open Access and Subscription.

*For Subscription articles*

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

#### *For Open Access articles*

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

#### **Retained author rights**

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see

<http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.

Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.

#### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

#### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

#### **Open access**

This journal offers authors a choice in publishing their research:

##### **Open Access**

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An Open Access publication fee is payable by authors or their research funder

##### **Subscription**

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No Open Access publication fee

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

**Creative Commons Attribution (CC BY):** lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation),

to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access.

Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

### **Language Services**

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review. Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

### **Referees**

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

### **Page charges**

Marine Pollution Bulletin has no page charges.

## **PREPARATION**

### **NEW SUBMISSIONS**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

### **References**

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

### **Formatting requirements**

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.



## Abstract

Abstracts should not exceed 150 words.

## Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Where relevant these should include the main species concerned, the geographical area and the contaminant. Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Please note that the instructions related to Abstract and Graphical abstract still apply to all new submissions.

## REVISED SUBMISSIONS

### *Use of word processing software*

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

## LaTeX

If the LaTeX file is suitable, proofs will be produced without rekeying the text. The article should preferably be written using Elsevier's document class 'elsarticle', or alternatively any of the other recognized classes and formats supported in Elsevier's electronic submissions system, for further information see <http://www.elsevier.com/wps/find/authorsview.authors/latex-ees-supported>.

The Elsevier 'elsarticle' LaTeX style file package (including detailed instructions for LaTeX preparation) can be obtained from the Quickguide: <http://www.elsevier.com/latex>. It consists of the file: elsarticle.cls, complete user documentation for the class file, bibliographic style files in various styles, and template files for a quick start. For information about reference management please go to the document at [http://cdn.elsevier.com/assets/pdf\\_file/0011/109388/elsdoc.pdf](http://cdn.elsevier.com/assets/pdf_file/0011/109388/elsdoc.pdf) and click on the section 'bibliography'.

## Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

## Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

## Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a

separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

### Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

### Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

### Artwork

#### Electronic artwork

##### General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

##### Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

##### Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

##### Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### **References**

#### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### *Reference management software*

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

### **Video data**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **AudioSlides**

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

### **Supplementary data**

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### **Data at PANGAEA**

Electronic archiving of supplementary data enables readers to replicate, verify and build upon the conclusions published in your paper. We recommend that data should be deposited in the data library PANGAEA (<http://www.pangaea.de>). Data are quality controlled and archived by an editor in standard machine-readable formats and are available via Open Access. After processing, the author receives

an identifier (DOI) linking to the supplements for checking. As your data sets will be citable you might want to refer to them in your article. In any case, data supplements and the article will be automatically linked as in the following example: [doi:10.1016/0016-7037\(95\)00105-9](https://doi.org/10.1016/0016-7037(95)00105-9). Please use PANGAEA's web interface to submit your data (<http://www.pangaea.de/submit/>).

### **Submission checklist**

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

## **AFTER ACCEPTANCE**

### **Use of the Digital Object Identifier**

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

### **Online proof correction**

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our ProofCentral system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately - please upload all of your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

### **Offprints**

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>).

Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints/myarticlesservices/booklets>).

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.

## **AUTHOR INQUIRIES**

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>



### TABLE OF CONTENTS

---

●	<b>Description</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Audience</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Impact Factor</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Abstracting and Indexing</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Editorial Board</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Guide for Authors</b>	<b>p.3</b>



ISSN: 0166-445X

### DESCRIPTION

---

*Aquatic Toxicology* publishes original scientific papers dealing with the mechanisms of **toxicity** and the responses to toxic agents in **aquatic environments** at the community, species, tissue, cellular, subcellular and molecular levels, including aspects of uptake, metabolism and excretion of **toxicants**.

The aim of the journal is to increase our understanding of the impact of toxicants on aquatic organisms and ecosystems. Studies with aquatic model systems that provide fundamental mechanistic insight to toxic effects on organisms in general are also welcome. Both laboratory and field studies will be considered. The mechanistic focus includes genetic disturbances and adaptations to environmental perturbations, including the evolution of toxicant responses; biochemical, physiological and behavioural responses of organisms to toxicants; interactions of genetic and functional responses, and interactions between natural and toxicant-induced environmental changes. The bioaccumulation of contaminants is considered when studies address mechanisms influencing accumulation. Ecological investigations that address reasons, possibly also considering their genetic and physiological aspects, for toxicant-induced alterations of aquatic communities or populations are suitable.

Reports on technique development or monitoring efforts are generally not within the scope of *Aquatic Toxicology*, except those concerning new methodologies for mechanistic research with an example of their application. Identification of toxicants or toxicologically relevant molecules in organisms will be considered only if the identification is a part of a more comprehensive mechanistic study. Whenever possible, information of exposure should be based on measured concentrations and not nominal or assumed ones. Manuscripts reporting acute toxicity data (lethal concentration, LC-50 or lethal dose, LD-50) as a major finding are usually not considered.

### AUDIENCE

---

Environmental Toxicologists, Marine Biologists, Ecotoxicologists, Biochemical Toxicologists, Conservationists.

### IMPACT FACTOR

---

2011: 3.761 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2012



## ABSTRACTING AND INDEXING

---

BIOSIS  
Chemical Abstracts  
Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences  
EMBASE  
EMBiology  
Elsevier BIOBASE  
GEOBASE  
Marine Science Contents Tables  
Scopus

## EDITORIAL BOARD

---

### *Editors-in-Chief*

**M.J. Nikinmaa**, Dept. of Biology, University of Turku, FI-20014 Turku, Finland, **Email:** [mikko.nikinmaa@utu.fi](mailto:mikko.nikinmaa@utu.fi)  
**R.S. Tjeerdema**, Dept. of Environmental Toxicology, College of Agricultural & Environmental Sciences, University of California at Davis, 4138 Meyer Hall, Davis, CA 95616-8501, USA, **Email:** [rstjeerdema@ucdavis.edu](mailto:rstjeerdema@ucdavis.edu)

### *Review Editor*

**M. Celandier**, Dept. of Biological and Environmental Sciences, Göteborgs Universitet, BOX 463, SE 405 30 Göteborg, Sweden, **Email:** [malin.celandier@gu.se](mailto:malin.celandier@gu.se)

### *Editorial Board*

**A. Arukwe**, Trondheim, Norway  
**M.G. Barron**, Gulf Breeze, FL, USA  
**T. Braunbeck**, Heidelberg, Germany  
**K.G. Burnett**, Charleston, SC, USA  
**G.N. Cherr**, Bodega Bay, CA, USA  
**J.K. Chipman**, Birmingham, England, UK  
**K.R. Cooper**, New Brunswick, NJ, USA  
**M.E. Hahn**, Woods Hole, MA, USA  
**D.E. Hinton**, Durham, NC, USA  
**M.O. James**, Gainesville, FL, USA  
**D.M. Janz**, Saskatoon, SK, Canada  
**K.M. Kleinow**, Baton Rouge, LA, USA  
**B. Korsgaard**, Odense M, Denmark  
**G.A. LeBlanc**, Raleigh, NC, USA  
**J.-S. Lee**, Seongdong-Gu, Seoul, South Korea  
**P. Pärt**, Ispra (VA), Italy  
**F. Regoli**, Ancona, Italy  
**D. Schlenk**, Riverside, CA, USA  
**H. Segner**, Bern, Switzerland  
**I. Sokolova**, Charlotte, NC, USA  
**J. Stauber**, Lucas Heights, NSW, Australia  
**J.J. Stegeman**, Woods Hole, MA, USA  
**R.J. van Beneden**, Orono, ME, USA  
**W-X. Wang**, Kowloon, Hong Kong  
**K.L. Willett**, University, MS, USA  
**C.M. Wood**, Hamilton, Canada

## GUIDE FOR AUTHORS

---

### INTRODUCTION

#### *Types of paper*

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications
4. Letters to the Editor

*Original Research Papers* should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

*Review Articles* can be divided into three types:

- *Regular reviews* covering subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. These should generally not exceed 12 printed pages (approx. 6000 words).
- *Mini-reviews*. These will be short reviews or overviews (not exceeding 2-3 printed pages, approx. 1000-1500 words) on topics of above-average emerging interest.
- *Commentaries*. This label will be given to mini-reviews which clearly contain the personal opinions of the author concerned. All types of review articles will be solicited by the Reviews Editor, Prof. M.N. Moore, Plymouth Marine Laboratory, Prospect Place, The Hoe, Plymouth, PL1 3DH, UK. E-mail: mnm@pml.ac.uk.

*Short Communications* will be restricted to papers describing short, complete studies. They should not exceed 3 printed pages, including figures and tables (approx. 1500 words), and should be written in a continuous style, without subdivisions of introduction, materials and methods, results, discussion and acknowledgements; they should always begin with a summary. A short communication, although brief, should be a complete and final publication, and figures and tables from the communication should not occur in a later paper.

*Letters to the Editor* should either offer comment on a paper published in the journal, or comment on any general matter providing that this is relevant to the scope of the journal. In the case of letters commenting on published papers, the author(s) of the latter will be given the opportunity to react to the letter and the two items will subsequently be published together in the journal.

### BEFORE YOU BEGIN

#### *Ethics in publishing*

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

#### *Policy and ethics*

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki)* for animal experiments <http://europa.eu.int/scadplus/leg/en/s23000.htm>; *Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals* <http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>. This must be stated at an appropriate point in the article.

#### *Conflict of interest*

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: [http://elsevier6.custhelp.com/app/answers/detail/a\\_id/286/p/7923/](http://elsevier6.custhelp.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923/).

#### *Submission declaration*

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible



authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

### **Contributors**

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

### **Changes to authorship**

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

*Before the accepted manuscript is published in an online issue:* Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

*After the accepted manuscript is published in an online issue:* Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

### **Copyright**

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

### **Retained author rights**

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

### **Open access**

This journal offers authors a choice in publishing their research:

#### **Open Access**

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse

- An Open Access publication fee is payable by authors or their research funder

### **Subscription**

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No Open Access publication fee

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

**Creative Commons Attribution (CC-BY):** lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC-BY-NC-SA).

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC-BY-NC-ND):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access.

Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$3300**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

### **Language services**

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review.

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

### **Submission**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/aqtox/>

### **Referees**

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

### **Page charges**

Aquatic Toxicology has no page charges.

## PREPARATION

### *Use of wordprocessing software*

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

### *LaTeX*

If the LaTeX file is suitable, proofs will be produced without rekeying the text. The article should preferably be written using Elsevier's document class 'elsarticle', or alternatively any of the other recognized classes and formats supported in Elsevier's electronic submissions system, for further information see <http://www.elsevier.com/wps/find/authorsview.authors/latex-ees-supported>.

The Elsevier 'elsarticle' LaTeX style file package (including detailed instructions for LaTeX preparation) can be obtained from the Quickguide: <http://www.elsevier.com/latex>. It consists of the file: elsarticle.cls, complete user documentation for the class file, bibliographic style files in various styles, and template files for a quick start. For information about reference management please go to the document at [http://cdn.elsevier.com/assets/pdf\\_file/0011/109388/elsdoc.pdf](http://cdn.elsevier.com/assets/pdf_file/0011/109388/elsdoc.pdf) and click on the section 'bibliography'.

### *Article structure*

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### *Material and methods*

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### *Theory/calculation*

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

#### *Results*

Results should be clear and concise.

#### *Discussion*

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### *Conclusions*

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

#### *Appendices*

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

### **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Abstract**

A concise and factual abstract is required of no more than 400 words. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separate from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

### **Abbreviations**

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### **Acknowledgements**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### **Math formulae**

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

### **Footnotes**

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

#### *Table footnotes*

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

### **Artwork**

#### *Electronic artwork*

#### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.

- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

#### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### *Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

#### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

#### **Tables**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

#### **References**

##### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.



### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

### *Reference style*

*Text:* All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ....'

*List:* References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

*Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

### *Journal abbreviations source*

Journal names should be abbreviated according to:

List of title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; NLM Catalog (Journals referenced in the NCBI Databases): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>; CAS (Chemical Abstracts Service): via <http://www.cas.org/content/references/corejournals>.

### **Video data**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **Supplementary data**

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should

submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### **Submission checklist**

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

## **AFTER ACCEPTANCE**

### **Use of the Digital Object Identifier**

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

### **Proofs**

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately – please let us have all your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

### **Offprints**

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional reprints can be ordered on a reprint order form which will be sent to the corresponding author of the accepted article by the publisher.

### **Author's discount**

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.

### **AUTHOR INQUIRIES**

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>





# JOURNAL OF EXPERIMENTAL MARINE BIOLOGY AND ECOLOGY

## AUTHOR INFORMATION PACK

### TABLE OF CONTENTS

---

●	<b>Description</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Audience</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Impact Factor</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Abstracting and Indexing</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Editorial Board</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Guide for Authors</b>	<b>p.4</b>



ISSN: 0022-0981

### DESCRIPTION

---

The Journal provides a forum for work on the biochemistry, physiology, behaviour, and genetics of **marine plants** and **animals** in relation to their **ecology**; all levels of biological organization will be considered, including studies of ecosystems and ecological modelling. The main emphasis of the Journal lies in experimental work, both from the laboratory and the field. Descriptive studies will, however, be acceptable if they elucidate general ecological principles. Papers describing important new techniques, methods and apparatus will also be considered. All papers will be refereed by experts before acceptance for publication. In all cases proofs will be sent to authors. The editors, referees, and publisher will make every effort to expedite publication and the cooperation of authors in this task is welcomed.

#### **Benefits to authors**

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

### AUDIENCE

---

Marine Physiologists and Biochemists, Marine Ecologists and Marine Biologists.

### IMPACT FACTOR

---

2012: 2.263 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2013

## ABSTRACTING AND INDEXING

---

Aquabiology  
Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts  
BIOSIS  
Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences  
EMBiology  
Ecological Abstracts  
GEOBASE  
Marine Science Contents Tables  
Oceanography Abstracts  
PASCAL M and S (Earth Sciences)  
PASCAL/CNRS  
Scopus  
Selected Water Resources Abstracts

## EDITORIAL BOARD

---

### *Editors-in-Chief*

**S.E. Shumway**, University of Connecticut, Groton, CT, USA, **Email:** [sandra.shumway@UConn.edu](mailto:sandra.shumway@UConn.edu)  
Ecophysiology, biochemistry, microbiology, sediments, plankton, marine mammals and sea turtles, Ocean acidification

**R.N. Hughes**, University of Wales, Bangor, UK, **Email:** [r.n.hughes@bangor.ac.uk](mailto:r.n.hughes@bangor.ac.uk)  
Evolutionary ecology, genetics, behaviour, fish and fisheries

**S.F. Thrush**, National Institute of Water and Atmospheric Research (NIWA), Hamilton, New Zealand, **Email:** [s.thrush@niwa.co.nz](mailto:s.thrush@niwa.co.nz)  
Soft-sediment ecology, community dynamics and environmental effects

### *Book Review Editor*

**I.D. Marsden**, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand, **Email:** [I.marsden@zool.canterbury.ac.nz](mailto:I.marsden@zool.canterbury.ac.nz)

### *Founding Editors:*

**H. Barnest**,  
**M. Barnest**,

### *Editorial Board:*

**C.M. Adams**, Gainesville, FL, USA  
**R. Aronson**, Dauphin Island, AL, USA  
**D. Ayre**, Wollongong, NSW, Australia  
**S.S. Bell**, Tampa, FL, USA  
**E. Bonsdorff**, Turku, Finland  
**B.E. Brown**, Newcastle-Upon-Tyne, England, UK  
**J.M. Burkholder**, Raleigh, NC, USA  
**J.H. Christy**, Miami, FL, USA  
**A. Clarke**, Cambridge, UK  
**S. Cragg**, Southsea, UK  
**T. Crowe**, Dublin, Ireland  
**I. Côté**, Burnaby, BC, Canada  
**L. Deaton**, Lafayette, LA, USA  
**C.M. Duarte**, Esporles, Spain  
**S. Dupont**, Fiskebäckskil, Sweden  
**K.J. Eckelbarger**, Walpole, ME, USA  
**C.E. Epifanio**, Lewes, DE, USA  
**J.G. Field**, Rondebosch, South Africa  
**W.K. Fitt**, Athens, GA, USA  
**S. George**, Statesboro, GA, USA  
**M.E. Hay**, Atlanta, GA, USA  
**G. Hays**, Swansea, UK  
**D. Hedgecock**, Los Angeles, CA, USA  
**R.E. Hodson**, Athens, GA, USA  
**G.P. Jenkins**, Queenscliff, VIC, Australia  
**M.J. Keough**, Parkville, VIC, Australia  
**M. Krause**, Hempstead, NY, USA  
**M.P. Lesser**, Durham, NH, USA

**C. Maggs**, Belfast, UK  
**M.A. Mallin**, Wilmington, USA  
**I.D. Marsden**, Christchurch, New Zealand  
**B.A. Menge**, Corvallis, OR, USA  
**A. Norkko**, Helsinki, Finland  
**R. Osman**, Edgewater, MD, USA  
**P.S. Petraitis**, Philadelphia, PA, USA  
**M.H. Posey**, Wilmington, USA  
**P.Y. Qian**, Kowloon, Hong Kong  
**K. Reise**, List, Germany  
**A.H. Ringwood**, Charlotte, NC, USA  
**R.D. Rotjan**, Cambridge, MA, USA  
**D. Schiel**, Christchurch, New Zealand  
**R. Seed**, Menai Bridge, UK  
**P.V.R. Snelgrove**, St.John's, NL, Canada  
**J.I Spicer**, Plymouth, Devon, UK  
**S.E. Stancyk**, Columbia, SC, USA  
**P.A. Todd**, Singapore, Singapore  
**T.D. Todd**, St. Andrews, UK  
**B. Touchette**, Elon, NC, USA  
**Jefferson T. Turner**, New Bedford, MA, USA  
**A.J. Underwood**, Sydney, NSW, Australia  
**E. von Brand**, Coquimbo, Chile  
**R.C. Vrijenhoek**, Moss Landing, CA, USA  
**L. Walters**, Orlando, FL, USA  
**J.E. Ward**, Groton, CT, USA  
**S.A. Watts**, Birmingham, AL, USA  
**R. Whitlatch**, Groton, CT, USA

## GUIDE FOR AUTHORS

---

### INTRODUCTION

#### *Types of contribution*

1. Original research articles (Regular Articles)
2. Essay Reviews
3. Monographs
4. Book Reviews

*Original research articles* should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

*Essay Reviews* will deal with tightly defined topics which are highly novel and of particular interest to the readership of the Journal. These Reviews discuss topics that may be rather dispersed in the literature, but with a high degree of relevance to experimental marine ecology.

*Monographs* are comprehensive and integrated studies (up to 100 pages) that represent a detailed synthesis and in-depth interpretation of results. A small number (2 to 4) of monographs will be published a year, authors should consult with the editors regarding possible contributions prior to submission of full monographs.

*Book Reviews* will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old. Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

I. Marsden,  
University of Canterbury,  
Private Bag 4800,  
Christchurch,  
New Zealand

### BEFORE YOU BEGIN

#### *Ethics in publishing*

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

#### *Conflict of interest*

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: [http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/286/p/7923](http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923).

#### *Submission declaration and verification*

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

#### *Contributors*

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. **The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.**

#### *Changes to authorship*

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

*Before the accepted manuscript is published in an online issue:* Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

*After the accepted manuscript is published in an online issue:* Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

## **Copyright**

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open Access and Subscription.

### *For Subscription articles*

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

### *For Open Access articles*

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

## **Retained author rights**

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see <http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.

Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.

## **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

## **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

## **Open access**

This journal offers authors a choice in publishing their research:

### **Open Access**

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An Open Access publication fee is payable by authors or their research funder

## Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No Open Access publication fee

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

**Creative Commons Attribution (CC BY):** lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access.

Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

## Language Services

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review.

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

## Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/jembe/>

## Referees

Please submit, with the manuscript, the names and addresses of four potential referees.

## Page charges

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology has no page charges.

## PREPARATION

## **Use of word processing software**

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

## **LaTeX**

If the LaTeX file is suitable, proofs will be produced without rekeying the text. The article should preferably be written using Elsevier's document class 'elsarticle', or alternatively any of the other recognized classes and formats supported in Elsevier's electronic submissions system, for further information see <http://www.elsevier.com/wps/find/authorsview.authors/latex-ees-supported>.

The Elsevier 'elsarticle' LaTeX style file package (including detailed instructions for LaTeX preparation) can be obtained from the Quickguide: <http://www.elsevier.com/latex>. It consists of the file: elsarticle.cls, complete user documentation for the class file, bibliographic style files in various styles, and template files for a quick start. For information about reference management please go to the document at [http://cdn.elsevier.com/assets/pdf\\_file/0011/109388/elsdoc.pdf](http://cdn.elsevier.com/assets/pdf_file/0011/109388/elsdoc.pdf) and click on the section 'bibliography'.

## **Article structure**

### **Subdivision**

Manuscripts should be typewritten with numbered lines, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered in the upper right-hand corner.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

### *Material and methods*

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

### *Theory/calculation*

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

### *Results*

Results should be clear and concise.

### *Discussion*

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.



### Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

### Glossary

Please supply, as a separate list, the definitions of field-specific terms used in your article.

### Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separate from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. Abstracts must not be longer than 400 words.

### Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

### Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

### Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

### Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.



## Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

## Nomenclature and Units

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.
2. All biota (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is used, with the exception of common domestic animals.
3. The first mention of the scientific names of the species used in the work - in title or text - should be accompanied by the taxonomic authority unless they can all be referred to a general work in which the authorities are given. Scientific names of species referred to in other studies need no authority. Generic names should only be abbreviated when immediately preceded in the text by the mention of the same species or another of the same genus.
4. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
5. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.
6. When referring to salinity, please do not use units i.e. no PSU or 0/00. Please use "a salinity of X, or salinity" instead of adding units.

## Genbank

GenBank/DNA sequence linking. DNA sequences and GenBank Accession numbers Many Elsevier journals cite "gene accession numbers" in their running text and footnotes. Gene accession numbers refer to genes or DNA sequences about which further information can be found in the databases at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) at the National Library of Medicine. Elsevier authors wishing to enable other scientists to use the accession numbers cited in their papers via links to these sources, should type this information in the following manner:

For each and every accession number cited in an article, authors should type the accession number in **bold, underlined text**. Letters in the accession number should always be capitalised. (See Example 1 below). This combination of letters and format will enable Elsevier's typesetters to recognize the relevant texts as accession numbers and add the required link to GenBank's sequences.

Example 1: "GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. An error in a letter or number can result in a dead link.

In the final version of the printed article, the accession number text will not appear bold or underlined (see Example 2 below).

Example 2: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

In the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article (see Example 3 below).

Example 3: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

## Formulae

1. Formulae should be typewritten, if possible. Leave ample space around the formulae.

2. Subscripts and superscripts should be clear.
3. Greek letters and other non-Latin or handwritten symbols should be explained in the margin where they are

### Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

#### Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

### Artwork

#### Electronic Artwork

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following font in your illustrations: Arial.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- When labelling composite figures, please label as A,B,C, etc. in Arial font, positioned on the upper left corner, on the panel whenever possible. Please do not include any periods, parentheses, etc.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.
- Extra frames and boxes around figures should be eliminated.

Please include only X and Y (and Z if applicable) axes. Background lines on figures should only be included when absolutely necessary.

- Legend material and explanations of symbols, etc. should be on the panel, not hanging off to the side of the figure. No frame is necessary. If this material does not fit on the panel, it should be included in the actual figure legend.
- Submitting figures as they are printed from Excel or other spread sheets is not acceptable formatting for publication.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'. **Please do not:**

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### Color Artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition high-resolution black and white versions of all the color illustrations. Simply printing color as black and white is not acceptable.

#### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

#### **Tables**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

#### **References**

##### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

##### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

##### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

##### *Reference management software*

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

##### *Reference style*

*Text:* All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

*List:* References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

##### *Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

### **Video data**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **AudioSlides**

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

### **Supplementary data**

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### **Data at PANGAEA**

Electronic archiving of supplementary data enables readers to replicate, verify and build upon the conclusions published in your paper. We recommend that data should be deposited in the data library PANGAEA (<http://www.pangaea.de>). Data are quality controlled and archived by an editor in standard machine-readable formats and are available via Open Access. After processing, the author receives an identifier (DOI) linking to the supplements for checking. As your data sets will be citable you might want to refer to them in your article. In any case, data supplements and the article will be automatically linked as in the following example: [doi:10.1016/0016-7037\(95\)00105-9](https://doi.org/10.1016/0016-7037(95)00105-9). Please use PANGAEA's web interface to submit your data (<http://www.pangaea.de/submit/>).

### **Submission Checklist**

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

The cover letter must include a declaration that all authors agree to the submission

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations:

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>

## **AFTER ACCEPTANCE**

### **Use of the Digital Object Identifier**

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

### **Online proof correction**

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our ProofCentral system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately - please upload all of your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

### **Offprints**

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints/myarticlesservices/booklets>).

### **Author's Discount**

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.

## **AUTHOR INQUIRIES**

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

