



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA**

JANE KARL DE SOUZA NASCIMENTO

**ESTUDO DO METABOLISMO DE ALGAS CORALINÁCEAS INCRUSTANTES DE
VIDA LIVRE EM CONDIÇÃO DE ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA DO MAR**

Salvador
2020

JANE KARL DE SOUZA NASCIMENTO

**ESTUDO DO METABOLISMO DE ALGAS CORALINÁCEAS INCRUSTANTES DE
VIDA LIVRE EM CONDIÇÃO DE ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA DO MAR**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Oceanografia, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia.

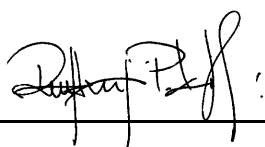
Orientador: Prof. Dr. Ruy Kenji Papa de Kikuchi

Salvador
2020

TERMO DE APROVAÇÃO

JANE KARL DE SOUZA NASCIMENTO

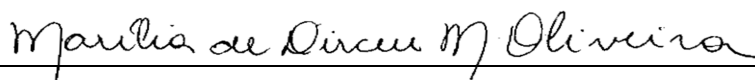
Monografia aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte Banca Examinadora:



Ruy Kenji Papa de Kikuchi – Orientador

Doutor em Geologia pela Universidade Federal da Bahia, Brasil.


Universidade Federal da Bahia



Marília de Dirceu Machado de Oliveira

Doutora em Geologia pela Universidade Federal da Bahia, Brasil

Universidade Federal da Bahia



Augusto Minervino Netto

Doutor em Geologia pela Universidade Federal da Bahia, Brasil

Universidade Federal da Bahia

Salvador, 26 de agosto de 2020

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me ensinar a confiar e esperar somente nele;

Aos meus pais, Maria José de Souza Nascimento e José Francisco do Nascimento, por todo amor e correção, e por apoiarem e sustentarem os meus sonhos;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro vinculado aos projetos de pesquisa que resultaram neste trabalho;

Ao professor Dr. Ruy Kenji Papa de Kikuchi, pela oportunidade de estágio, pelos ensinamentos como professor e orientador, e por todo incentivo durante os anos de pesquisa;

À Dr.^a Marília de Oliveira por me receber no laboratório RECOR com toda atenção, e por me transmitir seus conhecimentos com muita simplicidade e paciência;

À banca examinadora pelas preciosas críticas;

Ao professor Dr. José Marcos de C. Nunes e a aluna Iara de Oliveira Costa, do Laboratório de Algas Marinhas do Instituto de Biologia da UFBA, pela identificação taxonômica dos organismos estudados;

À Mariana Medeiros, Martha Dias e Lourianne Freitas, por me receberem no RECOR com muito carinho, e por me proporcionarem momentos muito especiais. Obrigada pelos conselhos, ensinamentos, incentivo, e por me ensinarem a cultivar organismos em aquários.

A todos os membros do Grupo RECOR pelo apoio a este projeto. Em especial, à Keynes Muarramuassa e Ticiane Vilela, pelo auxílio durante a execução dos experimentos, e a Lucas Rocha por me ensinar e auxiliar na execução da técnica de reconstrução de modelos em 3D;

À Rita de Cássia por ser minha incentivadora, amiga, pelos sábios conselhos, e por sempre estar disposta a me ajudar;

A todos os meus professores pelos ensinamentos durante todos esses anos, mas em especial, aos professores, André Telles, Clemente Tanajura, Ernande Melo, Juliana Leonel, Mauro Cirano, Olga Otero, Paulo Mafalda e Ruth Viana, por serem grandes mestres, educadores, por serem pacientes, e por me ajudarem a superar muitas limitações;

À minha amiga Monique de Jesus por estar comigo durante esses anos, por ser um exemplo no qual sempre me espelhei, por me ouvir, me encorajar e sempre me lembrar que tudo isso faz parte de um grande propósito;

Aos amigos, Bianca Barbosa, Jonatan Oliveira, Leisiam Sodré, Milena Meneses, Naiádne Rocha e Thiago Giffoni por trazerem alegria e diversão a minha jornada;

À minha eterna amiga Carmelita, que orou a Deus em meu favor, que torceu pelo meu sucesso, mas que para minha profunda tristeza e alegria do céu não contemplará a concretização deste sonho;

À Michelle Chaves por apresentar-me o curso de oceanografia quando ainda era menina, por me mostrar que era possível trabalhar com o que eu amava, temORIZAVA e respeitava:

O oceano.

“Quando temos a maturidade de entendermos que somos responsáveis por tudo que nos acontece, então temos também a capacidade de mudar aquilo que desejamos. Nos vemos como vítimas nos tornam impotentes, porém, nos vemos como responsáveis nos dá poder.”

(Marinalva Callegario).

RESUMO

Os principais produtores primários calcificantes são algas coralináceas vermelhas, e estão presentes na maioria dos ecossistemas costeiros bentônicos. Em águas rasas, as algas coralináceas incrustantes (ACI) têm papéis biológicos e ecológicos fundamentais, elas contribuem para a consolidação e cimentação das estruturas no ambiente recifal, além de serem uma importante fonte de alimento, substrato e abrigo para diversos organismos bentônicos. Entretanto, estudos têm demonstrado que as ACI estão entre os organismos calcificantes mais sensíveis à acidificação dos oceanos (AO). Recentemente, foi sugerido que as espécies de algas coralináceas que atualmente vivem em ambientes altamente variáveis, como piscinas de maré, são mais resistentes à AO. Para testar isso, esse estudo objetivou compreender o efeito isolado da redução do pH da água do mar no metabolismo de ACI de vida livre (rodolito) que vivem em piscinas de águas rasas em regiões tropicais. Neste experimento, avaliamos o desempenho metabólico de quinze rodolitos em laboratório, incubados por seis dias em uma condição controle ($\text{pH}_T = 8,1$) e uma condição de AO prevista para o fim deste século ($\text{pH}_T = 7,8$) (RCP 8.5; IPCC, 2014), reproduzidas simultaneamente, à temperatura e salinidade média *in situ*. Para avaliarmos o efeito dos tratamentos de pH no desempenho fotossintético dos rodolitos, medimos o rendimento quântico através de um Fluorômetro Subaquático de Amplitude de Pulso Modulado. As taxas fotossintéticas e respiratórias foram determinadas através da mudança na concentração de oxigênio dissolvido na água, durante uma rápida simulação de claro e escuro. A taxa de calcificação líquida foi estimada no claro, usando a técnica de anomalia da alcalinidade da água pelo tempo. Os resultados mostraram que a exposição dos rodolitos à pH_T reduzido não afetou o seu metabolismo. Não encontramos efeito significativo da redução do pH_T na produção primária e na respiração, assim como nenhum efeito foi encontrado na resultante entre a produção e a respiração. A calcificação e o rendimento quântico também não apresentaram variação entre os tratamentos de pH_T . Este estudo apoia a suposição de que algumas espécies de algas coralináceas que vivem em piscinas de maré, onde a pCO_2 é altamente variada, são mais resistentes ao aumento da pCO_2 /diminuição do pH.

Palavras-chave: Acidificação do oceano; Alga coralinácea incrustante; Calcificação; pCO_2 elevada; Piscinas de maré; Produção primária; Respiração; Rodolito.

ABSTRACT

The main primary calcifying producers are red coralline algae, and are present in most benthic coastal ecosystems. In shallow waters, crustose coralline algae (CCA) have fundamental biological and ecological roles, they contribute to the stabilization and cementation of structures in the reef environment, in addition to being an important source of food, substrate and shelter for various benthic organisms. However, studies have shown that CCAs are among the calcifying organisms most sensitive to ocean acidification (OA). Recently, it has been suggested that species of coralline algae that currently live in highly variable environments, such as tidal pools, are more resistant to OA. To test this, this study aimed to understand the isolated effect of reducing the pH of seawater on the metabolism of free-living CCA (rhodolith) that live in shallow water pools in tropical regions. In this experiment, we evaluated the metabolic performance of fifteen rhodoliths in the laboratory, incubated for six days in a control condition ($\text{pH}_T = 8.1$) and an AO condition expected at the end of this century ($\text{pH}_T = 7.8$) (RCP 8.5; IPCC, 2014) reproduced simultaneously, at average temperature and salinity *in situ*. To assess the effect of pH treatments on rhodoliths photosynthetic performance, we measured quantum yield using an Underwater Modulated Pulse Amplitude Fluorometer. The photosynthetic and respiratory rates were determined by changing the concentration of dissolved oxygen in the water, during a rapid simulation of light and dark. The liquid calcification rate was estimated in the presence of light, using the water alkalinity anomaly over time technique. The results showed that the exposure of rhodoliths to reduced pH_T did not affect its metabolism. We did not find a significant effect of lowering pH_T on primary production and respiration, neither was found effect on the resultant between production and respiration. Calcification and quantum yield also showed no variation between pH_T treatments. This study supports the assumption that some species of coralline algae that live in tidal pools, where pCO_2 is highly varied, are more resistant to increasing pCO_2 /decreasing pH.

Keywords: Calcification; Crustose coralline algae; Elevated pCO_2 ; Ocean acidification; Primary production; Respiration; Rhodolith; Tidal pool.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Localização da área de estudo.....	8
Figura 3.2. Imagens da posição emersa do recife adjacente à praia de Guarajuba durante a maré baixa de sizígia.....	10
Figura 3.3. Aquário do sistema de aclimação com os rodolitos e suas identificações em PVC.....	11
Figura 3.4. Sistema de aclimação adaptado de Oliveira (2002).....	12
Figura 3.5. Desenho esquemático da estrutura e circulação do sistema experimental (Z), e do método de manipulação do pH empregado (Y).....	13
Figura 3.6 Desenho esquemático da distribuição aleatória das unidades experimentais para cada tratamentos de pH aplicado em todos os ciclos experimentais.....	17
Figura 3.7. Medição dos parâmetros de fluorescência de um rodolito através do equipamento <i>DIVING-PAM</i> (Foto: T. Villela).....	18
Figura 3.8. Configuração de uma incubadora.....	19
Figura 3.9. Sistema experimental durante a incubação dos rodolitos no claro (U) e no escuro (V) para quantificação indireta das taxas fotossintéticas e respiratória.....	20
Figura 3.10. Procedimentos aplicados para determinação da alcalinidade total.....	22
Figura 3.11. Configuração dos equipamentos utilizados para fotografar os rodolitos (Foto I: T. Villela).....	24
Figura 3.12. Desenho esquemático indicando o posicionamento da câmera para fotografar os rodolitos (nº 1, 2, 3, e 4).....	25
Figura 4.1. Boxplot mostrando médias, máximos, mínimos, e os desvios, do F_v/F_m dos rodolitos em S1, S2, S3 e S4 como função da condição experimental em que foram medidos.....	31
Figura 4.2. Produção primária líquida ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) dos rodolitos a $\sim 240 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (PAR) e respiração escura ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) em uma simulação rápida de claro/escuro 1 h após o início do experimento (T0) e após cinco dias de incubação (T1) sob os níveis de pH 8,1 (atual) e 7,8 (baixo).....	39

Figura 4.3. Produção primária bruta ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$) dos rodolitos estimada 1h após o início do experimento (T0) e após cinco dias de incubação (T1) sob os níveis de pH 8,1 (atual) e 7,8 (baixo).....40

Figura 4.4. Valores médios (\pm DP) da razão P/R dos rodolitos em uma simulação rápida de claro/escuro no início do experimento (T0) e após cinco dias de incubação (T1) sob dois níveis diferentes de pH 8,1 (atual) e 7,8 (baixo).....41

Figura 4.5. G_{liq} expressa em forma de gráfico boxplot como média, desvio padrão, e valores máximos e mínimos, medida após 6 dias de exposição aos tratamentos de pH..... 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1. Média (\pm DP) do rendimento quântico do FSII dos rodolitos adaptados ao escuro antes da aclimação (S1) e após completar quinze dias no sistema de aclimação (S2).....	28
Tabela 4.2. Média (\pm DP) do rendimento quântico do FSII dos rodolitos adaptados ao escuro instantes antes de serem incubados (S3) e após o término dos experimentos (S4).....	29
Tabela 4.3. Comparação do rendimento quântico do FSII dos rodolitos adaptados ao escuro após 15 dias de aclimação (S2) e instantes antes de serem incubados (S3).....	30
Tabela 4.4. Resultados estatísticos do teste T examinando os efeitos do pH no Fv/Fm dos rodolitos.....	32
Tabela 4.5. Estimativa da área de cobertura superficial (ACS) dos rodolitos nos tratamentos de pH.....	32
Tabela 4.6. Parâmetros físico-químicos das incubadoras (média \pm DP) de tratamento medidas ao longo dos experimentos entre 15 de Agosto de 2018 e 27 de Setembro de 2018.....	34
Tabela 4.7. Resumo dos parâmetros químicos da água do mar experimental, após a eliminação dos dados das incubadoras comprometidas.....	35
Tabela 4.8. Produção primária líquida dos rodolitos estudados durante uma simulação de claro em T0 e T1.....	36
Tabela 4.9. Respiração dos rodolitos estudados durante uma simulação de escuro em T0 e T1.....	37
Tabela 4.10. Produção primária bruta dos rodolitos calculada a partir da produção líquida e respiração em T0 e T1.....	37
Tabela 4.11. Resultados estatísticos do teste T examinando os efeitos do pH nas taxas de P_{liq} , R, P e na razão P/R.....	40

Tabela 4.12. Calcificação líquida (G_{liq}) dos rodolitos sob tratamento de pH baixo em comparação com tratamento de pH atual estimada após seis dias de incubação.....42

Tabela 5.1. Resposta de estudos que investigaram os efeitos da variação da pCO_2/pH na respiração, fotossíntese e na calcificação de algas coralináceas incrustantes de regiões tropicais e sub tropicais em diferentes profundidades..... 51

LISTA DE ABREVIações

AC: Anidrase Carbônica

ACI: Alga Coralinácea Incrustante

ACS: Área de Cobertura Superficial

AO: Acidificação dos Oceanos

AT: Alcalinidade total

C: Carbono

Ca²⁺: Íon de Cálcio

CaCO₃: Carbonato de Cálcio

CaCO₃-Mg: Carbonato de Cálcio com Alto Teor de Magnésio

CID: Carbono Inorgânico Dissolvido

CO₃²⁻: Íon de Carbonato

Fv/Fm: Rendimento Quântico do Fotossistema II de Algas Aclimatadas ao Escuro ou Eficiência Fotoquímica Máxima de Algas Aclimatadas ao Escuro.

HCO₃⁻: Íon de Bicarbonato

H₂CO₃: Ácido Carbônico

IPCC: Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas

OD: Oxigênio Dissolvido

Ω: Estado de Saturação

PAR: Luz Fotossinteticamente Ativa

pCO₂: Pressão Parcial do Dióxido de Carbono

pH: Potencial Hidrogeniônico

R: Rodolito

RC: Reator Central

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIACÕES.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo Geral.....	7
2.2 Objetivos Específicos.....	7
3. MATERIAL E MÉTODO	8
3.1 Área de Estudo	8
3.2 Procedimento em Campo	9
3.2.1 Coleta do Material Biológico	9
3.3 Em Laboratório	11
3.3.1 Adaptação às Condições Laboratoriais	11
3.3.2 Configuração Experimental	13
3.3.2.1 Sistema Experimental	13
3.3.2.2 Método de Manipulação do pH Empregado	15
3.3.2.3 Desenho Experimental.....	16
3.3.3 Medições de Fluorescência.....	17
3.3.4 Determinação das Taxas de Produção Primária e Respiração	19
3.3.5 Determinação das Taxas de Calcificação.....	21
3.3.6 Estimativa da Área de Cobertura Superficial das ACI de Vida Livre	23
3.4 Identificação Taxonômica das Algas Coralináceas Incrustantes Estudadas.....	26
3.5 Análise dos Dados	26
4. RESULTADOS	28
4.1 Eficiência Fotossintética.....	28
4.2 Área de Cobertura Superficial das Algas	32
4.3 Parâmetros Físico-Químicos Medidos e Calculados ao Longo dos Experimentos	33
4.4 Produção Primária e Respiração	36
4.5 Calcificação	41
5. DISCUSSÃO	44
5.1 Parâmetros Físicos e Químicos	44
5.2 Eficiência Fotossintética.....	46
5.3 Produção Primária, Respiração e Calcificação	49
5.4 Considerações Finais	55
6. CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 200 anos o aumento de CO₂ atmosférico, reduziu o pH médio dos oceanos superficiais em aproximadamente 0,1 unidades de pH (ORR et al., 2005; RAVEN et al., 2005). Prevê-se que o aumento da concentração de CO₂ projetado para o final deste século e a conseqüente acidificação dos oceanos (AO), ainda causará uma importante mudança na química da água do mar (BREWER, 1997; DONEY et al., 2009; MILLERO, 2007; SORDO et al., 2018). É esperado que haja uma redução de aproximadamente 0,3 unidades no pH médio dos oceanos superficiais (IPCC-AR5, 2014), e que a concentração do íon carbonato reduza até 55% (BREWER, 1997). Tais modificações afetarão o estado de saturação do carbonato de cálcio (CaCO₃) (DONEY et al., 2009; MILLERO, 2007) e conseqüentemente, a capacidade de organismos calcificadores de formar e manter suas estruturas (como esqueletos ou conchas) de CaCO₃ (ANTHONY et al., 2008; HOEGH-GULDBERG, 1999; HOFMANN; BISCHOF, 2014).

As complexas estruturas que são formadas nos recifes pelos diferentes organismos calcificadores, fornecem serviços ecossistêmicos para toda a comunidade recifal, mantendo a biodiversidade e criando mais áreas de superfície para apoiar as comunidades (DONEY et al., 2009). Caso esse potencial seja afetado, ocorrerá uma redução dos serviços ecossistêmicos prestados, com redução da biodiversidade e aumento da migração de espécies, podendo prejudicar atividades como a pesca, turismo, e outros serviços economicamente importantes (IPCC-AR5, 2014).

Os principais produtores primários calcificantes são algas coralináceas vermelhas, e estão presentes na maioria dos ecossistemas costeiros bentônico (EYRE; ANDERSSON; CYRONAK, 2014; HOEGH-GULDBERG, 1999; FOSTER, 2001; RAGAZZOLA et al., 2016). Em águas rasas, as algas coralináceas incrustantes (ACI) têm papéis biológicos e ecológicos fundamentais, elas contribuem para a consolidação e cimentação das estruturas no ambiente recifal, além de serem uma importante fonte de alimento para organismos comercialmente importantes (ADEY, 1998; CHISHOLM, 2003). Ainda, servem como substrato para o assentamento de larvas de invertebrados e como abrigo para uma grande diversidade de organismos (ADEY, 1998).

Há muito tempo as ACI são reconhecidas pela sua importantíssima função ecológica (CHISHOLM, 2003), e por atuarem no balanço entre carbono e carbonato presentes na água do mar costeira (MARTIN et al., 2013). Adicionalmente, mesmo quando não são os organismos mais abundantes do habitat bentônico, podem ser responsáveis por metade da produção total, e em muitos casos, é a principal base da cadeia alimentar em ambientes

bentônicos (CHISHOLM, 2003).

Devida à importância, uma boa parte das pesquisas dentro do assunto da acidificação, estão focadas em entender como esses calcificadores serão afetados (HOFMANN; BISCHOF, 2014; HURD et al., 2009; SORDO et al., 2018). Isso porque as ACI precipitam carbonato de cálcio com alto teor de magnésio ($\text{CaCO}_3\text{-Mg}$) em suas células (RAGAZZOLA et al., 2016), e por isso estão entre os organismos mais sensíveis a AO, uma vez que o $\text{CaCO}_3\text{-Mg}$ é a forma mais solúveis das três principais formas de carbonato biogênico (FINK et al., 2017; RAGAZZOLA et al., 2016). Além de seu esqueleto ter alta solubilidade, as taxas de crescimento das algas coralináceas são baixas (FOSTER, 2001).

As mudanças na proporção das espécies de carbono inorgânico dissolvido (CID) causada pela AO (isto é, aumento da concentração dos íons de bicarbonato e CO_2 dissolvido, e redução dos íons de carbonato), também podem impactar diretamente a fotossíntese e a calcificação destas algas, uma vez que, o CID é o principal substrato utilizado nestes processos, e a sua disponibilidade os controla (NOISETTE et al., 2013a). A relação entre a fotossíntese, respiração e a calcificação de algas coralináceas, ainda não foi totalmente compreendida (HOFMANN; BISCHOF, 2014), mas, foi demonstrado que estes processos estão fortemente ligados (GAO et al., 1993a).

A fotossíntese estimula a calcificação por meio do consumo de CO_2 , que por sua vez, eleva o pH da água do mar no meio circundante, aumentando assim o estado de saturação CaCO_3 e favorecendo a precipitação do CaCO_3 (GAO et al., 1993a; MARTIN; CHARNOZ; GATTUSO, 2013). Já durante a respiração no escuro, o inverso ocorre, e a redução do pH gera uma redução do estado de saturação do CaCO_3 no meio, o que dificulta a calcificação (HURD et al., 2009; MARTIN; CHARNOZ; GATTUSO, 2013). Essas variações aumentam a taxa de calcificação na luz e diminuem no escuro (NOISETTE et al., 2013a). Foi demonstrado ainda que a calcificação também pode estimular a fotossíntese, por meio da liberação de CO_2 (MCCONNAUGHEY, 1991).

Por causa da interação entre os processos metabólicos ainda é difícil compreender como a pCO_2 elevada afetará as ACI no futuro (EGILSDOTTIR et al., 2013), uma vez que vários estudos em laboratório e em mesocosmos que investigaram os efeitos da AO sob seu metabolismo encontraram respostas variadas. Alguns trabalhos encontraram efeitos negativos na calcificação (ANTHONY et al., 2008; JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014; SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016) e na fotossíntese (ANTHONY et al., 2008; MARTIN et al., 2013). A maioria não encontrou efeito na respiração (SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ,

2016). Outros relataram um aumento na fotossíntese (LEI et al., 2020; SEMESI; KANGWE; BJORK, 2009) e na calcificação (SMITH; ROTH, 1979), ou ainda, que nenhum efeito foi encontrado (MARTIN et al., 2013).

Estes resultados contraditórios foram atribuídos a respostas específicas das espécies ao aumento da $p\text{CO}_2$ (MARTIN et al., 2013; RIES; COHEN; MCCORKLE, 2009; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016), além disso, há outros fatores que podem influenciar na resposta das ACI à AO, como o ambiente em que as algas viveram antes dos experimentos, e o tempo de exposição experimental (HURD et al., 2009; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Por exemplo, Ries, Cohen e Mccorkle (2009) relataram um aumento duplo na calcificação líquida quando a ACI tropical *Neogoniolithon* sp. foi exposta à $p\text{CO}_2$ de 605 e 903 μatm . Esse efeito positivo da AO na calcificação foi associado à capacidade das algas de manter o pH elevado no local da calcificação por meio do aumento da fotossíntese, o que aumentou a sua resiliência à $p\text{CO}_2$ elevada.

Para a ACI *Porolithon onkodes* coletada em ambientes contrastantes, a exposição à $p\text{CO}_2$ elevada afetou negativamente a calcificação líquida 2x mais nos organismos coletados em um local mais estável (em termos de $p\text{CO}_2$), do que os de local mais variável (JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014).

Quanto ao tempo de estudo, Martin e Gattuso (2009) investigaram o efeito do aumento da $p\text{CO}_2$ na ACI *Lithophyllum cabiochae* ao longo de 1 ano, e relataram que após 1 mês a calcificação diminuiu, porém, após 1 ano de aclimação nenhum efeito foi encontrado. Infelizmente, essas implicações ainda são uma limitação para a compreensão de como a AO afetará as algas coralináceas no futuro (VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Por outro lado, estudos de campo concordam que em ambientes tropicais e temperados naturalmente enriquecidos de CO_2 (com infiltrações vulcânicas), há uma clara redução na cobertura ou ausência de ACI (AGOSTINI et al., 2018; FABRICIUS et al., 2015; PORZIO; BUIA; HALL-SPENCER, 2011). Foi relatado ainda que a AO afeta negativamente as taxas de recrutamento (KUFFNER et al., 2008), as estruturas reprodutivas (PORZIO; BUIA; HALL-SPANCER, 2011) e de espessura e crescimento do esqueleto (MARTIN; GATTUSO, 2009; MCCOY; RAGAZZOLA, 2014). Estes dois últimos, são considerados efeitos importantes na redução da capacidade de competição das ACI com organismos não calcificantes (MCCOY; RAGAZZOLA, 2014; KUFFNER et al., 2008). Assim, em um futuro de AO é esperado que as algas coralináceas diminuam por competição, o que reduzirá a

complexidade e diversidade dos ecossistemas ao qual elas estejam associadas (AGOSTINI et al., 2018; HURD et al., 2009; KUFFNER et al., 2008). Por isso é fundamental conhecer as respostas metabólicas destes organismos em condições ambientais normais e alteradas, para que se possa avaliar o impacto das mudanças climáticas principalmente em termos de manutenção dos habitats coralíneos (MARTIN et al., 2013).

Segundo os trabalhos de Gao (1993a) e Noisette et al (2013a) algas coralináceas que atualmente vivem em ambientes altamente variáveis indicam que são mais resistentes à AO. Essa capacidade de tolerar grandes variações de pH podem ser resultado de uma adaptação (característica genética compartilhada pela população) e/ou aclimação (devido à plasticidade fenotípica em nível individual) que as vezes é perdida ou está ausente em algas coralináceas de ambientes mais estáveis (EGILSDOTTIR et al., 2013).

Um dos ambientes que sofrem grandes variações das propriedades físico-químicas, incluindo pH (devido as flutuações da $p\text{CO}_2$), são as piscinas de maré, pois tornam-se desconectadas do mar aberto na maré baixa (MOULIN et al., 2011). Como resultado das atividades metabólicas (fotossíntese e respiração) da comunidade, é comum que nestas piscinas a variação do pH durante o dia e a noite ultrapasse uma unidade de pH (CORNWALL et al., 2013; MOULIN et al., 2011). Por isso, as piscinas de maré oferecem uma condição interessante de ser investigada, uma vez que, os organismo que ali vivem enfrentam naturalmente grande variação de pH.

Levando isso em consideração, o estudo de Egilsdottir et al (2013) compararam o efeito da $p\text{CO}_2$ elevada no metabolismo da alga coralinácea articulada (ACA) *Corallina elongata*, coletada em uma piscina de maré na costa *Les Amiets (Cléder, França)*, e descobriram que *Corallina elongata* da poça de maré apresentaram melhor resistência à AO do que algas de ambientes menos variável. Da mesma forma, Cornwall et al (2013) avaliou os efeitos da diminuição do pH médio dos oceanos na fisiologia da ACA *Arthrocardia corymbosa*, coletada em um ambiente costeiro semelhante em Karitane (Nova Zelândia), e também não encontrou resposta. Em ambos os trabalhos, a ausência de resposta fisiológica das algas coralináceas à AO foi atribuída à exposição natural destas algas à flutuações de pH.

Dentre as diversas morfologias de crescimento das ACI, encontram-se as algas que formam nódulos de vida livre/rodolitos (FOSTER, 2001). Os rodolitos estão bem presentes em recifes rasos, como em piscinas de maré em regiões tropicais (SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009), e por isso podem ser bons indicadores para avaliar o efeito da AO em organismos que atualmente já suportam variações de pH no ambiente natural. Mas, até o

momento, a grande maioria dos estudos sobre AO documentados nos últimos anos, negligenciou algas coralináceas que potencialmente são naturalmente aclimatadas a ambientes de alta variação de pH/pCO₂ (EGILSDOTTIR et al., 2013), e estiveram focados em estudos de curto prazo com espécies que vivem em regiões de médias latitudes (CELIS-PLÁ et al., 2015; DIAZ-PULIDO et al., 2012; PORZIO et al., 2018). A justificativa para isso é que essa região será uma das primeiras a sofrer com as mudanças na química da água do mar, e como consequência, as espécies que vivem nela estarão entre as primeiras a declinarem (HOFMANN; BISCHOF, 2014; TYRRELL, 2008).

Por outro lado, a resposta das algas coralináceas de regiões tropicais são fundamentais para compreender os efeitos da acidificação e de uma possível adaptabilidade das algas coralináceas em geral, pois sabe-se que as macroalgas que vivem em áreas tropicais rasas tem uma maior resiliência à temperaturas elevadas, alta luminosidade e pH reduzido (SCHERNER et al., 2016). É esperado ainda que haja uma expansão das áreas tropicais com as mudanças climáticas (PERRY et al., 2005), o que faz das espécies tropicais um foco importante, pois pensa-se que estas se refugiarão em latitudes mais altas (VERGÉS et al., 2014).

Diante destas considerações, esse estudo teve como objetivo investigar o efeito da AO sob o metabolismo de rodólitos encontrados em piscinas de maré de regiões tropicais. Trabalhando com experimentos em laboratório de curto prazo, que visou simular as condições médias de pH do oceano superficial atual (pCO₂ de ~ 400 ppmV e pH ~ 8,1) e prevista para o ano de 2100 (pCO₂ de ~ 800 ppmV e pH ~ 7,8) (IPCC-AR, 2014), utilizando o método de manipulação do pH que mais se aproxima de uma simulação realística do que vem ocorrendo na superfície dos oceanos em termos de mudanças na pCO₂ (DICKSON; SABINE; CHRISTIAN, 2007). Apesar de sabermos que é impossível simular todas as alterações que ocorrem na água em virtude do aumento da pCO₂ e prever as consequências reais neste ambiente, optamos por trabalhar com experimentos em laboratório pois temos a vantagem de isolar o efeito de apenas uma variável (pH) e controlá-la com precisão.

Uma vez que há indícios que algas coralináceas que habitam piscinas de maré são mais resistentes à AO, avaliaremos se, de fato, a diminuição do pH_T da água do mar experimental causará alterações na produtividade dos rodólitos. Por outro lado, esperamos que com a redução do ponto de saturação do CaCO₃-Mg, a calcificação dos rodólitos seja negativamente afetada, como demonstrado na maiorias dos estudos com ACI de regiões tropicais (ANTHONY et al., 2008; JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014; SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Para testar isso, estimamos a razão entre a produção primária bruta e a respiração no escuro em uma condição controle (pH_T atual) e em uma condição futura (pH_T reduzido). Além disso, determinamos as taxas de calcificação líquida por meio da alteração da alcalinidade total no tempo, e medimos a eficiência fotossintética dos rodólitos para auxiliar na interpretação dos resultados.

Assim, testaremos duas hipóteses, uma ligada à produtividade e outra à calcificação das algas coralináceas incrustantes de vida livre. A primeira, com respeito à produtividade é enunciada como:

- H_{p1} = A diminuição do pH_T influencia a produtividade das algas coralináceas incrustantes de vida livre, medida pela resultante média entre produção bruta e respiração (P/R):

$$\text{P/R } \text{pH}_T \text{ atual} \neq \text{P/R } \text{pH}_T \text{ baixo}$$

- H_{p0} = A diminuição do pH_T não influencia a produtividade das algas coralináceas incrustantes de vida livre:

$$\text{P/R } \text{pH}_T \text{ atual} = \text{P/R } \text{pH}_T \text{ baixo}$$

A segunda, com respeito à calcificação é enunciada como:

- H_{c1} = A manutenção da produtividade compensará o efeito negativo da redução do ponto de saturação do $\text{CaCO}_3\text{-Mg}$ e ocorrerá a queda na calcificação (G_{liq}) das algas coralináceas sob redução do pH_T , promovendo a diferença entre as médias dos tratamentos de pH_T :

$$G_{liq} \text{ } \text{pH}_T \text{ atual} \neq G_{liq} \text{ } \text{pH}_T \text{ baixo}$$

- H_{c0} = A manutenção da produtividade não compensará o efeito negativo da redução do ponto de saturação do $\text{CaCO}_3\text{-Mg}$ e ocorrerá a queda na calcificação (G_{liq}) das algas coralináceas sob redução do pH_T , não havendo diferença entre as médias dos tratamentos de pH_T .

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Compreender o efeito isolado da redução do pH da água do mar no metabolismo de algas coralináceas incrustantes de vida livre (rodolito) que vivem em piscinas recifais em regiões tropicais.

2.2 Objetivos Específicos:

- Avaliar se há mudança na produção/consumo de oxigênio com a variação do pH_T .
- Analisar a resultante entre produção e consumo de oxigênio com a variação do pH_T .
- Avaliar se há mudança na alcalinidade total num intervalo de tempo com a variação do pH_T .

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Área de Estudo

A praia de Guarajuba está localizada no Litoral Norte do Estado da Bahia (Brasil), a uma distância de aproximadamente 70 km de Salvador. Possui ao longo de sua faixa litorânea, recifes emersos e bancos submersos, dentre os quais, o que se encontra adjacente à praia foi escolhido como local de coleta dos indivíduos estudados. A figura 3.1 destaca em vermelho a localização do recife em relação ao Litoral Norte da Bahia/Brasil.

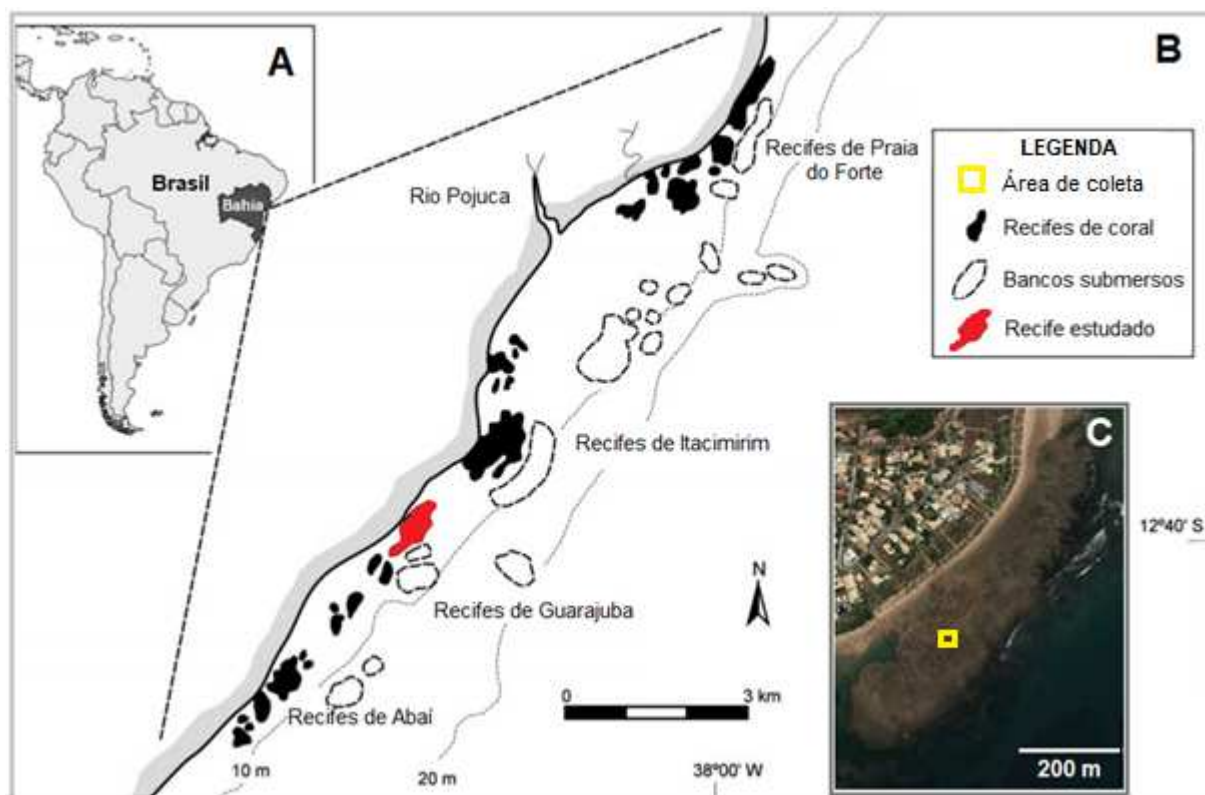


Figura 3.1. Localização da área de estudo. **A** – Área de estudo em relação ao Estado da Bahia, Brasil. **B** – Detalhamento do Litoral Norte da Bahia, destacando a posição dos recifes (Fonte: LEÃO; KIKUCHI, 2005). **C** – Imagem aérea do recife estudado destacando em amarelo o local aproximado dos pontos de coleta (Fonte: Google Earth).

O clima na região Norte da Bahia é caracterizado como tropical úmido, de acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007), e apresenta uma precipitação média de aproximadamente 1700 mm ano^{-1} , segundo os dados da estação meteorológica de Camaçari para o período de 1981 – 2010 (INMET, 1992). As temperaturas médias anuais da superfície da água variam entre 24°C no inverno e 28°C no

verão (LEÃO; KIKUCHI, 2005), com máximas de até 30°C correspondente ao final do verão (LEÃO; KIKUCHI; TESTA, 2003).

Particularmente nas piscinas do recife estudado, a temperatura média anual atinge mínima de aproximadamente 28° C (inverno) e máxima de 32° C (verão) (POGGIO, 2007; SANTA-ISABEL; LEÃO; PESO-AGUIAR, 2000). A salinidade e o pH apresentam valores próximos à 37 e 8,5 (POGGIO, 2007; SANTA-ISABEL; LEÃO; PESO-AGUIAR, 2000) e não variam significativamente entre as estações do ano (POGGIO, 2007). De acordo com Kikuchi e Leão (1998) o recife é raso, pois a sua profundidade não ultrapassa 10 metros. Possui uma área média de aproximadamente 184.000 m² com topo formado por uma superfície plana, mas irregular, a qual proporciona a formação de piscinas de variadas profundidades durante a maré baixa (SANTA-ISABEL; LEÃO; PESO-AGUIAR, 2000).

As piscinas deste recife acomodam uma diversidade de organismos bentônicos, a exemplo são, os construtores de estruturas carbonáticas como algas coralináceas vermelhas e colônias de coral vivo, além destes, encontrasse esponjas, caranguejos, peixes, ouriços-do-mar, poliquetas e algas verdes e marrons (SANTA-ISABEL; LEÃO; PESO-AGUIAR, 2000; LUCIO; NUNES, 2002). Em geral, o recife é dominado por construções carbonáticas de algas coralináceas mortas, que estão distribuídas da zona mais emersa do recife até a mais submersa (SANTA-ISABEL; LEÃO; PESO-AGUIAR, 2000), e quando erodidas, contribuem para a reciclagem de nutrientes neste ambiente (FINK et al., 2017).

3.2 Procedimento em Campo

3.2.1 Coleta do Material Biológico

As ACI de vida livre foram coletadas, durante a maré baixa de sizígia, na parte sul do recife adjacente à praia de Guarajuba (12°38'37"S 38°03'37"O) em 30 de Julho de 2018 (Figura 3.1). Foram escolhidas quatro piscinas naturais formadas na baixa-mar que apresentaram vários nódulos de algas vivas para a coleta dos organismos, no geral, essas piscinas estavam mais distantes da linha de praia (Figura 3.2).

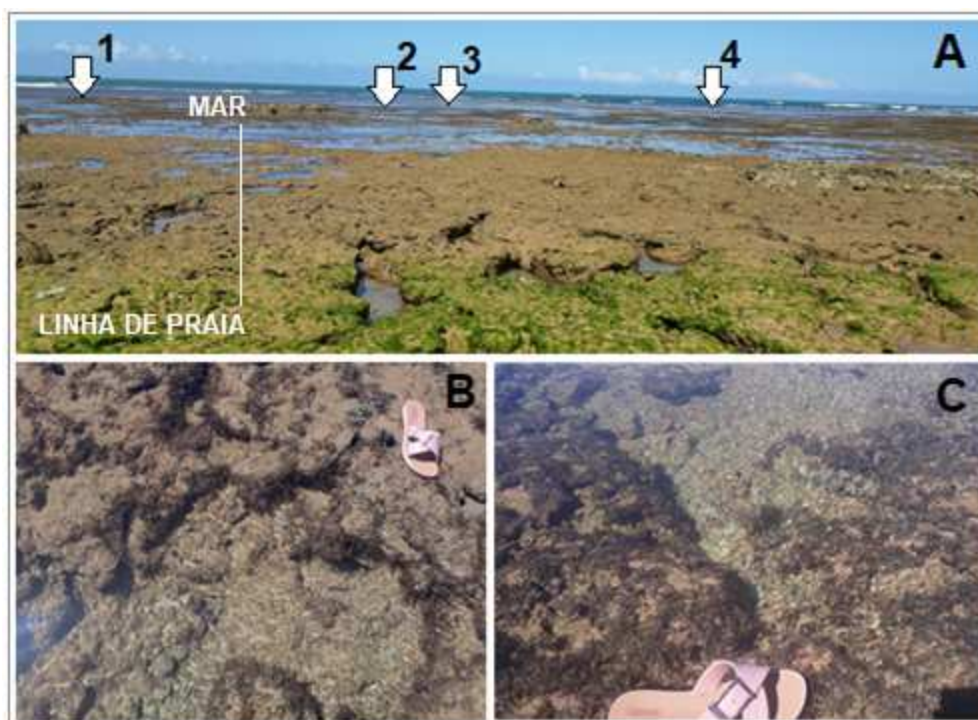


Figura 3.2. Imagens da posição emersa do recife adjacente à praia de Guarajuba durante a maré baixa de sizígia. **A** – localização aproximada das piscinas de coleta, números 1, 2, 3 e 4. **B** e **C** – Piscinas naturais entre os pontos de coleta (comprimento da sandália 25 cm).

O critério de seleção para coleta dos organismos teve como base, recolher somente os indivíduos que se encontravam submersos, e que aparentavam estar visivelmente mais saudáveis e mais rosados. No total, foram coletados 20 indivíduos vivos, com tamanhos aproximados entre 3 e 5 cm de diâmetro, a uma profundidade superior a 30 cm da lâmina d'água de cada piscina. Por se tratar de um estudo com nódulos de algas de vida livre, a coleta foi realizada manualmente, ou seja, excluindo o uso de qualquer ferramenta de corte ou de quebra dos organismos.

Ainda em campo, os exemplares selecionados foram limpos utilizando uma escova dental suave para remover sedimentos, epífitas e invertebrados, em seguida, introduzidos em sacos plásticos contendo água do mar e imediatamente transportados em caixas térmicas para o Laboratório de Estudos de Recifes de Corais e Mudanças Globais (RECOR), do Instituto de Geociências (IGEO), da Universidade Federal da Bahia (UFBA), local de realização dos experimentos.

3.3 Em Laboratório

3.3.1 Adaptação às Condições Laboratoriais

Os indivíduos coletados foram imediatamente transferidos para o aquário do sistema de aclimação, distribuídos em um suporte de vidro posicionado no centro deste aquário, onde os rodolitos selecionados para estudo foram identificados utilizando marcações numéricas escritas em cilindros de PVC (Figura 3.3).



Figura 3.3. Aquário do sistema de aclimação com os rodolitos e suas identificações em PVC. **A** – Bomba submersível. **B** – Aquecedor submersível. **C** – Sensor do termostato. **D** – Suporte de vidro.

Antes de iniciar os experimentos, os organismos foram aclimatados por um período mínimo de 15 dias em água do mar não filtrada, a salinidade (36), temperatura ($26 \pm 0,2$ °C), e iluminação (240 ± 32 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{s}^{-1}$) controladas. Os par\u00e2metros citados acima n\u00e3o tiveram importantes oscila\u00e7\u00f5es durante o per\u00edodo de aclima\u00e7\u00e3o, pois foram mantidos por sistemas e equipamentos previamente preparados/calibrados.

Sendo assim, a circula\u00e7\u00e3o do sistema de aclima\u00e7\u00e3o foi mantida pelo uso de duas bombas submers\u00edveis (650 litros/hora e 1950 litros/hora) posicionadas dentro do aqu\u00e1rio e na caixa de circula\u00e7\u00e3o. Com rela\u00e7\u00e3o \u00e0 salinidade, esta se manteve pela reposi\u00e7\u00e3o de \u00e1gua deionizada evaporada do aqu\u00e1rio. J\u00e1 a temperatura foi assegurada pelo uso de um aquecedor (300 W de pot\u00eancia), conectado a um termostato (TIC-17, *Full Gauge*) calibrado para manter uma varia\u00e7\u00e3o m\u00e1xima de 0,2 °C. A ilumina\u00e7\u00e3o foi sustentada por quatro fitas de LED branca de 40 cm (6000K, *G-light*), presas em dois suportes de madeira posicionados nas laterais de maior comprimento do aqu\u00e1rio. O controle do sistema de ilumina\u00e7\u00e3o foi mantido por um temporizador hor\u00e1rio, de modo que, as LED's eram simultaneamente acesas \u00e0s seis horas da manh\u00e3, e automaticamente desligadas \u00e0s dezoito horas da noite,

configurando um fotoperíodo de 12/12 h claro/escuro para simular o ciclo da iluminação do ambiente natural.

A qualidade da água no sistema de aclimação era mantida pela renovação da água do mar semanalmente, com trocas de 70% do volume total, já a limpeza foi mantida por sistemas de filtragem. É possível ver a disposição de todo o sistema de aclimação e dos equipamentos utilizados na figura 3.4.

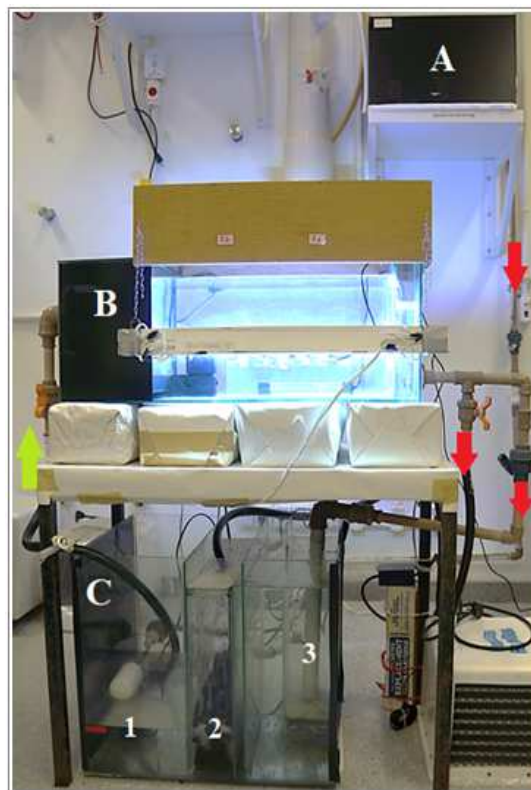


Figura 3.4. Sistema de aclimação adaptado de Oliveira (2002). **A** – Caixa de água deionizada. **B** – Aquário de vidro com uma cobertura vazada e dois suportes de iluminação pendurados em suas laterais. **C** – Caixa de circulação subdividida em três compartimentos: 1. Compartimento contendo uma bóia para a entrada de água deionizada e uma bomba submersível. 2. Compartimento com filtro de carvão e uma cascata para oxigenação da água. 3. Compartimento com filtro de areia. As setas coloridas indicam a direção de circulação da água, no lado direito induzido pela gravidade e no lado esquerdo por bomba.

Como descrito por Oliveira, 2002, a água do mar na caixa de circulação seguia para o aquário e retornava para os compartimentos 2 e 3 da caixa de circulação, sendo filtrada e oxigenada nesse processo. Ao passo que, todo o fluxo acumulado após ser filtrado e oxigenado, era bombeado de volta para o aquário. Desta maneira, o sistema de circulação de água salgada permaneceu dentro dos padrões de qualidade, até a próxima renovação da água.

Além disso, os rodolitos eram limpos com a mesma periodicidade com que a água do mar era renovada, para evitar o crescimento de epífitas, invertebrados e/ou a deposição de material particulado. O procedimento de limpeza aplicado em laboratório foi como descrito no item 3.2.1, sendo que todo o tratamento (desde a coleta até a finalização dos experimentos) foi realizado de maneira cuidadosa para evitar qualquer dano aos tecidos das algas.

3.3.2 Configuração Experimental

3.3.2.1 Sistema Experimental

Os experimentos foram realizados em um sistema com um banho termostático, que consistiu de um aquário de vidro (130 cm x 30 cm x 30 cm), uma caixa de circulação (50 cm x 39 cm x 34 cm), um refrigerador e um aquecedor (300 W de potência) (Figura 3.5 (Z)).

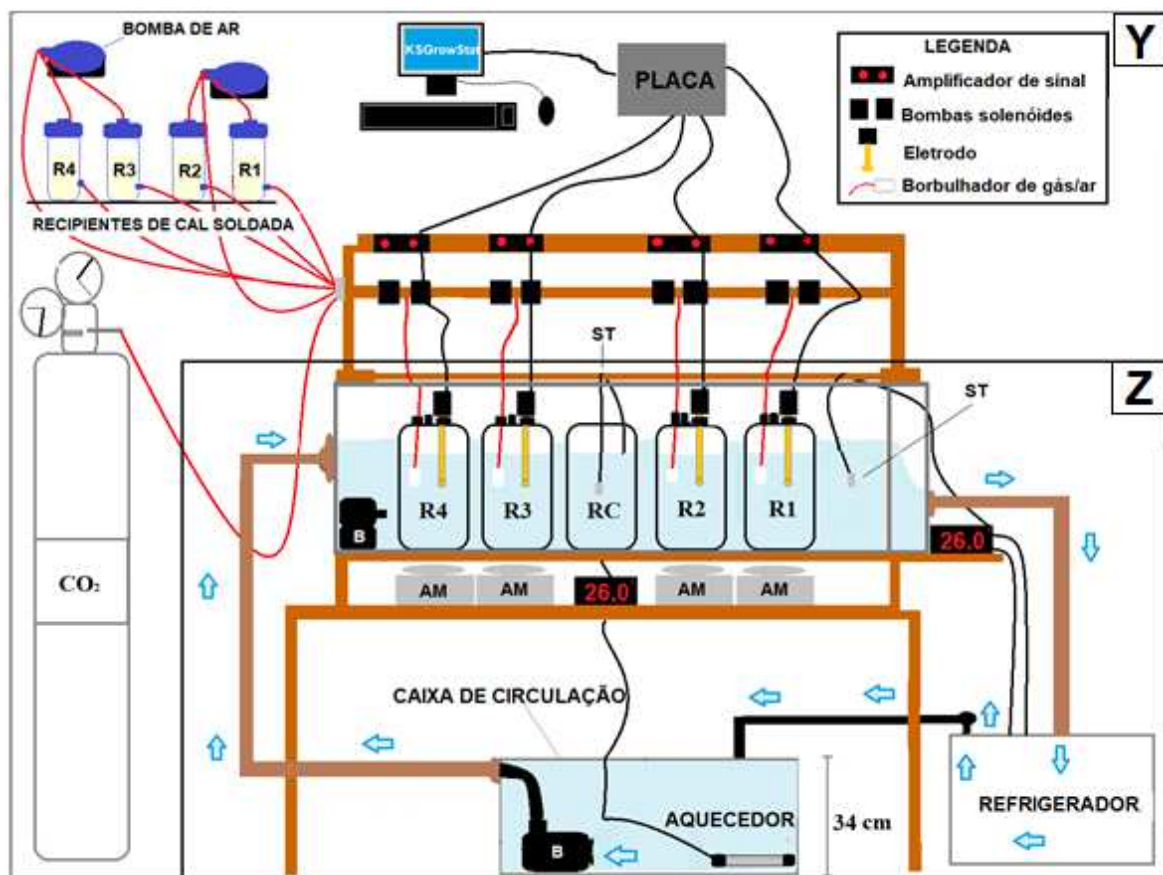


Figura 3.5. Desenho esquemático da estrutura e circulação do sistema experimental (Z), e do método de manipulação do pH empregado (Y). Z – As setas ao redor das tubulações indicam a direção da circulação da água no sistema, na direita pela gravidade e na esquerda por bomba. AM: agitador magnético, ST: sensor de temperatura, RC: reator central, RN^o: reator 1, 2, 3 e 4, B: bomba.

Para o preparo do banho termostático, foi utilizado um volume de 110 litros de água doce, que era mantido em circulação por uma bomba submersa (1950 litros/hora) na caixa de circulação. Além disso, bombas submersas de 650 litros/hora foram posicionadas na lateral esquerda do aquário e na caixa de circulação para promoverem a homogeneização da água nestes dois reservatórios. A temperatura do banho termostático foi mantida a $26 \pm 0,2$ °C, e era controlada pelo termostato de resfriamento posicionado ao lado direito do aquário. No passo que a temperatura se desviava em $+0,2$ °C, o termostato acionava a espiral de resfriamento do refrigerador para bombear água resfriada para a caixa de circulação e de lá seguir para o aquário.

Cinco reatores (incubadoras) de vidro de 2000 mL de volume foram posicionados em paralelo dentro do aquário, de modo que todos recebessem a mesma luminosidade e fossem mantidos a mesma temperatura ($26 \pm 0,2$ °C). O controle de temperatura da água nas incubadoras era mantido pelo termostato de aquecimento, seu sensor foi introduzido no reator central (RC) ao aquário. À medida que a temperatura se desviava em $-0,2$ °C, o aquecedor (posicionado na caixa de circulação) era acionado e água aquecida era bombeada para o aquário. Todas as incubadoras continham uma tampa bem ajustada com portas para a entrada de equipamentos/acessórios, isso nos permitiu retirar amostras de água para análises químicas e manipular sensores com frequência durante o experimento sem provocar perdas ou ganhos significativos de CO₂ durante tais processos.

Cada incubadora foi preenchida com 1500 mL de água salina artificial (salinidade 36), preparada com sal sintético (SMITH; ROTH, 1979; WIZEMANN et al., 2015), marca *Red Sea, Coral Pro Salt*, e mantida em constante agitação por meio de barras magnéticas. A decisão de utilizar água salina artificial neste experimento, como substituto da água do mar, foi tomada com o intuito de evitar a interferência respiratória e fotossintética proveniente de outras algas e animais planctônicos. Assim, para o preparo da água salina diluímos cerca de 320 gramas de sal sintético em 8 litros de água deionizada. Esta preparação foi realizada em um recipiente de plástico (40 L), onde uma bomba submersa de 650 litros/hora foi utilizada para a mistura e diluição dos sais, após 24 horas de mistura a salinidade foi medida por um refratômetro portátil com escala de 0 a 100 (precisão de 0,5).

A fonte de luz no sistema experimental consistiu em dois pares de fitas de LED de 100 cm (6000 K, G-light) colocadas nas laterais de maior comprimento do aquário. O controle do sistema de iluminação foi realizado por dois temporizadores horários que acendiam e apagavam as lâmpadas simultaneamente no horário programado, o fotoperíodo foi de 12:12 hs das 06:00 às 17:59 h (claro) e das 18:00 às 05:59 h (escuro) ao longo de todo o experimento. A média da irradiação dentro das incubadoras foi de 240 ± 16 μmol fótons m^2

s⁻¹, e se aproxima da quantidade de luz fotossinteticamente ativa (± 400 PAR, CHISHOLM, 2003; PAYRI et al., 2001) onde geralmente ocorre a máxima saturação aparato fotossintético, de muitas espécies de algas coralináceas tropicais de ambientes rasos. As medidas de PAR foram feitas por um medidor de luz universal submerso corrigido por cosseno (ULM-500, *Waltz, Germany*) antes do início dos experimentos.

A limpeza e a renovação de 100% do volume de água doce do sistema eram realizadas após o término de cada ciclo experimental. O aquário, a caixa de circulação, as incubadoras, e todos os equipamentos utilizados, eram limpos com água deionizada e ferramentas de limpeza.

3.3.2.2 Método de Manipulação do pH Empregado

Com o objetivo de simular exclusivamente as condições de acidificação da água do mar média atual e futura, utilizamos a técnica de borbulhamento de gás CO₂ em recipientes isolados (incubadoras) para criar as condições de pCO₂ desejadas e assim modificar o pH da água. Diferentemente de outras técnicas de manipulação do pH, o borbulhamento de gás CO₂ simula as trocas de CO₂ entre a atmosfera e a superfície do oceano, pois à medida que o CO₂ é adicionado na água as concentrações de ácido carbônico são alteradas, aumentando a concentração de carbono total (principalmente na forma de bicarbonato) mas sem provocar mudanças na alcalinidade total (HURD et al., 2009; SMITH; ROTH, 1979).

Para isso utilizamos junto a um computador, um sistema de pCO₂ controlado pelo software KSGrowStat (Universidade de Essex), este, estava conectado a uma placa eletrônica, a quatro amplificadores de sinal, e a um conjunto de bombas solenóides, que por sua vez, estavam conectadas a um cilindro de gás carbônico puro (classe medicinal), a recipientes específicos de cal soldada (que garantiam a entrada de ar livre de CO₂ em cada incubadora) e a bombas de ar (para a entrada de ar ambiente) (Figura 3.5 (Y)).

Eletrodos de vidro (*Thermo Scientific Orion Ross Ultra pH*) foram utilizados para regular a entrada de gás em todas as incubadoras (cujo o objetivo era criar as condições de pH desejadas) através de leituras de pH na escala total (pH_T) a cada 10 segundos. À medida que as leituras de pH_T se desviavam dos valores predeterminados em ± 0.05 , a placa emitia um sinal diretamente para as bombas de solenóides, que abriam ou fechava uma de suas válvulas de ar/gás sempre que necessário, regulando a entrada e a quantidade de CO₂, ar livre de CO₂ e ar ambiente borbulhados nas incubadoras. Assim o pH_T da água das incubadoras foi monitorado e mantido constante durante todo o curso do experimento.

Antes do início de cada ciclo experimental, os eletrodos foram devidamente calibrados com buffers de TRIS (2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol) pH 8.064 à 26°C e AMP (2-aminopiridina) com pH 6.765 à 26°C, preparados com água do mar sintética. Todo o procedimento utilizado para a calibração dos eletrodos e preparação dos buffers foi realizado de acordo com as recomendações de Dickson, Sabine e Christian (2007).

Os tratamentos de pCO₂ utilizados visaram simular dois cenários para o oceano global. O cenário médio atual (com uma pCO₂ de aproximadamente 400 ppmV) (DLUGOKENCKY; TANS, 2018), e um cenário projetado até 2100 (com uma pCO₂ de aproximadamente 800 ppmV) (BREWER, 1997). De forma que, os valores de pH_T programados para serem mantidos ao longo de todo o experimento foram determinados em função das pCO₂ citadas, além dos parâmetros físico-químicos médios (temperatura, salinidade e alcalinidade total) da água salina sintética preparada para preencher as incubadoras. Tais valores de pH foram 8,055 ~ 8,1 (para a pCO₂ de 400 ppmV, à 26 ± 0,02 °C, 36 e 2460 ± 45 μmol kg⁻¹), e 7,802 ~ 7,8 (para a pCO₂ de 800 ppmV, à 26 ± 0,02 °C, 36 e 2460 ± 45 μmol kg⁻¹), tais condições experimentais foram alcançadas gradativamente 24 horas antes do início dos experimentos.

3.3.2.3 Desenho Experimental

De modo a verificar a influência da diminuição do pH da água no metabolismo de ACI de vida livre, quinze nódulos de ACI foram incubadas em reatores com dois níveis de pH (n=8 para pH 8,1 e n=7 para pH 7,8). Para completar o número total de réplicas reproduzidas por tratamento, o experimento foi dividido em cinco ciclos experimentais com duração total de seis dias cada, com intervalo de tempo entre eles variando de 1 a 7 dias. Em cada ciclo, um total de três réplicas foram reproduzidas (de diferentes tratamentos de pH) de modo que, a sequência dos tratamentos foram aleatoriamente intercaladas entre eles. Além disso, cada réplica reproduzida dentro e fora do mesmo ciclo e de mesmo tratamento, foram totalmente independentes, assim, foram tratadas como unidades experimentais independentes (CORNWALL; HURD, 2016).

Neste estudo, o reator denominado R4, mostrado no desenho esquemático da figura 3.5 não foi utilizado como incubadora devido a problemas em uma de suas bombas solenóides, e somente por isso, a reprodução simultânea de duas unidades experimentais por tratamento não pode ser executada dentro do mesmo ciclo. Porém, o R4 foi mantido

dentro do aquário durante todo o experimento porque o sistema de circulação foi ajustado para comportar cinco reatores.

A figura 3.6 mostra como as unidades experimentais foram distribuídas em cada ciclo experimental.

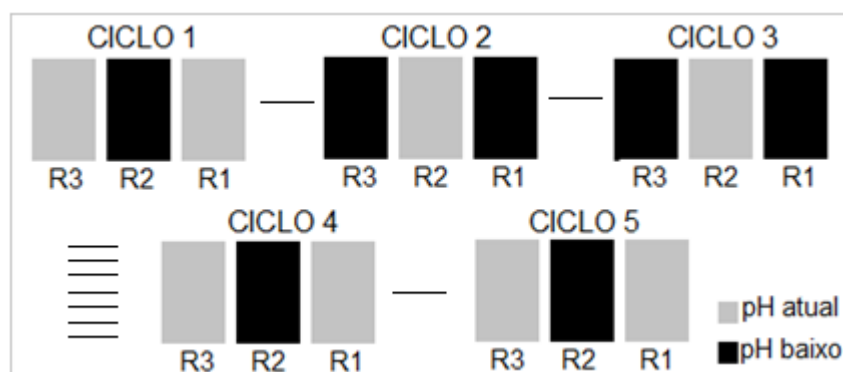


Figura 3.6 Desenho esquemático da distribuição aleatória das unidades experimentais para cada tratamentos de pH aplicado em todos os ciclos experimentais. As siglas R1, R2 e R3 correspondem aos reatores de nº 1, 2, e 3, cujo as condições de pH experimental foram criadas. As barras entre os ciclos correspondem ao intervalo de tempo (em dias) entre eles.

3.3.3 Medições de Fluorescência

A eficiência fotossintética dos rodolitos foi estimada através de um Fluorômetro Subaquático de Amplitude de Pulso Modulado (*Diving PAM, Heinz Walz GmbH, Germany*[®]). Por meio deste equipamento, três medidas de fluorescência foram tomadas para cada indivíduo em quatro séries de medidas. A primeira série ocorreu imediatamente após a chegada dos exemplares ao laboratório e correspondeu as medições tomadas antes da aclimatação (S1), a segunda após os rodolitos completarem quinze dias de aclimatação (S2), a terceira minutos antes dos exemplares serem incubados nos níveis de pH pré-determinados (S3), e a quarta imediatamente após o término de cada ciclo experimental (S4). As medições foram realizadas sempre no início da manhã (às 08:00 hs) e no final da tarde (às 17:00 hs) para que pudessemos detectar os valores máximos da variação diurna da eficiência fotossintética (EDWARDS; KIM, 2010; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Os rodolitos foram colocados individualmente em um recipiente de plástico e imersas em 500 mL de água do mar. Com todas as lâmpadas dos sistemas de aquários e do ambiente externo desligadas, os rodolitos foram aclimatados ao escuro por 5 minutos, tempo ideal para relaxar completamente o fotossistema II (FSII) das algas coralináceas e

induzir as maiores taxas de rendimento quântico (BURDETT et al., 2012). Para garantir um sinal de fluorescência suficiente, uma das extremidades da fibra-óptica do *DIVING PAM* foi colocada a uma distância de 2 mm e perpendicular a superfície do tecido de cada indivíduo, em seguida, três pulsos de luz vermelha (de 0,8 s de saturação e ganho de $3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram aplicados em partes distintas dos indivíduos (Figura 3.7).



Figura 3.7. Medição dos parâmetros de fluorescência de um rodolito através do equipamento *DIVING-PAM* (Foto: T. Villela).

Segundo Kalaji et al (2017), o pulso de luz emitido pelo equipamento (*DIVING PAM*) excita a máxima fluorescência da clorofila-a, que é detectado pelo sensor acoplado a fibra-óptica. Assim, cada pulso emitido gerou uma medida dos parâmetros de fluorescência, definidos como, o rendimento mínimo (F_0) e máximo (F_m) de fluorescência medidos antes do último pulso de luz de saturação de algas aclimatadas ao escuro (BURDETT et al., 2012). Tais parâmetros foram utilizados para calcular o rendimento de fluorescência ($\Delta F/F_m$) pela seguinte equação:

$$\frac{\Delta F}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \quad (1)$$

De acordo com Schreiber et al (1995), o rendimento de fluorescência é equivalente ao rendimento quântico do fotossistema II (FSII) de algas adaptadas ao escuro (F_v/F_m)

chamado também de eficiência fotoquímica máxima, onde Fv corresponde a fluorescência variável:

$$\frac{\Delta F}{F_m} = \frac{F_v}{F_m} \quad (2)$$

Em nossas análises estatísticas, utilizamos a média das três medidas de Fv/Fm calculada para cada organismo em cada uma das quatro séries de medida, e, serviu para caracterizarmos a eficiência fotossintética. Aqui, assumimos que uma diminuição nos valores de Fv/Fm indicam uma resposta negativa do aparato fotossintético das algas coralíneas (BURDETT et al., 2012; WILSON et al., 2004).

3.3.4 Determinação das Taxas de Produção Primária e Respiração

Após o período de aclimação, os rodolitos foram limpos de qualquer organismo associado, ambientados com água salina artificial e colocados individualmente sob um suporte de plástico dentro das incubadoras, em seguida todos os equipamentos e sensores foram instalados e a tampa das incubadoras foram fechadas até o término do ciclo experimental (Figura 3.8).

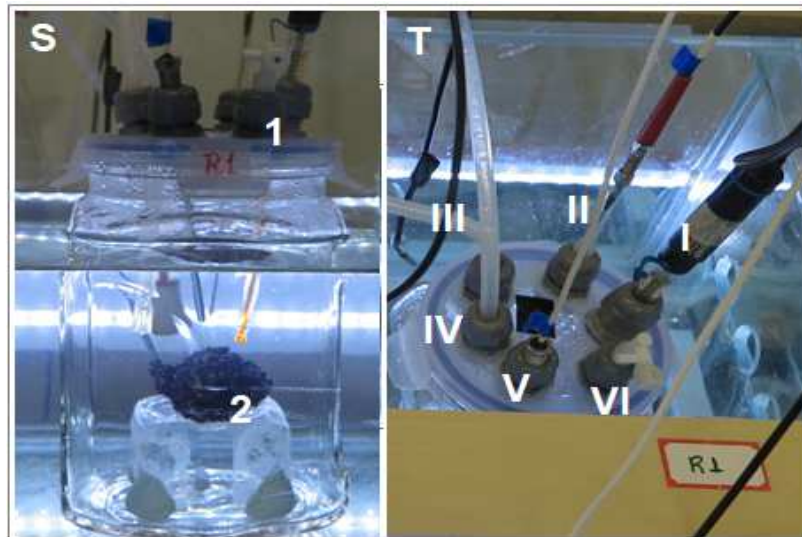


Figura 3.8. Configuração de uma incubadora. **S** – Vista lateral. 1. rodolito posicionado sob um suporte de plástico. 2. Tampa de isolamento contendo entradas para a passagem de equipamentos. **T** – Vista superior com os equipamentos: I- Eletrodo de vidro; II- Sensor de oxigênio; III- Mangueira de injeção de gás/ar; IV- mangueira para coleta de água; V- Sensor de temperatura; VI- Entrada reserva fechada.

As taxas fotossintéticas e respiratória foram determinadas para cada indivíduo em cada tratamento de pH, através da mudança na concentração de oxigênio dissolvido (OD) na água durante uma rápida simulação de claro e escuro (Figura 3.9).

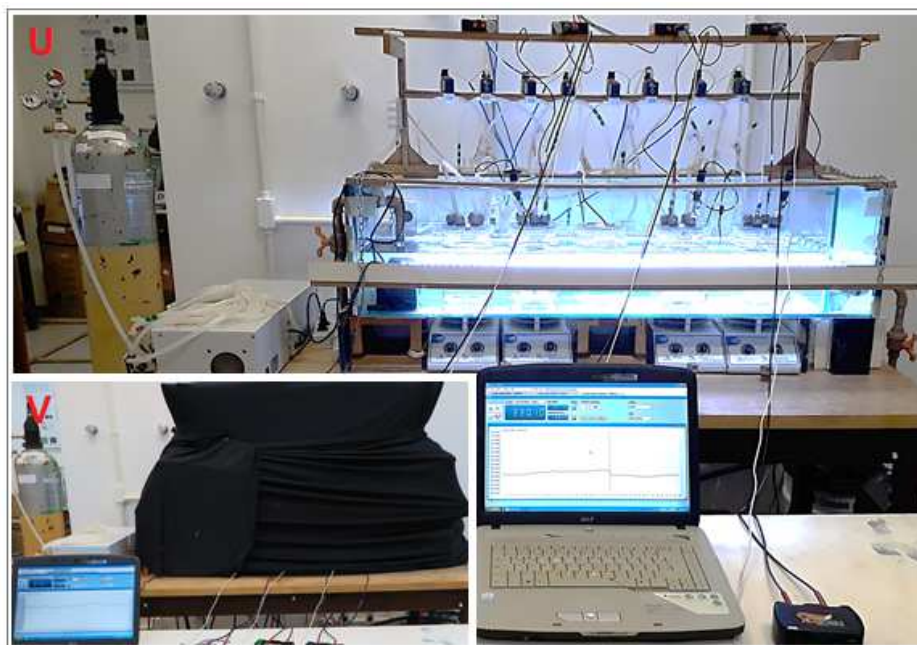


Figura 3.9. Sistema experimental durante a incubação dos rodolitos no claro (U) e no escuro (V) para quantificação indireta das taxas fotossintéticas e respiratória.

As simulações de claro/escuro ocorreram em dois momentos distintos, cerca de 1h após a incubação dos rodolitos (T0) e após cinco dias de incubação (T1) nos tratamento de pH. Em cada simulação, os rodolitos foram pré-incubados no escuro por cerca de 0,5 horas, sendo que, para garantir um escuro total as lâmpadas do sistema de iluminação do aquário e do ambiente externo foram desligadas e o aquário foi recoberto por placas de isopor e tecidos preto. Após a pré-incubação, os rodolitos foram expostos ao claro (0,5 hs) e novamente ao escuro (0,5 hs). Para manter a quantidade de luz igual a $240 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{s}^{-1}$ no sistema durante a incubação no claro, as lâmpadas do ambiente externo permaneceram desligadas.

A concentração de OD (O_2 , $\mu\text{mol L}^{-1}$) em cada incubadora foi medida por meio de sensores de fibra \u00f3ptica (*NeoFox*, *Ocean Optics*[®]) em um intervalo de 30 segundos. Os sensores de oxig\u00eanio foram previamente calibrados no in\u00edcio das incubações usando uma calibração de dois pontos com correção da temperatura, em \u00e1gua deionizada saturada em oxig\u00eanio (100%), e em uma solu\u00e7\u00e3o de sulfito de s\u00f3dio (Na_2SO_3) livre de O_2 . As

concentrações de oxigênio foram corrigidas automaticamente para a temperatura usando sensores que mediu simultaneamente a temperatura na câmara de incubação (*NeoFox*, *Ocean Optics*[®]). Ambos os dados (OD e temperatura) foram armazenados em um computador portátil contendo o software *NeoFox*.

A produção primária líquida e a respiração por unidade de área foram calculadas pelas seguintes equações (MARTIN; CASTETS; CLAVIER, 2006):

$$P_{liq} = \frac{\Delta OD_C V}{ACS \Delta t} \quad (3)$$

$$R = \frac{\Delta OD_E V}{ACS \Delta t} \quad (4)$$

onde P_{liq} ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) é a produção líquida, R ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) a respiração, ΔOD_E ($\mu\text{mol L}^{-1}$) a alteração na concentração de OD durante a incubação no escuro, ΔOD_C ($\mu\text{mol L}^{-1}$) a alteração na concentração de OD durante a incubação no claro, V (L) o volume de água na incubadora, Δt o tempo de incubação e ACS (cm^{-2}) é a área de cobertura superficial dos rodolitos.

A produção primária bruta (P) foi calculada como a soma do valor absoluto da produção líquida e da respiração no escuro (MARTIN; CASTETS; CLAVIER, 2006; JUNJIE et al., 2014). A relação entre P e R foi calculada dividindo-se a produção bruta pelo valor absoluto da respiração (VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

3.3.5 Determinação das Taxas de Calcificação

A taxa de calcificação líquida (G_{liq}) dos rodolitos foi estimada no claro usando a técnica de anomalia da alcalinidade da água nas incubadoras pelo tempo (SMITH; KEY, 1975). Essa técnica baseia-se na relação apresentada na equação:



supondo que a alcalinidade total diminua por dois equivalentes para cada mol de CaCO_3 precipitado (proporção 2:1) (MARTIN; CASTETS; CLAVIER, 2006).

Assim, amostras de água (70 mL) em duplicata foram coletadas das incubadoras após seis dias de aclimatação em cada tratamento de pH, no início da manhã (07:30 hs) e final da

tarde (16:30 hs). Após a coleta, as amostras foram transferidas para frascos de vidro âmbar (70 mL de volume) e imediatamente envenenadas com 0,15 mL de solução de cloreto de mercúrio (700 mg/L de HgCl_2) para inibir a atividade biológica e assim evitar com que ocorressem alterações na concentração das espécies de carbono antes das análises (DICKSON; SABINE; CHRISTIAN, 2007). Após 48 horas as amostras foram analisadas por titulação potenciométrica de HCl 0.07 N através de um pH-metro de mesa (PHS3BW, BEL Itália). A sonda do pH-metro foi calibrada a partir da calibração de dois pontos com soluções tampões padrão SRM de NIST (Certipur®) para pH 4,0 e 7,0 antes das análises. Durante a titulação, cada amostra foi misturada constantemente por um agitador magnético e o pH medido ininterruptamente (Figura 3.10).

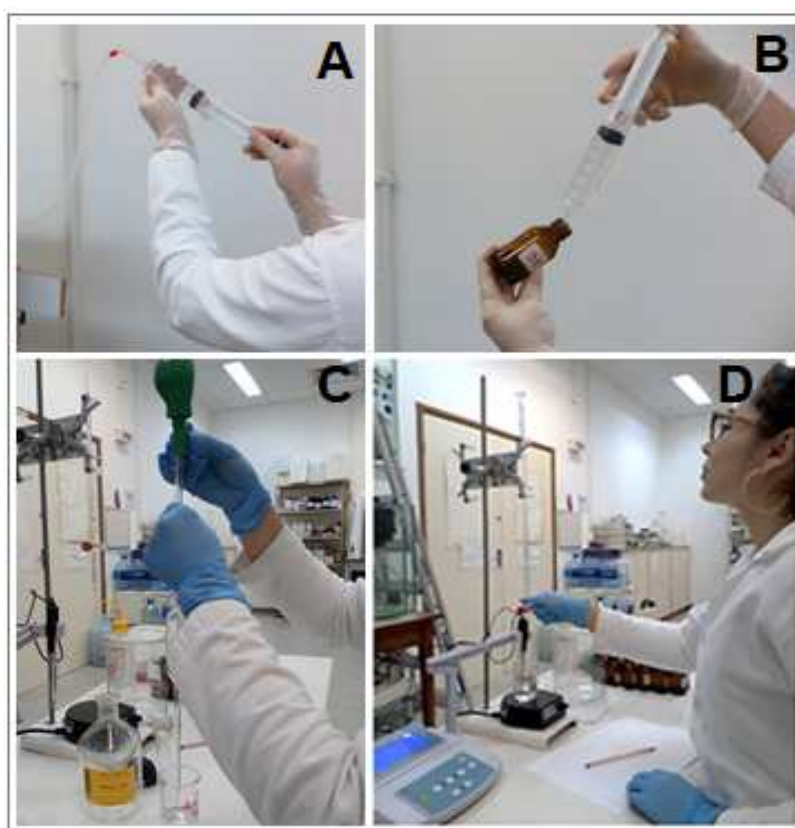


Figura 3.10. Procedimentos aplicados para determinação da alcalinidade total. **A** – Coleta de água na incubadora R1. **B** – Amostra de água sendo transferida para um frasco de vidro âmbar. **C** e **D** – Titulação da amostra (Foto: T. Villela).

A alcalinidade total (AT) em mEq L^{-1} foi calculada a partir da variação do pH até cerca de 3,0 (DICKSON; SABINE; CHRISTIAN, 2007) como função do volume adicionado de HCl, através do software *Alkalinity Calculator* (ROUNDS, 2019), usando o método Gran (ajuste

de mínimos quadrados não linear) e aceitando os parâmetros padrão na escolha de constantes e KSO_4 .

A qualidade (precisão e exatidão) das medições de AT foram avaliadas pela medição contínua de materiais de referência certificados (MRC) (DICKSON; SABINE; CHRISTIAN, 2007). Uma amostra de água do mar com alcalinidade conhecida (material de referência para medição oceânica de CO_2 , lote 150, AT = 2214,71 $\mu\text{mol kg}^{-1}$, A. Dickson, *Scripps Institution of Oceanography*) foi titulada no início e no final das medições de cada dia de análise. Os resultados desta série de medições no lote 150 foram AT = 2301,25 \pm 152,01 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ (média \pm DP) (n = 24 medidas).

A fim de monitorar as condições químicas da água salina nas incubadoras durante os experimentos, amostras de água também foram coletadas no início (antes da incubação dos rodolitos) e final dos experimentos em todas as incubadoras para determinação da AT. Utilizamos a AT calculada no início e final dos experimentos juntamente com os dados médios de temperatura, salinidade e pH_T de cada incubadora para calcularmos os componentes do sistema de CID (CO_2 , HCO_3^- e CO_3^{2-}), a pressão parcial do CO_2 (pCO_2) e o estado de saturação da calcita (Ω_{cal}) e da aragonita (Ω_{arag}) (MILLERO, 2007). Os dados foram inseridos no software CO2SYS no Microsoft Excel (disponível em: [xls]CO2Sys_v2.1.xls) (FANGUE et al., 2010).

A calcificação líquida (G_{liq}) por unidade de área foi calculada pela seguinte equação (MARTIN et al., 2013):

$$G_{liq} (\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}) = - \frac{\Delta AT \ V}{\Delta t \ ACS \ 2} \quad (6)$$

onde, ΔAT ($\mu\text{Eq L}^{-1}$) é a diferença entre as concentrações da alcalinidade total inicial e final, $V(L)$ volume de água da incubadora, Δt o tempo de incubação em hora, ACS a área de cobertura superficial dos rodolitos em cm^2 .

3.3.6 Estimativa da Área de Cobertura Superficial das ACI de Vida Livre

Para a quantificação dos parâmetros fisiológicos (produção primária, respiração e calcificação) investigados, foi necessária a normalização dos dados obtidos por um fator estável. De acordo com Chisholm (2003) a normalização de dados metabólicos de algas coralíneas pela unidade de superfície da crosta é a mais indicada e, portanto, a mais

utilizada já que evita qualquer interferência da espessura do carbonato esquelético abaixo do tecido vivo.

Portanto, utilizamos a ACS dos rodolitos estimada a partir da reconstrução de modelos em 3D, gerados pelo software *ReCap Photo Autodesk® 2.0* (www.autodesk.com.br) (GUTIERREZ-HEREDIA et al., 2016; JONES et al., 2008; POGOREUTZ et al., 2017). A área de superfície dos rodolitos projetada foi construída a partir de imagens digitais obtidas de diferentes angulações dos indivíduos.

De acordo com Jones et al (2008), o software faz a junção das imagens que se sobrepõem em dois ou mais pontos e dão continuidade formando o objeto tridimensional fotografado.

Utilizando uma plataforma giratória, uma câmera acoplada a um tripé, e um sistema de iluminação, todos os indivíduos cuja ACS deveria ser estimada foram fotografados de quatro angulações diferentes. Assim, os rodolitos foram individualmente perfurados (0,5 mm de diâmetro) com uma furadeira e presos em uma haste de metal fixada sob a plataforma (Figura 3.11).



Figura 3.11. Configuração dos equipamentos utilizados para fotografar os rodolitos (Foto I: T. Villela).

Posteriormente, a câmera foi posicionada acima do rodolito (fora do tripé) e a primeira foto foi tirada (Figura 3.12). À medida que a plataforma era rotacionada cerca de 90° (sentido horário), uma foto era tirada, o que totalizou quatro fotos da parte superior do indivíduo ao completar a volta em 360°. Após, os outros conjuntos de fotos foram tomados com a câmera fixada ao tripé. Para o segundo conjunto, o tripé foi erguido acima do indivíduo e inclinado 30° para baixo, em seguida, uma sequência de 32 fotos foram tiradas, sendo que, a foto seguinte só era obtida após a plataforma ser girada cerca de 11° (estimado visualmente) no sentido horário. O terceiro e quarto conjunto de fotos foram obtidos na mesma quantidade e do mesmo modo que o anterior, exceto pelo posicionamento da câmera, que foi posicionada “frontal” aos indivíduos (terceiro conjunto), e rebaixada e inclinada 60° para cima (quarto conjunto) (Figura 3.12).

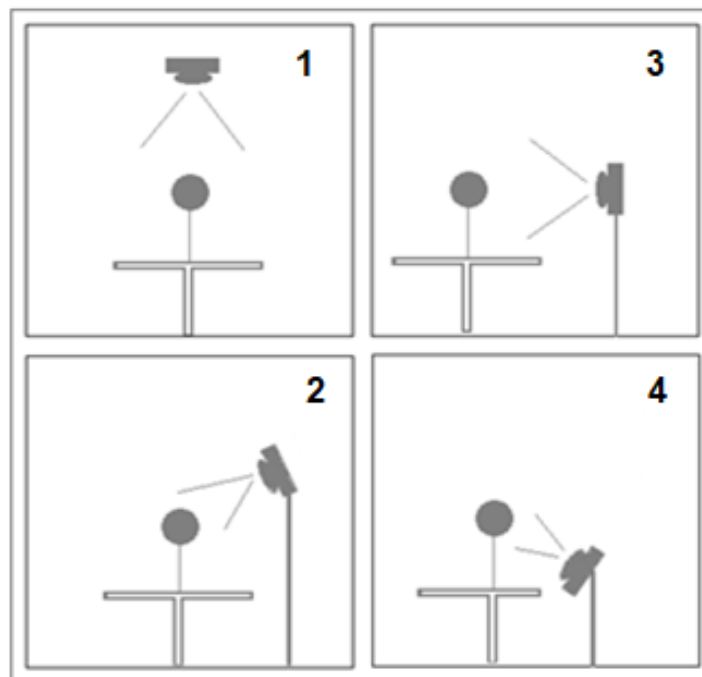


Figura 3.12. Desenho esquemático indicando o posicionamento da câmera para fotografar os rodolitos (n° 1, 2, 3, e 4). **1** – Câmera posicionada acima do indivíduo. **2** – Câmera inclinada 30° para baixo. **3** – Câmera em paralelo (frontal) ao rodolito. **4** – Câmera inclinada 60° para cima.

No total cada indivíduo foi fotografado 100 vezes. Após o término dos ensaios, o conjunto de fotos de cada rodolito foi lançado no software individualmente, e este reproduziu em 3D a projeção dos mesmos. Em paralelo a projeção das ACI, uma grade de dimensões predefinidas (desenhada na plataforma) também foi reconstruída, e serviu como referência para calibrar as projeções.

3.4 Identificação Taxonômica das Algas Coralináceas Incrustantes Estudadas

Dos 20 indivíduos coletados, cinco foram selecionadas e encaminhados para o Laboratório de Algas Marinhas (LAMAR), do Instituto de Biologia da UFBA, para serem identificados a nível de gênero e espécie, entretanto, as amostras selecionadas estavam inférteis e por isso não foi possível concluir o processo de identificação. Como não houve à identificação taxonômica, neste estudo descreveremos os organismos coletados apenas como algas coralináceas incrustantes de vida livre/rodolitos, sem atribuir aos indivíduos algum gênero ou espécie.

Recentemente, um estudo taxonômico encontrou oito espécies formadoras de rodolitos nas proximidades do recife da praia de guarajuba, são eles, *Lithophyllum stictaeforme*, *Sporolithon episorum*, *Spongites yendoi*, *Spongites sp*, *Mesophyllum erubescens*, *Lithothamnion crispatum*, *Lithothamnion brasiliense* e *Phymatolithon masonianum* (COSTA et al., 2014).

3.5 Análise dos Dados

Os resultados obtidos de produção primária líquida e bruta, respiração, calcificação líquida e rendimento quântico foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) para cada tratamento, além da relação entre produção primária bruta e respiração. Os parâmetros físico-químicos medidos e calculados ao longo dos experimentos também foram expressos como média e desvio padrão.

Todos os resultados médios (P_{liq} , P, R, P/R, G_{liq} e Fv/Fm) foram verificados quanto à normalidade pelo teste de *Anderson-Darling* e homogeneidade das variâncias aplicando o teste F. As diferenças significativas destes resultados (P_{liq} , P, R, P/R, G_{liq} e Fv/Fm) foram avaliadas usando o teste t (*Student*) para duas amostras independentes, quando o objetivo era verificar a diferença entre as médias dos tratamentos.

O teste t para duas amostras relacionadas foi utilizado para verificar as diferenças nas médias das variáveis calculadas (P_{liq} , P, R, P/R) 1h após a incubação (T0) e após cinco dias de incubação (T1) em cada tratamento. O teste t para duas amostras relacionadas também foi utilizado para avaliar se as médias calculadas de Fv/Fm dos rodolitos eram iguais na chegada dos organismos ao laboratório e após o período mínimo de aclimação, posteriormente, se as médias de Fv/Fm após o período mínimo de aclimação diferiam das

médias tomadas instantes antes de cada incubação. Ainda, se F_v/F_m antes e depois da incubação em cada tratamento eram iguais.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software *MaxStat Lite* (disponível em: <https://maxstat.de>) e serviram para avaliar a confirmação ou a nulidade das hipóteses apresentadas. O nível mínimo de significância foi estabelecido em $p < 0,05$ para todos os resultados.

4. RESULTADOS

4.1 Eficiência Fotossintética

Os rodolitos coletados foram adaptados às condições laboratoriais antes dos experimentos. Para avaliarmos o progresso da aclimação laboratorial medimos o Fv/Fm antes da aclimação (S1), ao completar 15 dias de aclimação (S2) e instantes antes das incubações nos tratamentos de pH (S3). O efeito dos tratamentos de pH no Fv/Fm dos rodolitos foi avaliado pelas medidas tomadas logo após o término de cada experimento (S4). As tabelas 4.1 e 4.2 mostram a média aritmética e o desvio padrão como medida de variabilidade dos dados de Fv/Fm de cada organismo em cada série de medida, já que para cada indivíduo foram tomadas três medidas de Fv/Fm seguidas.

Tabela 4.1. Média (\pm DP) do rendimento quântico do FSII dos rodolitos adaptados ao escuro antes da aclimação (S1) e após completar quinze dias no sistema de aclimação (S2).

Organismo	Fv/Fm	
	S1	S2
L1A	0,097 \pm 0,038	0,124 \pm 0,006
L2A	0,084 \pm 0,003	0,117 \pm 0,024
L3A	0,095 \pm 0,015	0,061 \pm 0,006
L4A	0,092 \pm 0,008	0,107 \pm 0,003
L5A	0,080 \pm 0,016	0,110 \pm 0,006
L6A	0,082 \pm 0,002	0,089 \pm 0,006
L7A	0,111 \pm 0,064	0,117 \pm 0,015
L8A	0,092 \pm 0,018	0,122 \pm 0,007
L1B	0,081 \pm 0,007	0,114 \pm 0,002
L2B	0,078 \pm 0,018	0,075 \pm 0,004
L3B	0,092 \pm 0,004	0,053 \pm 0,004
L4B	0,104 \pm 0,014	0,109 \pm 0,003
L5B	0,089 \pm 0,005	0,112 \pm 0,005
L6B	0,082 \pm 0,001	0,131 \pm 0,026
L7B	0,085 \pm 0,012	0,124 \pm 0,014

Tabela 4.2. Média (\pm DP) do rendimento quântico do FSII dos rodolitos adaptados ao escuro instantes antes de serem incubados (S3) e após o término dos experimentos (S4).

Tratamento	Organismo	Fv/Fm	
		S3	S4
pH Atual	L1A	0,114 \pm 0,012	0,099 \pm 0,009
	L2A	0,117 \pm 0,024	0,109 \pm 0,004
	L3A	0,072 \pm 0,008	0,110 \pm 0,004
	L4A	0,136 \pm 0,024	0,114 \pm 0,014
	L5A	0,083 \pm 0,005	0,128 \pm 0,027
	L6A	0,067 \pm 0,001	0,113 \pm 0,005
	L7A	0,092 \pm 0,019	0,115 \pm 0,010
	L8A	0,106 \pm 0,006	0,127 \pm 0,028
pH Baixo	L1B	0,119 \pm 0,005	0,125 \pm 0,022
	L2B	0,083 \pm 0,003	0,103 \pm 0,008
	L3B	0,065 \pm 0,009	0,097 \pm 0,006
	L4B	0,092 \pm 0,005	0,123 \pm 0,004
	L5B	0,101 \pm 0,012	0,102 \pm 0,012
	L6B	0,116 \pm 0,020	0,112 \pm 0,013
	L7B	0,108 \pm 0,011	0,148 \pm 0,057

Para facilitar a interpretação dos resultados de Fv/Fm, dividimos aqui os rodolitos em dois grupos (A e B), no grupo A foram colocados os rodolitos incubados no tratamento de pH atual, e no grupo B os rodolitos do tratamento de pH baixo.

Os valores médios de Fv/Fm medidos após o campo (S1) nos rodolitos do grupo A e do B foram $0,092 \pm 0,010$ e $0,087 \pm 0,009$, respectivamente. Esses resultados mostram que os dados de rendimento quântico antes da aclimação não variaram expressivamente entre si e foram os mais baixos deste estudo (Figura 4.1). Em S2 as médias calculadas foram $0,106 \pm 0,021$ para o grupo A e $0,103 \pm 0,028$ para o grupo B. Ao compararmos as médias calculadas entre S1 e S2 de cada grupo, notamos que após o período mínimo de aclimação (15 dias), os rodolitos do grupo A apresentaram um aumento de 15% no Fv/Fm, e o grupo B aumentou 18%. A figura 4.1 mostra uma tendência de aumento no Fv/Fm quando comparamos as séries S1 e S2 de cada grupo. O teste estatístico aplicado mostrou que não houve diferença significativa entre as séries de medida S1xS2 do grupo A ($t = 1,813$; $p = 0,113$) e do grupo B ($t = 1,341$; $p = 0,229$).

A tabela 4.3 compara os dados de Fv/Fm em S2 e S3 obtidos para cada organismo, com o intuito de avaliarmos se os tempos distintos de aclimação, entre as unidades experimentais de cada tratamento, interferiram nos resultados finais.

Tabela 4.3. Comparação do rendimento quântico do FSII dos rodolitos adaptados ao escuro após 15 dias de aclimação (S2) e instantes antes de serem incubados (S3), em média (\pm DP).

Tratamento	Organismo	Fv/Fm	
		S2	S3
pH Atual	L1A	0,124 \pm 0,006	0,114 \pm 0,012
	L2A	0,117 \pm 0,024	0,117 \pm 0,024
	L3A	0,061 \pm 0,006	0,072 \pm 0,008
	L4A	0,107 \pm 0,003	0,136 \pm 0,024
	L5A	0,110 \pm 0,006	0,083 \pm 0,005
	L6A	0,089 \pm 0,006	0,067 \pm 0,001
	L7A	0,117 \pm 0,015	0,092 \pm 0,019
	L8A	0,122 \pm 0,007	0,106 \pm 0,006
pH Baixo	L1B	0,114 \pm 0,002	0,119 \pm 0,005
	L2B	0,075 \pm 0,004	0,083 \pm 0,003
	L3B	0,053 \pm 0,004	0,065 \pm 0,009
	L4B	0,109 \pm 0,003	0,092 \pm 0,005
	L5B	0,112 \pm 0,005	0,101 \pm 0,012
	L6B	0,131 \pm 0,026	0,116 \pm 0,020
	L7B	0,124 \pm 0,014	0,108 \pm 0,011

O teste t de amostras pareadas revelou que, Fv/Fm não diferiu significativamente entre S2 e S3 no tratamento de pH atual ($t = 1,079$; $p = 0,316$), assim como no tratamento de pH baixo ($t = 1,017$; $p = 2,447$). Portanto, podemos afirmar que os distintos tempos de aclimação entre as unidades experimentais de cada tratamento de pH não afetaram os resultados de Fv/Fm após a exposição dos rodolitos aos tratamentos de pH.

Para os resultados estatísticos de Fv/Fm entre S3xS4 de cada tratamento, e S4 entre os tratamentos, foram excluídas as unidades experimentais L1A, L5A e L8A do tratamento de pH atual, adicionalmente, as unidades experimentais L2B e L4B do tratamento de pH baixo, uma vez que identificamos, através dos dados de alcalinidade total, problemas de

estabilização da $p\text{CO}_2$ na incubadora R1 (estes dados serão apresentados no item 4.3 dos resultados).

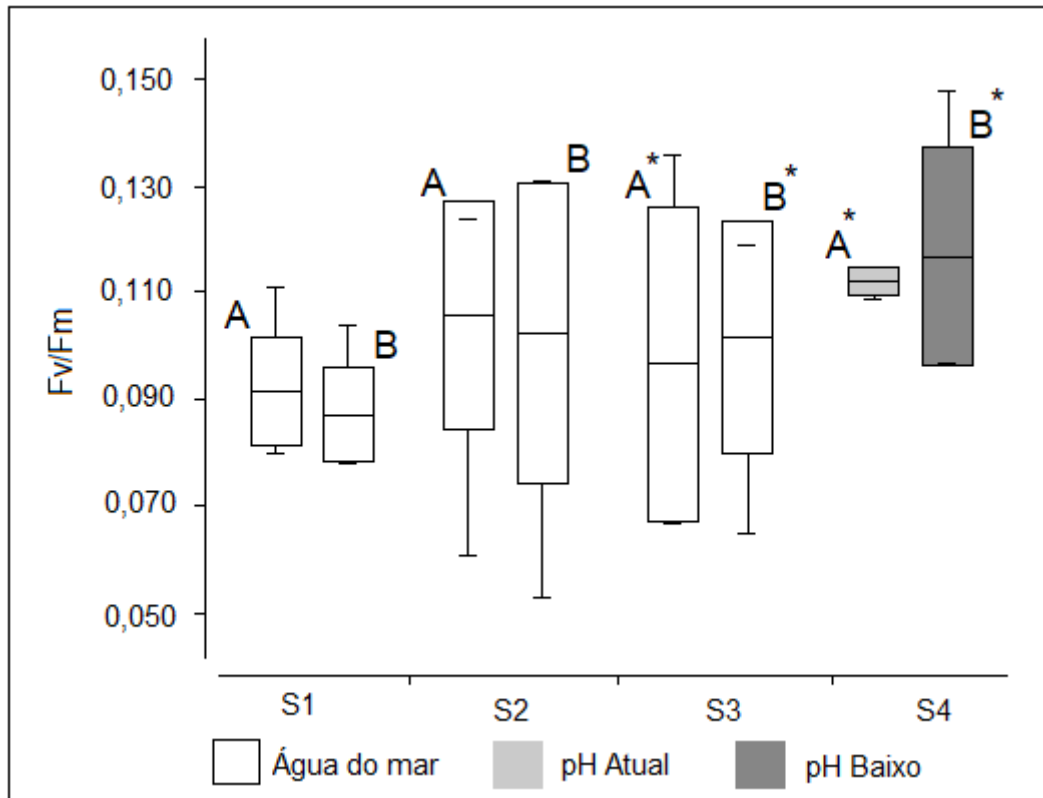


Figura 4.1. Boxplot mostrando médias, máximos, mínimos e os desvios do Fv/Fm dos rodolitos em S1, S2, S3 e S4 como função da condição experimental em que foram medidos (em S1 e S2 $n=8$ para grupo A e $n=7$ para o grupo B, os asteriscos em S3 e S4 indicam que $n=5$ para cada grupo). As letras A e B correspondem ao grupo de organismos testados no tratamento de pH atual e baixo, respectivamente.

As médias correspondentes a S3 e S4 no grupo A ($0,097 \pm 0,029$ e $0,112 \pm 0,002$) e no grupo B ($0,102 \pm 0,022$ e $0,117 \pm 0,021$, respetivamente) mostraram que ao final dos experimentos o rendimento quântico havia crescido 15% após os rodolitos serem incubados no tratamento de pH atual e no tratamento de pH baixo (Figura 4.1). Em ambos os grupos de tratamento, o teste estatístico mostrou que não houve diferença significativa entre S3 x S4 (Tabela 4.4). No final dos experimentos, também comparamos as médias do rendimento quântico entre os tratamentos (S4 pH atual x S4 pH baixo), o Fv/Fm aumentou cerca de 4% no tratamento de pH baixo, mas esse aumento não foi significativo ($p = 0,631$), ou seja, a exposição dos rodolitos ao pH reduzido, causado pelo aumento da $p\text{CO}_2$ na água, não afetou significativamente o rendimento quântico quando comparado com os rodolitos expostos à $p\text{CO}_2$ atual (Tabela 4.4).

Tabela 4.4. Resultados estatísticos do teste T examinando os efeitos do pH no Fv/Fm dos rodolitos.

Fv/Fv	T	p	T, crítico
Tratamento de pH atual			
S3 x S4	1,172	0,306	2,776
Tratamento de pH Baixo			
S3 x S4	1,703	0,164	2,776
S4			
pH atual x pH baixo	0,499	0,631	2,306

A comparação foi feita em cada tratamento entre as séries de medida S3 e S4 (amostras pareadas) e na S4 entre os tratamentos (amostras independentes). Aqui, o n amostral foi de 5 réplicas em cada tratamento.

4.2 Área de Cobertura Superficial das Algas

A tabela 4.5 apresenta os resultados referente à área de cobertura superficial dos rodolitos em ambos os tratamentos de pH.

Tabela 4.5. Estimativa da área de cobertura superficial (ACS) dos rodolitos nos tratamentos de pH.

Tratamento	Organismo	ACS (cm ²)
pH Atual	L1A	57
	L2A	53
	L3A	60
	L4A	84
	L5A	76
	L6A	125
	L7A	97
	L8A	54
pH Baixo	L1B	61
	L2B	125
	L3B	66
	L4B	113
	L5B	96
	L6B	106
	L7B	60

4.3 Parâmetros Físico-Químicos Medidos e Calculados ao Longo dos Experimentos

Os valores de salinidade medidos na água das incubadoras no término dos experimentos mostrou que a salinidade se manteve a $36 \pm 0,5$, e esteve próxima do valor médio encontrado nas piscinas do recife.

O pH_T , a temperatura, e outros parâmetros químicos da água estão apresentados na tabela 4.6 em forma de média e desvio padrão, para cada incubadora de tratamento. Para estes parâmetros não foram realizados testes estatísticos. Contudo, foi possível observar que em geral, os resultados apresentados dos parâmetros medidos não mostraram grandes variações entre as réplicas de mesmo tratamento, com exceção apenas para a AT amostrada no final dos experimentos.

O monitoramento do pH ao longo de todo o experimento mostrou que a precisão do controle do pH estava em torno de $\pm 0,05$. O pH não variou expressivamente entre as incubadoras replicadas ($\pm 0,01$). As temperaturas foram consistentes entre os tratamentos em $\pm 0,1$ com uma faixa ($26,3 - 26,6$ °C) que se aproxima da média mínima anual da água nas piscinas do recife. Observa-se ainda que para a AT determinada no início dos experimentos, as medições médias nos tratamentos de pH atual e baixo foram 2762 ± 140 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ e 2722 ± 123 $\mu\text{mol kg}^{-1}$, mostrando que as condições criadas foram independentes dos tratamentos experimentais. Porém, no final dos experimentos as medições de AT apresentaram uma grande variação entre as réplicas de ambos os tratamentos (3282 ± 1192 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ tratamento atual e 4386 ± 2418 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ tratamento de pH baixo), com um desvio percentual de aproximadamente 37% entre as réplicas do tratamento de pH atual e 55% no tratamento de pH baixo (Tabela 4.6).

Os parâmetros do sistema carbonato calculados a partir da AT inicial e dos dados médios de temperatura, pH_T e salinidade, mostraram que a pCO_2 média calculada para o tratamento de pH atual e baixo foram $397,5 \pm 30,0$ μatm e $879,4 \pm 36,0$ μatm , respectivamente. Entre os tratamentos a pCO_2 aumentou 121% no início dos experimentos. As médias calculadas no tratamento de pH atual e baixo para o bicarbonato foram $2036,1 \pm 116,0$ $\mu\text{mol Kg}^{-1}$ e $2302,9 \pm 104,1$ $\mu\text{mol Kg}^{-1}$, para o dióxido de carbono $10,9 \pm 0,6$ $\mu\text{mol Kg}^{-1}$ e $23,9 \pm 1,1$ $\mu\text{mol Kg}^{-1}$, e para o carbonato $303,9 \pm 14,4$ $\mu\text{mol Kg}^{-1}$ e $175,9 \pm 9,2$ $\mu\text{mol Kg}^{-1}$. Enquanto o enriquecimento de CO_2 nas incubadoras aumentou o HCO_3^- em 13% e o CO_2 em 120%, o CO_3^{2-} caiu 42%, comparado ao tratamento de pH atual no início dos experimentos (Tabela 4.6).

Tabela 4.6. Parâmetros físico-químicos das incubadoras (média \pm DP) de tratamento medidas ao longo dos experimentos entre 15 de Agosto de 2018 e 27 de Setembro de 2018.

MEDIDOS			CALCULADOS														
Incubadora- Réplicas	pH _T	T (°C)	AT ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)		pCO ₂ (μatm)		CO ₂ ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)		HCO ₃ ⁻ ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)		CO ₃ ²⁻ ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)		Ω_{cal}		Ω_{arag}		
			I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
CICLO 1																	
R1-L1A	8,12 \pm 0,02	26,5 \pm 0,1	2610	3780	350	515	10	14	1891	2780	298	439	7,1	10,5	4,7	7,0	
R2-L1B	7,81 \pm 0,03	26,5 \pm 0,2	2910	2060	931	652	25	18	2461	1725	190	133	4,6	3,2	3,0	2,1	
R3-L2A	8,09 \pm 0,03	26,3 \pm 0,2	2830	2230	416	324	11	9	2100	1636	307	239	7,3	5,7	4,9	3,8	
CICLO 2																	
R1-L2B	7,81 \pm 0,02	26,5 \pm 0,0	2750	6480	879	2101	24	57	2322	5553	179	429	4,3	10,3	2,8	6,8	
R2-L3A	8,08 \pm 0,03	26,5 \pm 0,2	2680	2100	405	313	11	8	1992	1542	287	222	6,9	5,3	4,5	3,5	
R3-L3B	7,80 \pm 0,03	26,3 \pm 0,2	2560	2850	838	936	23	26	2168	2420	163	181	3,9	4,3	2,6	2,9	
CICLO 3																	
R1-L4B	7,81 \pm 0,02	26,6 \pm 0,2	2600	8830	829	2871	22	78	2191	7585	170	588	4,1	14,1	2,7	9,3	
R2-L4A	8,09 \pm 0,03	26,4 \pm 0,1	2780	2470	409	361	11	10	2060	1820	302	267	7,2	6,4	4,8	4,2	
R3-L5B	7,81 \pm 0,02	26,4 \pm 0,2	2830	4200	905	1354	25	37	2393	3580	184	276	4,4	6,6	2,9	4,4	
CICLO 4																	
R1-L5A	8,10 \pm 0,06	26,5 \pm 0,2	2860 \pm 42	5175 \pm 78	409	754	11	20	2107	3886	317	585	7,6	14,0	5,0	9,3	
R2-L6B	7,80 \pm 0,04	26,5 \pm 0,2	2725 \pm 78	3300 \pm 14	894	1087	24	29	2309	2809	174	212	4,2	5,1	2,8	3,4	
R3-L6A	8,10 \pm 0,03	26,4 \pm 0,2	2890 \pm 14	2735 \pm 120	413	390	11	11	2132	2013	320	302	7,7	7,2	5,1	4,8	
CICLO 5																	
R1-L8A	8,11 \pm 0,02	26,3 \pm 0,2	2530 \pm 42	4865 \pm 205	349	688	10	19	1845	3633	282	556	6,8	13,3	4,5	8,8	
R2-L7B	7,80 \pm 0,05	26,4 \pm 0,2	2685 \pm 205	2980 \pm 184	880	980	24	27	2276	2532	171	191	4,1	4,6	2,7	3,0	
R3-L7A	8,09 \pm 0,03	26,5 \pm 0,2	2915 \pm 07	2900 \pm 42	429	427	12	12	2162	2151	318	317	7,6	7,6	5,1	5,0	

As réplicas foram numeradas de acordo com a incubadora e a identificação de cada organismo. A Temperatura (T), o pH na escala total (pH_T) e a alcalinidade total (AT) foram medidos conforme descrito no texto. Os parâmetros da química do carbonato e saturação da calcita (Ω_{cal}) e aragonita (Ω_{arag}) foram calculados a partir dos valores médios de pH_T, temperatura e salinidade (36), e da AT medida no início (I) e final (II) dos experimentos em cada incubadora. Os dados destacados em azul correspondem ao tratamento de pH baixo.

No final dos experimentos os resultados dos parâmetros do sistema carbonato calculados, mostraram uma variação percentual de quase 40% entre as réplicas no tratamento de pH atual, e aproximadamente de 60% no tratamento de pH baixo. Essa variabilidade se deu em função da variação encontrada para a AT entre as réplicas dos tratamentos, medida no final dos experimentos. Ao compararmos o tratamento de pH atual com o tratamento de pH baixo, a $p\text{CO}_2$ média calculada ($471,5 \pm 167,5 \mu\text{atm}$ e $1425,9 \pm 785,5 \mu\text{atm}$) aumentou 202%, o CO_2 aumentou 201% ($12,9 \pm 4,5 \mu\text{mol Kg}^{-1}$ e $38,9 \pm 21,2 \mu\text{mol Kg}^{-1}$), e o HCO_3^- 54% ($2432,6 \pm 904,9 \mu\text{mol Kg}^{-1}$ e $3743,4 \pm 2090 \mu\text{mol Kg}^{-1}$), já o CO_3^{2-} caiu 22% ($365,9 \pm 142,7 \mu\text{mol Kg}^{-1}$ e $287,1 \pm 163,6 \mu\text{mol Kg}^{-1}$), todos correspondentes ao final dos experimentos (Tabela 4.6).

Embora o Ω_{cal} tenha caído 36% no tratamento com pH baixo no início do experimento e 22% no final do experimento, os estados mínimos de saturação da calcita em cada tratamento ocorreram no final dos experimentos (3,2 e 5,3) no tratamento com pH baixo e pH atual, respectivamente. Com relação ao Ω_{arag} , Ω diminuiu 42% no tratamento de pH baixo quando comparado ao pH atual no início dos experimentos, no final dos experimentos a diminuição foi de 21% no tratamento de pH baixo. Os menores valores encontrados para Ω_{arag} também ocorreram no final dos experimentos no tratamento de pH atual e baixo (2,1 e 3,5, respectivamente).

Assim, concluímos que apesar do pH ter sido simulado para os níveis do ano 2100, o Ω_{cal} e Ω_{arag} em ambos os tratamentos permaneceram relativamente altos e não se aproximaram do limiar químico de subsaturação ($\Omega < 1$) em relação à calcita e aragonita. Sendo este último, o que mais se aproxima do Ω da calcita com alto teor de magnésio (SORDO et al., 2018).

Diante do possível comprometimento das unidades experimentais incubadas em R1, foi necessário a eliminação de todos os dados desta incubadora para a interpretação dos resultados metabólicos (produção primária, respiração e calcificação) e de rendimento quântico. A tabela 4.7 resume os parâmetros químicos após a exclusão dos dados (uma explicação será dada mais adiante no item 5.1 da discussão).

Tabela 4.7. Resumo dos parâmetros químicos da água do mar experimental, após a eliminação dos dados das incubadoras comprometidas.

pH_T	AT ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)	$p\text{CO}_2$ ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)	CO_2 ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)	HCO_3^- ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)	CO_3^{2-} ($\mu\text{mol Kg}^{-1}$)	Ω_{arag}	Ω_{cal}
Atual	2653 ± 290	389 ± 42	10 ± 1	1960 ± 221	288 ± 35	$4,6 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,8$
Baixo	2910 ± 554	946 ± 181	26 ± 5	2467 ± 479	187 ± 37	$3,0 \pm 0,6$	$4,5 \pm 0,9$

n = 5 (média \pm DP).

4.4 Produção Primária e Respiração

As tabelas 4.8, 4.9 e 4.10 apresentam os dados de produção primária líquida e bruta, e respiração para cada indivíduo em cada tratamento de pH. Calculamos a P_{liq} , P e R após 1h de incubação dos rodolitos (T0) e após cinco dias de incubação (T1) para que pudéssemos avaliar uma possível mudança nas taxas fotossintéticas e respiratórias ao longo do tempo. Além disso, comparamos os resultados entre os tratamentos em T1 para avaliarmos o possível efeito do aumento do CO_2 nas taxas de P_{liq} , P, R e na razão P/R.

Tabela 4.8. Produção primária líquida dos rodolitos estudados durante uma simulação de claro em T0 e T1.

Tratamento	Organismo	P_{liq} ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$)	
		T0	T1
pH Atual	L2A	2,909	-0,374
	L3A	0,403	0,297
	L4A	0,292	0,118
	L6A	0,276	0,108
	L7A	0,109	0,006
pH Baixo	L1B	3,305	0,259
	L3B	0,334	0,002
	L5B	0,385	0,088
	L6B	0,277	0,216
	L7B	-0,009	-0,593

O sinal negativo e positivo encontrado na tabela indicam consumo e produção de O_2 , respectivamente. As siglas T0 e T1 correspondem às estimativas de P_{liq} no início dos experimentos e após cinco dias de incubação, respectivamente.

Tabela 4.9. Respiração dos rodolitos estudados durante uma simulação de escuro em T0 e T1.

Tratamento	Organismo	R ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$)	
		T0	T1
pH Atual	L2A	-0,456	0,611
	L3A	-0,345	-0,523
	L4A	-0,069	-0,317
	L6A	0,113	0,094
	L7A	-0,195	-0,105
pH Baixo	L1B	-1,402	0,089
	L3B	-0,268	-0,418
	L5B	-0,046	-0,445
	L6B	0,079	0,027
	L7B	-0,369	-0,604

O sinal negativo e positivo encontrado na tabela indicam consumo e produção de O_2 , respectivamente. As siglas T0 e T1 correspondem às estimativas de R no início dos experimentos e após cinco dias de incubação, respectivamente.

Tabela 4.10. Produção primária bruta dos rodolitos calculada a partir da produção líquida e respiração em T0 e T1.

Tratamento	Organismo	P ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$)	
		T0	T1
pH Atual	L2A	3,365	0,985
	L3A	0,749	0,820
	L4A	0,360	0,434
	L6A	0,390	0,202
	L7A	0,304	0,111
pH Baixo	L1B	4,707	0,348
	L3B	0,602	0,421
	L5B	0,431	0,532
	L6B	0,356	0,243
	L7B	0,377	1,197

O sinal positivo encontrado na tabela indica produção de O_2 . As siglas T0 e T1 correspondem às estimativas de P no início dos experimentos e após cinco dias de incubação, respectivamente.

A P_{liq} média sob aproximadamente $240 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ variou ao longo do tempo experimental em ambos os tratamentos. Analisando cada tratamento, notamos que as taxas mais altas de P_{liq} ocorreram em T0 no tratamento de pH atual e pH baixo ($0,78 \pm 1,19 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ e $0,86 \pm 1,38 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ em termos de liberação de O_2 , respectivamente) e a mais baixa em T1 no tratamento de pH atual ($0,03 \pm 0,25$). No tratamento de pH baixo o resultado médio em T1 foi em termos de consumo de O_2 ($-0,01 \pm 0,034 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$) (Figura 4.2). Apesar da diminuição da P_{liq} ao longo do tempo de incubação em ambos os tratamentos de pH, o teste t mostrou que as médias de T0 e T1 no tratamento de pH atual não diferiram significativamente entre si ($p = 0,290$). Assim como nenhum efeito significativo foi encontrado no tratamento de pH baixo entre as médias de T0 e T1 ($p = 0,193$) (Tabela 4.11). Após cinco dias de incubação também não encontramos mudanças significativas nas taxas de P_{liq} ($p = 0,853$), quando comparamos as médias de T1 entre os tratamentos (Tabela 4.11).

As taxas médias de R mais altas foram medidas no tratamento de pH baixo em T0 e T1 ($-0,40 \pm 0,59$ e $-0,27 \pm 0,31 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$, respectivamente), já as taxas mais baixas foram encontradas no tratamento de pH atual ($-0,19 \pm 0,23$ e $-0,05 \pm 0,44 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$). A tendência geral na R em ambos os tratamentos de pH foi uma diminuição com tempo de incubação (Figura 4.2). Apesar da tendência, não foram encontrados efeitos significativos na R quando comparamos as médias calculadas em T0 e T1 de cada tratamento ($p = 0,583$ pH atual; $p = 0,724$ pH baixo) (Tabela 4.11). Também não foram detectados efeitos significativos entre os tratamentos de pH após cinco dias de incubação ($p = 0,378$) (Tabela 4.11).

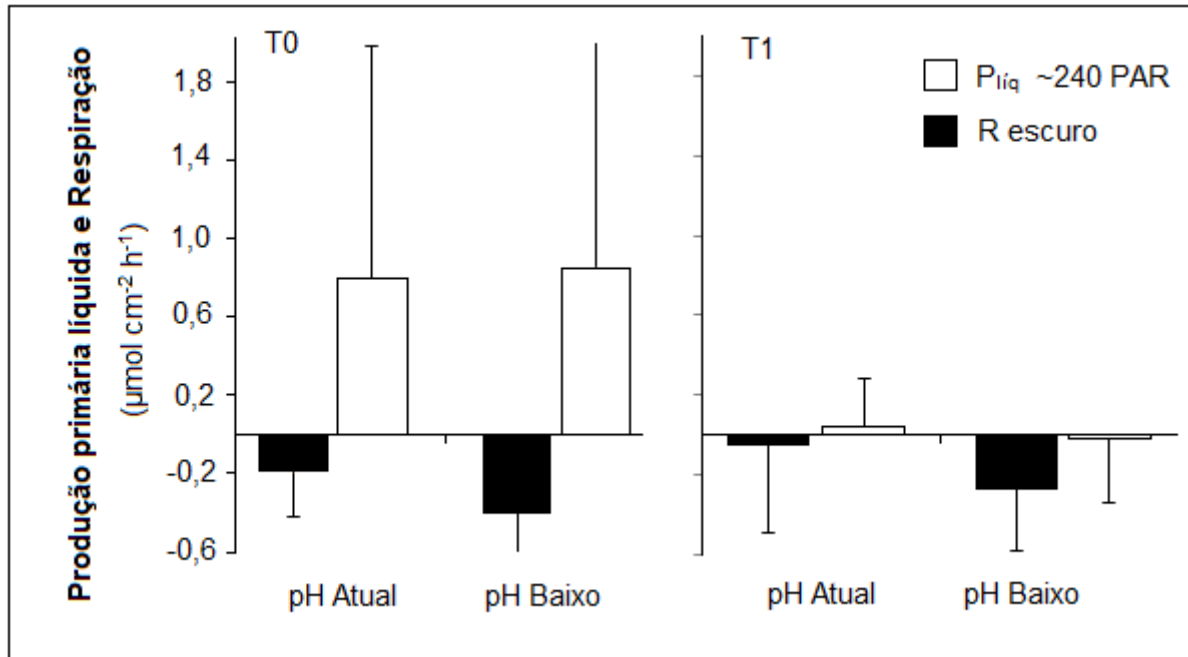


Figura 4.2. Produção primária líquida ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$) dos rodolitos a $\sim 240 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (PAR) e respiração escura ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$) em uma simulação rápida de claro/escuro 1 h após o início do experimento (T0) e após cinco dias de incubação (T1) sob os níveis de pH 8,1 (atual) e 7,8 (baixo). Valores expressos em média \pm DP ($n = 5$ réplicas em cada tratamento).

Em relação aos valores de P médios, observamos que em ambos os tratamentos as maiores taxas também ocorreram em T0 ($1,03 \pm 1,32 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ no pH atual e $1,30 \pm 1,91 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ no pH baixo), e diminuiu com o tempo de incubação em ambos os tratamentos ($0,51 \pm 0,38 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ no pH atual e $0,55 \pm 0,38 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ no pH baixo) (Figura 4.3). Assim, o teste t mostrou que a P não diminuiu significativamente após cinco dias de incubação no tratamento de pH atual ($p = 0,326$) e no tratamento de pH baixo ($p = 0,463$) (Tabela 4.11). Ao compararmos a P em T1 não encontramos mudança significativa entre os tratamentos de pH ($p = 0,879$).

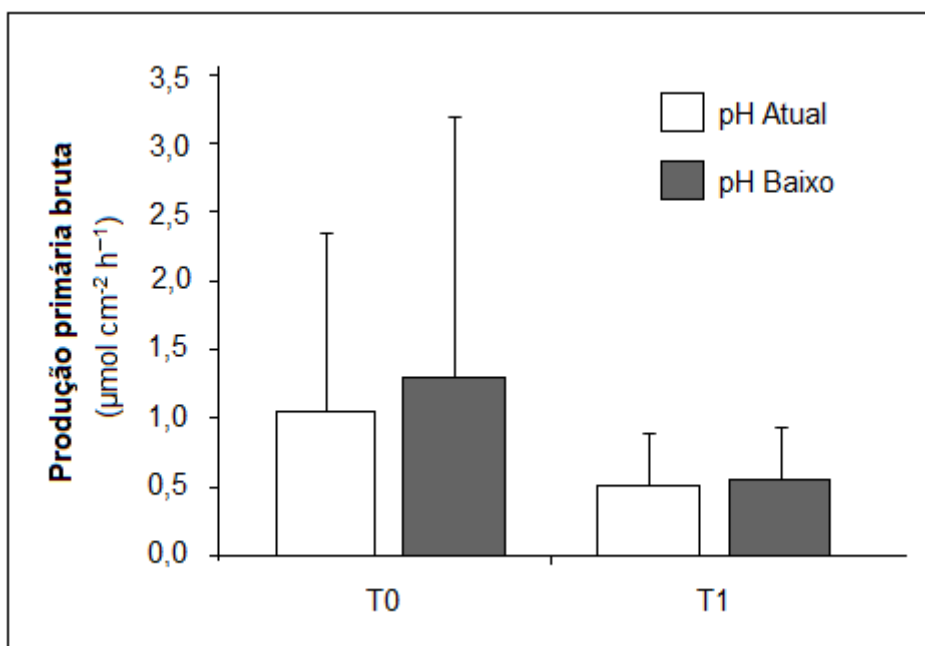


Figura 4.3. Produção primária bruta ($\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$) dos rodólitos estimada 1h após o início do experimento (T0) e após cinco dias de incubação (T1) sob os níveis de pH 8,1 (atual) e 7,8 (baixo). Valores expressos em média \pm DP (n = 5 réplicas).

Tabela 4.11. Resultados estatísticos do teste T examinando os efeitos do pH nas taxas de P_{liq} , R, P e na razão P/R.

PARÂMETROS	T	P
P_{liq}		
pH Atual T0 x pH Atual T1	1,219	0,290
pH Baixo T0 x pH Baixo T1	1,566	0,193
pH Atual T1 x pH Baixo T1	0,192	0,853
R		
pH Atual T0 x pH Atual T1	0,597	0,583
pH Baixo T0 x pH Baixo T1	0,379	0,724
pH Atual T1 x pH Baixo T1	0,933	0,378
P		
pH Atual T0 x pH Atual T1	1,118	0,326
pH Baixo T0 x pH Baixo T1	0,811	0,463
pH Atual T1 x pH Baixo T1	0,157	0,879
P/R		
pH Atual T0 x pH Atual T1	2,317	0,081
pH Baixo T0 x pH Baixo T1	0,309	0,772
pH Atual T1 x pH Baixo T1	1,246	0,248

A comparação foi feita em cada tratamento 1h após a incubação (T0) e após cinco dias de incubação (T1) (amostras pareadas), e em T1 entre os tratamentos (amostras independentes).

Quando comparamos os valores médios da razão P/R entre T0 e T1 em cada tratamento, observamos que P/R diminuiu após cinco dias de incubação em ambos os tratamentos (Figura 4.4), mas, o teste t revelou que a diminuição da razão P/R ao longo do tempo experimental não foi significativa em nenhum dos tratamentos de pH (Tabela 4.11). Após cinco dias de incubação, o aumento da $p\text{CO}_2$ também não afetou a razão P/R ($p = 0,248$). A produtividade medida pela resultante entre produção bruta e a respiração não foi afetada pelo aumento da $p\text{CO}_2$. No final do experimento a razão P/R > 1 em todos os tratamentos, o que indica que as taxas de produção excederam as taxas de respiração.

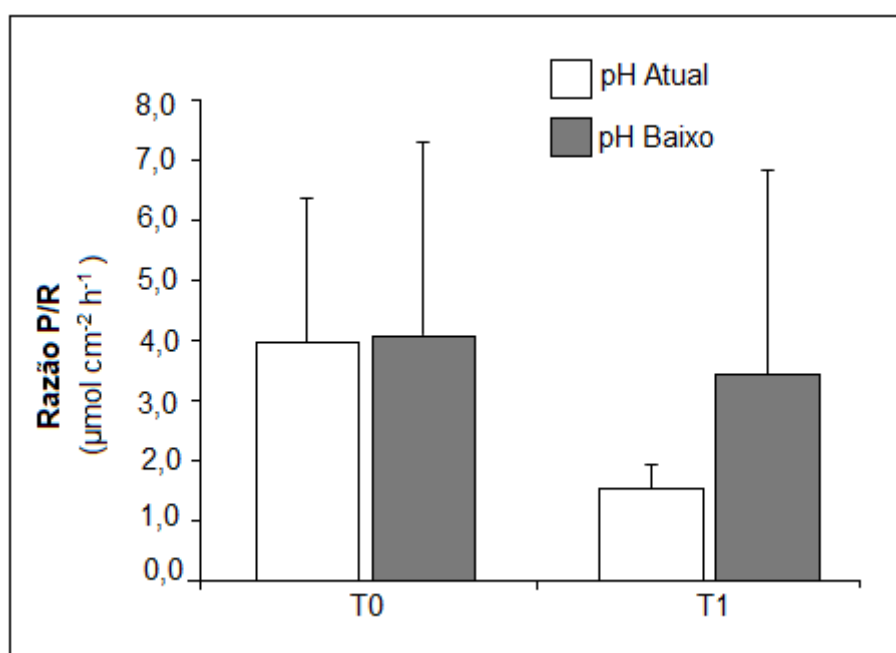


Figura 4.4. Valores médios (\pm DP) da razão P/R dos rodolitos em uma simulação rápida de claro/escuro no início do experimento (T0) e após cinco dias de incubação (T1) sob dois níveis diferentes de pH 8,1 (atual) e 7,8 (baixo).

4.5 Calcificação

As taxas de calcificação líquida (G_{liq}) no claro ($\sim 240 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram estimadas após seis dias de incubação em ambos os tratamentos de pH. A tabela 4.12 mostra a AT em μEq^{-1} determinada no início da manhã e no final da tarde ($\Delta t=9$ hs), e a calcificação líquida em $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para cada indivíduo em cada tratamento. Aqui valores negativos em G_{liq} estão associados ao efeito da dissolução (Tabela 4.12).

Tabela 4.12. Calcificação líquida (G_{liq}) dos rodolitos sob tratamento de pH baixo em comparação com tratamento de pH atual estimada após seis dias de incubação.

Tratamento	Organismo	$AT_{manh\tilde{a}}$	AT_{tarde}	ΔAT	G_{liq}
		($\mu Eq L^{-1}$)	($\mu Eq L^{-1}$)		
		Média \pm DP	Média \pm DP	($\mu Eq L^{-1}$)	($\mu mol CaCO_3 cm^{-2} h^{-1}$)
pH Atual	L2A	2230	2080	-150	0,24
	L3A	2100	2000	-100	0,14
	L4A	2470	2610	140	-0,14
	L6A	2735 \pm 120	2690 \pm 28	-45	0,03
	L7A	2900 \pm 42	2840 \pm 282	-60	0,05
pH Baixo	L1B	2060	1930	-130	0,18
	L3B	2850	2920	70	-0,09
	L5B	4200	4280	80	-0,07
	L6B	3300 \pm 14	2850 \pm 70	-450	0,35
	L7B	2980 \pm 184	2855 \pm 7	-125	0,17

As médias de G_{liq} calculadas no tratamento de pH atual e baixo ($0,06 \pm 0,14 \mu mol CaCO_3 cm^{-2} h^{-1}$ e $0,11 \pm 0,19 \mu mol CaCO_3 cm^{-2} h^{-1}$, respectivamente) mostraram que a G_{liq} foi positiva, ou seja, em ambos os tratamentos de pH houve calcificação e não dissolução. Ao compararmos os tratamentos de pH atual e baixo, a G_{liq} aumentou cerca de 83% no tratamento de pH baixo após seis dias de incubação (Figura 4.5). No entanto, o teste T (amostras independentes) revelou que a G_{liq} dos rodolitos após seis dias de incubação não foi significativamente afetada pelo aumento de CO_2 ($t = 0,441$; $p = 0,671$) quando comparado com os rodolitos na condição controle (pH atual).

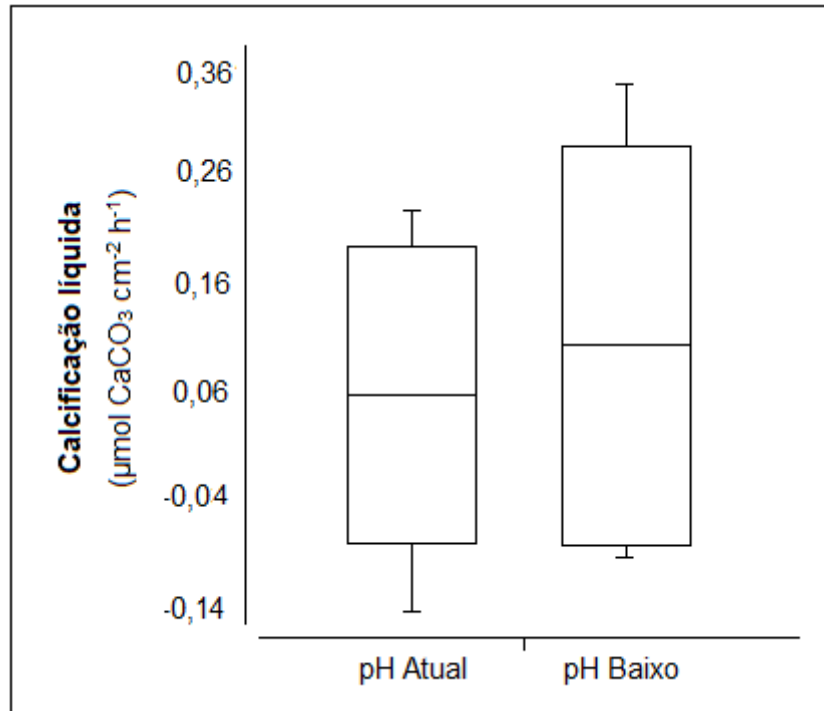


Figura 4.5. G_{liq} expressa em forma de gráfico boxplot como média, desvio padrão, e valores máximos e mínimos, medida após 6 dias de exposição aos tratamentos de pH ($n = 5$).

5. DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros Físicos e Químicos

Como o objetivo deste estudo era avaliar exclusivamente o efeito da diminuição do pH da água no metabolismo dos rodólitos, as condições ambientais básicas como temperatura, luz e salinidade, foram mantidas constantes para evitar a interferência de alguns desses parâmetros nas respostas dos rodólitos. Uma vez que, estudos com algas coralináceas tem mostrado respostas diferenciadas à diminuição do pH a medida que algum desses parâmetros são variados experimentalmente (MARTIN et al., 2013; SORDO et al., 2018; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Os valores de salinidade e temperatura mantidos em laboratório foram determinados em função das condições médias encontradas nas proximidades do recife, enquanto que o nível de luz foi de aproximadamente $240 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{s}^{-1}$. Neste estudo não medimos a quantidade de PAR incidente nas piscinas onde os rodólitos foram coletados, no entanto, estudos mostram que a irradiação máxima incidente sob algas coralináceas em recifes rasos de regiões tropicais, em profundidade inferior à 1 metro, varia entre 2000 e 1600 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{s}^{-1}$ (PAYRI et al., 2001; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Com relação à AT monitorada no sistema experimental, os valores médios encontrados no tratamento pH atual ($3021,9 \pm 862,8 \mu\text{mol kg}^{-1}$) e pH baixo ($3554,3 \pm 1857,7 \mu\text{mol kg}^{-1}$) ficaram bem acima da faixa observada na maioria dos experimentos de perturbação de CO_2 (ANTHONY et al., 2008; COMEAU; CARPENTER; EDMUNDS, 2017; ERIANDER; WRANGE; HAVENHAND, 2016; KUFFNER et al., 2008; MARTIN et al., 2013; SORDO et al., 2018; WIZEMANN et al., 2015). No entanto, a variação da AT entre as incubadoras não foi uniforme, algumas incubadoras se mantiveram próximas da alcalinidade oceânica típica ($2325 \mu\text{mol kg}^{-1}$; BARRY et al., 2010) até o final dos experimentos, enquanto outras o valor foi 2 à 3x maior no final dos experimentos (Tabela 4.6). Esse aumento exagerado na AT não foi encontrado no início dos experimentos em nenhuma das incubadoras, o que sugere que as condições criadas para os rodólitos foram ideais e independentes dos tratamentos de pH.

De acordo com Hurd et al (2009) há dois processos chaves que modificam a especiação do CO_2 e aumentam a alcalinidade em incubadoras de experimentos de acidificação:

- i) a diminuição do pH pode levar a dissolução do CaCO_3 biogênico;

- ii) pode estar havendo perda de CO₂ dos recipientes de cultivo para o ambiente externo, já que a pCO₂ dentro do recipiente é mais equilibrada.

Além disso, sabe-se que as atividades metabólicas (fotossíntese, respiração e calcificação) também modificam o pH e a química do carbonato de água do mar em recipientes de cultura (ISRAEL; HOPHY, 2002).

Com base no que foi apresentado e com a identificação das incubadoras que tiveram as maiores medidas de alcalinidade, a hipótese da influência das atividades metabólicas foi descartada. Não houve uma relação direta entre as maiores áreas de cobertura dos rodolitos (Tabela 4.5), com os maiores valores de AT encontrados no final dos experimentos (Tabela 4.6), que justificariam maiores atividades metabólicas e maiores modificações na especiação do CO₂.

Portanto, é possível que uma combinação dos dois primeiros processos tenha ocorrido durante o período experimental, primeiro porque as maiores variações (>1000 μmol kg⁻¹) de AT ocorreram na incubadora R1 em ambos os tratamentos, e apenas uma ocorreu em uma incubadora diferente (R3-L5B) sob pH reduzido. É provável que com a frequente manipulação, alguma válvula da incubadora R1 tenha sido danificada, permitindo a troca de CO₂ do interior com o ambiente, mesmo que em pequenas quantidades diariamente. Esse processo pode ter sido somado a taxas diárias de dissolução, as quais não se pode informar, pois o único parâmetro monitorado diariamente foi o pH, e a alcalinidade apenas no início e final dos experimentos.

Tais efeitos poderiam ser eliminados por altas taxas de renovação de água acidificada nas incubadoras (FANGUE et al., 2010; HURD et al., 2009). Por isso, reafirmamos a importância de manter um sistema com troca de água do mar filtrada/água salina sintética contínua em experimentos de AO com macroalgas calcificantes.

Com a eliminação dos dados da incubado R1, os valores finais apresentados na tabela 4.7 estão na faixa do esperado para experimentos laboratoriais de AO (ANTHONY et al., 2008; COMEAU; CARPENTER; EDMUNDS, 2017; ERIANDER; WRANGE; HAVENHAND, 2016; KUFFNER et al., 2008; MARTIN et al., 2013; SORDO et al., 2018; WIZEMANN et al., 2015). Entre os tratamentos, o aumento de CO₂ na água das incubadoras modificaram o sistema carbonato como descrito por Doney et al (2009), Sabine et al (2004) e Hurd et al (2009), as concentrações de CO₂ dissolvido, carbono inorgânico total dissolvido e o íon bicarbonato aumentam, enquanto o pH, a concentração de íons carbonato e o estado de saturação de carbonato de cálcio diminuíram. Mas, é importante deixar claro que a água do

mar no sistema experimental se manteve supersaturada consistentemente ($\Omega > 1$) em relação ao estado de saturação da calcita e aragonita, mesmo sob valores elevados de $p\text{CO}_2$ e pH baixo. Essa condição reduziu qualquer efeito prejudicial do tratamento de acidificação em termos de disponibilidade de carbonato, fator apontado em outros estudos como sendo o principal responsável pelo efeito deletério na calcificação de algas coralináceas (SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009).

5.2 Eficiência Fotossintética

O F_v/F_m é um dos parâmetros de fluorescência da clorofila-*a* mais utilizado para monitorar o estresse causado em algas marinhas como a fotoinibição, estresse térmico, salino, UV, enterro por sedimentos e outros (BURDETT et al., 2012; KALAJI et al., 2017; PAYRI et al., 2001; SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009; VILLAS-BÔAS et al., 2014; WILSON et al., 2004). Em geral, um aumento nos valores de F_v/F_m está associado a um maior grau de aclimação das algas (MARTIN et al., 2013; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Apesar da tendência de aumento nos valores de F_v/F_m observados ao longo deste estudo (Figura 4.1), estima-se que o rendimento quântico ótimo para algas coralináceas vermelhas é normalmente em torno de 0,5 - 0,6 (BURDETT et al., 2012; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016; VILLAS-BÔAS et al., 2014). Porém, nossos resultados de F_v/F_m se mantiveram em torno de 0,1, mesmo quando os rodólitos estavam em condições físico-químicas estáveis durante o período de aclimação laboratorial. Isso sugere que os rodólitos quando foram coletados não estavam muito saudáveis (apesar de aparentemente estarem bem rosados), e que o tempo de aclimação não foi suficiente para reduzir o estresse e conseqüentemente aumentar os valores de F_v/F_m até o desejado.

Na literatura não existe um consenso sobre qual o tempo ideal de aclimação das algas coralináceas antes de serem realizados os experimentos, diversos autores relatam que valores constantes de F_v/F_m já são indicativos de aclimação (VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016; SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009). Porém, Wilson et al (2004) sugere que períodos mais longos de aclimação (acima de um mês) são necessários para que se possa detectar mudanças no F_v/F_m até níveis ótimos.

Neste estudo, o tempo de aclimação das unidades experimentais variou de 15 a 49 dias, e mesmo nas unidades experimentais com maior tempo de aclimação, o F_v/F_m não atingiu os valores indicados (0,5 – 0,6), e não diferiu significativamente das unidades experimentais com menor tempo de aclimação. Portanto, é possível que existam outros

fatores que interfiram no limiar ótimo dos valores de Fv/Fm, segundo Wilson et al (2014) a composição da matriz calcária das algas coralináceas pode ser um fator importante.

Por isso, neste estudo nos apegamos apenas aos resultados de Fv/Fm obtidos durante as condições de controle em comparação com as condições de estresse, analisando a tendência de crescimento ou redução, uma vez que, diferenças significativas entre as séries de medida de cada grupos e entre os tratamentos de pH não foram encontradas para este parâmetro.

Em ambientes rasos como a zona entre marés, as condições ambientais básicas como a luz, temperatura, turbidez, circulação da água e concentração de nutrientes são determinantes para o crescimento das algas coralináceas (CHISHOLM, 2003; HURD et al., 2009), e mudanças bruscas em alguns desses fatores podem causar um estresse fisiológico e reduzir a vitalidade (WILSON et al., 2004; FOSTER, 2001).

Um estudo avaliou o rendimento quântico dos rodolitos *Phymatolithon calcareum* e *Lithothamnion glaciale* como parâmetro de estresse, causado pela variação das condições ambientais (como a luz, temperatura, salinidade e redução da circulação da água). Seus resultados mostraram que uma redução nos valores de Fv/Fm dos rodolitos foram associados à grandes modificações destes parâmetros, indicando que apesar destas algas viverem sob condição de variação, existe um limiar no qual as algas coralináceas conseguem suportar (WILSON et al., 2004).

Dois trabalhos mediram a variação sazonal da temperatura, salinidade e do pH da água nas poças do recife de Guarajuba, ambos mostraram pequenas variações nestes parâmetros (POGGIO, 2007; SANTA-ISABEL; LEÃO; PESO-AGUIAR, 2000), porém as medições foram pontuais, e nenhum trabalho mediu a variação em intervalos curtos (horas ou dias). Apesar de não termos dados diários de temperatura, salinidade e pH do recife estudado, é de conhecimento que em recifes rasos, estas e outras variáveis ambientais oscilam constantemente, principalmente durante a maré baixa, onde as piscinas sofrem grandes evaporações e ficam com baixa circulação (WILSON et al., 2004), nestas condições as algas são expostas a alta luminosidade, salinidade e temperatura. Além disso, o recife de Guarajuba recebe água doce proveniente do escoamento superficial quando o nível da água de uma lagoa próxima se eleva (POGGIO, 2007), proporcionando baixas salinidades em períodos de muita chuva. Estas oscilações físico-químicas naturais somadas ao pastoreio, ao rolamento e ao enterro por sedimentos, causam estresse fisiológico e reduções na eficiência fotossintética dos rodolitos (PAYRI et al., 2001; VILLAS-BÔAS et al., 2014), e por isso, justificam os valores baixos de Fv/Fm encontrados após a coleta.

Podemos dizer que as condições mantidas em laboratório durante os primeiros 15 dias melhoraram a eficiência fotossintética dos rodolitos, uma vez que valores de Fv/Fm mais altos foram encontrados após o período mínimo de aclimação. Esse aumento pode ser justificado pelo controle das variáveis ambientais (temperatura, salinidade, agitação da água e luz) mantidas durante este período.

Outro fator importante que possivelmente contribuiu para o aumento de Fv/Fm em laboratório, foi a menor irradiação utilizada. Sabe-se que a irradiação nas piscinas de maré de regiões tropicais, com profundidade inferior a 1 metro, podem chegar a ser até 5 vezes maior do que a irradiação necessária para saturar a fotossíntese. E, apesar dos nossos rodolitos estarem aclimatados a alta luminosidade no recife, em geral as algas coralináceas vermelhas têm adaptações à baixa luz (KÜHL et al., 2001; WILSON et al., 2004), o que torna necessário o desenvolvimento de mecanismos de fotoaclimação em algumas espécies para habitarem regiões de alta luminosidade (BURDETT et al., 2012; BURDETT et al., 2014; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016). O processo de fotoaclimação das algas coralináceas está ligado à redução no complexo de pigmentos totais, por isso, quando algas de uma mesma espécie são expostas à alta luminosidade, estas, tendem a serem mais claras que as algas da mesma espécie de ambiente de baixa luminosidade (PAYRI et al., 2001).

Um estudo examinou os pigmentos da ACI *Hydrolithon onkodes* de regiões tropicais com a variação da irradiação, os resultados mostraram que quando as algas foram expostas a alta luminosidade houve um aumento de substâncias foto-protetoras (carotenoides totais) e uma redução de pigmentos fotossintéticos (como a clorofila A e a R-fitoeritrina), no qual reduziu a transmissão de energia aos centros de reação do fotossistema II e protegeu as algas contra danos por foto-oxidação (PAYRI et al., 2001). Martin et al (2013) também encontrou rendimentos quânticos maiores na ACI *Lithophyllum cabiochae* durante o período de inverno comparado ao verão, e reafirmou que as algas coralináceas estão melhor adaptadas a pouca luz. Portanto, é possível que a menor irradiação laboratorial tenha proporcionado aos rodolitos uma melhor condição luminosa o que fez com que os organismos reduzissem a produção de substâncias fotoprotetoras e aumentassem a concentração de pigmentos fotossintéticos.

Um aumento na eficiência fotossintética dos rodolitos também foi medido após o término dos experimentos em ambos os tratamentos de pH, indicando que as condições experimentais permaneceram estáveis para os rodolitos mesmo sob pH reduzido. Entre os tratamentos não encontramos mudança significativa em Fv/Fm. Essa ausência de efeito do aumento de CO₂ no Fv/Fm dos rodolitos foi similar ao encontrado para o rodolito

Neogoniolithon sp, onde os autores concluíram que somente a redução do pH não era suficiente para causar mudanças significativas nos valores de Fv/Fm, porém, reduções significativas ocorreram quando os efeitos do pH baixo foram combinados com mudanças na temperatura (VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016). Outros estudos não estimaram especificamente o rendimento quântico em algas coralináceas, mas, demonstraram que a quantidade de pigmentos fotossintéticos como a clorofila-*a* e a concentração de carotenóides não são afetadas pelo aumento da pCO₂ (EGILSDOTTIR et al., 2013; MARTIN et al., 2013; NOISETTE et al., 2013a; NOISETTE et al., 2013b; SORDO et al., 2018).

De acordo com Burdett et al (2014) um dos efeitos negativos da AO sob as algas coralináceas é o aumento do estresse causado pela redução significativa do estado de saturação do CaCO₃. Isso possivelmente justifica a ausência de estresse nos rodolitos incubados no tratamento de pH baixo, uma vez que nossos resultados mostram que não houve subsaturação do CaCO₃.

Assim, podemos dizer que do ponto de vista fotoquímico, uma maior disponibilidade de CO₂ através da acidificação oceânica não afetará negativamente o Fv/Fm dos rodolitos estudados, e possivelmente poderia levar a rendimentos quânticos mais elevados, uma vez que encontramos uma tendência de aumento no Fv/Fm dos rodolitos incubados no tratamento de pH baixo.

O efeito benéfico do CO₂ no Fv/Fm já havia sido detectado para algumas espécies de algas simbiontes em experimentos de AO, e levou a conclusão de que o aumento de CO₂ é capaz de manter receptores de elétrons endógenos em um estado mais oxidado, proporcionando assim um maior afundamento para a cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos e potencialmente induzindo a aumentos no rendimento quântico máximo (HOADLEY et al. 2015).

5.3 Produção Primária, Respiração e Calcificação

Os resultados deste estudo sugerem que os rodolitos coletados, nas piscinas do recife da praia de Guarajuba, não são relativamente sensíveis ao aumento da pCO₂. Nossos achados sustentam a hipótese inicial apresentada de que o aumento da pCO₂ não afetaria a produtividade, porém não esperávamos que o mesmo ocorresse para a calcificação.

As taxas de produção primária e respiração, determinadas no tratamento controle deste estudo foram próximas as relatada por Chisholm (2003) em laboratório. O autor mediu em laboratório a produção primária bruta e líquida das algas coralináceas tropicais

Neogoniolithon sp. e *Hydrolithon* sp. sob aproximadamente $180 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{ s}^{-1}$, e mostrou que a produ\u00e7\u00e3o l\u00edquida entre as esp\u00e9cies variou de $1,0 - 1,5 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e a produ\u00e7\u00e3o bruta de $1,4 - 2,0 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Estes resultados s\u00e3o comparados \u00e0s m\u00e9dias de produ\u00e7\u00e3o l\u00edquida $0,8 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e produ\u00e7\u00e3o bruta $0,5 - 1,5 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ obtidas no tratamento controle deste estudo. As taxas de respira\u00e7\u00e3o escura tamb\u00e9m foram pr\u00f3ximas aos valores relatados na literatura para esp\u00e9cies tropicais de ACI medidas em laborat\u00f3rio ($0,2 - 0,5 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$, em termos de consumo de O_2 , CHISHOLM, 2003).

Ao compararmos os nossos dados do tratamento controle com o tratamento de pH baixo, notamos que tanto para a produ\u00e7\u00e3o bruta (que \u00e9 a energia total fixada pela fotoss\u00edntese) como para a produ\u00e7\u00e3o l\u00edquida, n\u00e3o foram encontrados diferen\u00e7as significativas. Assim podemos afirmar que a diminui\u00e7\u00e3o do pH n\u00e3o afetou a produ\u00e7\u00e3o prim\u00e1ria dos rodolitos estudados.

Em concord\u00e2ncia com a fotoss\u00edntese, a respira\u00e7\u00e3o no escuro tamb\u00e9m n\u00e3o foi afetada pelo aumento da pCO_2 . A independ\u00eancia da respira\u00e7\u00e3o com o aumento do CO_2 foi relatada por v\u00e1rios autores em diferentes esp\u00e9cies de ACI de regi\u00f5es tropicais, alguns resultados est\u00e3o descritos na tabela 5.1. Segundo Zou, Gao e Xia (2011), at\u00e9 o momento h\u00e1 poucas informa\u00e7\u00f5es sobre como o aumento do CO_2 interfere na respira\u00e7\u00e3o de macroalgas marinhas, mas, foi sugerido que o aumento da fotoss\u00edntese sob CO_2 elevado, pode elevar o teor de carboidratos sol\u00faveis (utilizados durante a respira\u00e7\u00e3o), e assim compensar o efeito negativo da redu\u00e7\u00e3o de nitrog\u00eanio tecidual das macroalgas sob CO_2 elevado. No entanto, neste estudo atribu\u00edmos a aus\u00eancia de resposta da respira\u00e7\u00e3o \u00e0 falta de resposta da fotoss\u00edntese assim como relatado por Egilsdottir et al (2013), onde os autores relataram que a manuten\u00e7\u00e3o da fotoss\u00edntese manteve o suprimento de substratos respirat\u00f3rios.

Com rela\u00e7\u00e3o \u00e0 produ\u00e7\u00e3o prim\u00e1ria/fotoss\u00edntese muitos estudos com algas coralin\u00e1ceas incrustantes de regi\u00f5es tropicais t\u00eam apresentado respostas variadas \u00e0 AO, por exemplo, Anthony et al (2008) relataram que para a alga coralin\u00e1cea *Porolithon onkodes* a produ\u00e7\u00e3o prim\u00e1ria l\u00edquida foi negativamente afetada, enquanto Semesi, Kangwe e Bj\u00f6rk (2009) mostraram que para o g\u00eanero formador de rodolito *Hydrolithon* sp. a fotoss\u00edntese foi significativamente aumentada. Outros estudos n\u00e3o encontraram efeito na fotoss\u00edntese de ACI sob pCO_2 elevada (Tabela 5.1). Estes resultados divergentes foram atribu\u00eddos \u00e0 respostas espec\u00edficas das esp\u00e9cies (V\u00c1SQUEZ-ELIZONDO; ENR\u00cdQUEZ, 2016).

Tabela 5.1. Respostas de estudos que investigaram os efeitos da variação da pCO₂/pH isoladamente e em combinação com o aumento da temperatura, na respiração, fotossíntese e na calcificação de espécies de algas coralináceas incrustantes de regiões tropicais e sub tropicais de diferentes profundidades.

Efeito na:	Exposição ao ↑pCO ₂ / ↓pH	Profundidade de coleta	Condição experimental:			Resultado da:		Referências
			pCO ₂ /pH	Temperatura	PAR	↓ pH	↓ pH + ↑ T°C	
Respiração (R)								
<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	7 à 10 dias	1 à 2 m	400 – 700 – 1000 (µatm)	27°C	0	=		COMEAU; CARPENTER; EDMUNDS, 2017
<i>Lithophyllum flavescens</i> (ACI)						=		
<i>Hydrolithon reinboldii</i> (R)						=		
<i>Lithophyllum kotschyannum</i> (R)						=		
<i>Neogoniolithon frutescens</i> (R)						=		
<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	14 dias	2 à 3 m	400 – 600 (µatm)	28,5°C	0	=		JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014
<i>Hydrolithon</i> sp. (R)	5 dias	1 m	400 – 900 (µatm)	25 °C	0	=		SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009
<i>Neogoniolithon</i> sp. (R)	10 dias	3 m	8.1 – 7.9 (pH)	30°C/+2°C	0	=	↓	VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016
<i>Lithothamnion</i> sp. (ACI)		5 à 6 m				=		
ACI de vida livre (R)	5 dias	1 m	8.1 – 7.8 (pH)	26°C	0	=		Este estudo
Fotossíntese (F)								
<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	7 à 10 dias	1 à 2 m	400 – 700 – 1000 (µatm)	27°C	700	=		COMEAU; CARPENTER; EDMUNDS, 2017
<i>Lithophyllum flavescens</i> (ACI)						=		
<i>Hydrolithon reinboldii</i> (R)						=		
<i>Lithophyllum kotschyannum</i> (R)						=		
<i>Neogoniolithon frutescens</i> (R)						=		
<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	14 dias	2 à 3 m	400 – 660 (µatm)	28,5°C	600	=		JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014
<i>Hydrolithon</i> sp. (R)	5 dias	1 m	400 – 900 (µatm)	25°C	150	↑		SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009

(continuação)

Tabela 5.1 (continuação)

<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	8 semanas	2 à 3 m	298 – 613 – 1185 (μatm)	25-26/+3°C	205 -1000	↓	↓↓	ANTHONY et al., 2008
<i>Neogoniolithon</i> sp. (R)	10 dias	3 m	8.1 – 7.9 (pH)	30°C/+2°C	600	=	↓	VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016
<i>Lithothamnion</i> sp. (ACI)		5 à 6 m			50	=	↓	
ACI de vida livre (R)	5 dias	1 m	8.1 – 7.8 (pH)	26°C	240	=		Este estudo
Calcificação (G)								
<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	8 semanas	2 à 3 m	298 – 613 – 1185 (μatm)	25-26/+3°C	205-1000	↓	↓↓	ANTHONY et al., 2008
<i>Porolithon onkodes</i> (ACI)	14 dias	2 à 3 m	400 – 660 (μatm)	28,5°C	600	↓		JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014
<i>Hydrolithon</i> sp. (R)	5 dias	1 m	400 – 900 (μatm)	25°C	150	↓		SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009
<i>Neogoniolithon</i> sp. (ACI)	60 dias	nr	409 – 605 – 903 (μatm)	25°C	426 W/M ²	↑		RIES; COHEN; MCCORKLE, 2009
<i>Neogoniolithon</i> sp. (R)	10 dias	3 m	8.1 – 7.9 (pH)	30°C/+2°C	600	↓	↓↓	VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016
<i>Lithothamnion</i> sp. (ACI)		5 à 6 m			50	↓	↓↓	
ACI de vida livre (R)	6 dias	1 m	8.1 – 7.8 (pH)	26°C	240	=		Este estudo

Para comparação foram citadas apenas estudos que utilizaram o mesmo método de manipulação do pH (o borbulhamento de gás CO₂).

As algas coralináceas são classificadas como alga coralinácea incrustante (ACI) e rodolito (R).

A intensidade da luz é relatada como PAR em μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a menos que seja indicado o contrário.

As respostas de G, F e R são relatadas em relação às condições de controle (ambiente) de pCO₂/pH, sempre listadas como primeiro dado na linha correspondente a espécie, e são definidas como aumento (↑), diminuição (↓) ou nenhuma alteração com relação ao CO₂ (=).

Alguns fatores / parâmetros não foram medidos () ou não relatados (nr).

A interdependência da produção primária em resposta ao aumento da $p\text{CO}_2$ também foi relatada para algumas espécies de algas coralináceas de regiões temperadas (EGILSDOTTIR et al., 2013; NOISETTE et al., 2013a). Essa ausência de resposta na produção primária de algumas algas foram atribuídas à presença de mecanismos de concentração de carbono (MsCC) (COMEAU; CARPENTER; EDMUNDS, 2017; EGILSDOTTIR et al., 2013; JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014; NOISETTE et al., 2013a).

Muitas macroalgas marinhas possuem MsCC, ou seja, elas conseguem transportar ativamente tanto o CO_2 como o HCO_3^- através da membrana celular, e a enzima anidrase carbônica (AC) atua intracelularmente para converter o HCO_3^- em CO_2 , ou ainda, a AC pode converter o bicarbonato extracelularmente em CO_2 que então entra na célula por meio de transporte ativo ou por difusão, tudo isso para sustentar a fotossíntese (RAVEN et al., 2012). A presença de MsCC significa que as taxas fotossintéticas das algas não são limitadas por carbono nas concentrações atuais, por isso é esperado que para as espécies que possuem MsCC o aumento de CO_2 não modifique a resposta da fotossíntese (EGILSDOTTIR et al., 2013).

É possível que os rodólitos investigados neste estudo possuam MsCC, uma vez que, a fotossíntese não foi alterada pelo aumento da concentração de CO_2 /diminuição do pH. Para sustentar essa hipótese, encontramos na literatura relatos de que possivelmente espécies incrustantes tropicais como *Lithophyllum incrustans* e *Porolithon onkodes* possuem MsCC (JOHNSON; MORIARTY; CARPENTER, 2014; NOISETTE et al., 2013a). Outra consideração importante é que, a ausência de MsCC é mais comum em espécies de algas que vivem em ambientes mais profundos, estas algas sem MsCC são geralmente limitadas em carbono e podem responder positivamente ao aumento da $p\text{CO}_2$ (ANTHONY et al., 2008; WU; ZOU; GAO, 2008).

Acredita-se que os organismos marinhos que possuem MsCC tenham adquirido uma vantagem adaptativa com relação aos que dependem exclusivamente da disponibilidade de CO_2 (WU; ZOU; GAO, 2008), isso porque as algas que não possuem MsCC, tem seu metabolismo controlado pela disponibilidade de CO_2 no sistema natural (CORNWALL et al., 2013). Mas, ainda não está claro o porquê algumas algas possuem MsCC e outras não, por isso espera-se que as respostas destes organismos à AO sejam de fato variáveis (WU; ZOU; GAO, 2008). Além disso, as algas que possuem MsCC tem uma variedade de estratégias para a utilização do HCO_3^- e podem apresentar alguma limitação (WU; ZOU; GAO, 2008), algumas podem não ter MsCC tão eficientes e para economizar energia, elas

podem deixar de utilizar o HCO_3^- quando o CO_2 está elevado, e transferir a energia para aumentar o crescimento do tecido (RAVEN et al., 2012; WU; ZOU; GAO, 2008).

Quanto às taxas de calcificação, os resultados de G_{liq} obtidos no tratamento controle também estiveram próximos dos valores de calcificação relatados em laboratório para as espécies de algas coralináceas tropicais *Neogoniolithon* sp. e *Hydrolithon* sp. sob condição de luz semelhante (CHISHOLM, 2000). As taxas de G_{liq} obtidas neste estudo ($0,06 \pm 0,14 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ no tratamento de pH atual e $0,11 \pm 0,19 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ no tratamento de pH baixo) não variaram significativamente entre si.

Contrariando a nossa observação o estudo de Vásquez-Elizondo e Enríquez (2016) mediu a calcificação da alga coralinácea incrustante *Lithothamnion* sp. no recife em Puerto Morelos (México), utilizando a mesma técnica (anomalia da alcalinidade), e mostrou que altos níveis de CO_2 diminuem as taxas de calcificação, seu resultado foi $0,14 \pm 0,06 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ sob pH ambiente e $0,07 \pm 0,01 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ sob pH reduzido. A tabela 5.1 apresenta outros estudos com algas coralináceas de regiões tropicais que também relataram que altos níveis de CO_2 afetaram negativamente a calcificação. A diminuição na calcificação apontada nestes estudos após períodos de exposição à pCO_2 elevada, indicam que são resultados da diminuição do estado de saturação do carbonato de cálcio, o que torna esse processo mais caro (em termos de custo energético) para as algas coralináceas (ANTHONY et al., 2008; SEMESI; KANGWE; BJÖRK, 2009; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Apesar da maioria dos estudos encontrarem efeitos negativos, há estudos que mostram o contrário, como por exemplo Smith e Roth (1979) relataram taxas máximas de calcificação da alga coralinácea vermelha *Bossiella orbigniana* quando as concentrações de bicarbonato na água eram máximas sob pH 7,8, e sugeriram que a calcificação desta alga era controlada por um processo biológico que poderia ser sensível a concentração de bicarbonato e/ou ao pH. Isso concorda com os achados de Ries, Cohen e Mccorkle (2009) para a ACI tropical *Neogoniolithon* sp., que também tiveram taxas elevadas de calcificação sob pCO_2 elevada. Em ambos os casos, o aumento da pCO_2 aumentou as taxas fotossintéticas, e foi responsável por modificar o pH nos espaços intercelulares, e assim manter a calcificação.

Neste estudo esperávamos que no final do experimento, as taxas de calcificação dos rodolitos seriam reduzidas no tratamento de pH baixo, já que hipoteticamente as taxas fotossintéticas não seriam elevadas. Porém, nossos resultados foram contrários a maioria dos estudos de ACI de regiões tropicais, ou seja, indicaram que não houve mudança

significativa nas taxas de calcificação dos rodolitos entre os tratamentos, do mesmo modo que não encontramos mudanças na produção primária líquida e bruta, e na respiração dos rodolitos. Por isso, nossos achados confirmam essa estreita ligação entre os processos de calcificação e fotossíntese.

A resistência na calcificação dos rodolitos à pH reduzido pode ser explicada pela aclimatação a concentração de $p\text{CO}_2$ variável nas piscinas de maré. A capacidade de aclimatação das algas à $p\text{CO}_2$ elevada vem sendo estudada, por exemplo, Martin e Gattuso (2009) mostrou que a calcificação de *Lithophyllum cabiochae* foi reduzida após o tratamento com $p\text{CO}_2$ elevado por 1 mês, mas nenhum efeito do $p\text{CO}_2$ elevado foi observado após 1 ano. Ambientes tropicais e temperados com entradas de CO_2 vêm contribuindo para o entendimento sobre o potencial de aclimatação das algas coralináceas, em geral, os estudos *in situ* tem mostrado uma redução na cobertura das algas coralináceas e aumento de algas carnudas (AGOSTINI et al., 2018; FABRICIUS et al., 2015; PORZIO; BUIA; HALL-SPENCER, 2011), mas, uma espécie de alga coralinácea em especial foi mais abundante em pH 7.8 do que em pH 8.1, essa observação pode indicar níveis de tolerância diferentes entre as espécies de algas coralináceas (PORZIO; BUIA; HALL-SPENCER, 2011).

Segundo Wu, Zou e Gao (2008), as respostas de crescimento também dependem da presença/ausência de MsCC. Hofman, Straub e Bischof (2013) propuseram que a enzima AC também pode atuar na calcificação das macroalgas marinhas, convertendo HCO_3^- em CO_3^{2-} , e assim impedir que a calcificação diminua sob pH reduzido. Portanto, nossos resultados de calcificação também contribuem para acreditarmos que os rodolitos estudados possuam MsCC. É possível que a exposição das algas a $p\text{CO}_2$ elevada durante um longo período desenvolva uma mudança genética que será herdada pela população futura (WU; ZOU; GAO, 2008). Assim, é possível que os rodolitos estudados podem já ter se adaptado a $p\text{CO}_2$ elevada.

5.4 Considerações Finais

Demonstramos aqui que algumas ACI de ambientes com condições físico-químicas variadas podem ser mais resistentes ao aumento da $p\text{CO}_2$. No futuro, à medida que o CO_2 dissolvido nos oceanos superficiais aumentar até os níveis projetados nesta pesquisa, nossos resultados sugerem que é provável que algumas espécies de ACI não sejam negativamente afetadas. No entanto, é importante destacar que as informações geradas experimentalmente neste trabalho são de natureza unifatorial, ou seja, leva em consideração apenas um fator relacionado às mudanças climáticas, em particular a

acidificação. Porém, espera-se que o aumento da pCO₂ atmosférica produza um clima mais quente para o planeta, causado pelo efeito-estufa (IPCC-AR5, 2014). Isso significa que as ACI de ambientes rasos além de terem que lidar com a alta luminosidade e com as mudanças nos níveis de pH, também enfrentarão o aumento da temperatura das águas (ANTHONY et al., 2008; COMEAU; CARPENTER; EDMUNDS, 2014).

É sabido que as algas coralináceas não têm a capacidade de regular a sua temperatura interna, isso significa que um aumento na temperatura da água do mar eleva a temperatura destas internamente (TYRRELL, 2008). Estudos que investigam os efeitos das mudanças climáticas, relatam que o aumento da temperatura alteram as taxas metabólicas das algas (VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016), e quando o limiar é excedido, há indução do branqueamento e aumento da mortalidade do tecido (WILSON et al., 2004). Outros estudos já demonstraram que os efeitos negativos da AO na calcificação e fisiologia das algas coralináceas, são aumentados sob temperatura elevada (Tabela 5.1), e que para algumas espécies, o efeito na fisiologia pode ser mais importante sob temperaturas elevadas do que sob pCO₂ elevada (LEI et al., 2020; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016).

Diversos autores relatam que a luz também é um fator importante, e deve ser levada em consideração nos estudos de AO, uma vez que há indícios de que o estresse luminoso pode ser determinante na resposta das algas ao aumento da temperatura ou diminuição do pH (HURD et al., 2009; MARTIN et al., 2013; VÁSQUEZ-ELIZONDO; ENRÍQUEZ, 2016). O estudo de Comeau, Carpenter e Edmunds (2014) analisaram o efeito da alta irradiação na resposta da calcificação da ACI *Hydrolithon reinboldi* ao aquecimento e a acidificação da água do mar, os autores concluíram que a mudança nos níveis de irradiação não modificaram a resposta da alga a acidificação e ao aquecimento, mas, concluiu que sob baixa irradiação (150 µmol de fótons m⁻² s⁻¹) as taxas de calcificação líquida das algas foram significativamente menores, do que sob alta irradiação (650 µmol de fótons m⁻² s⁻¹). Em contraste, Vásquez-Elizondo e Enríquez (2016) destacaram que níveis moderados de estresse luminoso agravaram a resposta fisiológica de duas espécies de ACI ao aquecimento, e sugeriram que as espécies que vivem em ambientes rasos bem iluminados serão principalmente afetadas. Estes autores ainda criticaram os resultados encontrados por Anthony et al (2008) e Martin et al (2013), afirmando que os níveis de luz utilizados nestas pesquisas interferiram nos resultados metabólicos das algas à AO, pois estavam distantes dos níveis de luz encontrados em campo.

Diante destas considerações, sugerimos que estudos que investigam as respostas metabólicas das algas coralináceas à AO, levem em consideração a interação dos efeitos da

temperatura e luminosidade, além disso, é importante que os níveis de luz simulados em laboratório estejam próximos dos valores encontrados em campo, para que assim possamos melhor compreender o impacto que esses organismos enfrentarão.

Outro ponto importante que devemos levar em consideração, é que nosso estudo foi de curto prazo, como a maiorias dos estudos laboratoriais com algas coralináceas. No entanto, estudos de longo prazo tem demonstrado mudanças nas respostas das algas coralináceas à AO, o que pode ser importante quando se tenta entender sobre o potencial de aclimatação das algas. O estudo laboratorial mais longo (20 meses) até hoje executado com algas coralináceas, investigou o efeito da AO no metabolismo do rodolitos *Phymatolithon lusitanicum*, e concluiu que após 11 meses, as taxas de calcificação e fotossíntese aumentaram sob CO₂ elevado, mas, no final do experimento o resultado foi invertido, indicando que o limiar metabólico dos organismos havia sido excedido (SORDO et al., 2018).

Por fim, recomendamos ainda que, além de estudos que manipulam experimentalmente, é fundamental que haja o monitoramento desses organismos, para que se possa acompanhar a adaptabilidade de cada espécie, e as particularidades delas em seu ambiente, e assim compreendermos melhor como a acidificação impactará esses organismos no futuro.

6. CONCLUSÃO

- Os rodolitos coletados nas piscinas do recife da praia de Guarajuba, não são sensíveis à $p\text{CO}_2$ de 800 ppmV experimentada.
- Do ponto de vista fotoquímico, uma maior disponibilidade de CO_2 através da acidificação oceânica, não afetou o rendimento quântico dos rodolitos estudados.
- A produtividade e a calcificação indicaram uma possível adaptação fotossintética e/ou aclimação dos rodolitos à futura acidificação imposta, e podem ser consequência do ambiente altamente variável que eles habitam.
- Os resultados obtidos neste estudo, podem ser usados para demonstrar como algumas espécies de ACI podem suportar as variações ambientais (como $p\text{CO}_2/\text{pH}$). Mas, não podemos concluir que no futuro, as ACI que já suportam flutuações de pH não serão impactadas negativamente, uma vez que, serão expostas a cenários ainda mais extremos, além disso, a AO não é um problema isolado.
- Por fim, para que o potencial de aclimação fisiológica das algas coralináceas as futuras mudanças climáticas seja melhor compreendido, sugerimos que estudos de longo prazo sejam realizados em laboratório, e que estes estudos levem em consideração a variação de outros parâmetros ambientais, como temperatura e luminosidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEY, W. H. Coral reefs: algal structured and mediated ecosystems in shallow, turbulent, alkaline waters. **Journal of Phycology**, v. 34, p. 393-406, 1998.
- AGOSTINI, S. et al. Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical–temperate transition zone. **Scientific Reports**, v. 8, p. 11354, 2018.
- ANTHONY, K. R. N. et al. Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 17442–17446, 2008.
- BARRY, J. P. et al. **Part 2: Experimental design of perturbation experiments, 3 Atmospheric CO₂ targets for ocean acidification perturbation experiments**. Luxembourg: Office of the European Union, 2010.
- BREWER, P. G. Ocean chemistry of the fossil CO₂ signal: The haline signal of “business as usual”. **Geophysical Research Letters**, v. 24, p. 1367–1369, 1997.
- BURDETT, H. L. et al. Dynamic photoinhibition exhibited by red coralline algae in the red sea. **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 1–10, 2014.
- BURDETT, H. L. et al. The photosynthetic characteristics of red coralline algae, determined using pulse amplitude modulation (PAM) fluorometry. **Botanica marina**, v. 55, p. 499–509, 2012.
- CELIS-PLÁ, P. S. M. et al. Macroalgal responses to ocean acidification depend on nutrient and light levels. **Frontiers in Marine Science**, v. 2, p. 26, 2015.
- CHISHOLM, J. R. M. Calcification by crustose coralline algae on the northern Great Barrier Reef, Australia. **Limnology and Oceanography**, v. 45, p. 1476–1484, 2000.
- CHISHOLM, J. R. M. Primary productivity of reef-building crustose coralline algae. **Limnology & Oceanography**, v. 48, p. 1376–1387, 2003.
- COMEAU, S.; CARPENTER, R. C.; EDMUNDS, P. J. Effects of irradiance on the response of the coral *Acropora pulchra* and the calcifying alga *Hydrolithon reinboldii* to temperature elevation and ocean acidification. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 453, p. 28-35, 2014.

COMEAU, S.; CARPENTER, R. C.; EDMUNDS, P. J. Effects of pCO₂ on photosynthesis and respiration of tropical scleractinian corals and calcified algae. **ICES Journal of Marine Science**, v. 3, p. 1092–1102, 2017.

CORNWALL, C. E. et al. Diurnal fluctuations in seawater pH influence the response of a calcifying macroalga to ocean acidification. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 280, p. 20132201, 2013.

CORNWALL, C. E.; HURD, C. L. Experimental design in ocean acidification research: problems and solutions. **ICES Journal of Marine Science**, v. 73, p. 572–581, 2016.

COSTA, I. O. et al. Taxonomic study of crustose coralline algae off the northeastern Brazilian coast. **Phytotaxa**, v. 190, p. 130–161, 2014.

DIAZ-PULIDO, G. et al. Interactions between ocean acidification and warming on the mortality and dissolution of coralline algae. **Journal of Phycology**, v. 48, p. 32–39, 2012.

DICKSON, A. G.; SABINE, C. L.; CHRISTIAN, J. R (EDS). **Guide to Best Practices for Ocean CO₂ Measurements**. Sidney, Canada: North Pacific Marine Science Organization, v. 3, Chapter. 4 (SOP 6a), 2007.

DLUGOKENCKY, E.; TANS, P. Trends in atmospheric carbon dioxide, National Oceanic & Atmospheric Administration, **Earth System Research Laboratory** (NOAA/ESRL). Disponível em: <http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends>; último acesso: 01 de outubro de 2018.

DONEY, S. C. et al. Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. **Annual Review of Marine Science**, v. 1, p. 169–192, 2009.

EDWARDS, M. S.; KIM, K. Y. Diurnal variation in relative photosynthetic performance in giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae, Laminariales) at different depths as estimated using PAM fluorometry. **Aquatic Botany**, v. 92, p. 119-128, 2010.

EGILSDOTTIR, H. et al. Effects of pCO₂ on physiology and skeletal mineralogy in a tidal pool coralline alga *Corallina elongata*. **Marine Biology**, v. 160, p. 2103–2112, 2013.

ERIANDE, L.; WRANGE, A. L.; HAVENHAND, J. N. Simulated diurnal pH fluctuations radically increase variance in—but not the *mean* of—growth in the barnacle *Balanus improvisus*. **ICES Journal of Marine Science**, v. 73, p. 596–603, 2016.

EYRE, B. D.; ANDERSSON, A. J.; CYRONAK, T. Benthic coral reef calcium carbonate dissolution in an acidifying ocean. **Nature Climate Change**, v. 4, p. 969–976, 2014.

FABRICIUS, K. E. et al. In situ changes of tropical crustose coralline algae along carbon dioxide gradients. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–7, 2015.

FANGUE, N. A. et al. A laboratory-based, experimental system for the study of ocean acidification effects on marine invertebrate larvae. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 8, p. 441–452, 2010.

FOSTER, M. S. Rhodoliths: between rocks and soft places. **Journal of phycology**, v. 37, p. 659–667, 2001.

FINK, A. et al. Ocean Acidification Changes Abiotic Processes but Not Biotic Processes in Coral Reef Sediments. **Frontiers in Marine Science**, v. 4, p. 1–13, 2017.

GAO, K. et al. Calcification in the articulated coralline alga *Corallina pilulifera*, with special reference to the effect of elevated CO₂ concentration. **Marine Biology**, v. 117, p. 129–132, 1993a.

GUTIERREZ-HEREDIA, L. et al. End to end digitisation and analysis of three-dimensional coral models, from communities to corallites. **PLoS ONE**, v. 11, p. e0149641, 2016.

HOADLEY, K. D. et al. Physiological response to elevated temperature and pCO₂ varies across four Pacific coral species: Understanding the unique host+symbiont response. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–15, 2015.

HOEGH-GULDBERG, O. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. **Marine and freshwater research**, v. 50, p. 839-866, 1999.

HOFMANN, L. C.; BISCHOF, K. Ocean acidification effects on calcifying macroalgae. **Aquatic Biology**, v. 22, p. 261–279, 2014.

HOFMANN, L. C.; STRAUB, S.; BISCHOF, K. Elevated CO₂ levels affect the activity of nitrate reductase and carbonic anhydrase in the calcifying rhodophyte *Corallina officinalis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, p. 899–908, 2013.

HURD, C. L. et al. Testing the effects of ocean acidification on algal metabolism: Considerations for experimental designs. **Journal of Phycology**, v. 45, p. 1236–1251, 2009.

INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), 1992. Normais Climatológicas – 1981 a 2010. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 155 p.

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. Geneva, Switzerland, p. 151, 2014.

ISRAEL, A.; HOPHY, M. Growth, photosynthetic properties and Rubisco activities and amounts of marine macroalgae grown under current and elevated seawater CO₂ concentrations. **Global Change Biology**, v. 8, p. 831-840, 2002.

JONES, A. M. et al. A 3D modeling method to calculate the surface areas of coral branches. **Coral Reefs**, v. 27, p. 521-526, 2008.

JOHNSON, M. D.; MORIARTY, V. W.; CARPENTER, R. C. Acclimatization of the crustose coralline alga *Porolithon onkodes* to variable pCO₂. **PLoS ONE**, v. 9, 2014.

JUNJIE, R. K. et al. Impacts of Sediments on Coral Energetics: Partitioning the Effects of Turbidity and Settling Particles. **PLoS ONE**, v. 9, p. 1–11, 2014.

KALAJI, H. M. et al. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. **Photosynthesis Research**, v. 132, p. 13–66, 2017.

KIKUCHI, R. K. P.; LEÃO, Z. M. A. N. The effects of Holocene sea level fluctuation on reef development and coral community structure, Northern Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 70, p. 159-171, 1998.

KUFFNER, I. B. et al. Decreased abundance of crustose coralline algae due to ocean acidification. **Nature Geoscience**, v. 1, p. 114–117, 2008.

KÜHL, M. et al. Photosynthetic performance of surface-associated algae below sea ice as measured with a pulse-amplitude-modulated (PAM) fluorometer and O₂ microsensors. **Marine Ecology Progress Series**, v. 223, p. 1–14, 2001.

LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, R. K. P. A relic coral fauna threatened by global changes and human activities, Eastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 51, p. 599–611, 2005.

LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, R. K. P.; TESTA, V. Corals and coral reefs of Brazil. In: **Latin American Coral Reefs**, p. 9–52, 2003.

LEI, X. et al. Response of coralline algae *Porolithon onkodes* to elevated seawater temperature and reduced pH. **Acta Oceanologica Sinica**, v. 39, p. 132–137, 2020.

LUCIO, A. M.; NUNES, J. M. DE C. Aportación al conocimiento fenológico de las rodófitas marinas de la playa de Guarajuba (Camaçari, Bahia) Brasil. **Botanica Complutensis**, v. 26, p. 17–34, 2002.

MARTIN, S. et al. One-year experiment on the physiological response of the Mediterranean crustose coralline alga, *Lithophyllum cabiochae*, to elevated pCO₂ and temperature. **Ecology and Evolution**, v. 3, p. 676–693, 2013.

MARTIN, S.; CASTETS, M. D.; CLAVIER, J. Primary production, respiration and calcification of the temperate free-living coralline alga *Lithothamnion corallioides*. **Aquatic Botany**, v. 85, p. 121–128, 2006.

MARTIN, S.; CHARNOZ, A.; GATTUSO, J.-P. Photosynthesis, respiration and calcification in the Mediterranean crustose coralline alga *Lithophyllum cabiochae* (Corallinales, Rhodophyta). **European Journal of Phycology**, v. 48, p. 163–172, 2013.

MARTIN, S.; GATTUSO, J. P. Response of Mediterranean coralline algae to ocean acidification and elevated temperature. **Global Change Biology**, v. 15, p. 2089–2100, 2009.

MCCONNAUGHEY, T. Calcification in *Chara corallina*: CO₂ hydroxylation generates protons for bicarbonate assimilation. **Limnology and Oceanography**, v. 36, p. 619–628, 1991.

MCCOY, S. J.; RAGAZZOLA, F. Skeletal trade-offs in coralline algae in response to ocean acidification. **Nature Climate Change**, v. 4, p. 719–723, 2014.

MILLERO, F. J. The marine inorganic carbon cycle. **Chemical Reviews**, v. 107, p. 308–341, 2007.

MOULIN, L. et al. Effects of seawater acidification on early development of the intertidal sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 48–54, 2011.

NOISETTE, F. et al. Effects of elevated pCO₂ on the metabolism of a temperate rhodolith *Lithothamnion corallioides* grown under different temperatures. **Journal of Phycology**, v. 49, p. 746–757, 2013b.

NOISETTE, F. et al. Physiological responses of three temperate coralline algae from contrasting habitats to near future ocean acidification. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 448, p. 179–187, 2013a.

OLIVEIRA, M. D. M. **Avaliação do efeito da luz na calcificação de esqueleto do hidróide calcário *Millepora Albicornis* Linnaeus, 1758, em experimentos in vitro**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, p. 93, 2002.

ORR, J. C. et al. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. **Nature**, v. 437, p. 681–686, 2005.

- PAYRI, C. E. et al. Photoacclimation in the tropical coralline alga *Hydrolithon onkodes* (Rhodophyta, Corallinaceae) from a french polynesian reef. **Journal of Phycology**, v. 37, p. 223–234, 2001.
- PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and earth system sciences discussions**, v. 4, p. 439-473, 2007.
- PERRY, A. L. et al. Climate change and distribution shifts in marine fishes. **Science**, v. 308, p. 1912-1915, 2005.
- POGGIO, C. A. **Branqueamento das espécies de *Siderastrea* spp. das poças intermareais do recife de Guarajuba**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, p. 82, 2007.
- POGOREUTZ, C. et al. Nitrogen fixation aligns with nifH abundance and expression in two coral trophic functional groups. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1187, 2017.
- PORZIO, L.; BUIA, M. C.; HALL-SPENCER, J. M. Effects of ocean acidification on macroalgal communities. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 400, p. 278–287, 2011.
- PORZIO, L. et al. Photosynthesis and mineralogy of *Jania rubens* at low pH/high pCO₂: a future perspective. **Science of the Total Environment**, v. 628, p. 375-383, 2018.
- RAGAZZOLA, F. et al. Impact of high CO₂ on the geochemistry of the coralline algae *Lithothamnion glaciale*. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–9, 2016.
- RAVEN, J. A. et al. Algal evolution in relation to atmospheric CO₂: carboxylases, carbon-concentrating mechanisms and carbon oxidation cycles. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, p. 493-507, 2012.
- RAVEN, J. et al. **Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide**. The Royal Society. Cardiff, UK. 2005.
- RIES, J. B.; COHEN, A. L.; MCCORKLE, D. C. Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. **Geology**, v. 37, p. 1131-1134, 2009.
- ROUNDS, S. **The alkalinity calculator**. Version 2.18Tk. Disponível em: <http://oregon.usgs.gov/alk/>; último acesso: 07 de Setembro de 2019.
- SABINE, C. L. et al. The Oceanic Sink for Anthropogenic CO₂. **Science**, v. 305, p. 367–371,

2004.

SANTA-ISABEL, L. M.; LEÃO, Z. M. A. N.; PESO-AGUIAR, M. C. Polychaetes from the Guarajuba coral reefs, Bahia, Brazil. **Bulletin of Marine Science**, v. 67, p. 645–653, 2000.

SCHERNER, F. et al. Effects of ocean acidification and temperature increases on the photosynthesis of tropical reef calcified macroalgae. **PloS one**, v. 11, p. e0154844, 2016.

SCHREIBER, U. et al. Assessment of photosystem II photochemical quantum yield by chlorophyll fluorescence quenching analysis. **Functional Plant Biology**, v. 22, p. 209-220, 1995.

SEMESI, I. S.; KANGWE, J.; BJÖRK, M. Alterations in seawater pH and CO₂ affect calcification and photosynthesis in the tropical coralline alga, *Hydrolithon* sp. (Rhodophyta). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 84, p. 337–341, 2009.

SMITH, A. D.; ROTH, A. A. Effect of Carbon Dioxide Concentration on Calcification in the Red Coralline Alga *Bossiella orbigniana*. **Marine Biology**, v. 52, p. 217–225, 1979.

SMITH, S. V.; KEY, G. S. Carbon dioxide and metabolism in marine environments. **Limnology and Oceanography**, v. 20, p. 493–495, 1975.

SORDO, L. et al. High CO₂ decreases the long-term resilience of the free-living coralline algae *Phymatolithon lusitanicum*. **Ecology and Evolution**, v. 8, p. 4781–4792, 2018.

TYRRELL, T. Calcium carbonate cycling in future oceans and its influence on future climates. **Journal of Plankton Research**, v. 30, p. 141-156, 2008.

VÁSQUEZ-ELIZONDO, R. M.; ENRÍQUEZ, S. Coralline algal physiology is more adversely affected by elevated temperature than reduced pH. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–14, 2016.

VERGÉS, A. et al. The tropicalization of temperate marine ecosystems: climate-mediated changes in herbivory and community phase shifts. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 281, 2014.

VILLAS-BÔAS, A. B. et al. Experimental Effects of Sediment Burial and Light Attenuation on Two Coralline Algae of a Deep Water Rhodolith Bed in Rio de Janeiro, Brazil. **Cryptogamie, Algologie**, v. 35, p. 67–76, 2014.

WILSON, S. et al. Environmental tolerances of free-living coralline algae (maerl): implications for European marine conservation. **Biological Conservation**, v. 120, p. 279–289, 2004.

WIZEMANN, A. et al. Ocean acidification alters the calcareous microstructure of the green macro-alga *Halimeda opuntia*. **Coral Reefs**, v. 34, p. 941–954, 2015.

WU, H. Y.; ZOU, D. H.; GAO, K. S. Impacts of increased atmospheric CO₂ concentration on photosynthesis and growth of micro-and macro-algae. **Science in China, Series C Life Sciences**, v. 51, p. 1144–1150, 2008.

ZOU, D.; GAO, K.; XIA, J. Dark respiration in the light and in darkness of three marine macroalgal species grown under ambient and elevated CO₂ concentrations. **Acta Oceanologica Sinica**, v. 30, p. 106–112, 2011.

ZOU, D.; GAO, K. Effects of elevated CO₂ on the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) grown at different irradiance levels. **Phycologia**, v. 48, p. 510-517, 2009.