

Rafael Souza Almeida

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO E DA
TEMPERATURA NA FISIOLOGIA DE *Sargassum stenophyllum*
(*PHAEOPHYCEAE*) – SUBSÍDIOS AOS ESTUDOS RELACIONADOS
AO AQUECIMENTO GLOBAL E ACIDIFICAÇÃO DOS OCEANOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido
ao Laboratório de Ficologia, Departamento
de Botânica da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do Grau de
Graduado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Antunes Horta
Júnior.

Coorientador : Prof. Dr. José Bonomi Barufi

Florianópolis
2013

Almeida, Rafael
AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO E DA
TEMPERATURA NA
FISIOLOGIA DE *Sargassum stenophyllum* (PHAEOPHYCEAE):
SUBSÍDIOS AOS ESTUDOS RELACIONADOS AO
AQUECIMENTO GLOBAL E
ACIDIFICAÇÃO DOS OCEANOS. / Rafael Almeida; orientador,
Paulo Antunes Horta Junior; co-orientador, José Bonomi
Barufi. - Florianópolis, SC, 2014.
42 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Macroalgas. 3. Mudanças
Climáticas. 4. Acidificação oceânica. I. Antunes Horta
Junior, Paulo. II. Bonomi Barufi, José. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas.
IV. Título.

Rafael Souza Almeida

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO E DA
TEMPERATURA NA FISIOLOGIA DE *Sargassum stenophyllum*
(*PHAEOPHYCEAE*) – SUBSÍDIOS AOS ESTUDOS RELACIONADOS
AO AQUECIMENTO GLOBAL E ACIDIFICAÇÃO DOS OCEANOS.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Graduando, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Botânica,

Florianópolis, 24 de Fevereiro de 2014.

Prof. Maria Risoleta Freire Marques, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Paulo Antunes Horta Junior, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. José Bonomi Barufi, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Aurea Maria Randi, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Leonardo Rubi Rorig, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos amigos de verdade e aos meus pais, pela paciência todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Paulo, pela paciência no último ano e pela confiança nos anteriores.

Ao Eduardo, pela ajuda e sinceridade, sem ele esse trabalho demoraria e não seria possível no tempo que foi.

Ao co-orientador José, pela paciência com meu jeito e honestidade com minhas falhas.

Aos meus pais que tiveram fé na minha escolha e torceram até o final.

Aos amigos que ficaram do meu lado até hoje e sempre foram honestos.

Aos professores Aluizio, Igor e Glauber que fizeram o estímulo para que esse caminho fosse tomado.

A todos que de alguma forma ajudaram e acreditaram no meu potencial, ideias, devaneios e principalmente nas ideias mais absurdas.

A UFSC, PIBIC, PNADB, SISBIOTA, PNPD, PROTAX, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro à pesquisa que permitiu o desenvolvimento desse trabalho.

“A verdade é dura. Algumas vezes parece tão errada, a cor não combina, o estilo está errado, mas eu acredito... eu acredito que é lá, onde vivem os bons.”

Joe Nast

RESUMO

O aumento do CO₂ atmosférico promove o aumento da temperatura média global por incrementar o efeito estufa natural do planeta. Os sistemas climáticos da Terra, que são influenciados pela temperatura, são considerados em termo inércia, onde as consequências do aquecimento global não seriam imediatas nos ambientes. Esse ponto é crucial para as medidas mitigadoras das alterações antrópicas. Dentre os organismos vivos, os produtores primários são aqueles responsáveis por sequestrar carbono da atmosfera e transformar este em compostos orgânicos, que serão aproveitados direta e indiretamente nas cadeias tróficas, sendo chamados também de fixadores de carbono. O objetivo deste trabalho é analisar o impacto na biomassa e fisiologia de macroalgas devido às alterações antrópicas, resultando no aquecimento global, o aumento da emissão de CO₂ na atmosfera e consequentemente, a diminuição do pH oceânico. Os indivíduos de *Sargassum stenophyllum* foram coletados na praia da Armação (27°43'21.83"S, 48°30'13.92"O), na cidade de Florianópolis, Santa Catarina. Em campo as algas foram previamente lavadas em água do mar e armazenadas em potes com água do mar e transportadas até o Laboratório de Ficologia da Universidade Federal de Santa Catarina. O experimento foi realizado utilizando-se 3 temperaturas (32°C, 25°C e 20°C) e adição ou não de CO₂, totalizando seis tratamentos. Os dados obtidos pelos pulsos de saturação periódicos (SAT-Pulse) mostraram que somente a acidificação teve efeito significativo no resultado do experimento (p=0,02). Em relação à biomassa, somente 4 das 18 algas apresentaram diminuição do peso, estando em meio acidificado, em temperatura alta ou não. Essa correlação não apresentou diferença significativa (p=0,35). Pode-se perceber uma tendência na correlação entre a temperatura e acidificação, mostrando que no aumento da primeira o impacto da diminuição do pH é improvisado, diminuindo a resposta do fotossistema da alga. O período do experimento de somente uma semana se mostrou pouco, quem sabe em períodos maiores, de duas à quatro semanas, esse resultado se apresente mais lúcido e significativo. Experimentos posteriores são necessário para melhor confirmação da correlação da diminuição do pH na água com o aumento da temperatura.

Palavras-chave: Macroalgas. Mudanças climáticas. Acidificação oceânica.

ABSTRACT

The increase of atmospheric CO₂ levels promotes the increase of mean global temperature, raising the greenhouse effect of the planet call of global warming. The Earth climate systems, which are affected by the temperature, are considered in inertia, where the consequences of global warming will not be instant in environments. That point is crucial for the mitigation measures of anthropogenic changes. Among the living organisms, the primary producers are those responsible for sequestration of atmospheric carbon and transform them into organic compounds, which will be utilized direct and indirectly in the trophic chains, also called of carbon fixation. The objective of this work is analyze the impact in the biomass and physiology of macro algae due to anthropogenic changes, resulting in global warming, increase of CO₂ in the atmosphere and consequently, the decrease of oceanic pH. The subjects of *Sargassum stenophyllum* were collected in the beach of Armação (27°43'21.83"S, 48°30'13.92"O), in the city of Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. In field, the algae were previously washed in seawater and stored in bottles with seawater and transported to the Laboratory of Phycology of Universidade Federal de Santa Catarina. The experiment was performed in three temperatures (20°C, 25°C and 30°C) with the addition or not of CO₂, totaling six treatments. The obtained data of periodic saturations pulses (SAT-Pulses) demonstrated that only acidification had significant effect in the results of the experiment (p=0,02). Four of eighteen algae presented loss of biomass, in solutions with acidification and not acidification, in higher temperatures and in lower showing no significant correlation of the biomass with the treatments (p=0,35). The temperature and acidification present some correlation, increasing temperature improve the impact of acidification, decreasing the response of algae photosystem. The one-week period of experimentation proved to be not sufficient, possibly in superior times of experimentation of two or four weeks, the results presents more significant. Subsequent experiments are necessary for better confirmation of correlation of the decrease in pH of water with the increase of temperature.

Keywords: Macro algae. Climate changes. Ocean acidification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vista de Satélite do Local de Coleta.....	24
Figura 2: Mesa de gradiente de temperatura. As setas indicam as lâmpadas que mantinham o foto-período e os locais onde ocorriam as temperaturas dentro de seu gradiente respectivamente.....	26
Figura 3: Galões de armazenamento dos meios circulantes de água do mar. As setas indicam o medidor de pH e o sensor acoplado a saída de água do meio acidificado. Os números indicam os galões acidificado com CO ₂ (1) e o não acidificado (2).....	26
Figura 4: Acréscimo de CO ₂ em um dos meios circulantes de água do mar, mostrando o cilindro do gás (1) e a válvula solenoide que controlou o fluxo de CO ₂ que era injetado por uma mangueira dentro do recipiente (setas).....	27
Figura 5: Exemplo do pote utilizado para realização do experimento (1), as setas indicam o meio pelo qual a água do mar, acidificada ou não, entrava e/ou saía por eles.....	27
Figura 6: Valores de rendimento quântico efetivo de <i>Sargassum stenophyllum</i> cultivados por 7 dias em diferentes temperaturas (20, 25 e 32) com adição (COM) ou não (SEM) de CO ₂	29
Figura 7: Ligth-curve inicial, realizada nas algas em aclimação.....	30
Figura 8: Curvas coletadas no final do experimento com suas respectivas temperaturas. Curvas com CO ₂ são aquelas que sofreram acidificação no meio circulante.....	31
Figura 9: Efeito da temperatura e adição ou não de CO ₂ em parâmetros fotossintéticos de <i>Sargassum stenophyllum</i> . Linhas indicam o desvio padrão (n=3). Letras diferentes representam diferenças significativas, segundo teste a posteriori de Newman-Keuls.....	32
Figura 10: Análise MDS par a comparação dos tratamentos entre si e verificação da significância das diferenças amostradas. Mostrando que somente a amostra de 25°C acidificada apresentou diferenças na interação entre temperatura e pH.....	33
Figura 11: Valores de Taxa de Crescimento Relativo de <i>Sargassum stenophyllum</i> nas diferentes temperaturas (20°C, 25°C e 32°C) e com ou sem acidificação. Letras a e b denotam diferenças significativas (p<0,05). As barras representam as médias ± o desvio padrão (n=3).....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Análise de variância fatorial do rendimento quântico efetivo de <i>Sargassum stenophyllum</i> após 7 dias de cultivo em diferentes temperaturas (20°C, 25°C e 32°C) e com adição ou não de CO ₂ . Em negrito, efeito significativo ($p < 0,05$).....	30
Tabela 2: Sumário de ANOVA fatorial dos parâmetros fotossintéticos de <i>Sargassum stenophyllum</i> em resposta à temperatura, adição de CO ₂ e a união dos dois fatores.....	33
Tabela 3: Análise de variância fatorial da taxa de crescimento relativa de <i>Sargassum stenophyllum</i> após 7 dias de cultivo em diferentes temperaturas (20°C, 25°C e 32°C) e com adição ou não de CO ₂ . Em negrito, efeito significativo ($p < 0,05$).....	34

SUMÁRIO

Introdução	21
Materiais e Métodos	24
Local de Coleta e Metodologia em Campo	24
Procedimentos antes do experimento	24
Desenho experimental	25
Análise Estatística	28
Resultados	29
Discussão	35
Conclusão	37
Referências	39

Introdução

O crescimento populacional resultou em um aumento exponencial do consumo e da produção industrial nas últimas décadas. Este processo que teve início na Revolução Industrial produz e produziu impactos diversificados e abundantes em muitas regiões do planeta, não somente acarretando em consequências locais, mas também globais. Um poluente comum à boa parte destas atividades é o dióxido de carbono (CO₂). O CO₂ liberado na atmosfera está envolvido no chamado efeito estufa, fenômeno natural que ocorre na atmosfera do planeta Terra, onde alguns gases são responsáveis pela retenção dos raios infravermelhos que chegam à superfície do planeta e com isso promovem aumento da temperatura média dos ambientes aquáticos e terrestres (Amancio, 2007; Hansen et al., 2005).

Existe razoável fundamentação que estabelece relação entre o aumento do CO₂ atmosférico e o aquecimento da superfície do planeta, uma vez que este incrementa o efeito estufa natural do planeta, resultando nas reconhecidas mudanças climáticas. A relação entre aumento da temperatura e aumento na emissão de CO₂ não é aceita em consenso, entretanto muitas iniciativas foram montadas para estudar essa relação e propor medidas para amenizar o efeito das ações humanas sobre o planeta devido ao seu desenvolvimento. Dentre todos os programas criados o que mais se destacou e tem atuado hoje é o Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), que estuda possíveis alterações no clima global a curto e longo prazo. Conferências também foram montadas para que se discutisse esse assunto a nível global e delimitar como em parceria, os países poderiam fazer e auxiliar uns aos outros frente a consequências que podem surgir. Exemplos desses encontros são a Eco92 e mais recentemente a Rio+20 (IPCC, 2013; Obasi, 1997).

Os sistemas climáticos da Terra, que são influenciados pela temperatura, são considerados em termo inércia, onde as consequências do aquecimento global não seriam imediatas nos ambientes. Esse ponto é crucial para as medidas mitigadoras das alterações antrópicas, para que as consequências que virão, não sejam catastróficas ao ponto de não podermos nos recuperar delas (Hansen et al., 2005). Dentre as medidas mitigadoras existem diversas propostas, como a utilização de biocombustíveis, os quais não contêm enxofre – substância que é componente de um dos gases responsáveis pelo incremento do efeito estufa –, é biodegradável e renovável (Nascimento & Dallan, 2007). Pensa-se também no uso de energias consideradas “limpas” por não emitirem CO₂, como a energia nuclear, eólica e hidráulica. Além desses também se propõe e se realizam experimentações na área da biorremediação,

que é o processo que envolve organismos vivos na redução ou remoção de poluentes. Nesse caso se teoriza e se experimenta a utilização de organismos – principalmente a microbiota – como remediadores de poluentes envolvidos no aquecimento global e em ações antrópicas – vazamentos de petróleo e substâncias tóxicas no ambiente – (Gaylarde, Bellinaso, & Manfio, 2005).

O ciclo biogeoquímico do carbono está relacionado com o ambiente aquático. Neste ambiente o gás carbônico ao se misturar com a água (H_2O) se transforma em ácido carbônico (H_2CO_3), que se dissocia rapidamente em íon bicarbonato (HCO_3^-) e íon hidrogênio (H^+). Este último é o responsável à acidificação de meio, ocorrendo nos oceanos com o aumento na liberação CO_2 atmosférico, pois o oceano absorve aproximadamente 30% dos gases liberados na atmosfera (Falkowski et al., 2000; Kleypas & Langdon, 2002).

Dentre os organismos vivos, os produtores primários são aqueles responsáveis por sequestrar carbono da atmosfera – em alguns casos na forma de CO_2 – e transformar este em compostos orgânicos – glicose, celulose - que serão aproveitados direta e indiretamente nas cadeias tróficas, sendo chamados também de fixadores de carbono. São os principais organismos estudados para diminuir a concentração desse gás na atmosfera e amenizar o efeito do aquecimento global (Espere, 2007). No ambiente aquático se estudam as micro e macroalgas como organismos fixadores, pois estes são a produtividade primária na maioria dos ambientes aquáticos. Em experimentos feitos no laboratório, o aumento de CO_2 diluído no meio de diatomáceas, promoveu o aumento de clorofila *a* e da densidade celular demonstrando que na concentração de até 1000 ppm de CO_2 ocorre o aumento desses organismos (Johnson et al., 2011). Isso é uma evidência que nos permite supor impactos ecológicos nos grupos de fixadores aquáticos devido ao aumento do CO_2 na atmosfera.

Outra maneira de fixação do carbono atmosférico é a na forma mineral na estrutura de organismos calcificados, como corais, moluscos e algas calcárias. Essa fixação é feita na maioria dos casos na forma de carbonato de cálcio ($CaCO_3$). Essa é a forma mais estável do carbono no ambiente marinho, importante não somente para o desenvolvimento de organismos – participando do esqueleto, da estrutura –, mas também no aspecto geológico marinho. A formação do $CaCO_3$ ocorre devido a separação do HCO_3^- em íon carbonato (CO_3^{2-}) e H^+ . O carbonato então se associa com íons positivos diluídos na água – cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), sódio (Na^+), etc. – formando compostos orgânicos minerais, como o carbonato de cálcio (Amancio, 2007; Anthony *et al.*, 2008; IPCC, 2013).

Anthony *et al.* (2008) demonstraram que em dosagem de CO₂ nos meios de cultura com algas calcárias – prevendo possível atmosfera futura com 1000 – 1300 ppm do gás, levou a morte de 40 – 50% dos organismos cultivados. O que nos permite supor que a acidificação dos oceanos poderá diminuir significativamente organismos calcificados. Muitos desses, como as algas calcárias, são a base para o desenvolvimento de recifes de corais, que são estruturas marinhas que abrigam grande biodiversidade, e são importantes para a formação de micro habitats devido a sua estrutura (Bôas, 2004; Riul *et al.*, 2009).

Dentre as macroalgas marinhas presentes nas regiões costeiras brasileiras estão as algas do gênero *Sargassum* sp., que pertencem ao grupo denominado de algas pardas (Phaeophyceae), responsáveis por formações de densas coberturas nas regiões infra litoral de costões rochosos (Paula, 1988). Este gênero apresenta tanto plasticidade morfológica, quanto em variedade de locais de ocorrência, aparecendo desde locais tropicais como o Nordeste até águas temperadas do Sul do Brasil (Oliveira Filho, 1977). Além disso, algumas espécies estão sendo utilizadas como fixadores de metais pesados na água, uma alternativa de remediação devido à contaminações do ambiente aquático (Davis, Volesky, & Vieira, 2000). Essa plasticidade de ocorrência do gênero é um fator que pode representar melhor as respostas dos organismos frente aos resultados do aumento de gás carbônico atmosférico e ao aumento da temperatura, pois se prevermos o resultado em um organismo cosmopolita, podemos tentar prever como isso acarretará aos outros que ocorrem em locais específicos. Além disso, as algas formadoras de dossel, como as do gênero *Sargassum* sp. são importantes na formação de micro-habitat para o desenvolvimento de outras algas e outros organismos, como invertebrados. A perda desses organismos a vida marinha pode significar a perda de biodiversidade concomitantemente (Steneck *et al.*, 2003).

O objetivo geral deste trabalho é analisar o impacto na biomassa e fisiologia de macroalgas devido à alterações na temperatura e no pH como subsídio de perdas da biodiversidade primária costeira para o aquecimento global e a diminuição pH oceânico.

O objetivo específico é de analisar as alterações na temperatura e no pH da água sobre a fisiologia e biomassa da alga marinha *Sargassum stenophyllum*.

Materiais e Métodos

Local de Coleta e Metodologia em Campo

Os indivíduos de *Sargassum stenophyllum* Martius foram coletados na praia da Armação (27°43'21.83"S, 48°30'13.92"O), na cidade de Florianópolis, Santa Catarina (Fig. 1). Localidade esta como um dos pontos turísticos da cidade. Em campo as algas foram previamente lavadas em água do mar e armazenadas em potes de 500 ml com água do mar e transportadas até o Laboratório de Ficologia da Universidade Federal de Santa Catarina (LAFIC-UFSC). Foram coletados 20 potes para seleção de indivíduos sem epífitas.

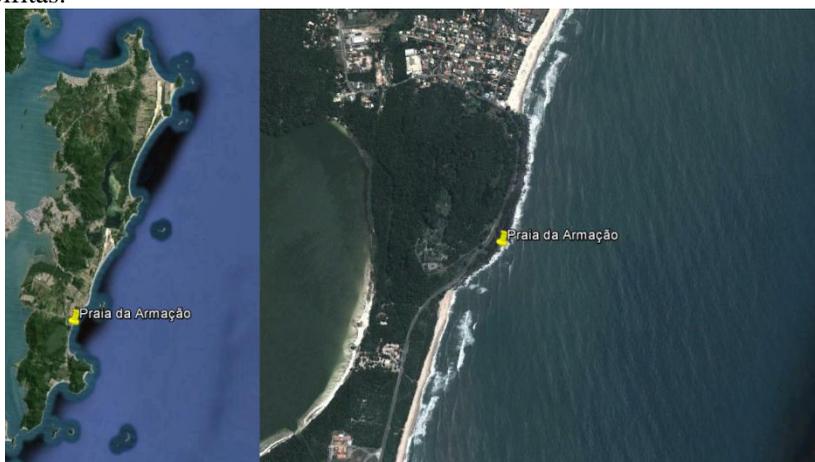


Figura 1: Vista de Satélite do Local de Coleta.

Procedimentos antes do experimento

No laboratório as algas foram lavadas em água do mar corrente para a remoção de agentes contaminantes, foram triadas para retirada de organismos associados, tanto crustáceos quanto a macroalga *Hypnea musciformis*, a qual se desenvolve sobre os indivíduos de *Sargassum* como co-ocorrente à este gênero (Reis, Leal, Yoneshigue-Valentin, & Belluco, 2003). Colocou-se as algas limpas em aquários de 2 litros, com água do mar filtrada e aeração constante para aclimação durante 2 duas semanas, a 20°C, com aeração moderada, luminosidade de $100\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ em uma câmara de cultivo controlado. Durante esse período, a água do mar foi

enriquecida com a solução de nutrientes vonStosch preparado segundo Tabela de Edwards (1970) na concentração de 2mL por L. O meio de cultura (água do mar + VS) foi trocado a cada três dias e 24 horas antes do início do experimento, adicionou-se 1mL por L de dióxido de germânio (GeO_2) para a inibição do crescimento de diatomáceas.

Desenho experimental

O experimento foi realizado utilizando-se 3 temperaturas (32°C, 25°C e 20°C) e adição ou não de CO_2 , totalizando seis tratamentos. A temperatura foi obtida utilizando-se uma mesa (Fig. 2) de gradiente de temperatura (Oliveira *et al.*, 1995) e o CO_2 com 99,0% de pureza foi borbulhado em um dos galões de 25 litros, volume constantemente revovado, sendo a vazão diária igual a 12 vezes seu volume por dia. Esta água com o pH alterado ou não abastecia individualmente os microcosmos dispostos conforme as respectivas temperaturas na mesa de gradiente. A concentração do gás foi mantida por uma válvula solenóide ligada ao medidor de pH que se encontrava na saída do galão tratado com CO_2 , esta abria quando o pH se encontrava acima de 7,2 e fechava quando este valor era atingido (Fig. 4). Essa concentração de pH foi estabelecida de acordo com previsões atmosféricas futuras, na qual quando a concentração do gás alcançar 1024 ppm na atmosfera os oceanos decairão seu pH até o valor aproximado de 7,2 considerando a temperatura da sala, a pressão e salinidade da água em questão (IPCC, 2013).

Foram utilizados ápices de *S. stenophyllum* com aproximadamente 2g (balança BIOPRECISA JH 2012) e potes de acrílico com capacidade de 2 litros posicionados nas respectivas temperaturas abastecidos om a água com pH normal e reduzido (pH 7,2).

Antes do inicio do experimento, foram realizadas medidas de curvas de luz (Light-Curve) e pulso de saturação (SAT-Pulse) fotossintetizantes, pelo fluorímetro DIVING PAM Underwater Fluorometer (WALZ).

Nesta mesa se manteve um foto-período de 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Além disso, esta possui um sistema de agitação que foi utilizado para ambientação e homogeneização do meio circulante dentro dos potes.

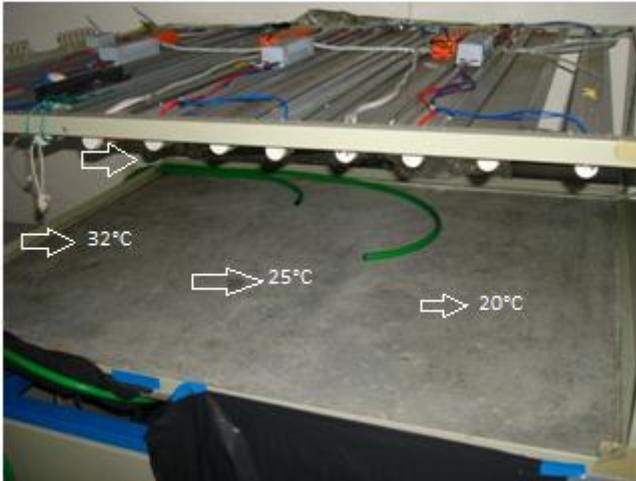


Figura 2: Mesa de gradiente de temperatura. As setas indicam as lâmpadas que mantinham o foto-período e os locais onde ocorriam as temperaturas dentro de seu gradiente respectivamente.



Figura 3: Galões de armazenamento dos meios circulantes de água do mar. As setas indicam o medidor de pH e o sensor acoplado a saída de água do meio acidificado. Os números indicam os galões acidificado com CO_2 (1) e o não acidificado (2).



Figura 4: Acréscimo de CO_2 em um dos meios circulantes de água do mar, mostrando o cilindro do gás (1) e a válvula solenoide que controlou o fluxo de CO_2 que era injetado por uma mangueira dentro do recipiente (setas).



Figura 5: Exemplo do pote utilizado para realização do experimento (1), as setas indicam o meio pelo qual a água do mar, acidificada ou não, entrava e/ou saía por eles.

Realizou-se o experimento durante o período de uma semana, onde se registrou dados de SAT-Pulse nos períodos: inicial, 24h após o início do experimento, 72h e final. No último dia também se realizou uma Light-Curve para comparação com os dados iniciais. Estas algas foram pesadas e então descartadas. Os pesos iniciais e finais foram utilizados para analisar a Taxa de Crescimento Relativo (TCR), para comparação desta com os tratamentos testados.

Análise Estatística

Para verificação das diferenças que ocorreram no experimento, utilizou-se o programa STATISTICA (StatSoft) para ANOVA fatorial dos SAT-Pulses coletados durante o experimento e das Taxas de Crescimento Relativo. O programa PRIMER 6 (Primer-e) foi utilizado para PERMANOVA e MDS das Light-curves coletadas no final do experimento.

Resultados

Os pulsos de saturação periódicos (SAT-Pulse) revelaram rendimento quântico efetivo variando de 0,708-0,746 (Fig. 6), sendo significativamente menores nas plantas mantidas nos microcosmo aquecido com a adição de CO₂ que nos demais tratamentos ($p=0,02$). Apesar da temperatura não determinar variações significativas (Tabela 1), o valor de p calculado ($p=0,050418$) revelam tendência consistente de valores de rendimento quântico mais elevados a 25 graus que nas temperaturas extremas. Da mesma forma apesar da interação na ser significativa, a acidificação quando em maior temperatura reduziu de maneira contundente a relação FV/FM.

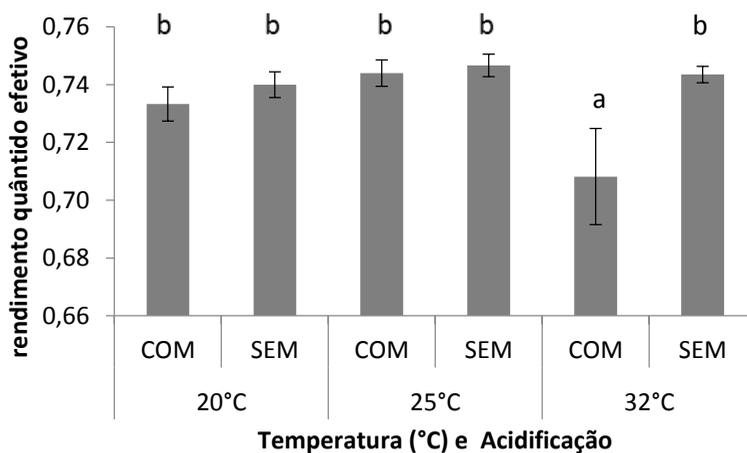


Figura 6: Valores médios de rendimento quântico efetivo (FV/FM) de *Sargassum stenophyllum* cultivados por 7 dias em diferentes temperaturas (20, 25 e 32) com adição (COM) ou não (SEM) de CO₂.

	Grau de Liberdade	F	P
Intercept	1	51854,00	0,000000
temp	2	3,05	0,050418
CO2	1	5,32	0,022356
temp*CO2	2	2,53	0,083174

Tabela 1: Análise de variância fatorial do rendimento quântico efetivo de *Sargassum stenophyllum* após 7 dias de cultivo em diferentes temperaturas (20°C, 25°C e 32°C) e com adição ou não de CO2. Em negrito, efeito significativo ($p < 0,05$).

As Curvas rápidas de luz (Fig. 8) revelam de maneira geral que as ETRs sofreram leve redução durante o experimento (comparando a figura 6 e 7). Os maiores valores de ETR foram observados para 20 e 25 graus quando na presença de CO2, especialmente quando estes valores são comparados com os valores médios das plantas expostas a 32 graus em meio acidificado. Estas tendências são reforçadas por valores de p baixos, da ordem de 10% (Fig. 7 e 8)

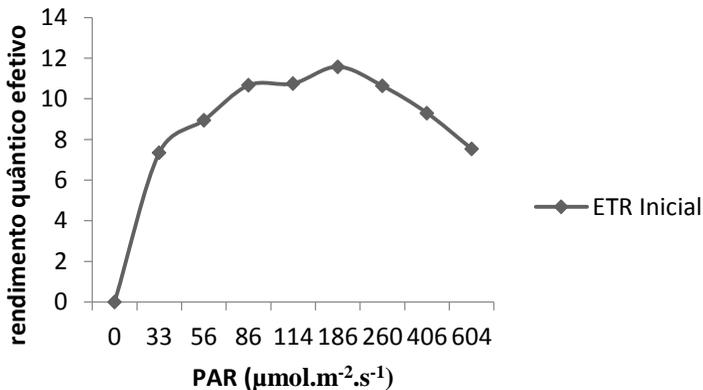


Figura 7: Ligth-curve inicial, realizada nas algas em aclimação.

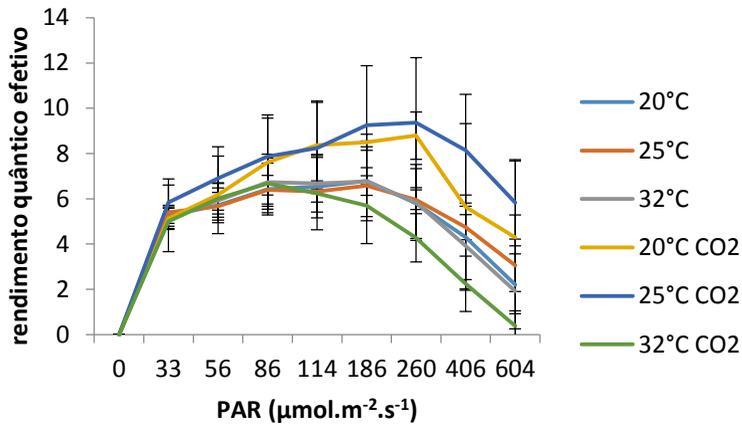


Figura 8: Curvas coletadas no final do experimento com suas respectivas temperaturas. Curvas com CO₂ são aquelas que sofreram acidificação no meio circulante.

Os gráficos de parâmetros fotossintéticos calculados a partir das ETRs, mostram a eficiência fotossintética (α), a fotoinibição (β) e a taxa de fotossíntese máxima (ETR_{max}) (Fig.9). Todos eles se mostraram influenciados pelos fatores em questão. A eficiência fotossintética e a fotoinibição mostraram respostas não significativas em relação à acidificação isoladamente (Tabela 2). O α se apresentou maior na temperatura (32°C) com acidificação. O β se apresentou o menor de todas as amostras em temperaturas moderadas (25°C) não acidificada e maior em temperaturas altas acidificadas. A ETR_{max} foi maior em temperaturas menores (20 e 25) acidificadas, mas em alta temperatura não mostrou resposta positiva independente do acréscimo de CO₂.

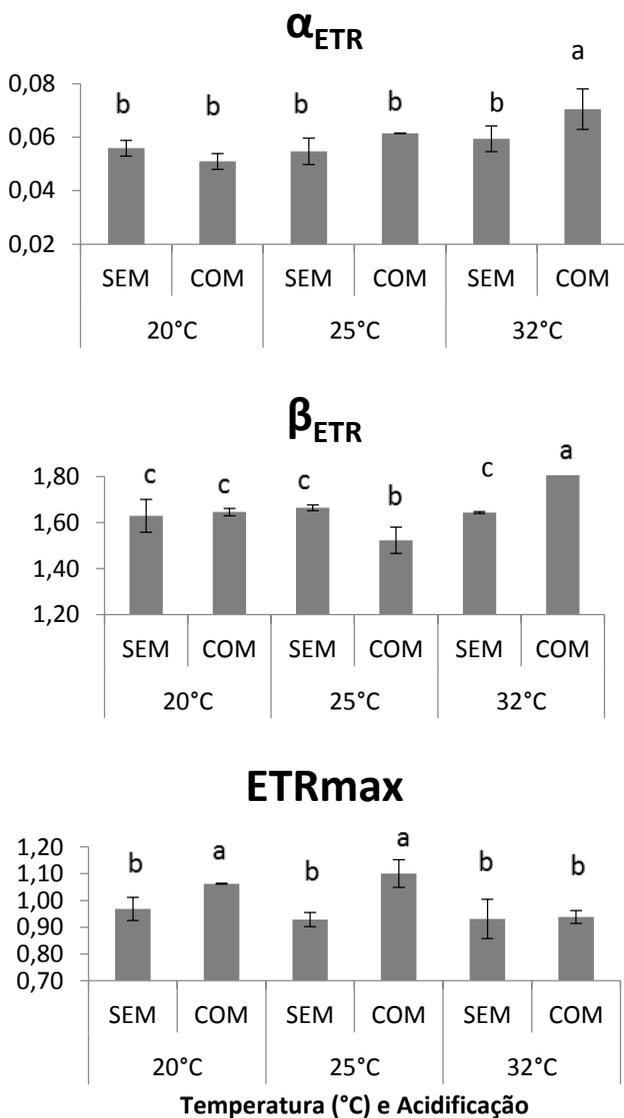


Figura 9: Efeito da temperatura e adição ou não de CO₂ em parâmetros fotossintéticos de *Sargassum stenophyllum*. Linhas indicam o desvio padrão (n=3). Letras diferentes representam diferenças significativas, segundo teste a posteriori de Newman-Keuls.

	ETRmax		α_{ETR}		B_{ETR}	
	F	p	F	p	F	P
Temperatura	6,866	p<0,05	9,934	p<0,005	25,06	p<0,0005
CO2	19,746	p<0,005	4,015	NS	2,21	NS
Temp*CO2	5,383	p<0,05	5,002	p<0,05	30,67	p<0,0005

Tabela 2: Sumário de ANOVA fatorial dos parâmetros fotossintéticos de *Sargassum stenophyllum* em resposta à temperatura, adição de CO₂ e a união dos dois fatores.

Na figura de MDS (Fig. 10) podemos observar que amostras acidificadas e não acidificadas mantiveram uma resposta semelhante quando as temperaturas se mostraram mais elevadas (32°C) e mais baixas (20°C). Somente uma temperatura de 25°C se mostrou diferente e distante na interação de temperatura com acidificação, mas essa diferença, citada anteriormente, não se mostrou significativa.

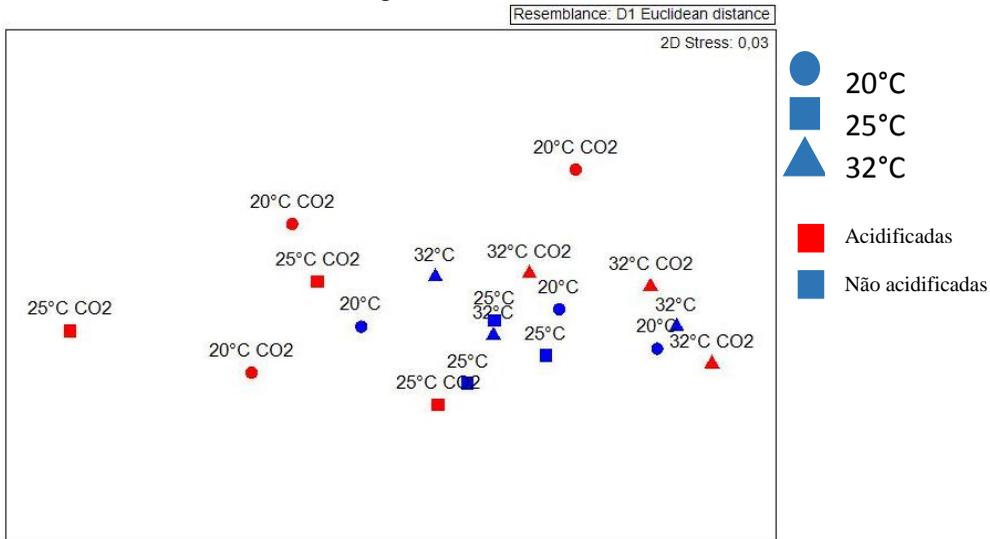


Figura 10: Análise MDS par a comparação dos tratamentos entre si e verificação da significância das diferenças amostradas. Mostrando que somente a amostra de 25°C acidificada apresentou diferenças na interação entre temperatura e pH.

A taxa de crescimento relativa apresentou valores máximos a 25 graus com a adição de CO₂ e mínimos a 32 graus nesta mesma condição de pH a temperatura, a acidificação e a união desses fatores tiveram impactos significativos. O tratamento de maior temperatura (32°C) e com acidificação apresentou diferença significativa em relação às outras taxas de crescimento ($p < 0,05$). As outras TCRs em teste de Newman-Keuls não se mostraram significativamente diferentes ($p \geq 0,05$) em relação aos tratamentos utilizados (Fig. 7).

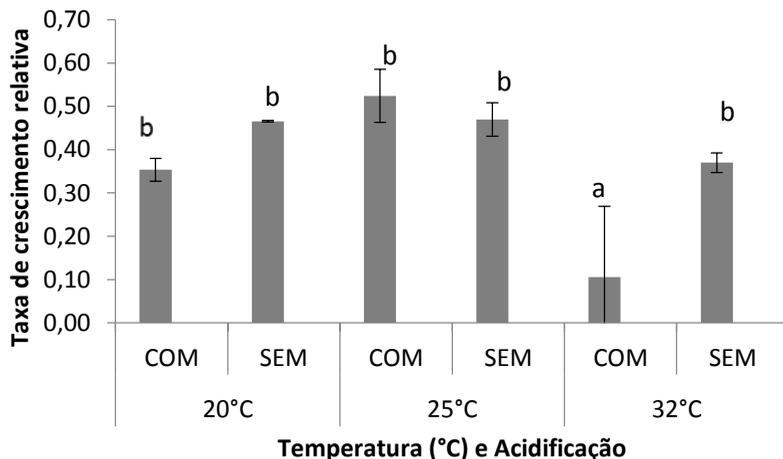


Figura 11: Valores de Taxa de Crescimento Relativo de *Sargassum stenophyllum* nas diferentes temperaturas (20°C, 25°C e 32°C) e com ou sem acidificação. Letras diferentes denotam diferenças significativas segundo o testes de Newman-Keuls ($p < 0,05$). As barras representam as médias \pm o desvio padrão ($n=3$). Os valores utilizados da transformação de $\log_{10}(x+1)$.

	Grau de Liberdade	F	p
Intercept	1	471,0507	0,000000
temp	2	18,7824	0,000201
CO2	1	9,3406	0,009968
temp*CO2	2	6,8668	0,010282

Tabela 3: Análise de variância fatorial da taxa de crescimento relativa de *Sargassum stenophyllum* após 7 dias de cultivo em diferentes temperaturas (20°C, 25°C e 32°C) e com adição ou não de CO₂. Em negrito, efeito significativo ($p < 0,05$).

Discussão

No litoral catarinense, assim como em todo litoral brasileiro, os bancos de *Sargassum* são importantes estruturadores de comunidade, espécies chaves que fornecem abrigo e alimento para uma grande e importante diversidade de organismos marinhos (Castillo et al., 2013; Falcão & Teresa Menezes de Széchy, 2005; Oliveira Filho, 1977). Os dosséis formados por estas algas pardas sofrem muitas ameaças devido à fatores antropogênicos, como a atividade pesqueira e turística, modificações no substrato e com espécies herbívoras invasoras. Dentre estes estressores locais o papel da poluição orgânica, resultado do processo de urbanização, sobre a fisiologia desses organismos foi tema de trabalhos como os de Scherner et al. (2012^a, 2012^b). Entretanto, o papel de fatores relacionados às mudanças no clima, como o aquecimento e a acidificação dos oceanos ainda são pouco estudados tanto para o gênero *Sargassum* quanto para as macrófitas marinhas de forma geral (Wenberg et al. 2012). Os resultados obtidos em nossos esforços reforçam a necessidade de se intensificar os estudos uma vez que a temperatura e a acidificação da água atuaram sinergisticamente comprometendo o desempenho fisiológico da espécie de *Sargassum stenophyllum*.

O rendimento quântico de *S. stenophyllum* foi elevado em condições intermediárias de temperatura e mínimo nos microscóscmos que simulavam temperaturas extremas máximas combinadas com a acidificação da água do mar. Connell & Russell (2010) avaliando o efeito combinado de aquecimento e acidificação, descrevem padrão semelhante deste descritor para espécies de algas filamentosas formadoras de tapetes (turf). Os referidos autores elevaram a temperatura de 17 para 20 graus e acidificaram a água simulando condições futuras (temperatura de 20°C e 550ppm de CO₂ atmosférico). Nestas condições experimentais apesar destas algas apresentarem elevação deste descritor com a acidificação da água, este processo é significativamente reduzido com a elevação da temperatura. Em nosso estudo esta elevação da relação FV/FM é observada com a acidificação em 20 e 25 graus. Entretanto a 32 graus este comportamento se inverte. Estudos sobre o efeito do CO₂ sobre o metabolismo de organismos fotossintetizantes têm sido inconclusivos, alguns mostraram aumento da fotossíntese, outros saturação e outros o decréscimo da produção primária (Beer et al., 1998; Connell & Russell, 2010; Johnston & Raven, 1990). Este trabalho apresenta mais um subsídio para efeitos do aumento da concentração de CO₂ e o aumento da temperatura em produtores primários marinhos.

Em certas condições ambientais o aumento de substrato para realização da fotossíntese é interessante para a planta e promove aumento no seu metabolismo, como observado nas temperaturas menores (20 e 25) que sofreram acidificação.

Nas taxas ETR, as taxas pós-experimentais que se mostraram semelhantes às taxas das plantas em controle (20°C não acidificada) foram as de menores temperaturas, acidificadas e não acidificadas (Fig. 7 e 8). É importante ressaltar que este trabalho simulou dois estressores possíveis, temperatura e CO₂, que permitiram perda significativa em fatores de crescimento e de produção de energia da planta. A taxa relativa de fotossíntese é um parâmetro bastante confiável para se quantificar a fotossíntese bruta (FB) da planta, esses dois aspectos (ETR e FB) são linearmente relacionados, principalmente quando se realizam alterações na temperatura (Green et al., 1998). Nos gráficos de MDS (Fig. 10) as amostras de menores temperaturas foram as que se mostraram menos distantes e diferentes do que outros tratamentos, mas em PERMANOVA essa diferença foi da ordem de 0,1 (20°C – p=0,9 e 25°C – p=0,8). Um resultado que pode ter sido influenciado pelos *outliers* no pequeno período experimental e *n* amostral e que, podem ter influenciado para essa diferença ser eventualmente questionada.

Entretanto, nos parâmetros fotossintéticos calculados (α , β e ETRmax) se observou que a eficiência fotossintética (α) é maior com o aumento da temperatura e CO₂, assim como a fotoinibição (β). Esta última se apresentou menor em meio acidificado à 25°C, que pode ser atribuído ao melhor rendimento quântico nessas condições. Os presentes resultados mostraram que em temperaturas altas o aumento de CO₂ impacta a fotoinibição mais do que nas menores temperaturas. A fotossíntese máxima (ETRmax) apresentou valores mais elevados que os demais nos tratamentos de 20°C e 25°C com acidificação. Com o aumento da temperatura essa resposta se mostrou menor, implicando que pelo menos um estressor climático direto pode interferir futuramente nesse grupo de organismos. De fato entender melhor a que grau esses fatores irão se combinar para acelerar mudanças fisiológicas e populacionais nesse grupo é um ponto crucial (Connell & Russell, 2010). Este resultado pode reforçar a suposição de que os locais com temperaturas mais baixas poderão apresentar respostas melhores às mudanças atmosféricas futuras. Em menores temperaturas o aumento de substrato para realização da fotossíntese é interessante para a planta.

S. stenophyllum em respostas de curto período apresenta alterações de sua resposta dos parâmetros fotossintéticos significativas. Após certo período de tempo estas começam a ser menos evidentes, isso pode ocorrer devido à plasticidade do grupo e desse gênero (Porzio *et al.*, 2011). Já em relação à ETR, esta apresenta diferenças significativas em respostas de longo período, onde provavelmente o tempo experimental não tenha sido longo o suficiente para observação mais clara dessa diferença (Schermer, 2010).

As Taxas de Crescimento Relativo se mostrou muito mais afetada em alta temperatura com acidificação, concordando com estudos feitos e citados anteriormente, mas principalmente com os dados coletados da resposta fotossistêmica desse mesmo grupo de indivíduos. A maior temperatura com acidificação alterou de forma significativa a TCR dos indivíduos, provocando a menor taxa de todo o experimento. As outras apresentaram aumentos ao invés de diminuições. Em temperaturas menores então o crescimento é pouco afetado negativamente e mais positivamente pelo aumento da dissolução do gás. Suárez-Álvarez *et al.* (2011) mostraram que a alga *Hypnea spinella* com aumento na concentração de CO₂ apresentou aumento da TCR, mostrando que algumas algas, assim como o turf do estudo de Connell & Russell (2010) podem responder de forma positivas a alterações como o aumento de CO₂ dissolvido na água, mas em contrapartida afetando estruturadores importantes de ecossistemas marinhos (Davis *et al.*, 2000; Israel *et al.*, 2010; Meinesz, 1991; Porzio *et al.*, 2011; Scherner, 2010)

O *n* amostral nesse estudo para cada tratamento foi o mínimo, totalizando 3 réplicas por temperatura e acidificação. Isso associado ao tempo de experimentação de apenas uma semana, pode ter influenciado significativamente para os limites que demonstraram os dados de temperatura e interação temperatura com a acidificação. As metas-análises são importantes para validar argumentos e resultados, mas existem pré-requisitos que devem existir para que as diferenças que se quer mostrar sejam evidentes (Lovatto *et al.*, 2007).

Pode-se prever que com o aumento da temperatura, eventos extremos de temperatura seriam mais frequentes, reduzindo a eficiência fotossintética, limitando a capacidade de ocorrência da planta nos ambientes entremarés. Desta forma mesmo este grupo de algas pardas tipicamente tropicais podem ter suas abundâncias reduzidas e eventualmente substituídas por espécies oportunistas que não estruturam um hábitat tão complexo e diverso, afetando toda uma cadeia trófica e ecológica (Falcão & Széchy, 2005; Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007; Vasconcelos *et al.*, 2011).

Conclusão

Os resultados demonstraram que a acidificação quando em diferentes temperaturas tem respostas algumas vezes antagônicas. Em temperaturas de 20 e 25 graus a adição de CO₂ promove respostas fisiológicas relativamente positivas, enquanto a 32 graus a adição do referido gás prejudica o desempenho da planta em relação à água com pH normal. Em temperaturas menores essa interferência é menor e apresentou-se muito semelhante ao estado de aclimação das algas antes do experimento, mais uma vez fortalecendo a hipótese de que temperatura e a acidificação são fatores que afetam o desenvolvimento da planta.

O período do experimento de somente uma semana se mostrou pouco, possivelmente em períodos maiores, de duas à quatro semanas, esse resultado se apresente mais lúcido e significativo. Experimentos posteriores são necessário para melhor confirmação da correlação da diminuição do pH na água com o aumento da temperatura. Até mesmo experimentos isolando cada fator para que realmente possa se perceber qual interação apresenta resultados mais impactantes no sistema fotossintético da alga e quais as previsões que temos para essas condições no planeta.

Apesar de o experimento ter sido realizado com somente uma espécie de alga, podemos esperar que para o mesmo grupo – algas pardas tropicais – que a resposta seja semelhante, pois possivelmente as características de metabolismo associadas com a pigmentação do fotossistema são basais na união das algas tropicais nesse grupo. Para os outros grupos seriam necessários experimentos para comprovar se as respostas são semelhantes.

Referências

- Amancio, C. E. (2007). *Precipitação de CaCO₃ em algas marinhas calcárias e balanço de CO₂ atmosférico: os depósitos calcários marinhos podem atuar como reservas planetárias de carbono?* Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Anthony, K. R. N., Kline, D. I., Diaz-Pulido, G., Dove, S., & Hoegh-Guldberg, O. (2008). Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(45), 17442–6. doi:10.1073/pnas.0804478105
- Beer, S., Vilenkin, B., Weil, A., Veste, M., Susel, L., & Eshell, A. (1998). Measuring photosynthetic rates in seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry, 174, 293–300.
- Bôas, A. B. V. (2004). *Colonização e crescimento das algas calcárias incrustantes (Corallinales , Rhodophyta) no Recife do Atol das Rocas.*
- Castillo, S., Rodríguez, R. R., Amaya, M. R., Cosio, J. T., Nieto, R. R., Weaver, A. H., Pfister, T., et al. (2013). Bosques de algas pardas en el Golfo de California :, 12–16.
- Connell, S. D., & Russell, B. D. (2010). The direct effects of increasing CO₂ and temperature on non-calcifying organisms: increasing the potential for phase shifts in kelp forests. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 277(1686), 1409–15. doi:10.1098/rspb.2009.2069
- Davis, T. ., Volesky, B., & Vieira, R. H. S. . (2000). Sargassum seaweed as biosorbent for heavy metals. *Water Research*, 34(17), 4270–4278. doi:10.1016/S0043-1354(00)00177-9
- Edwards, P. (1970). Illustrated guide to seaweeds and seagrasses in the vicinity of Porto Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sc. Austin.*, 15, 288.

Espere. (2007). Como os oceanos absorvem o dióxido de carbono.

Falcão, C., & Teresa Menezes de Széchy, M. (2005). Changes in shallow phytobenthic assemblages in southeastern Brazil, following the replacement of *Sargassum vulgare* (Phaeophyta) by *Caulerpa scalpelliformis* (Chlorophyta). *Botanica Marina*, 48(3), 208–217. doi:10.1515/BOT.2005.033

Falkowski, P., Scholes, R. J., Boyle, E., Canadell, J., Canfield, D., & Elser, J. (2000). The Global Carbon Cycle: A Test of our Knowledge of Earth as a System.pdf.

Gaylarde, C. C., Bellinaso, M. D. L., & Manfio, G. P. (2005). Aspéctos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotechnologia, Ciência & Desenvolvimento*, 34, 8.

Green, T. G. A., Schroeter, B., Kappen, L., Seppelt, R. D., & Maseyk, K. (1998). An assessment of the relationship between chlorophyll a fluorescence and CO₂ gas exchange from field measurements on a moss and lichen, 64, 611–618.

Hansen, J., Nazarenko, L., Ruedy, R., Sato, M., Willis, J., Del Genio, A., Koch, D., et al. (2005). Earth's energy imbalance: confirmation and implications. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5727), 1431–5. doi:10.1126/science.1110252

Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, a J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C. D., et al. (2007). Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science (New York, N.Y.)*, 318(5857), 1737–42. doi:10.1126/science.1152509

IPCC. (2013). Carbon Dioxide: Projected emissions and concentrations. Retrieved from http://www.ipcc-data.org/observ/ddc_co2.html

Israel, A., Einav, R., & Seckbach, J. (2010). *Seaweeds and their Role in Globally Changing Environments*. (J. Seckbach, R. Einav, & A. Israel, Eds.) (Vol. 15, p. 473). Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-90-481-8569-6

- Johnson, V. R., Brownlee, C., Rickaby, R. E. M., Graziano, M., Milazzo, M., & Hall-Spencer, J. M. (2011). Responses of marine benthic microalgae to elevated CO₂. *Marine Biology*, (Raven 1991). doi:10.1007/s00227-011-1840-2
- Johnston, A. M., & Raven, J. a. (1990). Effects of culture in high CO₂ on the photosynthetic physiology of *Fucus serratus*. *British Phycological Journal*, 25(1), 75–82. doi:10.1080/00071619000650071
- Kleypas, J. A., & Langdon, C. (2002). Overview of CO₂ - induced changes in seawater chemistry. *Proc. 9th Int. Coral Reef Symp.*, 2, 1085 – 1089.
- Lovatto, P. A., Lehnen, C. R., Andretta, I., Carvalho, A. D., & Hauschild, L. (2007). Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias Meta analysis in scientific research: a methodological approach. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36, 10.
- Meinesz, A. (1991). Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale, 415–426.
- Nascimento, J. E., & Dallan, J. C. da F. (2007). O CONSUMO E A PRODUÇÃO DE BIODIESEL E A NECESSIDADE DE AÇÕES MITIGADORAS DE EFEITO ESTUFA. *Congresso UFLA*, 8.
- Obasi, G. O. P. (1997). Some scientific issues related to climate change. Lecture presented to the 6th General Conference of The Third World Academy of Sciences (Rio de Janeiro, Brazil, 9 september 1997).
- Oliveira, E. C., Alveal, K., Ferrario, M. E., & Sar, E. (1995). *Manual de Métodos Ficológicos* (p. 863).
- Oliveira Filho, E. C. (1977). *ALGAS MARINHAS BENTÔNICAS DO BRASIL*.
- Paula, É. J. de. (1988). O GÊNERO SARGASSUM C. AG. (PHAEOPHYTA - FUCALES0) NO LITORAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL. *Boletim Botânica*, 10, 54. doi:http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v10i1p65-118

- Porzio, L., Buia, M. C., & Hall-Spencer, J. M. (2011). Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 400(1-2), 278–287. doi:10.1016/j.jembe.2011.02.011
- Reis, R. P., Leal, M. C. R., Yoneshigue-Valentin, Y., & Belluco, F. (2003). EFEITO DE FATORES BIÓTICOS NO CRESCIMENTO DE HYPNEA MUSCIFORMIS (RHODOPHYTA - GIGARTINALES), 17(2), 279–286.
- Riul, P., Lacouth, P., Pagliosa, P. R., Christoffersen, M. L., & Horta, P. A. (2009). Rhodolith beds at the easternmost extreme of South America: Community structure of an endangered environment. *Aquatic Botany*, 90(4), 315–320. doi:10.1016/j.aquabot.2008.12.002
- Scherner, F. (2010). *Impacto da urbanização sobre a performance fotossintética de macroalgas marinhas*. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Steneck, R. S., Graham, M. H., Bourque, B. J., Corbett, D., Erlandson, J. M., Estes, J. a., & Tegner, M. J. (2003). Kelp forest ecosystems: biodiversity, stability, resilience and future. *Environmental Conservation*, 29(04), 436–459. doi:10.1017/S0376892902000322
- Suárez-Álvarez, S., Gómez-Pinchetti, J. L., & García-Reina, G. (2011). Effects of increased CO₂ levels on growth, photosynthesis, ammonium uptake and cell composition in the macroalga *Hypnea spinella* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 24(4), 815–823. doi:10.1007/s10811-011-9700-5
- Vasconcelos, M. A., Leite, C., Schubart, Q., Teresa, M., & Széchy, M. D. (2011). TEMPORAL VARIATION IN VEGETATIVE DEVELOPMENT OF *Caulerpa scalpelliformis* (CHLOROPHYTA) FROM BALEIA BEACH, ILHA GRANDE BAY (RIO DE JANEIRO, BRAZIL), 59(2), 145–152.