



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Centro de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ecologia

Giulia Burle Costa

Mar de lama: os efeitos dos desastres de mineração sobre as florestas submersas do Atlântico Sul - caso dos rejeitos do desastre de Mariana (MG, Brasil).

Florianópolis

2020

Giulia Burle Costa

Mar de lama: os efeitos dos desastres de mineração sobre as florestas submersas do Atlântico Sul - caso dos rejeitos do desastre de Mariana (MG, Brasil).

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ecologia.

Orientador: Paulo A. Horta Jr., Dr.
Co-orientadora: Fernanda Ramlov, Dra.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Costa, Giulia Burle

Mar de lama: os efeitos dos desastres de mineração sobre as florestas submersas do Atlântico Sul - caso da lama do desastre de Mariana (MG, Brasil) / Giulia Burle Costa ; orientador, Paulo Antunes Horta Jr., coorientadora, Fernanda Ramlov, 2020.

209 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Ecologia, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Ecologia. 2. Acidentes de mineração. 3. Ecofisiologia de macroalgas. 4. Efeitos interativos de estressores. I. Antunes Horta Jr., Paulo. II. Ramlov, Fernanda. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ecologia. IV. Título.

Giulia Burle Costa

Mar de lama: os efeitos dos desastres de mineração sobre as florestas submersas do Atlântico Sul - caso da lama do desastre de Mariana (MG, Brasil).

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Juliana Zomer Sandrini, Dra.
ICB, FURG

Prof. Sarah Rodrigues, Dra.
UFES

Prof. Bárbara Segal, Dra.
ECZ, CCB, UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Ecologia.

Prof. Andrea Santarosa Freire, Dra.
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ecologia

Prof. Paulo Antunes Horta Jr., Dr.
Orientador

Florianópolis, 03 de Março de 2020

Às mulheres de minha vida; *in memoriam*, no
presente, no coração e para todo sempre em
minha alma.

AGRADECIMENTOS

Formalmente, agradecer é o ato de oferecer gratidão e reconhecimento. Em um processo de formação, ao longo de quatro anos de doutorado, muitas foram as razões diárias para agradecer. Todos os dias, pessoas permitiram que este trabalho fosse realizado com qualidade, carinho e muita paciência para comigo. E para todas essas pessoas, talvez umas poucas páginas de agradecimentos sejam um espaço pequeno e limitado, mas que, fundamentalmente, expressam apenas uma parte de todo o sentimento envolvido. Pessoas próximas, distantes, com quem encontrei pela vida em um breve espaço de tempo – a todos, e acada um de vocês, espero conseguir expressar um pouco do que significaram nesta jornada.

Primeiramente, desejo agradecer ao meu orientador, professor Paulo Horta. Obrigada por não ter desistido dos meus projetos, dos meus experimentos, do meu interesse maluco por poluentes e químicos. Sem seu apoio, e sem sua confiança, eu não teria chegado tão longe. Toda gratidão pelas longas conversas, canecas de chás, a oportunidade de morar fora do país. Espero que nos reencontremos ainda muitas vezes pelo mundo a fora. Também agradeço de todo coração à minha coorientadora, Fernanda Ramlov, por ser uma mulher e uma cientista incrível, que orienta, ensina e acompanha os alunos com amor, afeto, paciência. Obrigada por estar ao meu lado nos experimentos, nas análises, nos desabafos e desesperos, e por uma amizade incondicional, dentro e fora da universidade.

Agradeço também a todas as pessoas, que de uma forma ou de outra, nos bastidores dos laboratórios, ofereceram auxílio e colaboração para que este projeto fosse concluído:

Ao professor Marcelo Maraschin, pela acolhida e apoio em todas as análises bioquímicas no Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV, CCA, UFSC);

Ao professor Adalto Bianchini e à pós-doutoranda Patrícia Costa, pela acolhida no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Rio Grande (FURGS, RS). Muito obrigada por abraçarem com tanta disposição as minhas análises de metais;

Ao grupo do professor Angelo Fraga Bernardino da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES, ES), pela viabilização na obtenção de materiais para realização de experimentos;

Ao professor Sergio Ricardo Floeter, que me acolheu no Laboratório de Macroecologia e Biogeografia Marinha (LBMM, UFSC) para que eu pudesse escrever a qualificação. Muito obrigada pelas longas conversas e muito rock n' roll;

A todos os professores, amigos e colegas da Universidade do Algarve, Faro - Portugal, pela acolhida durante o período sanduíche. Ao professor Rui Santos, pela recepção no grupo ALGAE. A Monya e Catia, por me apresentarem o laboratório e me proporcionarem excelentes

experiências. A Ana, Bego, Marcos, André, pela boa companhia e pelo trabalho no laboratório. E com muito carinho para Dora, que me acolheu com sua amizade e me fez construir em Portugal uma segunda casa;

A todos os alunos de pós-doutorado do PPG Ecologia, que sempre nos dão apoio e nos incentivam a experimentar e ousar na ciência. Obrigada especialmente ao Thiago, pela parceria nos cursos de inverno, e à Áurea, pela amizade de uma longa caminhada e por tantas histórias lindas partilhadas;

Ao corpo técnico do LAMEB, cujos profissionais sempre atendem os alunos com dedicação e atenção, e especialmente ao William, que neste final de doutorado tem me feito dar boas risadas e reencontrar energia para voltar para a bancada;

A “dona” Maria e ao “seu” Ademir, que sempre nos dão apoio, carinho, e uma palavra de motivação, cuidando de mim e das minhas bagunças pelo laboratório.

Dedico todos os meus agradecimentos para minha família, que nunca duvidou que eu conseguiria ir mais longe, mesmo quando eu mesma duvidei. Amo vocês mais do que posso e consigo escrever agora, e vocês estarão sempre no meu coração, e mesmo que agora não estejamos juntos neste plano, sei que de algum lugar vocês sabem o quanto foram importantes para que eu pudesse chegar até aqui. Ao meu irmão, Gabriel, que me deu suporte emocional em todos os momentos. E aos meus queridos cachorrinhos, que estavam sempre por perto para me alegrar, porque sem eles eu não teria tido coragem de seguir em frente.

A todos os meus amigos queridos do LMBV-CCA: Bruno, Eva Regina, Ana, Helô, Lucas, Elis, Carol, Regina, Dani e Debu. Agradeço todo o apoio, incentivo, participação nas análises e momentos de desabafo quando as curvas de decaimento resolviam ir na direção errada do gráfico. Não teria conseguido sem vocês!

Aos amigos e colegas do LAFIC macro, pelo apoio, incentivo e bate-papos científicos, sempre muito construtivos. A todos os professores, pelas colaborações e arguições ao longo de todo o doutorado, que sempre me fizeram pensar criticamente sobre a construção deste trabalho. Meu muito obrigada a todos.

A todos os queridos amigos do LAFIC micro, especialmente ao professor Leonardo Rörig, pelas incríveis experiências dos estágios de docência e pela acolhida no laboratório.

A tantos amigos que estiverem presentes de alguma forma, presencial ou EAD (encarando amizade à distância), oferecendo força e energia para continuar com este trabalho.

As queridas amigas oceanógrafas, com quem dividi tantos momentos incríveis e especiais. A Bruna, pelos melhores cafés, incríveis devaneios, muitas risadas e pela fiel companhia matutina na salinha de cultivo que alguém pode desejar. A Gabi, por todo carinho,

estímulo, correções de inglês, stickers de WhatsApp, brownies e desabafos na cafeteria de cadeiras bonitas. E à Bia, por todo companheirismo nas horas boas e ruins. Obrigada de coração meninas, vocês são muito importantes para mim, e grande parcela do sucesso deste trabalho é graças a vocês!

As minhas amigas biólogas, companheiras de laboratório. Para Gabii (Ana Gabriela), por ser essa mulher doce, especial, forte, determinada e incrível, que sempre me inspirou e me fez ter garra para tentar de novo. E não desistir nunca de escrever, mesmo quando parece que as palavras não fazem sentido. A Dani (Danielli), por ser essa pessoa cativante e compreensiva, que sempre esteve presente em cafezinhos e conversas quando precisava me animar, e que ainda hoje faz parte dos meus dias com palavras acolhedoras e motivadoras. E à Marina, por ser uma mulher única, forte e inspiradora, que sempre tem as palavras mais motivadoras e a capacidade de nos fazer ver o melhor que a vida tem a oferecer. Meu muito obrigada, com todo afeto.

Aos meus amigos queridos de toda uma vida. Sei que em um doutorado nem sempre estamos presentes o quanto gostaríamos, mas agradeço a cada dia que vocês permanecem em minha vida e ao amor que construímos ao longo de tantos e tantos anos.

A Carol Cechella, pelo amor de toda uma vida. E por tantas coisas que não precisam ser ditas para serem sentidas. E a Uata, pela companhia nesta jornada. Amo muito vocês.

A Rafa, uma irmã de alma que os fios do destino permitiram que eu reencontrasse.

Para Alana, que é a viking mais linda e fofa que eu conheço. Obrigada por estar sempre do meu lado, pelos melhores almoços e por um carinho imenso que só você sabe oferecer.

Ao Thed, pelos memes de matemática que eu levo 2h para entender a piada e por uma amizade de tantos anos, que é muito especial para mim. Mesmo que você não goste de Matanza, você é um good boy.

A Vanessa, porque sem você, eu não teria tido coragem de enfrentar meus moinhos de vento.

Aos amigos da aquicultura, Gabi, Cibeli (e agora também a Lara), Alex, Elaine, Jussara, professora Anita. De todo coração, obrigada simplesmente por existirem, e por mantermos sempre uma amizade verdadeira!

Ao Lucas – com todo amor, obrigada por ter sido infinito enquanto dure.

As amigas de residência, que me proporcionaram incríveis momentos e muita diversão em todo tempo que estive em Portugal. A Núria, a Glória e a Stephy, lindas companheiras de muitos passeios e um “pouquito” de espanhol. E para Dani, que foi um presente e um anjo, colocado em meu caminho não por acaso. Obrigada por uma amizade que transcende o tempo.

Aos queridos membros do centro Espírita Mentor Amigo de Faro, pela acolhida

amorosa.

A minha psicóloga e a minha psiquiatra, porque pós-graduando precisa de uma ajudinha extra para conseguir manter a sanidade em muitos momentos.

Agradeço também a todo o fomento financeiro, material e teórico recebido. A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos junto ao programa de pós-graduação. Ao CNPq, Fundação Boticário, FAPESC, FAPESC e PELD – Habitats Costeiros do Estado do Espírito Santo pelo financiamento de projetos que custearam os materiais, reagentes e equipamentos necessários ao desenvolvimento de experimentos. Também ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche para Portugal. Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia (PPGECO, UFSC), pela formação e pela estrutura do corpo docente. E à Universidade Federal de Santa Catarina, por toda formação profissional obtida desde o bacharelado até a pós-graduação, em uma universidade pública, gratuita e de qualidade, de portas abertas para todo e qualquer aluno.

“[...] Que não reste nenhuma dúvida a respeito, pois você o conquistou com as difíceis opções da sua vida. Se alguém lhe perguntar sua nacionalidade, sua origem étnica ou sua linhagem, dê um sorriso enigmático. Responda: “Clã das Cicatrizes”.” (ESTES, 1994)

RESUMO

Atividades antrópicas são as principais responsáveis pela introdução de metais traço poluentes em ambientes marinhos-costeiros. Estes elementos são substâncias persistentes, capazes de induzir efeitos de toxicidade para macroalgas bentônicas. Recentes eventos extremos de poluição, como a deposição de rejeitos de mineração na costa brasileira do Espírito Santo, merecem investigação cuidadosa quanto à extensão dos impactos gerados. A presente tese está estruturada em quatro capítulos, e traz a discussão dos impactos de metais traço de rejeitos de mineração sobre a fisiologia macroalgas bentônicas. O primeiro capítulo refere-se à revisão sistemática de estudos ecotoxicológicos com macroalgas, descrevendo o esforço e a replicabilidade dos descritores utilizados na avaliação dos impactos. De acordo com os resultados, existem lacunas no esforço de avaliação de parâmetros abióticos. Também são observadas diferenças no uso de descritores fisiológicos e bioquímicos entre os estudos. Entretanto, o gênero *Sargassum* é um modelo biológico mundialmente aplicado, e por ser o gênero formador de florestas submersas do Atlântico Sul, merece atenção como modelo para descrição dos impactos de rejeitos de mineração. O segundo capítulo avaliou experimentalmente os danos ocasionados pelo rejeito do acidente da barragem de Fundão sobre a fisiologia de duas algas estruturadoras, *Sargassum cymosum* e *Hypnea pseudomusciformis*. As algas foram expostas individualmente e em condição associativa (relação de epifitismo), em tratamentos com e sem a presença do rejeito. Foram observados efeitos negativos para ambas as algas, e que a composição de elementos e suas respectivas concentrações podem ter induzido a resposta fisiológica dos organismos. Também foi observada a redução do pH da água pela presença do rejeito, o que poderia ter influenciado as respostas obtidas. Com isto, o terceiro capítulo foi desenvolvido para avaliar a relação entre a toxicidade dos metais e a alteração de pH induzida pela presença do rejeito de mineração. As mesmas espécies foram expostas individualmente e em associação, a quatro tratamentos: sem rejeito e pH normal da água do mar, alta concentração de rejeito e baixo pH, baixa concentração de rejeito e pH normal, e sem rejeito e baixo pH. Os resultados evidenciaram que o efeito da acidificação pode ser tão ou mais deletério à fisiologia de ambas as espécies do que o próprio rejeito, influenciando inclusive a sua relação de epifitismo. Por isto, monitoramentos dos parâmetros abióticos e das interações biológicas devem ser fomentados. No quarto capítulo são discutidos aspectos da legislação ambiental brasileira e ações de conservação do ambiente marinho costeiro. A legislação brasileira prevê mecanismos de monitoramento e prevenção de acidentes com barragens de mineração. Entretanto, problemas de fiscalização contribuem para a ocorrência de acidentes. Ainda que medidas de responsabilização e restauração sejam propostas, as ações para o ambiente marinho costeiro afetado pelos rejeitos demoraram a ser implementadas, evidenciando urgência em melhorias na agilidade dos processos. Também se ressalta a grande produção de dados de monitoramento dos impactos, mas há a necessidade de aprimoramento em divulgação da informação. Por fim, o comprometimento com o monitoramento das áreas afetadas é fundamental para o alinhamento aos objetivos do desenvolvimento sustentável da ONU e a conservação dos recursos naturais marinhos. Os resultados experimentais demonstram que há a necessidade de maior monitoramento de parâmetros fisiológicos e estudos da interação de parâmetros abióticos, e os efeitos destes sobre a resistência de algas bentônicas e suas interações biológicas. Estes descritores podem ser discutidos e inclusos na legislação, para fomento de medidas mais eficazes de monitoramento e ações de restauração ambiental em áreas impactadas por rejeitos de mineração na costa brasileira.

Palavras-chave: Acidentes de mineração; Ecofisiologia de macroalgas; Efeitos interativos de estressores.

ABSTRACT

Anthropic activities are responsible to introduce trace metals in coastal marine ecosystems. These metallic elements are persistent substances able to induce toxic effects over benthic seaweeds. Recent extreme events of pollution such as the deposition of mining rejects in the Brazilian coastal area of Espírito Santo state deserve careful investigation, concerned to the environmental impacts produced. The present thesis includes four chapters, highlighting the impacts from trace metals of mining rejects in the physiology of benthic marine seaweeds. The first chapter refers to a systematic literature review of ecotoxicological seaweeds' studies data and describe the efforts and replicability of descriptors to impacts' evaluation. Our results showed the blanks in efforts to evaluate abiotic parameters. We also observed differences among the efforts to apply physiological or biochemical descriptors. However, was observed that *Sargassum* genus is a worldwide well recognized biological model and considering its role in structuring the submerge forests in the South Atlantic, must receive attention as a model to investigate the impacts of mining rejects. The second chapter experimentally evaluated the damages caused by mining rejects from Fundão mining accident in the physiology of two structuring seaweeds, *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis*. Both algae were exposed individually and simulating the epiphytic interaction, and treatments were the presence or absence of the reject. Negative effects were obtained for both species and was suggested that the metallic profile and elements concentration were responsible to induces the physiological responses. Additionally, was observed a reduction in the pH scale due to the reject presence. With this, the third chapter was proposed to evaluate the relationship between the metallic toxicity and the pH alteration. The same species were exposed individually or in epiphytic relationship, and to four treatments: without reject and normal seawater pH, high mud concentration and low pH, intermediate mud concentration and normal pH, and without reject and low pH. Results evidenced that acidification effect was quite or more harmful to algae physiology than the mining reject properly, influencing the epiphytic relationship. With this, abiotic parameters and biotic interactions monitoring should be stimulated. In the fourth chapter, the aspects of Brazilian's environmental law and actions for coastal marine areas conservation are discussed. The Brazilian's law contains the protocols to monitor and prevent mining accidents. Unfortunately, the failures in fiscalization can be indicated as responsible to accidents' occurrence. Even the responsibility process is executed, and restoration actions planned, for the marine coastal areas the delay in implement effective actions evidence the urgency in improve the agility in environmental process execution. Moreover, it is important to evidence that even monitoring data have been produced is still necessary improve the dissemination of results. In conclusion, the compromise in monitoring the impacted areas is fundamental to attach the sustainable development goals from ONU and to conserve marine resources. Our experimental results demonstrate the need for better monitoring of physiological parameters and for studies of the interaction of biotic parameters, and their effects in the resistance of benthic algae and their biological interactions. These descriptors can be discussed and included in environmental legislation to increase the efficacy in monitoring and restoring actions in marine areas impacted by mining rejects in the Brazilian coast.

Keywords: Mining accidents; Algal ecophysiology; Stressors' interactive effect.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figure 1: A. Histogram of impact factors distribution according the Journal Citation Reports (JCR, 2018). The symbol (*) indicated journals not indexed with Impact Factor for the current year. B. Word cloud of citations frequency for journals where selected studies were published. Letters size and line strength indicates the proportional frequency of each journal. 54
- Figure 2: A. Frequency of studies' occurrences per continent. B. Pie chart of relative perceptual frequency for climatic zones distribution of studies (Temperate, Tropical and Polar). The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied laboratorial clonal samples or biomass for human consumption. C. Pie chart of relative frequency for kind of study. The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied biomass for human consumption. D. Pie chart of relative frequency of abiotic sampling between the studies. The fraction of articles that included abiotic data is also partitioned in relative frequency of occurrence..... 55
- Figure 3: A. Relative frequency (numerical and perceptual) of citations per alga group. B. Word cloud of relative frequency of citations for alga genera. Letters size and line strength indicates the proportional frequency of each alga genera..... 58
- Figure 4: A. Relative frequency (numerical and perceptual) of studies per levels of biological organization (from individuals to ecosystem). B. Pie chart of parameters descriptors applied per study. Roman numbering (I to IV) in superscript letters indicated the correspondent pie chart for each parameter, where details of relative numerical frequency of each descriptor are presented. Bⁱ. Ecotoxicological parameters. Bⁱⁱ. Physiological parameters. Bⁱⁱⁱ. Morphological parameters. B^{iv}. Ecological parameters. 62
- Figure 5: A. Numerical frequency of metallic elements per study (n=91), considering the proposed list of nine elements and the "Other" category (n=10 elements per study). B. Relative proportional frequency of each element (Al, As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Zn and Other category) evaluated per study. 65
- Figure 6: Data for the major biological models indicated in present study, *Sargassum* and the green complex (*Ulva* and *Enteromorpha* genera). A. Relative frequency of studies' efforts per continent. B. Relative frequency of climatic zones distribution of studies (Temperate, Tropical and Polar). The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied laboratorial clonal samples or biomass for human consumption. C. Relative frequency for kind of study. The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied

biomass for human consumption. D and E. Pie chart of relative frequency of abiotic sampling between the studies. F and G. Pie chart of studies' fraction that included abiotic data, partitioned in relative frequency of sampling. 67

Figure 7: Data for the major biological models observed in present study, *Sargassum* and the green complex (*Ulva* and *Enteromorpha* genera). A. Relative frequency of studies per level of biological organization (from individuals to ecosystem). B and C. Pie chart of parameters descriptors applied per study. Roman numbering (I to IV) in superscript letters indicated the correspondent pie chart for each parameter, where details of relative numerical frequency of each descriptor are presented. Bⁱ and Cⁱ. Ecotoxicological parameters. Bⁱⁱ and Cⁱⁱ. Physiological parameters. Bⁱⁱⁱ. Morphological parameters. B^{iv} and Cⁱⁱⁱ. Ecological parameters. 69

Figure 8: A and B. Numerical frequency of metallic elements per study (n= 26 to *Sargassum* genus and 36 to green complex), considering the proposed list of nine elements and the Other category (n=10 elements per study). C and D. Relative perceptual frequency of each element (Al, As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Zn and Other category) evaluated per study. 71

CAPÍTULO II

Fig 1: Principal Component Analyses (PCA). A. Data of heavy metals in Mariana's mud. B. Data of *Hypnea* exclusive metabolites, after 5- and 15-days of exposure to Control or Mariana's mud condition. C. Data of metabolites of *Sargassum*, *Hypnea* and biological association among species, after 5- and 15-days of exposure to Control or Mariana's mud condition. Elements legend: Al: aluminium; Cu: copper; Fe: iron; Pb: lead; Zn: zinc. Treatments legend: St: Standard white; S: *Sargassum cymosum* (Control); H: *Hypnea pseudomusciformis* (Control); SH: *Sargassum* and *Hypnea* association (Control); S(SH): *Sargassum* in association with *Hypnea* (Control); H(SH): *Hypnea* in association with *Sargassum* (Control); St-mud: Standard (Mud); S-mud: *Sargassum cymosum* (Mud); H-mud: *Hypnea pseudomusciformis* (Mud); SH-mud: *Sargassum* and *Hypnea* association (Mud); S(SH)-mud: *Sargassum* in association with *Hypnea* (Mud); H(SH)-mud: *Hypnea* in association with *Sargassum* (Mud). Symbols legend: white points: treatments exposure for 5 days; black points: treatments exposure for 15 days. 105

Fig 2: Redundancy Analyses (RDA) for metabolites of *Sargassum*, *Hypnea* and biological association among species, after 5- and 15-days of exposure to Control or Mariana's mud condition. Axis RDA1 and RDA2 showed 48.34% and 5.10% of variability distribution respectively. Treatments legend: S: *Sargassum cymosum* Control; H: *Hypnea pseudomusciformis* Control; S(SH): *Sargassum* in association with *Hypnea*; H(SH): *Hypnea* in association with *Sargassum*; S-mud: *Sargassum cymosum* Mud; H-mud: *Hypnea pseudomusciformis* Mud; S(SH)-mud: *Sargassum* in association with *Hypnea* and mud; H(SH)-

mud: *Hypnea* in association with *Sargassum* and mud. Symbols legend: white points: treatments exposure for 5 days; black points: treatments exposure for 15 days. 106

CAPÍTULO III

Figure 1. Representation of abbreviations applied to treatments (medium characteristics) and biological conditions (isolated or associative algae exposure). Treatments abbreviations: C: Control; IM: Intermediate mud; HM: high mud; AC: Acidified medium. Biological conditions abbreviations: S: *Sargassum*; H: *Hypnea*; A: Association (*Sargassum* and *Hypnea* cultivated associatively). For the individual analyses of *Sargassum* and/or *Hypnea* from associative condition, the results in the text are described with the name of species wrote in full followed by the observation “from association”. 135

Figure 2. Scatterplot of growth rates. A. Differences between seaweeds. B. Differences between treatments of each biological condition. Black and white circles and black bars represent mean and standard errors, respectively. Blue dots represent the mean of the replicates of each analysis (n=5 for each treatment resulting in n=20 algal samples). Lowercase letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn’s test (p<0.05). Axis abbreviations: C: Control; HM: high mud; IM: intermediate mud, AC: acidified medium. 139

Figure 3. Scatterplot of metabolites. A. Differences between chlorophyll a of seaweeds. B. Differences between chlorophyll a of treatments in each biological condition. C. Differences between phenolic compounds of seaweeds. D. Differences between phenolic compounds of treatments in each biological condition. E. Differences between total proteins of seaweeds. F. Differences between total proteins of treatments in each biological condition. Black and white circles and black bars represent mean and standard errors, respectively. Red dots represent the replicates of each analysis (n=4 for each treatment resulting in n=16 algal samples by including the 3 biological conditions and individual analyzes for each species in association). Lowercase letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn’s test (p<0.05). Axis abbreviations: C: Control; HM: high mud; IM: intermediate mud; AC: acidified medium. Biological conditions abbreviations: S: *Sargassum*; H: *Hypnea*; S(A): results for *Sargassum* cultivated in association with *Hypnea* H(A): results for *Hypnea* cultivated in association with *Sargassum*. 141

Figure 4. Scatterplot of enzymes. A. Differences between catalase activity of seaweeds. B. Differences between catalase activity of treatments in each biological condition. C. Differences between superoxide dismutase of seaweeds. D. Differences between superoxide dismutase of treatments in each biological condition. Black and white circles and black bars represent mean and standard errors, respectively. Green dots represent the replicates of each analysis (n=3 for

each treatment resulting in n=12 algal samples by including the 3 biological conditions and individual analyzes for each species in association). Lowercase letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn's test ($p < 0.05$). Axis abbreviations: C: Control; HM: high mud; IM: intermediate mud; AC: acidified medium. Biological conditions abbreviations: S: *Sargassum*; H: *Hypnea*; S(A): results for *Sargassum* cultivated in association with *Hypnea* H(A): results for *Hypnea* cultivated in association with *Sargassum*. 142

Figure 5. Redundancy Analyses (RDA) of physiological descriptors of *Sargassum* and *Hypnea*, according to evaluated treatments and biological conditions. Axis RDA1 and RDA2 showed 38% and 9.5% of variability distribution respectively. Treatments legend: S-C: *Sargassum* in Control, H-C: *Hypnea* in Control, *Sargassum* from A-C: *Sargassum* from associative condition in Control, *Hypnea* from A-C: *Hypnea* from associative condition in Control, S-IM: *Sargassum* in intermediate mud, H-IM: *Hypnea* in intermediate mud, *Sargassum* from A-IM: *Sargassum* from associative condition in intermediate mud, *Hypnea* from A-IM: *Hypnea* from associative condition in intermediate mud, S-HM: *Sargassum* in high mud, H-HM: *Hypnea* in high mud, *Sargassum* from A-HM: *Sargassum* from associative condition in high mud, *Hypnea* from A-HM: *Hypnea* from associative condition in high mud, S-AC: *Sargassum* in acidified medium, H-AC: *Hypnea* in acidified medium, *Sargassum* from A-AC: *Sargassum* from associative condition in acidified medium, *Hypnea* from A-AC: *Hypnea* from associative condition in acidified medium. 143

CAPÍTULO IV

Figura 1: Linha do tempo, com eventos históricos marcantes na discussão do direito ambiental ao longo das décadas. 173

DISCUSSÃO GERAL

Figura 1: Parâmetros a serem considerados no processo de seleção de modelos biológicos representativos para avaliação dos impactos de elementos metálicos. A interação entre os fatores descritos nas esferas aproxima o modelo selecionado da maior representatividade para um sistema biológico. 187

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1: Metais traço requeridos na fisiologia de algas marinhas, e suas funções metabólicas e estruturais.....	36
--	----

CAPÍTULO I

Table 1: Hierarchical organization of data compiled from the literature related to the efforts in evaluating the impacts of heavy metals in marine seaweeds. For each efforts' category is indicated the applied parameters collected and the statistical characteristic of qualitative/quantitative data. The accessed information highlights the objective that each category provides to respond the studies' gaps present in literature.	53
---	----

Table 2: Frequencies of studies developed in each country according with the present database (n=91). Countries with the same frequency in the database were listed in the same line, and the correspondent number represents the individual effort of each listed country. Frequency of efforts is presented in decreasing order.	54
---	----

Table 3: Frequency of studies that consider seasonality in experimental design of field sampling (n=21 studies). The correlation among column and line indicate the frequency of simultaneous sampling in indicated seasons.	57
---	----

Table 4: Complete list of genera cited in studies selected in our database (n=91 articles and 83 genera). The data is organized by algae groups (Chlorophyta, Rhodophyta and Phaeophyceae), and alphabetically ordered. The most frequent genus cited to each algae group is highlighted in bold.....	59
---	----

Table 5: Frequencies of studies developed per country, considering the most cited genera <i>Sargassum</i> (26 studies) and the green complex of <i>Ulva</i> and <i>Enteromorpha</i> (36 studies). Countries are presented in alphabetical order.....	66
--	----

Table 6: Frequency of studies that consider seasonality in experimental design of field sampling for the major biological models: <i>Sargassum</i> genus and the green complex (<i>Ulva</i> and <i>Enteromorpha</i> genera). The correlation among column and line indicate the frequency of simultaneous sampling in indicated seasons.	68
--	----

CAPÍTULO II

Table 1: Seawater average parameters at beginning of <i>Sargassum cymosum</i> , <i>Hypnea pseudomusciformis</i> and <i>Sargassum-Hypnea</i> association exposure (t=5 days or 15 days). Data are mean \pm SD (n=3 for pH and salinity, n=5 for turbidity, and t= 5 or 15 for daily temperature measurements). Symbol (*) indicated that turbidity was not detected (values lower than	
---	--

minimum equipment detection limit).	100
Table 2: Metals contend in seawater media applied for exposure of <i>Sargassum cymosum</i> , <i>Hypnea pseudomusciformis</i> and <i>Sargassum-Hypnea</i> association. Standards are the reference values for seawater without (Standard white) and with mud suspension (Standard mud) previously to the seaweed's exposure. The other treatments refers to metal concentrations after the seaweed's exposure for 5 and 15 days. Data are presented in $\mu\text{g.L}^{-1}$. Elements abbreviature: Al: aluminium, Cd: cadmium, Cu: copper, Fe: iron, Mn: manganese, Pb: lead, and Zn: zinc.	107
Table 3: Initial and final biomass (g), and growth rates ($\%\text{.day}^{-1}$) of <i>Sargassum cymosum</i> , <i>Hypnea pseudomusciformis</i> and <i>Sargassum-Hypnea</i> interaction. Data are mean \pm SD (n=5). Symbols (*) indicate that biomass was not recovered for these treatments.	108
Table 4: Pigments and metabolites of <i>Sargassum cymosum</i> , <i>Hypnea pseudomusciformis</i> and <i>Sargassum-Hypnea</i> association. Data are mean \pm SD (n=3). Chlorophyll <i>a</i> (Chl <i>a</i>), carotenoid profile (RTX_2.8-2.9, fucoxanthin for <i>Sargassum</i> and lutein for <i>Hypnea</i> , and RTX_4.0-4.1) and total carotenoids are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ (DW), while phenolic compounds (Phenol) is expressed in mg.g^{-1} (DW).....	115
Table 5: Phycobiliproteins of <i>Hypnea pseudomusciformis</i> (for isolated and associative biological condition). Data are mean \pm SD (n=3), and expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ (DW). Symbol (*) means a non-detection of specific fraction in the analysed samples.	116
Supplementary Table 1: Correlation coefficients for metals concentration in seawater mediums.	

125

Supplementary Table 2: Correlation coefficients for metabolic pigments exclusive from <i>Hypnea</i>	125
Supplementary Table 3: Correlation coefficients for metabolic compounds for both seaweeds evaluated.....	125

CAPÍTULO III

Table 1: Abiotic parameters of media applied in treatments of <i>Sargassum</i> and <i>Hypnea</i> . Treatments legend: C: Control, IM: Intermediate Mud, HM: High Mud, and AC: Acidified Medium. Symbol (*) indicate values not detectable. Turbidity is a mean (n=5) \pm SD, and salinity and pH are mean (n=3) \pm SD.....	134
Table 2: PERMANOVA results between the evaluated factors, treatments (C, IM, HM and AC) and biological conditions (<i>Sargassum</i> and <i>Hypnea</i> individually or association). In bold, the significant interaction of factors according to Monte Carlo (MC) index.	143
Table 3: MANOVA results for similarity among treatments according to each biological	

condition evaluated (*Sargassum* and *Hypnea* individually or in association). Treatments legend: C: Control; IM: Intermediate Mud; HM: High Mud; AC: Acidified Medium. Symbol (*) indicates the significant difference among groups: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, according to Monte Carlo (MC) index. 144

CAPÍTULO IV

Tabela 1: ODSs cujos cumprimentos são afetados pela deposição dos rejeitos da lama do acidente na barragem de Fundão. 176

DISCUSSÃO GERAL

Tabela 1: Considerações sobre efeitos que os rejeitos de mineração exercem nos parâmetros abióticos e bióticos, para incorporação de observações em amostragens e monitoramento em campo. 184

Tabela 2: Descritores sugeridos para avaliação dos efeitos fisiológicos de metais traço em macroalgas bentônicas, conforme discussões da autora. 186

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL Microlitro

Al Alumínio

ANA Agência Nacional das Águas

ANEEL Agência Nacional de Energia Elétrica

ANM Agência Nacional de Mineração

APA Área de Proteção Ambiental

APP Área de Proteção Permanente

ARIE Área de Relevante Interesse Ecológico

As Arsênico

Au Ouro

CAPES Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CCA Centro de Ciências Agrárias

CCB Centro de Ciências Biológicas

Cd Cádmio

CECR Concentração do Efluente no Corpo Receptor

CENO Concentração de Efeito Não Observado

CNRH Conselho Nacional dos Recursos Hídricos

CNUDM Convenção das Nações Unidas sobre o Direito do Mar

Co Cobalto

CONAMA Conselho Nacional do Meio Ambiente

Cr Cromo

Cu Cobre

DNPM Departamento Nacional de Produção Mineral

DTT Dicloro-difenil-tricloroetano

EDTA Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

ES Espírito Santo

ETR Taxa de transporte de elétrons

Fe Ferro

Fv/Fm Rendimento quântico máximo

g Grama

h Hora

Hg Mercúrio

HPLC Cromatografia líquida de alta pressão (*High pressure liquid chromatography* em inglês)

IBAMA Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

JCR *Journal Citations Report*

L Litro

LAFIC Laboratório de Ficologia

LMBV Laboratório de Morfogênese Vegetal

M Molar

Mg Magnésio

MG Minas Gerais

mL Mililitro

mm Milímetro

mM Milimolar

MMA Ministério do Meio Ambiente

Mn Manganês

MNM Monumento Nacional Municipal

Nb Nióbio

Ni Níquel

ODM Objetivos de Desenvolvimento do Milênio

ODS Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

ONU Organização das Nações Unidas

P.A. Pureza analítica

Pb Chumbo

PCA Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*, em inglês)

PIB Produto Interno Bruto

RDA Análise de Redundância (*Redundancy Analyse*, em inglês)

RDS Reserva do Desenvolvimento Sustentável

REBIO Reserva Biológica

RESEX Reserva Extrativista

REVIS Refúgio da Vida Silvestre

rpm Rotações por minuto

Sb Antimônio

SC Santa Catarina

SCI *Science Citation Index*

SISNAMA Sistema Nacional do Meio Ambiente

SNISB Sistema Nacional de Informações sobre Segurança de Barragens

SNSB Sistema Nacional de Segurança de Barragens

TTAC Termo de Transação e Ajustamento de Conduta

UC Unidades de Conservação

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

UV Ultra-violeta

V Vanádio

v/v relação volume por volume

Zn Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
1.1. POLUIÇÃO ANTRÓPICA: PERSPECTIVA HISTÓRICA	25
1.2. CARACTERIZAÇÃO DE POLUENTES METÁLICOS	26
1.3. METAIS TRAÇO, PARÂMETROS ABIÓTICOS E AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE	28
1.4. MACROALGAS BENTÔNICAS MARINHAS E OS EFEITOS TÓXICOS DE METAIS TRAÇO: OS IMPACTOS SOBRE AS FLORESTAS COSTEIRAS SUBMERSAS 34	
1.5. O CASO DOS DESASTRES DE MINERAÇÃO EM MINAS GERAIS (MARIANA - 2015 E BRUMADINHO - 2018) E AS IMPLICAÇÕES PARA AS MACROALGAS BENTÔNICAS	39
1.6. OBJETIVOS.....	41
1.6.1. Objetivo geral	41
1.6.2. Objetivos específicos	41
2. CAPÍTULO I: A REVIEW OF COMMON PARAMETERS AND DESCRIPTORS IN STUDIES OF HEAVY METAL POLLUTION IMPACTS ON MARINE MACROALGAE: IDENTIFICATION OF GAPS AND FUTURE NEEDS	45
2.1. INTRODUCTION.....	48
2.2. MATERIAL AND METHODS	50
2.3. RESULTS AND DISCUSSION	52
2.3.1. Parameters of research dissemination: study location and abiotic parameter categories	52
2.3.2. Biological and ecotoxicological parameter categories	57
2.3.3. Heavy metals parameters and environmental applications	64
2.3.4. Evaluation of studies' parameters effort to major representative biological models	65
2.4. CONCLUSIONS	72
2.5. ETHICAL DECLARATIONS	74
2.5.1. Funding	74
2.5.2. Conflict of Interest	74
2.5.3. Contributors	75
2.6. ACKNOWLEDGMENTS.....	75
2.7. REFERENCES.....	75
SUPPLEMENTARY MATERIAL 1	80
SUPPLEMENTARY MATERIAL 2	88
3. CAPÍTULO II: PHYSIOLOGICAL DAMAGES OF <i>SARGASSUM CYMOSUM</i> AND <i>HYPNEA PSEUDOMUSCIFORMIS</i> EXPOSED TO TRACE METALS FROM MINING TAILING	95
3.1. INTRODUCTION.....	97
3.2. MATERIAL AND METHODS	98
3.2.1. Mud and Algal collections	98
3.2.2. Experimental design	99
3.2.3. Metals on seawater media	100
3.2.4. Growth rates	101
3.2.5. Pigments analyses	102
3.2.6. Phenolic compounds	102
3.2.7. Statistical analyses	103

3.3.	RESULTS.....	103
3.3.1.	Statistical inferences.....	103
3.3.2.	Metals in seawater media	104
	106
3.3.3.	Growth rates	108
3.3.4.	Pigments and phenolic compounds.....	108
3.4.	DISCUSSION	109
3.5.	CONCLUSION	117
3.6.	ETHICAL DECLARATIONS	117
3.6.1.	Funding	117
3.6.2.	Conflict of Interest	118
3.6.3.	Contributors	118
3.7.	REFERENCES	118
	SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	125
4.	CAPÍTULO III: THE EFFECTS OF MINING TAILINGS IN THE PHYSIOLOGY OF BENTHIC ALGAE: UNDERSTANDING THE RELATION BETWEEN MUD'S INDUCTIVE ACIDIFICATION AND THE HEAVY METAL'S TOXICITY	127
4.1.	INTRODUCTION.....	130
4.2.	MATERIALS AND METHODS	132
4.2.1.	Mud and algae sampling procedures.....	132
4.2.2.	Experimental design.....	134
4.2.3.	Growth rates	136
4.2.4.	Chlorophyll a and phenolic compounds.....	136
4.2.5.	Total proteins and enzymatic assays	137
4.2.6.	Statistical analysis	138
4.3.	RESULTS.....	138
4.3.1.	Growth rates	138
4.3.2.	Metabolites and enzymatic essays.....	139
4.4.	DISCUSSION	144
4.5.	CONTRIBUTORS	149
4.6.	ACKNOWLEDGEMENTS	150
4.7.	REFERENCES.....	151
4.8.	ETHICAL DECLARATIONS	157
4.8.1.	Funding	157
4.8.2.	Conflict of Interest	157
4.9.	SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	158
5.	CAPÍTULO IV: CONSIDERAÇÕES À LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA- DERRAMES DE MINERAÇÃO NO CONTEXTO DO DIREITO À SOBERANIA MARINHA DA AMAZÔNIA AZUL.....	161
5.1.	A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA E AS MEDIDAS PREVISTAS PARA PREVENÇÃO E MITIGAÇÃO DE DESASTRES AMBIENTAIS.....	162
5.1.1.	Legislação brasileira para controle de barragens e conservação de recursos hídricos	162
5.1.2.	Mecanismos legais de reparação a danos causados ao meio ambiente e ações de monitoramento.....	165
5.1.3.	O cenário de ações preventivas: impactos que podem ser evitados.....	168
5.2.	LEGISLAÇÃO DO MAR E OS OBJETIVOS DO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL (ODS): CAMINHAMOS PARA UM MAR IGUALITÁRIO?	170
5.2.1.	Direito internacional do mar e soberania nacional do ambiente marinho	170

5.2.2. Os ODSs e as problemáticas ambientais brasileiras	174
5.2.3. Gestão dos impactos dos rejeitos de mineração e as ameaças às florestas submersas brasileiras	175
6. DISCUSSÃO GERAL	179
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	191
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	193

1. INTRODUÇÃO

1.1. POLUIÇÃO ANTRÓPICA: PERSPECTIVA HISTÓRICA

Ações antrópicas são responsáveis por modificar os ambientes naturais, seja para a obtenção direta de recursos (*e.g.* alimentares e energéticos) ou modificação da paisagem com destinação à agricultura, moradia ou demais atividades produtivas (ATKINS et al., 2011; FRASER; MABEE; SLAYMAKER, 2003; GRIMM et al., 2008). Entretanto, as modificações humanas, de acordo com a sua intensidade e duração, podem acarretar em danos permanentes ao funcionamento dos ecossistemas (SASAKI et al., 2015).

Ambientes marinhos e especialmente ambientes costeiros recebem impactos ao longo dos séculos (DIAS et al., 2013). Desde a antiguidade clássica e até meados do século XIX as águas marinhas costeiras eram vistas como depósito de rejeitos e resíduos, e pouco uso recreativo era atribuído a estas áreas (DIAS et al., 2013). Especialmente com a revolução industrial, houve o aumento da deposição de contaminantes em águas de rios e estuários (HOWARTH et al., 2011). Posteriormente, estas substâncias atingem as águas costeiras, carreando seu potencial impacto de transformações físicas, químicas e biológicas do meio por longas distâncias, e com perpetuação dos impactos ao longo do tempo (HOWARTH et al., 2011; MITCHELL et al., 2015).

Com o desenvolvimento cultural, as áreas costeiras adquiriram importância social, cultural e econômica não apenas para a obtenção de recursos. Os novos usos recreativos das áreas costeiras incluem os fins de contato humano direto, como a balneabilidade, prática de esportes e paisagismo (DIAS et al., 2013). Apesar desta importância, o crescimento dos impactos com poluição e exploração cresceram acompanhando a intensificação do uso multifuncional destas áreas (CALADO et al., 2019; MANI-PERES et al., 2016). Isto porque, além da deposição de rejeitos, o uso das águas costeiras para recreação, turismo e a percepção do valor territorial agregado trouxe a intensificação do uso das áreas do entorno. Este processo inclui o crescente da urbanização, com 50 a 70% da população mundial residindo em até 60 Km da linha de costa (GONÇALVES; MARQUES, 2017). A massiva ocupação humana acarreta o aumento progressivo da degradação ambiental e perda dos serviços ecossistêmicos, associados à necessidade do equilíbrio e manutenção do ambiente natural (CALADO et al., 2019; GONÇALVES; MARQUES, 2017; MEE et al., 2008). Como exemplos de aumento de distúrbios, pode-se citar a deposição de águas residuárias, ricas em nitrogênio e fósforo, e o aumento do tráfego marinho não apenas para comércio, mas também para turismo, com

contaminação por combustíveis. Somados aos impactos já existentes da deposição de rejeitos, diversos e diferentes efeitos nocivos aos ambientes marinho-costeiros vêm sendo observados, com transformação da paisagem e danos à biodiversidade (MANI-PERES et al., 2016; SCHERNER et al., 2013).

A introdução de poluentes e a ocorrência de distúrbios antrópicos em ambientes marinhos atingiu marcas nunca projetadas para o nosso século. De acordo com HENSON et al. (2017), há indicadores recentes que apontam que nos próximos 15 anos mais de 50% dos ambientes oceânicos e costeiros do planeta estarão alterados por estressores antrópicos. Os estressores costeiros atuam em diferentes escalas espaciais (WERNBERG et al., 2011), com propagação dos efeitos a longa distâncias do local de aporte e/ou fonte do distúrbio (GAIERO et al., 2002; HATJE et al., 2017). Além do espaço, estes impactos possuem diferentes escalas temporais, em que se observa a propagação dos efeitos ao longo de gerações, seja pela transmissão hereditária, seja pelo elevado período de permanência e propagação do distúrbio. Assim, com o entendimento das fontes antrópicas de poluição e das possíveis interações com fatores bióticos e a abióticos, pode-se incentivar medidas de prevenção à introdução de substâncias danosas e também proposição de planos para mitigação dos impactos ao ambiente (CLEMENTS; ROHR, 2009).

1.2. CARACTERIZAÇÃO DE POLUENTES METÁLICOS

O conceito de poluição costeira envolve a introdução de matéria e/ou energia, derivadas de ações humanas, no ambiente marinho e estuarino, incorrendo em distúrbio ao seu funcionamento, e comprometendo a saúde da biota e humana, com conseqüente limitação ao uso das águas e acesso aos recursos naturais marinhos derivados de ambientes saudáveis (JÚNIOR; MORAES; MAURAT, 2009; VIKAS; DWARAKISH, 2015). Os poluentes são agentes potencialmente tóxicos e que podem afetar a biota diretamente, pelo efeito de toxicidade, ou indiretamente, pela mudança na qualidade ambiental e da dinâmica dos habitats (FERNICOLA; BOHRER-MOREL; BAINY, 2004).

Os poluentes recebem diferentes classificações, tanto pela dinâmica física e química da substância quanto pelos processos de transporte, deposição e transformação que ocorrem no ambiente (FERNICOLA; BOHRER-MOREL; BAINY, 2004). De acordo com a característica do poluente quanto à sua forma, este pode ser classificado como um rejeito sólido ou líquido (efluente). Segundo, quanto ao seu efeito de toxicidade, se agudo (efeito em curta escala temporal, horas a poucos dias) ou crônico (efeito de toxicidade acumula-se no tempo, e possui

efeitos tardios de manifestação, e.g. sobre aspectos ontogenéticos e reprodutivos). Este tópico terá a sua discussão ampliada na subseção sequencial. E terceiro, com relação à sua característica química e potencial de degradação pela biota (e.g. microorganismos, como bactérias e microalgas), pode ser classificado como (RAND, 1995):

- a. Transiente – rapidamente biodegradável: rápido equilíbrio das concentrações do ambiente, e não persistem após suspensão do aporte;
- b. Biodegradável: a concentração no ambiente é menor que a do aporte, devido à capacidade de degradação rápida, e com redução das concentrações após suspensão da deposição;
- c. Persistente – lentamente biodegradável: há acumulação na biota em função da capacidade de degradação em taxas menores que as do aporte. As substâncias persistem no ambiente por longo tempo após deposição;
- d. Recalcitrante – não biodegradável: não há evidência de transformação ou mineralização pela microbiota, com taxas de acumulação proporcionais às taxas de introdução. Também persistem indefinidamente mesmo após suspensão do aporte.

A classificação de potencial de biodegradação proposta por RAND (1995) aqui apresentada considera apenas o potencial de modificação e degradação de um poluente por parte dos organismos. Entretanto, outros fatores abióticos são responsáveis pela transformação e disponibilização dos poluentes para processos biológicos. A apresentação destes fatores, sob a perspectiva da interação dos poluentes com parâmetros abióticos, encontra-se na subseção seguinte.

Os elementos metálicos requerem atenção quanto ao grau de toxicidade que podem acarretar aos organismos. Originalmente os elementos metálicos eram classificados sob a terminologia de metais pesados (tradução literal da nomenclatura em inglês “*heavy metal*”), que incluía elementos metálicos com densidade atômica igual ou superior a 5 g.cm^{-3} , peso atômico maior que 40 U, e distribuídos entre os números atômicos 21 (Escândio, Sc) e 92 (Urânio, U) (JÚNIOR; MORAES; MAURAT, 2009; RAND; WELLS; MCCARTY, 1995). Entretanto, esta designação deriva de uma classificação geológica e química, e que exclui os metais alcalinos e alcalinos terrosos, além dos elementos das séries dos lantanídeos e actinídeos, e semi-metais com propriedades químicas metálicas (CHAPMAN et al., 1996). Assim, uma classificação mais apropriada para estes elementos seria a de *metais traço*, cujo conceito engloba todos os elementos com propriedades metálicas (RAND; WELLS; MCCARTY, 1995). Os metais estão disponíveis no ambiente em concentrações baixas, e podem representar uma fração maior ou menor dos metais disponíveis, pela abundância relativa de cada elemento. No presente estudo, o conceito aplicado para referência a elementos metálicos é o de metais traço.

Considerando a classificação de RAND (1995) e ADAMS et al. (2000), os elementos metálicos podem ser classificados na categoria de persistentes ou recalcitrantes. Estes elementos, dependendo sua especiação química (*e.g.* potencial redox, complexos orgânicos e inorgânicos, formas iônicas livres), podem exercer diferentes efeitos de toxicidade sobre a biota a eles exposta (ADAMS et al., 2000; CHAPMAN et al., 1996).

Alguns metais traço são requeridos para funções biológicas em pequenas concentrações. Entre os elementos requeridos biologicamente estão o cobre (Cu), o ferro (Fe), o manganês (Mn) e o zinco (Zn). Entretanto, mesmo os metais requeridos podem apresentar potencial de toxicidade, uma vez que estejam presentes em concentrações acima dos valores que podem ser metabolizados pelos organismos. Além disso, outros elementos metálicos e semi-metálicos não são requeridos na fisiologia dos organismos, e apresentam potencial tóxico mesmo quando presentes em baixas concentrações no ambiente (LYMAN, 1995). Entre os que não são requeridos, ou que não se reconhece a capacidade de biotransformação, estão o chumbo (Pb) e o mercúrio (Hg). O reconhecimento do potencial tóxico dos metais traço evoluiu com a farmacologia e identificação dos danos à saúde humana (CHASIN; PEDROZO, 2004; LARINI et al., 1987). Posteriormente, foram reconhecidos os efeitos de toxicidade sobre organismos em diferentes sistemas biológicos, devido à baixa ou completa ausência de assimilação destes elementos por vias que não a dos ciclos biogeoquímicos. Entretanto, como os metais traço passam por diversos processos físicos e químicos no ambiente, desde a sua orogenia, transporte e deposição em ambiente marinho, e até que estejam disponíveis para processos biológicos, faz-se necessária a compreensão destas interações abióticas, para que se avalie corretamente o potencial tóxico que metais traço podem exercer sobre a biota.

1.3. METAIS TRAÇO, PARÂMETROS ABIÓTICOS E AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE

O potencial de toxicidade dos metais traço sobre os organismos aquáticos leva em conta a observação das características das águas onde esses são depositados, e as interações ecológicas bióticas e abióticas estabelecidas. Variações nas escalas de pH, salinidade, temperatura, além da presença de sedimentos e de outras substâncias orgânicas/inorgânicas são determinantes para a biodisponibilidade dos metais para os organismos e para seu efeito de toxicidade (FERNICOLA; BOHRER-MOREL; BAINY, 2004; RAND, 1995). Chasin e Pedrozo (2004) definem três conceitos a respeito dos processos de disponibilidade de uma substância, como os metais traço, para processos biológicos. Primeiro, a disponibilidade

ambiental reflete as diferentes formas químicas em que uma substância pode converter-se e aos compartimentos em que podem sofrer processos físicos, químicos e biológicos de transformação. Segundo, em termos de biodisponibilidade ambiental, considera-se a fração dessas substâncias que podem ter interação biológica com os organismos, ou seja, o que está disponível para os organismos em relação ao que está presente no ambiente em que houve a deposição. Por fim, relevante para a avaliação da toxicidade para um organismo, a biodisponibilidade toxicológica de um elemento químico é definida através da fração que se encontra disponível para a interação com os organismos, através da ingestão ou absorção, seguido de transporte interno.

Após o transporte e deposição de um metal no ambiente, este pode ser incorporado por processos biológicos. A bioacumulação é um processo no qual o organismo absorve uma substância, diretamente do ambiente ou pela dieta (ADAMS et al., 2000). Organismos aquáticos utilizam o processo de bioacumulação para reterem elementos metálicos essenciais ao metabolismo. Entretanto, em concentrações elevadas, estes metais são acumulados em formas não tóxicas ao organismo ou excretados. Por exemplo, em organismos fotossintéticos, como as macroalgas, a acumulação de metais se dá no compartimento celular, com armazenamento em vacúolos ou em ligação com estruturas celulares, como paredes celulares e vesículas do sistema de Golgi (HALL, 2002; TORRES et al., 2008). Também são as vesículas do sistema de Golgi as responsáveis pelo transporte celular e exsudação de metais imobilizados do meio citoplasmático para o ambiente (COSTA et al., 2017).

Quando os metais traço são acumulados nos organismos fotossintéticos, que são a base de muitas cadeias tróficas marinhas (LOURENÇO; JÚNIOR, 2009), e são ingeridos pelos consumidores primários, pode ocorrer o processo de transmissão e acumulação ao longo da teia trófica. Este processo, conceitualmente denominado como biomagnificação, consiste na transmissão de um poluente persistente, como um metal traço, ao longo de uma cadeia/teia trófica por consumo (SPACIE; MCCARTY; RAND, 1995). Fazendo um paralelo comparativo com as pirâmides de transmissão de energia propostas por Lindeman (1942), em que há o aumento do acúmulo de energia conforme atingem-se os níveis tróficos superiores, igualmente verifica-se que, a partir dos produtores primários, e de acordo com as características químicas do poluente, pode ocorrer o progressivo acúmulo e aumento das concentrações nos consumidores. Por exemplo, reconhece-se que o mercúrio, na forma química de metil mercúrio, é um metal traço passível de biomagnificação, como ápice de acumulação nos níveis mais elevados da cadeia trófica (CHAPMAN et al., 1996).

Entretanto, os metais traço interagem com os fatores abióticos do meio onde estão

inseridos para serem disponíveis para os organismos, uma vez que as condições do ambiente são determinantes nas conversões químicas que estes podem sofrer (JÚNIOR; MORAES; MAURAT, 2009). E de acordo com as características abióticas do meio, e a forma a qual os metais encontram-se disponíveis, pode-se inferir que estes exerçam efeito de toxicidade para a biota. Entretanto, o efeito de toxicidade pode ser observado em graus diferenciados, de acordo com o nível trófico atingido, com as respostas individuais das espécies expostas e o histórico ambiental de exposição a diferentes estressores, sejam contaminantes metálicos e/ou modificações em fatores abióticos (SASAKI et al., 2015). Assim, em ambientes com histórico de distúrbios e transformações antrópicas, os impactos decorrentes da introdução de poluentes metálicos podem ser intensificados pelas interações com os estressores abióticos (SASAKI et al., 2015).

Dentre as alterações antrópicas em ambientes naturais, as modificações na escala de pH observadas e previstas para a água marinha recebem grande atenção, devido ao processo de acidificação oceânica (IPCC, 2014). O pH representa a atividade de íons hidrogênio (H^+) e hidroxilas (OH^-) livres, seja pela dissociação da molécula de água ou pela introdução de hidrogênio de fontes antrópicas (ARANA, 2010; LANA et al., 2006). O pH é mensurado em escala logarítmica, variando entre 1 (ácido) e 14 (básico), onde o valor 7 representa a neutralidade. Quanto maior a concentração de íons hidrogênio, o meio aquoso tem seu pH reduzido e é observada a sua acidificação. A água marinha é caracteristicamente levemente alcalina, com valores que podem variar de 7,4 em regiões costeiras/estuarinas, até 8,5 em regiões oceânicas (SCHMIEGELOW, 2004). O efeito da acidificação dos oceanos representa uma das maiores preocupações dos oceanógrafos e biólogos marinhos, pois ambientes acidificados podem elevar os efeitos de toxicidade de metais traço. Isto é devido ao fato de que a escala de pH é responsável por determinar a especiação iônica de cátions livres, alterando assim os ciclos biogeoquímicos dos elementos, além de influenciar a capacidade de formação de complexos (NIKINMAA, 2013). Em pH na escala aproximada de $\sim 8,0$, há a formação de complexos com carbonatos, e estes complexos são rompidos com a redução de uma unidade de pH. Na escala de $\sim 7,0$, ocorre a formação de complexos sulfatados e clorados, podendo ocorrer a variação na disponibilidade de elementos metálicos (NAGAJYOTI; LEE; SREEKANTH, 2010; NIKINMAA, 2013). Além disso, em ambientes sob processo de acidificação, pela ruptura do equilíbrio iônico, ocorre o estresse intracelular na tentativa do organismo manter a homeostase (HARLEY et al., 2006). Alterações do pH do meio induzem alteração na permeabilidade de membranas, e como consequência, a maior incorporação de íons como metais traço, que são acumulados ao nível citoplasmático e em organelas celulares

(DALCORSO et al., 2014; RIBA et al., 2003), comprometendo as funções metabólicas e a fisiologia dos organismos.

Outro fator abiótico que também interfere na disponibilidade de metais traço é a salinidade do ambiente (RIBA et al., 2003). Ambientes marinhos possuem salinidade elevada devido à presença de ânions (*e.g.* cloretos, sulfatos e bicarbonatos) e cátions (*e.g.* sódio, magnésio e cálcio), majoritariamente (ARANA, 2010). Em ambientes salinos, e com menor disponibilidade de carbonatos, a formação de complexos como os cloretos metálicos aumenta a indisponibilidade de alguns elementos, como o cobre e o ferro (CONNAN; STENGEL, 2011). Assim, esses metais traço tem suas concentrações reduzidas para a incorporação biológica pelos organismos fotossintéticos. A indisponibilidade de metais traço nutrientes altera negativamente a fisiologia das algas bentônicas, uma vez que estes elementos são participantes da constituição de moléculas e rotas metabólicas relacionadas com o processo fotossintético (BLANKENSHIP, 2002). Além disso, o aumento da salinidade altera os processos de transporte passivo de cátions e ânions em nível celular de macroalgas, aumentando o estresse fisiológico para manutenção do balanço osmótico (DE L. FELIX et al., 2014). Assim, variações na salinidade ambiente podem modular e influenciar a disponibilidade de metais traço nutrientes, e influenciar a fisiologia das algas, com consequentes limitações à produtividade primária.

O aumento da temperatura das águas, devido ao processo de aquecimento global e ao aumento da frequência de ondas de calor (*heat waves*) também influencia diretamente as taxas metabólicas das macroalgas (HARLEY et al., 2012). Isto porque o aumento da temperatura traz como consequência o estresse fisiológico relativo à reparação estrutural, *e.g.* proteínas estruturais e membranas plasmáticas (HARLEY et al., 2012). Além disso, de acordo com o estágio de vida e desenvolvimento, variações na temperatura podem tornar os organismos mais susceptíveis aos efeitos de toxicidade de um poluente (NIKINMAA, 2013). Por exemplo, estudos com a fanerógama marinha *Zostera noltei* evidenciaram que, em temperaturas mais elevadas, o efeito de toxicidade de exposição ao metal cobre sobre o crescimento e expressão gênica foi acentuado, com danos ao metabolismo, capacidade fotossintética e atividade mitocondrial (GAMAIN et al., 2018).

Entretanto, a disponibilidade de metais traço para a incorporação por organismos fotossintéticos também é dependente da turbidez. Em presença de matéria orgânica (M.O.) em suspensão e/ou sedimentos, como os das classes do silte (\varnothing 0,004 – 0,064 mm) e argilas (\varnothing <0,004 mm), os elementos metálicos tendem a se associar aos ligantes disponíveis, neste caso à M.O. e aos sedimentos finos (SOUZA et al., 2015). A elevada capacidade de ligação catiônica das argilas favorece adsorção de metais (SOUZA et al., 2015). Considerando a capacidade de

transporte destes sedimentos, uma vez que sua baixa densidade favorece o carreamento superficial por longas distâncias, os metais aderidos às argilas podem ser carreados e depositados a longas distâncias do local de orogénia. Um exemplo do potencial de dispersão de metais traço é o relato de presença de concentrações elevadas destes elementos no *permafrost* da região polar da Antártica (POTAPOWICZ et al., 2019), devido a processos de transporte. Assim, metais traço podem ser propagados espaço-temporalmente, e podem exercer efeitos de toxicidade sobre os organismos presentes nos locais onde sejam depositados.

Além das interações físicas e químicas que os elementos metálicos apresentam, deve-se considerar também as relações de escalas entre os eventos de poluição e de variações abióticas dos sistemas. Em condições naturais, os metais traço, como sua própria denominação indica, estão presentes em pequenas concentrações no ambiente, advindos principalmente do intemperismo de rochas e solos, carreados por rios e estuários até a deposição em ambiente marinho-costeiro, e da atividade vulcânica continental e submarina (JÚNIOR; MORAES; MAURAT, 2009). Estas pequenas concentrações podem ser cicladas, através dos ciclos biogeoquímicos dos elementos, ou de acordo com o elemento, incorporadas em processos biológicos como micronutrientes. Entretanto, quando os metais traço são provenientes de ações antrópicas de introdução, o volume e a concentração destes elementos, bem como o tempo de introdução, pode acarretar efeitos de poluição.

Em escala local de deposição de metais traço, a interatividade com as outras fontes de distúrbio ao sistema pode resultar em efeitos interativos entre estressores, e intensificar efeitos de toxicidade para os organismos (BROWN et al., 2013). Entre os fatores interativos que podem resultar em maior disponibilidade de metais traço cita-se: a acidificação local, devido a deposição de matéria orgânica e interferência na produtividade primária; a elevação da turbidez, devido a ações de dragagem e tráfego náutico; e variações sazonais de salinidade, relacionados às alterações no regime de chuvas (BROWN et al., 2013; CARDOSO et al., 2008; ELLIS et al., 2017). Regionalmente, fatores oceanográficos e climáticos são contribuintes interativos aos estressores locais (WERNBERG et al., 2011). Estes componentes interferem na dinâmica de correntes e regimes climáticos, responsáveis por alterações na pluviosidade e nas temperaturas das massas de água. Além disso, todos os fatores físicos e químicos de menor escala estão, direta e indiretamente, sob influência de estressores globais, tais como o aquecimento das águas e a acidificação oceânica (WERNBERG et al., 2011), fatores previamente já abordados e discutidos.

Assim, a interatividade (sinérgica, antagônica ou nula) entre os agentes estressores, e as diferentes escalas de distúrbio, podem influenciar o potencial de toxicidade de um metal

traço para um organismo. Entender a interação entre processos biológicos com os processos abióticos e as escalas de impactos ao ambiente tornou-se fundamental para o entendimento da toxicidade de metais traço. Esta compreensão é a base fundamental da ecotoxicologia, que é uma ciência dedicada ao entendimento dos efeitos tóxicos das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos (FERNICOLA; BOHRER-MOREL; BAINY, 2004). O entendimento não se restringe apenas ao efeito sobre a biota, mas também, às rotas de transferência dos poluentes entre os compartimentos abióticos, a interação com o ambiente e a interferência nos ciclos biogeoquímicos (CHAPMAN, 2002; FERNICOLA; BOHRER-MOREL; BAINY, 2004). Assim, nesta proposta, os processos decorrentes da contaminação devem ser compreendidos para o entendimento dos padrões de resposta observados.

Os processos relacionam-se aos efeitos da toxicocinética e da toxicodinâmica (AZEVEDO; LIMA, 2004; PAOLIELLO; SILVA, 2004). A toxicocinética busca compreender e descrever o comportamento da substância poluente, desde o seu contato com o organismo vivo, seguindo os processos bioquímicos de absorção, distribuição, acumulação, biotransformação e excreção (AZEVEDO; LIMA, 2004). Já a toxicodinâmica ocupa-se dos mecanismos, moleculares a fisiológicos, que os efeitos de toxicidade induzem no organismo (PAOLIELLO; SILVA, 2004). Os efeitos observados nos organismos são a resultante destes processos, e condicionados tanto à concentração a qual o organismo foi exposto, mas principalmente à biodisponibilidade da substância para incorrer em efeito fisiológico (CHASIN; PEDROZO, 2004; RAND, 1995).

De acordo com os processos cinéticos e dinâmicos, são observados diferentes graus de resposta à toxicidade, que são classificados como agudos ou crônicos. Efeitos agudos são observados em reduzida escala temporal (de horas até poucos dias), e induzem a letalidade igual ou superior a 50% na população. Já os efeitos crônicos são aqueles com caráter acumulativo e não letal, e as respostas podem ser observadas ao longo das gerações, alterando o *fitness* individual, com observação dos efeitos em aspectos do desenvolvimento e reprodução dos organismos (RAND, 1995). As alterações na fisiologia dos organismos serão, por sua vez, fator chave para a observação da capacidade de resistência ao longo do tempo.

Para a avaliação dos efeitos que um elemento poluente como um metal traço pode exercer são aplicados biomarcadores. Os biomarcadores são parâmetros analisados, e que detectam efeitos na biologia dos organismos expostos (LANA et al., 2006). Como por exemplo, para os organismos fotossintéticos, são feitas avaliações sobre a capacidade fotossintética, síntese de pigmentos, metabólitos quelantes, proteínas, atividade enzimática, entre outros parâmetros (TORRES et al., 2008), sendo descritores individuais. Estes parâmetros são

influenciados e alterados quando do estresse pela exposição.

Já para a avaliação dos efeitos sobre a fisiologia e implicações sobre organismos, até níveis mais elevados da organização biológica, são aplicados organismos bioindicadores, para a avaliação direta do impacto. Bioindicadores revelam os efeitos dos poluentes, através da observação da sua presença/ausência em um ambiente e das alterações na dinâmica populacional (CHAPMAN, 2002). Os organismos bioindicadores são utilizados no biomonitoramento, para a avaliação espaço temporal dos impactos de determinadas atividades e empreendimentos nos ambientes marinho e costeiro. Espécies sensíveis podem ser substituídas ao longo do tempo por outras tolerantes, em processo de sucessão biológica (CLEMENTS; NEWMAN, 2002), que pode acarretar em perda local de biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos (FRASER; MABEE; SLAYMAKER, 2003).

No cenário atual, além dos efeitos crônicos de poluição, cabe a preocupação com os eventos extremos de deposição de metais traço em ambientes marinhos. Estes eventos podem ser caracterizados por aportarem elevados volumes de diferentes metais em elevada concentração destes elementos, em curto espaço de tempo, nos ambientes naturais. Entre os fenômenos extremos, os derrames de rejeitos de mineração constituem grande problemática ambiental quanto às medidas de mitigação dos impactos ocasionados (HATJE et al., 2017).

Apesar do reconhecimento que as ações antrópicas são responsáveis por intensas alterações ecossistêmicas e massiva introdução de poluentes como metais traço no sistemas naturais, muito ainda deve ser avaliado sobre as consequências desta introdução indiscriminada. Em zonas costeiras, onde concentram-se as maiores densidades populacionais em todos os continentes, faz-se imperativa a compreensão da dinâmica dos metais, como medida de prevenção aos efeitos nocivos ao homem. E mais importante, a manutenção da dinâmica ecossistêmica, com vista à preservação da biodiversidade.

1.4. MACROALGAS BENTÔNICAS MARINHAS E OS EFEITOS TÓXICOS DE METAIS TRAÇO: OS IMPACTOS SOBRE AS FLORESTAS COSTEIRAS SUBMERSAS

Macroalgas marinhas são organismos fotossintéticos bentônicos, cujo principal pigmento fotossintético é a clorofila *a* (LEE, 2008). Estes organismos possuem fundamental importância ecológica para os ecossistemas costeiros, pois atuam como produtores primários, realizam ciclagem e incorporação de nutrientes e do gás carbônico atmosférico, e principalmente, são responsáveis pelo balanço de produção de oxigênio lançado na atmosfera

(RAI et al., 2000). Atualmente, segundo Lee (2008), as macroalgas estão distribuídas em três grandes grupos, representados pelas algas verdes (Chlorophyta), vermelhas (Rhodophyta) e dentro de Ochrophyta, as algas pardas pertencentes à classe Phaeophyceae. Os grandes grupos são distintos entre si por características bioquímicas e morfológicas, como a evolução da estrutura do cloroplasto, estrutura de paredes celulares e seus polissacarídeos constituintes, pigmentos acessórios, elemento de reserva energética e metabólitos secundários, por exemplo (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

Por serem organismos bentônicos sésseis e apresentarem ciclos de vida complexos, as macroalgas estão sujeitas às características e eventuais modificações da água do seu entorno (ILUZ et al., 2017). Assim, tornam-se dependentes ou sofrem com as modificações físicas e químicas, que condicionam sua sobrevivência, reprodução, colonização e distribuição geográfica, e são apontadas como bons modelos de bioindicação e biomonitoramento (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007; JÚNIOR; MORAES; MAURAT, 2009). A contaminação das águas costeiras demanda especial atenção, pelo fato de gerar perda de biodiversidade (SALES et al., 2011), efeito já observado em diversas partes do globo (SÁNCHEZ-QUILES; MARBÀ; TOVAR-SÁNCHEZ, 2017). Especialmente na costa leste do Atlântico Sul, os efeitos crônicos da poluição antrópica são relatados como deletérios para comunidades aquáticas e algas bentônicas, com trabalhos desenvolvidos na Baía de Todos os Santos (BRITO et al., 2012; HATJE; BARROS, 2012), baía de Paranaguá (SANTOS et al., 2006), e em Santa Catarina (MARTINS et al., 2012). Os elementos metálicos são reconhecidos por interferirem negativamente na morfologia e fisiologia de macroalgas marinhas (TORRES et al., 2008), e com isto, podem induzir a supressão de populações. Como consequência, observam-se alterações na estrutura das assembleias de macroalgas bentônicas.

De forma geral, as macroalgas bentônicas são reconhecidas por sua capacidade e potencial de detoxificação e acumulação de metais traço em sua biomassa (RAI; GAUR; KUMAR, 1981). Isto porque são organismos com uma série de mecanismos fisiológicos e bioquímicos para reduzir os efeitos de toxicidade de metais traço. Alguns metais são requeridos em sua fisiologia para processos metabólicos e como constituintes de estruturas celulares, conforme já comentado previamente e descrito em detalhes na Tabela 1. Entretanto, outros elementos não são requeridos ou reconhecidos em processos fisiológicos, tais como o arsênio (As), o cádmio (Cd), o chumbo (Pb) e o mercúrio (Hg). Estes elementos, no entanto, podem ser incorporados por mecanismos de transporte ativo, uma vez que competem por sítios de ligação e carreadores citoplasmáticos (RAI; GAUR; KUMAR, 1981). Estes carreadores são responsáveis pela facilitação de transporte de cátions e ânions requeridos pelo organismo, e

elementos nutrientes, como formas nitrogenadas e fosfatadas. Entretanto, outros cátions podem realizar a ligação com estes carreadores, ocorrendo o acúmulo de metais traço no citosol (LAMBERS; CHAPIN; PONS, 2008). Além disso, mesmo os elementos requeridos, quando em elevadas concentrações no meio, podem ser incorporados em concentrações não metabolizáveis, ocorrendo o efeito de toxicidade pela elevada disponibilidade de cátions e espécies reativas de oxigênio (ROS), devido aos processos de ligação iônica.

Uma vez que atingem o citosol, os metais traço não requeridos ou em concentrações acima das metabolizáveis, desencadeiam uma série de respostas enzimáticas de defesa, como aquelas mediadas por enzimas (*e.g.* superóxido dismutase, catalase, guaiacol peroxidase), elementos proteicos não enzimáticos (metalotioneínas e fitoquelatinas) e outros metabólitos secundários, como carotenoides e compostos fenólicos (TORRES et al., 2008). Estes metabólitos são capazes de realizar a imobilização dos cátions, o seu carreamento para acumulação em vesículas de transporte extracelular e vacúolos, ou mesmo a deposição em estruturas celulares, como as paredes celulares (COSTA et al., 2017; DOS SANTOS; SCHMIDT; BOUZON, 2013; SANTOS et al., 2015).

Tabela 1: Metais traço requeridos na fisiologia de algas marinhas, e suas funções metabólicas e estruturais.

Elemento	Símbolo químico	Função biológica
Cobre	Cu	Cadeia de transporte de elétrons, cofactor enzimático e síntese da molécula de clorofila.
Ferro	Fe	Rota biossintética da molécula de clorofila e citocromos, cadeias de transporte de elétrons e respiratória, grupos ativos de enzimas da fixação de nitrogênio.
Manganês	Mn	Cadeia de transporte de elétrons do fotossistema II, constituinte estrutural dos tilacóides, cofator enzimático de descarboxilases e desidrogenases.
Zinco	Zn	Cofator enzimático e constituinte estrutural de enzimas, requerido para a síntese da molécula de clorofila.

Fonte: Compilação da autora, baseado em: Dalcorso et al., 2014; Foy; Chaney; White, 1978; Lambers; Chapin; Pons, 2008; Nagajyoti; Lee; Sreekanth, 2010.

Dentre as macroalgas marinhas, aquelas pertencentes ao grupo das algas pardas merecem destaque quanto à capacidade de síntese de diversos metabólitos para a detoxificação

de metais traço. As algas pardas são reconhecidas pela síntese de grandes concentrações de compostos fenólicos, especialmente os florotaninos, exclusivo do grupo, que possui elevado poder de imobilização de cátions e eliminação por exsudação do citosol na forma de complexos com o anel aromático da estrutura fenólica (DAVIS; VOLESKY; MUCCI, 2003; SATHYA et al., 2017). Já as algas do grupo das Rhodophyta são reconhecidas pela síntese de diversos metabólitos defensivos, pertencentes principalmente ao grupo dos carotenoides, compostos de baixo peso molecular e com potencial de ligação e carreamentos de metais traço, e amino ácidos (SCHMIDT et al., 2015). Entretanto, a literatura não registra avaliações experimentais a respeito da síntese de metabólitos antioxidantes e de defesa contra a toxicidade de metais traço em algas com interações estabelecidas, como o epifitismo, por exemplo. Ainda assim, registra-se que em presença de contaminantes os epífitos têm papel de proteção do seu hospedeiro, reduzindo o efeito de toxicidade sobre a alga epifitada (POTIN, 2012). Sendo assim, deve-se proceder a maiores investigações das interações metabólicas e respostas fisiológicas entre hospedeiros e epífitos, para a melhor avaliação dos efeitos de toxicidade de metais traço na fisiologia de macroalgas bentônicas.

Entre as algas marinhas bentônicas, existem grupos que possuem fundamental importância na estruturação da comunidade. As espécie-chave, como são denominadas, são aquelas que, pela sua presença, fundamentam a diversidade ecológica de suas comunidades, além de estruturarem padrões e processos, e sem as quais a organização biológica é prejudicada (MILLS; DOAK, 1993). Estas espécies são responsáveis por manter a maior parcela do fluxo de matéria e energia em uma teia trófica, e no caso das espécies vegetais, podem levar ao declínio em cascata de populações de predadores (MILLS; DOAK, 1993).

Além do seu papel como espécies-chave, as macroalgas marinhas também são apontadas como construtoras ecossistêmicas (RAI et al., 2000) e estruturadoras de comunidades (HARLEY et al., 2012). Algas estruturadoras são aquelas que conferem complexidade tridimensional aos habitats, agregando significativa biodiversidade (HARLEY et al., 2012) por fornecerem abrigo alimentar e reprodutivo; realizarem a sedimentação do substrato, reduzindo a turbidez e proporcionando maior estabilidade no estrato bentônico para fixação de organismos; e redução do fluxo de água, favorecendo o assentamento larval e o refúgio contra predação (COLEMAN; WILLIAMS, 2002).

Recentemente a comunidade científica começa a discutir de forma ampla a relevância e a importância das espécies estruturadoras para a composição das florestas submersas. As “florestas azuis”, como também são chamadas, compreendem uma gama de sistemas marinhos costeiros, tais como mangues, marismas, bancos de grammas marinhas, bancos de algas calcáreas

incrustantes (rodolitos), e os bancos formados por algas marinhas. Segundo Wernberg; Filbee-Dexter (2019), a definição de florestas submersas é aplicável a todos os ambientes em que as algas bentônicas sejam responsáveis pela modificação tridimensional da paisagem marinha, ou seja, que exerçam papel como estruturadoras e modificadoras da complexidade ambiental. Esta proposição abraça tanto as extensas áreas recobertas por algas da ordem Laminariales, as florestas de *kelps*, como bancos de algas pardas dos gêneros *Cystoseira* spp., *Sargassum* spp., *Durvillaea* spp. e *Fucus* spp. As florestas submersas vêm sendo analisadas quanto ao potencial de assimilação e estoque de carbono atmosférico, e mostram taxas e proporções maiores de sequestro de CO₂ em relação aos ambientes de florestas tropicais (LAU, 2013). Além disso, promovem serviços ecossistêmicos relativos ao balanço de carbono atmosférico, ao balanço climático, a preservação da biodiversidade, a manutenção dos estoques pesqueiros e proteção contra o intemperismo costeiro (SMALE et al., 2013).

Apesar da sua notória importância para o bem-estar humano e funcionamento ecossistêmico, as florestas submersas são constantemente ameaçadas por uma série de estressores, em diferentes escalas ecológicas. Dentre estes estressores, os relacionados com a poluição e eutrofização costeira; sobrepesca e/ou sobre-exploração dos bancos naturais; aquecimento global/aumento na frequência de *heatwaves*; e alterações na composição da comunidade devido a invasões biológicas, são algumas ameaças notórias em todas as regiões do globo onde estão distribuídas as florestas submersas (FILBEE-DEXTER; WERNBERG, 2018). Entretanto, pouco ainda se sabe especificamente a respeito das possíveis ameaças decorrentes de eventos de poluição por elementos metálicos oriundos de rejeitos de mineração, ainda que áreas marinhas estejam sob a ameaça de possíveis derrames destes contaminantes.

Na costa brasileira, dois gêneros destacam-se quanto ao potencial para a estruturação dos bancos de macroalgas marinhas. O gênero *Sargassum* (C. Agardh 1820) compreende algas pardas distribuídas entre as zonas tropicais e subtropicais da costa brasileira, e podem representar significativa parcela da cobertura algal de comunidades bentônicas (FORZZA et al., 2010; SZÉCHY; PAULA, 2000). Estas algas conferem refúgio reprodutivo e alimentar para diversas espécies de macroinvertebrados e vertebrados, uma vez que suas frondes servem de substrato para a sua fixação. Além disso, o gênero é importante suporte para outros gêneros de algas com hábito epifítico, como as pertencentes ao gênero *Hypnea* (J. V. Lamouroux, 1813). As algas pertencentes a este gênero são macroalgas do grupo Rhodophyta, e reconhecidas pelo potencial de produção do ficocolóide carragenana, um hidrogel de ampla aplicação nas indústrias farmacêutica, bioquímica, de cosméticos e alimentícia, e sendo uma das principais fontes de exploração do colóide no Brasil (MARINHO-SORIANO, 2017). A interação

biológica entre estes dois gêneros é bem descrita para os bancos de macroalgas de costões rochosos no litoral brasileiro (FACCINI; BERCHEZ, 2000). Nesta interação, o gênero *Hypnea* é epífita de *Sargassum*, fornecendo proteção contra radiação UV, enquanto *Sargassum* fornece substrato de fixação e proteção contra herbivoria. Assim, não apenas a presença de ambos os gêneros, mas a sua interação biológica em ambiente natural são fundamentais para a manutenção de processos ambientais, com estruturação da comunidade e manutenção local da biodiversidade.

1.5. O CASO DOS DESASTRES DE MINERAÇÃO EM MINAS GERAIS (MARIANA - 2015 E BRUMADINHO - 2018) E AS IMPLICAÇÕES PARA AS MACROALGAS BENTÔNICAS

Recentemente, dois notórios acidentes ambientais tiveram lugar no Brasil, especificamente no estado de Minas Gerais (MG). Em 2015, o acidente ambiental com rejeitos de mineração, oriundos do rompimento de barragem de contenção de Fundão na cidade de Mariana, tornou-se não apenas um dos mais drásticos eventos de poluição para o Brasil, mas também da história de eventos de poluição costeira (MIRANDA; MARQUES, 2016). Apenas três anos após este derrame, um segundo rompimento na barragem de Feijão, na cidade de Brumadinho (MG), resultou na perda das características da paisagem e na contaminação da bacia hidrográfica do rio Paraopeba (PEREIRA; CRUZ; GUIMARÃES, 2019). Em ambos os acidentes, muitas vidas humanas também foram afetadas e perdidas. Neste cenário, as mudanças ambientais decorrentes, com contaminação dos solos, da água e do ar, demonstraram a fragilidade das políticas públicas nacionais para a prevenção de acidentes desta magnitude, a ineficiência nas medidas de contenção da propagação dos efeitos dos poluentes no ecossistema, e a imprudência em não evitar a repetição de acidentes de mesma conjuntura (BRASIL; PIRES, 2017; HELLER, 2019; LOPES; BIAZATTI, 2017).

Especificamente para o desastre de Mariana, que é o foco do presente trabalho, os rejeitos de mineração apresentaram em sua composição uma mistura complexa de sedimentos e contaminantes. Em suspensão, sedimentos finos da classe dos siltes e argilas, capazes de alterar as características de turbidez das águas, e associados a estes sedimentos, elementos metálicos potencialmente tóxicos (ESCOBAR, 2015). Os rejeitos foram carregados pela bacia hidrográfica do Rio Doce, e depositados nas calhas marginais do Rio Doce e seus afluentes, até a deposição e dispersão nas águas costeiras da cidade de Linhares, Espírito Santo, foz do rio, a mais de 600 Km de distância do local do acidente.

Conforme relatório elaborado por Bianchini (2016), com amostras coletadas entre 26 de janeiro e 03 de fevereiro de 2016, foram avaliadas as concentrações de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Pb em amostras de água, sedimento e na biomassa de diversos organismos marinhos (*e.g.* zooplâncton, corais, poliquetas, macrocrustáceos e peixes) após a deposição da pluma de rejeitos na foz do Rio Doce. Foram avaliadas amostras provenientes da foz do Rio Doce e de áreas marinhas protegidas, como a APA da Costa das Algas e o Parque Nacional Marinho de Abrolhos. Os resultados da expedição de coleta apontaram o aumento na concentração de metais em todos os pontos avaliados, especialmente em relação às concentrações de arsênio, que encontravam-se além dos limites toleráveis na legislação vigente para a Classe de águas I, destinada à pesca e aquicultura e recreação de contato direto (CONAMA, 2005). Recentes modelagens indicam também elevada capacidade dispersiva da pluma pelas correntes marinhas e atuação de ventos (MARTA-ALMEIDA et al., 2016).

Dentre os estudos desenvolvidos com biota, encontramos literatura que refere impactos da lama sobre diferentes organismos. Segura et al., 2016 apontam o potencial citotóxico da lama e os possíveis danos ao DNA observados em ensaios toxicológicos com bactérias. No ambiente estuarino, Gomes et al., 2017 apontam que após curto período após a deposição da lama (dois dias após a deposição da pluma) alterações na abundância de quironomídeos foram observadas. Juntamente com a alteração na composição e abundância da assembleia, houve também a alteração da dominância de atributos funcionais, com redução na presença de detritívoros e filtradores. Já no ambiente marinho, é apontado por Miranda & Marques (2016) os possíveis impactos para o grupo dos cnidários, especialmente para a Classe Staurozoa, que possui abrangência restrita na costa brasileira e com poucos registros, realizados apenas para a costa do Espírito Santo. Este grupo, de característica sésil, tem como habitat preferencial o substrato de algas marinhas, como as pertencentes ao gênero *Sargassum*. Por fim, relatórios recentes de coletas de bancos de macroalgas marinhas apontam que ocorrem modificações na composição da assembleia, e um aumento na dominância de *Sargassum* nos bancos de algas nas áreas sob influência da pluma de rejeitos (TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019a).

Sendo assim, a observação dos possíveis impactos da lama sobre macroalgas estruturadoras ecossistêmicas se faz imperativa, de forma a contribuir para a predição da propagação dos impactos devido às modificações fisiológicas e morfológicas das algas, e possíveis consequências à ruptura de interações biológicas. A aplicação de marcadores bioquímicos, que evidenciem alterações na fisiologia das algas, pode contribuir à compreensão dos efeitos de toxicidade que são induzidos pela exposição aos rejeitos de mineração, tanto pela

presença de altas concentrações de metais traço quanto pela complexidade do rejeito, devido à interações entre diferentes metais e alterações na qualidade de água. Marcadores bioquímicos também podem auxiliar na compreensão dos mecanismos de resposta das algas, e a sua capacidade de resistência à condição perturbada. Assim, será possível fomentar políticas públicas focadas na restauração ambiental das áreas afetadas, minimizando os efeitos que a perda destas florestas submersas poderia acarretar para a biodiversidade da costa brasileira e os impactos sobre os serviços ecossistêmicos no Atlântico sul.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. Objetivo geral

Descrever os impactos fisiológicos que metais traço presentes no rejeito de mineração da barragem de Feijão em Mariana, Minas Gerais, exercem sobre macroalgas bentônicas, com foco nas espécies *Sargassum cymosum* (C. Agardh, 1820) e *Hypnea pseudomusciformis* (Nauer, Cassano & Oliveira, 2015), cosmopolitas na costa brasileira e relevantes estruturadoras das florestas costeiras submersas no Atlântico Sul.

1.6.2. Objetivos específicos

Capítulo I: este capítulo destina-se a uma revisão teórica a respeito dos parâmetros descritivos dos impactos de metais traço sobre macroalgas bentônicas costeiras. Os objetivos deste capítulo são:

- Compilar estudos desenvolvidos em escala global;
- Determinar os parâmetros descritivos mais utilizados para avaliação dos impactos de metais traço sobre macroalgas bentônicas e categorizá-los;
- Descrever de forma comparativa as lacunas dos estudos, quanto aos parâmetros descritivos e as regiões geográficas onde foram realizados;
- Apontar modelos biológicos relevantes e replicáveis em diferentes regiões geográficas.

Este capítulo será submetido para a revista *Acta Botanica Brasilica*.

Capítulo II: Este capítulo visou responder à pergunta “como o rejeito do desastre extravasado da barragem de Fundão, em Mariana (MG) influencia a fisiologia e a interação de epifitismo de duas macroalgas estruturadoras?” Os objetivos específicos deste capítulo são:

-Avaliar os efeitos tóxicos dos metais traço do rejeito sobre a fisiologia de *Sargassum cymosum* (C. Agardh, 1820) e *Hypnea pseudomusciformis* (Nauer, Cassano, Oliveira, 2015);

-Avaliar marcadores bioquímicos (pigmentos, carotenoides totais e perfil, e compostos fenólicos) em resposta aos metais traço presentes na lama;

-Determinar a capacidade de resistência das espécies em diferentes tempos de exposição e diferentes condições de interação biológica (individualmente e sob interação de epifitismo).

Este capítulo está publicado na revista *Environmental Science and Pollution Research* (2019).

Capítulo III: Este capítulo visou responder à pergunta: “qual a relação entre os metais traço do rejeito e a variação na escala de pH sobre as respostas fisiológicas das mesmas espécies avaliadas no Capítulo II?”. Os objetivos específicos são:

-Avaliar a resposta de toxicidade em relação à exposição aos metais traço e ao efeito induzido de acidificação do rejeito;

-Descrever os mecanismos fisiológicos e alterações bioquímicas aos estressores, avaliando variações no crescimento, síntese de pigmentos, e metabólitos antioxidantes, como atividade enzimática e compostos fenólicos;

-Avaliar a capacidade de resistência das espécies sob a exposição em condições individuais e em interação de epifitismo.

Este capítulo está publicado na revista *Environmental and Experimental Botany* (2019).

Capítulo IV: Este capítulo visou complementar a revisão teórica de literatura com respeito aos acidentes de mineração, e os aspectos legislativos e políticos da governança brasileira em relação às medidas e ações para mitigação dos impactos ambientais. Os objetivos específicos são:

-Realizar uma compilação das legislações vigentes referentes à segurança de barragens, prevenção de acidentes e medidas de mitigação e compensação ambiental;

-Revisar criticamente as ações de mitigação praticadas diante do acidente em Mariana (MG) frente ao disposto em legislação;

-Contextualizar os derrames de mineração sob a óptica da governança nacional e internacional dos direitos do mar;

-Avaliar criticamente a legislação ambiental do direito do mar brasileira vigente em alinhamento à legislação internacional.

2. CAPÍTULO I: A REVIEW OF COMMON PARAMETERS AND DESCRIPTORS IN STUDIES OF HEAVY METAL POLLUTION IMPACTS ON MARINE MACROALGAE: IDENTIFICATION OF GAPS AND FUTURE NEEDS

Giulia Burle Costa^{a,b*}, Gabrielle Koerich^{a,b}, Bruna de Ramos^{a,c}, Fernanda Ramlov^d, Begoña Martínez-Crego^e, Monya M. Costa^e, Dora Jesus^e, Rui O.P. Santos^e, Paulo A. Horta Jr.^{a,b}

^aPhycology Laboratory, Botany Department, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

^bPost-graduate Program in Ecology, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

^cPost-graduate Program in Coastal Management, Federal University of Rio Grande, 96203-900, Rio Grande, RS, Brazil.

^dPlant Morphogenesis and Biochemistry Laboratory, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

^eMarine Plant Ecology Research Group, Algarve University, Centre of Marine Sciences, University of Algarve, Campus Gambelas, 8005-139, Faro, Portugal.

*Corresponding author: Tel: +55 48 3721 8541

E-mail address: giuliaburle@gmail.com (Giulia Burle Costa)

Artigo a ser submetido à revista *Acta Botanica Brasilica*.

Abstract

The present study brings a systematic review of data from the literature, to assess the main similarities or gaps in efforts to apply parameters for evaluation of the impacts of heavy metals on benthic marine seaweeds. Altogether, 91 studies were compiled, where the major applied parameters (abiotic, biological, ecotoxicological, and heavy metals) and its descriptors were evaluated quali-quantitatively. Results indicate the importance of considering language diversification (English, Portuguese and Spanish) in searching procedures, with the increase of developing countries data representation in present database. The majority of studies were field characterizations, and low effort to explore the abiotic parameters or seasonality was observed. In contrast, the high frequency of ecotoxicological parameters appeared incoherent, considering the absence of data to support the suggestions of biomonitoring applications. With respect to the applied biological models, the genera *Sargassum* (C. Agardh, 1820), *Ulva* (L., 1753) and *Enteromorpha* (Link, 1820) were widely studied worldwide. Besides the representation of biological models, a small fraction of studies assessed higher levels of biological organization, with an absence of studies at the ecosystem level. Moreover, it was possible to infer that the use of different parameters or descriptors did not allow for a strong comparison between studies. These findings highlight the importance of major efforts to construct a concise baseline applying similar parameters, allowing a global evaluation of the impacts of heavy metals on photosynthetic organisms and the true extent of pollutants impacts.

Keywords: Systematic literature review, Heavy metals impacts, Pollution's descriptors, Coastal management.

Abbreviations

Al - Aluminium,

As – Arsenic,

Au - Gold,

Ca - Calcium,

Cd – Cadmium,

CF – Confocal Microscopy;

Co – Cobalt,

Cr - Chromium,

Cu – Copper,

Fe – Iron,

Hg – Mercury,

LM – Light Microscopy;

Mg - Magnesium,

Mn – Manganese,

Mo – Molybdenum,

Ni - Nickel,

Pb – Lead,

SEM – Scanning Electron Microscopy;

TEM – Transmission Electron Microscopy;

V – Vanadium,

Zn – Zinc.

2.1. INTRODUCTION

Among anthropogenic disturbances, marine pollution is a major concern worldwide as it alters physical and chemical properties of seawater with large impacts on marine organisms (Gattuso et al., 2015; Lawes et al., 2016). A variety of substances are introduced in marine coastal waters, and their toxic effects are expressed in diverse ways. Among these harmful substances, heavy metal pollution receives much attention in studies. This occurs due to the high prevalence of this class of pollutants in marine waters, and the highly diverse origin of these elements from human activities (e.g. metallurgy, petroleum extraction, mining ores, industrial process) or daily products (especially the ones related to technological industry, such as batteries, agricultural inputs and pesticides) (Wang et al., 2013).

Metallic elements are naturally available in marine waters, and in small concentrations (from micrograms to milligrams), they are important in their role as nutrients for primary producers (Blaby-Haas and Merchant, 2017; Iluz et al., 2017; Nagajyoti et al., 2010). However, high concentrations of heavy metals induce toxicological effects, with declines in environmental quality due to depleted oxygen levels and disruption of biogeochemical cycles (Gao et al., 2017; Nikinmaa, 2013). Benthic producers, represented by seagrasses and seaweeds, are affected by the presence of contaminants due to changes in the nutrient's uptake mechanism and physicochemical characteristics of seawater. Heavy metals compete with nutrients for the cellular mechanisms of transport, reducing the seaweeds' uptake capacity (Contreras-Porcia et al., 2017; Lambers et al., 2008; Wang and Dei, 2001). In turn, the accumulation of heavy metals in benthic producers is also mediated by temperature and pH, due to changes in chemical forms and the availability of metals for biological interactions (Contreras-Porcia et al., 2017; Peterson et al., 1984; Zeng et al., 2015). Considering this with the coupled effect of toxicity and stress, changes in community structure occur, via suppression of key species in habitat building, resulting in habitat limitation and the loss of functional roles and ecosystem functionality (Sales et al., 2011; Sánchez-Quiles et al., 2017).

Seaweeds can change their physiology and morphology in response to environmental changes as a mechanism to improve resistance in adverse conditions. These organisms are recognized for their ability in sequestering and immobilizing heavy metals in cellular structures, such as vacuoles and cell walls (Contreras-Porcia et al., 2017). Their ability to accumulate these elements results in higher concentrations in tissues, and when the entire trophic chain is evaluated, the accumulated impacts could be amplified through higher trophic levels (Nikinmaa, 2013; Torres et al., 2008). Due to these properties, seaweeds are regarded as both

bioindicators of environmental quality as well as biomonitors of the process of changes (Chakraborty et al., 2014). At the assemblage level, the species composition of the community reflects the spatial and temporal intensity of anthropogenic disturbances, as the effects of toxicity are reflected in the selection of tolerant organisms. Thus, algal species diversity is modified, which consequently impacts ecosystem function.

Throughout recent decades, the anthropogenic impacts from local to global scales indicate an increase in the intensity and frequency of extreme disturbances. As observed for climatic changes, where extreme events of heatwaves and cold spells are more frequent since the beginning of the 20th century (Easterling et al., 2000) related to the industrial revolution, the occurrence of extreme events of pollution have been noted in different regions and systems (Arenas-Sánchez et al., 2016; Carmo et al., 2017; Zhang et al., 2017). This occurs due to the increase in extractions and transformation of mining ores for different technological purposes, elevating the deposition rates of metallic wastes in the environment. Chronic pollution is still observed in coastal ecosystems, with a regular and constant influx of tiny amounts of pollutants that could bioaccumulate in organisms able to survive in these specific environmental conditions (Olivares et al., 2016). On the other hand, acute pollution such as extreme events of metal spills, which has been observed in mining disasters, are responsible for depositing extreme amounts of elements in coastal waters in a short time period. Elements such as arsenic (As), cadmium (Cd), cobalt (Co), chromium (Cr), copper (Cu), iron (Fe), mercury (Hg), manganese (Mn), nickel (Ni), lead (Pb), and zinc (Zn) are the most abundant and frequent in mining waste (Olivares et al., 2016; Segura et al., 2016). Major concern in the effects of heavy metals are primarily in the context of accidents, precisely because of the high number of elements present in the waste and the short time of their deposition (Hatje et al., 2017).

Nowadays, the extent of metallic pollution impacts for marine producers is poorly understood. Sánchez-Quiles et al. (2017) has reviewed the occurrence of disturbances registered in macroalgae and seagrass beds around the world due to heavy metal pollution. Their results pointed out an extensive number of records of metallic impacts in regions such as Europe, India and United States. Unfortunately, the study has no information of such impacts in the South Atlantic region. Besides the recent impacts on the Brazilian coastal zone, with a massive spill of mining tailings (Hatje et al., 2017), no previous records of heavy metal impacts could be found for this marine region in previous reviews up until the published article from Sánchez-Quiles et al. (2017). Additionally, the major parameters evaluated to describe heavy metal disturbances on seaweeds include diverse categories of analyses (i.e. biochemical, morphological, and physiological analyses) (Contreras-Porcia et al., 2017; Davis et al., 2003;

Harley et al., 2012; Torres et al., 2008), conducted in the field and at in vitro laboratory experiments. However, these generated data are isolated or do not consider interactions among other physical or chemical parameters (Cardoso et al., 2008; Nikinmaa, 2013; Wernberg et al., 2011).

Considering the background in heavy metal pollution impacts on marine benthic seaweeds, the main objective of the present review is to systematically analyze the similarity of methods employed by major studies, and the principal models used to evaluate these impacts. This objective can help improve the comparative strength among the observed effects, through the recommendation to apply similar descriptive parameters worldwide. With this, the discussion about the true comparative potential using the current database will be inferred, and the main gaps in parameter usage can be identified. Moreover, identifying worldwide cosmopolitan key groups will allow the evaluation of impacts in different ecosystems, as well as the possibility of monitoring based on similar responses under similar stress conditions. Lastly, identifying the distribution of studies, the efforts in using similar parameters across studies, and the main biological models used is also relevant to discuss the sharing of information about the impacts of heavy metals in marine waters on seaweeds. Gaps in divulging scientific information can induce misinterpretations or underestimate the importance of some descriptive parameters to be applied in studies, reducing the comparative strength between studies. It is important to evaluate the extent of efforts for a better selection of monitoring parameters to measure the true damage of metallic elements in biological systems.

2.2. MATERIAL AND METHODS

We provide a systematic review of literature data, and the methodological procedures for a bibliographical survey following the recommendations from Sampaio and Mancini (2007). Searches were performed in Google Scholar, Science Direct, Scientific Electronic Library Online (SciELO), and the Brazilian Coordination of Improvement of Higher-Level Personnel (CAPES Portal) databases. The selection of all the databases considered the open and free access to articles in Brazilian universities. Moreover, the Web of Science database was not applied for articles searches, considering the assumptions adopted in the searching procedures, and the fact that both Scholar Google and Capes Portal also index articles from this database.

Peer-reviewed articles were selected from journals included in the Science Citation Index (SCI), including new journals without impact factors in the 2018 Journal Citation Reports (Clarivate Analytics, 2018). Data published in books, thesis, scientific notes, conference

proceedings and reports of institutional pages were not included in our database. The search effort was restricted to papers published between 2000 and 2017, in order to cover the publications related to the Millennium Ecosystem Assessment, an Organization that since 2001 has highlighted anthropogenic pollution as a source of impacts on marine systems with increasing severity over the last century (MEA, 2005).

The articles were selected at first level for the inclusion of research keywords in the title and/or abstract and/or in manuscript keywords. The primary keywords were trace metals, heavy metals, seaweeds, and macroalgae. The following secondary keywords were coastal pollution, coastal impacts, marine pollution, coastal marine water, physiology, morphology, toxicology, ecotoxicology and anthropic impacts, which were included to expand the power of the search. Successive searches were done by inserting each primary and one secondary keyword by pairs in the search field with a total of 45 combinations. All keywords were also used three times, firstly in English as the main scientific language. Following this, we repeated the search with keyword combinations in Portuguese and Spanish, considering the possible limitation of scientific accessibility in English for developing countries (reviewed by Sánchez-Quiles et al. 2017). After the exclusion of duplicates among the selected databases, a total of 91 studies were compiled (see references in the Supplementary Material 1).

Information regarding the studies' effort and the applied parameters are detailed in the Table 1. The studies' effort was divided in five categories: study location, and abiotic, biological, heavy metal and ecotoxicological parameters. For each proposed category the applied parameters used to assess the effect of heavy metals were recorded. The qualitative compiled information was transformed for statistical analyses. Transformation as binary data for the absence (0) or presence (1) of a parameter in each compiled study were used to calculate the relative frequency (number or percentage of studies) of each parameter within a category. Qualitative data such as seasonality and climatic zone were transformed to ordinated data, with numbers attributed for categories of each parameter. Graphical representations of qualitative data were obtained from transformed binary or ordinal data. The qualitative nominal parameters (i.e. county from study location category and organisms' genera list from biological parameters) were represented in word cloud graphs. These graphics were constructed using the packages *ggplot2* and *wordcloud* (version 2.6) from R software (R Core Team, 2018). The wordcloud graphics use the size and thickness of words to represent the frequency of citation, proportional among citations on database. All graphics were exported through the Adobe Illustrator software.

After all the initial evaluation of the raw data (n=91), the results of major biological models were separated, and all previously described analyses and graphical representations

were repeated for them. Considering the presence of a wide range of species with low individual frequency across studies, presently we conducted analyses for taxa with high representation at the genera level.

2.3. RESULTS AND DISCUSSION

2.3.1. Parameters of research dissemination: study location and abiotic parameter categories

Articles were collected from 45 different periodic journals, with a wide range of journal impact factors (JIF) in according to Journal Citation Report (Clarivate Analytics, 2018). The range of JIFs are represented by a histogram (Figure 1A). Four articles did not have JIF for the 2018 JCR (new journals), while other four publications presented IF higher than 6.00. The higher frequency of publications was in IF between 2.00 to 2.99, with 24 articles (21.84%) (Figure 1A).

Among the most cited journals, the highest citation frequency was found for Marine Pollution Bulletin (8), followed by Protoplasma (6), Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Environmental Monitoring and Assessment and Journal of Applied Phycology (5 for each). The proportionality of frequency citations for the journals (n=91) is presented as a word cloud in Figure 1B.

The present study has compiled data produced on all continents, with the Americas (29), Europe (25) and Asia (23) being the most representative in number of studies (Figure 2A). On the other hand, Antarctica presented the lowest occurrence of studies related to heavy metal impacts, with only 2 articles. In total, 34 countries were represented, although fifty percent of studies were concentrated in only 7 of them: Brazil (14), Chile (7), India and Mexico (6 for each), England (5), and Australia and Egypt (4 for each) (Table 2). This result indicates that while we attained our aim of covering the often less represented regions, the most studied regions according to the previous review of Sánchez-Quiles et al. (2017), or widely used databases such as the Web of Science, were misrepresented.

Table 1: Hierarchical organization of data compiled from the literature related to the efforts in evaluating the impacts of heavy metals in marine seaweeds. For each efforts' category is indicated the applied parameters collected and the statistical characteristic of qualitative/quantitative data. The accessed information highlights the objective that each category provides to respond the studies' gaps present in literature.

Efforts categories	Applied parameters	Data characteristic	Accessed information
Study location	-Country; -Climatic zone.	-Nominal; -Ordinal (1: polar; 2: temperate; 3 tropical).	Geographical distribution of studies
Abiotic parameters	-Seasonality; -Water and/or sediment sampling.	-Ordinal (1: spring; 2: summer; 3: autumn; 4: winter) -Ordinal (0: absence; 1: presence).	Evaluation of abiotic characterization (seasonality, and substrate and water sampling)
Biological parameters	-Genera list; -Biological levels; -Physiological descriptors; -Morphological descriptors; -Ecological descriptors.	-Nominal; -Ordinal (individuals, population, community, ecosystem); -Categorical (growth; photosynthetic evolution; assimilation of carbon and nutrients; primary, secondary and antioxidant metabolites); -Categorical (SEM, TEM, LM and CF); -Categorical (richness, abundance, biomass recovery and diversity).	Parameters evaluated related to flora and efforts to apply diverse parameters to characterize possible impacts
Ecotoxicological parameters	-Bioaccumulation; -Biomarker; -Bioindicator.	-Ordinal (0: absence; 1: presence); -Ordinal (0: absence; 1: presence); -Ordinal (0: absence; 1: presence).	Evaluation of species indication as biological tools for environmental monitoring
Heavy metals parameters	-Profile of heavy metals ^a ; -The category "Other" ^b .	-Ordinal (0: absence; 1: presence); -Ordinal (0: absence; 1: presence).	Evaluation of qualitative profile investigated

^aThe profile of metals includes the major citations in the titles and/or abstracts and/or keywords during the literature selection: aluminum (Al), arsenic (As), cadmium (Cd), copper (Cu), iron (Fe), mercury (Hg), manganese (Mn), lead (Pb), and zinc (Zn), and compiled data refers to doses in biomass measurement;

^bThe category "Other" includes the diverse other small frequencies of metals citation founded in studies, such as calcium (Ca), chromium (Cr), cobalt (Co), gold (Au), nickel (Ni), magnesium (Mg), molybdenum (Mo), and vanadium (V), and compiled data refers to doses in biomass measurement;

Abbreviations: SEM: Scanning Electron Microscopy; TEM: Transmission Electron Microscopy; LM: Light Microscopy; and CF: Confocal Microscopy

Figure 1: **A.** Histogram of impact factors distribution according the Journal Citation Reports (JCR, 2018). The symbol (*) indicated journals not indexed with Impact Factor for the current year. **B.** Word cloud of citations frequency for journals where selected studies were published. Letters size and line strength indicates the proportional frequency of each journal.

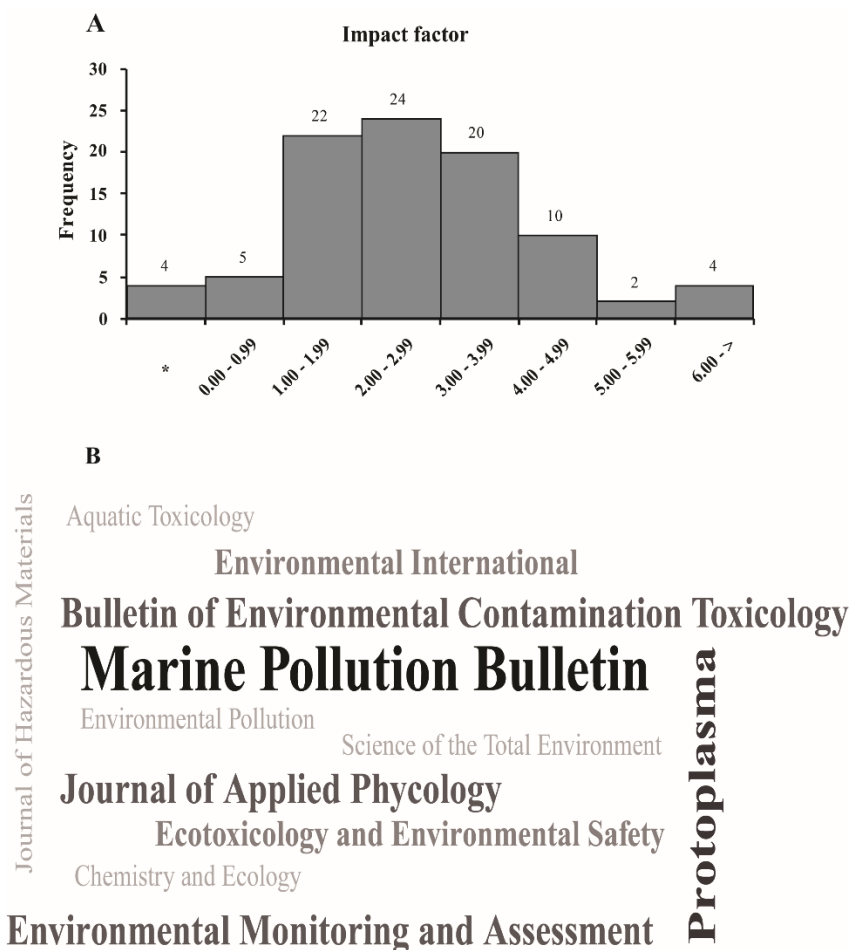
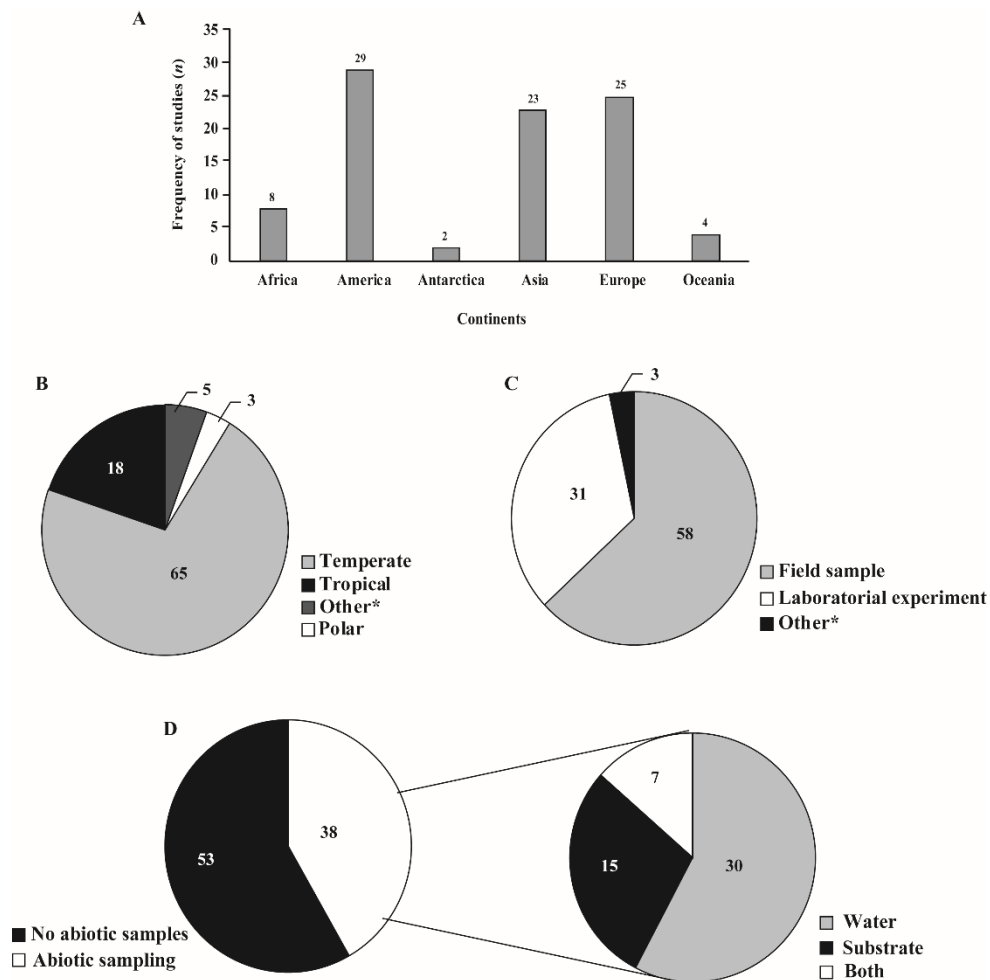


Table 2: Frequencies of studies developed in each country according with the present database (n=91). Countries with the same frequency in the database were listed in the same line, and the correspondent number represents the individual effort of each listed country. Frequency of efforts is presented in decreasing order.

Countries	Frequency of papers
Brazil	14
Chile	7
India, Mexico	6
England	5
Australia, Egypt	4
Saudi Arabia, China, Spain, Irish, Italy, Turkey	3
Polonia, Antarctica, South Korea, United States of America, Malaysia, United Kingdom	2
Algeria, Denmark, Finland, France, Greece, Yemen, Mauritius Islands, Indonesia, Iran, Libya, Morocco, Pakistan, Portugal, Romania, Tunisia	1

Figure 2: **A.** Frequency of studies' occurrences per continent. **B.** Pie chart of relative perceptual frequency for climatic zones distribution of studies (Temperate, Tropical and Polar). The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied laboratorial clonal samples or biomass for human consumption. **C.** Pie chart of relative frequency for kind of study. The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied biomass for human consumption. **D.** Pie chart of relative frequency of abiotic sampling between the studies. The fraction of articles that included abiotic data is also partitioned in relative frequency of occurrence.



The distribution between continents can be related to the elevated number of Universities and Scientific Research Centers in Europe, North America and Asia. According to the Scientific Journal Rankings (SCImago, 2018) the ten best universities worldwide are located in North America (USA and Canada), Europe (UK, Germany, France, Italy and Spain) and Asia (China, Japan and India). However, the major occurrence of data for Brazil and the representation of Latin-American countries in the present study is a new relevant result, which differs from the previous observation of importance for universities in North America, for

example. This result reflects the importance of database selection in the first step of research, when the objective is defined.

The traditional database Web of Science indexed articles in English as the current scientific language, and many ranked publications are not open access by editorial boards, limiting the access and dissemination of full articles worldwide. The proposed inclusion of platforms, such as Google Scholar, Scielo and the CAPES Portal, was revealed as relevant for covering scientific projects in South America. This inclusion during the literature search allowed a linguistic diversification (i.e. English, Portuguese and Spanish languages), which highly influenced the ranking of results during the article searching process. Linguistic diversification returned article records that were not present in lists available when the keywords were searched for exclusively in English. This point has been presented and discussed by Martín-Martín et al. (2018). Those authors compared the differences among different databases and similarities of searching processes among them. They highlight that Google Scholar supersedes data from Web of Science and has the power to include a high percentage of studies in non-English languages and with lower citation indices. With this, we infer that the present database was representative to cover the gaps due to scientific dissemination, attaining the objectives of the proposed review. However, it is important to highlight that the present database is composed exclusively of articles published in English as result of the defined selection criteria applied during the searching step.

Regarding climatic zones, the highest incidence of studies occurs in temperate zones (65 articles, 71.43%), followed by tropical areas (18 articles, 19.78%). The polar areas were underrepresented, with only 3 articles (3.30%) (Figure 2B). This highlights a gap in our understanding and must be a cause for concern for the scientific community due to its relevance for global ecological process. Considering global changes such as warming and ocean acidification, the immobilized pollutants from polar areas can be redistributed via physical, chemical, geochemical and biological process (Potapowicz et al., 2019). Moreover, significant concentrations of pollutants, such as pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals from anthropogenic mining have been reported in Antarctica (Potapowicz et al., 2019). With this potential for increased pollution, monitoring of heavy metal contamination in this region should be of high interest. Additionally, climatic changes will modify the physical and chemical characteristics of seawater (IPCC, 2014), and the remobilization of stored pollutants can increase the toxic effects of these metals for organisms (Nikinmaa, 2013).

The majority of studies surveyed here were a systematic characterization of heavy metal contents in algal samples collected in situ (63.74%), followed by experimental evaluation

of heavy metal exposure (34.07%). Interestingly, three studies (3.30%) did not use field samples and instead explore the presence of metals in food resources (Figure 2C). All of the compiled studies also do not consider seasonal monitoring or replications, and only 21 presented seasonal data or replications within the same season but over interannual sampling. Specifically, only five studies presented annual and seasonal replications in their collection procedures (Table 3). Complementary discussion about the absence of seasonality in the studies' efforts and its implications is presented in the following sections.

Table 3: Frequency of studies that consider seasonality in experimental design of field sampling (n=21 studies). The correlation among column and line indicate the frequency of simultaneous sampling in indicated seasons.

	Spring	Summer	Autumn	Winter
Spring	0			
Summer	7	1		
Autumn	4	3	1	
Winter	3	1	1	0
All seasons	5			

For the heavy metals' characterization in the abiotic realm (including substrate and/or water sampling), 53 studies (58.24%) did not consider these parameters in the field sampling procedures or experimental design (Figure 2D). In turn, 30 studies (32.97%) presented concentrations of heavy metals in seawater and 15 (16.48%) in the substrate, but only seven studies (7.69%) considered both components simultaneously (Figure 2D). This lack of data collection is problematic for the evaluation of heavy metals' influence on organisms, considering possible relationships that could be established between the availability of metals from the environment for biological assimilation, and consequently, their toxicity for benthic macroalgae.

2.3.2. Biological and ecotoxicological parameter categories

The data from the 91 analyzed studies, in the genera list descriptor, included investigations of heavy metal impacts in 363 seaweed samples, with 225 species distributed among 83 genera. Considering the distribution among groups, there is a higher frequency of studies with Phaeophyceae (131), followed by Rhodophyta (117) and Chlorophyta (108) (Figure 3A). However, grouping the data by genera, there is a higher diversity for Rhodophyta (36 genera, 43.37%), followed by Phaeophyceae (30 genera, 36.14%) and Chlorophyta (17 genera, 20.48%). Besides the high representation of Rhodophyta, the most representative genus

Table 4: Complete list of genera cited in studies selected in our database (n=91 articles and 83 genera). The data is organized by algae groups (Chlorophyta, Rhodophyta and Phaeophyceae), and alphabetically ordered. The most frequent genus cited to each algae group is highlighted in bold.

	Genera	Frequency of citation
Chlorophyta	<i>Acetabularia</i>	2
	<i>Blidingia</i>	1
	<i>Bryopsis</i>	1
	<i>Caulerpa</i>	12
	<i>Chaetomorpha</i>	5
	<i>Cladophora</i>	14
	<i>Coccotylus</i>	1
	<i>Codium</i>	9
	<i>Dasycladus</i>	1
	<i>Enteromorpha</i>	23
	<i>Halimeda</i>	3
	<i>Lola</i>	2
	<i>Penicillus</i>	1
	<i>Pterocladia</i>	3
	<i>Turbinaria</i>	2
	<i>Udotea</i>	1
	<i>Ulva</i>	31
Rhodophyta	<i>Acanthophora</i>	5
	<i>Acrosorium</i>	1
	<i>Agardhiella</i>	1
	<i>Amphiroa</i>	1
	<i>Anotrichium</i>	1
	<i>Audouinella</i>	1
	<i>Bostrychia</i>	2
	<i>Caloglossa</i>	2
	<i>Ceramium</i>	4
	<i>Champia</i>	1
	<i>Chondracanthus</i>	1
	<i>Chondria</i>	2
	<i>Chondrus</i>	2
	<i>Corallina</i>	6
	<i>Digenia</i>	1
	<i>Furcellaria</i>	1
	<i>Galaxaura</i>	5
	<i>Gelidiella</i>	2
	<i>Gelidium</i>	6
	<i>Gigartina</i>	1
	<i>Gracilaria</i>	21
	<i>Gracilariopsis</i>	3
	<i>Hypnea</i>	12
<i>Iridaea</i>	1	

<i>Jania</i>	4
<i>Kappaphycus</i>	1
<i>Laurencia</i>	8
<i>Liagora</i>	1
<i>Mazzaella</i>	1
<i>Palmaria</i>	1
<i>Phyllophora</i>	2
<i>Polysiphonia</i>	3
<i>Porphyra</i>	5
<i>Pterocladia</i>	2
<i>Rhizoclonium</i>	1
<i>Scytosiphon</i>	2
<i>Adenocystis</i>	2
<i>Ascophyllum</i>	2
<i>Ascoseira</i>	1
<i>Bifurcaria</i>	1
<i>Colpomenia</i>	1
<i>Cystophora</i>	3
<i>Cystoseira</i>	13
<i>Cystosphaera</i>	1
<i>Desmarestia</i>	2
<i>Dictyopteris</i>	2
<i>Dictyota</i>	6
<i>Dilophus</i>	1
<i>Durvillaea</i>	1
<i>Eisenia</i>	1
<i>Fucus</i>	16
<i>Halopteris</i>	1
<i>Himanthalia</i>	1
<i>Himantothallus</i>	1
<i>Hizikia</i>	2
<i>Hormophysa</i>	3
<i>Laminaria</i>	2
<i>Lessonia</i>	3
<i>Macrocystis</i>	1
<i>Padina</i>	23
<i>Petalonia</i>	1
<i>Sarcodiotheca</i>	1
<i>Sargassum</i>	33
<i>Scaberia</i>	1
<i>Solieria</i>	2
<i>Undaria</i>	2

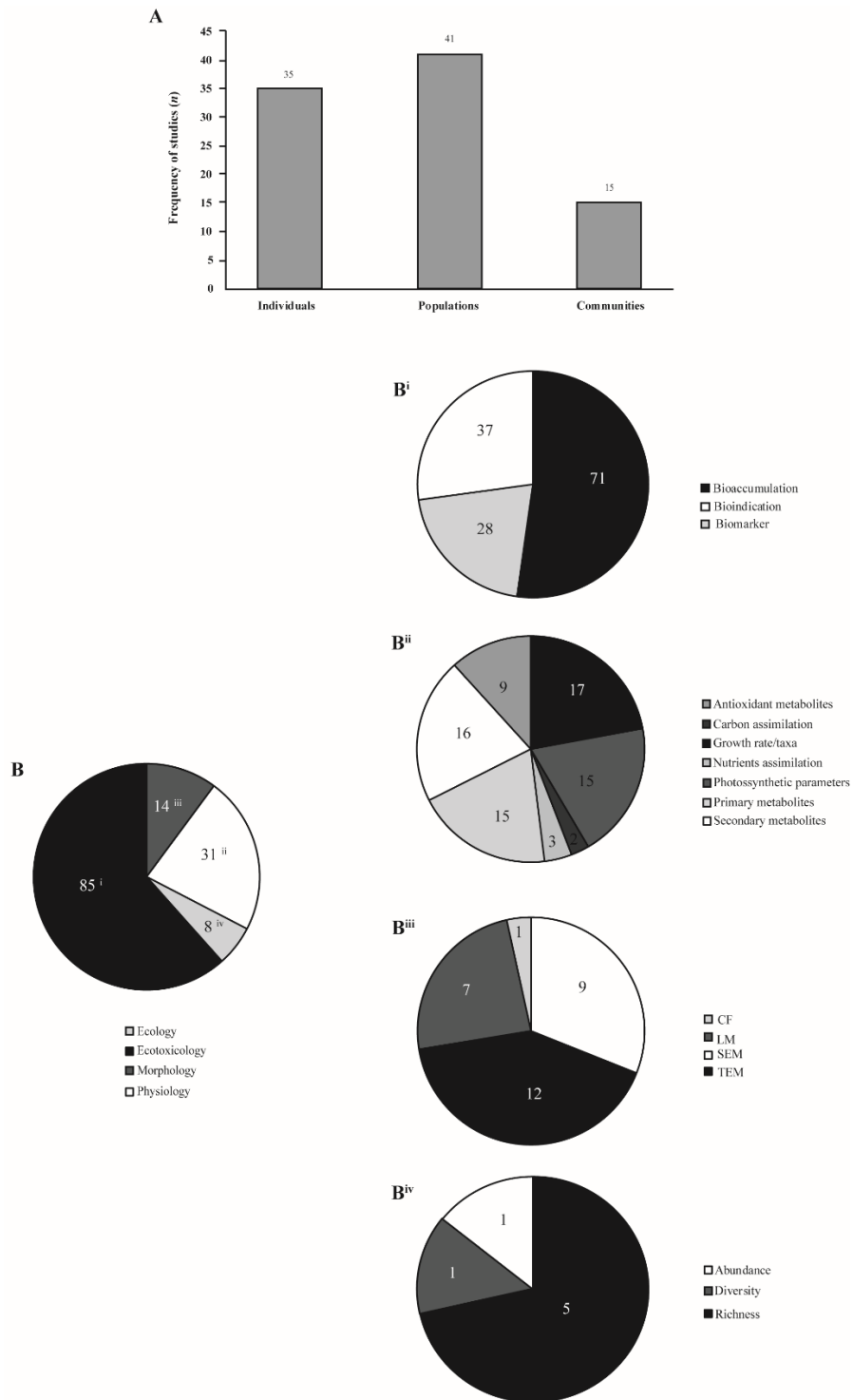
Phaeophyceae

The compiled data show a high divergence in species' analyses, and 159 species (70.67%) were studied only once. Curiously, the species *Ulva lactuca* was present 16 times among the studies and was the only species with this high representation, contributing to the higher frequency of its genus. Considering that many species occurred in a low frequency of studies, further investigations to evaluate the most cited biological models were done at the genera level, and results are presented in the following section 3.5. Investigations that consider impacts of heavy metals at the ecosystem level were absent in the present review. In contrast, investigations at the individual or population levels together represented 83.7% of articles, with 39 and 38 studies, respectively (Figure 4A).

Analyzing the other proposed parameters of the biological category (Table 1), there was a small but significant effort in the replication of physiological, morphological and ecological descriptors compared to the ecotoxicological descriptors (Table 1). In the ecotoxicological category, the majority of studies highlight species recommendation for the purpose of bioaccumulation analyses (85 studies or 93.41%) (Figure 4B and 4Bⁱ). The application as biomarkers and/or bioindicators summed were also representatively present in studies, but not with the same individual score of bioaccumulation citations, which was the major effort descriptor in all analyzed studies.

Furthermore, in the biological category, the best representation belongs to the physiological descriptors (31 studies or 34.07%), followed by morphological (14 studies or 15.38%), and ecological descriptors (8 studies or 8.79%) (Figure 4B). Among physiological descriptors (selected as described in Table 1), carbon and nutrient uptake presented the lowest presence in studies. In contrast, growth rates and secondary metabolites (i.e. amino acids and phenolic compounds) were the most frequent descriptors, present in 17 and 16 studies, respectively (Figure 4Bⁱⁱ). Following the morphological descriptors, Transmission Electron Microscopy (TEM) was the most applied descriptor to investigate structural alterations due to heavy metal exposure (12 studies) (Figure 4Bⁱⁱⁱ). However, the morphological descriptors were not frequently cited in studies related to heavy metal impacts, considering that 77 of them did not include any of these parameters for evaluation of heavy metal impacts. Moreover, the microscopy techniques are most associated with investigations of individual or population samples, which is consistent with observations of the high frequency of studies in these biological levels. Similarly, data for ecological descriptors (Table 1) were absent in more than 90% of studies presently evaluated (Figure 4B). Additionally, biomass recovery parameters were not estimated in any study, while richness indices were the ecological parameter with the highest representation, though it only has five occurrences (Figure 4B^{iv}).

Figure 4: **A.** Relative frequency (numerical and perceptual) of studies per levels of biological organization (from individuals to ecosystem). **B.** Pie chart of parameters descriptors applied per study. Roman numbering (I to IV) in superscript letters indicated the correspondent pie chart for each parameter, where details of relative numerical frequency of each descriptor are presented. **Bⁱ.** Ecotoxicological parameters. **Bⁱⁱ.** Physiological parameters. **Bⁱⁱⁱ.** Morphological parameters. **B^{iv}.** Ecological parameters.



The absence of studies in higher levels of biological organization (i.e., community and ecosystem functioning) with poor descriptions of the abiotic components in the compiled data highlights the relevance of organism's indicators for monitoring purposes. (Clements and Rohr (2009) highlighted the relevance and necessity of the inclusion of diverse trophic levels to better understand how pollutants impact the environment, considering the effects of toxins moving through a food chain or in a spatial-temporal scale. In addition, there are discrepancies in terms of effort in the "biological parameters" category and for the relative frequency of applied descriptors between analyzed studies, with a higher frequency of ecotoxicological descriptors and a low frequency of other parameters' categories.

The low frequency of evaluation of abiotic parameters in studies highlight the necessity of a concise correlation among biotic and abiotic descriptors (see previous discussion in section 3.1). The different physico-chemical characteristics of seawater (i.e. salinity, pH and temperature) affect the physiological behavior of photosynthetic organisms, due to alterations in osmotic balance, energetic requirements and nutrient uptake capacity. These parameters change with seasonal characteristics, reinforcing the necessity of monitoring in different seasons to compare the true accumulation of metals related to environmental conditions. In particular, the majority of studies were conducted in temperate climatic areas, where seasonality is defined with marked changes in seawater chemical characteristics. Thus, studies giving recommendations for ecotoxicological purposes without previous knowledge about the basal physiological state or the history of contaminants can result in an overestimation of species' potential for monitoring or restoration interests, or even the underestimation of resilience against chronic exposure to heavy metals.

The data concerning contaminated biomass for human consumption, as found in some articles, also deserve attention relative to seasonality, considering the possible increase of heavy metal content in tissues due to the higher availability of pollutants through seasons. The differences between availability and biosorption potential can increase the heavy metal concentrations in algae, inducing neural or hepatic toxic effects according to the season of its collection or cultivation. Moreover, complementary analyses (e.g. applying meta-analyses for comparative inferences of temporal-spatial impacts extension) can lose argumentative strength without inferences relative to seasonal variances. Consequently, conclusions made without these considerations can reduce their relevance to appliance in a context of conservation policies.

The next step will be to apply similar descriptors between studies, prioritizing parameters relevant for characterizing the effects of heavy metals on benthic seaweeds for

physiological, morphological and ecological implications, as well as for ecotoxicological descriptors. Additionally, the prioritized descriptors must be accessible both in terms of cost and applicability worldwide, considering the limitations in financial and human resources in developing countries. Those suggestions can help to construct a more realistic baseline of heavy metal pollution influences in marine benthic seaweeds for comparative purposes in different spatial and temporal scales.

2.3.3. Heavy metals parameters and environmental applications

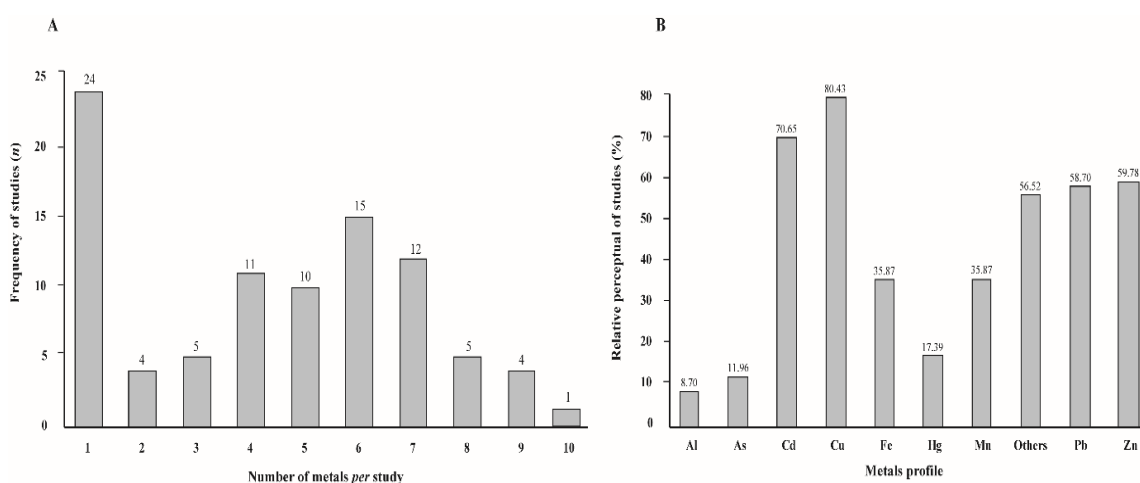
The most relevant data for heavy metals measurements in biomass was the characterization of the metal's profile between studies, and the differences between the number of elements in each. More than fifty percent of studies include relative frequencies of four to seven metals. However, there was also a high frequency of monometallic assessments (26.37%) in the studies (Figure 5A). Moreover, only one article considers an investigation of a profile with all the nine elements and the “Other” category. These data indicated that, while data with single element evaluation is still common among the published studies, multi-parameter studies are becoming more frequent.

The results reveal that Cu was the most studied element both in monometallic and multi-parameter studies. Cu concentrations were determined in 74 studies (80.43%), followed in frequency by Cd (65 studies, 70.65%) and Zn (55 studies, 59.78%) (Figure 5B). Aluminum was the least representative element, and only 8 studies (8.70%) evaluating its concentration. Interestingly, 52 studies (56.52%) presented some additional element categorized as “Other” (Figure 5B), but with low citation frequency for each element observed. This fact is relevant, because the inclusion of different elements reveals a concern of a pollution source in a particular region, or a specific interest in the elements historically recognized as a source of pollution in local/regional scale. Specifically, mining activities were widely cited as a source of environmental contamination, and the elements added to the evaluated profile reflects the commercial activity developed around the collection and/or monitoring site (for details of compiled references, see Supplementary Material).

In respect to the major evaluated elements, we can suggest a major concern for Cu, Cd and Zn as a tendency of comparison among studies. Although Cu and Zn are essential micronutrients, small increases in concentrations beyond those physiologically required are toxic (Nagajyoti et al., 2010; Rai et al., 1981). Moreover, these elements are quite common in environments impacted by heavy metals. Considering the natural origin of these elements, Cd,

Cu and Zn are present in similar ores, in different proportions according to the ore's category (Nagajyoti et al., 2010). Additionally, they represent an important component of electronic wastes worldwide (Dimitrakakis et al., 2009; Li et al., 2011; Morf et al., 2007). Taking these arguments into consideration, the contamination of such elements in marine environments are closely related, and possibly explain why they are evaluated frequently and together.

Figure 5: **A.** Numerical frequency of metallic elements per study (n=91), considering the proposed list of nine elements and the “Other” category (n=10 elements per study). **B.** Relative proportional frequency of each element (Al, As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Zn and Other category) evaluated per study.



2.3.4. Evaluation of studies' parameters effort to major representative biological models

In the present database, the genus *Sargassum*, *Ulva* and *Enteromorpha* were the three most common, and the results and discussion will be focused on these biological models. In sum, 26 studies with *Sargassum* (33 samples), and 36 studies with *Ulva* (31 samples) and/or *Enteromorpha* (23 samples) were compiled for the following analyses and discussion.

The *Sargassum* (Agardh, 1820) genus is widely distributed from tropical to temperate areas (GBIF.org, 2019), and for its cosmopolitan behavior can be considered a good model for anthropogenic impacts in different regions. The genera *Ulva* (Linnaeus, 1753) and *Enteromorpha* (Link, 1820) are the subject of taxonomic discussions, with proposed reclassifications between them. Currently, the holotype of *Enteromorpha* genus is recognized as *Ulva* as the accepted name, and discussions about taxonomic classification of species are still occurring, due to the advancement in molecular systematics (Hayden et al., 2003; Shimada et al., 2003). To avoid the mistakes and the bias of interpretations, the evaluation of data will

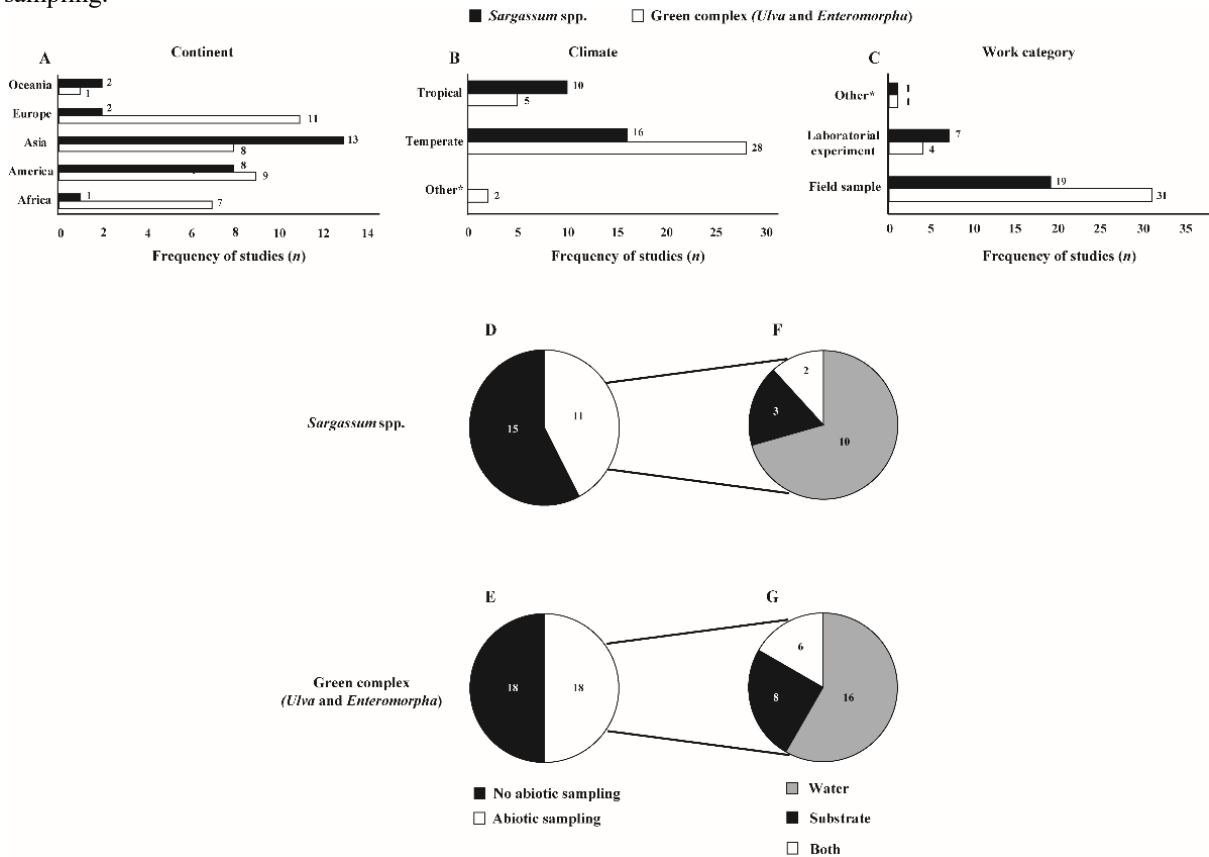
encompass all the species of both genera as a unique taxonomical complex, named henceforth as “green complex”. The genus *Ulva* and its synonymies receive special attention due to the environmental phenomenon called “green tides” in coastal areas (Bermejo et al., 2019; Wang et al., 2015), and is also recommended for heavy metals monitoring and in vitro evaluation of metallic elements’ toxicity (see references in the Supplementary Material 1). Considering the wide distribution of these models, we infer that our database is representative of the worldwide trends for applied biological models in phycological studies.

Sargassum showed a major concentration of studies conducted in Asia compared to other continents (Figure 6A). On the other hand, the green complex had a more equitable distribution among continents, and Europe presented the highest frequency of studies (Figure 6A). Details of countries where studies are developed for both biological models are presented in the Table 5. Interestingly, although studies are concentrated in Asia and Europe, by analyzing data for each country it was revealed that Brazil presented the highest efforts of studies with *Sargassum*, and Chile had major efforts to evaluate the effect of heavy metals in the green complex.

Table 5: Frequencies of studies developed per country, considering the most cited genera *Sargassum* (26 studies) and the green complex of *Ulva* and *Enteromorpha* (36 studies). Countries are presented in alphabetical order.

Country	<i>Sargassum</i>	Green complex
Algeria	0	1
Australia	2	1
Brazil	5	2
Chile	0	5
China	1	0
Egypt	1	4
England	0	1
Finland	0	1
Greece	1	1
India	5	1
Iran	2	2
Irlanda	0	1
Italy	0	2
Malaysia	1	0
Mexico	3	1
Morocco	0	1
Poland	0	1
Romania	0	1
Saudi Arabia	2	2
South Korea	1	1

Figure 6: Data for the major biological models indicated in present study, *Sargassum* and the green complex (*Ulva* and *Enteromorpha* genera). **A.** Relative frequency of studies' efforts per continent. **B.** Relative frequency of climatic zones distribution of studies (Temperate, Tropical and Polar). The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied laboratorial clonal samples or biomass for human consumption. **C.** Relative frequency for kind of study. The symbol (*) is related to the category "Other" and indicate studies that applied biomass for human consumption. **D** and **E.** Pie chart of relative frequency of abiotic sampling between the studies. **F** and **G.** Pie chart of studies' fraction that included abiotic data, partitioned in relative frequency of sampling.



The studies were mostly developed in temperate areas (16 for *Sargassum* and 28 for the green complex) (Figure 6B). Field evaluations, characterizing the presence of metal and its concentrations in algal samples, comprised the majority of the studies (73.08% for *Sargassum* and 57.41% for green complex). *Sargassum* was a biological model that was also commonly used for experimental studies (26.92% against 7.41% of green algae). Both models presented one study evaluating the metal's concentration in tissues used as a human food source (Figure 6C). Seasonality was investigated more frequently for the green complex samples (9 studies) than for *Sargassum* (3 studies) (Table 6), and for both models the replication effort was smaller in the winter.

Table 6: Frequency of studies that consider seasonality in experimental design of field sampling for the major biological models: *Sargassum* genus and the green complex (*Ulva* and *Enteromorpha* genera). The correlation among column and line indicate the frequency of simultaneous sampling in indicated seasons.

<i>Sargassum</i>	Spring	Summer	Autumn	Winter
Spring	0			
Summer	1	0		
Autumn	0	0	0	
Winter	1	0	0	0
All seasons	1			

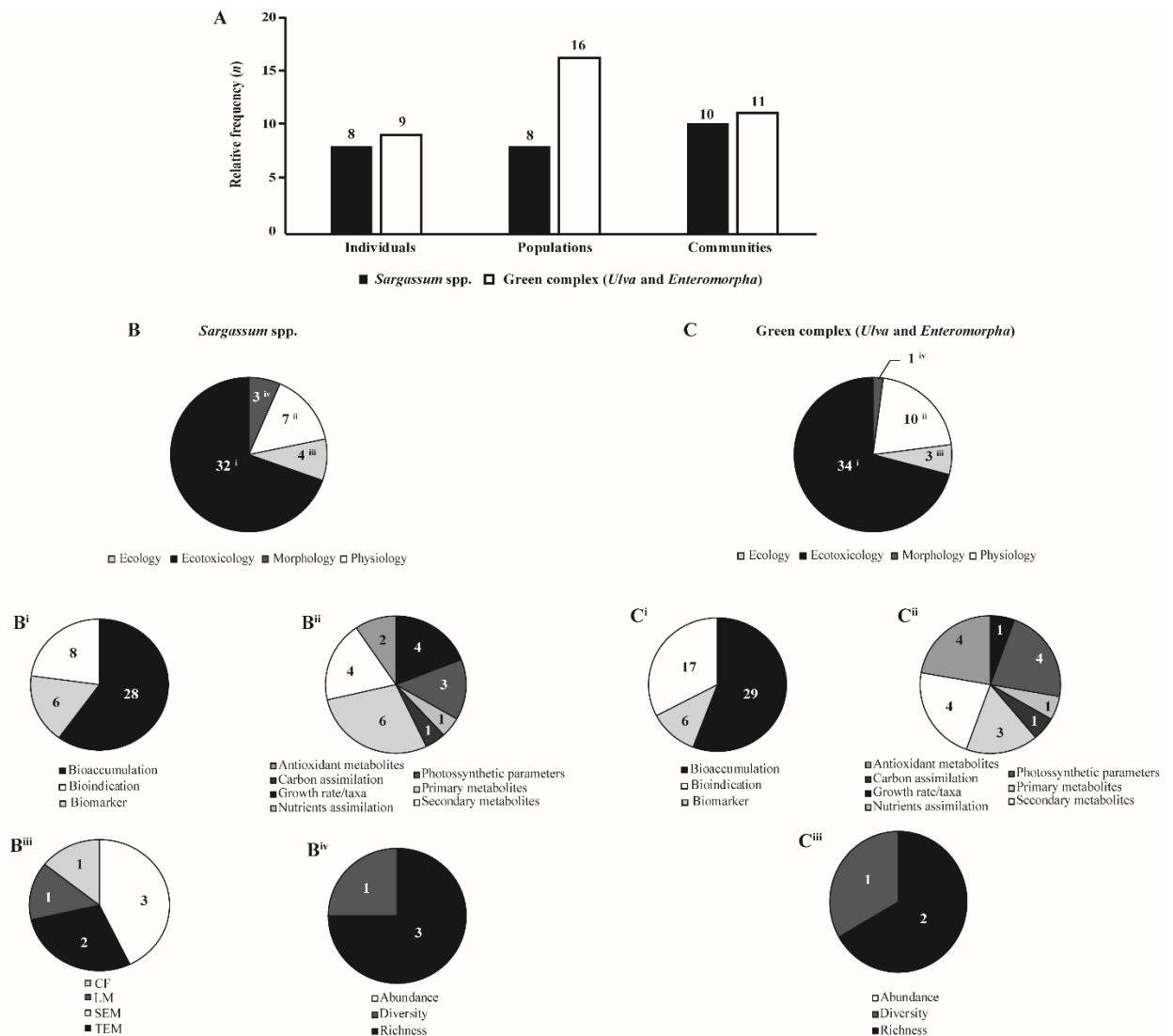
Green complex	Spring	Summer	Autumn	Winter
Spring	0			
Summer	3	1		
Autumn	2	2	1	
Winter	1	0	0	0
All seasons	3			

In terms of abiotic parameters, 42.31% of studies with *Sargassum* and 50.00% of studies with the green complex did not present any abiotic data or evaluate heavy metals in seawater or sediments (Figure 6D and E). These results follow the same tendency of the total data. The heavy metals' contents in seawater was the most analyzed fraction for both biological models, with 38.46% in *Sargassum* and 44.44% in the green complex studies (Figure 6F and G). The lack of abiotic data for the most cited genus highlights the concern about the true understanding of the heavy metals effect in studies worldwide. Thus, the influence of abiotic characteristics in the toxic response or accumulative capacity is still poorly understood and must be better evaluated in future studies with these organisms.

Following the tendency of the total database, studies that focus on the individual or populational level comprised more than fifty percent for both models (Figure 7A). However, studies on *Sargassum* showed relevant effort in investigations at the community level, with 38.46% of studies (Figure 7A). Observing the total data, we observed that *Sargassum* was present in the majority of studies at the community level and was the most representative genus in this level of biological organization. However, we must consider that *Sargassum*, as previously stated, is a key group for algal beds as a canopy former. Thus, due to this wide distribution, its presence in studies that sampled representatives of a community demonstrates the importance of this genus for monitoring actions in higher levels of biological organization. Moreover, the inclusion of multiple species is important to describe the effects of processes influenced by heavy metal pollution on biological interactions. For example, the epiphytic relationship can be disrupted due to the presence of contaminants (Costa et al., 2019), and

reinforce the importance of increasing the efforts in evaluations of heavy metal pollution in higher levels of biological organization.

Figure 7: Data for the major biological models observed in present study, *Sargassum* and the green complex (*Ulva* and *Enteromorpha* genera). **A.** Relative frequency of studies per level of biological organization (from individuals to ecosystem). **B** and **C.** Pie chart of parameters descriptors applied per study. Roman numbering (I to IV) in superscript letters indicated the correspondent pie chart for each parameter, where details of relative numerical frequency of each descriptor are presented. **Bⁱ** and **Cⁱ**. Ecotoxicological parameters. **Bⁱⁱ** and **Cⁱⁱ**. Physiological parameters. **Bⁱⁱⁱ**. Morphological parameters. **B^{iv}** and **Cⁱⁱⁱ**. Ecological parameters.



In the biological and ecotoxicological parameters, the frequency of descriptors for both biological models followed the tendency of the total database. Ecotoxicological descriptors were present in 96.15% of studies with *Sargassum* and in 94.44% of studies with the green complex (Figure 7B and C) and were more frequent than majority of other biological descriptors. The parameter of bioaccumulation was prevalent in this category, with more than

80% for both algae (Figure 7Bⁱ and Cⁱ). Differences between the most frequent biological descriptors were found for both models. For *Sargassum*, the physiological descriptors were most frequent in the studies (7 studies, 26.92%), and the primary metabolites receive major attention between studies (6 studies, 23.08%), followed by secondary metabolites and growth rates (both with 4 studies, 15.38%) (Figure 7B and Bⁱⁱ). In turn, the green complex also received high attention for the physiological descriptors (10 studies, 27.78%), but three descriptors received equal frequency between studies, secondary and antioxidant metabolites and photosynthetic rates (with 4 studies each, 11.11%) (Figure 7C and Cⁱⁱ).

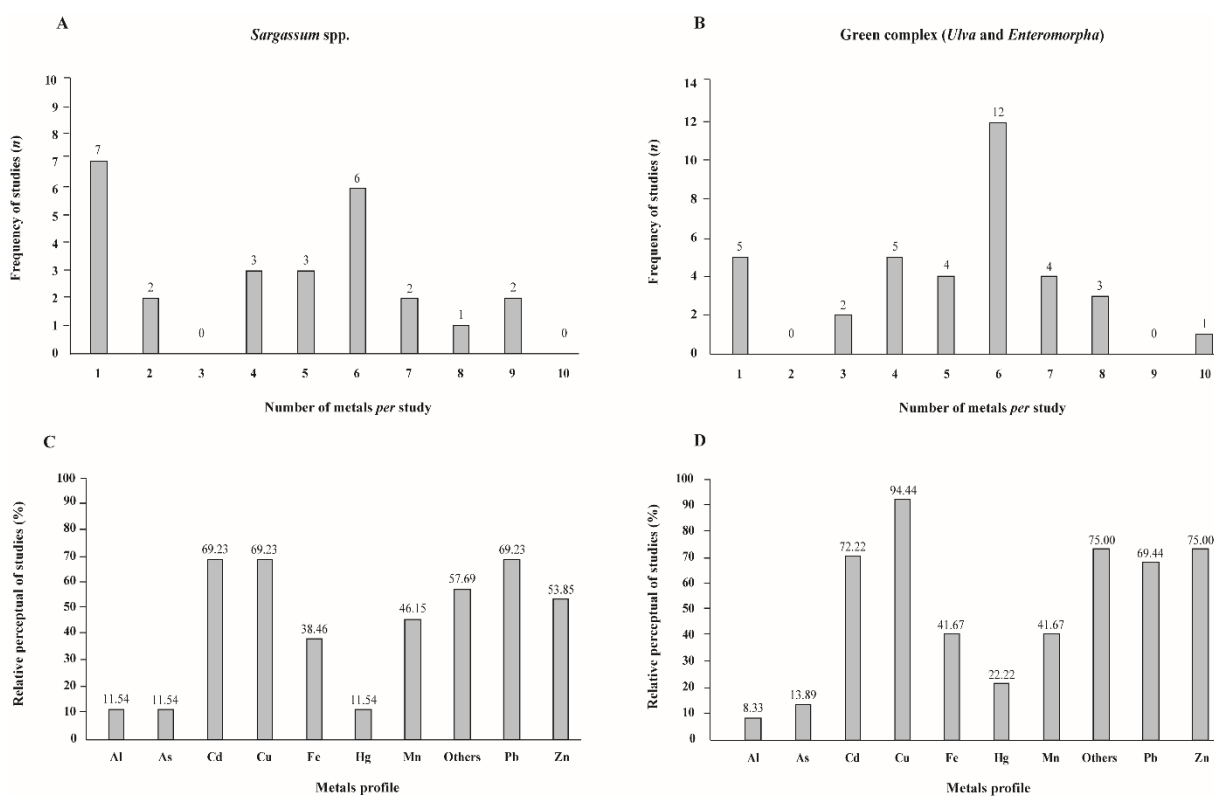
The effort to apply morphological descriptors did not receive much attention for either biological models, compared with the other presented parameters. The morphology of *Sargassum* was evaluated only in three studies, while morphology was assessed in only one study in the green. Transmission Electron Microscopy was the most common parameter assessed between the two biological models, with two studies in *Sargassum* (Figure 7Bⁱⁱⁱ) and one study with green complex (not graphically shown). Considering the ecological descriptors, richness index was present in three and two studies with *Sargassum* and the green complex, respectively, and both had one citation for diversity index (Figure 7B^{iv} and 7Cⁱⁱⁱ). Abundance and biomass descriptors were not present for either biological models.

Reinforcing the previous discussion about the relevance of investigations at higher organizational levels, and considering the low correlation with abiotic data, there is a lack of continuity with the application of ecotoxicological concepts in the studies with the widely applied biological models. Besides the wide application of certain descriptors such as bioaccumulation, the absence of descriptors that support these hypotheses and/or monitoring procedures are evident. Especially, the absence and low representation of physiological and ecological descriptors in the database indicates an inaccurate baseline to evaluate the process of resilience and acclimation to disturbances due to acute or chronic exposure to heavy metals. Considering this, major efforts should be addressed to evaluate long-term effects of heavy metal pollution, and widely apply descriptors that allow the understanding of mechanisms, from individuals to populations and communities, that reflect the patterns and processes that drive assemblage maintenance.

For the heavy metal parameters, considering the number of metallic elements in each study, we observed a high frequency of investigations of multiple metals simultaneously for *Sargassum*, with studies using four to six elements comprising the highest proportion (12 studies, 46.16%) (Figure 8A). However, studies evaluating monometallic contaminants were still common for the genus (7 studies, 26.92%) (Figure 8A). Similarly, there were many studies

of multiple metals in the green complex, with six elements receiving the most attention (12 studies, 33.33%) (Figure 8B). Both biological models had few studies with seven or more elements, and only the green complex presented one study assessing 10 metals. That said, we can unfortunately infer that the most frequently used biological models follow the tendency to assess metallic toxicity in a context of complex multi-pollutants, with simultaneous exposure to different contaminants.

Figure 8: A and B. Numerical frequency of metallic elements per study (n= 26 to *Sargassum* genus and 36 to green complex), considering the proposed list of nine elements and the Other category (n=10 elements per study). C and D. Relative perceptual frequency of each element (Al, As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Zn and Other category) evaluated per study.



In respect of metallic profile investigation, and comparatively with results of total database, differences were observed particularly with each biological model. *Sargassum* was most studied for the effects of Cd, Cu and Pb, together comprising 69.23% of studies (Figure 8C). In turn, the green complex was most studied for Cu (94.44%) between all the other elements. Instead, was observed that Zn and the category “Other” were well represented for this group (both with 75.00%) (Figure 8D). These differences for the most studied elements can indicate differences in application purposes between these models. Contrary to the general trend, the category “Other” was less frequently assessed in *Sargassum* than the element Pb, possibly indicating that specific metallic elements receive more attention in investigations for

this biological model. In contrast, the green complex seems to have a more equitable representation of all models in the database and is less specific for some point-source category of pollution. This fact is interesting, considering the previous discussion about the monitoring purposes of major biological groups in the beginning of this section. The application of different models can be an interesting method to construct a scenario of responses to heavy metal pollution, considering a more generic and wide response to different contaminants by the green complex, and more specific and sophisticated physiological responses by *Sargassum*.

2.4. CONCLUSIONS

In the present study, we reviewed a series of scientific studies to access the main gaps in efforts to replicate parameters and descriptors applied for monitoring heavy metal impacts in seaweeds worldwide. The present review was not focused on measurements or discussions about the effectiveness of the observed parameters applied; rather, it sought to highlight the low availability of correlated data between the different studies. The low similarity of applied parameters could limit the strength of comparisons and bias the interpretation of heavy metal impacts on benthic seaweeds in diverse study sites.

Additionally, the relevance of both *Sargassum* and the green complex (composed of the genera *Ulva* and *Enteromorpha*) for the purpose of environmental monitoring was apparent. Still, although these biological models were frequently used in studies, the low similarity among descriptors used reflects a limitation for comparing results across studies. The use of particular species for the purpose of comparison and monitoring worldwide was not effective, due to the low representation of the majority of listed species with low citation frequency. Thus, genera can be a good source of global comparisons to construct a background in information about heavy metal pollution and its impacts on benthic algae. However, considering other species that are relevant for local community structure, or with relevant biological interactions, such species must be evaluated carefully to be representative to evaluate the impacts of heavy metals at a local scale. Additionally, many algae species are important as food and economical sources for diverse traditional consumption and fisheries activity. Including these species in monitoring purposes is imperative, considering the potential of biomagnification and bioaccumulation processes through the food chain.

The majority of compiled studies had elevated impact factors and are well-indexed in journals with great scientific relevance. Interestingly, and in contrast to other recent reviews (e.g., Sánchez-Quiles et al. 2017), South America was overrepresented in our database

sampling. The linguistic diversification in searching procedures showed to be relevant to represent different countries in scientific dissemination. Nevertheless, the compiled data highlighted important gaps in the useful parameters to evaluating heavy metal impacts, and the divergence of their application among studies and research groups.

Though the major biological models had multiple metals in their evaluations, the low global effort to produce monometallic assays and/or field evaluations, as well as a lack of abiotic evaluations of the availability of metals, are deficiencies in the analyzed database. These results are not realistic with the increasing complexity of contaminants and with the processes that chemicals are subjected to in the environment including physical, chemical and geochemical processes. In particular, the trends in oceanic physical and chemical changes, due to the processes of ocean acidification and global warming, can intensify the effects of heavy metal pollution on seaweeds (Nikinmaa, 2013), increasing the lethality of heavy metal toxicity, changes in community structure, and losses in ecosystem services. Considering this, multidisciplinary evaluations are suggested, including environmental data of heavy metal concentrations in diverse parts of the ecosystem (i.e., sediments, seawater, etc.), which is necessary to construct a baseline of pollution at large temporal-spatial scales. Moreover, the inclusion of diverse and similar descriptors is imperative for the purposes of comparisons on a global scale, allowing comparisons of responses against pollution that can direct more effective actions for conservation and restoration of impacted areas.

The large distance among the environmental problems and the evaluated models may be responsible for less effective initiatives focused on monitoring and restoration of degraded areas. Furthermore, the infrequent use of some techniques, especially for evaluations of cellular structures and physiological processes, reveals some weaknesses in suggesting a species/genus for the purpose of biomarkers. Additionally, with aspects related to ecological parameters, such as abundance, richness and diversity, the arguments of support for the purpose of biomonitoring are inconsistent. With this, we suggest focusing the major efforts on better connecting the applied descriptors for evaluation of heavy metals impacts, and a standardization of procedures to describe possible effects of pollution. The descriptors' standardization and recommendations for measurements of accumulated heavy metals in biomass and environmental evaluations should follow international parameters. With those precautions, a comparison among results of measurements and a precautionary principle for environmental and human security will be more accurate, allowing proper policies of management and restoration.

Finally, we also highlight the relevance of widely applying ecological parameters in field evaluations, involving descriptors of population or community dynamics, such as the

previously cited index of richness, diversity, abundance, and biomass measurements, in the presence of heavy metal pollutants. Those descriptors are key factors for the prediction of ecosystem services, such as the carbon and oxygen balance. Also, the estimation of biomass production can help initiatives of monitoring, evaluating the structure of food webs, and consequently, the recruitment of associated fauna or management of fisheries sources. The understanding of main gaps in descriptors and parameters, as proposed in the present literature review, can contribute for the future selection of biological models and the discussion about the relevance of data produced to date, stimulating new evaluations of the effectiveness for each parameter. All these directions and efforts are necessary for a well-organized and global effort focused in marine resources conservation, preserving the ecosystem functioning and human well-being.

2.5. ETHICAL DECLARATIONS

2.5.1. Funding

Dr. Paulo A. Horta Jr. received funding from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 306917/2009-2) and Capes-Higher Education Personnel Improvement Coordination (CAPES/PNADB 2338000071/2010-61). Giulia Burle Costa received a fellowship from CNPq Sandwich PhD Program. Gabrielle Koerich received a scholarship (CSF 88888.884790/2014-00) from CNPq. Giulia Burle Costa, Gabrielle Koerich and Bruna de Ramos received a fellowship from CAPES. BMC was funded by the Portuguese FCT– Fundação para a Ciência e a Tecnologia, within the framework of the “Norma Transitória DL57/2016/CP1361/CT0004”. This project was developed with financial support from Brazilian’s National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Higher Education Personnel Improvement Coordination (CAPES), FAPESC-Foundation of Research Funding and Innovation in the State of Santa Catarina, FAPESP-Foundation of Research Funding and Innovation in the State of São Paulo and Boticário Foundation.

2.5.2. Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest among themselves and with other research groups, or institutions, or financial agencies.

2.5.3. Contributors

The authors declare that all contributed equally for the research and/or manuscript preparation, and everyone have approved the final format of present work previously the submission. The role of each author in this work is described below:

- Miss Giulia Burle Costa, Msc.: data compilation, statistical analyses, and manuscript preparation;
- Miss Gabrielle Koerich, Bsc.: statistical analyses review, manuscript preparation and grammar review;
- Miss Bruna de Ramos, Bsc.: statistical analyses review and manuscript preparation;
- Mrs. Fernanda Ramlov, PhD: manuscript preparation;
- Begoña Martínez-Crego, PhD: manuscript preparation;
- Monya M. Costa, PhD: manuscript preparation;
- Dora Jesus, Msc.: manuscript preparation;
- Rui O.P. Santos, PhD: manuscript preparation;
- Mr. Paulo A. Horta Jr., PhD: manuscript preparation.

2.6. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to acknowledge the financial support from the Brazilian's National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Higher Education Personnel Improvement Coordination (CAPES), FAPESC-Foundation of Research Funding and Innovation in the State of Santa Catarina, FAPESP-Foundation of Research Funding and Innovation in the State of São Paulo and Boticário Foundation. Giulia Burle Costa acknowledge to the Center of Marine Science, Algarve University (Faro, Portugal), for the Sandwich period.

2.7. REFERENCES

Agardh, C.A., 1820. *Species algarum rite cognitae, cum synonymis, differentiis specificis et descriptionibus succinctis*. Lund, Berling.

Arenas-Sánchez, A., Rico, A., Vighi, M., 2016. Effects of water scarcity and chemical pollution in aquatic ecosystems: State of the art. *Sci. Total Environ.* 572, 390–403. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.211>

Bermejo, R., Heesch, S., Mac Monagail, M., O'Donnell, M., Daly, E., Wilkes, R.J., Morrison, L., 2019. Spatial and temporal variability of biomass and composition of green tides in

Ireland. *Harmful Algae* 81, 94–105. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.11.015>

Blaby-Haas, C.E., Merchant, S.S., 2017. Regulating cellular trace metal economy in algae. *Curr. Opin. Plant Biol.* 39, 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.06.005>

Cardoso, P.G., Raffaelli, D., Lillebø, A.I., Verdelhos, T., Pardal, M.A., 2008. The impact of extreme flooding events and anthropogenic stressors on the macrobenthic communities' dynamics. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 76, 553–565. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.07.026>

Carmo, Flávio Fonseca do, Kamino, L.H.Y., Junior, R.T., Campos, I.C. de, Carmo, Felipe Fonseca do, Silvino, G., Castro, K.J. da S.X. de, Mauro, M.L., Rodrigues, N.U.A., Miranda, M.P. de S., Pinto, C.E.F., 2017. Fundação tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. *Perspect. Ecol. Conserv.* 15, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2017.06.002>

Chakraborty, S., Bhattacharya, T., Singh, G., Maity, J.P., 2014. Benthic macroalgae as biological indicators of heavy metal pollution in the marine environments: A biomonitoring approach for pollution assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.003>

Clarivate Analytics, 2018. Journal Citation Report.

Clements, W.H., Rohr, J.R., 2009. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 1789. <https://doi.org/10.1897/09-140.1>

Contreras-Porcia, L., Meynard, A., López-Cristoffanini, C., Latorre, N., Kumar, M., 2017. Marine Metal Pollution and Effects on Seaweed Species, in: *Systems Biology of Marine Ecosystems*. Springer International Publishing, Cham, pp. 35–48. https://doi.org/10.1007/978-3-319-62094-7_3

Costa, G.B., Ramlov, F., Koerich, G., Navarro, B.B., Cabral, D., Rodrigues, E.R.O., Ramos, B., Fadigas, S.D., Rörig, L.R., Maraschin, M., Horta, P.A., 2019. The effects of mining tailings in the physiology of benthic algae: Understanding the relation between mud's inductive acidification and the heavy metal's toxicity. *Environ. Exp. Bot.* 167, 103818. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103818>

Davis, T.A., Volesky, B., Mucci, A., 2003. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.* [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00293-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00293-8)

Dimitrakakis, E., Janz, A., Bilitewski, B., Gidarakos, E., 2009. Determination of heavy metals and halogens in plastics from electric and electronic waste. *Waste Manag.* 29, 2700–2706. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.05.020>

Easterling, D.R., Meehl, G.A., Parmesan, C., Changnon, S.A., Karl, T.R., Mearns, L.O., 2000. Climate extremes: Observations, modeling, and impacts. *Science* (80-.). 289, 2068–2074. <https://doi.org/10.1126/science.289.5487.2068>

Gao, G., Liu, Y., Li, X., Feng, Z., Xu, Z., Wu, H., Xu, J., 2017. Expected CO₂-induced ocean acidification modulates copper toxicity in the green tide alga *Ulva prolifera*. *Environ. Exp.*

Bot. 135, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.12.007>

Gattuso, J.P., Magnan, A., Billé, R., Cheung, W.W.L., Howes, E.L., Joos, F., Allemand, D., Bopp, L., Cooley, S.R., Eakin, C.M., Hoegh-Guldberg, O., Kelly, R.P., Pörtner, H.O., Rogers, A.D., Baxter, J.M., Laffoley, D., Osborn, D., Rankovic, A., Rochette, J., Sumaila, U.R., Treyer, S., Turley, C., 2015. Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios. *Science* (80-.). 349. <https://doi.org/10.1126/science.aac4722>

GBIF.org, 2019. GBIF: The Global Biodiversity Information Facility [WWW Document]. GBIF Home Page.

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. *J. Phycol.* 48, 1064–1078. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01224.x>

Hatje, V., Pedreira, R.M.A., de Rezende, C.E., Schettini, C.A.F., de Souza, G.C., Marin, D.C., Hackspacher, P.C., 2017. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. *Sci. Rep.* 7, 10706. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11143-x>

Hayden, H.S., Blomster, J., Maggs, C.A., Silva, P.C., Stanhope, M.J., Waaland, J.R., 2003. Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *Eur. J. Phycol.* 38, 277–294. <https://doi.org/10.1080/1364253031000136321>

Iluz, D., Fermani, S., Ramot, M., Reggi, M., Caroselli, E., Prada, F., Dubinsky, Z., Go, S., Falini, G., 2017. Calcifying Response and Recovery Potential of the Brown Alga *Padina pavonica* under Ocean Acidification. <https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.7b00051>

IPCC, 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Lambers, H., Chapin, F.S., Pons, T.L., 2008. *Plant Physiological Ecology*, 2nd ed. Springer New York, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78341-3>

Lawes, J.C., Clark, G.F., Johnston, E.L., 2016. Contaminant cocktails: Interactive effects of fertiliser and copper paint on marine invertebrate recruitment and mortality. *Mar. Pollut. Bull.* 102, 148–159. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.040>

Li, J., Duan, H., Shi, P., 2011. Heavy metal contamination of surface soil in electronic waste dismantling area: Site investigation and source-apportionment analysis. *Waste Manag. Res.* 29, 727–738. <https://doi.org/10.1177/0734242X10397580>

Link, H.F., 1820. Epistola ad virum celeberrimum Nees ab Esenbeck...de algis aquaticis, in genera disponendis, in: Nees von Esenbeck, C.G.D. (Ed.), *Horae Physicae Berolinenses*. pp. 1–8.

Linnaeus, C., 1753. *Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus,*

secundum systema sexuale digestas, in: Species Plantarum, Exhibentes Plantas Rite Cognitas, Ad Genera Relatas, Cum Differentiis Specificis, Nominibus Trivialibus, Synonymis Selectis, Locis Natalibus, Secundum Systema Sexuale Digestas. Impensis Laurentii Salvii, Holmiae (Estocolm), pp. 561–1200.

Martín-Martín, A., Orduna-Malea, E., Thelwall, M., Delgado López-Cózar, E., 2018. Google Scholar, Web of Science, and Scopus: A systematic comparison of citations in 252 subject categories. *J. Informetr.* 12, 1160–1177. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2018.09.002>

MEA, 2005. Ecosystem and human well-being, Ecosystem and Human Well-Being: Synthesis. Island Press, Washington D. C. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>

Morf, L.S., Tremp, J., Gloor, R., Schuppisser, F., Stengele, M., Taverna, R., 2007. Metals, non-metals and PCB in electrical and electronic waste – Actual levels in Switzerland. *Waste Manag.* 27, 1306–1316. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.06.014>

Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>

Nikinmaa, M., 2013. Climate change and ocean acidification-Interactions with aquatic toxicology. *Aquat. Toxicol.* 126, 365–372. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.09.006>

Olivares, H.G., Lagos, N.M., Gutierrez, C.J., Kittelsen, R.C., Valenzuela, G.L., Lillo, M.E.H., 2016. Assessment oxidative stress biomarkers and metal bioaccumulation in macroalgae from coastal areas with mining activities in Chile. *Environ. Monit. Assess.* 188, 25. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-5021-5>

Peterson, H.G., Healey, F.P., Wagemann, R., 1984. Metal Toxicity to Algae: A Highly pH Dependent Phenomenon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 974–979. <https://doi.org/10.1139/f84-111>

Potapowicz, J., Szumińska, D., Szopińska, M., Polkowska, Ż., 2019. The influence of global climate change on the environmental fate of anthropogenic pollution released from the permafrost. *Sci. Total Environ.* 651, 1534–1548. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.168>

R Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing.

Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981. Phycology and heavy metal pollution. *Biol. Rev.* 56, 99–151. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1981.tb00345.x>

Sales, M., Cebrian, E., Tomas, F., Ballesteros, E., 2011. Pollution impacts and recovery potential in three species of the genus *Cystoseira* (Fucales, Heterokontophyta). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 92, 347–357. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.01.008>

Sampaio, R., Mancini, M., 2007. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. *Rev. Bras. Fisioter.* 11, 83–89. <https://doi.org/10.1590/S1413-35552007000100013>

Sánchez-Quiles, D., Marbà, N., Tovar-Sánchez, A., 2017. Trace metal accumulation in marine macrophytes: Hotspots of coastal contamination worldwide. *Sci. Total Environ.* 576, 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.144>

SCImago, 2018. SCImago Journal & Country Rank [WWW Document]. Retrieved Date you Retrieve. URL <http://www.scimagojr.com>

Segura, F.R., Nunes, E.A., Paniz, F.P., Paulelli, A.C.C., Rodrigues, G.B., Braga, G.Ú.L., dos Reis Pedreira Filho, W., Barbosa, F., Cerchiaro, G., Silva, F.F., Batista, B.L., 2016. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environ. Pollut.* 218, 813–825. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>

Shimada, S., Hiraoka, M., Nabata, S., Iima, M., Masuda, M., 2003. Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha* (*Ulvales*, *Ulvophyceae*), with special reference to the free-floating *Ulva*. *Phycol. Res.* 51, 99–108. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2003.00296.x>

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. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.05.009>

Wang, S.-L., Xu, X.-R., Sun, Y.-X., Liu, J.-L., Li, H.-B., 2013. Heavy metal pollution in coastal areas of South China: A review. *Mar. Pollut. Bull.* <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.025>

Wang, W.-X., Dei, R.C.H., 2001. Metal uptake in a coastal diatom influenced by major nutrients (N, P, and Si). *Water Res.* 35, 315–321. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00256-6](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00256-6)

Wang, Z., Xiao, J., Fan, S., Li, Y., Liu, X., Liu, D., 2015. Who made the world's largest green tide in China?-an integrated study on the initiation and early development of the green tide in Yellow Sea. *Limnol. Oceanogr.* 60, 1105–1117. <https://doi.org/10.1002/lno.10083>

Wernberg, T., Russell, B.D., Moore, P.J., Ling, S.D., Smale, D.A., Campbell, A., Coleman, M.A., Steinberg, P.D., Kendrick, G.A., Connell, S.D., 2011. Impacts of climate change in a global hotspot for temperate marine biodiversity and ocean warming. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 400, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.02.021>

Zeng, X., Chen, X., Zhuang, J., 2015. The positive relationship between ocean acidification and pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 91, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.001>

Zhang, H., Wang, Y., Park, T.-W., Deng, Y., 2017. Quantifying the relationship between extreme air pollution events and extreme weather events. *Atmos. Res.* 188, 64–79. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.11.010>

SUPPLEMENTARY MATERIAL 1

References from compiled articles for systematic review applied in the present study.

References are alphabetically ordered.

Abdallah, A.M.A., Abdallah, M.A., Beltagy, A.I., 2005. Contents of heavy metals in marine seaweeds from the Egyptian coast of the Red Sea. *Chem. Ecol.* 21, 399–411.
<https://doi.org/10.1080/02757540500290222>

Akcali, I., Kucuksezgin, F., 2011. A biomonitoring study: Heavy metals in macroalgae from eastern Aegean coastal areas. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 637–645.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.12.021>

Al-Homaidan, A.A., 2008. Accumulation of nickel by marine macroalgae from the Saudi coast of the Arabian Gulf. *J. Food, Agric. Environ.* 6, 148–151.

Al-Homaidan, A.A., 2007. Heavy metal concentrations in three species of green algae from the Saudi coast of the Arabian Gulf. *J. Food, Agric. Environ.* 5, 354–358.

Al-Homaidan, A.A., 2006. Brown algae as biomonitors of heavy metal pollution along the Saudi coast of the Arabian Gulf. *Saudi J. Biol. Sci.* 13, 99–103.

Al-Shwafi, N.A., Rushdi, A.I., 2008. Heavy metal concentrations in marine green, brown, and red seaweeds from coastal waters of Yemen, the Gulf of Aden. *Environ. Geol.* 55, 653–660.
<https://doi.org/10.1007/s00254-007-1015-0>

Alahverdi, M., Savabieasfahani, M., 2012. Metal Pollution in Seaweed and Related Sediment of the Persian Gulf, Iran. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 88, 939–945.
<https://doi.org/10.1007/s00128-012-0586-y>

Alahverdi, M., Savabieasfahani, M., 2012. Seaweed and chlorophyll as biomarkers of metals in the Persian Gulf, Iran. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89, 501–506.
<https://doi.org/10.1007/s00128-012-0719-3>

Andrade, L.R., Farina, M., Amado Filho, G.M., 2004. Effects of copper on *Enteromorpha flexuosa* (Chlorophyta) in vitro. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 58, 117–125.
[https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00106-4](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00106-4)

Andrade, S., Pulido, M.J., Correa, J.A., 2010. The effect of organic ligands exuded by intertidal seaweeds on copper complexation. *Chemosphere* 78, 397–401.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.006>

Astorga-España, M.S., Calisto-Ulloa, N.C., Guerrero, S., 2008. Baseline concentrations of trace metals in macroalgae from the Strait of Magellan, Chile. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80, 97–101. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9323-3>

Baumann, H.A., Morrison, L., Stengel, D.B., 2009. Metal accumulation and toxicity measured by PAM-Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae.

Ecotoxicol. Environ. Saf. 72, 1063–1075. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.10.010>

Besada, V., Andrade, J.M., Schultze, F., González, J.J., 2009. Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *J. Mar. Syst.* 75, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2008.10.010>

Bouzon, Z.L., Ferreira, E.C., dos Santos, R., Scherner, F., Horta, P.A., Maraschin, M., Schmidt, É.C., 2012. Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in vitro. *Protoplasma* 249, 637–650. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0301-6>

Brinza, L., Nygård, C.A., Dring, M.J., Gavrilescu, M., Benning, L.G., 2009. Cadmium tolerance and adsorption by the marine brown alga *Fucus vesiculosus* from the Irish Sea and the Bothnian Sea. *Bioresour. Technol.* 100, 1727–1733. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.041>

Brito, G.B., de Souza, T.L., Bressy, F.C., Moura, C.W.N., Korn, M.G.A., 2012. Levels and spatial distribution of trace elements in macroalgae species from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 2238–2244. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.022>

Brown, M.T., Newman, J.E., Han, T., 2012. Inter-population comparisons of copper resistance and accumulation in the red seaweed, *Gracilariopsis longissima*. *Ecotoxicology* 21, 591–600. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0819-6>

Callier, M.D., Fletcher, R.L., Thorp, C.H., Fichet, D., 2009. Macrofaunal community responses to marina-related pollution on the south coast of England and west coast of France. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 89, 19. <https://doi.org/10.1017/S002531540800235X>

Chakraborty, S., Bhattacharya, T., Singh, G., Maity, J.P., 2014. Benthic macroalgae as biological indicators of heavy metal pollution in the marine environments: A biomonitoring approach for pollution assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.003>

Chakraborty, S., Owens, G., 2014. Metal distributions in seawater, sediment and marine benthic macroalgae from the South Australian coastline. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 11, 1259–1270. <https://doi.org/10.1007/s13762-013-0310-4>

Cirik, Y., Molu Bekci, Z., Buyukates, Y., Ak, İ., Merdivan, M., 2012. Heavy metals uptake from aqueous solutions using marine algae (*Colpomenia sinuosa*): kinetics and isotherms. *Chem. Ecol.* 28, 469–480. <https://doi.org/10.1080/02757540.2012.667084>

Cóllen, J., Pinto, E., Pederson, M., Colepicolo, P., 2003. Induction of Oxidative Stress in the Red Macroalga *Gracilaria tenuistipitata* by Pollutant Metals. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 45, 337–342. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-0196-0>

Connan, S., Stengel, D.B., 2011. Impacts of ambient salinity and copper on brown algae: 1. Interactive effects on photosynthesis, growth, and copper accumulation. *Aquat. Toxicol.* 104, 94–107. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.03.015>

Conti, M.E., Mecozzi, M., Finoia, M.G., 2015. Determination of trace metal baseline values in *Posidonia oceanica*, *Cystoseira* sp., and other marine environmental biomonitors: a quality control method for a study in South Tyrrhenian coastal areas. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 3640–3651. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3603-3>

Contreras-Porcia, L., Dennett, G., Gonzalez, A., Vergara, E., Medina, C., Correa, J.A., Moenne, A., 2011. Identification of Copper-Induced Genes in the Marine Alga *Ulva compressa* (Chlorophyta). *Mar. Biotechnol.* 13, 544–556. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9325-8>

Contreras, L., Mella, D., Moenne, A., Correa, J.A., 2009. Differential responses to copper-induced oxidative stress in the marine macroalgae *Lessonia nigrescens* and *Scytosiphon lomentaria* (Phaeophyceae). *Aquat. Toxicol.* 94, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.06.004>

Costa, G.B., de Felix, M.R.L., Simioni, C., Ramlov, F., Oliveira, E.R., Pereira, D.T., Maraschin, M., Chow, F., Horta, P.A., Lalau, C.M., da Costa, C.H., Matias, W.G., Bouzon, Z.L., Schmidt, É.C., 2016. Effects of copper and lead exposure on the ecophysiology of the brown seaweed *Sargassum cymosum*. *Protoplasma* 253, 111–125. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0795-4>

Costa, Giulia B., Simioni, C., Pereira, D.T., Ramlov, F., Maraschin, M., Chow, F., Horta, P.A., Bouzon, Z.L., Schmidt, É.C., 2017. The brown seaweed *Sargassum cymosum*: changes in metabolism and cellular organization after long-term exposure to cadmium. *Protoplasma* 254, 817–837. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-0992-9>

Costa, Giulia Burle, Simioni, C., Ramlov, F., Maraschin, M., Chow, F., Bouzon, Z.L., Schmidt, É.C., 2017. Effects of manganese on the physiology and ultrastructure of *Sargassum cymosum*. *Environ. Exp. Bot.* 133, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.09.007>

Daka, E.R., Allen, J.R., Hawkins, S.J., 2003. Heavy metal contamination in sediment and biomonitors from sites around the Isle of Man. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 784–791. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00096-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00096-1)

de L. Felix, M.R., Osorio, L.K.P., Ouriques, L.C., Farias-Soares, F.L., Steiner, N., Kreusch, M., Pereira, D.T., Simioni, C., Costa, G.B., Horta, P.A., Chow, F., Ramlov, F., Maraschin, M., Bouzon, Z.L., Schmidt, É.C., 2014. The Effect of Cadmium Under Different Salinity Conditions on the Cellular Architecture and Metabolism in the Red Alga *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, Gelidiales). *Microsc. Microanal.* 20, 1411–1424. <https://doi.org/10.1017/S1431927614012768>

dos Santos, R.W., Schmidt, É.C., Bouzon, Z.L., 2013. Changes in ultrastructure and cytochemistry of the agarophyte *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales) treated with cadmium. *Protoplasma* 250, 297–305. <https://doi.org/10.1007/s00709-012-0412-8>

dos Santos, R.W., Schmidt, É.C., de L Felix, M.R., Polo, L.K., Kreusch, M., Pereira, D.T., Costa, G.B., Simioni, C., Chow, F., Ramlov, F., Maraschin, M., Bouzon, Z.L., 2014. Bioabsorption of cadmium, copper and lead by the red macroalga *Gelidium floridanum*: Physiological responses and ultrastructure features. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 105, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.02.021>

- Dulymamode, R., Sukhoo, N., Bhugun, I., 2001. Evaluation of *Padina boergesenii* (Phaeophyceae) as a bioindicator of heavy metals: Some preliminary results from Mauritius. *South African J. Bot.* 67, 460–464. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)31164-9](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)31164-9)
- El-Adl, M.F., Bream, A.S., 2015. *Cladophora laetevirens*. *Egypt. J. Aquat. Biol. Fish.* 19, 55–63.
- El Ati-Hellal, M., Hedhili, A., Dachraoui, M., 2007. Contents of trace metals in water and macroalgae along the Mediterranean coast of Tunisia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 78, 30–34. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9000-6>
- Giusti, L., 2001. Heavy metal contamination of brown seaweed and sediments from the UK coastline between the Wear River and the Tees River. *Environ. Int.* 26, 275–286. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(00\)00117-3](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(00)00117-3)
- Grotti, M., Soggia, F., Lagomarsino, C., Riva, S.D., Goessler, W., Francesconi, K.A., 2008. Natural variability and distribution of trace elements in marine organisms from Antarctic coastal environments. *Antarct. Sci.* 20, 39–51. <https://doi.org/10.1017/S0954102007000831>
- Gubelit, Y., Polyak, Y., Dembska, G., Pazikowska-Sapota, G., Zegarowski, L., Kochura, D., Krivorotov, D., Podgornaya, E., Burova, O., Maazouzi, C., 2016. Nutrient and metal pollution of the eastern Gulf of Finland coastline: Sediments, macroalgae, microbiota. *Sci. Total Environ.* 550, 806–819. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.122>
- Hall, M.J., Brown, M.T., 2002. Copper and manganese influence the uptake of cadmium in marine macroalgae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 68, 49–55. <https://doi.org/10.1007/s00128-001-0218-4>
- 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. *Aquat. Toxicol.* 86, 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.aquattox.2007.10.016>
- Hashim, M.A., Chu, K.H., 2004. Biosorption of cadmium by brown, green, and red seaweeds. *Chem. Eng. J.* 97, 249–255. [https://doi.org/10.1016/S1385-8947\(03\)00216-X](https://doi.org/10.1016/S1385-8947(03)00216-X)
- Hernández-Almaraz, P., Méndez-Rodríguez, L., Zenteno-Savín, T., García-Domínguez, F., Vázquez-Botello, A., Serviere-Zaragoza, E., 2014. Metal mobility and bioaccumulation differences at lower trophic levels in marine ecosystems dominated by *Sargassum* species. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 94, 435–442. <https://doi.org/10.1017/S0025315413001653>
- Huerta-Díaz, M.A., de León-Chavira, F., Lares, M.L., Chee-Barragán, A., Siqueiros-Valencia, A., 2007. Iron, manganese and trace metal concentrations in seaweeds from the central west coast of the Gulf of California. *Appl. Geochemistry* 22, 1380–1392. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.03.052>
- Huovinen, P., Leal, P., Gmez, I., 2010. Interacting effects of copper, nitrogen and ultraviolet radiation on the physiology of three south Pacific kelps. *Mar. Freshw. Res.* 61, 330–341. <https://doi.org/10.1071/MF09054>

- Jadeja, R.N., Tewari, A., 2009. Effect of soda ash industry effluent on agarophytes, alginophytes and carrageenophyte of west coast of India. *J. Hazard. Mater.* 162, 498–502. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.05.080>
- Jadeja, R.N., Tewari, A., 2007. Effect of soda ash industry effluent on bioaccumulation of metals by seaweeds of coastal region of Gujarat, India. *J. Hazard. Mater.* 147, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.060>
- Jarvis, T.A., Bielmyer-Fraser, G.K., 2015. Accumulation and effects of metal mixtures in two seaweed species. *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* 171, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.03.005>
- Jitar, O., Teodosiu, C., Oros, A., Plavan, G., Nicoara, M., 2015. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the Black Sea. *N. Biotechnol.* 32, 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2014.11.004>
- Jothinayagi, N., Anbazhagan, C., 2009. Heavy metal monitoring of Rameswaram coast by some *Sargassum* species. *Am. J. Sci. Res.* 4, 73–80.
- Kaimoussi, A., Chafik, A., Mouzdahir, A., Bakkas, S., 2002. Diagnosis on the state of healthiness, quality of the coast and biological resources 'case of the Moroccan Atlantic coasts (City of El Jadida). *Comptes Rendus - Biol.* 325, 253–260. [https://doi.org/10.1016/S1631-0691\(02\)01424-5](https://doi.org/10.1016/S1631-0691(02)01424-5)
- Karthick, P., Siva Sankar, R., Kaviarasan, T., Mohanraju, R., 2012. Ecological implications of trace metals in seaweeds: Bio-indication potential for metal contamination in Wandoor, South Andaman Island. *Egypt. J. Aquat. Res.* 38, 227–231. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2013.01.006>
- Khaled, A., Hessein, A., Abdel-Halim, A.M., Morsy, F.M., 2014. Distribution of heavy metals in seaweeds collected along marsa-matrouh beaches, Egyptian mediterranean sea. *Egypt. J. Aquat. Res.* 40, 363–371. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.11.007>
- Khan, N., Ryu, K.Y., Choi, J.Y., Nho, E.Y., Habte, G., Choi, H., Kim, M.H., Park, K.S., Kim, K.S., 2015. Determination of toxic heavy metals and speciation of arsenic in seaweeds from South Korea. *Food Chem.* 169, 464–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.020>
- Laib, E., Leghouchi, E., 2012. Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn concentrations in *Ulva lactuca*, *Codium fragile*, *Jania rubens*, and *Dictyota dichotoma* from Rabta Bay, Jijel (Algeria). *Environ. Monit. Assess.* 184, 1711–1718. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2072-0>
- Lozano, G., Hardisson, A., Gutiérrez, A.J., Lafuente, M.A., 2003. Lead and cadmium levels in coastal benthic algae (seaweeds) of Tenerife, Canary Islands. *Environ. Int.* 28, 627–631. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00103-4](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00103-4)
- Mashitah, S.M., Shazili, N.A.M., Rashid, M.K.A., 2012. Elemental concentrations in Brown Seaweed, *Padina* sp. along the east coast of Peninsular Malaysia. *Aquat. Ecosyst. Health Manag.* 15, 267–278. <https://doi.org/10.1080/14634988.2012.705774>
- Melville, F., Pulkownik, A., 2007. Investigation of mangrove macroalgae as biomonitors of

estuarine metal contamination. *Sci. Total Environ.* 387, 301–309.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.06.036>

Mendes, L.F., Stevani, C.V., Zambotti-Villela, L., Yokoya, N.S., Colepicolo, P., 2014. Toxic effect of metal cation binary mixtures to the seaweed *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 8216–8223. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2763-5>

Mendes, L.F., Zambotti-Villela, L., Colepicolo, P., Marinho-Soriano, E., Stevani, C.V., Yokoya, N.S., 2013. Metal cation toxicity in the alga *Gracilaria domingensis* as evaluated by the daily growth rates in synthetic seawater. *J. Appl. Phycol.* 25, 1939–1947.
<https://doi.org/10.1007/s10811-013-0036-1>

Mohamed, L.A., Khaled, A., 2005. Comparative study of heavy metal distribution in some coastal seaweeds of Alexandria, Egypt. *Chem. Ecol.* 21, 181–189.
<https://doi.org/10.1080/02757540500151614>

Nassar, C. a. G., Lavrado, H.P., Yoneshigue-Valentin, Y., 2002. Effects of iron-ore particles on propagule release, growth and photosynthetic performance of *Sargassum vulgare* C. Agardh (Phaeophyta, Fucales). *Rev. Bras. Botânica* 25, 459–468.
<https://doi.org/10.1590/S0100-84042002012000010>

Nielsen, H.D., Nielsen, S.L., 2010. Adaptation to high light irradiances enhances the photosynthetic Cu^{2+} resistance in Cu^{2+} tolerant and non-tolerant populations of the brown macroalgae *Fucus serratus*. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 710–717.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.11.025>

Nielsen, H.D., Nielsen, S.L., 2005. Photosynthetic responses to Cu^{2+} exposure are independent of light acclimation and uncoupled from growth inhibition in *Fucus serratus* (Phaeophyceae). *Mar. Pollut. Bull.* 51, 715–721.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.02.016>

Olivares, H.G., Lagos, N.M., Gutierrez, C.J., 2016. Assessment oxidative stress biomarkers and metal bioaccumulation in macroalgae from coastal areas with mining activities in Chile. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-5021-5>

Perryman, S.E., Lapong, I., Mustafa, A., Sabang, R., Rimmer, M.A., 2017. Potential of metal contamination to affect the food safety of seaweed (*Caulerpa* spp.) cultured in coastal ponds in Sulawesi, Indonesia. *Aquac. Reports* 5, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.12.002>

Qari, R., 2015. Heavy metals concentrations in brown seaweed *Padina Pavonia* (L.) and *P. tetrastromatica* at different beaches of Karachi Coast 44, 1200–1206.

Ratkevicius, N., Correa, J. a, Moenne, a, 2003. Copper accumulation, synthesis of ascorbate and activation of ascorbate peroxidase in. *Plant, Cell Environment* 26, 1599–1608.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01073.x>

Reis, P.A., Cassiano, J., Veiga, P., Rubal, M., Sousa-Pinto, I., 2014. *Fucus spiralis* as monitoring tool of metal contamination in the northwest coast of Portugal under the European Water Framework Directives. *Environ. Monit. Assess.* 186, 5447–5460.

<https://doi.org/10.1007/s10661-014-3794-6>

Riosmena-Rodríguez, R., Talavera-Sáenz, A., Acosta-Vargas, B., Gardner, S.C., 2010. Heavy metals dynamics in seaweeds and seagrasses in Bahía Magdalena, B.C.S., México. *J. Appl. Phycol.* 22, 283–291. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9457-2>

Roberts, D.A., Poore, A.G.B., Johnston, E.L., 2006. Ecological consequences of copper contamination in macroalgae: Effects on epifauna and associated herbivores. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2470–2479. <https://doi.org/10.1897/05-661R.1>

Rodríguez-Figueroa, G.M., Shumilin, E., Sánchez-Rodríguez, I., 2009. Heavy metal pollution monitoring using the brown seaweed *Padina durvillaei* in the coastal zone of the Santa Rosalía mining region, Baja California Peninsula, Mexico. *J. Appl. Phycol.* 21, 19–26. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9346-0>

Salgado, L.T., Andrade, L.R., Amado, G.M., 2005. Localization of specific monosaccharides in cells of the brown alga *Padina gymnospora* and the relation to heavy-metal accumulation. *Protoplasma* 225, 123–128. <https://doi.org/10.1007/s00709-004-0066-2>

Sánchez-Rodríguez, I., Huerta-Díaz, M.A., Choumiline, E., Holguín-Quiones, O., Zertuche-González, J.A., 2001. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: Implications for the geochemical control of metals in algal tissue. *Environ. Pollut.* 114, 145–160. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00223-2](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00223-2)

Santos, R.W., Schmidt, É.C., Vieira, I.C., Costa, G.B., Rover, T., Simioni, C., Barufi, J.B., Soares, C.H.L., Bouzon, Z.L., 2015. The effect of different concentrations of copper and lead on the morphology and physiology of *Hypnea musciformis* cultivated in vitro: a comparative analysis. *Protoplasma* 252, 1203–1215. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0751-8>

Sawidis, T., Brown, M., Zachariadis, G., Sratis, I., 2001. Trace metal concentrations in marine macroalgae from different biotopes in the Aegean Sea. *Environ. Int.* 27, 43–47. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00052-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00052-6)

Schintu, M., Marras, B., Durante, L., Meloni, P., Contu, A., 2010. Macroalgae and DGT as indicators of available trace metals in marine coastal waters near a lead-zinc smelter. *Environ. Monit. Assess.* 167, 653–661. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1081-8>

Schmidt, É.C., Kreuzsch, M., Marthiellen, M.R., Pereira, D.T., Costa, G.B., Simioni, C., Ouriques, L.C., Farias-Soares, F.L., Steiner, N., Chow, F., Ramlov, F., Maraschin, M., Bouzon, Z.L., 2015. Effects of ultraviolet radiation (UVA+UVB) and copper on the morphology, ultrastructural organization and physiological responses of the red alga *Pterocladia capillacea*. *Photochem. Photobiol.* 91, 359–370. <https://doi.org/10.1111/php.12396>

Shams El-Din, N.G., Mohamedein, L.I., El-Moselhy, K.M., 2014. Seaweeds as bioindicators of heavy metals off a hot spot area on the Egyptian Mediterranean Coast during 2008-2010. *Environ. Monit. Assess.* 186, 5865–5881. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3825-3>

Storelli, M.M., Storelli, A., Marcotrigiano, G.O., 2001. Heavy metals in the aquatic environment of the Southern Adriatic Sea, Italy. *Environ. Int.* 26, 505–509.

[https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00034-4](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00034-4)

Suresh Kumar, K., Ganesan, K., Subba Rao, P. V., 2007. Phycoremediation of heavy metals by the three-color forms of *Kappaphycus alvarezii*. J. Hazard. Mater. 143, 590–592. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.09.061>

Talarico, L., 2002. Fine structure and X-ray microanalysis of a red macrophyte cultured under cadmium stress. Environ. Pollut. 120, 813–821. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00156-2](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00156-2)

Topcuoğlu, S., Güven, K.C., Balkis, N., Kirbaşoğlu, Ç., 2003. Heavy metal monitoring of marine algae from the Turkish Coast of the Black Sea, 1998-2000. Chemosphere 52, 1683–1688. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00301-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00301-1)

Trevizani, T.H., Figueira, R.C.L., Ribeiro, A.P., Theophilo, C.Y.S., Majer, A.P., Petti, M.A.V., Corbisier, T.N., Montone, R.C., 2016. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms and sediments from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. Mar. Pollut. Bull. 106, 366–371. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.02.056>

Varma, R., Turner, A., Brown, M.T., 2011. Bioaccumulation of metals by *Fucus ceranoides* in estuaries of South West England. Mar. Pollut. Bull. 62, 2557–2562. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.08.016>

Villares, R., Puente, X., Carballeira, A., 2002. Seasonal variation and background levels of heavy metals in two green seaweeds 119, 79–90.

Wang, Z., Wang, X., Ke, C., 2014. Bioaccumulation of trace metals by the live macroalga *Gracilaria lemaneiformis*. J. Appl. Phycol. 26, 1889–1897. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0222-1>

Zalewska, T., Danowska, B., 2017. Marine environment status assessment based on macrophytobenthic plants as bio-indicators of heavy metals pollution. Mar. Pollut. Bull. 118, 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.075>

Zbikowski, R., Szefer, P., Latała, A., 2007. Comparison of green algae *Cladophora* sp. and *Enteromorpha* sp. as potential biomonitors of chemical elements in the southern Baltic. Sci. Total Environ. 387, 320–332. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.07.017>

Zhao, Y., Wu, J., Shang, D., Ning, J., Zhai, Y., Sheng, X., Ding, H., 2015. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in the edible seaweed, *Porphyra yezoensis*. Food Chem. 168, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.054>

Zou, H.-X., Pang, Q.-Y., Lin, L.-D., Zhang, A.-Q., Li, N., Lin, Y.-Q., Li, L.-M., Wu, Q.-Q., Yan, X.-F., 2014. Behavior of the Edible Seaweed *Sargassum fusiforme* to Copper Pollution: Short-Term Acclimation and Long-Term Adaptation. PLoS One 9, e101960. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101960>

SUPPLEMENTARY MATERIAL 2

Complete list of species cited in studies selected in our database (n=91 studies, n=225 species). The data is organized by algae groups (Chlorophyta, Rhodophyta and Phaeophyceae), and alphabetically ordered. The most frequent species cited to each algae group is highlighted in bold.

	Species	Frequency of citation
	<i>Acetabularia calyculus</i>	1
	<i>Acetabularia mediterranea</i>	1
	<i>Blidingia marginata</i>	1
	<i>Bryopsis plumosa</i>	1
	<i>Caulerpa prolifera</i>	1
	<i>Caulerpa racemosa</i>	4
	<i>Caulerpa racemosa var. occidentalis</i>	1
	<i>Caulerpa scalpeliformis</i>	2
	<i>Caulerpa serrulata</i>	1
	<i>Caulerpa sertularioides</i>	2
	<i>Caulerpa spp.</i>	1
	<i>Chaetomorpha aerea</i>	2
	<i>Chaetomorpha firma</i>	1
	<i>Chaetomorpha linum</i>	2
	<i>Cladophora barbata</i>	1
	<i>Cladophora coelothrix</i>	1
Chlorophyta	<i>Cladophora crystalline</i>	1
	<i>Cladophora glomerata</i>	1
	<i>Cladophora koiei</i>	1
	<i>Cladophora laetevirens</i>	1
	<i>Cladophora nitellopsis</i>	1
	<i>Cladophora prolifera</i>	1
	<i>Cladophora ramulosa</i>	1
	<i>Cladophora rupestris</i>	1
	<i>Cladophora serica</i>	1
	<i>Cladophora sp.</i>	2
	<i>Cladophora spp.</i>	1
	<i>Coccotylus truncatus</i>	1
	<i>Codium amplivesiculatum</i>	1
	<i>Codium cuneatum</i>	2
	<i>Codium fragile</i>	2
	<i>Codium simulans</i>	1
	<i>Codium sp.</i>	1
	<i>Codium vermilara</i>	1

	<i>Codium vulgare</i>	1
	<i>Dasycladus claviformis</i>	1
	<i>Enteromorpha clathrata</i>	2
	<i>Enteromorpha compressa</i>	6
	<i>Enteromorpha flexuosa</i>	2
	<i>Enteromorpha intestinalis</i>	2
	<i>Enteromorpha linza</i>	3
	<i>Enteromorpha prolifera</i>	1
	<i>Enteromorpha sp.</i>	6
	<i>Enteromorpha spp</i>	1
	<i>Halimeda tuna</i>	3
	<i>Lola capillaries</i>	1
	<i>Lola sp.</i>	1
	<i>Penicillus capitatus</i>	1
	<i>Rhizoclonium kochiamum</i>	1
	<i>Udotea petiolata</i>	1
	<i>Ulva armoricana</i>	1
	<i>Ulva compressa</i>	1
	<i>Ulva fasciata</i>	1
	<i>Ulva interstitialis</i>	4
	<i>Ulva lactuca</i>	16
	<i>Ulva pertusa</i>	1
	<i>Ulva rigida</i>	4
	<i>Ulva sp.</i>	2
	<i>Ulva spp.</i>	1
	<i>Acanthophora delilei</i>	1
	<i>Acanthophora spicifera</i>	4
	<i>Acrosorium polyneurum</i>	1
	<i>Agardhiella subulata</i>	1
	<i>Amphiroa rigida</i>	1
	<i>Anotrichium tenue</i>	1
	<i>Audouinella saviana</i>	1
	<i>Bostrychia montagnei</i>	1
	<i>Bostrychia sp.</i>	1
	<i>Caloglossa leprieurii</i>	1
	<i>Caloglossa nipae</i>	1
	<i>Ceramium ciliatum</i>	1
	<i>Ceramium rubrum</i>	2
	<i>Ceramium spp.</i>	1
	<i>Champia parvula</i>	1
	<i>Chondracanthus squarrulosus</i>	1
	<i>Chondria nidifica</i>	1
	<i>Chondria seticulosa</i>	1
	<i>Chondrus crispus</i>	2
	<i>Corallina granifera</i>	1
Rhodophyta		

<i>Corallina mediterranea</i>	3
<i>Corallina officinalis</i>	1
<i>Corallina sp.</i>	1
<i>Digenia simplex</i>	1
<i>Furcellaria lumbricalis</i>	1
<i>Galaxaura cylindrical</i>	1
<i>Galaxaura marginata</i>	2
<i>Galaxaura oblongata</i>	1
<i>Galaxaura rugosa</i>	1
<i>Gelidiella acerosa</i>	2
<i>Gelidium crinale</i>	1
<i>Gelidium floridanum</i>	1
<i>Gelidium lingulatum</i>	1
<i>Gelidium micropterum</i>	1
<i>Gelidium pulchellum</i>	1
<i>Gelidium spp.</i>	1
<i>Gigartina tendii</i>	1
<i>Gracilaria changii</i>	1
<i>Gracilaria corticata</i>	3
<i>Gracilaria crispata</i>	1
<i>Gracilaria domingensis</i>	3
<i>Gracilaria edulis</i>	1
<i>Gracilaria foliifere</i>	1
<i>Gracilaria gracilis</i>	1
<i>Gracilaria lemaneiformis</i>	1
<i>Gracilaria pachydermatica</i>	2
<i>Gracilaria salicornia</i>	1
<i>Gracilaria sp.</i>	1
<i>Gracilaria textorii</i>	1
<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	1
<i>Gracilaria verrucosa</i>	3
<i>Gracilariopsis andersonii</i>	1
<i>Gracilariopsis lemaneiformis</i>	1
<i>Gracilariopsis longissima</i>	1
<i>Hypnea cervicornis</i>	1
<i>Hypnea comuta</i>	3
<i>Hypnea esperi</i>	1
<i>Hypnea johnstonii</i>	1
<i>Hypnea musciformis</i>	3
<i>Hypnea pannosa</i>	1
<i>Hypnea sp.</i>	2
<i>Iridaea cordata</i>	1
<i>Jania rubens</i>	4
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	1
<i>Laurencia glandulifera</i>	1

<i>Laurencia johnstonii</i>	1
<i>Laurencia obdusca</i>	1
<i>Laurencia obtusa</i>	1
<i>Laurencia pacifica</i>	1
<i>Laurencia paniculata</i>	1
<i>Laurencia papillosa</i>	2
<i>Liagora farinose</i>	1
<i>Mazzaella laminarioides</i>	1
<i>Palmaria palmata</i>	1
<i>Phyllophora antarctica</i>	1
<i>Phyllophora nervosa</i>	1
<i>Polysiphonia deusta</i>	1
<i>Polysiphonia fucoides</i>	1
<i>Polysiphonia lanosa</i>	1
<i>Porphyra columbina</i>	2
<i>Porphyra tenera</i>	1
<i>Porphyra umbilicales</i>	1
<i>Porphyra yezoensis</i>	1
<i>Pterocladia capillacea</i>	2
<i>Pterocладиella capillacea</i>	3
<i>Sarcodiotheca gaudichaudii</i>	1
<i>Soleria robusta</i>	2
<i>Adenocystis utricularis</i>	2
<i>Ascophyllum nodosum</i>	2
<i>Ascoseira sp.</i>	1
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	1
<i>Colpomenia sinuosa</i>	1
<i>Cystophora cephalornithos</i>	1
<i>Cystophora monillifera</i>	1
<i>Cystophora monilliformis</i>	1
<i>Cystoseira abies marina</i>	1
<i>Cystoseira barbata</i>	1
<i>Cystoseira compressa</i>	1
Phaeophyceae <i>Cystoseira crinita</i>	1
<i>Cystoseira discors</i>	1
<i>Cystoseira humilis</i>	1
<i>Cystoseira myrica</i>	4
<i>Cystoseira sp.</i>	3
<i>Cystosphaera jacquinoti</i>	1
<i>Desmarestia chordalis</i>	1
<i>Desmarestia menziensis</i>	1
<i>Dictyopteris australis</i>	1
<i>Dictyopteris jamaicensis</i>	1
<i>Dictyota bartayresiana</i>	2
<i>Dictyota dichotoma</i>	3

<i>Dictyota spp.</i>	1
<i>Dilophus fasciola</i>	1
<i>Durvillaea antarctica</i>	1
<i>Eisenia bicyclis</i>	1
<i>Fucus seranoides</i>	1
<i>Fucus serratus</i>	5
<i>Fucus spiralis</i>	3
<i>Fucus spp.</i>	1
<i>Fucus vesiculosus</i>	6
<i>Halopteris scoparia</i>	1
<i>Himanthalia elongata</i>	1
<i>Himantothallus grandifolius</i>	1
<i>Hizikia fusiforme</i>	2
<i>Hormophysa cuneiformis</i>	1
<i>Hormophysa triquetra</i>	2
<i>Laminaria japonica</i>	1
<i>Laminaria spp.</i>	1
<i>Lessonia nigrescens</i>	3
<i>Macrocystis pyrifera</i>	1
<i>Padina boergesenii</i>	1
<i>Padina boryana</i>	2
<i>Padina durvillaei</i>	3
<i>Padina gymnospora</i>	4
<i>Padina pavonia</i>	2
<i>Padina pavonica</i>	5
<i>Padina sp.</i>	1
<i>Padina spp.</i>	1
<i>Padina tetrastromatica</i>	4
<i>Petalonia fascia</i>	1
<i>Sargassum angustifolium</i>	3
<i>Sargassum baccularia</i>	1
<i>Sargassum binderi</i>	1
<i>Sargassum boveanum</i>	1
<i>Sargassum cinctum</i>	1
<i>Sargassum cymosum</i>	3
<i>Sargassum dentifolium</i>	1
<i>Sargassum duplicatum</i>	1
<i>Sargassum fulvellum</i>	1
<i>Sargassum fusiforme</i>	1
<i>Sargassum ilicifolium</i>	1
<i>Sargassum latifolium</i>	2
<i>Sargassum linearifolium</i>	2
<i>Sargassum polycystum</i>	2
<i>Sargassum siliquosum</i>	1
<i>Sargassum sinicola</i>	3

<i>Sargassum sp.</i>	1
<i>Sargassum spp.</i>	1
<i>Sargassum swartzi</i>	1
<i>Sargassum tenerrimum</i>	2
<i>Sargassum vulgare</i>	2
<i>Sargassum wightii</i>	1
<i>Scaberia agardhii</i>	1
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	2
<i>Turbinaria elatensis</i>	1
<i>Turbinaria triquetra</i>	1
<i>Undaria pinnatifida</i>	2

3. CAPÍTULO II: PHYSIOLOGICAL DAMAGES OF *SARGASSUM CYMOSUM* AND *HYPNEA PSEUDOMUSCIFORMIS* EXPOSED TO TRACE METALS FROM MINING TAILING

Giulia Burle Costa¹, Fernanda Ramlov², Bruna de Ramos¹, Gabrielle Koerich¹, Lidiane Gouvea¹, Patrícia Gomes Costa³, Adalto Bianchini³, Marcelo Maraschin², Paulo A. Horta¹

¹Phycology Laboratory, Botany Department, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

²Plant Morphogenesis and Biochemistry Laboratory, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

³Biological Science Institute, Federal University of Rio Grande – FURG, Itália Avenue, Km 8, Campus Carreiros, 96.203-900, Rio Grande, RS, Brazil.

Artigo publicado na revista *Environmental Science and Pollution Research*.

Aceito em 02 de Outubro de 2019.

Disponível *on line* em 15 de Outubro de 2019.

Article in press.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06691-w>.

Acknowledgments

This work was supported by grants from Boticário Foundation (1051-20152); FAPESC-Foundation support research and innovation in the State of Santa Catarina; Long-term Program of Ecological Research - Coastal Habitats of Espírito Santo State (PELD, CNPq grant 441243/2016-9); CNPq-National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 306917/2009-2 to P.A. Horta Jr.); Capes-Higher Education Personnel Improvement Coordination (CAPES/PNADB 2338000071/2010-61 to P.A. Horta); Rede Clima- Brazilian Research Network on Global Climate Change; REBENTOS-Habitat monitoring network coastal Benthic and ProspecMar-Islands-Sustainable prospecting in Ocean Islands: Biodiversity, Chemistry, Ecology and Biotechnology; Rede Coral Vivo and REDEALGAS and FAPESP-Foundation support research and innovation in the State of São Paulo (FAPESP,

2014/00012-1). Giulia Burle Costa would like to thank for infrastructural and technical collaboration from Vegetal Morphogenesis and Biochemistry Laboratory (LMBV, CCA – UFSC) and Ecotoxicology Laboratory (ICB – FURG) for supporting analyses. Giulia Burle Costa received a fellowship from CNPq for Sandwich PhD Program (CNPq process 202271/2018-8), and a fellowship from CAPES. Gabrielle Koerich received a fellowship from CAPES.

Abstract

The damages of Mariana's mining mud in the physiology of the brown algae *Sargassum cymosum* and its main epiphytic, the red algae *Hypnea pseudomusciformis* were evaluated by controlled essays. Seaweeds were exposed to presence or absence of mud, isolated or in biological association, for 5 and 15 days. Measured parameters were growth rates, biochemical descriptors, and the chemical investigation of concentration and metal profile of the mud dissolved in seawater. Results showed that the highest values for metals were Al>Fe>Mn>Zn in both exposure periods. The mud also affected the growth rate with lethality in both isolated and associative treatments with *H. pseudomusciformis* after 15 days. According to our Redundancy Analysis (RDA), the profile and concentration of all metallic elements can induce different physiological responses of the organisms. We were able to observe a higher physiological adaptive ability of *S. cymosum* against the long-term presence of metals by the synthesis of phenolic compounds, while the deviation of metabolic routes in *H. pseudomusciformis* can be addressed as the main responsible for its lethality. Moreover, the presence of *Hypnea* in associative treatments reduces *Sargassum*'s detoxification ability. The present results reinforce the importance of biological interaction studies in a context of physiological resilience against mining mud pollution, and mutual influences of species over the individual ability to avoid oxidative stress.

Keywords: benthic ecology, biochemical markers, Mariana's mining residuals, physiological damages, pollution tolerance, trace metals.

3.1. INTRODUCTION

In the end of 2015, in the South Atlantic's western coast, a region known for its biodiversity and ecological importance (Figueiredo et al. 2008; Miloslavich et al. 2011; Amado-Filho et al. 2012; Aued et al. 2018), the collapse of an iron ore tailings dam, an event now known as the Mariana's mining disaster, exposed the coastal zone to 50-60 million m³ of mud contaminated with heavy-metals (Segura et al. 2016). This severe event brought to light pollution in coastal zones, environments frequently impacted by anthropogenic disturbances (Howarth et al. 2011; Dias et al. 2013), where pollution is leading to losses of biodiversity and ecosystem's goods and services (Moberg and Rönnbäck 2003; Scherner et al. 2013). Besides high concentrations of heavy metals in seawater, the abundance of pollutants with a broad spectrum of action deserve full attention. Tailing's muds present a variety of stressors, such as physical alterations in the water column (e.g. reducing irradiance), and the release of high volumes of wastes containing trace metals potentially harmful for its toxicity and recurring frequency in the environment (Queiroz et al. 2018; Magris et al. 2019). These metals, as cadmium (Cd), copper (Cu), lead (Pb), mercury (Hg), and zinc (Zn), are present both in sediments and in suspension, forming complexes with clastic sediments or solubilized in the water column (Brady et al. 2015). The impact of heavy metals from mining wastes on coastal zones has been receiving a lot of attention around the world (Santiago and Africa 2008; Rodríguez-Figueroa et al. 2009; Marta-Almeida et al. 2016; Queiroz et al. 2018). Their chemical speciation and bioavailability were previously evaluated in estuarine systems (Riba et al. 2003). However, there is a lack of background information about mining wastes in marine environments.

Considering Mariana's mud, recent studies have revealed the impact on the bacterial community (Segura et al. 2016), estuarine (Gomes et al. 2017) and marine fauna (Miranda and Marques 2016), but there is no much information regarding the impact on marine benthic primary producers. The effects of heavy metals in photosynthetic organisms are present in several studies that investigated the routes of toxicity transmission and potential of biomagnifications through trophic levels (Storelli et al. 2001; Hernández-Almaraz et al. 2014), applying seaweeds as bioindicators or biomonitors in both impacted and under restoration zones (Páez-Osuna et al. 2000; Akcali and Kucuksezgin 2011; Shams El-Din et al. 2014). Seaweeds can accumulate high concentrations of distinct metals, by immobilizing and storing toxic elements in organelles (e.g. vacuoles or cell walls) through cellular mechanisms. As components of the benthic community, seaweeds form marine forests, and are the base of

trophic webs in many ecosystems, providing food, refuge and increasing community complexity to maintain several taxa, specially macroinvertebrates and fishes (Chapman 1987; Pinnegar et al. 2000). *Sargassum* (C. Agardh, 1820) (Silberfeld et al. 2014) and *Hypnea* (Lamouroux 1813) are genus recognized as main players of benthic community structure in tropical and temperate seas. *Sargassum* as a foundation species is responsible for the canopy formation, has the ecological role of substrate for diverse fauna and flora and is responsible for recruiting invertebrates and fishes, acting as reproductive and feeding refuge (Széchy and Paula 2000; Almada et al. 2008). *Hypnea* is a common epiphyte of *Sargassum*, and it is recognized as a food source for mesograzers, such as benthic invertebrates, and megagrazers, such as sea turtles (Santos et al. 2015a). The interdependence between these taxa is well known (Faccini and Berchez 2000), with *Sargassum* providing substrate for *Hypnea*, and *Hypnea* acts reducing herbivorous' pressure and photodamage in *Sargassum* in areas with high irradiance. This interaction can be disturbed with the presence of mud, as physiological damages caused by degraded water quality will limit fitness, resilience or recolonization. Thereby, the evaluation of harmful effects over these groups, both isolated and in association, is necessary to understand possible environmental processes of change in the community structure of benthic seaweeds.

The aim of the present study was to evaluate the toxicological effects of Mariana's mud in two different periods of exposition over the physiology of *Sargassum cymosum* (C. Agardh, 1820) (Mattio and Payri 2011) and *Hypnea pseudomusciformis* (Nauer et al. 2015) in culture, both isolated and under association (condition observed in field). The study evaluated i) the influence of metal profile and concentration for stimulus of defensive mechanisms, ii) the defensive mechanisms against metal toxicity and resistance of both seaweeds through time, and iii) physiological resilience influenced by the biological interaction of both species. The objective of these experimental controlled essays was to contribute to the comprehension of species' resistance to this new environmental condition and to the presence of trace metals. Moreover, analytical techniques of applied metabolites are useful as a monitoring strategy to evaluate physiological damage and stress for field samples over time, as they are financially and technically accessible.

3.2. MATERIAL AND METHODS

3.2.1. Mud and Algal collections

Mud samples from Mariana's mining disaster were collected at the estuarine zone, near Doce's river mouth (19°38'46.9" S, 39°49'22.6" W). Collection took place approximately

30 days after Doce's river plume arrived in the Atlantic Ocean. The mud was obtained in river banks, where a deposit of mud could be observed over soil and native margin vegetation. Samples were scraped with a shovel (few centimetres over soil coverage), stored at polyethylene vessels and transported to Phycology Laboratory (LAFIC, CCB – UFSC), where they were maintained at room temperature until use in experiments.

During summer, *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis* samples were collected two times at Barra da Lagoa Beach, Florianópolis – SC (27°34'27.21" S, 48°25'15.84" W), in December 2016 and January 2017. Algae were collected from the intertidal zone, at low tide, from rocky shores. These species are widely distributed in Brazilian coastal rocky shores and are representatives of benthic community both in the impacted area and sampling site. Samples were conditioned in plastic bags and transported in a thermal box to Phycology Laboratory (LAFIC, CCB – UFSC). Afterwards, samples were cleaned from epiphytes and invertebrates and apical portions were disposed in aquariums (2 L) with sterilized natural seawater (UV-VIS Lamp) for acclimation during 5 days under controlled conditions: 26 ± 1 °C, 12:12 h photoperiod (starting at 12 p.m.), continuous aeration, $50 \mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (fluorescent lamps, 40 W), and enriched with Von Stosch medium at half concentration (VS/2) without EDTA chelating salt every two days (adapted from Edwards 1972).

3.2.2. Experimental design

Experiments included two different medium conditions: control samples were maintained in sterilized seawater medium, and treatments samples were exposed to a dilution of Mariana's mining mud. Mud's dilution was prepared by adding solid mud to sterile seawater at the proportion of 100 g mud: 1 L of seawater. Applied turbidity was the same described for the incident plume at first mud deposition in the estuary zone. The mud proportion diluted in seawater was established to attach values of turbidity, and subsequently, metals contents were determined in accordance with turbidity values. Seaweeds were exposed in three different algae associations: *Sargassum* individually (~2.0 g), *Hypnea* individually (~2.0 g) and *Sargassum-Hypnea* interaction (~1.0 g of each species) in 250 mL Erlenmeyer flasks previously sterilized with nitric acid (10%, v/v) (n=5 replicates per treatment). Media were added on the first day of experiment, and no water renovation was made. Experiments were conducted for two exposure times, one for each sampling moment. For December collected samples, seaweeds were exposed for 5 days, while samples collected in January were exposed for 15 days. Both experiments were conditioned to the same laboratory conditions of acclimation. Additionally,

to avoid the depletion of nutrient availability, Von Stosch nutritive medium was added in each flask, at half concentration (VS/2), in the third day of short-term experiment (5 days, three enrichments during the experiment) and every three days of long-term experiment (15 days, five enrichments during the experiment).

Seawater media were characterized at the beginning of the experiment and monitored to ensure that there was no physical or chemical alteration. Data of the initial chemical characteristics of control and mud media are described in Table 1 (n=3 for pH and salinity, and n=5 for turbidity). Temperature data is presented as an average from all the daily temperature measurements of seawater between the first and last day of experimental time (24.00 ± 0.50 and 25.64 ± 0.57 for December and January, respectively). Temperatures simulated the field conditions at time of mud deposition. Samples for biochemical analyses were collected at the end of both experiments.

Table 1: Seawater average parameters at beginning of *Sargassum cymosum*, *Hypnea pseudomusciformis* and *Sargassum-Hypnea* association exposure (t=5 days or 15 days). Data are mean \pm SD (n=3 for pH and salinity, n=5 for turbidity, and t= 5 or 15 for daily temperature measurements). Symbol (*) indicated that turbidity was not detected (values lower than minimum equipment detection limit).

	<i>Control medium</i>		<i>Mud medium</i>	
	<i>5 days</i>	<i>15 days</i>	<i>5 days</i>	<i>15 days</i>
<i>Salinity</i>	33	36	33	36
<i>Turbidity (NTU)</i>	*	*	$3,908.02 \pm 176.15$	$3,368.85 \pm 148.20$
<i>pH</i>	8.20 ± 0.04	8.27 ± 0.01	7.07 ± 0.03	7.19 ± 0.01
<i>Temperature (°C)</i>	24.00 ± 0.50	25.64 ± 0.57	24.00 ± 0.50	25.64 ± 0.57

3.2.3. Metals on seawater media

After each experimental exposure, water samples from both controls and treatments were collected (100 mL) in sterile Falcon tubes previously washed with nitric acid (10%, v/v). After pH measurements, samples were acidified with nitric acid (final concentration: 1%) with 65% HNO₃ (Suprapur, Merck, Darmstadt, Germany). Samples were kept refrigerated at 4°C until analyses. Samples were desalinated and metals were precipitated following procedures described by Nadella et al. (2009). An aliquot of 1mL of each control sample was used, in which were added 1 μ L of lanthanum oxide (10 mg La . mL⁻¹), 7.5 μ L of Na₂CO₃ (1 M) and 1.5 μ L HNO₃ (1 M). The solution was incubated in a hot water bath at 80°C (t=30 min) for precipitation of lanthanum hydroxide, and then samples were maintained at room temperature and centrifuged at 4,000 rpm (t=15 min), and supernatant was discarded. Precipitate was suspended

in 1 mL of HNO₃ (1 M) for metal determination. For samples with mud suspension, seawater was evaporated and mud was digested in an acid solution in plastic tubes, followed by addition of acids (9 mL HNO₃, 3 mL HCl, and 3 mL HF). For sample digestion, plastic tubes were kept in a closed system (oven with forced air circulation) at 60 °C, for 24 h. After complete digestion, samples were evaporated to 1 mL and diluted (10×) with high purity deionized water (resistivity of 18.2 MΩ.cm⁻¹).

An investigation for the presence of trace metals with toxic potential was performed: aluminium (Al), copper (Cu), cadmium (Cd), iron (Fe), lead (Pb), manganese (Mn) and zinc (Zn). Metals were analysed using a High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer (HR-CS GF AAS, model Control-A 700 Analytik Jena, Germany), equipped with AGS-GF and a transversely heated graphite tube atomizer. Pyrolytic graphite tubes with platforms were used. A Xe short-arc lamp (GLE, Berlin, Germany) in “hot-spot” mode was used as radiation source. Standard curves were built with standard solutions prepared by serial dilution of 1000 mg.L⁻¹ stock solutions (Multi-Element Standards Certipur®, Merck, Darmstadt, Germany). All reagents used were of high purity grade. Water used for preparing all reagents and reference solutions was deionized and further purified using a Milli-Q system (Millipore Corp., Bedford, USA). The limits of detection and quantification of the method employed ranged from 0.001 to 0.03 µg.g⁻¹ and 0.004 to 0.10 µg.g⁻¹, respectively, depending on the metal analysed.

Quality assurance and quality control procedures for metal quantifications were based on regular analyses of blanks and spiked matrices. Measurement accuracy and standard curves were obtained using standard solutions (Multi-Element Standards Certipur®, Merck, Darmstadt, Germany). Certified reference material (MESS-4: Marine Sediment Reference Material for Trace Metals and other Constituents; National Research Council Canada, Ottawa, ON, Canada) was also analysed following the same procedures adopted for sample analysis. Analytical results of quality control procedures showed good agreement with certified values, with recoveries ranging from 91.3 to 97.5% for metals. All analyses took place at Biological Science Institute, Federal University of Rio Grande (ICB, FURG, Brazil).

3.2.4. Growth rates

Growth rates (GRs) were calculated according to Lignell and Pedersén (1989), a suggested formulae that is well recognized as the most accurate method to determine the rate of daily biomass production (Yong et al. 2013). The following equation was applied: Growth

rate (GR) = $[(W_t/W_i)^{1/t} - 1] \times 100$, where W_i = initial fresh weight, W_t = final fresh weight (after 5 or 15 days), and t = experimental time, 5 or 15 days. The results are expressed as a daily percentage [$\% \cdot \text{day}^{-1}$] of biomass production, relative to the initial biomass and the total period of cultivation. After obtention of growth rate for each replicate, results were analysed concerning the average and respective standard deviation for each treatment.

3.2.5. Pigments analyses

Chlorophyll contents were analysed from fresh samples. Algae were maintained stored at -80°C until analyses ($n=3$). Extracts were prepared from 1.0 g in 14 mL of pure acetone P.A. Extraction was carried for 1 h, protected of light to avoid photooxidation and at room temperature ($\sim 22^\circ\text{C}$). The extracts were centrifuged for 5 minutes (4000 rpm), and recovered supernatants were quantified by spectrophotometry at 630, 640, 664 nm (Shimadzu – UV 1800). Calculations followed Jeffrey and Humphrey (1975) protocol.

Phycobiliproteins were extracted in accordance to (Kursar et al. 1983). Fresh biomass (~ 0.5 g FW) was extracted in 4 mL of phosphate buffer (50 mM, pH 5.5) at 4°C . After centrifugation (20 min, 4000 rpm, at 4°C), supernatant was recovered for spectrophotometric quantification ($n=4$) at 498.5, 614 and 651 nm (Shimadzu – UV 1800). Calculations also followed Kursar et al. (1983) equations.

Crude extracts of carotenoids were obtained according to Aman et al. (2005), where 1.0 g FW ($n=4$) was exhaustive extracted in 10 mL of pure methanol P.A. Then, crude extracts were quantified following Kuhn et al. (2009) by high-pressure liquid chromatography (HPLC). Aliquot samples (10 μL , $n=4$) were injected into a liquid chromatographer (Shimadzu LC-10A) equipped with a C18 reverse-phase column (Vydac 218TP54; 250 mm x 4.6 mm, $\text{O}5 \mu\text{m}$, 30°C) and protected by a 5 μm C18 reverse-phase guard column (Vydac 218GK54) and a UV-visible detector (450 nm). Elution was performed with MeOH: CH_3CN (9:1, v/v) at a flow rate of $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Carotenoid profile identification of fucoxanthin, lutein and β -carotene were determined according to retention times of standard compounds. Carotenoid quantification was based on the β -carotene standard curve ($y = 1.6248x - 2.5717$, $R^2 = 0.995$).

3.2.6. Phenolic compounds

Phenolic compounds were extracted (1.0 g FW) in 10 mL 80% aqueous (v/v) methanol, at room temperature ($\sim 22^\circ\text{C}$) and protected from light for 1 h. Extracts were then

centrifuged for 10 min (4000 rpm) and the supernatant was recovered. Aliquots of 0.3 mL of crude extract were added to 0.225 mL of Folin-Ciocalteu and 2.5 mL of sodium carbonate 20% (w/v), and incubated for 1 h, protected from light at room temperature. Absorbance was spectrophotometric measured at 750 nm (Shimadzu – UV 1800). Phenolic quantification was based on phloroglucinol acid standard curve ($y = 0.0086x - 0.0036$, $R^2 = 0.9969$).

3.2.7. Statistical analyses

For statistical inferences, analyses were carried out in R (Team 2016), using the package *vegan*. To accomplish how treatment differs between the two times exposure, a Permutational Multivariate Analysis of Variance (Permanova) was performed. Principal Component Analyses (PCA) were carried considering Euclidian distance and data transformation by *Standardization*. PCA analyses for each data matrix (metals of seawater medium, and data for metabolic responses of seaweeds) were made. Canonical Redundancy Analysis (RDA, suitability verification by *decorana* function) was carried considering seawater medium data as descriptive matrix (y) and physiological data as response matrix (x), and *Hellinger* method for data transformation. Graphical data were obtained with *ggplot2* package (Team 2016). The statistical analyses applied in the present work are innovative in the field of chemical and biochemical comparisons. Appliance of these analytical methods help us to improve the comprehension of cause and consequence effect between pollutants toxicity and biological responses to environmental stress.

3.3. RESULTS

3.3.1. Statistical inferences

Permanova results for metals of seawater medium and metabolic data (GR, pigments, carotenoids and phenolic compounds) of both seaweeds were not significant ($F=0.7302$, $R^2=0.0495$, $p=0.574$, and $F=1.3860$, $R^2=0.0361$, $p=0.225$, respectively *Sargassum* and *Hypnea*). For metabolic responses exclusive for *Hypnea* (phycobiliproteins), Permanova showed differences among treatments in different times ($F=10.625$, $R^2=0.3990$, $p=0.002$). Results of correlation coefficients are presented in Supplementary Tables 1 (for metals), Supplementary Table 2 (for phycobiliproteins from *Hypnea*), and Supplementary Table 3 (for metabolic data of both seaweeds). Cadmium and manganese present in seawater media showed

correlations lower than 0.8 with the other metals, and with this, were not included in PCA analyses.

PCA for metals indicated a tendency of grouping, when treatments at 5 days of exposure showed correlation with Fe and the same treatments at 15 days, correlation with Al. PC1 concentrate 93.27% of variation, while only 4.52% was distributed at PC2 axis (Fig 1a). For metabolic data exclusive from *Hypnea*, the model presented a major explanatory capacity, with variation distributed respectively for PC1 and PC2 axis in 83.88% and 15.30% (Fig 1b). Finally, PCA for metabolic data of both seaweeds showed low explanatory capacity, with only 84.60% of variation comprised between PC1 (64.31%) and PC2 (20.29%) axis (Fig 1c).

As results of RDA analyses, the model showed low power of explanation for relation among descriptive and explanatory matrices. The total variation distributed at first two canonical axis was respectively of 51.50% for RDA1 and 4.80% for RDA2 ($R^2= 0.57$). However, canonical axis showed the significance of model ($F = 0.95, p = 0.53$) (Fig 2).

3.3.2. Metals in seawater media

The concentration of metals in seawater media showed higher differences among metal elements (Table 2). The highest values were observed for $Al > Fe > Mn > Zn$, both before and after algae contact and for both exposure times (Table 2). On the other hand, Cd, Cu and Pb were present in trace concentrations when compared to major elements (Table 2). The most abundant metal in both experiments was Al, and the measurements of seawater media showed Al concentrations higher than $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$ for mud treatments. After the seaweed's exposure, these levels were reduced to values among 5-7. $10^{-6} \mu\text{g.L}^{-1}$ after 5 days of exposure and 1-3. $10^{-6} \mu\text{g.L}^{-1}$ after 15 days exposure (Table 2).

Fig 1: Principal Component Analyses (PCA). **A.** Data of heavy metals in Mariana's mud. **B.** Data of *Hypnea* exclusive metabolites, after 5- and 15-days of exposure to Control or Mariana's mud condition. **C.** Data of metabolites of *Sargassum*, *Hypnea* and biological association among species, after 5- and 15-days of exposure to Control or Mariana's mud condition. **Elements legend:** Al: aluminium; Cu: copper; Fe: iron; Pb: lead; Zn: zinc. **Treatments legend:** St: Standard white; S: *Sargassum cymosum* (Control); H: *Hypnea pseudomusciformis* (Control); SH: *Sargassum* and *Hypnea* association (Control); S(SH): *Sargassum* in association with *Hypnea* (Control); H(SH): *Hypnea* in association with *Sargassum* (Control); St-mud: Standard (Mud); S-mud: *Sargassum cymosum* (Mud); H-mud: *Hypnea pseudomusciformis* (Mud); SH-mud: *Sargassum* and *Hypnea* association (Mud); S(SH)-mud: *Sargassum* in association with *Hypnea* (Mud); H(SH)-mud: *Hypnea* in association with *Sargassum* (Mud). **Symbols legend:** white points: treatments exposure for 5 days; black points: treatments exposure for 15 days.

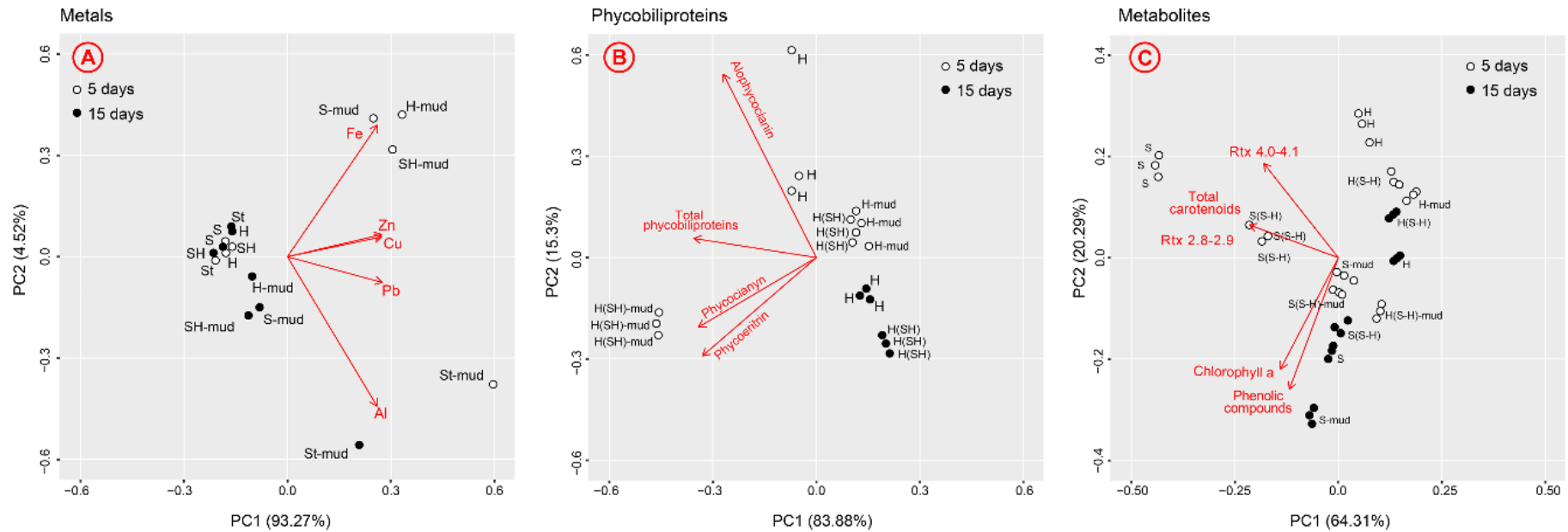


Fig 2: Redundancy Analyses (RDA) for metabolites of *Sargassum*, *Hypnea* and biological association among species, after 5- and 15-days of exposure to Control or Mariana's mud condition. Axis RDA1 and RDA2 showed 48.34% and 5.10% of variability distribution respectively. Treatments legend: S: *Sargassum cymosum* Control; H: *Hypnea pseudomusciformis* Control; S(SH): *Sargassum* in association with *Hypnea*; H(SH): *Hypnea* in association with *Sargassum*; S-mud: *Sargassum cymosum* Mud; H-mud: *Hypnea pseudomusciformis* Mud; S(SH)-mud: *Sargassum* in association with *Hypnea* and mud; H(SH)-mud: *Hypnea* in association with *Sargassum* and mud. Symbols legend: white points: treatments exposure for 5 days; black points: treatments exposure for 15 days.

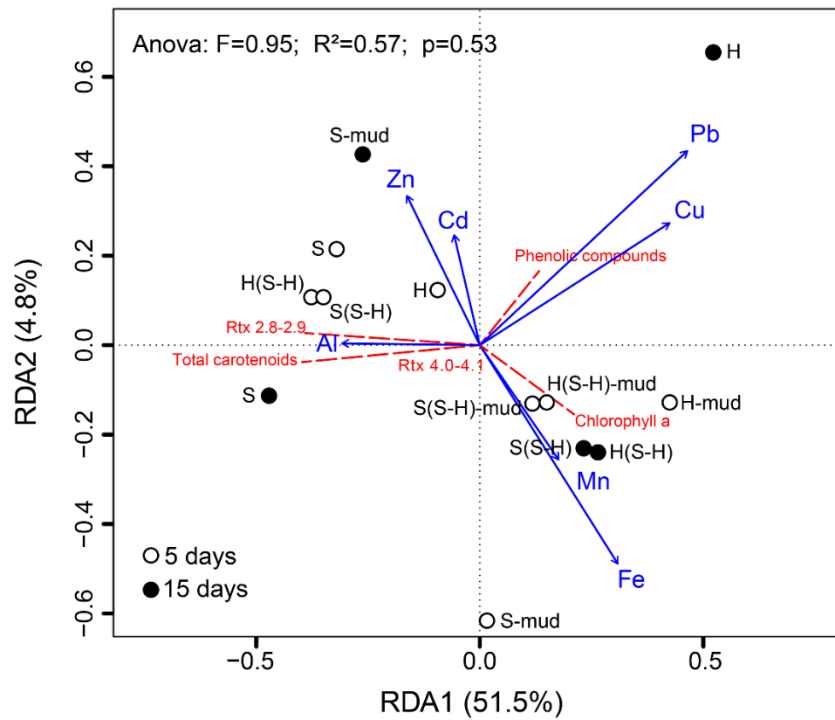


Table 2: Metals content in seawater media applied for exposure of *Sargassum cymosum*, *Hypnea pseudomusciformis* and *Sargassum-Hypnea* association. Standards are the reference values for seawater without (Standard white) and with mud suspension (Standard mud) previously to the seaweed's exposure. The other treatments refers to metal concentrations after the seaweed's exposure for 5 and 15 days. Data are presented in $\mu\text{g.L}^{-1}$. Elements abbreviature: Al: aluminium, Cd: cadmium, Cu: copper, Fe: iron, Mn: manganese, Pb: lead, and Zn: zinc.

<i>Treatment</i>	<i>Al</i>	<i>Cd</i>	<i>Cu</i>	<i>Fe</i>	<i>Mn</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>
<i>5 days</i>							
Standard white	147.100	0.053	0.309	25.030	0.003	0.018	46.065
<i>Sargassum</i>	157.650	0.163	0.000	9.518	0.002	0.000	74.715
<i>Hypnea</i>	139.450	0.107	0.000	6.190	0.000	0.000	110.895
<i>Sargassum-Hypnea</i>	135.250	0.151	0.093	6.819	0.004	0.014	103.395
Standard mud	19,830,773.066	8.908	5,792.505	5,067,341.461	2,607,321.426	1,341.892	1,862.872
<i>Sargassum</i> mud	5,496,053.326	3.643	4,130.819	3,653,457.213	374,026.825	617.601	1,369.248
<i>Hypnea</i> mud	7,255,154.997	3.396	4,820.121	4,270,925.951	372,735.158	720.810	1,512.411
<i>Sargassum-Hypnea</i> mud	7,082,807.467	1.647	4,638.579	3,788,077.067	373,869.883	728.868	1,437.895
<i>15 days</i>							
Standard white	143.550	0.096	0.000	6.051	0.003	0.062	196.980
<i>Sargassum</i>	111.000	0.122	0.000	8.041	0.001	0.000	72.480
<i>Hypnea</i>	162.850	0.334	0.557	11.964	0.015	0.181	183.165
<i>Sargassum-Hypnea</i>	102.200	0.200	0.000	5.607	0.002	0.000	65.175
Standard mud	11,242,548.681	2.804	4,341.659	516,203.600	400,711.887	522.761	1,352.947
<i>Sargassum</i> mud	3,059,558.712	3.791	614.232	292,483.695	172,804.117	224.229	257.994
<i>Hypnea</i> mud	1,589,837.760	3.105	629.797	309,887.690	196,026.337	232.684	180.027
<i>Sargassum-Hypnea</i> mud	3,165,627.787	2.450	249.247	331,636.868	181,307.967	178.858	168.241

3.3.3. Growth rates

Growth rates showed negative values for all mud treatments at 5 days of exposure (Table 3). For both times of culture, *H. pseudomusciformis* showed the highest values for growth rate compared to *S. cymosum* or interactive treatments (Table 3). However, at 15 days, mud treatments with *H. pseudomusciformis* isolated or in association resulted in thallus death. In these cases, it was not possible to recover *Hypnea* biomass for final measurements, due to the impossibility of properly cleaning the fragment thallus from the excess of mud and subsequent impossibility of growth and other physiological descriptors evaluation. For *S. cymosum* in isolated condition, there was a slight decrease in growth rate associated with phyllodes loss (Table 3).

Table 3: Initial and final biomass (g), and growth rates (%.day⁻¹) of *Sargassum cymosum*, *Hypnea pseudomusciformis* and *Sargassum-Hypnea* interaction. Data are mean \pm SD (n=5). Symbols (*) indicate that biomass was not recovered for these treatments.

<i>Treatment</i>	<i>Initial biomass</i>	<i>Final biomass</i>	<i>Growth rate</i>
<i>5 days</i>			
<i>Sargassum</i>	2.00 \pm 0.04	2.10 \pm 0.13	0.993 \pm 1.169
<i>Hypnea</i>	2.00 \pm 0.03	2.54 \pm 0.21	4.846 \pm 1.490
<i>Sargassum-Hypnea</i>	1.99 \pm 0.03	2.07 \pm 0.13	0.690 \pm 1.055
<i>Sargassum mud</i>	2.01 \pm 0.02	1.66 \pm 0.18	-3.799 \pm 2.077
<i>Hypnea mud</i>	1.99 \pm 0.02	1.66 \pm 0.20	-3.720 \pm 2.349
<i>Sargassum-Hypnea mud</i>	1.99 \pm 0.03	1.36 \pm 0.16	-7.373 \pm 2.071
<i>15 days</i>			
<i>Sargassum</i>	1.53 \pm 0.06	1.49 \pm 0.33	-0.348 \pm 1.565
<i>Hypnea</i>	1.52 \pm 0.05	2.52 \pm 1.08	2.995 \pm 4.007
<i>Sargassum-Hypnea</i>	2.00 \pm 0.30	1.94 \pm 0.66	-0.529 \pm 3.081
<i>Sargassum mud</i>	1.53 \pm 0.03	0.76 \pm 0.15	-4.947 \pm 1.317
<i>Hypnea mud</i>	1.50 \pm 0.03	*	*
<i>Sargassum-Hypnea mud</i>	2.23 \pm 0.10	*	*

3.3.4. Pigments and phenolic compounds

Chlorophyll *a* showed variation among treatments, but with a similar pattern for each alga. *S. cymosum* showed the higher values in chlorophyll content for both control samples, isolated and associative, and exposed to mud for 5 and 15 days (Table 4). When in associative treatment, both *Sargassum* and *Hypnea* reduced their chlorophyll content (Table 4). In turn, *Sargassum* had lower values of chlorophyll concentration for different exposure times, with a reduction after the longest time of 15 days.

Carotenoid profile had differences among species, treatments and specially exposure times (Table 4). The identified time retention of 2.8-2.9 min is correspondent to fucoxanthin for *Sargassum* and lutein for *Hypnea*, and the major areas were identified for all treatments. The other compounds observed in chromatograms presented a small area and had very few contributions for the total carotenoids' contents (Table 4). In general, *Sargassum* in all exposure times and treatments showed higher amounts of carotenoids in comparison to *Hypnea*. Inherently, *Hypnea* showed no carotenoid contents under mud exposition at 5 days, and both controls (isolated and associative) after 15 days (Table 4).

Phenolic compounds showed the most pronounced differences among treatments. *Sargassum* in all conditions had the higher phenolic compounds concentration (Table 4). *Hypnea* treatments showed a slight reduction in phenolic compounds in 5 days, when compared to treatments among controls and mud treatments. In turn, *Sargassum* had a strong increase of approximately the double of concentration in comparison to the control after 15 days of mud exposure (Table 4).

Lastly, contents of phycobiliproteins were evaluated only for *H. pseudomusciformis*, as they are accessory pigments from red algae (Table 5). Results indicated that in isolated treatments of control, *Hypnea* had more phycobiliproteins than in associative treatments, in both exposure times, and after 15 days, lower concentrations were observed (Table 5). However, associative treatment at 5 days under mud exposure showed a significant increase in total phycobiliproteins that differ from all other treatment conditions (Table 5). It is important to note that, among treatments and exposure times, different fractions of phycobiliproteins (allophycocyanin, phycocyanin and phycoerythrin) had variations in concentrations but without a pattern associated to treatment conditions.

3.4. DISCUSSION

Mariana's mud induced physiological damages in *S. cymosum* and *H. pseudomusciformis* and impacted their ecophysiological interaction. The reduction of growth rates and letality observed in both species after long-term exposure, and under biological interaction, reinforces the mud's toxic effect in the seaweeds' physiology, wich brings to attention the necessity of evaluating the mud's impacts in others organisms (Miranda and Marques 2016; Segura et al. 2016; Gomes et al. 2017) and environments (Rico et al. 2008; Santiago and Africa 2008; Rodríguez-Figueroa et al. 2009). Our results reveal the specific

defensive mechanisms of each species, and also show different resilience abilities, promoted by changes in metabolic routes, to survive mud's exposition under a short-time exposition.

Characterization of metals present in mud samples used in our experiments showed differences of concentrations in comparison to other studies (Segura et al. 2016; Gomes et al. 2017), presenting higher concentrations than described by other authors. This can be due to the timing of samples' collection, as they were obtained not long after (less than a month) the disaster and were taken from banks of depositions over sand banks at the margins of Rio Doce's mouth. As a result, higher concentrations in sediments were observed and the dose was also more toxic to the biological models analysed (acute effect). However, we emphasize the importance in evaluating this specific kind of waste deposited in margins, as extreme climatic events (e.g. rainfalls) can promote a new input of metals in the coastal marine environment (Hatje et al. 2017; Queiroz et al. 2018). Moreover, we found that the largest fraction of metals present in the mud was constituted by elements as Al, Fe, Mn, and Zn. The soil composition of Rio Doce basin has the predominance of these elements, due to the lithologic origin of the soils (Pires et al. 2003; Segura et al. 2016; Silva et al. 2016; Guevara et al. 2018). The mining mud evaluated in the present study was originated from a rich iron and manganese ore extraction in an area called Iron Quadrangle, Minas Gerais state. The high concentration and prevalence of Al, Fe and Mn, the most abundant elements in our mud samples, both for 5 and 15 days experimental time, is coherent with the soil characteristics described (Pires et al. 2003; Guevara et al. 2018).

Statistical inferences showed interesting evidence that, despite metals present in Mariana's mud presented negative effects over algal metabolism, some of them had no correlation with the changes observed. Apparently, Cd had no effect, and its toxicity could be masked by the very low concentration obtained of this element when compared with others analysed. Besides, the influence of time in toxic responses becomes more evident when correlations of samples distribution in the resultant vectors in PCA and RDA analyses were observed. These data lead us to assign the high variety of element in the mud to differences in exposure to induce toxicity in organisms, which is possibly related with the available time to be adsorbed, transported and immobilized due to physical or biochemical (defense) mechanisms of biochemical response's induction (Hall 2002). In the PCA of metabolic parameters, samples from 5 days exposure were closely related to the Fe vector, indicating that the elevated concentrations of this element were responsible for the first induction of algal metabolism changes. However, through time, we observed a grouping of mud-treated samples correlated to the Al vector. This variation in samples distribution can be explained by i. the physiological

role of these elements in algal metabolism and ii. the time-speciation that each element presents under interaction and in seawater solution. Fe and Mn are elements with a wide redox potential (from oxidized to reduced forms), and their chemical form is dependent of complex-formation with sediments and/or pH, salinity and temperature characteristics (Hem 1972; Furness and Rainbow. 1987). Even so, the chemical plasticity can be considered as an important factor, as variations in chemical forms determine the higher or lower availability for biological assimilation. On the other hand, Al in seawater presents slow kinetic solubility, which is limited by neutral and slight-alkaline pH, and in acidic pH, there is an increase in its availability in the ionic form (Crowder 1991; Angel et al. 2016). With this, due to the ionic detachment from mud sediments, the toxic effect of Al can be related to long-term exposure. Therefore, it is possible to infer that time-variations in the bioavailability of elements was responsible for changes in the correlations observed, and that each element induced stress over algae physiology according to its progressive incorporation. Simultaneously, we also observed a change in treatments' distribution in correlation with PCA vectors of metabolites. It is important to observe *Sargassum*'s strategy, which includes a change in the pattern of carotenoid synthesis (5 days) to phenolic synthesis (15 days), showing how phenolics are more efficient in avoiding heavy metals toxicity at a cellular level (Cobbett 2000). This led to the conclusion that seaweeds can change their biochemical response, to better adapt to stressful conditions and have a higher efficiency in acclimation response. Variations in the biochemical profile were a useful tool to better understand the major responses of seaweeds, and to explain why *Hypnea* was not able to survive to a long-term exposure of toxic conditions.

The present study applied as descriptors and markers of metabolic deviation a series of biochemical parameters. These descriptors, even when applied in experimental samples, showed an important prospect of how biochemical damages result in a negative response of both species. Growth rates showed a decrease in mud treatments even in short-term exposure. A very relevant data is the complete biomass loss of *Hypnea* isolated and in associative treatments exposed to mud for 15 days, caused by thallus death. It is known that seaweeds exposed to heavy metal stress do not present biomass growth and even suffer decreases in biomass as a result of thallus necrosis, presenting loss of secondary metabolites or metabolic energy deviation to synthesize antioxidant compounds (Choi et al. 2008; Mendes et al. 2013). With this, we could infer that mud exerts a toxic effect over algal physiology, and that energy was diverged from growth to defensive routes related to process of detoxification.

When exposed to mud, isolated samples had a reduction on chlorophyll *a*, but *Hypnea* in association after 5 days of exposure showed a significant increase in chlorophyll *a*. *Hypnea*

also showed an increase in total phycobiliproteins, which allows the species to maintain its photosynthetic activity by increasing light capture (Kursar et al. 1983). Significance observed in Permanova analyses corroborates the differences in pigments concentration among treatments under different times for *Hypnea*. Thus, *Hypnea* potentially has a higher energy requirement against metal toxicity than *Sargassum*. The highest energy dispensed on photosynthesis could explain why *Hypnea* was not able to survive in the 15-day treatment, as synthesis of metabolites were compromised, with a lower antioxidant response and less energy for metabolic maintenance (Bouzon et al. 2012; Santos et al. 2015b). Considering RDA analyses, the correlation among chlorophyll *a* and Fe, and its correlation with Mn became evident, which is related to the requirement of these elements as nutrients, in the structural synthesis of the chlorophyll molecule, and in electron transport chains of photosynthesis (Blankenship 2002; Millaleo et al. 2010).

Carotenoids concentrations (profile and total fraction) were significantly correlated with Al, Cd and Zn vectors in RDA analyses, and can be attributed to the photosynthetic apparatus protection (Balboa et al. 2013). All metals observed in the mud profile (Al, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, and Zn) are recognised for inducing oxidative stress, and zinc and cadmium are extremely toxic even in small concentrations (Rai et al. 1981; Chakraborty et al. 2014). The stress induced by metals causes damages in pigments synthesis, promotes the increase of antioxidant compounds, lowers the energy available for the maintenance of growth and, most importantly, increases the concentration of reactive oxygen species (ROS), which disturbs membranes and the ionic equilibrium at the cellular level (Balboa et al. 2013). Specifically, Al, Cd and Zn are recognized for damaging the structure of the chloroplast, by disrupting the tilacoid membrane and oxidating the chlorophyll molecule. Carotenoids (low weight molecules) act as a protective quencher in high levels of ROS at the cellular level, as the ones generated by heavy metals stress (Britton et al. 2008; Pinto et al. 2011; Sytar et al. 2013). We observed that all mud treatments had lower concentrations of carotenoids than the respective controls in 5 days. After 15 days, *Sargassum* had similar carotenoids contents in both controls and mud treatments, which can indicate a reduction of synthesis in control, and maintenance of synthesis and consumption in mud samples. Brown algae synthesize a wide range of carotenoids, and the fucoxanthin fraction is the major carotenoid fraction of this group (Haugan and Liaaen-Jensen 1994). Among the physiological functions of fucoxanthin, ROS detoxification, antioxidant properties and ionic-binding sequestration are recognized (Davis et al. 2000; Balboa et al. 2013). This possibly explains the *Sargassum*'s strategy of synthesizing

carotenoids in the short-term exposure to metals as a first chemical defensive barrier against cellular heavy metal toxicity.

In the same way, phenolic compounds showed variations related to time exposure and species. *Sargassum* approximately doubled the phenolic compounds in samples under mud conditions after 15 days of exposure when compared to the respective control. Phenolic compounds are recognized for their role in the oxidative stress detoxification at the cellular level for plants, and they act efficiently in heavy metals sequestration and detoxification (Michalak 2006; Viehweger 2014). Brown seaweeds can synthesize higher amounts of phenolic compounds than other algal groups (Wang et al. 2009), and a class denominated as phlorotannin, exclusively synthesized by brown algae, has a key-role in the defensive strategy against ROS and metals detoxification (Vinayak et al. 2011; Balboa et al. 2013). Our results indicate the relevance of this parameter as a stress marker of stress to monitor the physiology and detoxification ability of brown seaweeds species exposed to disturbed conditions, and the lower efficiency of this metabolite in *Hypnea*. On our RDA analyses, the elements Cu and Pb were related to phenolic compounds, and we can infer that this defensive mechanism was only activated when others were not efficient. Cu, required as an essential micronutrient for plants, has a special transmembrane transport system that allows the uptake of this element from the environment (Lambers et al. 2008; Dalcorso et al. 2014). Conversely, lead is not required for plant physiology, but competes with phosphorus for facilitated transport in the cellular transmembrane (Lambers et al. 2008). However, the facilitated transport presents a negative toxic effect on algae, damaging algal physiology and/or requires higher energy for metal's detoxification caused by the accumulation of Cu and Pb (Santos et al. 2015b). In this context, the close correlation of Cu and Pb with phenolic compounds is justified by the higher efficiency of these metabolites in immobilizing the cationic forms of these elements at the cytoplasmic level (Costa et al. 2016).

Another relevant result observed in the present data set is the inability of *Hypnea* to respond to mud stress efficiently and to survive under associative conditions. As a result of *Hypnea*'s lower resistance to toxic metals, diversion from metabolic routes to defensive mechanisms does not allow the maintenance of growth or synthesis of primary metabolites (i.e. proteins, sugars and lipids) (Bouzon et al. 2012). In contrast, *Sargassum* throughout time has a more sophisticated apparatus for chemical defense and variations in metabolic synthesis pathways (Vinayak et al. 2011; Zou et al. 2014), which gives us a basis for understanding its resistance even after exposure to elevated doses of metals and long-term exposure to these conditions. However, when in association, the degradation of *Hypnea* metabolic compounds

could be reason for the decline in *Sargassum*'s detoxification ability. For this reason, we can infer that the absence or lethality of *Hypnea* is a key-factor for increasing *Sargassum*'s sensibility to contaminants' stress. Antagonism observed in culture reveals that in the natural environment, simultaneous restoration of species will depend on water conditions that do not harm *Hypnea*'s metabolism. With this, the restoration of environmental complexity will be related to the ability of species to avoid competition or to induce negative influences between them.

Table 4: Pigments and metabolites of *Sargassum cymosum*, *Hypnea pseudomusciformis* and *Sargassum-Hypnea* association. Data are mean \pm SD (n=3). Chlorophyll *a* (Chl *a*), carotenoid profile (RTX_2.8-2.9, fucoxanthin for *Sargassum* and lutein for *Hypnea*, and RTX_4.0-4.1) and total carotenoids are expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW), while phenolic compounds (Phenol) is expressed in $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW).

<i>Treatment</i>	<i>Chl a</i>	<i>RTX_2.8-2.9</i>	<i>RTX_4.0-4.1</i>	<i>Total carotenoids</i>	<i>Phenol</i>
<i>5 days</i>					
<i>Sargassum</i>	30.695 \pm 0.971	48.305 \pm 0.317	8.036 \pm 0.123	48.313 \pm 0.317	2.576 \pm 0.070
<i>Hypnea</i>	4.134 \pm 0.309	1.399 \pm 0.234	4.653 \pm 0.809	1.410 \pm 0.235	0.406 \pm 0.084
<i>Sargassum-Hypnea (Sargassum)</i>	26.585 \pm 0.294	30.736 \pm 1.657	2.875 \pm 0.312	30.738 \pm 1.657	1.628 \pm 0.024
<i>Sargassum-Hypnea (Hypnea)</i>	2.573 \pm 0.299	0.579 \pm 0.180	1.183 \pm 0.194	0.582 \pm 0.181	0.316 \pm 0.015
<i>Sargassum mud</i>	32.353 \pm 0.153	9.490 \pm 0.178	0.891 \pm 0.162	9.497 \pm 0.178	0.563 \pm 0.036
<i>Hypnea mud</i>	1.546 \pm 0.973	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.335 \pm 0.009
<i>Sargassum-Hypnea mud (Sargassum)</i>	25.110 \pm 0.565	9.445 \pm 0.409	1.247 \pm 0.099	9.451 \pm 0.409	1.616 \pm 0.034
<i>Sargassum-Hypnea mud (Hypnea)</i>	32.014 \pm 0.468	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.465 \pm 0.006
<i>15 days</i>					
<i>Sargassum</i>	28.402 \pm 0.150	7.051 \pm 0.603	0.996 \pm 0.049	7.057 \pm 0.603	2.593 \pm 0.085
<i>Hypnea</i>	4.892 \pm 0.656	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	1.599 \pm 0.039
<i>Sargassum-Hypnea (Sargassum)</i>	28.064 \pm 1.669	5.711 \pm 0.338	1.026 \pm 0.045	5.715 \pm 0.338	2.005 \pm 0.062
<i>Sargassum-Hypnea (Hypnea)</i>	4.204 \pm 0.175	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000	0.263 \pm 0.018
<i>Sargassum mud</i>	22.476 \pm 0.660	9.257 \pm 0.098	1.217 \pm 0.150	9.264 \pm 0.098	4.959 \pm 0.089

Table 5: Phycobiliproteins of *Hypnea pseudomusciformis* (for isolated and associative biological condition). Data are mean \pm SD (n=3), and expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW). Symbol (*) means a non-detection of specific fraction in the analysed samples.

<i>Treatment</i>	<i>Alophycocianin</i>	<i>Phycocianyn</i>	<i>Phycoeritrin</i>	<i>Total</i>
<i>5 days</i>				
<i>Hypnea</i>	145.886 \pm 5.462	61.605 \pm 11.950	485.268 \pm 156.270	692.760 \pm 149.577
<i>Sargassum-Hypnea (Hypnea)</i>	6.072 \pm 4.154	38.111 \pm 6.172	233.333 \pm 15.759	277.516 \pm 12.309
<i>Hypnea mud</i>	58.528 \pm 6.297	*	211.326 \pm 36.474	269.544 \pm 43.371
<i>Sargassum-Hypnea mud (Hypnea)</i>	643.977 \pm 9.566	213.388 \pm 6.949	406.907 \pm 5.975	1,264.272 \pm 4.288
<i>15 days</i>				
<i>Hypnea</i>	55.449 \pm 8.962	40.365 \pm 2.609	128.847 \pm 3.053	224.661 \pm 10.866
<i>Sargassum-Hypnea (Hypnea)</i>	11.260 \pm 0.678	42.586 \pm 4.591	34.060 \pm 15.359	87.905 \pm 18.785

3.5. CONCLUSION

In the present study, we observed ecophysiological damages caused by the mining wast mud in two key-species of rocky shore flora, the brown algae *S. cymosum* and its main epiphyte, the red algae *H. pseudomusciformis*. The differences between physiological responses indicated that each species has developed strategies to avoid the toxic effects of metals present in the mud. Moreover, the time of exposure and biological interaction was relevant to induce the different defensive mechanisms of response against the toxicity of metals. Considering the ability to maintain growth and to synthesize antioxidant metabolites, we identified a higher ability of *Sargassum* in detoxicating metals, especially because of the higher amounts of phenolic compounds accumulated. However, *Hypnea* reduces *Sargassum*'s ability to avoid the toxic effects of metals, leading to lethality for both species. Therefore, we emphasize the importance of investigating the biological interaction in a context of physiological resilience against different pollutants to increase realism in ecotoxicological essays. Through the application of a complex mixture of heavy metals, we were able to mimic an actual environment condition to which benthic organisms are being increasingly more exposed to.

The potential impacts of Mariana's mud in the western Atlantic are still underestimated, especially for benthic producers, without an accurate estimate of ecosystem services losses. Applied experiments as the one here presented are a crucial tool to guide monitoring decisions for impacted areas surrounding Doce's river mouth, and adjacent regions. It is important to note that, based in the present results, a longer exposure to a high mud deposition influences the resistance of algae. With this, long-term monitoring needs to be conducted, as environmental consequences can greatly reduce biodiversity and thus jeopardize the well-being of next generations.

3.6. ETHICAL DECLARATIONS

3.6.1. Funding

This study was founded by Boticário Foundation (1051-20152), FAPESP-Foundation support research and innovation in the State of São Paulo (FAPESP, 2014/00012-1) and Long-term Program of Ecological Research - Coastal Habitats of Espírito Santo State (PELD, CNPq grant 441243/2016-9). Mr. Paulo A. Horta Jr. received founding from National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 306917/2009-2) and Capes-Higher

Education Personnel Improvement Coordination (CAPES/PNADB 2338000071/2010-61). Giulia Burle Costa received a fellowship from CNPq for Sandwich PhD Program (CNPq process 202271/2018-8) and a fellowship from CAPES.

3.6.2. Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest between them and with other research groups.

3.6.3. Contributors

The authors declare that all contributed equally for the research and/or manuscript preparation, and that also have approved the final format of present work prior to submission. The role of each author in this work is described below:

- Giulia Burle Costa: experimental work execution and manuscript preparation;
- Fernanda Ramlov: biochemical analyses collaboration and manuscript preparation;
- Bruna Ramos: experimental work execution and manuscript preparation;
- Gabrielle Koerich: experimental work execution and manuscript preparation;
- Lidiane Gouvea: experimental work execution;
- Patrícia Gomes Costa: chemical analyses collaboration and manuscript preparation;
- Adalto Bianchini: manuscript preparation;
- Marcelo Maraschin: biochemical analyses collaboration and manuscript preparation;
- Paulo A. Horta: project proposition, experimental work collaboration and manuscript preparation.

3.7. REFERENCES

Akcali I, Kucuksezgin F (2011) A biomonitoring study: Heavy metals in macroalgae from eastern Aegean coastal areas. *Mar Pollut Bull* 62:637–645. doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.12.021

Almada CHB a., Yoneshigue-Valetin Y, Nassar CAG (2008) Aspectos populacionais de *Sargassum vulgare* C. Agardh (Ochrophyta, Fucales) na Ponta do Arpoador - Rio de Janeiro. *Oecologia Aust* 12:291–298. doi: 10.4257/oeco.2008.1202.10

Amado-Filho GM, Moura RL, Bastos AC, et al (2012) Rhodolith Beds Are Major CaCO₃ Bio-Factories in the Tropical South West Atlantic. *PLoS One* 7:e35171. doi:

10.1371/journal.pone.0035171

Aman R, Carle R, Conrad J, et al (2005) Isolation of carotenoids from plant materials and dietary supplements by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr A*. doi: 10.1016/j.chroma.2005.03.055

Angel BM, Apte SC, Batley GE, Golding LA (2016) Geochemical controls on aluminium concentrations in coastal waters. *Environ Chem* 13:111. doi: 10.1071/EN15029

Aued AW, Smith F, Quimbayo JP, et al (2018) Large-scale patterns of benthic marine communities in the Brazilian Province. *PLoS One* 13:e0198452. doi: 10.1371/journal.pone.0198452

Balboa EM, Conde E, Moure A, et al (2013) In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem* 138:1764–1785. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.026

Blankenship RE (2002) *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK

Bouzon ZL, Ferreira EC, dos Santos R, et al (2012) Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in vitro. *Protoplasma* 249:637–650. doi: 10.1007/s00709-011-0301-6

Brady JP, Ayoko GA, Martens WN, Goonetilleke A (2015) Development of a hybrid pollution index for heavy metals in marine and estuarine sediments. *Environ Monit Assess* 187:. doi: 10.1007/s10661-015-4563-x

Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (2008) *Carotenoids, Vol. 4: Natural functions*. Springer Science & Business Media, Germany

Chakraborty S, Bhattacharya T, Singh G, Maity JP (2014) Benthic macroalgae as biological indicators of heavy metal pollution in the marine environments: A biomonitoring approach for pollution assessment. *Ecotoxicol Environ Saf* 100:61–68. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.12.003

Chapman ARO (1987) Population and Community Ecology of Seaweeds. *Adv Mar Biol* 23:1–161. doi: 10.1016/S0065-2881(08)60108-X

Choi HG, Lee KH, Yoo H Il, et al (2008) Physiological differences in the growth of *Sargassum horneri* between the germling and adult stages. *J Appl Phycol* 20:729–735. doi: 10.1007/s10811-007-9281-5

Cobbett CS (2000) Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol* 123:825–832. doi: 10.1104/pp.123.3.825

Costa GB, de Felix MRL, Simioni C, et al (2016) Effects of copper and lead exposure on the ecophysiology of the brown seaweed *Sargassum cymosum*. *Protoplasma* 253:111–125. doi: 10.1007/s00709-015-0795-4

Crowder A (1991) Acidification, metals and macrophytes. *Environ Pollut* 71:171–203. doi:

10.1016/0269-7491(91)90032-R

Dalcorso G, Manara A, Piasentin S, Furini A (2014) Nutrient metal elements in plants. *Metallomics* 6:1770–1788. doi: 10.1039/c4mt00173g

Davis TA, Volesky B, Vieira RHSF (2000) *Sargassum* seaweed as biosorbent for heavy metals. *Water Res* 34:4270–4278. doi: 10.1016/S0043-1354(00)00177-9

Dias JA, Cearreta A, Isla FI, de Mahiques MM (2013) Anthropogenic impacts on Iberoamerican coastal areas: Historical processes, present challenges, and consequences for coastal zone management. *Ocean Coast Manag* 77:80–88. doi: 10.1016/j.ocecoaman.2012.07.025

Edwards P (1972) Cultured red alga to measure pollution. *Mar Pollut Bull.* doi: 10.1016/0025-326X(72)90266-4

Faccini AL, Berchez F (2000) Management of natural beds and standing stock evaluation of *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta) in south-eastern Brazil. *J Appl Phycol* 12:101–103. doi: 10.1023/A:1008120229562

Figueiredo MAO, Horta PA, Pedrini ADG, Nunes JMDC (2008) Benthic Marine Algae of the Coral Reefs of Brazil: a Literature Review. *Oecologia Bras* 12:258–269. doi: 10.4257/oeco.2008.1202.07

Furness RW, Rainbow. PS (1987) *Heavy metals in the marine environment*, 1st edn. Taylor and Francis

Gomes LE de O, Correa LB, Sá F, et al (2017) The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. *Mar Pollut Bull* 120:28–36. doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.04.056

Guevara YZC, Souza JLL de, Veloso GV, et al (2018) Reference Values of Soil Quality for the Rio Doce Basin. *Rev Bras Ciência do Solo* 42:. doi: 10.1590/18069657rbc20170231

Hall JL (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot* 53:1–11. doi: 10.1093/jxb/53.366.1

Hatje V, Pedreira RMA, de Rezende CE, et al (2017) The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. *Sci Rep* 7:10706. doi: 10.1038/s41598-017-11143-x

Haugan JA, Liaaen-Jensen S (1994) Algal carotenoids 54. Carotenoids of brown algae (Phaeophyceae). *Biochem Syst Ecol* 22:31–41. doi: 10.1016/0305-1978(94)90112-0

Hem JD (1972) Chemical factors that influence the availability of Iron and Manganese in aqueous systems. *Geol Soc Am Bull* 83:443–450. doi: 10.1130/0016-7606

Hernández-Almaraz P, Méndez-Rodríguez L, Zenteno-Savín T, et al (2014) Metal mobility and bioaccumulation differences at lower trophic levels in marine ecosystems dominated by *Sargassum* species. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 94:435–442. doi: 10.1017/S0025315413001653

Howarth R, Chan F, Conley DJ, et al (2011) Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems. *Front Ecol Environ* 9:18–26. doi: 10.1890/100008

Jeffrey SW, Humphrey GF (1975) New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c1* and *c2* in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem und Physiol der Pflanz* 167:191–194. doi: 10.1016/S0015-3796(17)30778-3

Kuhnen S, Lemos PMM, Campestrini LH, et al (2009) Antiangiogenic properties of carotenoids: A potential role of maize as functional food. *J Funct Foods* 1:284–290. doi: 10.1016/j.jff.2009.04.001

Kursar T a, van der Meer J, Alberte RS (1983) Light-Harvesting System of the Red Alga *Gracilaria tikvahiae*: II. Phycobilisome Characteristics of Pigment Mutants. *Plant Physiol* 73:361–9. doi: 10.1104/pp.73.2.361

Lambers H, Chapin FS, Pons TL (2008) *Plant Physiological Ecology*, 2nd edn. Springer New York, New York, NY

Lamouroux JVF (1813) Essai sur les genres de la famille des Thalassiophytes non articulées. *Annales du Muséum d'Histoire Naturelle*, Paris

Lignell Å., Pedersén M (1989) Agar Composition as a Function of Morphology and Growth Rate. Studies on Some Morphological Strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Bot Mar* 32:219–227. doi: <https://doi.org/10.1515/botm.1989.32.3.219>

Magris RA, Marta-Almeida M, Monteiro JAF, Ban NC (2019) A modelling approach to assess the impact of land mining on marine biodiversity: Assessment in coastal catchments experiencing catastrophic events (SW Brazil). *Sci Total Environ* 659:828–840. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.238

Marta-Almeida M, Mendes R, Amorim FN, et al (2016) Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. *Mar Pollut Bull* 112:359–364. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.07.039

Mattio L, Payri CE (2011) 190 years of *Sargassum* taxonomy, facing the advent of DNA phylogenies. *Bot Rev* 77:31–70. doi: 10.1007/s12229-010-9060-x

Mendes LF, Zambotti-Villela L, Colepicolo P, et al (2013) Metal cation toxicity in the alga *Gracilaria domingensis* as evaluated by the daily growth rates in synthetic seawater. *J Appl Phycol* 25:1939–1947. doi: 10.1007/s10811-013-0036-1

Michalak A (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J Environ Stud* 15:523–530. doi: 10.1016/j.fitote.2011.01.018

Millaleo R, Reyes- Diaz M, Ivanov A., et al (2010) Manganese As Essential and Toxic Element for Plants: Transport, Accumulation and Resistance Mechanisms. *J soil Sci plant*

Nutr 10:470–481. doi: 10.4067/S0718-95162010000200008

Miloslavich P, Klein E, Díaz JM, et al (2011) Marine Biodiversity in the Atlantic and Pacific Coasts of South America: Knowledge and Gaps. PLoS One 6:e14631. doi: 10.1371/journal.pone.0014631

Miranda LS, Marques AC (2016) Hidden impacts of the Samarco mining waste dam collapse to Brazilian marine fauna - an example from the Staurozoans (Cnidaria). Biota Neotrop 16:. doi: 10.1590/1676-0611-BN-2016-0169

Moberg F, Rönnbäck P (2003) Ecosystem services of the tropical seascape: interactions, substitutions and restoration. Ocean Coast Manag 46:27–46. doi: 10.1016/S0964-5691(02)00119-9

Nadella SR, Fitzpatrick JL, Franklin N, et al (2009) Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol. doi: 10.1016/j.cbpc.2008.09.001

Nauer F, Cassano V, Oliveira MC (2015) Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rhodophyta). J Appl Phycol 27:2405–2417. doi: 10.1007/s10811-014-0488-y

Páez-Osuna F, Ochoa-Izaguirre MJ, Bojórquez-Leyva H, Michel-Reynoso IL (2000) Macroalgae as biomonitors of heavy metal availability in coastal lagoons from the subtropical Pacific of Mexico. Bull Environ Contam Toxicol 64:846–851. doi: 10.1007/s001280000080

Pinnegar JK, Polunin NVC, Francour P, et al (2000) Trophic cascades in benthic marine ecosystems: lessons for fisheries and protected-area management. Environ Conserv 27:S0376892900000205. doi: 10.1017/S0376892900000205

Pinto E, Carvalho AP, Morais KH, et al (2011) Effects of heavy metals and light levels on the biosynthesis of carotenoids and fatty acids in the macroalgae *Gracilaria tenuistipitata* (var . 349–354. doi: 10.1590/S0102-695X2011005000060

Pires JMM, Lena JC de, Machado CC, Pereira RS (2003) Potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: estudo de caso da barragem de Germano. Rev Árvore 27:393–397. doi: 10.1590/S0100-67622003000300017

Queiroz HM, Nóbrega GN, Ferreira TO, et al (2018) The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? Sci Total Environ 637–638:498–506. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.370

Rai LC, Gaur JP, Kumar HD (1981) Phycology and heavy metal pollution. Biol Rev 56:99–151. doi: 10.1111/j.1469-185X.1981.tb00345.x

Riba I, García-Luquea RE, Blasco J, DelValls TA (2003) Bioavailability of heavy metals bound to estuarine sediments as a function of pH and salinity values. Chem Speciat Bioavailab 15:101–114. doi: 10.3184/095422903782775163

Rico M, Benito G, Salgueiro AR, et al (2008) Reported tailings dam failures. *J Hazard Mater* 152:846–852. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.07.050

Rodríguez-Figueroa GM, Shumilin E, Sánchez-Rodríguez I (2009) Heavy metal pollution monitoring using the brown seaweed *Padina durvillaei* in the coastal zone of the Santa Rosalía mining region, Baja California Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol* 21:19–26. doi: 10.1007/s10811-008-9346-0

Santiago EC, Africa CR (2008) Trace metal concentrations in the aquatic environment of Albay Gulf in the Philippines after a reported mine tailings spill. *Mar Pollut Bull* 56:1657–1663. doi: 10.1016/j.marpolbul.2008.05.014

Santos R, Martins A, Batista M, Horta P (2015a) Regional and local factors determining green turtle *Chelonia mydas* foraging relationships with the environment. *Mar Ecol Prog Ser* 529:265–277. doi: 10.3354/meps11276

Santos RW, Schmidt ÉC, Vieira IC, et al (2015b) The effect of different concentrations of copper and lead on the morphology and physiology of *Hypnea musciformis* cultivated in vitro: a comparative analysis. *Protoplasma* 252:1203–1215. doi: 10.1007/s00709-014-0751-8

Scherner F, Antunes P, Cabral E, et al (2013) Coastal urbanization leads to remarkable seaweed species loss and community shifts along the SW Atlantic. *Mar Pollut Bull* 76:106–115. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.09.019

Segura FR, Nunes EA, Paniz FP, et al (2016) Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environ Pollut* 218:813–825. doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.005

Shams El-Din NG, Mohamedein LI, El-Moselhy KM (2014) Seaweeds as bioindicators of heavy metals off a hot spot area on the Egyptian Mediterranean Coast during 2008-2010. *Environ Monit Assess* 186:5865–5881. doi: 10.1007/s10661-014-3825-3

Silberfeld T, Rousseau F, Reviers B de (2014) An Updated Classification of Brown Algae (Ochrophyta, Phaeophyceae). *Cryptogam Algal* 35:117–156. doi: 10.7872/crya.v35.iss2.2014.117

Silva CR da, Cunha FG, Viglio EP (2016) Rompimento da barragem de mineração de ferro em Mariana-Minas Gerais, Brasil: Impactos físico-químicos. In: III Congresso da Sociedade de Análise de Risco Latino Americana. São Paulo

Storelli MM, Storelli A, Marcotrigiano GO (2001) Heavy metals in the aquatic environment of the Southern Adriatic Sea, Italy. *Environ Int* 26:505–509. doi: 10.1016/S0160-4120(01)00034-4

Sytar O, Kumar A, Latowski D, et al (2013) Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiol Plant* 35:985–999. doi: 10.1007/s11738-012-1169-6

Széchy MTM, Paula ÉJ (2000) Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum*

(Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. Rev Bras Botânica 23:121–132

Team RC (2016) R: A Language and Environment for Statistical Computing.

Viehweger K (2014) How plants cope with heavy metals. Bot Stud 55:. doi: 10.1186/1999-3110-55-35

Vinayak RC, Sabu AS, Chatterji A (2011) Bio-Prospecting of a Few Brown Seaweeds for Their Cytotoxic and Antioxidant Activities. Evidence-Based Complement Altern Med 2011:1–9. doi: 10.1093/ecam/neq024

Wang T, Jónsdóttir R, Ólafsdóttir G (2009) Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. Food Chem 116:240–248. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.041

Yong YS, Yong WTL, Anton A (2013) Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. J Appl Phycol 25:1831–1834. doi: 10.1007/s10811-013-0022-7

Zou H-X, Pang Q-Y, Lin L-D, et al (2014) Behavior of the Edible Seaweed *Sargassum fusiforme* to Copper Pollution: Short-Term Acclimation and Long-Term Adaptation. PLoS One 9:e101960. doi: 10.1371/journal.pone.0101960

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Table 1: Correlation coefficients for metals concentration in seawater mediums.

	Cd	Cu	Pb	Zn	Al	Fe	Mn
Cd	1.00						
Cu	0.74	1.00					
Pb	0.89	0.95	1.00				
Zn	0.74	0.99	0.95	1.00			
Al	0.89	0.89	0.95	0.89	1.00		
Fe	0.73	0.91	0.93	0.91	0.78	1.00	
Mn	0.89	0.69	0.86	0.70	0.90	0.71	1.00

Supplementary Table 2: Correlation coefficients for metabolic pigments exclusive from Hypnea.

	Allophycocyanin	Phycoerythrin	Phycocyanin	Total
Allophycocyanin	1.00			
Phycoerythrin	0.48	1.00		
Phycocyanin	0.57	0.96	1.00	
Total	0.80	0.90	0.95	1.00

Supplementary Table 3: Correlation coefficients for metabolic compounds for both seaweeds evaluated.

	Chlorophyll a	Phenolic	RTX_2.8-2.9	RTX_4.0-4.1	Total carotenoids
Chlorophyll a	1.00				
Phenolic	0.42	1.00			
RTX_2.8-2.9	0.51	0.39	1.00		
RTX_4.0-4.1	0.21	0.21	0.80	1.00	
Total carotenoids	0.51	0.39	1.00	0.80	1.00

4. CAPÍTULO III: THE EFFECTS OF MINING TAILINGS IN THE PHYSIOLOGY OF BENTHIC ALGAE: UNDERSTANDING THE RELATION BETWEEN MUD'S INDUCTIVE ACIDIFICATION AND THE HEAVY METAL'S TOXICITY

Giulia Burle Costa^{a*}, Fernanda Ramlov^b, Gabrielle Koerich^a, Bruno Bachiega Navarro^b, Debora Cabral^b, Eva Regina Oliveira Rodrigues^b, Bruna Ramos^a, Samara Dumont Fadigas^a, Leonardo Rubi Rörig^c, Marcelo Maraschin^b, Paulo A. Horta^{a*}

^aPhycology Laboratory, Botany Department, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

^bPlant Morphogenesis and Biochemistry Laboratory, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

^cPhycology of Microalgae Laboratory, Botany Department, Federal University of Santa Catarina, 88049-900, Florianópolis, SC, Brazil.

Artigo publicado na revista *Environmental and Experimental Botany*.

Aceito em 16 de Julho de 2019.

Disponível *on-line* em 17 de Julho de 2019.

Publicado em Novembro de 2019, volume 167.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103818>

Abstract

The direct and indirect effects of mining tailing on macroalgae were evaluated in vitro to determine the relationship between heavy metals toxicity and pH alterations caused by the presence of pollutants. The marine brown seaweed *Sargassum cymosum* (C. Hagar 1820) and its main epiphytic alga, the red seaweed *Hypnea pseudomusciformis* (Nauer, Cassano, Oliveira, 2015), were exposed to Mariana's mud in cross treatments, including presence or absence of mud, and normal (~8.0) or acidic (~7.0) pH conditions. The effects of different biological conditions were also evaluated in two treatments, with seaweed in isolated or associative conditions, for a seven-day period. The measured variables were growth rates and metabolic descriptors, such as chlorophyll a, phenolic compounds, total proteins, and the analysis of enzymatic activity, e.g. catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), and superoxide dismutase (SOD)). Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn's test were performed to evaluate the significant differences among treatments and biological conditions. Decreased growth rates in treatments with presence of mud or in acidic conditions were detected and probably related to deviations of metabolic energy towards the synthesis of defensive metabolites. Especially in the acidified culture medium, both algae species presented significant declines in pigments concentration, antioxidant compounds and an accentuated inhibition of enzymatic activity. The algal association was not beneficial for either species and *H. pseudomusciformis* was responsible for reducing the defensive ability of *Sargassum* against stressors. Considering the results, we infer that the physiological ability of both algae to resist metals and/or acidified conditions was affected not only by their mutual interference in each other, but also by the interaction between the abiotic parameters evaluated in this study.

Keywords: Biological association, Metabolic deviation, Enzymatic essays, Physiological acclimation, Heavy-metal toxicity.

Abbreviations

A – associative biological condition;

Al – Aluminum;

C – Control treatment;

CAT – Catalase;

Cd – Cadmium;

Cu – Copper;

DTT – Dithiothreitol;

Fe – Iron;

GPX – Guaiacol peroxidase;

GR – Growth rate;

HCl – Hydrochloric acid;

HM – High mud treatment;

IM – Intermediate mud treatment;

Mn – Manganese;

AC – Acidified medium treatment;

P.A. – Purity analytic;

Pb – Lead;

PMSF - Phenylmethylsulfonyl fluoride;

PVP – Polyvinylpyrrolidone;

ROS – Reactive oxygen species;

rpm – Rotations per minute;

SOD – Superoxide dismutase;

Zn – Zinc.

4.1. INTRODUCTION

Accidents related with ore exploitation are increasing in frequency and intensity worldwide (Brasil and Pires, 2017; Magris et al., 2019; Marín-Guirao et al., 2005; Rico et al., 2008; Rodríguez-Figueroa et al., 2009; Santiago and Africa, 2008). The Brazilian cases of Mariana and Brumadinho represent the giant scales that these events can reach, considering socio-economic and ecological perspectives (Escobar, 2015; Fernandes et al., 2016; Lopes and Biazatti, 2017). The impacts of ore contamination can be related to the presence of allochthonous compounds, due to the increase of heavy metals availability in the seawater, such as cadmium (Cd), copper (Cu), iron (Fe), lead (Pb), and manganese (Mn) (Bianchini, 2016), elements well-known for their toxic effects in different groups of organisms (Contreras-Porcia et al., 2017). Specifically, for seagrasses and seaweeds, these metallic elements are present in different physiological and structural roles. For example, Cu, Fe and Mn are ions required in the electron transport chain of photosynthesis and are structural components of chlorophylls and chloroplasts. These elements also participate as enzymatic cofactors of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) (Dalcorso et al., 2014; Lambers et al., 2008). However, in high concentrations the ionic forms of these elements may be toxic to the organisms, inducing oxidative stress and even leading to their death (Nagajyoti et al., 2010; Viehweger, 2014).

The environmental negative effects of Mariana's mud in the aquatic environment affected by the accident can be related to variations in dissolved oxygen concentrations registered locally (IGAM, 2017; Silva et al., 2016). The suspended colloidal solids (particles between 1 and 200 μm) present in the mud can be responsible for oxygen sequestration in oxy-reduction reactions. In addition, considering the mud's chemical composition, which increased the concentrations of iron oxides and metallic elements in sediments (Bianchini, 2016; Queiroz et al., 2018), it is expected an alteration in the bioavailability of heavy metals in the seawater, due to redox characteristics (Queiroz et al., 2018) and the influence of pollutants in the local acidification process (Zeng et al., 2015). Unfortunately, the monitoring actions of heavy metal dynamics and its influence over local physicochemical oceanographical parameters are still missing, four years after Mariana's spill.

The seawater acidification process, derivative from local or global factors, is recognized for causing harm to the physiology of seaweeds (Contreras-Porcia et al., 2017) and for interacting with pollutants, intensifying their toxicity (Nikinmaa, 2013). Lower pH interferes with nutrients' dynamics, as acidic conditions reduce the availability of some ionic forms preferentially assimilated by seaweed, impacting their physiology. For example, acidic

conditions limit the availability of calcium, nitrogen (NO^{-3}), copper (Cu^{+3}) and iron (Fe^{+2}), and zinc (Zn^{+2}) (Figueroa et al., 2014; Nagajyoti et al., 2010; Nikinmaa, 2013; Riba et al., 2003). The ionic form of each trace metal implicates directly in the ability of its absorption by seaweeds. The redox potential is associated with the strength of ionic bonds and the capacity of ligancy with carriers and cellular structures, as transmembrane channels and cell walls (Dalcorso et al., 2014; Torres et al., 2008). Therefore, it is possible that even though Mariana's mud contains high nutrient concentrations, pH conditions affect their availability for the algae, which impacts their ability to resist and survive to other environmental perturbations, such as the increase in turbidity or variations in salinity.

The presence of metals can induce the production of metabolites associated with osmotic regulation and antioxidant defenses of seaweeds (Cobbett, 2000; Pawlik-Skowrońska et al., 2007; Torres et al., 2008), specially the defensive mechanisms against reactive oxygen species (ROS). ROS are formed during the electron transference of an O_2 molecule through different oxygen radicals (i.e. hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$)) (Mittler, 2002). Under heavy metal exposure, the cellular redox homeostasis might be enzymatically disrupted (e.g. CAT, SOD and glutathione reductase (GR)). Besides, non-enzymatic mechanisms driven by certain metal chelating-metabolites (i. e. glutathione and phytochelatin) may also contribute to the redox stress, inducing the unbalance between ROS generation and detoxification (Viehweger, 2014). In this scenario, energy required by metabolic routes associated with seaweed growth and reproductive maturation might be diminished, implying in biomass reduction through time due to lower recruitment or loss of individuals by death.

As certain species of algae have a fundamental ecological role providing habitats for other organisms, the impacts over seaweed beds, both by its composition mischaracterization and extensive reduction, by loss of biomass, affect not only the primary productivity or carbon sequestration capacity (Harley et al., 2012; Kleypas et al., 1999; Krause-Jensen and Duarte, 2016), but also affect all the above trophic levels (Ferrari et al., 2016). Therefore, due to the ecological balance disruption, the ecosystem's functions and services can be compromised and even lost (Beaumont et al., 2007; MEA, 2005). Species which can increase the three-dimensional complexity of the benthic compartment and the niche availability can be listed as ecosystem founders, and they act as a refuge or substrate for marine species, providing a sanctuary for reproduction and feeding of associated species (Ferrari et al., 2016). For tropical and temperate oceanic areas, the genera *Sargassum* and *Hypnea*, are considered benthic key-groups as founders and by their role in increasing the three-dimensional rock shore complexity. In the Brazilian marine environments, *Sargassum* forms extensive beds in coastal rocky-shores,

playing important roles for recruitment of epiphytic algae and appealing refuge for feeding or reproduction for fauna (Almada et al., 2008). Further, *Hypnea* spp. is a resource for exploitation of colloidal compounds in South Atlantic (Marinho-Soriano, 2017), and its ecological interaction with *Sargassum* spp. improves ecosystem services (Faccini and Berchez, 2000). Throughout the epiphytic relationship, both species obtain resources and maintain reciprocal protection against herbivory and photodamages (Faccini and Berchez, 2000). Besides the importance of both genera, little is known about their metabolic response considering the direct and indirect effects of ore contamination, especially regarding the interactive effect of acidification and metal element's toxicity, as well as the importance of biological association for their resilience. The epiphytes of seaweeds, i.e. bacteria, microalgae and other macroalga species, are recognized for protecting its algal host against environmental stressors and mitigating their effects (such as herbivory, photodamages, and toxicants) (Hurd et al., 2014; Potin, 2012; Wahl et al., 2012). Therefore, investigating the importance of the biological association between these groups is relevant for the comprehension of metabolic resilience in stressful conditions and the role that species interactions play in the physiological ability of defenses against ore pollution in marine environments.

The main objective of the present study was determining the direct and indirect effects of waste mud, simulating local pH alterations and its relationship with mud's heavy metals toxicity impacts over key macroalgae species. By applying biochemical markers, we intend to improve the knowledge of physiological acclimation mechanisms developed by seaweeds under a scenery of multiple stressful disturbance conditions due to complex contaminant exposition. This level of comprehension is relevant in a scenario of environmental changes caused by human actions in different scales and the possible interactive effects that those stressors can have in the physiology of keystone species of benthic marine algae, essential primary producers.

4.2. MATERIALS AND METHODS

4.2.1. Mud and algae sampling procedures

Mariana's mining disaster was an environmental accident in Brazil on November 2015, when mining wastes from an iron ore exploitation flooded an area located in Southeast Brazil (Segura et al., 2016). A massive wave of waste mud disrupted a contention barrier of a tailings dam at Mariana, Minas Gerais' countryside, and was transported about 600 km by the

Doce river until deposition on coastal zone of Espírito Santo, Linhares city (Marta-Almeida et al., 2016; Segura et al., 2016). The deposition of “a plume of wastes” in the coastal zone extended for kilometers in marine waters, representing potential risks to important conservation areas, such as the National Marine Park of Abrolhos and Marine Protected Area of Algae Coast (Bianchini, 2016; Garcia et al., 2017). Despite the accident being considered the major environmental disaster of the world mining history (Carmo et al., 2017), almost four years after the disaster, the consequences to the marine flora are still underestimated.

Samples of mining tailing were collected at the estuarine zone of Linhares city, Espírito Santo state (19°38'46.9" S, 39°49'22.6" W), approximately 30 days after Mariana's mining disaster. Mud was scrapped from the first centimeters of soil coverage in sand banks on river margins. Samples were stored in dark polyethylene vessels and transported to the Phycology Laboratory (LAFIC, CCB – UFSC), where they were preserved in the dark and at room temperature (25 – 28 °C) until further use in experiments. The mud's chemical characterization was described by Costa et al. (in prep.), and based in Nadella et al. (2009) chemical procedures. Samples of mud suspension were digested in an acid solution (9 mL HNO₃:3 mL HCl:3 mL HF) in plastic tubes and in a closed system (oven with forced air circulation) at 60 °C, for 24 h. After complete digestion, samples were evaporated to 1 mL and diluted (10×) with high purity deionized water (resistivity of 18.2 MΩ.cm⁻¹). Metals' analyses were carried in a High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer (HR-CS GF AAS, model Control-A 700 Analytik Jena, Germany), equipped with AGS-GF and a transversely heated graphite tube atomizer. Standard curves were built by serial dilution of stock solutions (Multi-Element Standards Certipur®, Merck, Darmstadt, Germany). All analyses were carried at the Biological Science Institute, Federal University of Rio Grande (ICB, FURG, Brazil). The presence and quantification of the following metals were detected (results in parts per million (ppm)): Al (19,830.77), Cd (0.01), Cu (5.79), Fe (5,067.34), Mn (2,607.32), Pb (1.34), and Zn (1.86).

Algal sampling occurred on August 2017, during the winter season. The species *Sargassum cymosum* (C. Hagar 1820) and *Hypnea pseudomusciformis* (Nauer, Cassano, Oliveira, 2015) were collected at Barra da Lagoa Beach, Florianópolis – SC (27°34'27.21" S, 48°25'15.84" W). Samples were obtained from the rocky shore in the intertidal zone, at low tide from rocky shores, conditioned in dark plastic bags and transported in a thermal box to Phycology Laboratory (LAFIC, CCB – UFSC). Afterwards, samples were carefully washed in sterilized seawater to remove epiphytes and invertebrates. Apical portions were selected and disposed in glass aquariums (2 L) with sterilized natural seawater (UV-VIS Lamp) for

acclimation during 7 days under controlled conditions: 22 ± 1 °C, 12:12 h photoperiod (starting at 6 a.m.), continuous aeration, $80 \mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Sylvania® fluorescent lamps, 20 W), and enriched with Von Stosch medium at half concentration (VS/2) without ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) chelating salt (adapted from Edwards, 1972).

4.2.2. Experimental design

As previously observed during pilot tests of mud solubility and also registered by Queiroz et al. (2018), the mud from the mining spill induced a change in pH levels in sediments and in seawater. A decrease of approximately one pH unity was registered under the high concentration of mud, from the waste plume discharged in the coastal zone after the disaster. For this scenario, the experimental design included four seawater media conditions (treatments) to simulate the isolated effect of coastal micro-acidification process. Controls were maintained in sterilized natural seawater medium without mud addition, and no changes to the seawater's pH were made. Treatments with Mariana's highest mud concentration (HM) received a dilution of mud at the proportion of 100 g of mud: 1 L of seawater. The values of turbidity in the solution were comparable to levels found in the plume after the spill in the Brazilian southeast coastal zone, on November 2015. Based on the pH values registered for the mud solution (mud dilution tests), Acidified media (AC) consisted of sterilized natural seawater artificially acidified with HCl 2% (v/v) at the same value of solutions under HM. HCl was diluted in saline solution of NaCl 0.6 M as recommended for Hurd et al. (2009). Lastly, the fourth treatment was an intermediate condition of Mariana's mud (IM), with approximately half of the turbidity of the highest level, with a pH value similar to the Control treatment (Table 1).

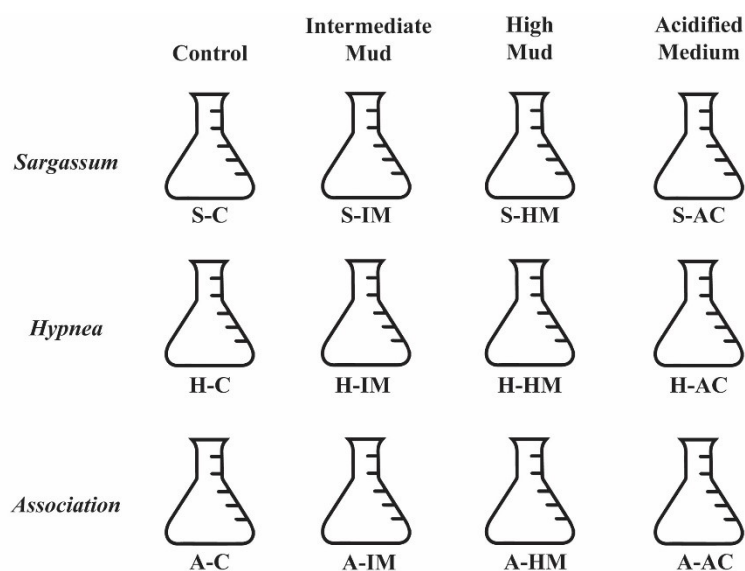
Table 1: Abiotic parameters of media applied in treatments of *Sargassum* and *Hypnea*. Treatments legend: **C**: Control, **IM**: Intermediate Mud, **HM**: High Mud, and **AC**: Acidified Medium. Symbol (*) indicate values not detectable. Turbidity is a mean (n=5) \pm SD, and salinity and pH are mean (n=3) \pm SD.

Treatment	Turbidity	Salinity	pH
C	*	33.67 ± 0.58	7.97 ± 0.11
IM	641.23 ± 20.74	34.33 ± 0.58	7.62 ± 0.04
HM	$1,227.77 \pm 40.55$	35.33 ± 0.58	6.79 ± 0.03
AM	*	35.00 ± 1.00	6.87 ± 0.06

Seaweeds were exposed in three different algae associations (i.e. biological conditions): both species individually (~ 1.0 g each, hereafter named simply as *Sargassum* and

Hypnea in the text), and *Sargassum-Hypnea* natural interaction (~0.5 g of each species, treated as Association in the text, or *Sargassum* from Association and *Hypnea* from Association for specific results of each species under biological association). All treatments and the Control had 5 replicas, which resulted in 20 samples for each algae species/biological condition (described above and represented in Figure 1). Algae were conditioned in individual 250 mL Erlenmeyer flasks, previously sterilized with nitric acid (10%, v/v) solution. Seawater media were added on the first day of experiment, and no water renovation was made until the end of the experimental time (t = 7 days). Flasks were individually monitored to ensure that there were no physical or chemical alterations along the experiment. The specified media was added to correct the total flask volume when necessary. Seawater and/or distillate water were added to adjust salinity, and hydrochloric acid was added to correct pH only in the AC treatment. Von Stoch medium (without EDTA chelating salt) was added every two days at half concentration in every flask (1 mL, using micropipette, Eppendorf®). Experiment was conducted in the same laboratory conditions as the acclimation period.

Figure 1. Representation of abbreviations applied to treatments (medium characteristics) and biological conditions (isolated or associative algae exposure). Treatments abbreviations: C: Control; IM: Intermediate mud; HM: high mud; AC: Acidified medium. Biological conditions abbreviations: S: *Sargassum*; H: *Hypnea*; A: Association (*Sargassum* and *Hypnea* cultivated associatively). For the individual analyses of *Sargassum* and/or *Hypnea* from associative condition, the results in the text are described with the name of species written in full followed by the observation “from association”.



Turbidity, salinity, and pH of the seawater media were measured at the beginning of the experiment and are described in Table 1. The sterilized seawater used in Control was the same seawater used to prepare the mud's dilution and the AC. This seawater was then used for the other treatments after modifications of turbidity and pH according to each treatment

characteristics. Salinity was measured with a portable refractometer, and results are expressed as mean ($n=3$) \pm SD. The pH values were measured using a pHmeter (Ion pH 500, IonLab, Brazil) coupled with rechargeable electrode (K38-1460, Kasvi, Brazil), and results are expressed as mean ($n=3$) \pm SD. Turbidity was measured in a portable turbidimeter with 0 a 1000 NTU range (AFK-5522, 0.01 NTU resolution). When turbidity extrapolated the resolution of the equipment, a serial dilution was carried, and final measurements were obtained through a dilution factor. Turbidity values are expressed as mean ($n=5$) \pm SD.

4.2.3. Growth rates

Daily growth rates (GRs) were calculated according to the equation originally proposed by Lignell and Pedersén (1989). The following calculation was performed: GR [$\% \cdot \text{day}^{-1}$] = $[(W_t/W_i)^{1/t} - 1] \times 100$, where W_i = initial fresh weight (g), W_t = final fresh weight (g), and t = experimental time (where $t = 7$ days) ($n = 5$ replicas per treatment and per algae species/biological conditions).

4.2.4. Chlorophyll a and phenolic compounds

Fresh samples were immediately frozen at end of experiment with liquid nitrogen and stored at -80 °C until analyses. For chlorophyll a quantification, extracts were prepared from 0.5 g of algae in 7 mL of acetone P.A. Extractions were carried out for 1h in darkness, to avoid photooxidation, and at room temperature (~ 20 °C). The extracts were centrifuged (5 minutes, 4000 rpm) and the absorbances of the recovered supernatants (250 μL) were measured at 630, 640 and 664 nm in a microplate reader (SpectraMax 190 Microplate Reader, Molecular Devices). Four replicas per treatment and per algae species/biological conditions were used. Chlorophyll a quantification followed the equations proposed by Jeffrey and Humphrey (1975).

Phenolic compounds were extracted from 0.5 g of fresh algae in 10 mL of 80% aqueous methanol solution (v/v), also at room temperature (~ 20 °C) and protected from light for 1 h. Then, extracts were centrifuged (10 min, 4000 rpm) and the supernatant was recovered. Aliquots (300 μL) of crude extract were added to 0.225 mL of Folin-Ciocalteu reagent and 2.5 mL of sodium carbonate 20% (w/v), following incubation for 1 h, protected from light at room temperature. Absorbance was spectrophotometrically measured at 750 nm (Shimadzu – UV 1800) ($n=4$ replicas per treatment and per algae species/biological conditions were analyzed).

Phenolic quantification was based on phloroglucinol standard curve ($y = 0.0086x - 0.0036$, $R^2 = 0.9969$), adapting the methods described for Huang et al. (2005) and Randhir et al. (2002).

4.2.5. Total proteins and enzymatic assays

Immediately after the end of the experiment, samples were prepared for the enzymatic assays of CAT, SOD, GPX, and quantification of total proteins contents. The selected enzymes act in ROS detoxification, which allowed us to infer the physiological stress caused by each respective treatment (Viehweger, 2014). Algae samples (200 mg) were carefully washed in a solution of ammonium formate (32.53 g.L^{-1} , w/v) followed by a distilled water bath to remove seawater salts and another impureness. After, biomass was macerated in liquid nitrogen, grounded with Ultra-Turrax and suspended in 1 mL phosphate extraction buffer (50 mM, pH 7.0, $4.0 \text{ }^\circ\text{C}$), adapted from Aguilera et al. (2002) and Barros et al. (2006), containing polyvinylpyrrolidone (PVP-40, 10%, v/v), Triton X-100 (0.25%, v/v), dithiothreitol (DTT, 0.1 mM), and phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF, 1.0 mM). All reagents used are from Sigma-Aldrich® (Germany), and diluted in Milli-Q water. The homogenate was centrifuged for 10 min (4000 rpm, $4.0 \text{ }^\circ\text{C}$), and stored at $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ until assays.

For protein quantification, a protocol to recover those macromolecules was carried out previously to the Bradford method, considering that some components of the extraction solution (i.e. PMSF) are also reactive with Coomassie Brilliant blue g-250 Bradford reagent. Therefore, this step was necessary to avoid overestimation measurements of total proteins content. Aliquots of 200 μL were added to 1 mL of ethylic alcohol P.A. ($0 \text{ }^\circ\text{C}$) and stored for 20 min at $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Afterwards, the solution was centrifugated (4000 rpm, $0.0 \text{ }^\circ\text{C}$, 20 min) for pellet formation. The supernatant was delicately removed, and a suspension of precipitated proteins was proceeded with 2 mL NaCl solution (3%, w/v). The present protocol was adapted from Cangahuala-Inocente et al. (2009), and proteins determination followed the Bradford method, with absorbance measurements in a microplate (300 μL) at 595 nm (SpectraMax 190 Microplate Reader, Molecular Devices) ($n=4$ replications per treatment and per algae species/biological condition). Protein quantification based on a standard curve ($y = 0.0005x + 0.0314$, $r^2=0.9956$).

Catalase assay was based on kinetic hydrogen peroxide (100 mM) decay at 240 nm for 0-10 minutes, measured each 30 seconds (based on Aebi, 1984). Guaiacol peroxidase (GPX) assay procedures were adapted from Hammerschmidt et al. (1982), and GPX activity was determined by hydrogen peroxide (H_2O_2 , 100 mM) decay for 4 minutes in intervals of 4 seconds

at 470 nm. Superoxide dismutase (SOD) assay was adapted from Choo et al. (2004) and Aguilera et al. (2002), where SOD activity is measured for the inhibition of Nitroblue Tetrazolium (NBT) photoreduction. SOD analyzed samples were incubated for 5 minutes under light exposure to NBT photoreduction, and the inhibition taxa of samples was measured considering the variation of NBT photoreduction in the darkness and in the light, and then the inhibition was measured at 560 nm. All the enzymes were evaluated with three replications per treatment and per algae species/biological conditions.

4.2.6. Statistical analysis

For statistical inferences, analyses were carried out in R (Team, 2016), using the packages *dplyr*, *dunn.test*, *FSA*, and *vegan*. Data were tested for normality by the Shapiro-Wilk test, and absence of this condition was verified even with data transformation. For this reason, Kruskal-Wallis analysis and post hoc Dunn's test were performed for determination of differences among treatments (experimental media) and biological conditions (algae isolated or in association) (significant values $p \leq 0.05$). The adjusts of p-value on Dunn's test were realized by "Bonferroni" method. Graphical data were obtained with *ggplot2* package (Wickham, 2019).

Additionally, a permutation analysis of variance (PERMANOVA) was carried to test the null hypothesis that biological conditions did not differ according to the treatments. Bray-Curtis similarity index was calculated with log transformed physiological variables (GR, chlorophyll a and primary and secondary metabolites). The permutational MANOVA with 999 unrestricted permutations of roll data, considering the Monte Carlo (MC) test, was performed. Canonical Redundancy Analyse (RDA) was carried considering treatments as descriptive matrix (y) and metabolic data as response matrix (x). PERMANOVA and RDA analyses were performed on PRIMER® version 6+ software.

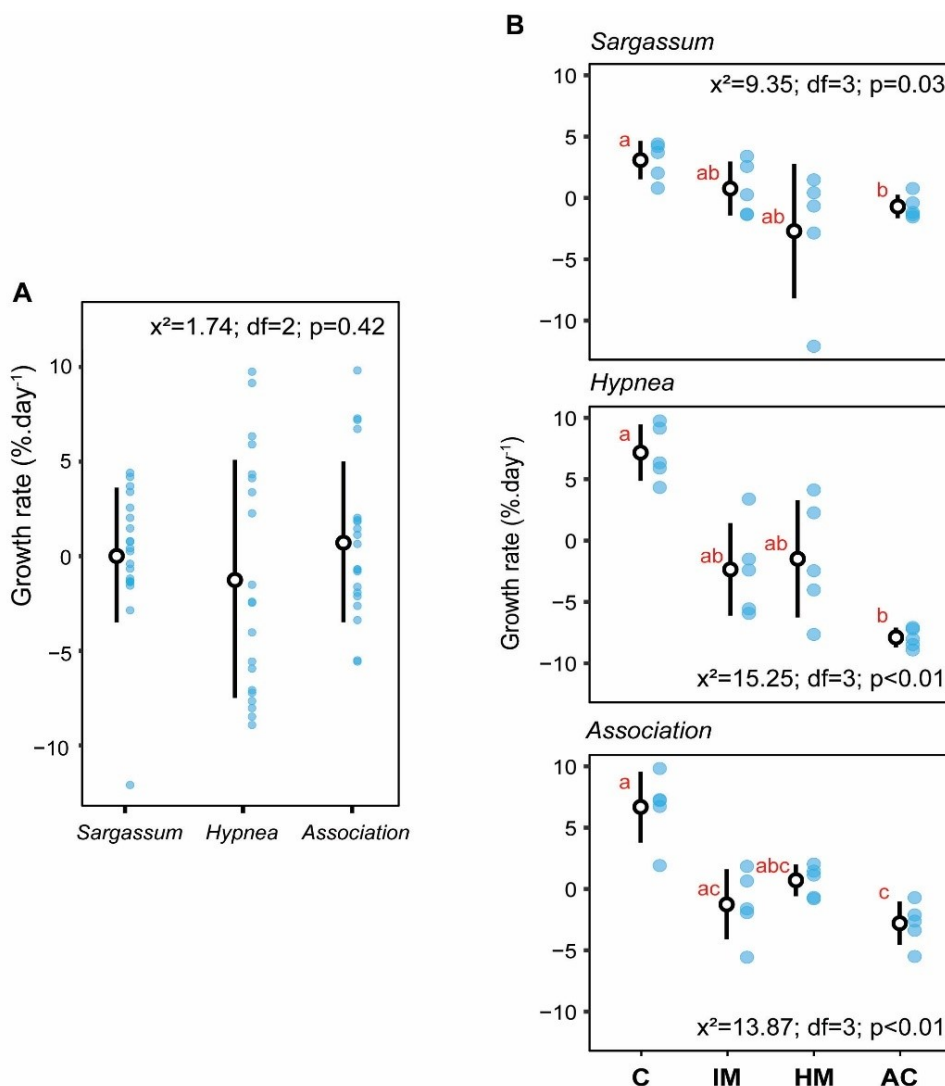
4.3. RESULTS

4.3.1. Growth rates

Growth rates presented no significant differences among biological conditions ($\chi^2 = 1.74$, p-value = 0.42) (Figure 2 A), only between treatments (Figure 2 B). Controls for all biological conditions had the highest means among all treatments (3.03 ± 1.56 , 7.10 ± 2.29 and 6.59 ± 2.88 , for S-C, H-C and A-C, respectively). The more expressive decrease of GR was

observed in *Hypnea* both isolated (-7.94 ± 0.79 %·day⁻¹) and in association (-2.86 ± 1.77 %·day⁻¹) under acidification in AC treatment (Figure 2 B, Supplementary Table 1).

Figure 2. Scatterplot of growth rates. A. Differences between seaweeds. B. Differences between treatments of each biological condition. Black and white circles and black bars represent mean and standard errors, respectively. Blue dots represent the mean of the replicates of each analysis (n=5 for each treatment resulting in n=20 algal samples). Lowercase letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn's test (p<0.05). Axis abbreviations: C: Control; HM: high mud; IM: intermediate mud, AC: acidified medium.



4.3.2. Metabolites and enzymatic essays

Chlorophyll a presented significant difference among biological conditions and among treatments (Figure 3 A and B). *Sargassum* samples in all treatments or biological conditions presented the highest amounts of this pigment (Figure 3 B, Supplementary Table 2). *Hypnea* samples cultivated without interaction with *Sargassum* did not show a clear pattern of variation

in chlorophyll contents among treatments. However, when both seaweeds were cultivated in association, *Hypnea* had the highest reduction in chlorophyll concentrations in the AC treatment (Figure 3 B, Supplementary Table 2).

For phenolic compounds, significant differences were also observed among seaweeds and among treatments (Figure 3 C and D). *Sargassum* showed a similar trend to chlorophyll a, with highest concentrations between all treatments (Supplementary Table 2). However, a significant reduction of more than twice in concentration was observed between C and AC for the species in the isolated condition (Figure 3 D). *Hypnea* presented a reduction of those secondary metabolites in the presence of mud. Moreover, the main reduction in phenolic compounds for *Hypnea* both isolated and in association was in the AC treatment.

Total proteins showed no significant differences among biological conditions ($\chi^2 = 5.39$, p-value = 0.15) and between treatments for *Sargassum* ($\chi^2 = 5.82$, p-value = 0.12) (Figure 3 E and F). Samples of *Hypnea* (isolated and in association), under IM and HM treatments, and *Sargassum* in association and IM resulted in significant differences from their respective Controls (Figure 3 F).

Enzymatic assays showed different response patterns between seaweeds and for each evaluated enzyme. Catalase (CAT) activity did not differ among seaweed species and among treatments for *Sargassum* and *Hypnea* individually and *Hypnea* in associative condition (Figure 4 A and B). The highest CAT activity was found in the C treatment of *Sargassum* among all treatments (Supplementary Table 3). In contrast, for *Sargassum* in associative condition, significant differences were observed between AC and C treatments (Figure 4 B). Interestingly, no activity was recorded for GPX in any sample, regardless of the seaweed species and treatments. In turn, SOD activity did not differ between seaweed species, contrarily to the observed among treatments for all biological conditions (Figure 4 C and D). All treatments with mud's addition presented reductions in the SOD activity when compared to C treatment. Moreover, all AC treatments suffered from inhibition in SOD activity (Figure 4 D, Supplementary Table 3).

Considering the evaluation of the general metabolic behaviour, PERMANOVA evidenced the importance of biological interactions to the susceptibility of both taxa to the respective treatments in the study (Table 2). Separately, *Hypnea* showed no significant differences among treatments, differing from the behaviour of isolated *Sargassum* under AC treatment, where there was a prominent ($p < 0.05$) reduction in the amounts of phenolics and SOD activity (Table 3, Figure 5). Both algae species, in the associative AC treatment, presented a similar metabolic pattern, synthesizing less chlorophyll a and evidencing lower CAT activity

than Controls (Table 3, Figure 5). In turn, *Sargassum* in association with *Hypnea* revealed a significant difference among C and IM treatments, regarding the reduction of CAT activity and the increase of total proteins (Table 3, Figure 5).

Figure 3. Scatterplot of metabolites. A. Differences between chlorophyll a of seaweeds. B. Differences between chlorophyll a of treatments in each biological condition. C. Differences between phenolic compounds of seaweeds. D. Differences between phenolic compounds of treatments in each biological condition. E. Differences between total proteins of seaweeds. F. Differences between total proteins of treatments in each biological condition. Black and white circles and black bars represent mean and standard errors, respectively. Red dots represent the replicates of each analysis (n=4 for each treatment resulting in n=16 algal samples by including the 3 biological conditions and individual analyzes for each species in association). Lowercase letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn's test (p<0.05). Axis abbreviations: C: Control; HM: high mud; IM: intermediate mud; AC: acidified medium. Biological conditions abbreviations: S: *Sargassum*; H: *Hypnea*; S(A): results for *Sargassum* cultivated in association with *Hypnea* H(A): results for *Hypnea* cultivated in association with *Sargassum*.

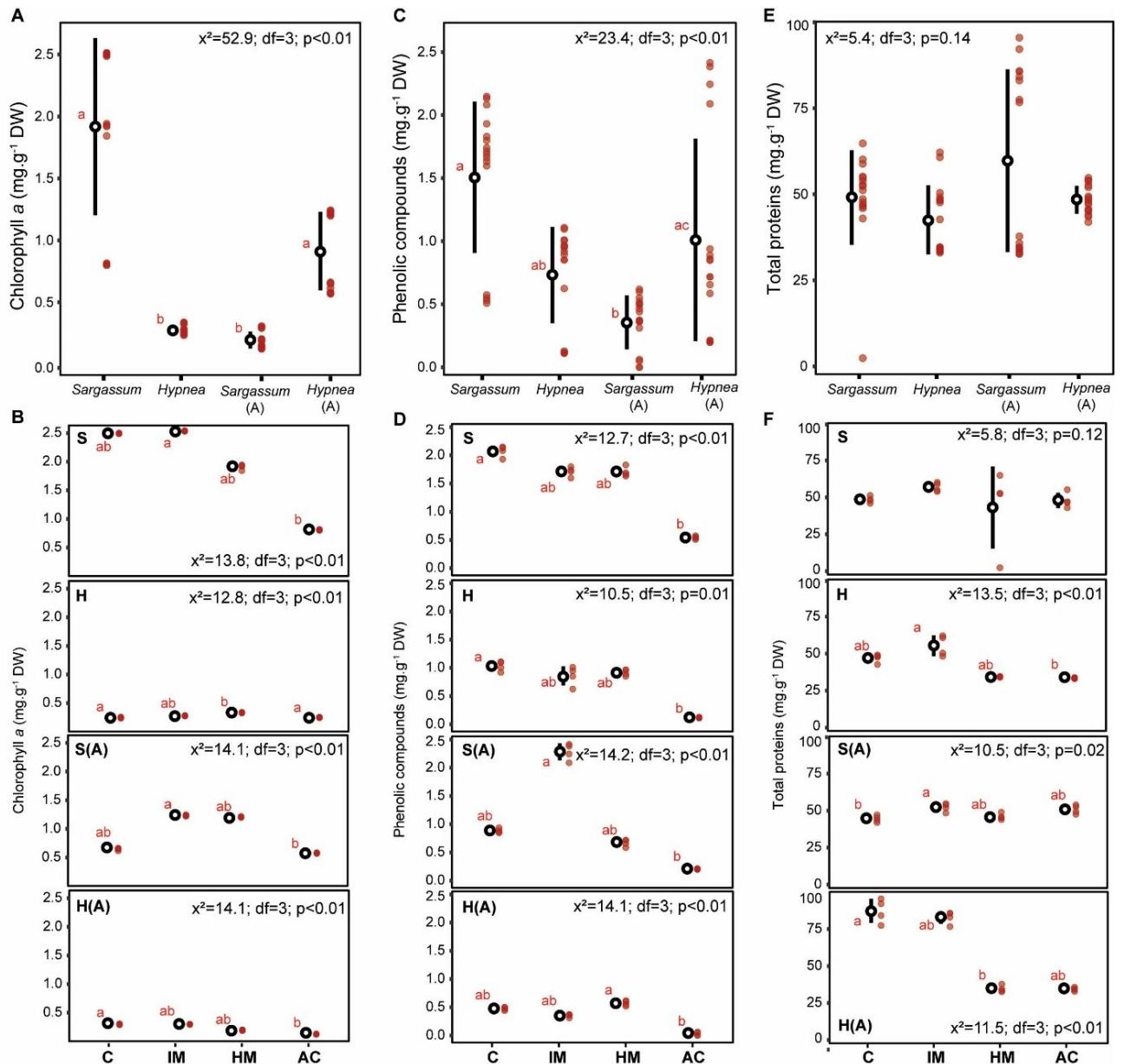


Figure 4. Scatterplot of enzymes. A. Differences between catalase activity of seaweeds. B. Differences between catalase activity of treatments in each biological condition. C. Differences between superoxide dismutase of seaweeds. D. Differences between superoxide dismutase of treatments in each biological condition. Black and white circles and black bars represent mean and standard errors, respectively. Green dots represent the replicates of each analysis (n=3 for each treatment resulting in n=12 algal samples by including the 3 biological conditions and individual analyzes for each species in association). Lowercase letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis and post-hoc Dunn's test (p<0.05). Axis abbreviations: C: Control; HM: high mud; IM: intermediate mud; AC: acidified medium. Biological conditions abbreviations: S: *Sargassum*; H: *Hypnea*; S(A): results for *Sargassum* cultivated in association with *Hypnea* H(A): results for *Hypnea* cultivated in association with *Sargassum*.

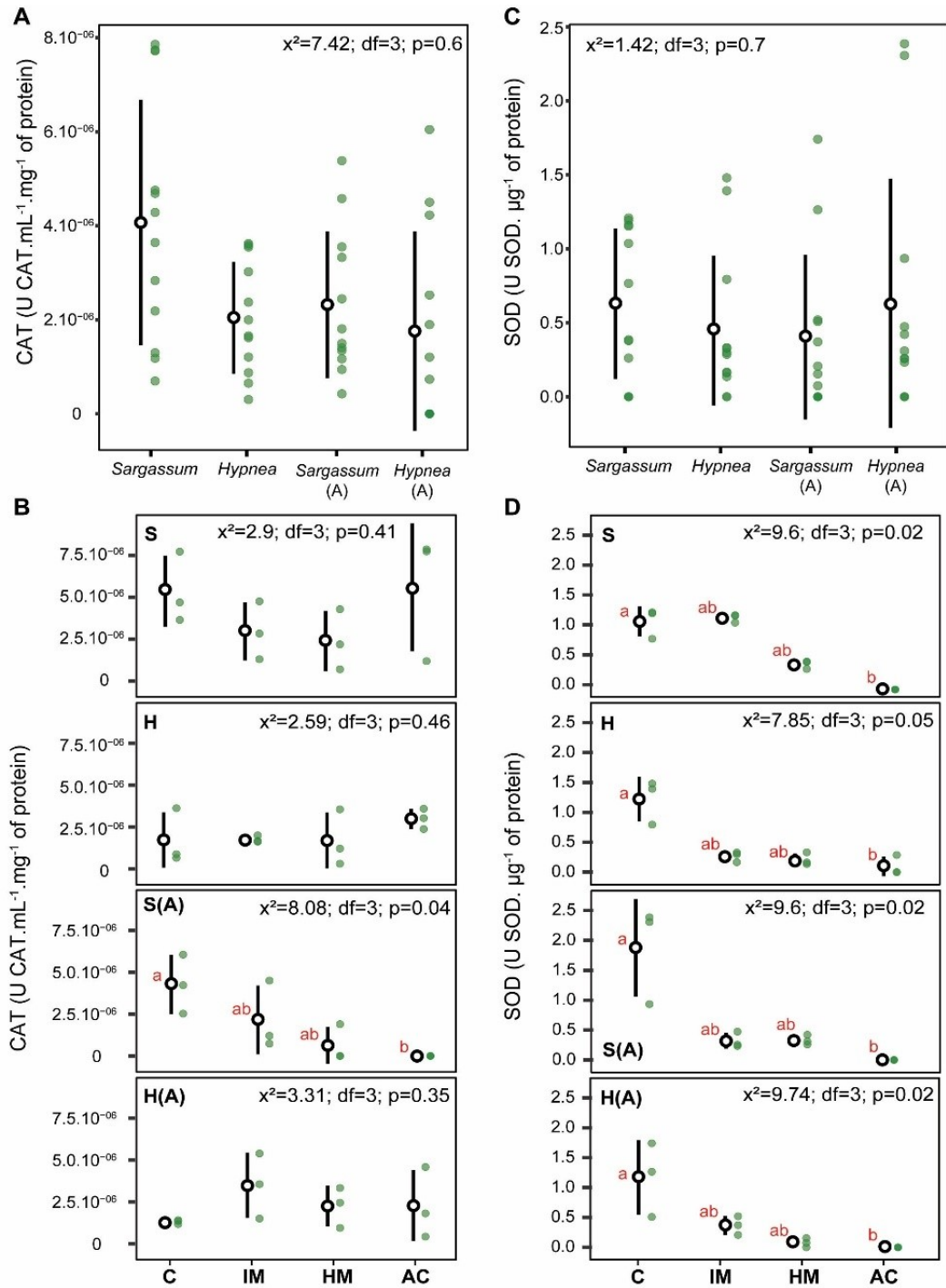


Table 2: PERMANOVA results between the evaluated factors, treatments (C, IM, HM and AC) and biological conditions (*Sargassum* and *Hypnea* individually or association). In bold, the significant interaction of factors according to Monte Carlo (MC) index.

Source of variation	df	SS	MS	Pseudo-F	<i>P</i> (perm)	<i>P</i> (MC)
Mud	3	7,872.1	2,624.0	59,112	0.001	0.001
Species	3	1,524.3	508.1	11,446	0.001	0.001
Mud x Species	9	977.4	108.6	2,4466	0.021	0.014
Residuals	32	1,420.5	44.4			
Total	47	11,794.0				

Figure 5. Redundancy Analyses (RDA) of physiological descriptors of *Sargassum* and *Hypnea*, according to evaluated treatments and biological conditions. Axis RDA1 and RDA2 showed 38% and 9.5% of variability distribution respectively. Treatments legend: S-C: *Sargassum* in Control, H-C: *Hypnea* in Control, *Sargassum* from A-C: *Sargassum* from associative condition in Control, *Hypnea* from A-C: *Hypnea* from associative condition in Control, S-IM: *Sargassum* in intermediate mud, H-IM: *Hypnea* in intermediate mud, *Sargassum* from A-IM: *Sargassum* from associative condition in intermediate mud, *Hypnea* from A-IM: *Hypnea* from associative condition in intermediate mud, S-HM: *Sargassum* in high mud, H-HM: *Hypnea* in high mud, *Sargassum* from A-HM: *Sargassum* from associative condition in high mud, *Hypnea* from A-HM: *Hypnea* from associative condition in high mud, S-AC: *Sargassum* in acidified medium, H-AC: *Hypnea* in acidified medium, *Sargassum* from A-AC: *Sargassum* from associative condition in acidified medium, *Hypnea* from A-AC: *Hypnea* from associative condition in acidified medium.

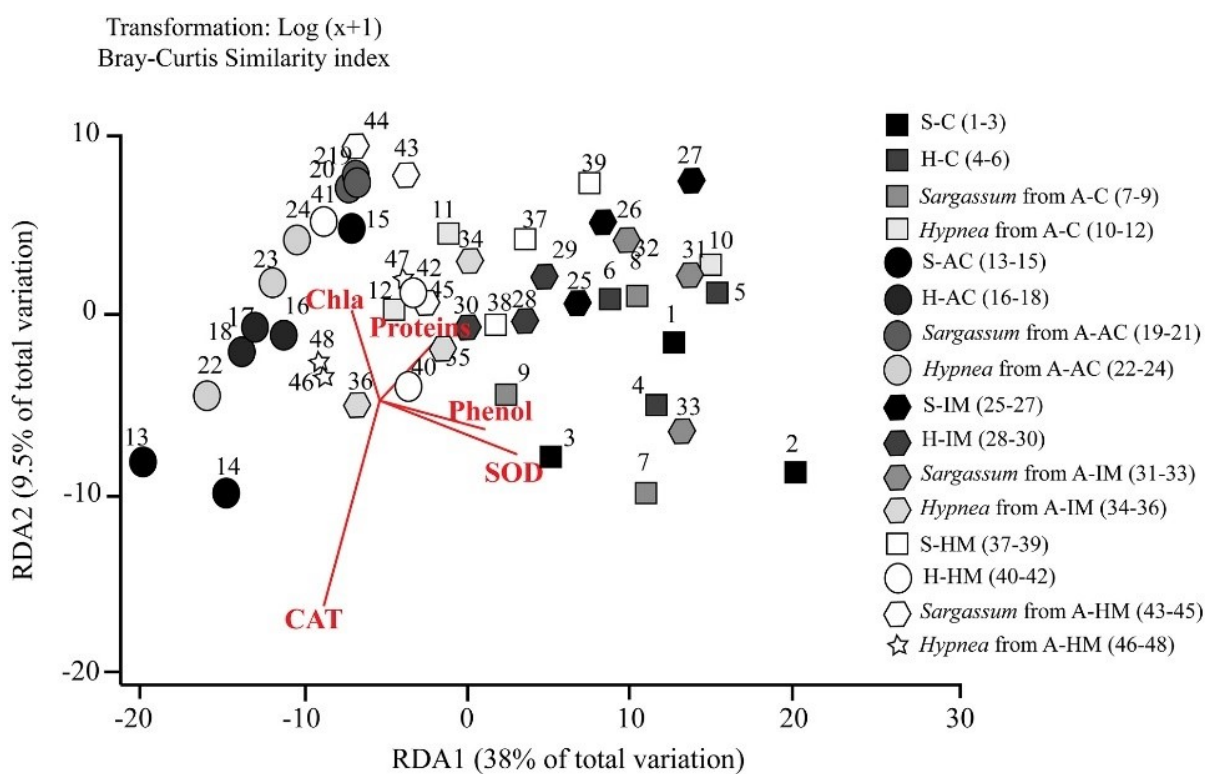


Table 3: MANOVA results for similarity among treatments according to each biological condition evaluated (*Sargassum* and *Hypnea* individually or in association). Treatments legend: C: Control; IM: Intermediate Mud; HM: High Mud; AC: Acidified Medium. Symbol (*) indicates the significant difference among groups: * p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, according to Monte Carlo (MC) index.

<i>Sargassum</i>				
Treatment	C	IM	HM	AC
C	96.49			
IM	97.48	99.05		
HM	96.27	97.84	98.47	
AC	71.42***	72.32***	73.17***	95.66

<i>Hypnea</i>				
Treatment	C	IM	HM	AC
C	98.41			
IM	97.04	97.65		
HM	94.98	96.11	94.78	
AC	79.10	79.86	81.18	83.61

<i>Sargassum</i> from association (A)				
Treatment	C	IM	HM	AC
C	96.02			
IM	94.34**	98.35		
HM	88.86	90.91	89.32	
AC	79.80***	62.21***	64.95***	99.74

<i>Hypnea</i> from association (A)				
Treatment	C	IM	HM	AC
C	96.62			
IM	95.81	97.05		
HM	86.68	86.60	77.96	
AC	61.86***	62.46***	68.01*	88.31

4.4. DISCUSSION

The results of this study evidenced the physiological stress induced by mining rejects in two important algae species of the benthic community, *S. cymosum* and *H. pseudomusciformis*. We were able to determine that the physiological stress observed in the algae was caused by the presence of metals, and that the indirect effect of seawater acidification can be even more harmful than the presence of metals. By also investigating the effects of the biological interaction between the two species, we observed a higher susceptibility of *Sargassum*, a canopy-forming species, to mud exposure. These results reinforce the need of regulative agencies to consider all the negative consequences of mining spills pollution in the marine environment, especially the disruption of biological interactions and its main consequence, the loss of environmental complexity.

The impact caused by mining tailings, as presently observed, has high ecological relevance. Mariana's mud induced a reduction of approximately one unity of pH, giving acidic

characteristics to the seawater media. The effects of Mariana's mud in the water pH buffer system were previously discussed by Queiroz et al. (2018). Other authors discussed the influence of abiotic factors, such as pH and salinity, in the heavy metal desorption from sediments, improving the ionic availability and toxicity of many elements (Ansari et al., 2004; Nikinmaa, 2013; Riba et al., 2003). Through time, the mud can be resuspended and carried by the marine environment, due to seasonal or occasional events such as rainfalls or alterations in the river flow (Hatje et al., 2017; Queiroz et al., 2018). Consequently, the mud's toxic elements will become available in the water column once again, as acidic waters facilitate the desorption process of metals and differentiation of heavy metals' chemical forms (Riba et al., 2003; Zeng et al., 2015). All the alterations in ionic charges or even in the speciation of metals might affect the biological capacity of assimilation, detoxification or biotransformation of these elements by seaweeds (Nikinmaa, 2013).

In addition, acidified waters alter the nutrient dynamics and, as trace metals can form complexes with phosphates, nitrates or chlorides radicals, they can also reduce the availability of nutrients to photosynthetic organisms (Connan and Stengel, 2011; Nagajyoti et al., 2010; Nikinmaa, 2013). Moreover, the acidic pH is responsible for disrupting the osmotic balance of cells, thus altering the transmembrane permeability of both toxic and nutrient elements (Dalcorso et al., 2014; Harley et al., 2006; Riba et al., 2003). With this, seaweeds can be impacted by the elevated absorption and accumulation of ionic toxic forms of metals elements at the cytoplasmatic level, also suffering with nutrient limitation. On the other hand, even elements with nutritional role, as Fe and Mn, can be toxic in high concentrations (Foy et al., 1978; Nagajyoti et al., 2010), endangering certain physiological process or biosynthetic pathways of metabolites.

Sargassum and *Hypnea* showed physiological, biochemical and growth alterations even in a short-time exposure to mud. While significant statistical differences were obtained between the AC and all treatments, Control samples showed the highest increase in biomass of all the treatments. Relative to chlorophyll contents, the concentrations of those pigments in the Control samples were coherent with the increases observed in thallus biomasses, indicating the maintenance of metabolism, and the direct link between photosynthesis and growth. Conversely, we observed reductions in growth rates and chlorophyll contents of seaweeds in treatments under mud exposure or acidification. Considering these data, it is possible to argue that the lower amounts of chlorophyll occurred for two main reasons: i. the disruption of the chlorophyll molecule due to the presence of metallic elements and/or generated ROS, or ii. deviation of metabolic routes from chlorophyll-synthesis to antioxidant defenses. For the first

case, although chloroplasts contain complex membranous structures and are composed of rich fatty acid to avoid photooxidation, in the presence of heavy metals or environmental oxidative conditions, the photosynthetic process is negatively affected (Foyer, 1996; Okamoto et al., 2001). This is due to the damages caused in the chloroplast organelle and due to the oxidation of the chlorophyll molecule, generating ROS intracellularly and increasing oxidative stress (Okamoto et al., 2001). Considering the second case, the ability of algae to tolerate the stress caused by heavy metals is characterized by an improvement in the biosynthesis of compounds related to organelles' defense, such as enzymes and other metabolites with antioxidant activity (Okamoto et al., 2001). Therefore, the reduction of growth rates and chlorophyll contents, resulting from the mud and acidic treatments, is an indicative of metabolic injury in the analysed samples. Moreover, under heavy metals stress, certain metabolic pathways are activated, such as the biosynthesis of phenolic compounds and ROS-related enzymes, both recognized for their role as defensive mechanisms against oxidative stress and protection of the photosynthetic pathway (Hall, 2002; Okamoto et al., 2001; Torres et al., 2008).

Phenolic compounds are secondary metabolites, and this designation englobes monomeric to polymeric compounds, with a range of molecular sizes, which share as the main structural characteristic a conformation with an aromatic ring bearing one or more hydroxyl substituents (Balboa et al., 2013; Harborne, 1984). These compounds (including phenols, flavonoids, tannins, and phlorotannins, the latter exclusive to brown algae) are mostly associated with stressors signalization agents, defense against oxidative stress and molecular detoxification of pollutants such as heavy metals (Balboa et al., 2013; Michalak, 2006). The molecular conformation of phenols' aromatic rings, with the presence of carboxylic or hydroxylic groups in their structure, allows the cationic bounding, chelating and immobilizing hazardous substances or ROS (Michalak, 2006). The results herein described reveal a reduction in the phenolic contents in almost all treatments when compared with their respective Controls, except for *Sargassum* in associative condition and IM treatment. Specially for ACs treatments, the lowest concentrations of phenolic compounds were registered for both algae species and biological conditions. This finding leads us to indicate the relation between phenolic compounds and metabolic defensive strategies of both algae to avoid damages caused by high heavy metals concentrations in the mud, as well as the physicochemical stress from the acidification and osmotic balance disruption. Brown seaweeds, as the species *S. cymosum*, are recognized for producing high concentrations of highly efficient phenolic compounds in avoiding cellular damages caused by pollutants (Sathya et al., 2017; Wang et al., 2009). The reduction in the contents of phenolic compounds observed in treatments exposed to mud could

be related to the sequestration of cationic elements present in culture medium with toxic effects. The elevated doses of Cu, Fe and Mn found in the sampled mud have the potential to cause toxic effects in the metabolism, especially taking into account that those elements play metabolic functions, as enzymatic cofactors and acting in the photosynthetic electron transport chain (Nagajyoti et al., 2010). On the other hand, the presence of Cd and Pb, elements with no recognized role in algal metabolic functions, can even in small amounts induce defensive mechanisms against their toxicity (Foy et al., 1978; Nagajyoti et al., 2010; Rai et al., 1981).

The damages experienced by the presence of heavy metals or acidic conditions can also be observed in the results of total proteins contents and enzymatic activity. Under the AC and HM treatments both algae species presented a similar trend of reduction in the amounts of those macromolecules and a decrease of both evaluated enzymes comparatively to Controls. Specially for the SOD activity, samples treated with higher doses of mud showed a reduction over 50%, and no activity was detected in the AC treatment for both species, isolated and in association. CAT is an enzyme involved in cellular detoxification of hydrogen peroxides, generated specially during the photorespiration process (Chance and Maehly, 1955; Gill and Tuteja, 2010). In addition, SOD is recognized by being the first enzymatic defense against ROS, as its activity reduces the levels of hydroxyl radical on cytoplasm (Gill and Tuteja, 2010; Torres et al., 2008). There are three recognized metallic cofactors of SOD according to the distribution of the enzyme in the cellular compartments: the Cu/Zn-SOD in cytosol and chloroplasts, the Fe-SOD in chloroplasts, and Mn-SOD in mitochondria (Gill and Tuteja, 2010; Ott et al., 2007). Upon exposure to heavy metals, those SOD isoforms are responsible for detoxification of ROS generated during the complexation and immobilization of cationic ions (Torres et al., 2008). For the acidification process, as used in AC media, an unbalance in the kinetic equilibrium among CO_2 and HCO_3^- radicals occurs (Fernández et al., 2015), augmenting the amounts of O_2^- and OH^- in the cytoplasm and resulting in the intensification of ROS stress. Consequently, the reductions in the levels of enzymes and proteins in ACs and HM were coherent with a physiological response against the stressful condition. Even so, the increased contents in total proteins in the IM treatment compared to Controls can be related to other protein-metabolites not presently measured and that also act in the detoxification process. The Cys-rich proteins of class II of metallothionein's, phytochelatin (PC's), and heat-shock proteins (HSPs) (Torres et al., 2008) are related to heavy metals stress and ROS detoxification in algae (Gill and Tuteja, 2010; Torres et al., 2008). The synthesis of those protein-metabolites could justify the high protein contents when no significant increase on CAT or SOD activities were registered, and no GPX activity was detected in all treated samples. Moreover, other enzymes are related to

ROS defense mechanisms in the algal metabolism, as ascorbate peroxidase (APX), glutathione s-transferase (GST) and reductase (GR), for example (Gill and Tuteja, 2010; Torres et al., 2008).

The present study applied *S. cymosum* and *H. pseudomusciformis* as biological models to investigate the direct (heavy metals toxicity) and indirect (seawater local acidification) effects of the waste mud. Those genera present complex three-dimensional thallus and the essential biological association between them is well recognized (Faccini and Berchez, 2000), where *Hypnea* acts photoprotecting *Sargassum*, as the latter offers substrate for fixation and herbivory protection to *Hypnea*. However, the in vitro exposure to mud and the microacidification caused by it had negative impacts over the biochemistry and physiology of both species, and the coupled effect of both stressors can induce higher toxic effects. These experimental findings highlight the importance of investigating complex pollutants which, due to the combined action of different stressors, can cause more intensive ecophysiological injuries for the organisms. Considering the actual conjuncture of potential impacts of mining tailings in marine environment worldwide (Brasil and Pires, 2017; Magris et al., 2019; Marín-Guirao et al., 2005; Rico et al., 2008; Rodríguez-Figueroa et al., 2009; Santiago and Africa, 2008), experimental evaluations as presented here reinforce the concern about heavy metals pollution. Moreover, it reinforces the need of attention to the possible coupled physicochemical impacts, considering that the spills can intensify the local acidification of marine waters in coastal zones, affecting biological interactions.

In our observations, *Hypnea* revealed a similar physiological and biochemical behaviour for both biological conditions when exposed to the treatments investigated. Conversely, *Sargassum* presented significant discrepancies among treatments for both biological conditions. Moreover, when one compares the ability of keeping biosynthetic pathways away from disruption, it was possible to observe that the associative condition was negative to *Sargassum*, since the mean concentration of all metabolites studied was lowered. This data strongly indicates that the interaction of algae species interfered reciprocally in their individual fitness i.e. the ability to respond to abiotic stress. Another important factor is that the mud deposition over thallus can impact the process of photosynthesis and gaseous exchange. The diffusion boundary layer (DBL) is an active surface close to the thallus surface (from millimetres to few centimetres), where diffusion process occurs and can change the chemical properties of the surrounding medium (Cornwall et al., 2014, 2013). Considering the layer of mud deposition over thallus and its physical and chemical characteristics, the induced changes on DBL can hamper the properly exchange of extracellular elements i.e. nutrient uptake, and the oxygen released from photosynthesis (Cornwall et al., 2014), resulting in deficiency of

metabolic maintenance, especially for the synthesis of defensive compounds and structural repairs. In the case of the associative condition, we can suggest the establishment of a slight competition for nutritional resources, explaining why the interaction among species was not beneficial for the improvement of their resilience, and the reason for a reduction on *Sargassum* defenses ability when associated to *Hypnea*. Nevertheless, by comparing the biological conditions, we can conclude that *Sargassum* samples of the isolated treatment, during mud's exposure, presented better maintenance of their metabolism, as the species was able to synthesize higher amounts of chlorophylls, phenolic compounds and presented higher enzymatic activity than when *Hypnea* was present in the same treatment.

In conclusion, we were able to observe the toxic effects of Mariana's mud impact over the biochemistry and physiology of the seaweeds investigated, both by the direct effect resulting from the exposure to contaminants and due to the indirect effect of microacidification. Indeed, the effects of the seawater's physicochemical conditions lead us to infer that abiotic disturbances appear to be more relevant than heavy metals individual stress in the resilience of both seaweeds. The inhibition of biochemical mechanisms of defense determined by unfavourable acidic conditions may derivate from the osmotic disturbance, also causing pronounced physiological damages, similar or even more severe than the ones observed under mud exposure. Moreover, the indirect effects of mud deposition could impact benthic producers, as this contaminant will be present for a long time in the marine ecosystem of Southeast Atlantic due to the oceanographic characteristics of this area (Magris et al., 2019). Therefore, investigating the possible effects of local acidification resultant from the pollution process in the marine environment is fundamental, considering that species of the *Sargassum* and *Hypnea* genera are keystone organisms and environmental founders of benthic communities in coastal zones. Thus, the impacts of mining spills in marine environments worldwide, and the increasing frequency and extension of these accidents, can further harm these algal groups and lead to loss of ecosystem functioning and services essential for human well-being.

4.5. CONTRIBUTORS

The authors declare that all contributed equally for the research and/or manuscript preparation, and also have approved the final format of present work previously the submission. The role of each author in this work is described below:

-Miss Giulia Burle Costa, Msc.: experimental work execution, manuscript preparation and manuscript review;

- Mrs. Fernanda Ramlov, PhD: biochemical analyses collaboration and manuscript preparation;
- Miss Gabrielle Koerich: manuscript preparation and manuscript review;
- Mr. Bruno Bachiega Navarro: experimental work execution;
- Mrs. Debora Cabral, Msc.: experimental work collaboration and manuscript preparation;
- Mrs. Eva Regina Oliveira Rodrigues, PhD: experimental work collaboration, manuscript preparation and manuscript review;
- Miss Bruna Ramos: manuscript preparation and manuscript review;
- Miss Samara Dumont Fadigas, Msc.: experimental work collaboration and manuscript preparation;
- Mr. Leonardo Rubi Rörig, PhD: experimental work collaboration, manuscript preparation and manuscript review;
- Mr. Marcelo Maraschin, PhD: biochemical analyses collaboration, manuscript preparation and manuscript review;
- Mr. Paulo A. Horta Jr., PhD: project proposition, manuscript preparation and manuscript review.

4.6. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank for infrastructural and staffs support from the Plant Morphogenesis and Biochemistry Laboratory (LMBV, CCA – UFSC) for contributing with enzymatic analyses, and to the Phycology of Microalgae Laboratory (LAFICmicro, CCB – UFSC) for providing equipment support. Giulia B. Costa would like to thank M.Sc. Lucas T. Nunes and the Marine Macroecology and Biogeography Laboratory team (LBMM, CCB – UFSC) for collaboration on statistical analyses. The project had financial support from the Brazilian's Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), FAPESC- Foundation of research funding and innovation in the State of Santa Catarina, FAPESP- Foundation of research funding and innovation in the State of São Paulo, Boticário Foundation, FINEP- Financial Agency for Studies and Projects. M. Maraschin received a research fellowship from CNPq (process nº 307099/2015-6). Giulia B. Costa received a fellowship from CAPES.

4.7. REFERENCES

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro, in: *Methods in Enzymology*. pp. 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Aguilera, J., Dummermuth, A., Karsten, U., Schriek, R., Wiencke, C., 2002. Enzymatic defences against photooxidative stress induced by ultraviolet radiation in Arctic marine macroalgae. *Polar Biol.* 25, 432–441. <https://doi.org/10.1007/s00300-002-0362-2>
- Almada, C.H.B. a., Yoneshigue-Valetin, Y., Nassar, C.A.G., 2008. Aspectos populacionais de *Sargassum vulgare* C. Agardh (Ochrophyta, Fucales) na Ponta do Arpoador - Rio de Janeiro. *Oecologia Aust.* 12, 291–298. <https://doi.org/10.4257/oeco.2008.1202.10>
- Ansari, T.M., Marr, I.L., Tariq, N., 2004. Heavy metals in marine pollution perspective - a mini review. *J. Appl. Sci.* 4, 1–20.
- Balboa, E.M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E., Domínguez, H., 2013. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem.* 138, 1764–1785. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.026>
- Barros, M.P., Necchi, O., Colepicolo, P., Pedersén, M., 2006. Kinetic study of the plastoquinone pool availability correlated with H₂O₂ release in seawater and antioxidant responses in the red alga *Kappaphycus alvarezii* exposed to single or combined high light, chilling and chemical stresses. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1757, 1520–1528. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.06.006>
- 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. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 253–265. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.12.003>
- Bianchini, A., 2016. Relatório - Avaliação do impacto da lama/pluma Samarco sobre os ambientes costeiros e marinhos (ES e BA) com ênfase nas Unidades de Conservação. 1a Expedição do Navio de Pesquisa Soloncy Moura do CEPSUL/ICMBio.
- Brasil, L.M., Pires, V., 2017. O que a lama nos deixou: reflexões sobre a tragédia de Mariana, a mídia e a mineração no Brasil. *Chroniques des Amériques* 17, 10.
- Cangahuala-Inocente, G.C., Steiner, N., Maldonado, S.B., Guerra, M.P., 2009. Patterns of protein and carbohydrate accumulation during somatic embryogenesis of *Acca sellowiana*. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 44, 217–224. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000300001>
- Carmo, Flávio Fonseca do, Kamino, L.H.Y., Junior, R.T., Campos, I.C. de, Carmo, Felipe Fonseca do, Silvino, G., Castro, K.J. da S.X. de, Mauro, M.L., Rodrigues, N.U.A., Miranda, M.P. de S., Pinto, C.E.F., 2017. Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. *Perspect. Ecol. Conserv.* 15, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2017.06.002>

- Chance, B., Maehly, A.C., 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol.* 2, 764–775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Choo, K.S., Snoeijjs, P., Pedersén, M., 2004. Oxidative stress tolerance in the filamentous green algae *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha ahlnneriana*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 298, 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.08.007>
- Cobbett, C.S., 2000. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol.* 123, 825–832. <https://doi.org/10.1104/pp.123.3.825>
- Connan, S., Stengel, D.B., 2011. Impacts of ambient salinity and copper on brown algae: 1. Interactive effects on photosynthesis, growth, and copper accumulation. *Aquat. Toxicol.* 104, 94–107. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.03.015>
- Contreras-Porcia, L., Meynard, A., López-Cristoffanini, C., Latorre, N., Kumar, M., 2017. Marine Metal Pollution and Effects on Seaweed Species, in: *Systems Biology of Marine Ecosystems*. Springer International Publishing, Cham, pp. 35–48. https://doi.org/10.1007/978-3-319-62094-7_3
- Cornwall, C.E., Boyd, P.W., McGraw, C.M., Hepburn, C.D., Pilditch, C.A., Morris, J.N., Smith, A.M., Hurd, C.L., 2014. Diffusion boundary layers ameliorate the negative effects of ocean acidification on the temperate coralline macroalga *Arthrocardia corymbosa*. *PLoS One* 9, 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097235>
- Cornwall, C.E., Hepburn, C.D., Pilditch, C.A., Hurd, C.L., 2013. Concentration boundary layers around complex assemblages of macroalgae: Implications for the effects of ocean acidification on understory coralline algae. *Limnol. Oceanogr.* 58, 121–130. <https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.1.0121>
- Dalcorso, G., Manara, A., Piasentin, S., Furini, A., 2014. Nutrient metal elements in plants. *Metallomics* 6, 1770–1788. <https://doi.org/10.1039/c4mt00173g>
- Edwards, P., 1972. Cultured red alga to measure pollution. *Mar. Pollut. Bull.* [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(72\)90266-4](https://doi.org/10.1016/0025-326X(72)90266-4)
- Escobar, H., 2015. Mud tsunami wreaks ecological havoc in Brazil. *Science* (80-.). 350, 1138–1139. <https://doi.org/10.1126/science.350.6265.1138>
- Faccini, A.L., Berchez, F., 2000. Management of natural beds and standing stock evaluation of *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta) in south-eastern Brazil. *J. Appl. Phycol.* 12, 101–103. <https://doi.org/10.1023/A:1008120229562>
- Fernandes, G.W., Goulart, F.F., Ranieri, B.D., Coelho, M.S., Dales, K., Boesche, N., Bustamante, M., Carvalho, F.A., Carvalho, D.C., Dirzo, R., Fernandes, S., Galetti, P.M., Millan, V.E.G., Mielke, C., Ramirez, J.L., Neves, A., Rogass, C., Ribeiro, S.P., Scariot, A., Soares-Filho, B., 2016. Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. *Nat. e Conserv.* <https://doi.org/10.1016/j.ncon.2016.10.003>
- Fernández, P.A., Roleda, M.Y., Hurd, C.L., 2015. Effects of ocean acidification on the photosynthetic performance, carbonic anhydrase activity and growth of the giant kelp

Macrocystis pyrifera. Photosynth. Res. 124, 293–304. <https://doi.org/10.1007/s11120-015-0138-5>

Ferrari, R., Bryson, M., Bridge, T., Hustache, J., Williams, S.B., Byrne, M., Figueira, W., 2016. Quantifying the response of structural complexity and community composition to environmental change in marine communities. *Glob. Chang. Biol.* 22, 1965–1975. <https://doi.org/10.1111/gcb.13197>

Figuerola, F.L., Bonomi Barufi, J., Malta, E.J., Conde-Álvarez, R., Nitschke, U., Arenas, F., Mata, M., Connan, S., Abreu, M.H., Marquardt, R., Vaz-Pinto, F., Konotchick, T., Celis-Plá, P.S., Hermoso, M., Ordoñez, G., Ruiz, E., Flores, P., De Los Ríos, J., Kirke, D., Chow, F., Nassar, C.A., Robledo, D., Pérez-Ruzafa, Bañares-España, E., Altamirano, M., Jiménez, C., Korbee, N., Bischof, K., Stengel, D.B., 2014. Short-term effects of increasing CO₂, nitrate and temperature on three mediterranean macroalgae: Biochemical composition. *Aquat. Biol.* 22, 177–193. <https://doi.org/10.3354/ab00610>

Foy, C.D., Chaney, R.L., White, M.C., 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 29, 511–566. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.29.060178.002455>

Foyer, C.H., 1996. Free Radical Processes in Plants. *Biochem. Soc. Trans.* 24, 427–434. <https://doi.org/10.1042/bst0240427>

Garcia, L.C., Ribeiro, D.B., De Oliveira Roque, F., Ochoa-Quintero, J.M., Laurance, W.F., 2017. Brazil's worst mining disaster: Corporations must be compelled to pay the actual environmental costs: Corporations. *Ecol. Appl.* 27, 5–9. <https://doi.org/10.1002/eap.1461>

Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

Hall, J.L., 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 53, 1–11. <https://doi.org/10.1093/jxb/53.366.1>

Hammerschmidt, R., Nuckles, E.M., Kuć, J., 1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol. Plant Pathol.* 20, 73–82. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(82\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0048-4059(82)90025-X)

Harborne, J.B., 1984. Phenolic Compounds, in: Harborne, J. (Ed.), *Phytochemical Methods*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 37–99. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5570-7_2

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. *J. Phycol.* 48, 1064–1078. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01224.x>

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. *Ecol. Lett.* 9, 228–241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00871.x>

Hatje, V., Pedreira, R.M.A., de Rezende, C.E., Schettini, C.A.F., de Souza, G.C., Marin, D.C., Hackspacher, P.C., 2017. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures

worldwide. *Sci. Rep.* 7, 10706. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11143-x>

Huang, D., Boxin, O.U., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

Hurd, C.L., Harrison, P.J., Bischof, K., Lobban, C.S., 2014. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press.

Hurd, C.L., Hepburn, C.D., Currie, K.I., Raven, J.A., Hunter, K.A., 2009. Testing the effects of ocean acidification on algal metabolism: considerations for experimental designs. *J. Appl. Phycol.* 1251, 1236–1251. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00768.x>

IGAM, 2017. Encarte Especial Sobre a Qualidade Das Águas Do Rio Doce Após 2 Anos Do Rompimento De Barragem De Fundão -2015/2017. Belo Horizonte, Minas Gerais.

Jeffrey, S.W., Humphrey, G.F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c1* and *c2* in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. und Physiol. der Pflanz.* [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)

Kleypas, J.A., Buddemeier, R.W., Archer, D., Gattuso, J., Langdon, C., Opdyke, B.N., 1999.

Kleypas et al. 2015 Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs 284, 118–121.

Krause-Jensen, D., Duarte, C.M., 2016. Substantial role of macroalgae in marine carbon sequestration. *Nat. Geosci.* 9, 737–742. <https://doi.org/10.1038/ngeo2790>

Lambers, H., Chapin, F.S., Pons, T.L., 2008. *Plant Physiological Ecology*. Springer New York, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78341-3>

Lignell, Å., Pedersén, M., 1989. Agar Composition as a Function of Morphology and Growth Rate. Studies on Some Morphological Strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 32, 219–227. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/botm.1989.32.3.219>

Lopes, M.B., Biazatti, B. de O., 2017. View of Extrativism in the Global Market and Human Rights_ The Tragedy of the Mudslide in Mariana (2015). *Bras. - J. Brazilian Stud.* 5, 5–28.

Magris, R.A., Marta-Almeida, M., Monteiro, J.A.F., Ban, N.C., 2019. A modelling approach to assess the impact of land mining on marine biodiversity: Assessment in coastal catchments experiencing catastrophic events (SW Brazil). *Sci. Total Environ.* 659, 828–840. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.238>

Marín-Guirao, L., Atucha, A.M., Barba, J.L., López, E.M., García Fernández, A.J., 2005. Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: Metal accumulation and bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Mar. Environ. Res.* 60, 317–337. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.11.002>

Marinho-Soriano, E., 2017. Historical context of commercial exploitation of seaweeds in Brazil. *J. Appl. Phycol.* 29, 665–671. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0866-8>

- Marta-Almeida, M., Mendes, R., Amorim, F.N., Cirano, M., Dias, J.M., 2016. Fundação Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. *Mar. Pollut. Bull.* 112, 359–364. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.07.039>
- MEA, 2005. Ecosystem and human well-being, Ecosystem and Human Well-Being: Synthesis. Island Press, Washington D. C. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Michalak, A., 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J. Environ. Stud.* 15, 523–530. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Nadella, S.R., Fitzpatrick, J.L., Franklin, N., Bucking, C., Smith, S., Wood, C.M., 2009. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.09.001>
- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
- Nikinmaa, M., 2013. Climate change and ocean acidification — Interactions with aquatic toxicology. *Aquat. Toxicol.* 126, 365–372. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.09.006>
- Okamoto, O.K., Pinto, E., Latorre, L.R., Bechara, E.J.H., Colepicolo, P., 2001. Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress in algal chloroplasts. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40, 18–24. <https://doi.org/10.1007/s002440010144>
- Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., Zhivotovsky, B., 2007. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 12, 913–922. <https://doi.org/10.1007/s10495-007-0756-2>
- Pawlik-Skowrońska, B., Pirszel, J., Brown, M.T., 2007. Concentrations of phytochelatins and glutathione found in natural assemblages of seaweeds depend on species and metal concentrations of the habitat. *Aquat. Toxicol.* 83, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.04.003>
- Potin, P., 2012. Seaweed Biology, Ecological Studies. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28451-9>
- Queiroz, H.M., Nóbrega, G.N., Ferreira, T.O., Almeida, L.S., Romero, T.B., Santaella, S.T., Bernardino, A.F., Otero, X.L., 2018. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? *Sci. Total Environ.* 637–638, 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.370>
- Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981. Phycology and heavy metal pollution. *Biol. Rev.* 56, 99–151. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1981.tb00345.x>

- Randhir, R., Shetty, P., Shetty, K., 2002. L-DOPA and total phenolic stimulation in dark germinated fava bean in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochem.* 37, 1247–1256. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00006-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00006-7)
- Riba, I., García-Luquea, R.E., Blasco, J., DelValls, T.A., 2003. Bioavailability of heavy metals bound to estuarine sediments as a function of pH and salinity values. *Chem. Speciat. Bioavailab.* 15, 101–114. <https://doi.org/10.3184/095422903782775163>
- Rico, M., Benito, G., Salgueiro, A.R., Díez-Herrero, A., Pereira, H.G., 2008. Reported tailings dam failures. *J. Hazard. Mater.* 152, 846–852. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.050>
- Rodríguez-Figueroa, G.M., Shumilin, E., Sánchez-Rodríguez, I., 2009. Heavy metal pollution monitoring using the brown seaweed *Padina durvillaei* in the coastal zone of the Santa Rosalía mining region, Baja California Peninsula, Mexico. *J. Appl. Phycol.* 21, 19–26. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9346-0>
- Santiago, E.C., Africa, C.R., 2008. Trace metal concentrations in the aquatic environment of Albay Gulf in the Philippines after a reported mine tailings spill. *Mar. Pollut. Bull.* 56, 1650–1667.
- Sathya, R., Kanaga, N., Sankar, P., Jeeva, S., 2017. Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskål) C. Agardh. *Arab. J. Chem.* 10, S2608–S2614. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.039>
- Segura, F.R., Nunes, E.A., Paniz, F.P., Paulelli, A.C.C., Rodrigues, G.B., Braga, G.Ú.L., dos Reis Pedreira Filho, W., Barbosa, F., Cerchiaro, G., Silva, F.F., Batista, B.L., 2016. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environ. Pollut.* 218, 813–825. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>
- Silva, C.R. da, Cunha, F.G., Viglio, E.P., 2016. Rompimento da barragem de mineração de ferro em Mariana-Minas Gerais, Brasil: Impactos físico-químicos, in: III Congresso Da Sociedade de Análise de Risco Latino Americana. São Paulo.
- Team, R.C., 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- 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. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.05.009>
- Viehweger, K., 2014. How plants cope with heavy metals. *Bot. Stud.* 55. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-35>
- Wahl, M., Goecke, F., Labes, A., Dobretsov, S., Weinberger, F., 2012. The second skin: Ecological role of epibiotic biofilms on marine organisms. *Front. Microbiol.* 3, 1–21. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00292>
- Wang, T., Jónsdóttir, R., Ólafsdóttir, G., 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chem.* 116, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041>

Wickham, H., 2019. Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics.

Zeng, X., Chen, X., Zhuang, J., 2015. The positive relationship between ocean acidification and pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 91, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.001>

4.8. ETHICAL DECLARATIONS

4.8.1. Funding

This study was funded by FAPESP-Foundation of research funding and innovation in the State of São Paulo (FAPESP, 2014/00012-1). Dr. Paulo A. Horta Jr. received funding from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 306917/2009-2) and Capes-Higher Education Personnel Improvement Coordination (CAPES/PNADB 2338000071/2010-61). M. Maraschin received a research fellowship from CNPq (process n° 307099/2015-6). Giulia B. Costa received a fellowship from CAPES.

4.8.2. Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest among themselves and with other research groups, or institutions, or financial agencies.

4.9. SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Tabela 1: Growth rates (GR, %·day⁻¹) and final biomass (g, FW) of *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis* exposed to different biological interactions and treatments with Mariana's mud. Treatments legend: **C**: control; **IM**: intermediate mud; **HM**: high mud; **AC**: acidified medium. Biological conditions legend: **S**: *Sargassum* isolated; **H**: *Hypnea* isolated; **A**: seaweeds association. Data are expressed in mean (n=5) ± SD.

Treatment	Biological condition	Growth rate (%·day ⁻¹)	Final biomass (g)
C	S	3.03 ± 1.56	1.30 ± 0.13
	H	7.10 ± 2.29	1.71 ± 0.29
	A	6.59 ± 2.88	1.66 ± 0.36
IM	S	0.71 ± 2.19	1.12 ± 0.18
	H	-2.41 ± 3.77	0.90 ± 0.24
	A	-1.32 ± 2.84	1.02 ± 0.19
HM	S	-2.74 ± 5.47	0.89 ± 0.29
	H	-1.55 ± 4.77	0.96 ± 0.33
	A	0.62 ± 1.29	1.14 ± 0.11
AC	S	-0.75 ± 0.95	0.99 ± 0.11
	H	-7.94 ± 0.79	0.56 ± 0.04
	A	-2.86 ± 1.77	0.86 ± 0.10

Supplementary Table 2: Metabolites of *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis* submitted to different treatments and biological conditions. Data are expressed as mg·g⁻¹ DW. Treatments legend: **C**: control; **IM**: intermediate mud; **HM**: high mud; **AC**: acidified medium. Biological condition legend: **S**: *Sargassum* isolated; **H**: *Hypnea* isolated; **A**: seaweeds association. Values are means (n=4) ± SD.

Treatment	Biological condition	Chlorophyll <i>a</i>	Phenolic compounds	Total proteins
C	S	2.49 ± 0.01	2.07 ± 0.10	48.34 ± 2.19
	H	0.25 ± 0.01	1.03 ± 0.09	46.96 ± 2.91
	<i>Sargassum</i> from A	0.64 ± 0.02	0.88 ± 0.04	44.48 ± 2.26
	<i>Hypnea</i> from A	0.30 ± 0.01	0.48 ± 0.03	87.33 ± 8.13
IM	S	2.51 ± 0.01	1.71 ± 0.08	56.91 ± 3.03
	H	0.28 ± 0.00	0.86 ± 0.17	55.39 ± 7.09
	<i>Sargassum</i> from A	1.23 ± 0.01	2.28 ± 0.15	52.27 ± 2.87
	<i>Hypnea</i> from A	0.15 ± 0.00	0.35 ± 0.03	82.83 ± 4.26
HM	S	1.91 ± 0.04	1.70 ± 0.09	43.06 ± 27.74
	H	0.33 ± 0.01	0.92 ± 0.06	34.38 ± 0.29
	<i>Sargassum</i> from A	1.20 ± 0.01	0.67 ± 0.06	45.92 ± 2.13
	<i>Hypnea</i> from A	0.20 ± 0.01	0.57 ± 0.04	34.51 ± 2.29
AC	S	0.81 ± 0.01	0.54 ± 0.03	47.88 ± 5.16
	H	0.25 ± 0.01	0.12 ± 0.01	33.47 ± 0.37
	<i>Sargassum</i> from A	0.57 ± 0.01	0.20 ± 0.01	50.83 ± 2.89
	<i>Hypnea</i> from A	0.13 ± 0.00	0.03 ± 0.03	34.32 ± 1.23

Supplementary Table 3: Enzymatic activity of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) of *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis* submitted to different treatments and biological association conditions. Treatments legend: **C**: control; **IM**: intermediate mud; **HM**: high mud; **AC**: acidified medium. Biological condition legend: **S**: *Sargassum* isolated; **H**: *Hypnea* isolated; **A**: seaweeds association. Data are expressed as: units of CAT.mL⁻¹.mg⁻¹ of protein for CAT; and Units of SOD. μg⁻¹ of protein for SOD. Symbol (*) indicates that no activity was observed for the enzyme in the specific treatment.

Treatment	Biological condition	CAT	SOD
C	S	5.35 .10 ⁻⁶ ± 2.12 .10 ⁻⁶	1.06 ± 0.25
	H	1.72 .10 ⁻⁶ ± 1.65 .10 ⁻⁶	1.22 ± 0.37
	<i>Sargassum</i> from A	2.79 .10 ⁻⁶ ± 1.97 .10 ⁻⁶	1.88 ± 0.82
	<i>Hypnea</i> from A	3.45 .10 ⁻⁶ ± 3.37 .10 ⁻⁶	1.17 ± 0.62
IM	S	2.59 .10 ⁻⁶ ± 1.58 .10 ⁻⁶	1.12 ± 0.07
	H	2.44 .10 ⁻⁶ ± 1.58 .10 ⁻⁶	0.26 ± 0.09
	<i>Sargassum</i> from A	2.43 .10 ⁻⁶ ± 1.74 .10 ⁻⁶	0.32 ± 0.13
	<i>Hypnea</i> from A	2.07 .10 ⁻⁶ ± 1.66 .10 ⁻⁶	0.37 ± 0.16
HM	S	1.72 .10 ⁻⁶ ± 1.47 .10 ⁻⁶	0.34 ± 0.07
	H	1.50 .10 ⁻⁶ ± 1.39 .10 ⁻⁶	0.21 ± 0.11
	<i>Sargassum</i> from A	1.41 .10 ⁻⁶ ± 1.39 .10 ⁻⁶	0.33 ± 0.08
	<i>Hypnea</i> from A	2.24 .10 ⁻⁶ ± 1.21 .10 ⁻⁶	0.03 ± 0.15
AC	S	4.29.10 ⁻⁶ ± 2.83 .10 ⁻⁶	*
	H	1.75.10 ⁻⁶ ± 1.75 .10 ⁻⁶	*
	<i>Sargassum</i> from A	1.74 .10 ⁻⁶ ± 1.74 .10 ⁻⁶	*
	<i>Hypnea</i> from A	2.33 .10 ⁻⁶ ± 1.47 .10 ⁻⁶	*

5. CAPÍTULO IV: A MINERAÇÃO NO BRASIL E SEUS IMPACTOS NA AMAZÔNIA AZUL

Desde o rompimento da barragem de Fundão, na cidade de Mariana (MG) em 2015, a problemática ambiental, com a consequente degradação dos recursos naturais, ganha foco nas mídias e nas discussões políticas (BRASIL; PIRES, 2017; HELLER, 2019; LOPES; BIAZATTI, 2017). As transformações sociais decorrentes dos desastres ambientais e as consequências da modificação dos ambientes naturais são notórias. Além da descaracterização da paisagem ao longo da bacia do Rio Doce (FELIPPE et al., 2016), os impactos no ambiente costeiro causaram comoção, pela percepção visual da alteração da coloração das águas marinhas e os impactos sobre a fauna e a flora. Ainda na história nacional recente, a catástrofe da dispersão de manchas de petróleo por toda a costa nordeste e parte da costa sudeste do Brasil constitui um episódio lamentável de poluição e degradação dos ambientes marinhos (CARMO; TEIXEIRA, 2020; PENA et al., 2020; SISSINI et al., 2020). Ambos os acidentes evidenciam problemas na gestão de desastres ambientais e na capacidade governamental de atuar, eficaz e rapidamente, para a minimização dos impactos decorrentes da introdução massiva de poluentes nas águas marinhas sob a soberania nacional, com consequentes perdas à biodiversidade e serviços ecossistêmicos na Amazônia Azul.

Neste contexto de distúrbios humanos ao ambiente, o cenário político e educacional nacional também passou por transformações negativas. O progressivo colapso da ciência, ensino, pesquisa e extensão foi sendo consolidado, através da redução das verbas de custeio e manutenção das estruturas físicas, e da retirada do fomento para a capacitação de recursos humanos¹. Atualmente, a ciência brasileira vivencia um momento delicado, com a redução expressiva dos seus recursos², cortes das bolsas de estudos³ e o risco de encolhimento do corpo discente de pós-graduação, o principal responsável pela produção de ciência e tecnologia no país. Assim, desastres ambientais correm o risco de não serem corretamente avaliados, e propostas de monitoramento e restauração ecológicas serão inviabilizadas, pela carência de estudos aplicados e de corpo técnico para a sua execução. Especialmente em se tratando dos recursos marinhos e da área compreendida pela Amazônia Azul brasileira, os impactos que

¹ Disponível em: https://brasil.elpais.com/brasil/2019/09/03/politica/1567542296_718545.html, acesso em 01 de abr. de 2020.

² Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/pesquisadores-temem-colapso-das-agencias-de-fomento-a-ciencia-no-brasil/>, acesso em 01 de abr. de 2020.

³ Disponível em: <https://noticias.ufsc.br/2020/03/ufsc-perde-572-bolsas-de-pos-graduacao-com-nova-portaria-da-capes/>, acesso em 01 de abr. de 2020.

rejeitos de mineração podem causar portencialmente à biodiversidade e aos serviços ecossistêmicos ainda não estão bem compreendidos ou mensurados. Ao contrário, ainda existem muitas lacunas no conhecimento da dinâmica de rejeitos de mineração em águas marinhas costeiras e estuarinas, evidenciando a necessidade urgente de fomento ao desenvolvimento de pesquisas e proposição de inovações para a mitigação dos impactos. Somente através do desenvolvimento científico, melhorias e atualização à legislação ambiental poderão ser propostas, para que tomadas de decisão e ações de restauração possam ser efetivamente adotadas.

O desenvolvimento da presente tese trouxe o levante de questões paralelas à ecologia de ambientes costeiros, onde o contexto político, jurídico e social ao qual o derrame da barragem de Fundão está atrelado. A compreensão dos aspectos jurídicos e legais a respeito do monitoramento de barragens, para a prevenção de acidentes, e as medidas legais de monitoramento e fiscalização de impactos ambientais muitas vezes tomam o primeiro plano. Em sequência, observou-se a necessidade de compreensão a respeito dos aspectos jurídicos internacionais, que tragam à nossa soberania as responsabilidades sobre os impactos ambientais transfronteiriços. E por fim, o alinhamento da responsabilidade brasileira frente ao impacto na região costeira do Espírito Santo, com o desenvolvimento e uso sustentável dos recursos do mar.

Esta seção está em concordância às questões teóricas levantadas, e constitui um capítulo à parte, desenvolvido em complemento às questões teóricas referentes aos marcadores de estresse de metais traço aplicados em estudos com macroalgas, e do contexto experimental de avaliação dos danos fisiológicos em algas estruturadoras expostas ao rejeito, focos da presente tese. Os subtópicos apresentados a seguir constituem uma revisão teórica e um ensaio crítico, e buscam contribuir com a discussão de aspectos jurídicos e institucionais que necessitam de atenção e melhoria para a prevenção de acidentes com rejeitos de mineração e poluição por metais traço em ambientes marinho-costeiros no Brasil.

5.1. A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA E AS MEDIDAS PREVISTAS PARA PREVENÇÃO E MITIGAÇÃO DE DESASTRES AMBIENTAIS

5.1.1. Legislação brasileira para controle de barragens e conservação de recursos hídricos

A legislação ambiental brasileira é uma das mais completas e complexas proposições

mundiais na sua área temática associada ao direito (CUNHA; GUERRA, 2009; MEDAUAR, 2006). Entretanto, devido à grande complexidade, normas e mesmo à dificuldade em monitorar, fiscalizar e julgar as infrações, os delitos e os descumprimentos são frequentes e recorrentes. As falhas na aplicação das leis acarretam enormes prejuízos não apenas ambientais, mas também econômicos e sociais, com consequência direta da perda da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos associados. No caso dos desastres com barragens de mineração, a imperícia técnica no monitoramento, associada com o não cumprimento das normas de fiscalização e a lentidão dos processos administrativos, podem ser apontadas como pano de fundo para a ocorrência de derramamentos, nas proporções recentemente registradas no Brasil (BRASIL; PIRES, 2017; FERNANDES et al., 2016).

A legislação brasileira possui leis e diretrizes e específicas à prevenção, e medidas de resposta em casos de acidentes de mineração. A Lei nº 12.334 de 2010 (BRASIL, 2010), da Agência Nacional de Mineração, estabelece a Política Nacional de Segurança de Barragens (PNSB). Esta lei vem regulamentar, fiscalizar e controlar o uso de barragens com fins de armazenamento de água ou rejeitos, definindo conceitualmente as perturbações que podem ocorrer em uma barragem e suas consequências ambientais⁴.

Dentre os instrumentos de fiscalização⁵ da PNSB, o Sistema de Classificação por Potencial de Risco é o que rege o potencial de danos que uma barragem pode apresentar para o meio ambiente e à sociedade, em caso de acidente. A classificação de risco está regulamentada pela Resolução nº 143 do Conselho Nacional de Recursos Hídricos (CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS, 2012a), e define todos os potenciais danos que possam ocorrer, de infiltrações a rompimentos, independente da probabilidade de ocorrência. O dano deve sempre levar em consideração as características do entorno, tais como bacias hidrográficas, vegetação e ocupação humana. Os relatórios de segurança são elaborados pela Agência Nacional de Águas (ANA), e os dados integram o Sistema Nacional de Informações sobre Segurança de Barragens (SNISB) (CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS,

⁴ Pelas diretrizes do Sistema Nacional de Segurança de Barragens (SNSB), dois conceitos devem ser observados. Denomina-se incidente ocorrências em que a capacidade suporte da barragem seja comprometida, com possível consequência à ocorrência de acidentes. Por sua vez acidente é definido como o comprometimento estrutural de uma barragem, de forma parcial ou total, mas com vazamento incontrolável do seu conteúdo (CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS, 2012b). Deste feita, tanto o caso de Mariana (2015), presentemente estudado, quanto o caso de Brumadinho (2018), em Minas Gerais, são considerados como acidentes de barragens.

⁵ A fiscalização do cumprimento da PNSB fica ao encargo dos órgãos ambientais associados ao Sistema Nacional do Meio Ambiente (SISNAMA), em suas diferentes esferas administrativas (Municípios, Estados e União), sob o gerenciamento do Poder Público. São agentes fiscalizadores o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), o Ministério do Meio Ambiente (MMA), o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), e todos os órgãos seccionais outorgados em seu direito (BRASIL, 2010).

2012b).

A classificação do risco das barragens leva em consideração uma matriz de risco, elaborada segundo a Resolução nº 91 da ANA⁶ (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2012). Apesar da operacionalização para a gestão integrada, com acesso à informação pelos diversos órgãos fiscalizadores, e de propor índices classificatórios de riscos de acidentes bem definidos, acidentes com barragens ainda são ocorrentes. Dentre as principais razões, a falha humana e problemas com o sistema de fiscalização são os maiores responsáveis por tais ocorrências. Em parte, isto se deve ao fato de o sistema de fiscalização atual ainda ser dependente de visitas *in situ*. A futura incorporação de novas tecnologias de monitoramento remoto poderia ser potencial e relevante ferramenta para uma resposta rápida e efetiva, desde a percepção até a tomada de decisões que mitiguem os efeitos de danos estruturais em barragens. Este tipo de consideração deve ser fomentada e discutida com as governanças e órgãos ambientais responsáveis, para futuras proposições de atualização dos mecanismos de fiscalização das barragens de mineração.

Ainda com respeito aos rejeitos da barragem de Fundão, deve-se observar as legislações pertinentes ao lançamento de efluentes em corpos hídricos. Conforme a resolução nº 357 de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005), os corpos hídricos, sejam eles dulcícolas, salobros ou marinhos, são enquadrados de acordo com a qualidade de água para seu uso preponderante. De acordo com esta normativa (CONAMA, 2005), cada corpo hídrico possui limites estabelecidos de níveis de elementos metálicos, de acordo com o uso das águas para consumo e/ou obtenção de recursos pesqueiros, contato direto recreativo, ou mesmo para conservação da biodiversidade. Por sua vez, a resolução CONAMA nº 430 de 2011 veio a complementar a resolução CONAMA nº 357, regulamentando e estabelecendo os parâmetros da qualidade dos efluentes a serem despejados no ambiente, de forma a evitar que a sua deposição altere as características físicas e químicas de um corpo de água, e conseqüentemente, sua degradação para classes de uso inferiores aos da classificação original (CONAMA, 2011).

De acordo com os relatórios ambientais elaborados para o monitoramento de metais traço em ambiente marinho, espaço-temporalmente são observadas variações na concentração

⁶ Na matriz de risco proposta na Resolução nº 91 da Agência Nacional de Águas, considera-se a categoria de risco da barragem, determinada em risco alto, médio ou baixo conforme índices parciais relativos (características técnicas (CT), estado de conservação (EC) e implementação do Plano de Segurança da Barragem (PS)); e o dano potencial associado, também categorizados em alto, médio e baixo, conforme o volume do reservatório, o potencial de perdas de vidas humanas e os impactos ambiental e socioeconômico. Desta forma, a matriz tem categorias de risco e dano potencial associados classificados pelas letras A até E, onde A e E representam os riscos mais altos e baixos, respectivamente (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2012).

de elementos em desconformidade à legislação CONAMA nº 357/05. No relatório de Teixeira, Sá e Dergam (2019b) apontam-se inconformidades para as concentrações de metais traço dissolvidos na coluna de água, como As, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn, além de variações na concentração da forma nitrogenada N-amoniacal. Os níveis destes elementos, e a sua inconformidade com os parâmetros dispostos no CONAMA nº 357/05, evidenciam a degradação ambiental em relação às características prévias ao derrame, com comprometimento da qualidade dos recursos pesqueiros e da segurança alimentar. Assim, as áreas marinhas afetadas pela pluma de rejeitos devem ser ainda monitoradas por um longo período, até que a série temporal de dados levantados possa atestar a melhoria da qualidade ambiental. Além disso, é notória a importância do monitoramento para o reenquadramento da região marinha para os diferentes usos econômicos. Com isto, será garantida não apenas a retomada das atividades e usos do ambiente marinho, mas a conservação do ambiente e seus recursos.

5.1.2. Mecanismos legais de reparação a danos causados ao meio ambiente e ações de monitoramento

Prioritariamente, a legislação ambiental brasileira prevê mecanismos de prevenção a acidentes e monitoramento dos riscos de empreendimentos de mineração. Entretanto, em casos como o acidente com a barragem de Fundão, ela também prevê mecanismos de punição aos agentes causadores e de reparação para as vítimas dos danos sofridos. Entre estes, o Termo de Transação e Ajustamento de Conduta (TTAC) é uma ferramenta que pode ser aplicada em detrimento aos processos jurídicos civis e penais⁷. Os TTACs são organizados pelas diferentes instituições e organizações, entre os principais atores envolvidos, direta ou indiretamente, com o acidente da barragem, além da sociedade civil e de instituições voltadas para a preservação ambiental. Juntos, os atores causadores de danos ambientais e os agentes que sofreram o impacto comprometem-se com um processo de governança voltado para ações de longo prazo, que mitiguem os impactos do rompimento da barragem. Contudo, o TTAC não deve substituir os procedimentos tradicionais de responsabilização sobre o cometimento de crimes ambientais, em que processos devem ser instaurados mediante a ineficácia ou descumprimento dos acordos firmados no termo.

⁷ Esta classe de acordo multi-institucional tornou-se uma alternativa ao processo jurídico que deveria ser instaurado. Baseado na Lei nº 7.347, que trata da Ação Civil Pública (BRASIL, 1985), e na sua redação modificada pelo Código de Defesa do consumidor, Lei nº 8.078, no artigo 5º, § 6º, o TTAC é um instrumento extrajudicial de resolução de processos com interesses para o direito público (BRASIL, 1990).

Aplicado especificamente para o acidente em Mariana, um termo assinado em 2016⁸ visou um acordo extrajudicial para a reparação dos danos causados, tanto à sociedade civil quanto ao meio ambiente (SAMARCO; VALE; BHP BILLITON, 2016). Este termo acarretou a fundação de uma entidade para a gestão de recursos e aplicação de programas de compensação, monitoramento e restauração ambiental – a Fundação RENOVA (SAMARCO; VALE; BHP BILLITON, 2016). Dentre as iniciativas propostas, que visam a melhoria e restauração dos ambientes marinhos, estão o manejo e controle dos rejeitos e ações de conservação de espécies aquáticas. Infelizmente, entre a firmação do TTAC e a implementação efetiva do sistema de monitoramento decorreu um período de aproximadamente de dois anos, e demonstra que, ainda que os TTACs tenham uma proposição de cooperação na resolução das problemáticas ambientais, a morosidade na implementação e efetivação das ações de monitoramento e mitigação é um ponto que deve receber atenção dos gestores públicos e civis. A agilidade do processo jurídico, com a rápida implementação dos sistemas e processos para mitigação dos impactos deve ser prioridade para a governança, com a tomada de decisões que possam ter maior efetividade em curto prazo de execução, e não apenas em médio e longo prazos de implementação.

Ainda que pontos amostrais de coleta e monitoramento tenham sido implantados após o acidente, a rede “Programa de Monitoramento Quali-Quantitativo Sistemático de Água e Sedimentos (PMQQS)” foi apresentada oficialmente pelos órgãos ambientais competentes apenas em julho de 2017 (IBAMA, 2017). Atualmente, a RedeRio Doce Mar (RRDM⁹) é a principal responsável pelo monitoramento e apoio às ações de gestão e mitigação dos impactos oriundos do acidente, tanto em ambientes dulcícolas quanto marinho-costeiros. Entretanto, deve ser igualmente ressaltado a demora na implementação da rede, com início oficial das atividades apenas em julho de 2018 (RRDM, 2018). Os relatórios elaborados pelo grupo, e divulgados através dos *site*¹⁰ do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), contém informações de suma importância para a compreensão dos processos ambientais, decorrentes da presença dos rejeitos. Entre os relatórios elaborados, há a

⁸ Conforme observado no caso específico do acidente com a barragem de Fundão, o acordo de TTAC foi firmado entre as empresas Samarco mineração S.A., Vale S.A. e BHP Billiton Brasil Ltda., para o atendimento à sociedade civil e organizações não governamentais, partes interessadas as quais devem ser endereçadas as ações de compensação.

⁹ A Rede Rio Doce Mar (RRDM) é uma organização que congrega 25 instituições de ensino e pesquisa em diferentes estados, incluindo universidades federais e estaduais e institutos técnicos, com caráter técnico-científico colaborativo (disponível em: <http://rrdm.net.br/quem-somos/>, acesso em: 14 de mar. de 2020). Esta organização firmou contrato com a Fundação Renova para atuar na avaliação dos efeitos do acidente, e fundamentar medidas de mitigação e compensação ambiental (disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/10086-tres-anos-depois-monitoramento-ambiental-se-consolida>, acesso em: 14 de mar. de 2020).

¹⁰ <http://www.ibama.gov.br/cif/notas-tecnicas/ct-bio/relatorios-da-rede-rio-doce-mar>.

apresentação dos parâmetros hidrogeoquímicos (TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019b), com caracterização de nutrientes, metais e outros contaminantes, avaliações abióticas e bióticas (TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019c), incluindo avaliações na fauna e flora (HOSTIM; DERGAM, 2019; MARTINS, 2019; TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019a, 2019d, 2019e), entre outros parâmetros geológicos, biológicos e oceanográficos.

Apesar da importância e da urgência na geração dos dados apresentados pela RRDM, através dos seus próprios canais de comunicação, e dos *sites* do IBAMA e do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade¹¹, alguns pontos podem ser discutidos a respeito da divulgação destes resultados. O primeiro diz respeito aos canais de divulgação dos dados oficiais. A RRDM entrega relatórios de monitoramento da água semanalmente¹² à Fundação RENOVA, bem como relatórios de monitoramento trimestrais. Entretanto, estes dados estão disponíveis apenas na plataforma da própria fundação⁹, enquanto na plataforma do IBAMA⁷ constam apenas os relatórios semestral e anual. Esta discrepância da disponibilização dos dados, por diferentes instituições, constitui uma dificuldade de sua compilação por usuários menos familiarizados com os sítios de acesso e navegação. Assim, a informação encontra-se disponível, mas melhorar a facilidade de acesso e a completa divulgação em todas as mídias, de todos os órgãos e entidades envolvidas é necessário para a maior acessibilidade, com implicações para a tomada de medidas nas diferentes escalas administrativas.

Em segundo, os dados são disponibilizados como relatórios técnico-científicos, nos formatos *html* (consulta *web*) e “Portable Document Format” (.PDF). Novamente, estes formatos não são amigáveis para usuários com pouco conhecimento em informática e na interpretação de dados, sendo os textos técnicos extensos, por vezes cansativos para interpretação do público em geral. Faz-se necessário um maior esforço e empenho, após um ano de geração de dados pelo grupo RRDM, em cooperação com os órgãos ambientais, na produção de materiais informativos, que sejam acessíveis em termos de interpretação, com maior aplicação de recursos visuais e gráficos, de forma auto-explicativa, para a melhor disseminação da informação. E por fim, a divulgação dos resultados de monitoramento de forma dissociada das plataformas governamentais, dos órgãos fiscalizadores e da própria rede de pesquisa geradora. Isto poderá proporcionar uma maior amplitude de divulgação, atingindo públicos de acesso minoritário às plataformas digitais, e pode conferir um maior caráter de inclusão social e identificação com as ações de monitoramento e restauração ambiental. Além da divulgação *web*, outras formas midiáticas relevantes seriam a maior visibilidade em canais

¹¹ <http://www.icmbio.gov.br/portal/>.

¹² <https://www.fundacaorenova.org/arquivos-e-relatorios>.

de televisão aberta, rádio, jornais impressos de ampla circulação, e incluindo as próprias redes sociais. Assim, será garantida a maior efetividade da divulgação destes resultados, e a valoração das medidas de mitigação dos impactos através do trabalho dos técnicos e cientistas envolvidos.

No tocante ao manejo e monitoramento de UCs marinhas, recente relatório de Bianchini et al. (2019) destaca que importantes áreas de conservação¹³ estão sob a influência negativa dos efeitos dos rejeitos da pluma. Especialmente, deve ser destacada a prevalência de elevadas concentrações do elemento ferro, tanto em amostras de água, sedimento e principalmente, na biota. São apontadas concentrações elevadas e em inconformidade com os limites estabelecidos em legislação para crustáceos e peixes, com indicação de estresse fisiológico. No contexto da divulgação técnica e científica, estes dados são de extrema importância para as comunidades, uma vez que estes impactos são registrados em reservas extrativistas, áreas de interesse para a pesca artesanal e turismo. Assim, tornar os resultados públicos, mas de forma mais interativa com os agentes interessados e impactados pelo acidente, é um compromisso científico de inclusão e apropriação social do processo de monitoramento e das ações necessárias à restauração ambiental.

5.1.3. O cenário de ações preventivas: impactos que podem ser evitados

O acidente de Mariana trouxe lições a respeito da maior necessidade de efetividade no monitoramento da segurança das barragens, uma vez que desastres de mineração em nosso país podem ocorrer em diferentes regiões. Há a necessidade urgente de melhorias nas medidas de monitoramento, seja por modificações na sua periodicidade ou nos métodos adotados¹⁴. Especificamente em se tratando de barreiras de mineração, atualizações na legislação vigente, focadas em diferentes características dos rejeitos armazenados, associadas à incorporação de novas tecnologias de monitoramento, como anteriormente discutido, seriam ferramentas

¹³ Especificamente, o relatório de Bianchini et al. (2019) aponta o registro de impactos que são correlacionados com a deposição dos rejeitos da pluma para as seguintes unidades: Refúgio de Vida Silvestre Santa Cruz; Área de Proteção Ambiental Costa das Algas; Reserva de Desenvolvimento Sustentável Municipal Piraquê-Açu e Piraquê-Mirim; Reserva Biológica de Comboios; Reserva Indígena de Comboios; Área de Relevante Interesse Ecológico do Degredo; Área de Proteção Ambiental Conceição da Barra; Parque Nacional Marinho de Abrolhos; Área de Proteção Ambiental Ponta da Baleia/Abrolhos; e Reserva Extrativista de Cassurubá.

¹⁴ Em 2017, o DNPM lança a Portaria nº 70.389, que criou o Cadastro Nacional de Barragens e o Sistema Integrado de Gestão em Segurança de Barragens de Mineração (DNPM, 2017b). Com esta portaria, tornou-se obrigatória a realização de revisões periódicas e regulares em todas das barragens de mineração, bem como das medidas de prevenção a acidentes e planos de ação de emergência, como forma a reduzir a perda de vidas em caso de possíveis rupturas. Desta forma, esperava-se que derrames como o da Barragem de Fundão não tornasse a ocorrer, mas infelizmente, em 2018, o caso da Barragem do Feijão, em Brumadinho reacende o alerta para a maior efetividade na aplicação da portaria, e a necessidade de cobrança das governanças, de forma a tornar ágeis os processos para efetiva prevenção de desastres ambientais desta magnitude.

contributivas para melhoria da aplicação dos parâmetros de avaliação de risco. Com isso, medidas de prevenção e rápida resposta a acidentes poderiam ser tomadas, com ações efetivas para que a propagação dos efeitos de poluição oriunda destes rejeitos não resulte em impactos em múltiplos ecossistemas.

Dentre todos os estados brasileiros, Minas Gerais é o que apresenta maior representatividade na extração de minérios, com 19 municípios em que são registradas jazidas em exploração. Nestes, o minério de ferro é o mais explorado, tanto em volume quanto em valor de produção¹⁵ (AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO, 2019). Entretanto, outras regiões possuem atividade de mineração com relevância econômica ao Produto Interno Bruto (PIB) de seus estados. O Brasil é grande produtor de minérios, dentre os quais Al, Fe e Mn são parcela representativa do valor de mercado, sendo que 37 elementos metálicos estão sob registro de exploração na Agência Nacional de Mineração (ANM)¹⁶ (AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO, 2019).

Com referência ao estado de Santa Catarina, onde a presente tese foi desenvolvida, os elementos metálicos não representam parcela de elevada importância na produção mineral do estado (apenas 2,0% da produção) (DNPM, 2017a). Ainda assim, a mineração de matérias-primas para a construção civil (*e.g.* brita, cascalho, areias, argilas) e combustíveis fósseis (carvão mineral e turfa) representam >70% do total da atividade (DNPM, 2017a; LARROYD; RECUERO, 2013). A extração de carvão mineral merece atenção neste contexto, uma vez que também é uma atividade que modifica a paisagem natural, através da remoção superficial do solo, e necessita de barramentos para deposição de rejeitos¹⁷, o que pode levar à contaminação dos recursos hídricos e do solo (AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA, 2002). Ainda que essas barragens não sejam próximas do litoral, a exemplo do ocorrido no acidente de Mariana, podem impactar as bacias hidrográficas como as dos rios Tubarão, Urussanga e Araranguá, que desaguam no litoral catarinense (GEPHI, 2018; MACHADO, 2013), e conseqüentemente, acarretar impactos ambientais também nas zonas costeiras.

¹⁵ A região denominada quadrilátero ferrífero, no estado de Minas Gerais, registra elevada relevância da exploração mineral desde o período colonial, quando a exploração de jazidas de ouro enriqueceu a capitania e atraiu a população para a ocupação do interior do país. Atualmente, junto com o estado do Pará, onde 12 municípios registram atividade mineradora, a produção apenas destes dois estados representa 90% do valor total da produção mineral do país (AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO, 2019).

¹⁶ A produção de minérios metálicos no Brasil abrange principalmente a extração de Al, Au, Cr, Cu, Fe, Mn, Nb, Ni, Sn, V e Zn, que representam quase a totalidade do valor de comércio da classe mineral (99,6%), e dos quais o Fe representa 70% deste valor total. Além destes, os elementos não metálicos, como os combustíveis fósseis, representados por petróleo e carvão mineral, representam cerca de 20% da produção nacional de minérios.

¹⁷ De acordo com os mapas produzidos a partir dos dados inseridos na PNSB, Santa Catarina possui barragens registradas como classes de risco e danos associados nas categorias B e C (ANM, 2019; BRASIL, 2010), que servem majoritariamente a armazenar os rejeitos da mineração de carvão mineral e turfa.

Por fim, de forma preocupante, observa-se um movimento com caráter antiambientalista por parte do Governo brasileiro, através da proposição do Projeto de Lei 191/20, anunciada em fevereiro de 2020¹⁸. Este projeto prevê a possibilidade de prospecção de recursos minerais, mineração e lavra em terras indígenas. Além da preocupação social com respeito à possibilidade de invasões, grilagem e desapropriação de terras de comunidades tradicionais, a exploração nestas áreas traz consigo o peso dos impactos ambientais associados. A sobre-exploração dos recursos minerais, sem a apropriada fiscalização e controle, incorre no risco potencial de elevada contaminação de rios, do lençol freático e a aceleração do desmatamento. Com isto, o aumento da contaminação por metais é um risco evidente e iminente para a manutenção da qualidade ambiental, e tem por consequência o carreamento destes elementos para a deposição em ambiente marinho através do transporte pelas bacias hidrográficas.

Sendo assim, reforça-se a importância da precaução contra acidentes diversos envolvendo barragens de mineração, tanto de elementos metálicos quanto não metálicos, e o maior esforço e responsabilidade no controle e gestão das áreas de exploração. Mesmo áreas com menor expressão em atividades de mineração tem potencial de sofrerem impactos ambientais em decorrência de rompimentos de barragens de rejeitos. Através da prevenção nas atividades continentais com potencial impacto para zonas costeiras, será possível a precaução e a conservação dos ecossistemas marinhos brasileiros, e a manutenção da soberania nacional sobre os recursos naturais destes sistemas

5.2. LEGISLAÇÃO DO MAR E OS OBJETIVOS DO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL (ODS): CAMINHAMOS PARA UM MAR IGUALITÁRIO?

5.2.1. Direito internacional do mar e soberania nacional do ambiente marinho

A soberania sobre os recursos marinhos é de interesse estratégico das nações ao longo do desenvolvimento das civilizações¹⁹. Desmembrando-se da tradicional geopolítica, a “oceanopolítica” trata das relações dos Estados, em seu direcionamento político-estratégico,

¹⁸ Disponível em: <https://www.camara.leg.br/noticias/634893-projeto-do-governo-viabiliza-exploracao-de-minerios-em-terras-indigenas/>, acesso em 15 de março de 2020.

¹⁹ As discussões a respeito do domínio dos mares datam de tempo antigos, quando a navegação ainda era a principal forma de comunicação, transporte e comércio internacionais (FRANÇA, 2012). Grandes civilizações e nações nasceram e se desenvolveram a partir da conquista da soberania dos mares, através das grandes rotas de navegações comerciais entre continentes.

com outros Estados, tendo o ambiente marinho como componente (JÚNIOR, 2012). Este ramo jurídico e diplomático também trata dos acordos internacionais firmados pelos países, e uma vez que os mares e oceanos não possuem claras fronteiras, a definição política sobre a sua governança é fundamental para as diferentes nações. Isto porque os mares e oceanos, representam estrategicamente a soberania das nações sobre os recursos naturais sob sua governança (FRANÇA, 2012).

Apesar de acordos e tratados sobre a soberania das principais rotas marítimas serem bem estabelecidos ao longo da história, majoritariamente relacionados com acordos pós-guerras, a evolução em relação aos direitos ambientais deu-se de forma mais lenta, consolidando-se ao longo dos séculos XX e XXI (CUNHA; GUERRA, 2009; SOARES, 2010). Com o entendimento que danos ambientais ultrapassam e desrespeitam fronteiras jurídicas, houve o desenvolvimento do Direito Internacional do Meio Ambiente (SOARES, 2010). Neste ramo das ciências jurídicas, consideram-se questões inerentes ao direito internacional, e aos impactos que a alteração ambiental pode acarretar sobre recursos que são voltados ao bem comum da humanidade²⁰.

O direito ambiental moderno, com a visão de que o homem entende a sua responsabilidade para com os demais seres vivos e com o ambiente ao qual se apropria e modifica, teve sua fundamentação estabelecida na década de 1960²¹. Apesar dos movimentos ambientalistas crescentes nesta década, as questões do direito ambiental, focadas em efeitos de poluição só seriam debatidas mais de dez anos depois.

Entre as décadas de 1970 e 1980, a Organização das Nações Unidas realizou importantes encontros e conferências para debater o desenvolvimento sustentável e o uso

²⁰ O Direito Internacional do Meio Ambiente trata de questões onde as alterações ambientais interfiram na soberania de nações fronteiriças que sofram as consequências dos impactos. Além disso, trata das questões ambientais que possam interferir em ecossistemas e bens de comum à humanidade. São tópicos avaliados sob a óptica do direito ambiental:

- Poluição transfronteiriça de mares, oceanos e atmosfera;
- Proteção da camada de ozônio;
- Medidas contra as mudanças climáticas globais;
- Proteção de espécies-chave de fauna e flora;
- Prevenção de danos a espaços territoriais internacionais comuns (Antártica, espaço sideral e mares internacionais);
- Utilização pacífica da energia nuclear;
- Regulamentação das águas doces compartilhadas e bacias hidrográficas;
- Relação do comércio internacional com o meio ambiente.

²¹ A década de 1960 é marcante na história social, uma vez que foi o início do movimento ambientalista alternativo, também conhecido como a era *hippie*. Nesta década, o trabalho de Rachel Carson e a publicação de “Primavera Silenciosa” (CARSON, 2010) influenciaram uma geração, que se tornou engajada nas causas ambientais e políticas. Cronologicamente, em 1964 foi realizada a Conferência das Nações Unidas sobre Comércio e Desenvolvimento, que resultou na carta de deveres e direitos econômicos dos Estados (ONU, 2019a; SOARES, 2010). Ainda na mesma década, em 1968, também a ONU reconhece que os efeitos das alterações climáticas são de interesse da humanidade, e no ano seguinte, que a atmosfera constitui bem comum (ONU, 2019a).

racional dos recursos naturais²². A partir do relatório de Brundtland, publicado em 1987, e da necessidade de discussão pública sobre as questões ambientais, realizou-se a Cúpula da Terra, ou convenção Eco 92²³, no Rio de Janeiro (ONU, 2019a). Deste encontro é produzida a Agenda 21, um documento com artigos e princípios voltados ao desenvolvimento sustentável. Nele estão inclusas recomendações de ações, práticas e condutas para a redução da poluição, a serem adotadas por todas as nações²⁴, de forma a retardar e mitigar os seus efeitos sobre os povos (ONU, 1992). A Figura 1 apresenta sinteticamente a linha cronológica de eventos relacionados ao desenvolvimento do direito ambiental em âmbito internacional. Foram estes eventos, associados à conscientização sobre a problemática da poluição, que levaram à elaboração dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável, discutidos na subseção subsequente.

Relacionado com o desenvolvimento do direito ambiental, a Convenção das Nações Unidas sobre o Direito do Mar (CNUDM²⁵), ocorrida em 1982, ordenou juridicamente as fronteiras marítimas de todo o mundo (GONÇALVES; GRANZIERA, 2012; MORE; REI, 2012). Desta Convenção, resultaram as diretrizes que definem os direitos e os deveres das nações frente às delimitações dos mares a elas pertencentes e sobre as águas internacionais, de interesse comum a todos os povos. Isto porque, em um novo contexto econômico que se

²² Em 1972 foi convocada a Conferência das nações Unidas sobre o Ambiente Humano (ONU, 2019a). Desta conferência, derivam dois importantes registros. O primeiro é a Declaração da conferência em si, que se trata de um Manifesto Ambiental com 19 princípios a serem seguidos, voltados para guiar o desenvolvimento sustentável e equitativo das nações. O segundo ponto foi a consolidação do programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, para mediar ações e resolver conflitos inerentes ao meio ambiente em escala global (UNITED NATIONS, 1972). Posteriormente, em 1987, o relatório “Nosso Futuro Comum”, ou relatório de Brundtland, elaborado pela comissão de trabalho independente associada à ONU Meio Ambiente, lança ao público o conceito e a discussão sobre o desenvolvimento sustentável (SOARES, 2010).

²³ A partir da Cúpula da Terra, houve a fase final da consolidação do direito ambiental internacional. Dela derivou a produção de documentos relevantes para discussão de metas e objetivos comuns a serem alcançados, e princípios para guiar as ações de desenvolvimento sustentável das nações. Resultaram da Eco 92:

- A Declaração do Rio sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento;
- A Convenção sobre a Diversidade Biológica;
- A Convenção Quadro das Nações Unidas sobre mudanças no clima;
- E a Agenda 21.

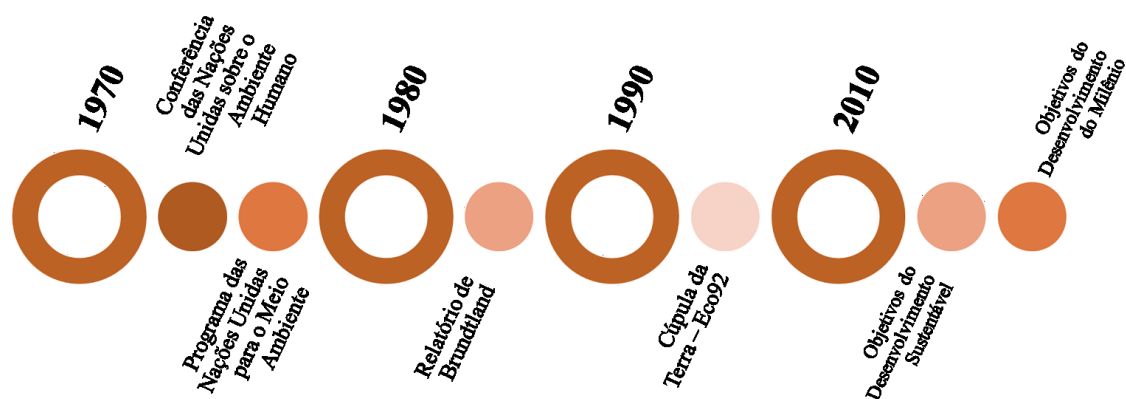
²⁴ A Agenda 21 também considera a dificuldade das nações em desenvolvimento para a implementação das ações propostas, e reconhece a responsabilidade das nações desenvolvidas em suprir recursos financeiros e tecnológicos para o desenvolvimento comum.

²⁵ Apesar de proposta em 1982, apenas após a 60ª ratificação, quando houve consenso e concordância sobre sua redação, por parte de todas as nações envolvidas, a CNUDM pode entrar em vigor em 1994. Neste documento, ficaram definidas as metragens e pontos de referência das seguintes regiões, para organização da soberania dos mares territoriais e adjacentes:

- a) Mar territorial: faixa de águas costeiras, definidas em 12 milhas marítimas, demarcadas em largura a partir da linha de baixa-mar;
- b) Zona contígua: das 12 as 24 milhas marítimas, contadas a partir das linhas de base do mar territorial;
- c) Zona econômica exclusiva: das 12 as 200 milhas marítimas, contadas a partir das linhas de base do mar territorial;
- d) Plataforma continental: leito e subsolo das áreas marinhas, estendidas além do mar territorial, em todo seu prolongamento litológico natural, ou 200 milhas marítimas contadas a partir da linha de base da marcação do mar territorial, quando o leito natural do solo marinho não atinge a distância de 200 milhas.

consolidou nas duas últimas décadas, os fundos oceânicos possuem recursos minerais e energéticos com elevado potencial de exploração (MORE; REI, 2012). Além disso, os recursos biológicos e pesqueiros que ocorrem em áreas além das jurisdições definidas às nações devem ser preservados e explorados com sustentabilidade, e cabe às normativas da ONU o ordenamento da exploração de todos estes recursos. Através da definição das áreas comuns e àquelas pertencentes às nações, objetiva-se também o controle da poluição resultante das atividades dos países adjacentes e a responsabilização dos agentes poluidores por improbidades em sua conduta sobre o ambiente marinho.

Figura 1: Linha do tempo, com eventos históricos marcantes na discussão do direito ambiental ao longo das décadas.



Fonte: Autoria própria, baseado em ONU, 1992; ONU, 2019a; SOARES, 2010

O Brasil possui em sua área marinho-costeira uma região que, pela extensão territorial e elevada biodiversidade, pode ser denominada como Amazônia Azul (GONÇALVES; GRANZIERA, 2012). Seus limites foram determinados e regulamentados de acordo com a Lei nº 8.617 de 1993²⁶ (BRASIL, 1993), proposta em base à CNUDM. A demarcação das dimensões da Amazônia Azul tem fundamental importância no contexto da soberania nacional sobre o mar (JÚNIOR, 2012), não apenas pela concessão dos direitos de gestão sobre os recursos, mas para que se assumam as devidas responsabilidades em relação às questões ambientais e políticas sobre o mar.

²⁶ O Brasil possui uma ampla zona costeira, com mais de 8.500 Km de extensão, e sua dimensão é ampliada de acordo com as normativas internacionais de delimitação da linha de costa e soberania das nações sobre o mar. Assim, a Amazônia Azul brasileira compreende as áreas delimitadas pelos limites da zona econômica exclusiva e da plataforma continental, englobando uma área de 4.441 km² (GONÇALVES; GRANZIERA, 2012; JÚNIOR, 2012).

Em 1994, a Comissão sobre Governança Global da ONU trouxe a público a definição de governança²⁷ que nortearia a estruturação dos estados quanto à sua soberania sobre os recursos do mar. Segundo esta comissão, governança trata dos problemas comuns que são geridos pelos indivíduos, instituições governamentais públicas, instituições privadas e organizações não governamentais, e todas as maneiras de gestão propostas em conjunto pelos seus atores (GONÇALVES; GRANZIERA, 2012). Por esta definição, houve uma valorização das iniciativas não apenas de instituições com viés econômico e político, mas dos atores sociais e dos movimentos civis quanto à tomada de decisões no que se refere à solução de questões de impactos comuns a toda sociedade. Desta forma, cabe aos atores interessados e conflitantes gerirem questões que possam impactar o meio ambiente, de forma que não haja prejuízo às nações adjacentes, e aos interesses e benefícios de todos os povos que possam, direta ou indiretamente, serem impactados por iniciativas de má gestão ou degradação dos recursos comuns. Estes interesses atendem diretamente aos princípios do desenvolvimento sustentável.

5.2.2. Os ODSs e as problemáticas ambientais brasileiras

Dentre as iniciativas voltadas ao desenvolvimento sustentável propostos pela ONU na Eco 92, a Agenda 21 não se mostrou efetiva. A maior parte dos objetivos não havia sido alcançada quando da realização da conferência da ONU sobre Desenvolvimento Sustentável, denominada de Rio +20, em 2012. Neste novo encontro, sobre a perspectiva ambiental, novos acordos foram firmados, com o intuito de preservar a biodiversidade e o desenvolvimento econômico ambientalmente sustentável (UNITED NATIONS, 2012). Dentre os principais avanços, o estabelecimento dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) (ONU, 2015a), em alinhamento com os Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (ODM) (ONU, 2015b), propõe-se a ser uma ferramenta de fácil aplicação e entendimento. Através de ações pré-definidas, aplicáveis por qualquer nação, busca-se a preservação dos recursos naturais e o desenvolvimento social e econômico em equilíbrio com o meio ambiente.

Neste contexto, o ODS 14 – “Conservação e uso sustentável dos oceanos, dos mares e dos recursos marinhos para o desenvolvimento sustentável” (ONU, 2017, 2019b; ONU

²⁷ A governança sobre os mares e oceanos tem seu contexto conceitual estabelecido em uma época recente, a partir de 1980, quando as práticas eficientes, estruturadas, imparciais e responsáveis passaram a ser exigência internacional no tocante às questões de gestão de recursos e desenvolvimento com viés sustentável (MORE; REI, 2012). Ainda que em um contexto político-econômico sob a óptica liberal, conforme as diretrizes propostas pela ONU buscava-se o desenvolvimento igualitário, em que o crescimento econômico não interferisse em questões conservacionistas.

BRASIL, 2017a), vem de encontro direto às questões relativas aos eventos de poluição marinho-costeiro. De acordo com este objetivo, nos seus subitens 14.1 e 14.2, são metas a redução da poluição marinha de todos os tipos, inclusive aquelas de fonte continental-costeira, e a gestão focada para proteção de sistemas marinhos para evitar impactos adversos significativos (ONU BRASIL, 2017a). Entretanto, a relação deste ODS com os impactos provenientes de rejeitos de mineração ainda não estrutura ações ou propõe planos de mitigação nas regiões marinhas. Adicionalmente, a restauração ecológica e o desenvolvimento sustentável em áreas impactadas por esta classe de poluentes ainda é tema recente, não incluso na legislação brasileira.

No caso específico do acidente com a barragem de Fundão, o ODS 14 não será alcançado no período idealizado e proposto. Considerando o tempo de residência dos metais presentes na pluma de rejeitos, e a necessidade de uma maior escala espaço-temporal para o desenvolvimento de pesquisas científicas de monitoramento e restauração ambiental, o atendimento ao ODS 14 para o quinquênio 2020-25 não se apresenta como uma realidade concreta. Neste contexto, espera-se que a governança nacional possa fomentar políticas públicas para a prevenção e mitigação dos impactos da atividade mineradora em zonas costeiras, em detrimento dos processos de mitigação e restauração dos impactos gerados pela ineficácia à prevenção da ocorrência dos acidentes.

Incorporar medidas mais severas e em alinhamento com os ODSs na nossa legislação será, possivelmente, uma forma de atingir os objetivos propostos para a conservação dos recursos naturais marinhos. Além do ODS 14, o acidente da barragem de Fundão e a dispersão dos rejeitos também interfere, direta e indiretamente, no alcance de outros objetivos propostos pela ONU para a governança brasileira. Alguns exemplos de outros ODSs influenciados pela contaminação dos rejeitos são apresentados na Tabela 1, através de um ensaio crítico sobre a relação destes ODSs com o acidente em Fundão. O estímulo à aplicação dos objetivos traçados pelos ODSs da ONU é de fundamental importância para um estado de bem-estar socioambiental e plena soberania nacional sobre suas águas marinhas e costeiras.

5.2.3. Gestão dos impactos dos rejeitos de mineração e as ameaças às florestas submersas brasileiras

Com base no arcabouço previamente apresentado é notório que a governança do território nacional e da Amazônia Azul falhou em relação à gestão do acidente de Mariana, e aos impactos que a pluma de rejeitos trouxe para a zona costeira brasileira. Sem as devidas e

apropriadas medidas de contenção, extensas áreas de elevada importância para a conservação da biodiversidade foram impactadas. Com isto, os impactos sobre as florestas submersas brasileiras ainda não podem ser completamente compreendidos e mensurados, nem quanto à extensão nem quanto à escala temporal da propagação dos efeitos emergentes que a presença de metais e mudanças nos parâmetros abióticos (*e.g.* aumento da turbidez e variações na escala de pH) podem ocasionar.

Tabela 1: ODSs cujos cumprimentos são afetados pela deposição dos rejeitos da lama do acidente na barragem de Fundão.

ODS	Impacto devido ao rejeito	Descumprimento à meta	Medida de mitigação
ODS 2 – “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável”	-Suspensão da atividade pesqueira artesanal e a incompleta retomada da atividade; -Limitação à pesca e à aquicultura.	Subitem 2.3 – inviabiliza o aumento da renda dos pescadores e comunidades pesqueiras tradicionais.	-Monitoramento da qualidade de água e dos recursos pesqueiros; -Medidas de educação ambiental e divulgação por entidades de saúde, para evitar o consumo de pescados contaminados oriundos de área impróprias.
ODS 3 – “Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todas e todos, em todas as idades”	-Potencial risco dos elementos metálicos à saúde humana; -Efeitos e manifestação crônicos; -Exposição e/ou consumo de água e/ou alimentos contaminados.	Subitem 3.9 – propõe redução de mortes e/ou doenças ocasionadas por produtos químicos perigosos.	-Monitoramentos de médio e longo prazos da qualidade de água e dos alimentos; -Acompanhamento de registros de doenças junto ao Sistema Único de Saúde.
ODS 8 - “Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo e trabalho decente para todas e todos”	-Comprometimento de atividades econômicas locais tradicionais; -Redução do turismo e atividades recreativas.	Subitem 8.9 - estimula a promoção do turismo sustentável.	-Restauração da qualidade de água; -Promoção de atividades recreativas compatíveis com a qualidade ambiental; -Reintegração da comunidade com atividades econômicas alternativas e culturalmente compatíveis.

Fonte: Compilação e interpretação crítica da autora, baseado em ONU BRASIL, 2017b; ONU BRASIL, 2017c; DURUIBE, OGWUEGBU, EGWURUGWU, 2007.

A costa do Espírito Santo possui uma das maiores diversidades biológica da costa brasileira. Esta diversidade está relacionada à abundância e heterogeneidade de nichos relacionados a sistemas recifais biogênicos (AMADO-FILHO; PEREIRA-FILHO, 2012). Estes organismos representam os maiores fixadores de carbono na forma de carbonato biogênico do Atlântico (AMADO-FILHO et al., 2012). Seu papel ecossistêmico, e toda a biodiversidade associada ao espaço de nicho construído, são ameaçados devido ao avanço da pluma de rejeitos, que continuamente drenam pela foz do Rio Doce, e pela ressuspensão dos sedimentos depositados na zona estuarina (HATJE et al., 2017). No compartimento bentônico, a costa do Espírito Santo é uma região com alta frequência de cobertura de corais e algas coralinas crostosas, além de expressiva em biomassa de bancos de rodolitos (AUED et al., 2018; CARVALHO et al., 2019). Com estes fatos, observa-se que a não gestão de impactos de poluição, dentre os quais os rejeitos de mineração figuram, pode causar severos prejuízos ao potencial econômico e à sustentabilidade ecológica dos sistemas marinhos brasileiros.

Outro ponto a ser ressaltado é o potencial de dispersão da pluma. De acordo com dados de MARTA-ALMEIDA et al. (2016) e MAGRIS et al. (2019), os autores demonstraram o potencial de espraiamento do rejeito, especialmente seu avanço sobre importantes áreas de conservação. Dentre estas, a APA Costa das Algas, que juntamente com o PARNA Marinho dos Abrolhos constitui importante refúgio para conservação da biodiversidade de algas bentônicas e bancos de rodolitos. No relatório apresentado por Teixeira, Sá e Dergam (2019a), a APA Costa das Algas foi uma das áreas mais significativamente atingidas, com deposição visual de rejeitos e alterações severas nas concentrações de metais em relação à Resolução CONAMA nº 357/05. Os dados de coleta e monitoramento dos bancos de macroalgas necessitam de maior escala temporal para inferências a respeito de variações na diversidade, cobertura dos bancos e abundância (TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019a). Entretanto, modificações na comunidade fitoplanctônica, indicando mudanças na sua composição e variações no conteúdo de clorofila são registradas (TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019a, 2019f). Sendo assim, ainda não há o real conhecimento da dimensão dos impactos ecológicos e sistêmicos que a dispersão dos rejeitos possa exercer, nem a escala temporal em que poderá ainda afetar as comunidades bentônicas e os bancos de macroalgas do Brasil. Por esta razão, monitoramentos e ações de mitigação de longo prazo são imperativos, para a avaliação e a restauração da funcionalidade sistêmica e das cadeias tróficas.

Conforme obtido nos presentes capítulos experimentais, a exposição à lama como contaminante interferiu negativamente na fisiologia do *Sargassum*, e especialmente, na sua interação biológica de epifitismo com a alga do gênero *Hypnea* (COSTA et al., 2019a, 2019b).

Em oposição, registra-se nos monitoramentos de campo um aumento da abundância e extensão da cobertura dos bancos de *Sargassum* spp. em detrimento a outras algas foliares (TEIXEIRA; SÁ; DERGAM, 2019a). Desta forma, os efeitos de longo prazo em relação à abundância, resiliência e dispersão da alga parda ainda devem ser monitorados, bem como a dinâmica populacional de outras espécies da assembleia e as interações entre espécies algais. Assim, será possível fomentar políticas de restauração e/ou manejo, para a adequada reestruturação destes ambientes.

Assim sendo, o comprometimento com o investimento em ciência e tecnologias para o monitoramento dos bancos de algas marinhas é imperativo para a conservação dos recursos marinhos e o desenvolvimento sócio-ambientalmente sustentável do mar. Através do alinhamento com as diretrizes internacionais que guiam os ODS, será possível conservar e restaurar os ambientes costeiros e a assembleia de macroalgas na costa do Espírito Santo, garantindo também a conservação de parcela significativa da biodiversidade da Amazônia Azul. Ao focar em desenvolvimento intelectual e tecnológico, e a melhoria na capacitação de recursos humanos, poderemos prover as necessárias ferramentas para a mitigação dos impactos resultantes dos rejeitos de mineração do acidente da barragem de Fundão sobre os ecossistemas marinhos. A tomada de decisões com fundamento técnico e a modificação da legislação são imperativos para o desenvolvimento de uma soberania do mar ética, responsável e ambientalmente amigável.

6. DISCUSSÃO GERAL

O presente estudo contribuiu com dados teóricos e experimentais significativos, tanto para o planejamento de estudos de impactos de metais traço sobre macroalgas marinhas, quanto pela mensuração destes impactos sobre a fisiologia de algas estruturadoras relevantes para a costa brasileira e o Atlântico Sul. Além disso, reforçam a importância do uso de marcadores bioquímicos na avaliação dos impactos de metais traço e a necessidade de incorporação de interações biológicas, como o epifitismo, nos delineamentos experimentais. As discussões relacionadas à legislação brasileira e aos impactos relacionados aos acidentes de mineração deixam evidente a importância da aproximação entre as ciências ambientais e a sociedade. Assim, a ciência pode apresentar sua perspectiva a cerca dos problemas ambientais e apontar possíveis soluções, permitindo a apropriação intelectual e a identificação social dos atores do processo de mitigação dos impactos.

Desde a década de 1960, observou-se o aumento da frequência de ocorrência e gravidade dos eventos extremos de rompimento de barragens de rejeitos (RICO et al., 2008; RICO; BENITO; DÍEZ-HERRERO, 2008). Nota-se uma progressiva alteração do ambiente marinho no que diz respeito não apenas à introdução de contaminantes, mas também à complexidade que estes poluentes apresentam, ao formarem misturas com elementos inorgânicos e orgânicos. A mistura e interação de diversos componentes poluidores, com a formação dos chamados coquetéis químicos (LAWES; CLARK; JOHNSTON, 2016), traz à tona discussões abrangentes quanto aos impactos que possam exercer. Especialmente em se tratando da gestão de ambientes costeiros, é necessária a maior compreensão e previsibilidade das consequências que estes contaminantes podem causar no ambiente devido às suas propriedades emergentes (CLEMENTS; NEWMAN, 2002).

Os rejeitos de mineração possuem potencial de impactos ainda pouco conhecidos nos sistemas marinhos, uma vez que a complexidade e variabilidade de sua composição podem induzir diferentes efeitos sobre a biota. O desconhecimento dos efeitos também se deve às características físicas e químicas do local de deposição, uma vez que as condições abióticas do meio marinho são determinantes para a transformação de um metal traço, pela formação de complexos, imobilização ou biodisponibilidade (KENNISH, 1998; OLSEN; CUTSHALL; LARSEN, 1982; RAO et al., 2015; ZENG; CHEN; ZHUANG, 2015). Conforme discutido previamente nos resultados experimentais (veja discussões dos artigos apresentados nos Capítulos II e III), as características físicas e químicas do meio são determinantes para a especiação química de substâncias metálicas. Isto se deve à influência que parâmetros como

temperatura, pH, salinidade e turbidez exercem na capacidade de liberação de cátions livres, com diferentes potenciais redox de acordo com cada elemento, ou a formação de complexos com compostos orgânicos e inorgânicos (NIKINMAA, 2013; QUEIROZ et al., 2018). De acordo com a sua forma química, os elementos metálicos podem se apresentar para a biota em frações indutoras de toxicidade (HEM, 1972; NIKINMAA, 2013).

Relacionado aos resultados presentemente obtidos, observou-se experimentalmente que o efeito de toxicidade pela presença dos metais do rejeito foram intensificados pela alteração da escala de pH, com a indução da acidificação. Assim, as respostas fisiológicas obtidas, especialmente com redução nas taxas de crescimento e aumento na síntese de compostos com função defensiva e antioxidante (como compostos fenólicos, carotenoides e atividade enzimática) se observaram não apenas pela exposição aos metais traço. Inclusive, destaca-se que o efeito indireto da acidificação foi tão ou mais nocivo que os metais presentes no rejeito, indicando que outros vieses de análise, que incluam as mudanças abióticas do meio, devam ser consideradas na avaliação de toxicidade por metais traço de rejeitos de mineração.

Especificamente para as algas avaliadas, dos gêneros *Sargassum* e *Hypnea*, reconhecidos pela sua importância ecológica como estruturadores de habitat, buscou-se a compreensão de como as alterações fisiológicas podem ter reflexos sobre as relações bióticas. As algas do gênero *Sargassum* são responsáveis pela formação de florestas submersas em zonas temperadas e tropicais (ALMADA; YONESHIGUE-VALETIN; NASSAR, 2008; COUTINHO; ZALMON, 2009; SZÉCHY; PAULA, 2000; TURRA et al., 2013; VILLAÇA, 2009), com equivalência em função e estrutura às florestas de kelps em regiões temperadas e frias. Globalmente, observa-se o progressivo desaparecimento de bancos de *Sargassum* em decorrências de distúrbios antrópicos (KOMATSU et al., 2014; TERAWAKI et al., 2001, 2003; THIBAUT et al., 2005). Por sua vez, as algas do gênero *Hypnea* são epifíticas de diferentes espécies de macroalgas, e para a costa brasileira, registra-se a sua intrínseca relação de epifitismo com *Sargassum* spp (FACCINI; BERCHEZ, 2000). Estas algas são exploradas na algicultura como recurso para obtenção do ficocolóide carragenana (NAUER; CASSANO; OLIVEIRA, 2015; MARINHO-SORIANO, 2017). Entretanto, até o presente momento, avaliações experimentais dos efeitos de metais traço sobre parâmetros fisiológicos para ambas as espécies foram produzidos apenas em ensaios unialgais. A ausência de estudos simulando a interação de epifitismo, e a influência da interação biológica sobre as respostas de toxicidade devido a rejeitos de mineração, constituem uma inovação contributiva para a ciência. Considerando que em condições naturais a interação biológica é ocorrente, a ausência de dados pretéritos desta condição de exposição é uma lacuna a ser preenchida.

Os dados obtidos demonstram que as espécies apresentaram estratégias de resistência diferenciadas frente à exposição ao rejeito, e que a presença do contaminante interferiu de forma significativa na interação biológica de epifitismo entre elas. Dados dos experimentos evidenciaram também que a interação de epifitismo influenciou negativamente a capacidade de resistência de *Sargassum* na presença dos metais traço do rejeito e indução de acidificação do meio. Apesar de não presentemente investigado, possíveis efeitos alelopáticos negativos entre as espécies, com competição por recursos, podem ter influenciado os mecanismos de resposta de ambas as algas aos mesmos estressores, mas expostas em condições individuais ou associativas. Assim, recomenda-se que estudos futuros incorporem considerações de metabólitos secundários (*e.g.* aminoácidos, frações de compostos fenólicos, terpenos) (MACÍAS et al., 2007), para inferências de efeitos alelopáticos devido à exposição aos rejeitos de mineração.

No presente estudo, a manipulação *in vitro* em escala experimental mostrou alterações nas propriedades físicas e químicas da água, expressas principalmente na modificação da escala de pH, induzidas pela presença de rejeito de mineração. Outros fatores abióticos não avaliados, como aumento da turbidez pela presença de sedimentos em suspensão e consequentes limitações à disponibilidade de luz, por exemplo, podem ser alterados pela presença do rejeito. Infelizmente, nem todos os parâmetros podem ser simultaneamente manipulados, devido principalmente a limitações de recursos, materiais e humanos, e à complexidade de monitoramento de sistemas experimentais multifatoriais. Assim, os dados presentemente obtidos mostram apenas uma fração dos efeitos interativos entre metais traço e parâmetros abióticos da qualidade de água. Por isto, torna-se fortemente recomendado que futuros estudos avaliem outros aspectos abióticos da introdução de rejeitos, mensurando os impactos de diferentes fatores atuando interativamente sobre as repostas fisiológicas de macroalgas.

Considerando ainda os dados experimentais obtidos, houve uma significativa interferência na resistência de *Sargassum* pelo efeito de acidificação. Entretanto, dados do relatório desenvolvido por Teixeira, Sá e Dergam (2019a) evidenciam o aumento da cobertura dos bancos de *Sargassum* na região próxima à foz do Rio Doce, quase 5 anos após o derrame, e supressão de algas foliares como as pertencentes ao gênero *Ulva*. Com isto, há a percepção de que os parâmetros abióticos são determinantes para a persistência do grupo ou a supressão das espécies associadas, e que outros fatores ambientais contribuem para a sua resistência, em detrimento do efeito negativo exercido pela acidificação e presença dos metais traço. No presente caso, como indicam Teixeira, Sá e Dergam (2019a), a deposição de camadas de sedimentos finos parece ser indicativo do insucesso de sobrevivência de outras espécies, mas

um fator que não afetaria a fisiologia de *Sargassum*. Portanto, a turbidez e a deposição de camadas de sedimentos são parâmetros fundamentais para explicar as alterações dos seus bancos, e merecem avaliações experimentais mais detalhadas para projetos futuros. Contudo, pode-se considerar que *Sargassum* spp. é um bom indicador dos distúrbios decorrentes de acidentes de mineração, e que as avaliações *in vitro* devem ser complementadas com avaliações *in situ* e vice-versa, para a real compreensão dos impactos fisiológicos decorrentes da exposição a metais traço e modificações abióticas.

Em se tratando de parâmetros a serem considerados em avaliação de impacto de metais traços, a revisão sistemática da literatura mostrou que os esforços amostrais e analíticos são muito discrepantes, não apenas pelos organismos utilizados, mas também pelas diferenças observadas entre os descritores empregados. Em um cenário global de monitoramento, observou-se uma lacuna de conhecimento a respeito das características ambientais onde elementos metálicos são depositados. Nos estudos compilados, a ausência de monitoramento dos dados abióticos é predominante, ou seja, reflete uma ausência espaço-temporal de dados a respeito da presença de metais potencialmente tóxicos, suas concentrações e as interações que possuem com a biota. Especificamente, muitos estudos apresentaram resultados de concentração de metais nos talos de diversas macroalgas, indicando sua elevada acumulação. Entretanto, não há a verificação dos parâmetros ambientais que evidenciem o grau de contaminação dos ambientes, ou mesmo da redução da concentração destes metais em um processo de recuperação.

Sendo assim, a presente revisão de literatura reforça a necessidade de monitoramento abiótico, para o monitoramento da biodisponibilidade dos metais traço, das formas químicas em que se encontram e do efeito de toxicidade que exercem para as algas. Esta avaliação é contributiva para a compreensão das consequências fisiológicas e das modificações na assembleia devido a processos de seleção de espécies tolerantes, como será discutido mais adiante. Com base a esta necessidade de monitoramento, alguns parâmetros descritivos da avaliação dos impactos fisiológicos podem ser sugeridos para a complementação dos estudos de campo e dos ensaios de laboratório. Estes apontamentos são elencados na Tabela 1, com base em Nikinmaa (2013) e Zeng, Chen e Zhuang (2015).

Paralelamente, levanta-se a necessidade de construção de um banco de dados que seja capaz de abarcar e contemplar comparações dos efeitos que os poluentes metálicos possam induzir em regiões geográficas distintas. A estruturação das florestas submersas, compostas pelos bancos de macroalgas, contempla grupos e famílias com funções sistêmicas similares. Além disso, ressalta-se a prevalência das algas pardas no papel de estruturadoras sistêmicas.

Embora com variações quanto à distribuição geográfica dos gêneros e espécies, as características de comportamento bioquímico podem ser consideradas similares para o grupo (BALBOA et al., 2013). As algas pardas marinhas são capazes de sintetizar uma ampla gama e elevadas doses de compostos antioxidantes e metabólitos secundários, capazes de realizar a detoxificação de contaminantes, imobilizando-os na biomassa algal. Muitos trabalhos na literatura revisam o potencial que as algas pardas têm de sintetizar estes compostos, especialmente os compostos fenólicos, reconhecidamente como a principal estratégia de defesa do grupo contra diferentes estressores físicos e químicos (BALBOA et al., 2013; DAVIS; VOLESKY; MUCCI, 2003; HAUGAN; LIAAEN-JENSEN, 1994; VINAYAK; SABU; CHATTERJI, 2011). Com isto, estes metabólitos seriam marcadores replicáveis e comparáveis em diferentes estudos, devendo receber a devida atenção para o seu registro e replicação.

Ainda no contexto de replicabilidade, a aplicação de descritores tem papel fundamental e equivalente ao da seleção dos modelos biológicos. Isto, porque os marcadores aplicados devem ter significância na exploração dos efeitos de toxicidade e representatividade em ações de monitoramento. O uso de técnicas experimentais, analíticas e o uso de marcadores é um ponto de debates e discussões entre pesquisadores. Isto porque existem diferentes protocolos analíticos, e a exequibilidade e poder comparativo entre estudos e experimentos deve considerar a variabilidade dos métodos, a relevância do descritor e a viabilidade de recursos (humanos e materiais) disponíveis para sua execução. As diferenças na condução dos delineamentos experimentais, coleta de dados e marcação dos parâmetros podem enviesar a conclusão dos estudos, de acordo com o histórico dos procedimentos adotados (BORER et al., 2014; PERGENT-MARTINI et al., 2005; STEPHEN R. CARPENTER, 1996).

Tabela 1: Considerações sobre efeitos que os rejeitos de mineração exercem nos parâmetros abióticos e bióticos, para incorporação de observações em amostragens e monitoramento em campo.

		Efeitos induzidos	Parâmetros de monitoramento sugeridos
Mudanças em parâmetros abióticos		-Rejeitos de mineração são capazes de induzir variações na escala de pH; -A ruptura do tamponamento do pH marinho pode induzir maior efeito de toxicidade.	a. Testes de concentração de metais; b. Avaliação de biodisponibilidade de metais; c. Avaliações experimentais da interação entre metais e parâmetros abióticos (<i>e.g.</i> turbidez, salinidade, temperatura e pH).
Interação de processos em diferentes escalas	Escala local	-Interação com diferentes processos de poluição, especialmente eutrofização; -Elementos metálicos afetam o balanço da disponibilidade de nutrientes.	a. Avaliação florística; b. Monitoramento dos parâmetros de diversidade, abundância e riqueza; c. Avaliação de bioindicadores; d. Avaliação das interações biológicas da assembleia.
	Escala global	-Interação com o processo de acidificação marinha em zonas costeiras.	a. Avaliação experimental de estressores; b. Interação entre parâmetros locais e parâmetros globais.

Fonte: autoria própria, baseado em NIKINMAA, 2013 e ZENG; CHEN; ZHUANG, 2015.

Conforme os dados obtidos na revisão de literatura, a observação dos grandes grupos de descritores evidenciou fragilidades em níveis mais altos da proposição de medidas de monitoramento. Dentre os grupos de descritores observados, os que se referem ao apontamento de espécies ou grupos de algas para os propósitos de monitoramento, biomarcação e bioacumulação foram predominantes. Entretanto, estes apontamentos possuem fragilidades quando não incorporam análises ambientais, tais como a coleta de dados abióticos e repetições que considerem variabilidade espaço-temporal. Sendo assim, o entendimento do histórico de contaminações de uma determinada região e os possíveis efeitos emergentes de toxicidade não podem ser bem compreendidos ou interpretados. Outro ponto a ser destacado é que as discrepâncias e lacunas entre os descritores aplicados torna difícil a comparação entre os efeitos que os metais exercem sobre parâmetros bióticos, intrínsecos a indivíduos e populações (*e.g.* fisiologia, morfologia), e ecológicos (*e.g.* riqueza, abundância, biomassa, diversidade).

As interações entre descritores são também necessárias à compreensão da dinâmica que os rejeitos de mineração exercem em níveis mais altos da organização biológica, de comunidades a ecossistemas. Sendo assim, é possível concluir que há uma necessidade emergente em observar com cautela os parâmetros descritivos dos efeitos que metais exercem sobre algas bentônicas. Para uma adequada avaliação dos efeitos de toxicidade em organismos fotossintéticos, alguns descritores devem ser priorizados, para a avaliação de processos fisiológicos fundamentais, como a produção primária, incorporação de carbono em biomassa e ciclagem de nutrientes. Uma sugestão crítica destes descritores é apresentada na Tabela 2, para que futuras comparações entre estudos, e subsídios a discussões dos impactos de metais traço à fisiologia de algas sejam fundamentadas. Alguns dos parâmetros sugeridos não foram presentemente aplicados na avaliação das alterações fisiológicas observadas experimentalmente. Entretanto, compreende-se que as limitações aos descritores não devem ser impeditivos ao reconhecimento de sua importância, e futuras incorporações aos procedimentos avaliativos dos efeitos de toxicidade de metais traço em macroalgas. Somente com uma melhor aplicação de marcadores e parâmetros de monitoramento, associados à uma adequada seleção de modelos biológicos e disseminação padronizada dos resultados obtidos, será possível evitar enviesamentos e ineficácia na avaliação dos impactos de rejeitos de mineração em ambientes naturais. E ainda que as avaliações sejam realizadas em escala experimental, a correta aplicação e padronização dos parâmetros descritivos poderá auxiliar em uma melhor aplicação dos resultados observados para extrapolações em escalas maiores de avaliação dos impactos para espécies-chave e estruturadoras sistêmicas.

Tabela 2: Descritores sugeridos para avaliação dos efeitos fisiológicos de metais traço em macroalgas bentônicas, conforme discussões da autora.

Descritor	Medida de distúrbio observada
Taxa de crescimento	a. Variações na estrutura populacional; b. Redução da biomassa dos bancos.
Produtividade bruta, líquida e respiração	a. Avaliação do balanço de oxigênio; b. Avaliação de condições de hipóxia e anóxia.
Incorporação de nutrientes	a. Variações na ciclagem de nutrientes; b. Relação com a variação nas taxas de crescimento.
Pigmentos fotossintéticos e eficiência fotossintética	Avaliação da manutenção da produtividade primária.
Metabólitos secundários e atividade enzimática	a. Quantificar e qualificar a síntese de metabólitos defensivos; b. Avaliar a manutenção do <i>fitness</i> ; c. Avaliar a capacidade de resistência ao distúrbio; d. Avaliar possíveis interações alelopáticas.
Morfologia e ultraestrutura	a. Avaliar alterações morfológicas que impliquem em redução da reprodução ou deformação nos talos; b. Identificar processos celulares que impliquem em alterações no crescimento e anatomia.
Parâmetros ecológicos	a. Avaliar alterações na abundância; b. Avaliar alterações na distribuição dos bancos; c. Avaliar a composição e estrutura da assembleia; d. Avaliar alterações na riqueza

Fonte: Autoria própria.

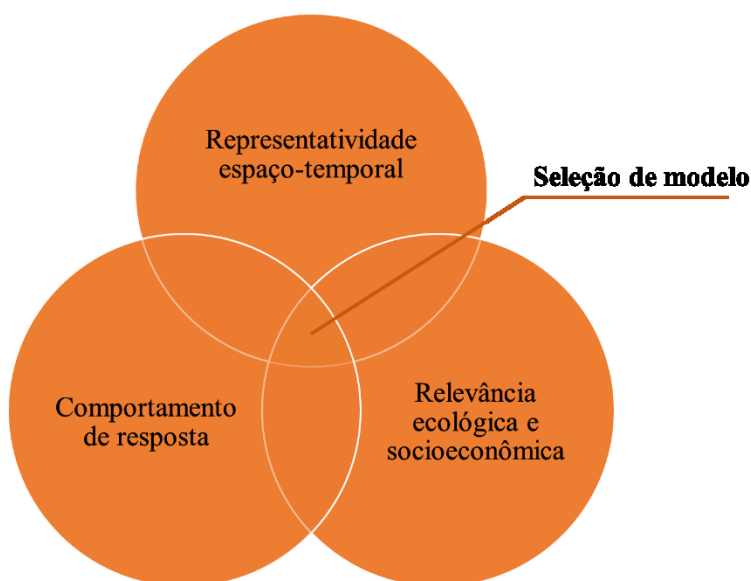
Atualmente, a normativa do CONAMA nº 430 de 2011 aponta que, para deposição de efluentes em corpos aquáticos marinhos e salobros, testes ecotoxicológicos com organismos de ao menos dois níveis tróficos devem ser conduzidos²⁸ (CONAMA, 2011). Entretanto, por não definir especificamente quais organismos marinhos devam ser usados como modelo para a

²⁸ De acordo com os testes, a concentração de poluentes no efluente depositado deve ser menor que:

- i. A sua Concentração do Efluente no Corpo Receptor (CECR, %);
- ii. A sua concentração de acordo com os testes de toxicidade crônica (Concentração de Efeito Não Observado (CENO)); e,
- iii. A sua concentração de acordo com os testes de toxicidade aguda (Letalidade Mediana (CL50)).

avaliação de toxicidade, é de se propor que modelos experimentais sejam avaliados e priorizados. Os modelos aplicados em testes devem considerar a sua relevância ecológica e socioambiental para o funcionamento sistêmico. Além disso, o seu comportamento de resposta deve ser bem compreendido, e a mensuração do efeito facilmente replicável. E por fim, deve ter representatividade espaço-temporal nas assembleias avaliadas. A relação entre estas esferas de requisitos necessários à seleção de um modelo de monitoramento está apresentada na Figura 1. Com a cautela nesta seleção de modelos, medidas mais efetivas para monitoramento, focais e com potencial comparativo, pautadas em atualizações da legislação vigente, podem ser propostas para a conservação da biodiversidade na Amazônia Azul.

Figura 1: Parâmetros a serem considerados no processo de seleção de modelos biológicos representativos para avaliação dos impactos de elementos metálicos. A interação entre os fatores descritos nas esferas aproxima o modelo selecionado da maior representatividade para um sistema biológico.



Fonte: A autoria própria.

Ao constatar a diversidade de modelos biológicos, observados na revisão de literatura, percebe-se a necessidade de fortalecimento de duas vertentes de esforços no desenvolvimento das pesquisas dos efeitos de poluentes metálicos sobre algas bentônicas. O primeiro, relativamente bem amostrado, refere-se à representatividade local/regional dos modelos de avaliação. Isto porque deve-se considerar a particularidade dos sistemas biológicos, em que espécies e gêneros sejam significativos na estruturação e funcionamento local de comunidades. Ainda que avaliações sejam realizadas *in vitro*, em pequena escala de micro ou mesocosmos, a seleção de modelos que reflitam a maior abundância ou papel-chave em uma região é

significativo para que extrapolações e inferências possam ser construídas, de forma a fomentar medidas de monitoramento, gestão e conservação destes grupos e seus ambientes. Com isto, espera-se que sejam protegidos a biodiversidade e o funcionamento sistêmico, e os serviços dele derivados (BENGTSSON, 1998; LAWTON; JONES, 1995; MILLS; DOAK, 1993).

O maior esforço amostral e replicabilidade em modelos de monitoramento deve ser estimulado com o foco em espécies bioconstrutoras e/ou bioestruturadoras, pelo seu papel sistêmico. Entretanto, deve-se também estimular estudos das interações que os organismos apresentam na assembleia. Relações harmônicas entre espécies, tal como o epifitismo, ou mesmo a relação desarmônica de competição, com indução de alelopatia, podem ser moduladas e influenciadas na presença de contaminantes, conforme previamente discutido. Ainda em acordo com o demonstrado nos presentes resultados experimentais, a presença de contaminantes induz respostas bioquímicas de defesa diferenciadas quando consideramos as interações biológicas às quais as algas estão submetidas. Sendo assim, avaliações do estresse causado por contaminantes metálicos devem considerar maior esforço amostral em espécies estruturadoras e suas interações biológicas estabelecidas para o monitoramento ambiental e restauração dos bancos naturais.

Outro fator relevante para a seleção de modelos é referente à estratégia de vida destes organismos. O grupo das algas pardas, o mais representativo nos estudos compilados no Capítulo I, tem hábito de vida *k*-estrategista. Por sua vez, as algas verdes, segundo grupo mais representativo em frequência de estudos, têm hábito de vida *r*-estrategista²⁹. Já as algas vermelhas são aquelas com ciclos de vida complexos, e alguns grupos apresentam até três fases, com diferentes morfologias de talos (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007). As diferentes fases de um ciclo de vida podem apresentar diferentes respostas à toxicidade de metais traço, o que pode induzir ao sucesso ou não da capacidade de resistência às condições ambientais. Assim, considerar espécies com diferentes estratégias reprodutivas e as fases de seus ciclos de vida possuem relevância para avaliação dos impactos de poluentes metálicos.

As espécies *r*-estrategistas são aquelas que prevalecem em uma comunidade desestruturada, e que podem indicar, pelo seu rápido crescimento, distúrbios sazonais no ambiente. Os gêneros *Ulva* e *Enteromorpha*, por exemplo, seriam bons modelos para avaliação de rápida resposta à presença de contaminantes, uma vez que formam florações em condições

²⁹ Do ponto de vista ecológico, as espécies *r*-estrategistas são aquelas que possuem ciclos de vida curtos, crescimento rápido da biomassa e são boas competidoras pela ocupação de nicho em ambientes submetidos a distúrbios. Por sua vez, as espécies *k*-estrategistas são aquelas que têm um ciclo reprodutivo mais longo, complexo, muitas vezes com alternâncias mórficas entre estágios de vida esporofíticos e gametofíticos, e longa prevalência na comunidade (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007; RICKLEFS, 2003).

eutróficas, chamadas de marés verdes (FLETCHER, 1996), além de serem tolerantes ao efeito de poluentes metálicos (BASTOS et al., 2019; FARIAS et al., 2017; VALDÉS et al., 2018). Por sua vez, as espécies *k*-estrategistas, como as do gênero *Sargassum*, são aplicáveis como registro temporal das alterações na dinâmica das comunidades. Espécies *k*-estrategistas possuem estratégias bioquímicas para a maior resistência à distúrbios ambientais, refletindo-se na elevada capacidade de síntese de metabólitos com função antioxidante (TORRES et al., 2008). Com isso, indicam as mudanças ambientais ocorridas em um sistema e o histórico de poluentes introduzidos. Com isto, pode-se considerar que os modelos biológicos aplicados nos presentes ensaios experimentais são relevantes e contextualizados para avaliação dos efeitos de metais traço dos rejeitos da barragem de Fundão sobre macroalgas. E que estes grupos devem ser atentamente monitorados, evidenciando processos de reestruturação ambiental e reestabelecimento de interações epifíticas na assembleia.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo, além de sistematizar o conhecimento, trouxe novas perspectivas sobre interações de variáveis bióticas e abióticas que intensificam os efeitos de impactos negativos de rejeitos de mineração sobre a fisiologia e ecologia de algas bentônicas. Verificou-se que o gênero *Sargassum*, em todo globo, é um modelo biológico relevante para a avaliação de impactos ambientais derivativos de poluição por elementos metálicos. Além disso, sua intrínseca relação com a alga do gênero *Hypnea*, através do epifitismo, evidencia a fragilidade das interações bióticas sob exposição ao rejeito de mineração. A ausência de estudos pretéritos dos efeitos fisiológicos de metais traço em interações biológicas de algas demonstra a necessidade de seu monitoramento e avaliação. Assim, justifica-se a aplicação destes modelos e dos delineamentos experimentais propostos para avaliar os possíveis efeitos resultantes da deposição de rejeitos de mineração em zonas marinho-costeiras.

Com esta contribuição experimental e os efeitos observados da exposição, objetiva-se o fomento à discussão da aplicabilidade do grupo *Sargassum* e seus epífitos como indicadores da qualidade de água em ambientes marinhos eventualmente atingidos pelos rejeitos de mineração. A consideração de um modelo cosmopolita mostra-se relevante e contextualizada em um movimento global de avaliações sobre os impactos antrópicos em regiões com ameaças por estressores múltiplos, como os rejeitos de mineração. Além disso, *Sargassum* é um modelo de avaliação que pode ser amostrado diferentes locais afetados por poluentes de origem antrópica, para avaliação dos impactos sobre um grupo que figura entre principais estruturadores dos bancos de macroalgas dos costões rochosos do Brasil.

A sensibilidade das espécies avaliadas em escala experimental reforça a importância do monitoramento dos bancos de *Sargassum*, para compreensão da dinâmica de reestruturação dos ambientes degradados pela pluma de rejeitos. Adicionalmente, o levantamento de dados abióticos é necessário, para a avaliação dos mecanismos de resistência das espécies sob o estresse de fatores múltiplos advindos do rejeito de mineração. Avaliações mais aprofundadas dos efeitos da variação local da escala de pH, da influência da turbidez e a interação com outros parâmetros abióticos será decisivo para a compreensão das respostas fisiológicas das macroalgas, individualmente e sob interação biótica de epifitismo.

A partir do acidente na barragem de Fundão em Mariana (MG), muitas lições devem ser aprendidas pela nossa governança, e principalmente, para que os impactos produzidos norteiem a produção de tecnologia e conhecimentos aplicados. Com estas iniciativas, ações efetivas de monitoramento e conservação podem ser estimuladas, fomentadas e fiscalizadas.

Mais que isso, a atualização de nossas legislações e a necessidade premente de uma fiscalização efetiva, preventiva, devem tornar-se prioridade por todos os gestores e esferas governamentais. Cabe também à sociedade civil e à comunidade científica a cobrança pelo princípio da precaução, fundamental para o desenvolvimento sustentável de toda a sociedade.

Estamos em um momento crucial para o desenvolvimento da humanidade, em que a conservação da biodiversidade e a manutenção dos serviços ecossistêmicos, a frente de quaisquer atividades econômicas, têm um valor agregado incomensurável. Assim, evitar que os impactos de rejeitos de mineração impactem grupos estruturadores é um comprometimento com a preservação dos processos sistêmicos no Atlântico Sul.

Por fim, entender e mitigar os impactos dos rejeitos de mineração em regiões marinho-costeiras é garantir que ações de poluição não dizimem a biodiversidade, o maior patrimônio nacional. O compromisso com a conservação e a restauração serão fator-chave para que acidentes como o de Mariana não sejam apenas registros históricos que mancham com lama a soberania nacional. O desenvolvimento de ciência aplicada, que fomente a gestão e políticas públicas, ainda tem grande potencial de desenvolvimento e criação de alternativas para mitigação dos impactos. Através do impulso criativo e proativo de nossa sociedade e da comunidade científica, será possível reverter um quadro de devastação que impacta o bem-estar das futuras gerações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W. J. et al. The Challenges of Hazard Identification and Classification of Insoluble Metals and Metal Substances for the Aquatic Environment. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 6, n. 6, p. 1019–1038, nov. 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Resolução nº 91 ANA de 2012, estabelece a periodicidade de atualização, a qualificação do responsável técnico, o conteúdo mínimo e o nível de detalhamento do Plano de Segurança de Barragem**. Brasília, Distrito Federal, 2012. Disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/resolucoes/2012/91-2012.pdf>. Acesso em: Agosto de 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. **Atlas da Energia Elétrica no Brasil**. 1. Ed. Brasília: ANEEL, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO. **Anuário mineral Brasileiro**. Brasília, ANM, 2019. Disponível em: http://www.anm.gov.br/dnpm/publicacoes/serie-estatisticas-e-economia-mineral/anuario-mineral/anuario-mineral-brasileiro/amb_2018.pdf. Acesso em: Setembro de 2019.

ALMADA, C. H. B. A.; YONESHIGUE-VALETIN, Y.; NASSAR, C. A. G. Aspectos populacionais de *Sargassum vulgare* C. Agardh (Ochrophyta, Fucales) na Ponta do Arpoador - Rio de Janeiro. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 02, p. 291–298, 2008.

ANM. **Cadastro Nacional de Barragens de Mineração**. DNPM, 2019. Disponível em: <http://www.anm.gov.br/assuntos/barragens/pasta-cadastro-nacional-de-barragens-de-mineracao>. Acesso em: Setembro de 2019.

ARANA, L. V. **Qualidade de água em aquicultura: princípios e práticas**. 3. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

ARAÚJO, S. M. V. GUIMARÃES et al. **Nota Técnica nº 4 ICMBioBrasil**, 2017.

ATKINS, J. P. et al. Management of the marine environment: Integrating ecosystem services and societal benefits with the DPSIR framework in a systems approach. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 2, p. 215–226, 2011.

AUED, A. W. et al. Large-scale patterns of benthic marine communities in the Brazilian Province. **PLOS ONE**, v. 13, n. 6, p. e0198452, 8 jun. 2018.

AZEVEDO, F. A. DE; LIMA, I. V. DE. Toxicocinética. In: AZEVEDO, F. A. DE; CHASIN, A. A. DA M. (Eds.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: RiMa, 2004. p. 27–92.

BALBOA, E. M. et al. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 1764–1785, 2013.

BASTOS, E. et al. Phytoremediation potential of *Ulva ohnoi* (Chlorophyta): Influence of temperature and salinity on the uptake efficiency and toxicity of cadmium. **Ecotoxicology**

and Environmental Safety, v. 174, n. January, p. 334–343, jun. 2019.

BENGTSSON, J. Which species? What kind of diversity? Which ecosystem function? Some problems in studies of relations between biodiversity and ecosystem function. **Applied Soil Ecology**, v. 10, n. 3, p. 191–199, nov. 1998.

BIANCHINI, A. **Relatório - Avaliação do impacto da lama/pluma Samarco sobre os ambientes costeiros e marinhos (ES e BA) com ênfase nas Unidades de Conservação. 1a Expedição do Navio de Pesquisa Soloncy Moura do CEPSUL/ICMBio**. Brasília Ministério do Meio Ambiente, Instituto Chico Mendes para a Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2016. Disponível em:

http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/DCOM_relatorio_revisado_atualizado_29_04_2016_AB.pdf

BIANCHINI, A. et al. **Relatório Anual, Programa de monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Integração dos principais impactos identificados nas Unidades de Conservação**. Vitória: [s.n.]. Disponível em:

http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_032_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

BLANKENSHIP, R. E. **Molecular Mechanisms of Photosynthesis**. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, 2002.

BORER, E. T. et al. Finding generality in ecology: a model for globally distributed experiments. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 5, n. 1, p. 65–73, jan. 2014.

BRASIL. **Lei nº 7.347 de 24 de Julho de 1985**. Disciplina a ação civil pública de responsabilidade por danos causados ao meio-ambiente, ao consumidor, a bens e direitos de valor artístico, estético, histórico, turístico e paisagístico (VETADO) e dá outras providências. Brasília, Distrito Federal: Casa Civil, 1985.

BRASIL. **Lei nº 8.078 de 1990**. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. Brasília, Distrito Federal: Casa Civil, 1990.

BRASIL. **Lei nº 8.617 de 1993**. Dispõe sobre o mar territorial, a zona contígua, a zona econômica exclusiva e a plataforma continental brasileiros, e dá outras providências. Brasília, Distrito Federal: Casa Civil, 1993.

BRASIL. **Lei nº 12.334 de 2010**. Estabelece a Política Nacional de Segurança de Barragens destinadas à acumulação de água para quaisquer usos, à disposição final ou temporária de rejeitos e à acumulação de resíduos industriais, cria o Sistema Nacional de Informações sobre Segurança de Barragens e altera a redação do art. 35 da Lei no 9.433, de 8 de janeiro de 1997, e do art. 4º da Lei no 9.984, de 17 de julho de 2000. Brasília, Distrito Federal: Casa Civil, 2010.

BRASIL, L. M.; PIRES, V. O que a lama nos deixou: reflexões sobre a tragédia de Mariana, a mídia e a mineração no Brasil. **Chroniques des Amériques**, v. 17, n. 3, p. 10, 2017.

BRITO, G. B. et al. Levels and spatial distribution of trace elements in macroalgae species

from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 10, p. 2238–2244, 2012.

BROWN, C. J. et al. Managing for Interactions between Local and Global Stressors of Ecosystems. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, 2013.

CALADO, H. et al. Multi-uses in the Eastern Atlantic: Building bridges in maritime space. **Ocean and Coastal Management**, v. 174, n. September 2018, p. 131–143, 2019.

CARDOSO, P. G. et al. The impact of extreme flooding events and anthropogenic stressors on the macrobenthic communities' dynamics. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 76, n. 3, p. 553–565, 2008.

CARMO, E. H.; TEIXEIRA, M. G. Desastres tecnológicos e emergências de saúde pública: o caso do derramamento de óleo no litoral do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, p. e00234419, 2020.

CARSON, R. **Primavera silenciosa**. 1. ed. São Paulo: Editora Gaia, 2010.

CARVALHO, V. F. et al. Environmental drivers of rhodolith beds and epiphytes community along the South Western Atlantic coast. **Marine Environmental Research**, p. 104827, out. 2019.

CHAPMAN, P. M. Integrating toxicology and ecology: Putting the “eco” into ecotoxicology. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 1, p. 7–15, 2002.

CHASIN, A. A. DA M.; PEDROZO, M. DE F. M. O estudo da Toxicologia. In: AZEVEDO, F. A. DE; CHASIN, A. A. DA M. (Eds.). . **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 2004. p. 340.

CLEMENTS, W. H.; NEWMAN, M. C. Introduction to Community Ecotoxicology. In: CLEMENTS, W. H.; NEWMAN, M. C. (Eds.). . **Community Ecotoxicology**. Inglaterra: John Wiley & Sons, 2002. p. 331.

CLEMENTS, W. H.; ROHR, J. R. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 9, p. 1789, 2009.

COLEMAN, F. C.; WILLIAMS, S. L. Overexploiting marine ecosystem engineers: potential consequences for biodiversity. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 17, n. 1, p. 40–44, jan. 2002.

CONAMA. **Resolução CONAMA nº 357 de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, 2005.

CONAMA. **Resolução nº 430 CONAMA de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União, República

Federativa do Brasil, 2011.

CONNAN, S.; STENGEL, D. B. Impacts of ambient salinity and copper on brown algae: 1. Interactive effects on photosynthesis, growth, and copper accumulation. **Aquatic Toxicology**, v. 104, n. 1–2, p. 94–107, 2011.

CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS. **Resolução nº 144 do CNRH de 10 de Julho de 2012**. Estabelece diretrizes para implementação da Política Nacional de Segurança de Barragens, aplicação de seus instrumentos e atuação do Sistema Nacional de Informações sobre Segurança de Barragens, em atendimento ao art. 20 da Lei nº 12.334, de 20 de setembro de 2010, que alterou o art. 35 da Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997. Brasília, Distrito Federal: Ministério do Meio ambiente, 2012a.

CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS. **Resolução nº 143 do CNRH de 10 de julho de 2012**. Estabelece critérios gerais de classificação de barragens por categoria de risco, dano potencial associado e pelo seu volume, em atendimento ao art. 7º da Lei nº 12.334, de 20 de setembro de 2010. Brasília, Distrito Federal: Ministério do Meio ambiente, 2012b.

COSTA, G. B. et al. Effects of manganese on the physiology and ultrastructure of *Sargassum cymosum*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 133, p. 24–34, 2017.

COSTA, G. B. et al. The effects of mining tailings in the physiology of benthic algae: Understanding the relation between mud's inductive acidification and the heavy metal's toxicity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 167, p. 103818, nov. 2019a.

COSTA, G. B. et al. Physiological damages of *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis* exposed to trace metals from mining tailing. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 36, p. 36486–36498, 15 dez. 2019b.

COUTINHO, R.; ZALMON, I. R. O bentos de costões rochosos. In: PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (Eds.). **Biologia Marinha**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Editora Interciência Ltda., 2009. p. 281–297.

CUNHA, S. B. DA; GUERRA, ANTÔNIO J. T. **A questão ambiental - diferentes abordagens**. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Editora Bertrand, 2009.

DALCORSO, G. et al. Nutrient metal elements in plants. **Metallomics**, v. 6, n. 10, p. 1770–1788, 2014.

DAVIS, T. A.; VOLESKY, B.; MUCCI, A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. **Water Research**, 2003.

DE L. FELIX, M. R. et al. The Effect of Cadmium Under Different Salinity Conditions on the Cellular Architecture and Metabolism in the Red Alga *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, Gelidiales). **Microscopy and Microanalysis**, v. 20, n. 5, p. 1411–1424, 1 out. 2014.

DIAS, J. A. et al. Anthropogenic impacts on Iberoamerican coastal areas: Historical

processes, present challenges, and consequences for coastal zone management. **Ocean and Coastal Management**, v. 77, p. 80–88, 2013.

DNPM. **Anuário Mineral Estadual - Santa Catarina**. Brasília: DNPM, 2017a. Disponível em: <http://www.anm.gov.br/dnpm/publicacoes/serie-estatisticas-e-economia-mineral/anuario-mineral/anuario-mineral-estadual/santa-catarina/anuario-mineral-estadual-santa-catarina-2017-anos-base-2014-2015-e-2016.pdf/view>. Acesso em: Setembro de 2019.

DNPM. **Portaria Nº 70.389 do DNPM de 2017**. Cria o Cadastro Nacional de Barragens de Mineração, o Sistema Integrado de Gestão em Segurança de Barragens de Mineração e estabelece a periodicidade de execução ou atualização, a qualificação dos responsáveis técnicos, o conteúdo mínimo e o nível de detalhamento do Plano de Segurança da Barragem, das Inspeções de Segurança Regular e Especial, da Revisão Periódica de Segurança de Barragem e do Plano de Ação de Emergência para Barragens de Mineração, conforme art. 8º, 9º, 10, 11 e 12 da Lei nº 12.334 de 20 de setembro de 2010, que estabelece a Política Nacional de Segurança de Barragens - PNSB. Brasília: DNPM, 2017b.

DOS SANTOS, R. W.; SCHMIDT, É. C.; BOUZON, Z. L. Changes in ultrastructure and cytochemistry of the agarophyte *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales) treated with cadmium. **Protoplasma**, v. 250, n. 1, p. 297–305, 2013.

DURUIBE, J. O.; OGWUEGBU, M. O. C.; EGWURUGWU, J. N. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. **International Journal of Physical Sciences**, v. 2, n. 5, p. 112–118, 2007.

ELLIS, J. I. et al. Multiple stressor effects on marine infauna: Responses of estuarine taxa and functional traits to sedimentation, nutrient and metal loading. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2017.

ESCOBAR, H. Mud tsunami wreaks ecological havoc in Brazil. **Science**, v. 350, n. 6265, p. 1138–1139, 2015.

ESTES, C. P. **Mulheres que correm com os lobos: mitos e histórias do arquétipo da mulher selvagem**. Rio de Janeiro: Rocco, 1994. 627 p. ISBN 8532504442.

FACCINI, A. L.; BERCHEZ, F. Management of natural beds and standing stock evaluation of *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta) in south-eastern Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 2, p. 101–103, 2000.

FARIAS, D. R. et al. In situ assessment of *Ulva australis* as a monitoring and management tool for metal pollution. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 5, p. 2489–2502, 2017.

FELIPPE, M. F. et al. **A tragédia do Rio Doce: a lama, o povo e a água**. Relatório da expedição ao Rio Doce. Belo Horizonte, Minas Gerais: 2016.

FERNANDES, G. W. et al. Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza e Conservação**, 2016.

FERNICOLA, N. A. G. G. DE; BOHRER-MOREL, M. B. C.; BAINY, A. C. D. Ecotoxicologia. In: AZEVEDO, F. A. DE; CHASIN, A. A. DA M. (Eds.). **As bases**

toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: RiMa, 2004. p. 340.

FILBEE-DEXTER, K.; WERNBERG, T. Rise of Turfs: A New Battlefield for Globally Declining Kelp Forests. **BioScience**, v. 68, n. 2, p. 64–76, 1 fev. 2018.

FILHO, F. P. M. R. et al. **Nota técnica nº 23 - Monitoramento da Pluma de Sedimentos Proveniente da Barragem de Fundão**Brasil, 2017.

FLETCHER, R. L. The Occurrence of “Green Tides”— a Review. In: [s.l: s.n.]. v. 123p. 7–43.

FORZZA, R. C. et al. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil - Volume 1.** 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 29, p. 511–566, 1978.

FRANÇA, T. C. N. Nas águas das relações internacionais: o oceano como meio, teatro e objetivo dos estados. In: MORE, R. F.; JÚNIOR, I. B. (Eds.). . **Amazônia Azul: Política, estratégia e direito para o Oceano do Brasil.** 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: FEMAR, 2012. p. 55–77.

FRASER, E. D. G.; MABEE, W.; SLAYMAKER, O. Mutual vulnerability, mutual dependence: The reflexive relation between human society and the environment. **Global Environmental Change**, v. 13, n. 2, p. 137–144, 2003.

GAIERO, D. M. et al. Riverine transfer of heavy metals from Patagonia to the southwestern Atlantic Ocean. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 3, n. 1–3, p. 51–64, 2002.

GAMAIN, P. et al. Can pesticides, copper and seasonal water temperature explain the seagrass *Zostera noltei* decline in the Arcachon bay? **Marine Pollution Bulletin**, v. 134, n. October 2017, p. 66–74, 2018.

GEPHI. **Recursos Hídricos de Santa Catarina.** In: Rocha, I. O. (Org.). Atlas Geográfico de Santa Catarina. Diversidade da natureza – Fascículo 2. 2ª Edição. Florianópolis: Ed. da UDESC, 2016. DOI: 105965/978858302078322016. Disponível em: <https://sites.google.com/a/spg.sc.gov.br/atlas-geografico-de-santa-catarina/fasciculo2>. Acesso em: Outubro de 2019.

GOMES, L. E. DE O. et al. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 120, n. 1–2, p. 28–36, 2017.

GONÇALVES, A.; GRANZIERA, M. L. M. Amazônia Azul e governança. In: MORE, R. F.; JÚNIOR, I. B. (Eds.). . **Amazônia Azul: Política, estratégia e direito para o Oceano do Brasil.** 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: FEMAR, 2012. p. 144–158.

GONÇALVES, S. C.; MARQUES, J. C. Assesment and management of environmental quality conditions in marine sandy beaches for its sustainable use—Virtues of the population based approach. **Ecological Indicators**, v. 74, p. 140–146, mar. 2017.

GRIMM, N. B. et al. Global change and the ecology of cities. **Science**, v. 319, n. 5864, p. 756–760, 2008.

HACON, S. DE S. Avaliação e gestão do risco ecotoxicológico à saúde humana. In: AZEVEDO, F. A. DE; CHASIN, A. A. DA M. (Eds.). . **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: RiMa, 2004. p. 245–322.

HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 1–11, 2002.

HARLEY, C. D. G. et al. The impacts of climate change in coastal marine systems. **Ecology Letters**, v. 9, n. 2, p. 228–241, 2006.

HARLEY, C. D. G. et al. Effects of climate change on global seaweed communities. **Journal of Phycology**, n. 48, p. 1064–1078, 2012.

HATJE, V. et al. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10706, 2017.

HATJE, V.; BARROS, F. Overview of the 20th century impact of trace metal contamination in the estuaries of Todos os Santos Bay: Past, present and future scenarios. **Marine Pollution Bulletin**, 2012.

HAUGAN, J. A.; LIAAEN-JENSEN, S. Algal carotenoids 54. Carotenoids of brown algae (Phaeophyceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 22, n. 1, p. 31–41, 1994.

HELLER, L. Desastres de mineração e saúde pública no Brasil: lições (não) aprendidas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35, n. 5, p. e00073619, 20 maio 2019.

HEM, J. D. Chemical factors that influence the availability of Iron and Manganese in aqueous systems. **Geological Society of American Bulletin**, v. 83, n. February, p. 443–450, 1972.

HENSON, S. A. et al. Rapid emergence of climate change in environmental drivers of marine ecosystems. **Nature Communications**, v. 8, n. 5020, p. 1–9, 2017.

HERNÁNDEZ-ALMARAZ, P. et al. Metal mobility and bioaccumulation differences at lower trophic levels in marine ecosystems dominated by *Sargassum* species. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 94, n. 03, p. 435–442, 2014.

HORTA, P. A. **Regards croisés sur l’impact des sargasses dans le quotidien des caribéens**. Guadalupe, 2019.

HOSTIM, M.; DERGAM, J. **Relatório Anual, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 7 - Ictiofauna e carcionafauna marinha**. Vitória: [s.n.]. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt25_ictiofaunamarinha_19.pdf>.

HOWARTH, R. et al. Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in

temperate estuaries and coastal marine ecosystems. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 9, n. 1, p. 18–26, fev. 2011.

HUDSON-EDWARDS, K. Tackling mine wastes. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 288–290, 15 abr. 2016.

IBAMA. **Bacia do Rio Doce recebe rede para monitorar qualidade da água**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/noticias/422-2017/1154-bacia-do-rio-doce-recebe-rede-para-monitorar-qualidade-da-agua>>. Acesso em: 14 mar. 2020.

ILUZ, D. et al. Calcifying Response and Recovery Potential of the Brown Alga *Padina pavonica* under Ocean Acidification. **ACS Earth and Space Chemistry**, v. 1, n. 6, p. 316–323, 2017.

IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. CORE WRITING TEAM; PACHAURI, R.K.; MEYER, L.A. (Eds.). IPCC: Geneva, Switzerland, 151 p, 2014.

JÚNIOR, A. N. M.; MORAES, R. B. C. DE; MAURAT, M. C. Poluição Marinha. In: PEREIRA, R. C.; GOMES, A. S. (Eds.). . **Biologia Marinha**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2009. p. 505–528.

JÚNIOR, I. B. Oceanopolítica: conceitos fundamentais, Amazônia Azul. In: MORE, R. F.; JÚNIOR, I. B. (Eds.). . **Amazônia Azul: Política, estratégia e direito para o Oceano do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: FEMAR, 2012. p. 205–231.

KENNISH, M. J. Trace Metal-Sediment Dynamics in Estuaries: Pollution Assessment. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 155, p. 69–110, 1998.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos Em Toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. São Paulo: Amgh Editora, 2012.

KOMATSU, T. et al. Possible change in distribution of seaweed, *Sargassum horneri*, in northeast Asia under A2 scenario of global warming and consequent effect on some fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 2, p. 317–324, 2014

KOSSOFF, D. et al. Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. **Applied Geochemistry**, v. 51, p. 229–245, dez. 2014.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. 2. ed. New York, NY: Springer New York, 2008.

LANA, P. DA C. et al. (Eds.). **Avaliação ambiental de estuários brasileiros: diretrizes metodológicas**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Museu Nacional, 2006.

LARINI, L. et al. **Toxicologia**. 1. ed. São Paulo: Editora Manole Ltda., 1987.

LARROYD, F.; RECUERO, J. C. **Mapa da produção mineral do estado de Santa Catarina**. Florianópolis, DNPM, 2013.

- LAU, W. W. Y. Beyond carbon: Conceptualizing payments for ecosystem services in blue forests on carbon and other marine and coastal ecosystem services. **Ocean & Coastal Management**, v. 83, p. 5–14, out. 2013.
- LAWES, J. C.; CLARK, G. F.; JOHNSTON, E. L. Contaminant cocktails: Interactive effects of fertiliser and copper paint on marine invertebrate recruitment and mortality. **Marine Pollution Bulletin**, v. 102, n. 1, p. 148–159, 2016.
- LAWTON, J. H.; JONES, C. G. Linking Species and Ecosystems: Organisms as Ecosystem Engineers. In: **Linking Species & Ecosystems**. Boston, MA: Springer US, 1995. p. 141–150.
- LEE, R. E. **Phycology**. 4. ed. New York, NY: Cambridge University Press, 2008.
- LINDEMAN, R. L. The trophic-dynamic aspect of ecology. **Ecology**, v. 23, n. 4, p. 399–417, 1942.
- LOPES, M. B.; BIAZATTI, B. DE O. View of Extrativism in the Global Market and Human Rights - The Tragedy of the Mudslide in Mariana (2015). **Brasiliana - Journal for Brazilian Studies**, v. 5, n. 2, p. 5–28, 2017.
- LOURENÇO, S. O.; JÚNIOR, A. N. M. Produção primária marinha. In: PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (Eds.). **Biologia Marinha**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Interciência, 2009. p. 111–154.
- LYMAN, W. J. Transport and transformation processes. In: RAND, G. M. (Ed.). **Aquatic Toxicology**. 2^a ed. Florida: Taylor and Francis, 1995. p. 449–492.
- MACHADO, J. L. F. **Mapa hidrogeológico do Estado de Santa Catarina**. Porto Alegre: Serviço Geológico do Brasil - CPRM, 2013.
- MACÍAS, F. A. et al. Allelopathy—a natural alternative for weed control. **Pest Management Science**, v. 63, n. 4, p. 327–348, abr. 2007.
- MAGRIS, R. A. et al. A modelling approach to assess the impact of land mining on marine biodiversity: Assessment in coastal catchments experiencing catastrophic events (SW Brazil). **Science of The Total Environment**, v. 659, p. 828–840, abr. 2019.
- MANI-PERES, C. et al. Stakeholders perceptions of local environmental changes as a tool for impact assessment in coastal zones. **Ocean & Coastal Management**, v. 119, p. 135–145, jan. 2016.
- MARINHO-SORIANO, E. Historical context of commercial exploitation of seaweeds in Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 665–671, abr. 2017.
- MARTA-ALMEIDA, M. et al. Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. **Marine Pollution Bulletin**, v. 112, n. 1–2, p. 359–364, 2016.
- MARTINS, C. D. L. et al. The impact of coastal urbanization on the structure of phytoplankton

communities in southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 4, p. 772–778, 2012.

MARTINS, A. S. **Relatório Anual, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 6 - monitoramento de mamíferos, tartarugas e aves marinhas associados à foz do Rio Doce**. Vitória: [s.n.]. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt23_megafauna_19.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2020.

MEDAUAR, O. **Coletânea de legislação de direito ambiental - Constituição Federal**. 5. ed. São Paulo, SP: Editora Revista dos Tribunais, 2006.

MEE, L. D. et al. How good is good? Human values and Europe's proposed Marine Strategy Directive. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 2, p. 187–204, fev. 2008.

MILLS, L. S.; DOAK, D. F. The Keystone-Species Concept in Ecology and Conservation. **BioScience**, v. 43, n. 4, p. 219–224, abr. 1993.

MIRANDA, L. S.; MARQUES, A. C. Hidden impacts of the Samarco mining waste dam collapse to Brazilian marine fauna - an example from the Staurozoans (Cnidaria). **Biota Neotropica**, v. 16, n. 2, 2016.

MITCHELL, S. B. et al. Changes to processes in estuaries and coastal waters due to intense multiple pressures - An introduction and synthesis. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 156, n. 1, p. 1–6, 2015.

MORE, R. F. Reflexões sobre a formação de um pensamento oceanopolítico brasileiro. In: MORE, R. F.; JÚNIOR, I. B. (Eds.). . **Amazônia Azul: Política, estratégia e direito para o Oceano do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: FEMAR, 2012. p. 232–248.

MORE, R. F.; REI, F. C. F. Os 30 anos da convenção das Nações Unidas sobre direito do mar: desafios e elementos de reflexão para o Brasil. In: MORE, R. F.; JÚNIOR, I. B. (Eds.). . **Amazônia Azul: Política, estratégia e direito para o Oceano do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: FEMAR, 2012. p. 179–204.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 3, p. 199–216, 2010.

NAUER, F.; CASSANO, V.; OLIVEIRA, M. C. Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 6, p. 2405–2417, 18 dez. 2015.

NIKINMAA, M. Climate change and ocean acidification-Interactions with aquatic toxicology. **Aquatic Toxicology**, v. 126, p. 365–372, 2013.

ODUM, E. P.; BARRET, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. 5. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2007.

OLSEN, C. .; CUTSHALL, N. .; LARSEN, I. . Pollutant—particle associations and dynamics in coastal marine environments: a review. **Marine Chemistry**, v. 11, n. 6, p. 501–533, dez. 1982.

ONU. **Agenda 21**. (ONU, Ed.)The United Nations Conference on Environment and Development. **Anais...**Rio de Janeiro: ONU, 1992.

ONU. **Sustainable Development Goals**. Disponível em: <https://sustainabledevelopment.un.org/?menu=1300>. Acesso em: Setembro de 2019.

ONU. **Millennium Development Goals**. Disponível em: <https://www.un.org/millenniumgoals/>. Acesso em: Setembro de 2019.

ONU. **Documentos Temáticos - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável 1, 2, 3, 5, 9 e 14**. Brasília: ONU-BR, 2017.

ONU. **A ONU e o Meio Ambiente**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/docs/meio-ambiente/>. Acesso em: Setembro de 2019.

ONU. **Sustainable Development Goal 14**. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/oceans/>. Acesso em: Agosto de 2019.

ONU BRASIL. **PNUD Brasil**. Disponível em: <https://www.br.undp.org/content/brazil/pt/home/sustainable-development-goals.html>. Acesso em: Agosto de 2019.

ONU BRASIL. **ODS 14 - Vida na Água**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/ods14/>. Acesso em: Agosto de 2019a.

ONU BRASILb. **ODS 2 - Fome zero e agricultura sustentável**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/ods2/>. Acesso em: Agosto de 2019b.

ONU BRASILc. **ODS 3 - Saúde e bem-estar**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/ods3/>. Acesso em: Agosto de 2019c.

ONU BRASILc. **ODS 8 - Trabalho decente e crescimento econômico**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/ods8/>. Acesso em: Agosto de 2019d.

PAOLIELLO, M. M. B.; SILVA, E. S. DA. Toxicodinâmica. In: AZEVEDO, F. A. DE; CHASIN, A. A. DA M. (Eds.). . **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: RiMa, 2004. p. 93–114.

PENA, P. G. L. et al. Derramamento de óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, p. e00231019, 2020.

PEREIRA, L. F.; CRUZ, G. D. B.; GUIMARÃES, R. M. F. Impactos do rompimento da barragem de rejeitos de Brumadinho, Brasil: uma análise baseada nas mudanças de cobertura da terra. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 4, n. 2, p. 122, 19 fev. 2019.

PERGENT-MARTINI, C. et al. Descriptors of Posidonia oceanica meadows: Use and

application. **Ecological Indicators**, v. 5, n. 3, p. 213–230, ago. 2005.

POTAPOWICZ, J. et al. The influence of global climate change on the environmental fate of anthropogenic pollution released from the permafrost. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 1534–1548, fev. 2019.

POTIN, P. Intimate Associations Between Epiphytes, Endophytes, and Parasites of Seaweeds. In: WIENCKE, C.; BISCHOF, K. (Eds.). **Seaweed Biology**. Ecological Studies. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. v. 219p. 203–234.

QUEIROZ, H. M. et al. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of The Total Environment**, v. 637–638, p. 498–506, out. 2018.

RAI, L. C.; GAUR, J. P.; KUMAR, H. D. Phycology and heavy metal pollution. **Biological Reviews**, v. 56, p. 99–151, 1981.

RAI, L. C. et al. Services of algae to the environment. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 119–136, 2000.

RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment**. 2. ed. Washington D. C.: Taylor and Francis, 1995.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. Introduction to Aquatic Toxicology. In: RAND, G. M. (Ed.). **Fundamentals of Aquatic Toxicology - Effects, environmental fate and risk assessment**. 2^a ed. Florida: Taylor and Francis, 1995. p. 3–70.

RAO, V. P. et al. Mineralogy and Sr-Nd isotopes of SPM and sediment from the Mandovi and Zuari estuaries: Influence of weathering and anthropogenic contribution. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 156, n. 1, p. 103–115, 2015.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2007.

RIBA, I. et al. Bioavailability of heavy metals bound to estuarine sediments as a function of pH and salinity values. **Chemical Speciation and Bioavailability**, v. 15, n. 4, p. 101–114, 2003.

RICKLEFS, R. E. **Economia da Natureza**. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2003.

RICO, M. et al. Reported tailings dam failures. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, n. 2, p. 846–852, abr. 2008.

RICO, M.; BENITO, G.; DÍEZ-HERRERO, A. Floods from tailings dam failures. **Journal of Hazardous Materials**, v. 154, n. 1–3, p. 79–87, jun. 2008.

ROHR, J. R.; KERBY, J. L.; SIH, A. Community ecology as a framework for predicting contaminant effects. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, n. 11, p. 606–613, 2006.

RRDM. **Rede Rio Doce Mar - Quem somos**. Disponível em: <<http://rrdm.net.br/quem-somos/>>. Acesso em: 14 mar. 2020. Acesso em: 14 mar. 2020.

SALES, M. et al. Pollution impacts and recovery potential in three species of the genus *Cystoseira* (Fucales, Heterokontophyta). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 92, n. 3, p. 347–357, 2011.

SAMARCO; VALE; BHP BILLITON. **Estatuto da Fundação Renova Registro Civil das Pessoas Jurídicas, Corregedoria Geral de justiça, Tribunal de Justiça de Minas Gerais Brasil, Livro A**. 2016. Disponível em: <<http://www.fundacaorenova.org/wp-content/uploads/2016/10/estatuto-registrado.pdf>>. Acesso em: 14 mar. 2020.

SÁNCHEZ-QUILES, D.; MARBÀ, N.; TOVAR-SÁNCHEZ, A. Trace metal accumulation in marine macrophytes: Hotspots of coastal contamination worldwide. **Science of the Total Environment**, v. 576, p. 520–527, 2017.

SANTOS, D. M. et al. Avaliação de Metais Pesados na Baía de Paranaguá, PR, Brasil, sob Influência das Atividades Antrópicas. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 2, p. 157–160, 2006.

SANTOS, R. W. et al. The effect of different concentrations of copper and lead on the morphology and physiology of *Hypnea musciformis* cultivated in vitro: a comparative analysis. **Protoplasma**, v. 252, n. 5, p. 1203–1215, 7 set. 2015.

SASAKI, T. et al. Perspectives for ecosystem management based on ecosystem resilience and ecological thresholds against multiple and stochastic disturbances. **Ecological Indicators**, v. 57, p. 395–408, 2015.

SATHYA, R. et al. Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskål) C. Agardh. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S2608–S2614, 2017.

SCHERNER, F. et al. Coastal urbanization leads to remarkable seaweed species loss and community shifts along the SW Atlantic. **Marine Pollution Bulletin**, v. 76, n. 1–2, p. 106–115, 2013.

SCHMIDT, É. C. et al. Profiles of carotenoids and amino acids and total phenolic compounds of the red alga *Pterocladia capillacea* exposed to cadmium and different salinities. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 3, p. 1955–1963, jun. 2016.

SCHMIEGELOW, J. M. M. **O planeta azul: uma introdução às ciências marinhas**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Interciência, 2004.

SEGURA, F. R. et al. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 218, p. 813–825, 2016.

SILVA, A. S.; FLORENCE, J. S. T. **Nota técnica - DIRUC**. Salvador: [s.n.].

SISSINI, M. N. et al. Brazil oil spill response: Protect rhodolith beds. **Science**, v. 367, n. 6474, p. 156, 2020.

SMALE, D. A. et al. Threats and knowledge gaps for ecosystem services provided by kelp forests: a northeast Atlantic perspective. **Ecology and Evolution**, v. 3, n. 11, p. 4016–4038, out. 2013.

SOARES, R. A. A. **Proteção Ambiental e desenvolvimento econômico: conciliação**. 1. ed. Curitiba: Juruá Editora, 2010.

SOUZA, V. L. B. et al. Biodisponibilidade de Metais-traço em Sedimentos: Uma Revisão. **Brazilian Journal of Radiation Sciences**, v. 3, n. 1A, 2015.

SPACIE, A.; MCCARTY, L. S.; RAND, G. M. Bioaccumulation and Bioavailability in Multiphase Systems. In: RAND, G. M. (Ed.). **Aquatic Toxicology** 1. 2ª ed. Florida: Taylor and Francis, 1995. p. 493–522.

STEPHEN R. CARPENTER. Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. **Ecology**, v. 77, n. 3, p. 677–680, 1996.

SZÉCHY, M. T. M.; PAULA, É. J. Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 2, p. 121–132, 2000.

TEIXEIRA, E. C.; SÁ, F.; DERGAM, J. **Relatório Anual, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 3 - Fundos Recifais, Bancos de Rodolitos e Macroalgas**. Vitória: [s.n.]. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt19_fundorecifais_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

TEIXEIRA, E. C.; SÁ, F.; DERGAM, J. **Relatório Anual, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 3 Marinho - Hidrogeoquímica**. Vitória: [s.n.]. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt19_fundorecifais_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

TEIXEIRA, E. C.; SÁ, F.; DERGAM, J. **Relatório Anual, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 3 - Análise abiótica e biótica no ambiente marinho: discussão integrada**. Vitória: [s.n.]. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt19_discussointegrada_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

TEIXEIRA, E. C.; SÁ, F.; DERGAM, J. **Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 3 Marinho - Ictioplâncton**. Vitória: [s.n.]. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt19_ictoplanton_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

TEIXEIRA, E. C.; SÁ, F.; DERGAM, J. **Relatório Anual, Programa de Monitoramento da**

Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 3 Marinho - Zooplâncton. Vitória: [s.n.].

Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt19_zooplancton_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

TEIXEIRA, E. C.; SÁ, F.; DERGAM, J. Relatório Anual, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I - Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente. Anexo 3 Marinho - Fitoplâncton. Vitória: [s.n.].

Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-BIO/2019/nt_ctbio_rrdm_rel_anual_rt19_fitoplancton_19.pdf. Acesso em: 14 mar. 2020.

TERAWAKI, T. et al. Management-free techniques for restoration of. **Journal of Applied Phycology**, p. 13–17, 2001.

TERAWAKI, T. et al. Ecology and restoration techniques for *Sargassum* beds in the Seto Inland Sea, Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, n. 1–6, p. 198–201, 2003.

THIBAUT, T. et al. Long-term decline of the populations of Fucales (*Cystoseira* spp. and *Sargassum* spp.) in the Albères coast (France, North-western Mediterranean). **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 12, p. 1472–1489, 2005

TORRES, M. A. et al. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 1, p. 1–15, 2008.

TURRA, A. et al. Global environmental changes: setting priorities for Latin American coastal habitats. **Global Change Biology**, v. 19, n. 7, p. 1965–1969, jul. 2013.

UNITED NATIONS. **Report of the United Nations Conference on the Human Environment.** (ONU, Ed.). Report of the United Nations Conference on the Human Environment. **Anais...Estocolmo: ONU, 1972**

UNITED NATIONS. **The Future We Want.** (ONU, Ed.). Resolution adopted by the General Assembly on 27 July 2012. **Anais...Rio de Janeiro, RJ: ONU, 2012.**

VALDÉS, F. A. et al. Metal assessment and cellular accumulation dynamics in the green macroalga *Ulva lactuca*. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 663–671, 19 fev. 2018.

VIKAS, M.; DWARAKISH, G. S. Coastal Pollution: A Review. **Aquatic Procedia**, v. 4, n. Icwrcoc, p. 381–388, 2015.

VILLAÇA, R. Recifes biológicos. In: PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (Eds.). . **Biologia Marinha**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Editora interciência Ltda., 2009. p. 399–420.

VINAYAK, R. C.; SABU, A. S.; CHATTERJI, A. Bio-Prospecting of a Few Brown Seaweeds for Their Cytotoxic and Antioxidant Activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, n. 5, p. 1–9, maio 2011.

WALLACE, R. B. et al. Coastal ocean acidification: The other eutrophication problem. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 148, n. June, p. 1–13, 2014.

WERNBERG, T. et al. Impacts of climate change in a global hotspot for temperate marine biodiversity and ocean warming. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 400, n. 1–2, p. 7–16, 2011.

WERNBERG, T.; FILBEE-DEXTER, K. Missing the marine forest for the trees. **Marine Ecology Progress Series**, v. 612, p. 209–215, 7 mar. 2019.

WRIGHT, J. P.; JONES, C. G. The concept of organisms as ecosystem engineers ten years on: progress, limitations, and challenges. **BioScience**, v. 56, n. 3, p. 203–209, 2006.

ZENG, X.; CHEN, X.; ZHUANG, J. The positive relationship between ocean acidification and pollution. **Marine Pollution Bulletin**, v. 91, n. 1, p. 14–21, fev. 2015.