Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica
Instituto Oceanográfico - Universidade de São Paulo

Deborah Gallego Gallo

Efeito de efluentes sobre o sistema biofilme-herbívoros em costões rochosos subtropicais

São Paulo
2016

Deborah Gallego Gallo

Efeito de efluentes sobre o sistema biofilme-herbívoros em costões rochosos subtropicais

Trabalho apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Oceanografia Biológica, sob orientação da Professora Doutora Aurea Maria Ciotti.

São Paulo
2016

*Dedico este trabalho à minha pequenina, Beatriz,
para quem busco um
mundo melhor.*

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos primeiramente à minha família por compreender o amor à minha profissão e me apoiar sempre e incondicionalmente,

Ao Ivan, por todo o companheirismo, me mantendo firme, sem me deixar desistir dos meus sonhos, mantendo toda a paciência e compreensão com as minhas decisões sempre indecisas,

Aos meus orientadores, Aurea e Ronaldo, por todo apoio intelectual e financeiro, por me acolherem em seus laboratórios e por terem contribuído com meu crescimento acadêmico e pessoal,

Tadinho e Jaque, pelos dias e dias quebrando a cabeça e indo ao campo desvendar os mistérios do biofilme (ainda nada desvendados)

A todos do laboratório Aquarela, Bibi, Camilla, Amabile, Monte, Nervo, Vanessa, Pedro, Caju, Carla, Ale, Aurore e Sebastian e aA todo o grupo do Labeeco, Cesar, Susta, Samantha, Morian, Pri e Camila por me receberem de braços abertos e me ajudarem em tudo o que foi possível,

À galera do Labecom, mesmo que eu não faça mais parte do grupo, sempre me transmitiram o amor à ciência, a união e a confiança que só eles têm,

Todos e todas que dividiram um lar comigo e tornaram minha vida em São Sebastião muito mais fácil e divertida com os jantares, noites de bebedeira e discussões infinitas. Gê, Pola, Thyerri, Bibi, Sayão, Pedrito e Pi, que conquistaram um lugar especial em minha vida, os levarei comigo,

Aos amigos que restaram em São Vicente, sempre prontos pra tomar uma e bater um papo quando eu apareço de surpresa,

Aos amigos de infância, Rapha, Thainá, Pri, Ana e Vand, mesmo me achando alternativa demais, me compreendem e estão sempre com os ombros prontos pras minhas dúvidas e incertezas,

Aos técnicos, Zé e Elso, que fazem o papel de anjo da guarda, aos quais devo o acontecimento de todas as minhas coletas, os cafés com bolo acompanhados de boas conversas,

Por fim, agradeço à todo o apoio logístico do Cebimar e do IO, e aos seus aos funcionários e professores do Instituto Oceanográfico que, de alguma forma, contribuíram com minha formação de mestre e me ajudaram com burocracias e afins, e à CAPES pelo financiamento do meu projeto de mestrado.

*"Quem faz canções é o mar
eu apenas acalanto
seu canto,
eu apenas
canto.*

*Eu guardo suas conchas
eu carrego seus grãos
como guardo meus segredos
como fecho meus porões
como ando pela areia
recolhendo as estrelas
que ele espalha pelo chão*

*Quem faz canções é o mar
eu apenas dou abrigo
a seus náufragos, perdidos
na ilha branca do papel."*

Mauro Iasi

Resumo

Gallo, DG. **Efeito de efluentes sobre o sistema biofilme-herbívoros em costões rochosos subtropicais**. 2015. Dissertação (Mestrado). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Os ecossistemas costeiros sofrem impactos antrópicos de fontes diversas, entre eles os despejos de efluentes, que podem potencializar o desenvolvimento de produtores primários em costões rochosos resultante do enriquecimento por nutrientes. Ao mesmo tempo, o crescimento dos produtores pode ser controlado pela presença dos herbívoros. No presente estudo buscamos descrever o efeito dos despejos de efluentes sobre o acúmulo de biofilme em costões rochosos, sob diferentes níveis de despejos de efluentes em uma área subtropical (São Paulo, Brasil), bem como o efeito dos efluentes sobre as lapas. Estimamos a biomassa do biofilme *in situ*, por medidas indiretas de NDVI e por análises taxonômicas de amostras fixadas. A estrutura populacional de lapas foi descrita por contagem e medição do comprimento da concha. Um experimento em campo foi realizado sob presença e ausência de efluentes, bem como presença e ausência de lapas. Observamos que o efeito de efluentes potencializa o acúmulo de biofilme, entretanto não observamos um consumo significativo das lapas sobre o biofilme. O tamanho e densidade de lapas não foram alteradas pelo gradiente de efluentes. Em geral, foi observada uma predominância de diatomáceas em relação às cianobactérias, o que pode diferir da tendência de dominância de cianobactérias verificada em outras regiões. É importante ressaltar a importância de outros pastadores sobre o desenvolvimento de biofilme, não considerados neste estudo, além da alta variabilidade temporal e espacial que as comunidades de biofilme apresentam. Ressaltamos a importância da aplicação de organismos bentônicos como indicadores da qualidade do ambiente.

Palavras-chave: NDVI, zona entremarés, lapas, impacto costeiro

Abstract

Gallo, DG. **Sewage effects on the biofilm-grazers system in subtropical rocky shores**. 2015. Dissertação (Mestrado). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Coastal ecosystems suffer anthropogenic impacts from many sources such as sewage disposal, which may potencialize de primary productors growth in rocky shores. In the same time, this growth amy be controlled by grazers. In this study we aimed to investigate the biofilm accumulation in rocky shores under different level of sewage disposal in a subtropical area (São Paulo State, Brazil), and its influence on the grazers. The biofilm biomass was estimated in situ indirectly by NDVI measures and taxonomic analysis of fixed samples. The size structure of limpets was described through counting and measurement of the shell length. We also performed a field experiment under presence and ausence of sewage, as presence and ausence of limpets. We observed a sewage effect improve the biofilm accumulation, but the limpets did not have a clear control on the biofilm growth. No clear effect of sewage disposal was verified on the size and density of limpets. In general, we observed a domination of diatoms relative to cianobacterias, which could differ of the trend observed in another sites. It is noteworthy that the possible effects of other grazers on the biofilm were not quantified and the high temporal and spatial variability of biofilm communities. We emphasize the importance of studies that use benthic organisms as environmental quality indicators.

Key-words: NDVI, intertidal zone, limpets, costal impact

Lista de tabelas

Tabela 1. Emissários submarinos presentes no Canal de São Sebastião. Fonte: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb) 2015.....	19
Tabela 2. Áreas de estudo e suas respectivas siglas e coordenadas representadas no mapa. O gradiente de balneabilidade foi definido a partir da média de colônias de Enterococos/100mL de três semanas de avaliação.....	19
Tabela 3. Resultados da ANOVA de medidas repetidas do crescimento de biofilme ao longo do tempo (medida de repetição) em costões poluídos e não poluídos (Poluições), em condições de parcelas raspadas e parcelas sem manipulação (tratamento) (gl: grau de liberdade, QM: quadrado médio, **p<0,001, ***p<0,0001, ns: não significativo). *Dados corrigidos pela análise Wilks.....	30
Tabela 4. Anova fatorial para taxa de desenvolvimento de biofilme entre os costões rochosos categorizados entre poluídos e não-poluídos, em parcelas raspadas e sem manipulação (tratamento) (*desigualdade de variâncias).....	30
Tabela 5. Comparação do NDVI em tratamentos sob exclusão de lapas e controle, por meio de ANOVA de medidas repetidas. Foram testados os fatores costões poluídos e não poluídos ao longo do tempo. (gl: grau de liberdade, QM: quadrado médio, ***p<0,0001, ns: não significativo).....	31
Tabela 6. Parâmetros das comunidades de biofilme nos costões rochosos estudados.....	32
Tabela 7. PERMANOVA de um fator para densidade (cel/cm ²) de microalgas entre os costões rochosos.....	32

Lista de figuras

- Figura 1.** Área de estudo com detalhe para o Canal de São Sebastião na costa dos municípios de São Sebastião e Ilhabela. Os pontos correspondem aos costões rochosos amostrados e as cruzes correspondem à localização dos emissários submarinos no Canal de São Sebastião.....20
- Figura 2.** Temperatura do ar e do mar, níveis de precipitação, e radiação solar na região durante o período de experimentos.....25
- Figura 3.** Representação dos valores de NDVI e tamanho de lapas de acordo com a balneabilidade, representada por medidas de Enterococos, nos costões rochosos amostrados. (UFC: Unidade Formadora de Colônia).....26
- Figura 4.** Distribuição das medidas de tamanho e densidade de lapas, entre si e de acordo com NDVI e balneabilidade (representada por Enterococos).(UFC: Unidade Formadora de Colônia).....27
- Figura 5.** Distribuição populacional de lapas em classes de tamanho nas áreas de estudo. Todas as lapas amostradas se localizavam na região do mesolitoral, região das *Tetraclitas* ou das ostras, de acordo com a ocorrência nos costões rochosos.....28
- Figura 6.** Desenvolvimento de biofilme ao longo do tempo em costões poluídos e não poluídos (A), taxa de desenvolvimento final para as duas Poluições de estudo (médias, $\pm$ erro padrão) (B). O tempo 0 corresponde à rocha nua, após a lavagem das parcelas com cloro para retirada dos fragmentos vegetais. O asterisco corresponde à diferença estatística entre as Poluições. Não há diferença entre costões. (Bal: Baleeiro, Gua: Guaecá, Ara: Araçá, Cig: Cigarras).....29
- Figura 7.** Variação da quantidade de microalgas sob exclusão de herbívoros ao longo do tempo (T0, T1 e T2). Baleeiro e Guaecá correspondem às praias não poluídas, Araçá e Cigarras correspondem às praias poluídas. Não observamos diferenças significativas entre costões rochosos ou entre tratamentos. As diferenças ao longo do tempo estão representadas com letras diferentes nos gráficos.....31
- Figura 8.** Representação NMDS para os grupos taxonômicos observados nas áreas de estudo. Araçá e Cigarras correspondem aos costões rochosos poluídos e Baleeiro e Guaecá correspondem aos costões rochosos não poluídos.....33

Sumário

Introdução.....	16
Material e Métodos.....	18
<i>Área de estudo.....</i>	18
<i>Caracterização de biofilme e lapas no gradiente de balneabilidade.....</i>	20
<i>Manipulação Experimental em Campo.....</i>	21
<i>Experimento de taxa de crescimento.....</i>	22
<i>Experimento de exclusão de lapas.....</i>	22
<i>Caracterização taxonômica das comunidades de biofilme.....</i>	23
<i>Vaiáveis meteorológicas e ocenoográficas.....</i>	24
Resultados.....	26
<i>Caracterização de biofilme e lapas no gradiente de balneabilidade.....</i>	26
<i>Manipulação Experiemntal em Campo.....</i>	29
<i>Experimento de taxa de crescimento.....</i>	29
<i>Experimento de exclusão de lapas.....</i>	30
<i>Caracterização taxonômica das comunidades de biofilme.....</i>	32
Discussão.....	33
Referências Bibliográficas.....	37
Anexos.....	44

1. Introdução

As áreas costeiras sofrem intensas pressões resultantes da ocupação urbana, pesca intensiva, expansão portuária e industrial (Halpern et al., 2008; Marandola et al., 2013). Uma consequência direta da ocupação na costa é a alta quantidade de efluentes disposta no oceano, seja pelos emissários submarinos ou despejos clandestinos diretamente nas praias (Small e Nichols, 2003). Os despejos de efluentes geralmente aportam aos ecossistemas costeiros componentes orgânicos e inorgânicos, incluindo nutrientes e resíduos industriais (Tyler e Gould, 1950). No estado de São Paulo todo o efluente que é disposto no oceano ainda não recebe tratamento adequado, passando somente por um processo de pré-condicionamento (SABESP, 2015), causando consequências para a biota local, especialmente às comunidades bentônicas (revisado em Abessa et al., 2012; Muniz et al 2015).

Dentre os impactos de despejos de efluentes em habitats costeiros, nos costões rochosos podem ser observados efeitos como aumento na mortalidade de invertebrados (Tablado et al., 1994), diminuição de sua riqueza e diversidade (Teodoro et al., 2010), perda de cobertura de organismos e crescimento excessivo de microalgas (López-Gappa et al., 1993). Transformações desta natureza podem reestruturar a dinâmica dessas comunidades induzindo novas interações que beneficiam determinadas espécies e ao mesmo tempo prejudicam outras (e.g. Pinedo et al., 2015).

O desenvolvimento de produtores primários em costões rochosos está sujeito à pastagem e à disponibilidade de substrato adequado (Menge e Sutherland, 1987). Os herbívoros geralmente controlam o desenvolvimento de produtores primários, exercendo um controle *top-down* sobre os produtores (Underwood, 1980, Menge et al., 2000). Por outro lado, aportes de nutrientes e compostos orgânicos podem atuar como fatores *bottom-up* sobre os produtores primários com consequências para os demais níveis tróficos (Posey et al., 2006). Tais interações, juntamente à competição por espaço, definem a área de forrageio e a distribuição dos organismos e, por consequência, podem influenciar a zonação dos costões rochosos (Dayton, 1971; Mackay e Underwood, 1977; Lubchenco, 1980). Outro fator determinante da zonação é o assentamento e recrutamento de organismos, que depende diretamente da presença e composição do biofilme na superfície da rocha (Thompson et al., 1998; Hutchinson et al., 2006; Shimeta et al., 2013).

O biofilme é constituído por uma matriz de polissacarídeos na qual se fixam bactérias, cianobactérias, fungos, diatomáceas, protozoários e esporos de macroalgas (Wahl, 1989; Aguilera et al., 2013). É importante notar, todavia, que a biomassa do biofilme é geralmente estimada pela concentração clorofila-*a* (Jenkins et al., 2001; Britto et al., 2013; Jackson et al., 2013) por unidade de área. A cobertura de biofilme sobre os costões rochosos obedece a determinados padrões como maior abundância nas zonas entremarés e infralitoral e sob temperaturas mais baixas, devido à sua sensibilidade à dessecação (Underwood, 1984a; Chan et al., 2003,). Estudos reportam influências de

fatores físicos e químicos sobre a distribuição e biomassa do biofilme de costões rochosos, como efeitos da temperatura, sazonalidade, velocidade do fluxo de água e topografia da rocha. Além disso, existe a influência de fatores biológicos, especialmente a presença de herbívoros pastadores (Mak e Williams, 1999; Hutchinson et al., 2006), que são igualmente relatados como importantes para o acúmulo do biofilme em costões rochosos.

O controle *bottom-up* do biofilme ocorre pela limitação por recursos, geralmente luz, espaço e nutrientes, podendo, este último, ser proveniente de efeitos antropogênicos (Rosemond et al., 2000; Coelho et al., 2009). Uma maior disponibilidade de nutrientes pode propiciar o crescimento do biofilme, podendo influenciar a abundância e estrutura da comunidade que o compõe (López-Gappa et al., 1993; Falkenberg et al., 2014). Porém, quando são adicionados matéria orgânica e nutrientes, como no caso de efluentes domésticos, podem ocorrer danos potenciais ao ecossistema local (Smith et al., 1999; Braga et al., 2000; Kemp et al., 2005). É comprovado que o biofilme absorve poluentes orgânicos acumulando-os em sua estrutura, devido à presença da matriz de polissacarídeos na qual os organismos ficam imersos (Shorer e Eisele, 1997; Sabater et al., 2007). Dessa forma, efluentes na região costeira podem levar à quedas na abundância de diatomáceas e até mesmo a seleção de *taxa* de diatomáceas tolerantes à poluição (Ivorra et al., 2002). Contudo, o efeito dos nutrientes sobre o acúmulo de biofilme deve ser considerado juntamente com a influência de seus herbívoros (Apolinario et al., 1999). Alguns trabalhos destacam a ação de pastadores como predominante sobre o desenvolvimento do biofilme em costões rochosos, em relação ao input de nutrientes (Thompson et al., 2000; Jackson et al., 2013).

A atividade e densidade de pastadores exercem uma forte pressão, não apenas a abundância, mas também a diversidade e o crescimento do biofilme (Williams et al., 2000; Kaeher e Froneman, 2002; Freidenburg et al., 2007). Outros estudos registram menores taxas de crescimento e diversidade de espécies no biofilme em maiores densidades de pastadores, sugerindo o controle de pastagem sobre o desenvolvimento e crescimento dessas comunidades (Kaeher e Froneman, 2002). Destacam-se como principais consumidores do biofilme em costões rochosos as lapas, os litorinídeos e os isópodos, que parecem ter impacto significativo sobre a cobertura de biofilme na rocha (Carefoot, 1973a; Norton et al., 1990; Sommer, 2000; Christofolletti et al., 2011).

As lapas são gastrópodes habitantes das zonas entremarés de costões rochosos. Nas regiões tropicais parecem crescer mais rápido em relação às lapas de regiões temperadas, e vivem de 2 a 60 anos dependendo da espécie e do local, atingindo maior longevidade em regiões mais frias, geralmente (Khow, 2007). Sua distribuição e atividades podem ser limitadas pela competição por espaço, ação das marés e das ondas, além da disponibilidade de alimento (Choat e Black, 1979). Alguns trabalhos reportam a importância de sua atividade sobre a distribuição do biofilme, sugerindo um aumento na área de forrageio quando há menor quantidade de biofilme disponível para alimentação, ou na presença de competidores (Shanks, 2001; Jenkins e Hartnoll, 2001). Outros estudos sugerem que as lapas apresentam uma alimentação seletiva, devido à morfologia ou

qualidade nutricional de determinadas espécies de microalgas do biofilme (Nicotri, 1977; Hill e Hawkins, 1991). Assim, destaca-se a importância da atuação das lapas sobre as comunidades de biofilme em costões rochosos e as possíveis consequências de uma mudança na disponibilidade ou na composição de biofilme sobre seu desenvolvimento.

Considerando a importância do biofilme como recurso alimentar das lapas e que os fatores que atuam sobre a dinâmica do biofilme podem influenciar direta ou indiretamente sobre os demais níveis tróficos, é essencial avaliar como os fatores alóctones influenciam essas interações. Há uma divergência em literatura sobre a predominância de fatores bottom-up ou top-down sobre a dinâmica do biofilme, além de uma escassez de estudos em regiões tropicais e subtropicais sobre tais interações. Devido ao atual cenário de ocupação humana é importante que se compreenda o efeito de impactos antrópicos sobre as comunidades costeiras. Neste cenário, as comunidades de costões rochosos, podem fornecer informações relevantes em resposta a fatores alóctones, uma vez que se encontram na interface entre os ambientes terrestre e marinho, podem ser consideradas indicadoras da qualidade do ambiente (Pinedo et al., 2007), além de serem bons modelos para estudos ecológicos (Conell, 1985; Underwood, 1980; Menge, 1995; Valdivia et al., 2013).

O presente estudo, usa lapas e biofilme como modelos, e busca avaliar alguns efeitos de despejos de efluentes na zona costeira, quantificando a biomassa de biofilme e a estrutura populacional de lapas, frente a um gradiente de despejos de efluentes. Também testamos, experimentalmente, se existe alteração no acúmulo de biofilme, e na composição da comunidade de microalgas, em áreas com e sem despejos de efluentes, sob a exclusão de lapas e em condições naturais de pastagem. Testamos as hipóteses de que os despejos de efluentes favorecem o crescimento do biofilme, porém diminui a riqueza e diversidade da comunidade, e que este crescimento pode ser controlado pela pastagem por lapas.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido na faixa do mesolitoral de costões rochosos localizados no Canal de São Sebastião (CSS), litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil. No CSS há predominância da massa de Água Costeira (AC), com a ação de correntes forçadas pelo vento (Castro, 1990). Ao longo do CSS encontram-se regiões rasas ou de reentrâncias que podem acumular materiais orgânicos. Além disso, durante o verão há aumento de pluviosidade na região (CPETEC/INPE, 2015), contribuindo com aporte de nutrientes de origem continental (Barcellos e Furtado, 1999).

Ao longo do CSS estão presentes 3 emissários submarinos, dois localizados no município de São Sebastião, nas praias de Cigarras e Araçá, e um em Ilhabela, no Saco da Capela (tabela 1) (Cetesb,

2015).

Tabela 1. Emissários submarinos presentes no Canal de São Sebastião. Fonte: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb) 2015.

Praia	Vazão (L/s)	Extensão (m)	Diâmetro (m)
Araçá	150	1,061	0,40
Cigarras	11,6	1,068	0,16
Saco da Capela	30	220	0,25

Os costões rochosos foram selecionados para nosso estudo de acordo com um gradiente de emissão de efluentes, assumindo que a análise microbiológica é um indicador da quantidade de efluentes orgânicos. Tomamos as avaliações de qualidade de praias realizadas pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb, 2015) como indicadoras da seleção. Nas avaliações realizadas pela Cetesb, as praias são classificadas a partir do resultado de análises microbiológicas para identificação de *Enterococcus* (L5212). Consideramos avaliações de três semanas consecutivas para a seleção do gradiente. Além da balneabilidade semanal, tomamos como critério as praias com costões acessíveis, de abrigados a moderadamente expostos, de modo que apresentassem um gradiente de poluição abrangente. Assim, selecionamos 11 costões rochosos para nosso estudo (tabela 2, figura 1).

Tabela 2. Áreas de estudo e suas respectivas siglas e coordenadas representadas no mapa. O gradiente de balneabilidade foi definido a partir da média de colônias de *Enterococos*/100mL de três semanas de avaliação.

Área de estudo	Latitude	Longitude	Gradiente de Balneabilidade (<i>Enterococcus</i> /100mL)
Guaecá (Gua)	23°49'12.832"S	45°28'7.921"W	1
Toque-toque Grande (Toq)	23°49'52.990"S	45°30'46.879"W	1.66
Barequeçaba (Bar)	23°49'50.066"S	45°21'55.217"W	2
Sino (Sin)	23°44'48.588"S	45°20'53.815"W	5.33
Praia Grande (Gde)	23°49'22.865"S	45°25'0.095"W	8.33
Baleeiro (Bal)	23°49'43.871"S	45°25'24.751"W	13.33
Preta do Norte (Pre)	23°49'18.152"S	45°24'39.103"W	17
Cigarras (Cig)	23°43'40.742"S	45°23'54.146"W	17.66
Itaguaçu (Ita)	23°48'4.928"S	45°21'55.289"W	21.66
Portinho (Por)	23°50'39.988"S	45°24'22.198"W	24.66
Araçá (Ara)	23°48'34.330"S	45°24'23.731"W	108.33

Figura 1. Área de estudo com detalhe para o Canal de São Sebastião na costa dos municípios de São Sebastião e Ilhabela. Os pontos correspondem aos costões rochosos amostrados e as cruzes correspondem à localização dos emissários submarinos no Canal de São Sebastião.

2.2. Caracterização de biofilme e lapas no gradiente de balneabilidade

Os 11 costões rochosos foram amostrados nas zonas entremarés, durante marés baixas de sizígia, 3 vezes entre agosto e outubro de 2014. A estimativa de biomassa do biofilme foi realizada através de cálculos do NDVI (abreviação do inglês *Normalized Difference Vegetation Index*, Índice de Vegetação por Diferença Normalizada), adaptado do método desenvolvido por Muphy e colaboradores (Murphy et al., 2005; Murphy et al., 2006; Murphy et al., 2009). O NDVI foi computado em 10 fotografias digitais de parcelas de rocha de 10x10cm, selecionadas ao acaso em cada coleta, e em todos os costões rochosos. Os quadrados foram sombreados com um rebatedor de flash, e o balanço de brancos da câmera foi padronizado com um cartão cinza 18%. Utilizamos uma câmera digital Canon, modelo elph 110hs, modificada profissionalmente de forma que o filtro original vermelho foi substituído pelo filtro infravermelho próximo (comprimentos de onda não visíveis) enquanto que o filtro azul (entre 440 e 490nm) e o filtro verde (entre 500 e 570nm) originais foram mantidos.

As fotografias para análise da biomassa de biofilme foram processadas com uma rotina escrita para o programa Matlab (script em anexo), o qual relaciona os canais de absorção (vermelho) e reflexão (infravermelho próximo- IV) pela clorofila-*a* presente nas microalgas em cada pixel da

fotografia. É importante considerar que a área da imagem processada contenha somente a fotografia da rocha.

A partir do processamento das imagens, tem-se o NDVI dado por:

$$\text{NDVI} = \text{IV+vermelho} / \text{IV-vermelho}, \quad (1)$$

onde IV corresponde ao infravermelho próximo (entre 790 e 890 nm), ondas não visíveis refletidas pelos organismos fotossintetizantes juntamente com os comprimentos de onda verdes, e o vermelho (entre 610-680 nm) corresponde aos comprimentos de onda absorvidos pela clorofila-*a*. Assim, a fórmula adaptada para a câmera usada neste trabalho é:

$$\text{NDVI} = (\text{IV+azul}) / (\text{IV-azul}) \quad (2)$$

Para o processamento das imagens, são contabilizados os valores (entre 0 e 255) de entrada em cada um dos canais – infravermelho, azul e verde – para todos os pixels presentes na imagem, e a partir destes valores o NDVI é calculado (equação 2).

O valor final observado (NDVI) é uma medida indireta de biomassa vegetal, a partir do balanço entre os comprimentos de onda absorvidos e refletidos pela molécula de clorofila-*a*. O resultado é um valor numérico que varia entre -1 e +1. Valores maiores que 0 correspondem à presença de microalgas, a ausência de vegetação tende a valores próximos ou iguais a 0, e água corresponde a valores próximos a -1 (Bryson et al., 2013). Os efeitos da coloração do substrato no valor final do NDVI não foram considerados, uma vez que o índice é pouco sensível à reflectância do mesmo (Barillé et al., 2011).

É importante considerar que tal técnica apresenta algumas limitações. Sabe-se a existência de um efeito de “empacotamento” ou sobreposição dos organismos do biofilme, que ocorre quando a estrutura do biofilme atinge determinada espessura (Barranguete et al. 2004). Os autores observaram uma correlação inversa entre luz refletida pelo biofilme e quantidade de chl-*a*. Este efeito pode limitar a inferência de biomassa de biofilme por meio de ferramentas óticas, como a aplicada no presente estudo. Além disso, o método aplicado representa somente organismos que contenham o pigmento clorofila-*a*, e parte dos componentes do biofilme não apresentam tal pigmento, como bactérias e protozoários (Wahl 1989) e, portanto, não são representados em nossa metodologia, assim como não o são para os métodos tradicionais. Entretanto, apesar das limitações, consideramos que tal metodologia oferece vantagens em relação às técnicas convencionais de extração de clorofila, por proporcionar aquisição e análise de dados mais rápidas, fáceis e não invasivas.

O tamanho e densidade de lapas, foram quantificados por análise de fotografias digitais, tiradas ao acaso na faixa do mesolitoral, geralmente na faixa de tetracitas ou ostras, em parcelas de

10x10cm na zona entremarés dos costões com câmera digital comum. O número de indivíduos registrados em cada um dos costões rochosos variou de acordo com a densidade, no entanto foi fixado um número mínimo de 40 indivíduos. Para avaliar a estrutura populacional de lapas medimos o maior comprimento da concha de cada lapa fotografada no quadrado amostral.

Analisamos os dados de balneabilidade, NDVI, tamanho e densidade de lapas entre si com análises de regressão linear. Para estes teste, todos os dados foram logaritimizados ($\log_{10}$).

2.3.Manipulação experimental em campo

Os efeitos da pastagem por lapas e das emissões de efluentes sobre o crescimento do biofilme foram avaliados em dois experimentos em blocos, realizados entre abril e junho de 2015. Selecionamos 4 costões rochosos dentre aqueles amostrados na caracterização de biofilme e lapas pertencentes ao gradiente de influência dos índices de balneabilidade (tabela 2). O critério de seleção utilizado foi a presença dos emissários submarinos (praias Araçá e Cigarras) e duas praias consideradas limpas (Baleeiro e Guaecá).

2.3.1.Experimento de taxa de desenvolvimento do biofilme

Afim de investigar a variação do acúmulo do biofilme ao longo do tempo e sua taxa de desenvolvimento, amostramos 5 parcelas de rocha de 10x10 cm (tratamento), limpos com cloro 3% para retirar os fragmentos vegetais. As réplicas controle consistiram em parcelas não manipuladas de mesmo tamanho, sempre amostradas em bloco junto as parcelas controle. Neste experimento todos os tratamentos foram expostos a condições naturais de pastagem por herbívoros. Todas as réplicas foram fotografadas no dia da montagem do experimento (t_0), e monitoradas em 5 amostragens subsequentes, aproximadamente a cada 10 dias, sempre nos períodos de maré baixa de sizígia. No final do experimento retiramos amostras para análise taxonômica de microalgas, somente das parcelas do tratamento. Para as amostras de taxonomia de microalgas presentes no biofilme, raspamos três vezes uma mesma área de 3x3cm de rocha, com o auxílio de uma escova de dentes macia (semelhante ao proposto por MacLulich, 1987). Para a retirada do material retido, a escova foi agitada em frasco (60mL) com 1,2mL de glutaraldeído 25%, e água do mar filtrada em poro de 0,2 μ m. A comunidade original de microalgas presente no biofilme foi visualizada em amostras piloto retiradas das mesmas parcelas selecionadas como tratamento.

A taxa de desenvolvimento do biofilme ao longo do tempo foi analisada com ANOVA multifatorial de medidas repetidas considerando tratamentos (raspagem e não manipulado), Poluições (poluído e não poluído), costões (Araçá, Cigarras, Baleeiro e Guaecá) e tempo (medida de repetição). Testamos a premissa de esfericidade com teste de Mauchly, se a premissa não fosse atendida, os dados foram corrigidos com análise multivariada de Wilks. Além da variação temporal,

também testamos a taxa de desenvolvimento final (média $(NDVI_{t_i} - NDVI_{t_i-1})/n^\circ$ dias em campo) com ANOVA multifatorial (testando Poluição, costões e tratamentos, que correspondem às áreas limpas e áreas não manipuladas). Os dados de taxa de desenvolvimento apresentaram desigualdade de variâncias (teste de Cochran) e, portanto, foram transformados $(\sqrt{x+1})$.

2.3.2. Experimento de exclusão de lapas

Para avaliar a influência da pastagem pelas lapas amostramos 5 parcelas delimitadas por gaiolas plásticas de 10x10cm, com laterais fechadas com tela de malha de 2mm. A parte superior das gaiolas não foi fechada, permitindo a pastagem por herbívoros ágeis como as lígias. Determinamos 5 réplicas para controle do aparato experimental, e 5 parcelas não manipuladas. O controle do aparato consistiu na instalação de gaiolas semelhantes às do tratamento, porém com duas laterais abertas permitindo a pastagem por lapas. Todos os tratamentos e controle foram fotografados no início ($t_0=0$), meio ($t_1=40$ dias) e fim ($t_2= 60$ dias) para monitorar o desenvolvimento do biofilme nas parcelas amostrais.

Avaliamos o efeito da pastagem por lapas e o desenvolvimento do biofilme através de ANOVA multifatorial de medidas repetidas considerando tratamentos (exclusão, controle e não manipulado), Poluições (poluído e não poluído), costões (Araçá, Cigarras, Baleeiro e Guaecá) e tempo (medida de repetição). Testamos a premissa de esfericidade com teste de esfericidade de Mauchly, quando tal premissa não foi atendida os dados foram corrigidos com análise multivariada de Wilks.

2.3.3. Caracterização taxonômica das comunidades de biofilme

Para a análise taxonômica de microalgas, utilizamos câmaras de utermohl com torre de sedimentação de 2, 5 ou 10 mL, dependendo da densidade de microalgas em cada amostra. Realizamos análises qualitativas e quantitativas em microscópio ótico invertido equipado epifluorescência Zeiss modelo Observer.D1. O instrumento permite a visualização das amostras sob luz em 488 nm (azul), a fim de causar fluorescência dos pigmentos dos organismos fotossintetizantes, que podem então ser contabilizados. Especificamente para 488 nm, os pigmentos de ficoeritrina (presentes apenas nas cianobactérias) fluorescem em laranja, enquanto a clorofila-*a* (presentes em todos os organismos fotossintetizantes) fluorescem em vermelho. Assim, pudemos discriminar as cianobactérias dos demais organismos, que é um grupo com contribuição significativa na composição do biofilme (e.g. Nagarkar e Williams, 1997). No mesmo microscópio através de luz comum, realizamos a identificação em nível taxonômico mais refinado possível das diatomáceas, baseado principalmente na literatura de Round et al. (1990). Em nossas análises, consideramos somente as células maiores que 20 μ m, denominada microfítobentos, pois permitiram melhor resolução para a

identificação. Para todas as contagens foi considerado um mínimo de 400 células ou a observação de 40 campos aleatórios.

Para os cálculos de densidade total e densidade relativa para cada táxon consideramos a área raspada na rocha, a área e volume da câmara de contagem bem como o volume do frasco de diluição das amostras. A partir dos dados de densidade calculamos o índice de diversidade de Shannon-Wiener, dominância e similaridade. Além disso, comparamos a densidade de grupos taxonômicos das comunidades com PERMANOVA de um fator (costões) seguido de escalonamento multidimensional não métrico (nmds). Aplicamos análise SIMPER para avaliar a contribuição relativa dos grupos taxonômicos para os agrupamentos entre os costões rochosos.

2.4. Variáveis meteorológicas e oceanográficas

Consideramos como variáveis a temperatura do ar, precipitação e radiação solar tomados da base de dados da estação meteorológica do Centro de Biologia Marinha da USP (CEBIMar-USP, 23°49'40.5''S e 45°25'22''W), a temperatura da água do mar tomados da base de dados da bóia meteo-oceanográfica do SIMCosta (Sistema de Monitoramento Costeiro, 23°49'50.1''S e 45°25'19.8''W disponível em <http://www.simcosta.furg.br/portal/>), instalada nas proximidades do CEBIMar. As condições atmosféricas e oceanográficas apresentaram pouca variação durante o período experimental. Porém notamos uma queda nos níveis de precipitação e de radiação solar ao final do experimento, o segundo em concordância com a aproximação do inverno (figura 2).

Em cada coleta, foram tomados dados de fluorescência de cdom (abreviação em inglês de colored dissolved organic matter, matéria orgânica dissolvida colorida) e fluorescência da clorofila-*a* (chl-*a*) com fluorímetros de campo (modelo ÁguaFluor – Turner Designs). Os dados de cdom foram tomados afim de verificar a presença de material orgânico na coluna d'água como inferência para a matéria orgânica que atinge os costões rochosos. As medidas de fluorescência de clorofila-*a* permitiram inferir as condições propícias para a produtividade primária local. Embora o cdom represente somente a parte colorida da matéria orgânica, as medidas tomadas foram consideradas como indicadores da matéria orgânica dissolvida total (Vodacek et al., 1995, Kutser et al., 2005).

Para fluorescência de clorofila-*a* e de cdom, coletamos 3 amostras de água do mar próximas aos costões em vials escuros de 20 mL. No caso da fluorescência da clorofila-*a*, as amostras foram previamente aclimatadas por 30 min no escuro e lidas no fluorímetro em cubeta de acrílico para quantificar a fluorescência da chl-*a*, e, em seguida, filtradas em filtro GF-F (poro nominal de 0,7µm) para leitura dos brancos, para que fosse eliminada a influência de partículas dissolvidas sobre a fluorescência e do cdom. Correlações entre as variáveis cdom, chl-*a*, densidade, NDVI e tamanho de lapas foram investigadas através de teste de correlação de Pearson. Mesmo nos casos em que os dados apresentaram heterogeneidade de variâncias mesmo após a transformação, foram aplicados

testes paramétricos (Underwood, 1997). Para todos os testes foi considerado nível de significância de 5%.

Figura 2. Temperatura do ar e do mar, níveis de precipitação, e radiação solar na região durante o período de experimentos.

3. Resultados

3.1. Caracterização de biofilme e lapas no gradiente de balneabilidade

Os padrões de NDVI ou tamanho de lapas não obedeceram ao gradiente de balneabilidade estabelecido para os costões rochosos amostrados (NDVI: $r=0,06$; $r^2=0,003$; $p=0,8$; tamanho de lapas: $r=0,09$; $r^2=0,09$; $p=0,6$) (figura 3). O NDVI não influenciou sobre o tamanho ($r=-0,1$; $r^2=0,02$; $p=0,6$) ou sobre a densidade de lapas ($r=0,4$; $r^2=0,2$; $p=0,1$) (figura 4). Também não observamos influência da balneabilidade ($r=0,08$; $r^2=0,007$; $p=0,8$) ou do tamanho de lapas ($r=-0,4$; $r^2=0,1$; $p=0,1$) em sua densidade populacional (figura 4).

Analisando a estrutura populacional de lapas, observamos que, em geral, as praias mais limpas apresentaram frequência de tamanho de lapas menores, enquanto que algumas das praias mais poluídas apresentam maiores tamanhos de lapas (figura 5).

Figura 3. Representação dos valores de NDVI e tamanho de lapas de acordo com a balneabilidade, representada por medidas de Enterococos, nos costões rochosos amostrados (UFC: Unidade Formadora de Colônia).

Figura 4. Distribuição das medidas de tamanho e densidade de lapas, entre si, e de acordo com NDVI e balneabilidade (representada por Enterococos). (UFC: Unidade Formadora de Colônia).

Figura 5. Distribuição populacional de lapas em classes de tamanho nas áreas de estudo. Todas as lapas amostradas se localizavam na região do mesolitoral, região das *Tetraclitas* ou das ostras, de acordo com sua ocorrência nos costões rochosos.

3.2. Manipulação experimental em campo

3.2.1. Experimento de taxa de desenvolvimento de biofilme

A variação do NDVI ao longo do tempo apresentou diferença entre os costões rochosos, embora as oscilações sejam similares entre eles (figura 6A). Observamos maiores diferenças ao longo do tempo e entre as áreas raspadas e não manipuladas (tabela 3). Tais diferenças eram esperadas já que no tempo inicial e nas parcelas raspadas, a cobertura de biofilme foi removida para que seu crescimento fosse acompanhado. Entretanto as diferenças entre costões rochosos poluídos e não poluídos também foram significativas, evidenciando a influência do fator poluição mais que o efeito dos tratamentos. Além do desenvolvimento ao longo do tempo, a taxa em que o biofilme se desenvolveu foi maior nas áreas poluídas em relação às não poluídas (figura 6B, tabela 4).

Os valores indicados pelas medidas de fluorescência de cdom e clorofila-a, ilustram o aumento dessas duas variáveis ao longo do período experimental, porém não observamos correlações entre tais variáveis e o NDVI.

Figura 6. Desenvolvimento de biofilme ao longo do tempo em costões poluídos e não poluídos (A), taxa de desenvolvimento final para as duas Poluições de estudo (médias, $\pm$ erro padrão) (B). O tempo 0 corresponde à rocha nua, após a lavagem das parcelas com cloro para retirada dos fragmentos vegetais. O asterisco corresponde à diferença estatística entre as Poluições. Não há diferença entre costões. (Bal: Baleeiro, Gua: Guaecá, Ara: Araçá, Cig: Cigarras).

Tabela 3. Resultados da ANOVA de medidas repetidas do crescimento de biofilme ao longo do tempo (medida de repetição) em costões poluídos e não poluídos (fator poluição), em condições de parcelas raspadas e parcelas sem manipulação (tratamento) (gl: grau de liberdade, QM: quadrado médio). *Dados corrigidos pela análise Wilks.

Fonte	Biofilme			
	gl	QM	F	P
Tratamento = Tr	1	0,174	11,6	0,001
Poluição = Po	1	0,666	44,4	<0,0001
Costão(Poluição) = Co(Po)	2	0,029	1,9	0,15
Poluição*Tratamento	1	0,113	7,5	<0,001
Tr*Co(Po)	2	0,009	0,6	0,55
Resíduo	32	0,015		
Tempo	4	0,460	77,1	<0,0001
Te*Po	4	0,011	1,8	0,12
Te*Co(Po)	8	0,010	1,7	0,09
Te*Tr*Po	4	0,003	0,5	0,70
Tr*Te	4	0,010	1,7	0,13
Te*Co(Po)*Tr	8	0,001	0,1	0,99
Resíduo	128	0,005		
Teste de Mauchly	$\chi^2 = 13,1$ (p=0,1)			

Tabela 4. Anova fatorial para taxa de desenvolvimento de biofilme entre os costões rochosos categorizados entre poluídos e não-poluídos, em parcelas raspadas e sem manipulação (tratamento) (*desigualdade de variâncias).

Fonte	Taxa de desenvolvimento			
	gl	QM	F	P
Tratamento = Tr	1	0,000004	1,59	0,21
Costão(Poluição) = Co(Po)	2	0,000004	1,90	0,16
Poluição = Ca	1	0,000013	6,10	0,01
Tr*Ca	1	0,000002	1,06	0,30
Tr*Co(Po)	2	0,00	0,016	0,98
Resíduo	32	0,000002		
Teste de Cochran	C= 0,34 (*)			

3.2.2. Experimento de exclusão

No início do experimento de exclusão de lapas, os valores de NDVI apresentaram-se similares em todos os costões rochosos, aumentando ao longo do período experimental (figura 7). As áreas poluídas apresentaram maiores valores de NDVI, embora essa diferença tenha sido marginalmente significativa (p=0,05) (tabela 5). Considerando que as parcelas de exclusão e controle não apresentaram diferença estatística para os valores de NDVI, podemos afirmar que não foi observado efeito significativo das lapas sobre a cobertura do biofilme, e que nosso aparato experimental não influenciou sobre os resultados.

Figura 7.Variação da quantidade de microalgas (estimada por NDVI) sob exclusão de herbívoros ao longo do tempo (T0, T1 e T2). Baleeiro e Guaecá correspondem às praias não poluídas, Araçá e Cigarras correspondem às praias poluídas. Não observamos diferenças significativas entre costões rochosos ou entre tratamentos. As diferenças ao longo do tempo estão representadas com letras diferentes nos gráficos.

Tabela 5. Comparação do NDVI em tratamentos sob exclusão de lapas e controle, por meio de ANOVA de medidas repetidas. Foram testados os fatores poluição (costões poluídos e não poluídos) e tratamentos ao longo do tempo. (gl: grau de liberdade, QM: quadrado médio, ***p<0,0001, ns: não significativo).

Fonte	Biofilme			
	gl	QM	F	P
Tratamento = Tr	2	0,0034	0,3	0,71
Poluição = Po	1	0,0390	3,8	0,05
Costão(Poluição) = Co(Po)	2	0,0019	0,1	0,82
Poluição*Tratamento	2	0,0020	0,1	0,82
Tr*Co(Ca)	4	0,0172	1,6	0,16
Resíduo	48	0,0101		
Tempo	2	0,5635	149,8	<0,0001
Te*Ca	2	0,0112	2,9	0,05
Te*Co(Ca)	4	0,0057	1,5	0,20
Te*Tr*Ca	4	0,0013	0,3	0,84
Tr*Te	4	0,0004	0,1	0,97
Te*Co(Ca)*Tr	8	0,0033	0,8	0,53
Resíduo	96	0,0037		
Teste de Mauchly		$\chi^2 = 5,31$ (p=0,07)		

3.2.3. Caracterização taxonômica das comunidades de biofilme

Foram observados 71 morfotipos de diatomáceas, sendo que, destes, 69 correspondem à diatomáceas penadas (Anexo B). As cianobactérias foram somente quantificadas, embora tenham alguns gêneros tenham sido identificados, foram todos agrupados pela dificuldade em identificar a maioria deles. Os principais grupos de diatomáceas observados foram *Navicula* sp. 1, e quatro outros morfotipos pertencentes à Ordem Naviculales. Além disso, em menor abundância, observamos representantes dos gêneros *Achnanthes*, *Nitzschia*, *Pinularia*, *Licmophora*, *Synedra*, *Cymbella*, *Coconeis*, *Pleurosigma*, *Thalasiosira*, *Entomoneis*, *Cosmioneis* e *Amphora*. Em geral as diatomáceas predominaram em relação às cianobactérias.

As amostras do Araçá apresentaram maior riqueza e diversidade de *taxa* em relação aos demais costões rochosos (tabela 6), o que coincide com a maior taxa de desenvolvimento de biofilme ($p < 0,05$). Observamos diferença significativa entre os costões rochosos em relação à densidade de microalgas (tabela 7), exceto entre Guaecá e Cigarras ($p = 0,08$), os quais apresentaram as menores densidades observadas. Assim, quando comparamos os costões rochosos quanto à similaridade de grupos taxonômicos (densidade), observamos dois agrupamentos, um agrupamento entre Cigarras e Guaecá e outro entre Araçá e Baleeiro (figura 8). Os grupos de diatomáceas que mais contribuíram para os agrupamentos foram as Cianobactérias, seguidas de *Navicula* sp.1, e *Nitzschia* sp.1 (Anexo B). Quando comparamos a composição de espécies dentro de cada uma das áreas, observamos maior similaridade de grupos taxonômicos entre as parcelas amostradas no costão rochoso do Araçá, o que também é possível observar no agrupamento nmds (figura 8).

Tabela 6. Variáveis das comunidades de biofilme nos costões rochosos estudados.

	Araçá	Cigarras	Baleeiro	Guaecá
Densidade total (cel/cm ²)	1871,5	204,7	4741,5	409,5
Riqueza (nº de taxa)	49	21	42	33
Diversidade (H')	2,13	1,14	1,93	1,84
Dominância (D)	0,23	0,5	0,23	0,23

Tabela 7. PERMANOVA de um fator para densidade (cel/cm²) de microalgas entre os costões rochosos.

Fonte	Densidade de microalgas			
	gl	QM	F	P
Costão	3	8264,7	4,8	0,001
Resíduo	16	1718,3

Figura 8. Representação NMDS para os grupos taxonômicos observados nas áreas de estudo. Araçá e Cigarra correspondem aos costões rochosos poluídos e Baleeiro e Guaecá correspondem aos costões rochosos não poluídos.

4. Discussão

Nossos resultados confirmam a hipótese de que costões rochosos com despejos de efluentes apresentam um desenvolvimento de seu biofilme mais acelerado. Nesses locais impactados, entretanto, as lapas parecem não ter controle significativo de pastagem. Entretanto refutamos a hipótese de que o tamanho das lapas e o biofilme obedece a um gradiente de despejos de efluentes.

Um maior desenvolvimento de biofilme em costões rochosos, em resposta a despejos de efluentes, também foi demonstrado por Littler e Murray, 1975; Lopez-Gappa et al., 1990 e Sanz-Lazaro et al., 2015. É importante ressaltar que os dois costões rochosos mais poluídos são mais abrigados em relação aos demais, fato que pode levar a um maior acúmulo de biofilme, como já mostrado em outros trabalhos (Jenkins e Hartnoll, 2001; Jackson et al., 2010). Assim, o fator exposição pode também ter influenciado os resultados observados.

Observamos uma variação temporal da biomassa do biofilme, estimada pelo NDVI, em ambos os experimentos e em todos os costões rochosos, com padrão semelhante, mostrando um aumento entre o início e meio dos experimentos, seguidos de uma estabilização nos valores. Assim, é possível que outros fatores tenham contribuído para tais variações, além daqueles derivados pelos despejos de efluentes. Esses fatores poderiam ser mudanças na radiação solar ou nas taxas de precipitação, que foram observadas ao longo do período experimental. Alguns autores observaram uma correlação negativa entre abundância de microalgas no biofilme e tempo de incidência solar (Guasch e Sabater, 1995), o que poderia sugerir o efeito observado no final do experimento, no qual

ocorreu um aumento significativo no biofilme, que coincide com queda gradual nos níveis de radiação solar. Tal fato provavelmente se deve ao processo de fotoinibição, bastante conhecido para microalgas do plâncton, e também registrado para organismos de microfitobentos (Serôdio et al., 2008).

Embora alguns estudos mostrem claramente o controle das lapas por pastagem sobre o crescimento do biofilme (Underwood, 1984b; Benedetti-Cecchi et al., 2001; Thompson et al., 2005), não observamos tal efeito. É importante considerar que alguns dos trabalhos que mostraram esse padrão foram desenvolvidos em regiões temperadas, onde as lapas atingem um maior tamanho em relação às daquelas da região de estudo. Além disso, a densidade de lapas nos locais de estudo pode não ser alta o suficiente para que seu consumo tenha efeito significativo sobre a cobertura de biofilme na rocha.

As gaiolas utilizadas no experimento de exclusão permitiram a pastagem por herbívoros como os isópodes, os quais poderiam consumir o biofilme dentro das parcelas de exclusão em taxas semelhantes às parcelas controle, influenciando os resultados. Já é confirmado um maior efeito dos isópodes sobre o consumo de biofilme em relação aos gastrópodes pastadores (Christofoletti et al., 2011). Todavia, observamos poucos isópodes nas regiões em que desenvolvemos os experimentos.

O consumo de biofilme pode ser não exclusivo para a alimentação das lapas. Análises de conteúdo estomacal de lapas registram a presença de detritos inorgânicos, macroalgas e resíduos de animais (Branch, 1981; Burgos-Rubio et al., 2015). Em um dos costões rochosos observamos o desenvolvimento de macroalgas do gênero *Ulva* em algumas réplicas do tratamento de exclusão de lapas. A ocorrência deste gênero de macroalga é proposta em literatura como sucessora de comunidades de biofilme (e.g. Castenholz, 1961; Firstater et al., 2012), e como espécie ocorrente em áreas sob condições de enriquecimento orgânico ou na ausência de herbívoros (Vineuza et al., 2015). Assim, pode ser que ocorra um processo de consumo seletivo pelas lapas sobre propágulos de macroalgas em locais que apresentam condições propícias ao crescimento das mesmas, como já mostrado em alguns trabalhos (Underwood, 1980; Underwood e Jernakof, 1981).

Os grupos taxonômicos de microalgas observados, não diferiram significativamente entre os costões rochosos, e coincidem com aqueles registrados em comunidades de biofilme tanto de regiões tropicais (Williams et al., 2000; Timoner et al., 2014) como temperadas (Castenholz, 1963; Hill e Hawkins, 1991; Kelly e Whitton, 1995; Hillebrand e Sommer, 1997), embora tais estudos tenham incluído células de tamanhos menores para a identificação. Alguns trabalhos registraram que a comunidade de microalgas do biofilme se estabelece sobre a rocha em poucas semanas, tanto em regiões temperadas (Aguilera et al., 2013b) como subtropicais (MacLulich, 1986; Murphy et al., 2005; Murphy e Underwood, 2006). É importante ressaltar que em amostragens piloto seguidas de análise taxonômica, anteriores ao início do experimento, mostraram que a comunidade original era mais densa, sugerindo que os 60 dias do experimento não foram suficientes para que a comunidade voltasse ao original. Todavia, se espera que essas comunidades sejam bastante dinâmicas e ainda

não existem estudos suficientes que nos indiquem que uma comunidade é mais madura ou estabelecida que outra.

No costão rochoso do Araçá, um dos costões rochosos classificados como poluídos, observamos a maior diversidade e riqueza de microalgas dentre todas as áreas amostradas. Em nossas áreas de estudo, este resultado pode estar relacionado à localização do costão rochoso em uma baía, que propicia um acúmulo de material orgânico e nutrientes na região próxima ao costão rochoso, proveniente da entrada da maré e do hidrodinamismo local. O canal de São Sebastião é relativamente oligotrófico quando comparado às condições da baía em questão, além da possibilidade de retorno de material orgânico e nutrientes provenientes do emissário submarino (Gubitoso et al., 2008). Johnston e Roberts (2009) afirmam que todos os trabalhos revisados associaram enriquecimento orgânico com aumento na diversidade de espécies. Isso pode ocorrer pois em locais onde há falta de nutrientes, um input pode aumentar os recursos, aumentando a produtividade primária e a heterogeneidade de habitats, com consequente aumento na diversidade. Por outro lado, a menor densidade e riqueza de microalgas foi observada no costão rochoso de Cigarras, também classificado como poluído, o que torna inconclusivo o efeito dos despejos de efluentes sobre a diversidade. Neste costão rochoso, observamos uma maior densidade de cianobactérias em comparação aos demais costões rochosos, parece concordar com a ocorrência desse grupo em áreas com aportes orgânicos (Littler e Murray, 1975). Nesta área há um aporte continental (córrego Mãe Isabel) contribuindo com material orgânico de origem terrestre. A alta correlação entre chl-*a*, cdom e densidade de microalgas comprova uma influência de compostos orgânicos, possivelmente provenientes dos despejos. Schorer e Eisele (1997) observaram que o acúmulo de hidrocarbonetos é maior no biofilme em relação ao sedimento, o que poderia proporcionar maior aproveitamento de componentes orgânicos por parte dos organismos.

Os agrupamentos observados, Araçá e Baleeiro e Cigarras e Guaecá, correspondem à semelhança em diversidade e densidade de microalgas entre as áreas. Provavelmente tais semelhanças entre os costões rochosos se devem à sua localização no CSS. Guaecá e Cigarras se localizam nas extremidades do CSS, recebendo maior aporte de águas de fora do CSS, enquanto que Araçá e Baleeiro se localizam no meio do CSS (figura 1). Estudos sobre comunidades fitoplanctônicas, na mesma região do presete estudo, observaram uma maior contribuição de espécies de microfitobentos nas amostras da baía quando em comparação com outras regiões do CSS (Tocci et al. 2016 *in press*). Assim, podemos inferir que há possibilidade de contribuição de espécies do microfitobentos para a composição do biofilme e isso também pode contribuir para a alta diversidade no costão rochoso do Araçá.

O despejo de efluentes otimizou o desenvolvimento do biofilme, porém a pastagem por lapas não apresentou controle significativo sobre seu acúmulo, que provavelmente é maior que sua taxa de pastagem. Também não observamos efeito dos efluentes sobre a densidade ou estrutura populacional das lapas. Assim podemos inferir que os despejos não estão prejudicando a relação

entre o biofilme e as lapas e que a população de lapas se mantêm, o que, possivelmente não causa prejuízo para seus consumidores. Além disso, é importante considerar a alta variabilidade que as comunidades de biofilme apresentam em pequena escala de tempo e espaço. As comunidades variam em abundância e distribuição de acordo com a rugosidade do substrato, altura da rocha ou sazonalmente (Hill e Hawkins, 1991; Nagarkar e Williams, 1999; Hutchinson et al., 2006; Jackson et al. 2010), o que pode dificultar tanto estimativas de biomassa e estimativas de consumo por herbívoros, quanto as causas de tais variações.

Não observamos padrões quanto à densidade e composição de microalgas em relação aos despejos de efluentes, e os grupos observados coincidem aqueles registrados em outros costões rochosos. Houveram indícios do aumento da diversidade e riqueza de microalgas presentes no biofilme sob a influência de efluentes, pois observamos, respectivamente, os maiores valores e menores valores nos dois costões rochosos poluídos. Nossos resultados apontam uma possível característica diferente sobre a composição do biofilme já registrada em regiões tropicais, a qual mostra uma dominância de cianobactérias em determinadas estações do ano. Entretanto, são necessárias amostragens sazonais para maiores conclusões. Assim, as observações sobre o efeito dos efluentes sobre riqueza e diversidade de microalgas foram inconclusivas.

Estudos apontam que invertebrados bentônicos, aqui tendo as lapas como modelo, podem ser bons indicadores de impacto por efluentes (Espinosa et al. 2007), bem como a aplicação de comunidades de diatomáceas (gênero *Nitzschia* spp., por exemplo) como bioindicadoras de poluição orgânica (Kelly & Whitton 1995). Assim, ressaltamos a importância de trabalhos com abordagens sobre a aplicação de comunidades bentônicas para observação de possíveis impactos ambientais. Além disso, é essencial que se entenda a dinâmica e composição das comunidades de biofilme e as relações de herbivoria em costões rochosos. Embora não observamos efeito dos efluentes nos organismos modelo deste estudo, em diversos outros âmbitos já foi observado efeito dos despejos de efluentes não tratados sobre o ambiente e a biota, o que mostra necessária uma melhor administração sobre os despejos em regiões costeiras.

5. Referências Bibliográficas

- Abessa, D.M.S.; Rachid, B.R.F.; Moser, G.A.O.; Oliveira, A.J.F.C. Environmental effects of sewage oceanic disposal by submarine outfalls: a review. **O mundo da saúde**, v.36, p. 643-661. 2012.
- Aguilera, M.A.; Navarrete, A.S.; Broitman, B.R. Differential effects of grazer species on periphyton of a temperate rocky shore. **Marine Ecology Progress Series**, v.484, p.63-78. 2013.
- Apolinario, M.; Coutinho, R.; Baeta-Neves, M.H. Periwinkle (Gastropoda: Littorinidae) habitat selection and its impact upon microalgal populations. **Revista Brasileira de Biologia**, v.59, p.211-218. 1999.
- Ballantine, W.J. A biologically-defined exposure scale for the comparative description of rocky shores. **Field Study**, v.1, p.73-84. 1961.
- Barcellos, R.L.; Furtado, V.V. Processo sedimentary atual e a distribuição de carbon e nitrogênio orgânicos no Canal de São Sebastião (SP) e plataforma continental interna adjacente. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v.47, p.207-221. 1999.
- Barillé, L.; Mouget, J.L.; Méléder, V.; Rosa, P.; Jesus, B. Spectral response of benthic diatoms with different sediment backgrounds. **Remote Sensing of Environment**, v.115, p.1034-1042. 2011.
- Barranguet, C.; Beusekom, S.A.M.; Veuger, B.; Neu, T.R.; Manders, E.M.M.; Sinke, J.J.; Admiraal, W. Studying undisturbed autotrophic biofilms: still a technical challenge. **Aquatic Microbial Ecology**, v.34, p.1-9. 2004.
- Benedetti- Cecchi, L.; Bulleri, F.; Acunto, S.; Cinelli, F. Scales of variation in the effects of limpets on rocky shores in the northwest Mediterranean. **Marine Ecology Progress Series**, v.209, p.131-141. 2001.
- Braga, E.; Bonetti, C.V.D.H.; Burone, L.; Bonetti-Filho, J. Eutrophication and bacterial pollution caused by industrial and domestic wastes at the Baixada Santista Etuarine System-Brazil. **Marine Pollution bulletin**, v.40, p.165-173. 2000.
- Branch, G.M. The Biolog of limpets: Physical Factors, Energy Flow, and Ecological Interactions. **Oceanography and Marine Biology**, v.19, p.235-380. 1981.
- Bryson, M.; Johnson-Roberson, M.; Murphy, R.J.; Bongiorno, D. Kite Aerial Photography for Low-Cost, Ultra-high Spatial Resolution Multi-Spectral Mapping of Intertidal Landscapes. **PlosOne**, v.8, p.1-15. 2013.
- Brito, A.C.; Benyoucef, I.; Jesus, B.; Brotas, V.; Gernez, P.; Mendes, C.R.; Launeau, P.; Dias, M.P.; Barillé, L. Seasonality of microphytobenthos revealed by remote-sensing in a South European estuary. **Continental Shelf Research**, v.66, p.83-91. 2013.
- Burgos-Rubio, V.; Rosa, J.D.; Altamirano, M.; Espinosa, F. The role of patellid limpets as omnivorous grazers: a new insight into intetidal ecology. **Marine Biology**, v.162, p.2093-2106. 2015.
- Carefoot, T.H. Feeding, food preference, and the uptake of food energy by supralittoral isopod *Ligia pallasii*. **Marine Biology**, v.18, p.228-236. 1973a.
- Castenholz, R.W. The effect of grazing on marine littoral diatom populations. **Ecology**, 42: 783-794. 1961.
- Castenholz, R.W. An experimental study of the vertical distribution of littoral marine diatoms.

Limnology and Oceanography, v.8, p.450-462. 1963.

Castro, B.M. Wind driven currents in the Channel of Sao Sebastiao: winter, 1979. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v.38, p.111-132. 1990.

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb), 2015, disponível em : <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Praias/21-Emissários-Submarinos>. Acesso em 09 de janeiro de 2015.

Chan, B.K.K.; Chan, W.K.S.; Walker, G. Patterns of biofilm succession on a sheltered rocky shore in Hong Kong. **The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v.19, p.371-380. 2003.

Choat, J.H.; Black, R. Life histories of limpets and the limpet-laminarian relationship. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.41, p.25-50. 1979.

Christofolletti, R.A.; Almeida, T.V.V.; Ciotti, A.M. Environmental and grazing influence on spatial variability of intertidal biofilm o subtropical rocky shores. **Marine Ecology Progress Series**, v.424, p.15-23. 2011.

Coelho, H.; Vieira, S.; Serôdio, J. Effects of desiccation on the photosynthetic activity of intertidal microphytobenthos biofilms as studied by optical methods. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.381, p.98-104. 2009.

Connell, J.H.; The consequences of variation in initial settlement vs. post-settlement mortality in rocky intertidal communities. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.93, p.11-45. 1985.

Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos/Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (CPTEC/INPE), 2015. Disponível em: <http://www.cptec.inpe.br/>. Acesso em 14 de agosto de 2015.

Dayton, P.K. Competition, disturbance and community organization: the provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. **Ecological Monographs**, v.41, p.351-389. 1971.

Espinosa, F.; Guerra-García, J.M.; García-Gómez, J.C. Sewage pollution and extinction risk: an endangered limpet as a bioindicator? **Biodiversity and Conservation**, v.16, p.377-397. 2007.

Falkenberg, L.J.; Connell, S.D.; Russell, B.D. Herbivory mediates the expansion of an algal habitat under nutrient and CO₂ enrichment. **Marine Ecology Progress Series**, v.497, p.87-92. 2014.

Firstater, F.N.; Hidalgo, F.J.; Lomovasky, B.J.; Iribarne, O.O. Grazing and nutrients effects on a high rocky intertidal of the Peruvian central coast. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.422-423, p.9-13. 2012.

Freidenburg, T.L.; Menge, B.A.; Halpin, P.M.; Webster, M.; Sutton-Grier, A. Cross-scale variation in top-down and bottom-up control of algal abundance. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.347, p.8-29. 2007.

Guasch, H.; Sabater, S. Seasonal variations in photosynthesis-irradiance responses by biofilms in Mediterranean streams. **Journal of Phycology**, v.31, p.727-735. 1995.

Gubitoso, S.; Duleba, W.; Teodoro, A.C.; Prada, S.M.; Rocha, M.M.; Lamparelli, C.C.; Bevilacqua, J.E.; Moura, D.O. Estudo geoambiental da região circunjacente ao emissário submarine de esgoto do Araçá, São Sebastião (SP). **Revista Brasileira de Geociências**, v.38, p.467-475. 2008.

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.948-952. 2008.

Hill, A.S.; Hawkins, J. Seasonal and spatial variation of epilithic microalgal distribution and abundance and its ingestion by *Patella vulgata* on a moderately exposed rocky shore. **Journal of Marine Biology**, v.71, p.403-423. 1991.

Hillebrand, H.; Sommer, U. Response of epilithic microphytobenthos of the Western Baltic Sea to *in situ* experiments with nutrient enrichment. **Marine Ecology Progress Series**, 160: 35-46. 1997.

Hutchinson, N.; Nagarkar, S.; Aitchison, J.C.; Williams, G.A. Microspatial variation in marine biofilm abundance on intertidal rock surfaces. **Aquatic Microbial Ecology**, v.42, p.187-197. 2006.

Ivorra, N.; Hettelaar, J.; Kraak, M.H.S.; Sabater, S.; Admiraal, W. Responses of biofilms to combined nutrient and metal exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.21, p.626-632. 2002.

Jackson, A.C.; Murphy, R.J.; Underwood, A.J. Biofilm on rocky shores: Influences of rockpools, local moisture and temperature. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.443, p.46-55. 2013.

Jackson, A.C.; Underwood, A.J.; Murphy, R.J.; Skilleter, G.A. Latitudinal and environmental patterns in abundance and composition of epilithic microphytobenthos. **Marine Ecology Progress Series**, v.417, p.27-38. 2010.

Jenkins, S.R.; Arenas, F.; Arrontes, J.; Bussell, J.; Castro, J.; Coleman, R.A.; Hawkins, S.J.; Kay, S.; Martínez, B.; Oliveros, J.; Roberts, M.F.; Souza, S.; Thompson, R.C.; Hartnoll, R.G. European –scale analysis of seasonal variability in limpet grazing and microalgal abundance. **Marine Ecology Progress Series**, v.211, p.193-203. 2001.

Jenkins, S.R.; Hartnoll, R.G. Food supply, grazing activity and growth rate in the limpet *Patella vulgata* L.: a comparison between exposed and sheltered shores. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.258, p.123-139. 2001.

Johnston, E.L.; Roberts, D.A. Contaminants reduce the richness and evenness of marine communities: A review and meta-analysis. **Environmental Pollution**, v.157, p.1745-1752. 2009.

Kaehler, S.; Froneman, P.W. Herbivore-mediated increase in the photosynthetic capacity of marine biofilms: indirect effects of changing microalgal assemblage composition. **Marine Ecology Progress Series**, v.234, p.15-22. 2002.

Kelly, M.G.; Whitton, B.A. The trophic diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. **Journal of Applied Phycology**, v.7, p.433-444. 1995.

Kelly, M.G. Use of the trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers. **Water research**, v.32, p.236-242. 1998.

Kemp, W.M.; Boynton, W.R.; Adolf, J.E.; Boesch, D.F.; Boicourt, W.C.; Bruch, G.; Cornwell, J.C.; Fisher, T.R.; Gilbert, P.M.; Hagy, J.D.; Harding, L.W.; Houde, E.D.; Kimmel, D.G.; Miller, W.D.; Newell, P.I.E.; Roman, M.R.; Smith, E.M.; Stevenson, J.C. Eutrophication of Chesapeake Bay: historical trends and ecological interactions. **Marine Ecology Progress Series**, v.303, p.1-29. 2005.

Khow, A.S. Growth determination of tropical limpet *Cellana testudinaria* (Linnaeus, 1758) living on the rocky shore of Ohoiwait, southeast Moluccas, Indonesia. **Journal of Coastal Development**, v.10, p.89-103. 2007.

Kutser, T.; Pierson, D.C.; Kallio, K.Y.; Reinart, A.; Sobek, S. Mapping lake CDOM by satellite remote sensing. **Remote Sensing of Environment**, v.94, p.535-540. 2005.

Lewis, J.R. The littoral zone on rocky shores: a biological or physical entity? **Oikos**, v.12, p.280-301. 1961.

Littler, M.M.; Murray, S.N. Impact of sewage of the distribution, abundance and community structure of rocky intertidal macro-organisms. **Marine Biology**, v.30, p.277-291. 1975.

López-Gappa, J.; Tablado, A.; Magaldi, N.H. Seasonal Changes in an Intertidal Community affected by Sewage Pollution. **Environmental Pollution**, v.82, p.157-165. 1993.

Lubchenco, J. Algal zonation in the New England rocky intertidal community: an experimental analysis. **Ecology**, v.61, p.333-344. 1980.

Mackay, D.A.; Underwood, A.J. Experimental studies on homing in the intertidal Patellid Limpet *Cellana tramoserica* (Sowerby). **Oecologia**, v.30, p.215-237. 1977.

MacLulich, J.H. Colonization of bare rock surfaces by microflora in a rocky intertidal habitat. **Marine Ecology Progress Series**, v.32, p.91-96. 1986.

Mak, Y.M.; Williams, G.A. Littorinids control high intertidal biofilm abundance on tropical, Hong Kong rocky shores. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.233, p.81-94. 1999.

Marandola, Jr. E.; Marques, C.; Paula, L.T.; Cassaneli, L.B. Crescimento urbano e áreas de risco no litoral norte de São Paulo. **Revista Brasileira de Estudos de População**, v.30, p.35-56. 2013.

Menge, B.A.; Sutherland, J.P. Community regulation: variation in disturbance, competition, and predation in relation to environmental stress and recruitment. **The American Naturalist**, v.130, p.730-757. 1987.

Menge, B.A. Indirect effects in marine rocky shore intertidal interaction webs: patterns and importance. **Ecological Monographs**, v.65, p.21-74. 1995.

Menge, B.A. Recruitment vs. postrecruitment processes as determinants of barnacle population abundance. **Ecological Monographs**, v.70, p.265-288. 2000.

Muniz, P.; Silva, D.A.M.; Bícgo, M.C.; Bromberg, S.; Pires-Vanin, A.M.S. Sewage contamination in a tropical coastal area (São Sebastião Channel, SP, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 99, p.292-300. 2015.

Murphy, R.J.; Underwood, A.J.; Jackson, A.C. Field-based remote sensing of intetidal epilithic chlorophyll: Techniques using specialized and conventional digital cameras. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.380, p.68-76. 2009.

Murphy, R.J.; Underwood, A.J.; Pinkerton, M.H.; Range. P. Field spectrometry: new methods to investigate epilithic micro-algae on rocky shores. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.325, p.111-124. 2005.

Murphy, R.J.; Underwood, A.J.; Pinkerton, M.H. Quantitative imaging to measure photosynthetic biomass on an intertidal rock-platform. **Marine Ecology Progress Series**, v.312, p.45-55. 2006.

Murphy, R.J.; Underwood, A.J. Novel use of digital colour-infrared imagery to test hypotheses about grazing by intertidal herbivorous gastropods. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.330, p.437-447. 2006.

Nagarkar, S.; Williams, G.A.; Subramanian, G.; Saha, S.K. Cyanobacteria-dominated biofilms: a high quality food resource for intertidal grazers. **Hydrobiologia**, v.512, p.89-95. 2004.

Nagarkar, S.; Williams, G.A. Comparative techniques to quantify cyanobacteria dominated epilithic

biofilms on tropical rocky shores. **Marine Ecology Progress Series**, v.154, p.281-291. 1997.

Nicotri, M.E. Grazing effects of four marine intertidal herbivores on the microflora. **Ecology**, v.58, p.1020-1032. 1977.

Norton, T.A.; Hawkins, S.J.; Manley, N.L.; Williams, G.A.; Watson, D.C. 1990. Scraping a living: a review of littorinid grazing. **Hydrobiologia**, v.193, p.117-138.

Ortega-Morales, B.; Santiago-Garcia, J.L.; López-Cortés, A. Biomass and taxonomy richness of epilithic cyanobacteria in a tropical intertidal rocky habitat. **Botanica Marina**, v.46, p.116-121. 2005.

Pinedo, S.; Arévalo, R.; Ballesteros, E. Seasonal dynamics of upper sublittoral assemblages on Mediterranean rocky shores along an eutrophication gradient. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.161, p.93-101. 2015.

Pinedo, S.; García, M.; Satta, M.P.; Torres, M.; Ballesteros, E. Rocky-shores communities as indicators of water quality: A case study in the Northwestern Mediterranean. **Marine Pollution Bulletin**, v.55, p.126-135. 2007.

Posey, M.H.; Alphin, T.D.; Cahoon, L. Benthic community responses to nutrient enrichment and predator exclusion: Influence of background nutrient concentrations and interactive effects. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.330 p.105-118. 2006.

Rosemond, A.D.; Mulholland, P.J.; Brawley, H. Seasonally shifting limitation of stream periphyton: response of algal populations and assemblage biomass and productivity to variation in light, nutrients, and herbivores. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.57, p.66-75. 2000.

Round, F.E.; Crawford, R.M.; Mann, D.G. **The Diatoms-Biology & morphology the genera**. Cambridge University Press. 1st edition, Cambridge. 1990.

Sabater, S.; Guasch, H.; Ricart, M.; Romaní, A.; Vidal, G.; Klünder, C.; Schmitt-Jansen, M. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.387, p.1425-1434. 2007.

Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), 2015. Disponível em: <http://site.sabesp.com.br/site/interna/subHome.aspx?secaold=48> Acesso em 21 de setembro de 2015.

Sanz-Lázaro, C.; Fodelianakis, S.; Guerrero-Meseguer, L.; Marín, A.; Karakassis, I. Effects of organic pollution on biological communities of marine biofilm on hard substrata. **Environmental Pollution**, v.201, p.17-25. 2015.

Serôdio, J.; Vieira, A.; Cruz, A. Photosynthetic activity, photoprotection and photoinhibition in intertidal microphytobenthos as studied in situ using variable chlorophyll fluorescence. **Continental Shelf Research**, v.28, p.1363-1375. 2008.

Shanks, A.L. Previous agonistic experience determines both foraging behavior and territoriality in the limpet *Lottia gigantea* (Sowerby). **Behavioral Ecology**, v.13, p.467-471. 2001.

Shimeta, J.; Cutajar, J.; Watson, M.G.; Vlamis, T. Influences of biofilm-associated ciliates on the settlement of marine invertebrate larvae. **Marine Ecology Progress Series**, v.449, p.1-12. 2013.

Shorer, M.; Eisele, M. Accumulation of inorganic and organic pollutants by biofilms in the aquatic environment. **Water, Air and Soil pollution**, v.99, p.651-659. 1997.

Sistema de Monitoramento Costeiro (SIMCosta). Disponível em: <http://www.simcosta.furg.br/portal/> Acesso em 20 de julho de 2015 às 16:54.

- Small, C.; Nicholls, R.J. A Global Analysis of Human Settlement in Coastal Zones. **Journal of Coastal Research**, v.16, p.584-599. 2003.
- Smith, V.H.; Tilman, G.D.; Nekola, J.C. Eutrophication: impacts of excess of nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, v.100, p.179:196. 1999.
- Sommer, U. Benthic microalgal diversity enhanced by spatial heterogeneity of grazing. **Oecologia**, v.122, p.284-287. 2000.
- Stephenson, T.A.; Stephenson, A. The universal features of zonation between tide-marks in rocky coasts. **Journal of Ecology**, v.37, p.289-305. 1949.
- Tablado, A.; López Gappa, J.J.; Magaldi, N.H. Growth of the pulmonate limpet *Siphonaria lessona* (Blainville) in a rocky intertidal area affected by sewage pollution. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.175, p.211-226. 1994.
- Teodoro, A.C.; Duleba, W.; Gubitoso, S.; Prada, S.M.; Lamparelli, C.C.; Bevilacqua, J.E. Analysis of foraminífera assemblages and sediment geochemical properties to characterize the environment near Araçá and Saco da Capela domestic sewage submarine outfalls of São Sebastião Channel, São Paulo State, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.60, p.536-553. 2010.
- Thompson, R.C.; Moschella, P.S.; Jenkins, S.R.; Norton, T.A.; Hawkins, S.J. Differences in photosynthetic marine biofilms between sheltered and moderately exposed rocky shores. **Marine Ecology Progress Series**, v.296, p.53-63. 2005.
- Thompson, R.C.; Norton, T.A.; Hawkins, S.J. The influence of epilithic microbial films on the settlement of *Semibalanus balanoides* cypris – a comparison between laboratory and field experiments. **Hydrobiologia**, v.375/376, p.203-216. 1998.
- Thompson, R.C.; Roberts, M.F.; Norton, T.A.; Hawkins, S.J. Feast or famine for intertidal grazing mollusks: a mismatch between seasonal variations in grazing intensity and the abundance of microbial resources. **Hydrobiologia**, v.440, p.357-367. 2000.
- Timoner, X.; Acuña, V.; Frampton, L.; Pollard, P.; Sabater, S.; Bunn, S.E. Biofilm functional responses to the rehydration of a dry intermittent stream. **Hydrobiologia**, v.727, p.185-195. 2014.
- Tyler, R.G.; Gould, R.H. Disposal of Sewage into Tidal Waters. **Sewage and Industrial Wastes**, v.22, p.685-698. 1950.
- Underwood, A.J.; Jernakoff, P. Effects of interactions between algae and grazing gastropods on the structure of a low-shore intertidal algal community. **Oecologia**, v.48, p.221-233. 1981.
- Underwood, A.J. The vertical distribution and seasonal abundance of intertidal microalgae on a rocky shore in New South Wales. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.78, p.199-220. 1984a.
- Underwood, A.J. Microalgal food and the growth of the intertidal gastropods *Nerita atramentosa* Reeve and *Bembicium nanum* (Lamarck) at four heights on a shore. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.79, p.277-291. 1984b.
- Underwood, A.J. **Experiments in ecology- The logical design and interpretation using analysis of variance**. Cambridge University Press, 10th edition, Cambridge. 1997.
- Underwood, A.J. The effects of grazing gastropods and physical factors on the upper limits of distribution of intertidal macroalgae. **Oecologia**, v.46, p.201-213. 1980.
- Valdivia, N.; González, A.E.; Manzur, T.; Broitman, B.R. Mesoscale variation of mechanisms

contributing to stability in rocky shore communities. **PLoS ONE**, v.8, p.e54159. doi:10.1371/journal.pone.0054159. 2013.

Valiela, I. **Marine ecological processes**. Springer Science & Business Media, 2nd edition, Boston, USA. 1995.

Vinueza, L.R.; Menge, B.A.; Ruiz, D.; Palacios, D.M. Oceanographic and climatic variation drive top-down/bottom-up coupling in the Galápagos intertidal meta-ecosystem. **Ecological Monographs**, v.84, p.411-434. 2014.

Vodacek, A.; Blough, N.V.; DeGrandpre, M.D.; Peltzer, E.T.; Nelson, R.K. Seasonal variation of CDOM and DOC in the Middle Atlantic Bight: Terrestrial inputs and photooxidation. **Limnology and Oceanography**, v.42, p.674-686. 1997.

Wahl, M. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. **Marine Ecology Progress Series**, v.58, p.175-189. 1989.

Williams, G.A.; Davies, M.S.; Nagarkar, S. Primary succession on a seasonal tropical rocky shore: the relative roles of spatial heterogeneity and herbivory. **Marine Ecology Progress Series**, v.203, p.81-94. 2000.

6. Anexo

Anexo A- Script para processamento das imagens de biofilme

```
% Rotina NDVI

clear all
close all

choice = menu('Number of Images','Single File with Excell file','Single
File without Excell file','Multiple Files with Excell file','Multiple Files
without Excell file');

if choice == 1 | choice == 2

[filename,path] = uiputfile('*.JPG');
exportdir=uigetdir('','Export to');

imagem=imread([path filename]); imagem=double(imagem);
R=imagem(:,:,1);
R_media=mean(mean(R))
R_max=max(max(R))
R_min=min(min(R))
R_desvPad=std(R)
R_var=var(R)
G=imagem(:,:,2);
G_media=mean(mean(G))
G_max=max(max(G))
G_min=min(min(G))
G_desvPad=std(G)
G_var=var(G);
B=imagem(:,:,3);
B_media=mean(mean(B))
B_max=max(max(B))
B_min=min(min(B))
B_desvPad=std(B)
B_var=var(B);
NDVI=(imagem(:,:,1)-imagem(:,:,3))./(imagem(:,:,3)+imagem(:,:,1));
NDVI_media=nanmean(mean(NDVI))
NDVI_max=max(max(NDVI))
NDVI_min=min(min(NDVI))
NDVI_desvPad=std(NDVI)
NDVI_var=var(NDVI)
h=figure(1);
imagesc(NDVI);
caxis([-1 1]);
colorbar('YTick',-1:0.25:1);
print(h,'-dpng',[exportdir,filename(1:2),'NDVI']);

if choice ==1

csvwrite([exportdir,filename(1:8),'NDVI.csv'],NDVI);

else

end
close all
elseif choice == 3 | choice == 4

indir=uigetdir('','Import From');
```

```

exportdir=uigetdir('','Export to');
cd(indir);
files = dir(['IMG_*']);
nfiles=length(files);

for ii=1:nfiles;
    imagem=imread(files(ii).name); imagem=double(imagem);
    R=imagem(:,:,1);
    R_media=mean(mean(R));
    R_max=max(max(R));
    R_min=min(min(R));
    R_desvPad=std(R);
    R_var=var(R);
    G=imagem(:,:,2);
    G_media=mean(mean(G));
    G_max=max(max(G));
    G_min=min(min(G));
    G_desvPad=std(G);
    G_var=var(G);
    B=imagem(:,:,3);
    B_media=mean(mean(B));
    B_max=max(max(B));
    B_min=min(min(B));
    B_desvPad=std(B);
    B_var=var(B);
    NDVI=(imagem(:,:,1)-imagem(:,:,3))./(imagem(:,:,3)+imagem(:,:,1));
    NDVI_media=mean(mean(NDVI));
    NDVI_max=max(max(NDVI));
    NDVI_min=min(min(NDVI));
    NDVI_desvPad=std(NDVI);
    NDVI_var=var(NDVI);
    h=figure(ii);
    imagesc(NDVI);
    caxis([-1 1]);
    colorbar('YTick',-1:0.25:1);
    print(h,'-dpng',[exportdir,'\ ',files(ii).name(1:8),'NDVI']);

    if choice==3
        csvwrite([exportdir,files(ii).name(1:8),'NDVI.csv'],NDVI);

    else

    end
    close all
end

end

```


Anexo B- Densidade de grupos taxômicos e sua contribuição relativa (análise SIMPER) nos costões rochosos agrupados em poluídos (Cigarras e Araçá) e não poluídos (Baleeiro e Guaecá) (DP: diatomácea penada, DPC: diatomácea penada em cadeia, sp.: espécie, A: ausente).

Grupos taxonômicos	Densidade (cel/cm ²)				Contribuição (%)	
	Cigarras	Araçá	Baleeiro	Guaecá	Poluído	Não poluído
<i>Achnanthes</i> sp. 1	11.05	95.48	14.73	9.46	2.76	0.65
<i>Achnanthes</i> sp. 2	3.68	4.46	92.08	A	0.02	0
<i>Amphora</i> sp. 1	3.68	5.46	A	3.68	0.02	0
<i>Asterionella</i> sp. 1	A	12.28	92.08	A	0	0
<i>Auricula</i> sp. 1	A	A	92.08	A	0	0
<i>Bidulphia</i> sp. 1	A	A	A	9.32	0	0.07
Cianobactéria	167.21	773.14	1012.23	96.91	72.92	38.58
<i>Cylindrotheca</i> sp. 1	A	5.46	44.20	A	0	0
<i>Coconeis</i> sp. 1	3.68	A	22.10	3.70	0.13	0.87
<i>Coscinodiscus</i> sp. 1	A	A	14.73	A	0	0
<i>Cosmioneis</i> sp. 1	A	4.99	14.73	A	0.01	0
<i>Cymbella</i> sp. 1	A	20.92	184.15	A	0.34	0
<i>Cymbella</i> sp. 2	A	5.44	99.44	A	0.05	0
<i>Cymbella</i> sp. 3	A	4.46	A	A	0	0
<i>Diatoma</i> sp. 1	14.73	A	29.46	4.67	0	0.04
<i>Diatomella</i> sp. 1	A	A	14.73	7.37	0	0.05
<i>Diploneis</i> sp. 1	A	5.93	A	2.67	0.02	0
<i>Donkinia</i> sp. 1	A	4.46	A	A	0	0
DP 1	A	A	528.52	A	0	0.16
DP 2	A	A	53.40	A	0	0.02
DP 4	A	8.93	A	A	0	0
DP 5	A	122.05	A	A	0.43	0
DP 6	A	129.64	A	A	0	0
DP 7	A	60.70	A	A	0.04	0
DP 8	A	25.86	A	3.74	0.04	0
DP 9	A	10.91	14.73	A	0	0
DP 10	A	A	A	0.67	0	0
DP 11	A	A	A	3.68	0	0
DP 12	A	23.72	53.40	A	0.36	0.05
DP 13	17.49	63.40	74.89	4.95	4.18	0.90
DP 14	A	44.01	A	11.22	0.30	0
DP 15	A	A	A	37.40	0	0
DP 16	3.68	A	A	A	0	0
DP 17	11.05	84.82	97.60	3.12	0	0
DPC 1	A	98.22	A	A	0	0
<i>Entomoneis</i> sp. 1	A	5.46	A	A	0	0
Fragilariaceae 1	A	28.65	276.23	A	0	0
<i>Grammatophora</i> sp. 1	A	4.46	1104.92	A	0	0
<i>Halamphora</i> sp. 1	A	5.89	A	A	0	0
<i>Licmophora</i> sp. 1	14.73	13.52	55.25	6.85	0.39	1.76
<i>Licmophora</i> sp. 2	A	A	92.08	5.13	0	0.39
<i>Mastogloia</i> sp. 1	A	A	99.44	3.68	0	0.05

<i>Mastogloia</i> sp. 2	A	4.77	A	A	0.01	0
<i>Melosira</i> sp. 1	A	8.93	A	A	0	0
<i>Navicula</i> sp. 1	9.58	49.83	1118.18	74.06	3.96	23.15
<i>Navicula</i> sp. 2	A	42.02	14.73	2.51	0.02	0.12
<i>Navicula</i> sp. 5	11.05	A	A	A	0	0
<i>Naviculales</i> 1	12.89	157.03	428.46	18.44	4.68	2.31
<i>Naviculales</i> 2	A	94.65	238.17	11.22	1.88	1.93
<i>Naviculales</i> 3	3.68	100.53	408.82	7.45	1.75	2.90
<i>Naviculales</i> 4	A	A	92.08	A	0	0
<i>Naviculales</i> 5	7.37	12.59	22.10	14.96	0.11	0.31
<i>Naviculales</i> 6	3.68	16.39	29.46	14.88	0.42	1.17
<i>Naviculales</i> 7	A	14.32	A	A	0.04	0
<i>Naviculales</i> 8	A	A	92.08	A	0	0
<i>Neidium</i> sp. 1	3.68	9.42	A	A	0.22	0
<i>Neidium</i> sp. 2	A	3.68	A	A	0	0
<i>Nitzschia</i> sp. 1	18.42	83.08	650.06	88.07	3.18	20.14
<i>Nitzschia</i> sp. 2	A	4.46	A	A	0	0
<i>Nitzschia</i> sp. 3	A	4.09	A	A	0	0
<i>Pinularia</i> sp. 1	14.73	89.77	57.09	20.00	1.41	3.48
<i>Pleurosigma</i> sp. 1	A	4.46	A	3.74	0	0
<i>Raphoneis</i> sp. 1	A	12.22	92.08	2.00	0.05	0.01
<i>Raphoneis</i> sp. 2	A	A	A	7.48	0	0
<i>Surirella</i> sp. 1	A	A	A	3.74	0	0
<i>Synedra</i> sp. 1	A	A	138.11	A	0	0.10
<i>Synedra</i> sp. 2	14.73	8.93	14.73	11.55	0	0.17
<i>Thalasionema</i> sp. 1	29.46	7.37	29.46	11.05	0	0.07
<i>Thalasiosira</i> sp. 2	A	11.60	29.46	A	0.30	0.03