



**Carlos Eduardo Amancio**

---

**Precipitação de  $\text{CaCO}_3$  em algas marinhas  
calcárias e balanço de  $\text{CO}_2$  atmosférico:  
os depósitos calcários marinhos podem atuar  
como reservas planetárias de carbono?**

**São Paulo • 2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**Carlos Eduardo Amancio**

---

Precipitação de  $\text{CaCO}_3$  em algas marinhas  
calcárias e balanço de  $\text{CO}_2$  atmosférico:  
os depósitos calcários marinhos podem atuar  
como reservas planetárias de carbono?

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências, na área de Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Eurico Cabral de Oliveira

**Catálogo na publicação**  
**Serviço de Biblioteca e Documentação**  
**Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**

A 484 p	<p>Amancio, Carlos Eduardo Precipitação de CaCO<sub>3</sub> em algas marinhas calcárias e balanço de CO<sub>2</sub> atmosférico: os depósitos calcários marinhos podem atuar como reservas planetárias de carbono? / Carlos Eduardo Amancio – São Paulo: C. E. A., 2007. 76 p. : il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, 2007.</p> <p>1. Algas marinhas 2. Dióxido de carbono 3. Calcificação 4. Corallinaceae I. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica II. Título</p> <p style="text-align: right;">LC: QK570.2</p>
---------	---

Autorizada a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

## Comissão Julgadora

---

Prof(a). Dr(a).  
Instituição:

---

Prof(a). Dr(a).  
Instituição:

---

Prof. Dr. Eurico Cabral de Oliveira Filho  
Orientador

“Minha mãe me chamava de Wonko quando eu era criança, todo desajeitado, derrubando as coisas. (...) Mas o motivo pelo qual desejo ser chamado pelo meu apelido de infância é exatamente esse: me lembrar de que um cientista deve, acima de tudo, ser como uma criança. Se ele vê algo, deve dizer o que está vendo, independentemente daquilo ser o que ele imaginava ver ou não. Ver primeiro, testar depois. Mas sempre ver primeiro. Senão, você só vai ver o que você espera ver. A maioria dos cientistas se esquece disso. Mais tarde vou mostrar uma coisa a vocês para demonstrar o que estou falando. Então, o outro motivo pelo qual gosto de ser chamado de Wonko é para que as pessoas pensem que sou bobo. Isso permite dizer o que eu vejo quando eu vejo. Não dá para ser um cientista se você for ficar se preocupando se as pessoas vão ou não te achar bobo.”

Douglas Adams  
*A vida, o universo e tudo o mais*

# Agradecimentos

A ordem não quer dizer muita coisa, então começarei pelos mais formais. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que através do processo nº 2005/01170-0 financiou boa parte deste projeto. E ao Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología do México (CONACYT), que através do processo coletivo nº 146 de 2006 financiou minha participação no 2º International Rodolith Workshop.

Aos muitos amigos, de muitos anos, que apoiaram das mais diversas formas; são muitos, e eles sabem quem são.

Aos meus pais, que se preocupam que os filhos façam na vida aquilo que gostam e por os apoiarem nas muitas tentativas.

Aos professores do LAM – Estela, Flávio, Fungyi e Mariana – e ao Prof. Marcos Buckeridge, por muitos conselhos e informações. E um especial para a Mariana pela correção dos resumos e *abstracts*.

Aos “LAMigos”, por ajudas e bates-papos.

Ao Rosário, por se desdobrar em muitos para atender às necessidades de uma dúzia de projetos ao mesmo tempo e ainda ter que aguentar um indivíduo que cisma em usar equipamentos, materiais e técnicas diferentes de todo o resto do laboratório.

À Aninha e todo o pessoal do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pelo uso do espaço e dos equipamentos; e também pelas pausas para café. À Profa. Nina Coishev, pela ajuda com as equações de alcalinidade. Ao Prof. Sérgio Rosso e aos colegas do curso de Planejamento em Pesquisa Ecológica, pelas discussões que levaram à uma pequena melhoria no método de blocos randômicos.

Aos colegas de remo do Prof. Eurico, em especial ao José Campagner, pela troca de idéias em como, afinal, medir um rodolito.

À todos os participantes do 2º International Rodolith Workshop pelas trocas de idéias. E um especial ao Júlio, pelo apoio.

À Profa. Adele Harvey e ao Prof. Rafael Riosmena-Rodrigues, pelo apoio e pelos ensinamentos em identificação de rodolitos. E um especial ao Rafael e à todos do Herbario Ficológico da Universidad Autónoma de Baja California Sur, pelo acolhimento. Se dependesse deles eu ainda estaria lá.

Ao Alexandre e à Vivi, pelas trocas de idéias e técnicas e por demonstrarem que três corpos podem ocupar o mesmo equipamento de laboratório ao mesmo tempo. E ainda se darem bem uns com os outros.

Aos meus colegas professores e funcionários da Escola Estadual Oswaldo Walder, pelo apoio em abandonar um emprego estável para me dedicar integralmente à uma pós-graduação. E aos meus alunos, com pedidos de desculpa por tê-los abandonado no meio do caminho.

À Leila pelos cuidados de irmã mais velha. Ao Gui por muitas discussões de idéias. Aos dois e mais à Nat, Lucis e José, pelas muitas discussões estatísticas e metodológicas. E ao Gui e José, pelas tribulações do AlgaeArte.

E um agradecimento enorme à Bia, pelas muitas ajudas, muitos apoios e principalmente pelo seu inesgotável entusiasmo.

Mas se muitas pessoas ajudaram, há duas sem as quais este trabalho não existiria e, por isso, merecem um agradecimento especial. Depois da graduação, fiquei alguns anos afastado da Biologia, trabalhando em empresas. Tentei alguns projetos para uma pós, mas ninguém quis aceitar minhas propostas.

Por todo esse tempo e por todo o tempo deste mestrado, sempre, de todas as maneiras, fui apoiado pela Tati, minha grande companheira nesta vida. Tentar explicar meu agradecimento com palavras é bobagem. Mas tudo bem, ela sabe.

A outra pessoa é o “Mestre” Eurico. Não só por ser um ótimo orientador, mas porque ele sempre procurou dar um jeito para que eu voltasse de uma vez ao meio científico e nunca desistiu de mim. Se não fosse por ele, eu provavelmente teria voltado a fazer pesquisa, que afinal é o que eu gosto de fazer, mas teria sido muito difícil e teria demorado muito mais tempo. Também não tenho palavras suficientes para agradecê-lo, nem muito jeito para isso, mas espero que estas linhas sejam suficientes para transmitir a idéia.

E assim, com a Tati empurrando de um lado e o Eurico puxando do outro, fui caminhando até o ponto de você estar com esta dissertação em suas mãos.

Aos dois, muito obrigado.

# Sumário

Resumo Geral.....	1
General Abstract.....	2
<b>Capítulo 1 - Introdução Geral</b>	
Resumo / Abstract.....	4
Introdução.....	5
Aumento da concentração atmosférica de CO <sub>2</sub> e aquecimento global.....	5
Aquecimento global e mobilizações internacionais.....	6
Seqüestro de CO <sub>2</sub> e crédito de carbono.....	7
Balanço de CO <sub>2</sub> em ecossistemas marinhos.....	8
Formações calcárias marinhas formadas por algas.....	9
Algas calcárias como reservas de carbono.....	11
Objetivos.....	12
Referências.....	13
<b>Capítulo 2 – Crescimento de espécies de algas calcárias <i>in vitro</i></b>	
Resumo / Abstract.....	18
Introdução.....	19
Calcificação em algas marinhas.....	19
Cultivo de algas calcárias em laboratório.....	20
Estudos com coralináceas não-articuladas.....	20
Identificação taxonômica.....	21
Objetivos.....	22
Material & Métodos.....	23
Condições gerais.....	23
Estabelecimento das espécies de trabalho.....	23
Transplante e crescimento de crostas de coralináceas.....	25
Testes de condições de cultivo.....	26
Irradiância e tempo de uso de meio de cultivo.....	26
Meio de cultivo.....	26
Testes de metodologia.....	27
Calcificação.....	27
Medição de área.....	28
Perda de pigmentação.....	29
Resultados e Discussão.....	31
Estabelecimento das espécies de trabalho.....	31
Notas gerais sobre os cultivos.....	31
Comparação entre as espécies.....	31
Transplante e crescimento de crostas de coralináceas.....	33
Testes de condições de cultivo.....	33
Irradiância e tempo de uso de meio.....	33
Meio de cultivo.....	34
Testes de metodologia.....	36
Calcificação.....	36
Medição de área.....	36
Perda de pigmentação.....	36
Conclusão.....	37
Referências.....	38



### **Capítulo 3 - Efeito do aumento na concentração de CO<sub>2</sub> no crescimento de *Lithophyllum* sp**

Resumo / Abstract.....	42
Introdução.....	43
Aumento do CO <sub>2</sub> atmosférico e o sistema carbonato marinho.....	43
Acidificação da água do mar.....	43
Aumento na concentração de CO <sub>2</sub> e crescimento de algas.....	45
Objetivos.....	45
Material & Métodos.....	46
Condições gerais.....	46
Testes preliminares.....	46
Experimentos de injeção de CO <sub>2</sub> .....	47
Experimento de acidificação do meio.....	48
Resultados e Discussão.....	49
Testes preliminares.....	49
Experimentos de injeção de CO <sub>2</sub> .....	49
Experimento de acidificação do meio.....	53
Conclusão.....	55
Considerações finais.....	56
Referências.....	57

#### **Anexo**

Possíveis impactos das mudanças climáticas globais nas comunidades de organismos marinhos bentônicos.....	60
---	----

## Resumo Geral

As atividades humanas nos últimos dois séculos vêm provocando um aumento na concentração de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) atmosférico. Um dos efeitos desse aumento é um incremento na produtividade primária de algumas espécies vegetais terrestres, que dessa maneira atuam como sequestradoras de carbono. Mas o aumento na concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$  leva, em diferentes escalas de tempo, ao aumento da concentração nos outros compartimentos do sistema carbono. No caso dos oceanos, onde o  $\text{CO}_2$  é armazenado principalmente na forma de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), o aumento na sua concentração leva a uma acidificação da água do mar e a uma menor disponibilidade de íons carbonato. Nesse caso, os organismos calcificadores não serviriam como sequestradores de carbono porque o processo de calcificação produz  $\text{CO}_2$ . Porém, a maioria das medidas de balanço de  $\text{CO}_2$  em comunidades calcárias marinhas negligenciam as formações de algas calcificadoras. Nas algas calcárias o  $\text{CO}_2$  produzido pela calcificação é aproveitado pela fotossíntese. Além disso, aumentos na concentração de  $\text{CO}_2$  podem levar a aumentos na taxa de crescimento, embora essas taxas possam ser afetadas por uma queda na disponibilidade de íons carbonato. Assim, o objetivo deste trabalho é verificar se o aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  e a acidificação da água do mar por ela causada afetam o crescimento de algas calcárias. Tendo em vista a ausência de referências sobre trabalhos desse tipo com algas calcárias e considerando que as coralináceas não-articuladas, principal grupo de algas calcárias, são difíceis de trabalhar em laboratório devido às suas taxas de crescimento extremamente baixas, a primeira etapa do projeto foi dedicada a estabelecer cultivos e metodologias de trabalho. Foram analisadas algas calcárias de diversos grupos, sendo escolhidas as coralináceas não-articuladas pois sua calcificação, além de constante em relação ao crescimento, é bastante alta, o que compensa seu lento crescimento. Para os experimentos de injeção de  $\text{CO}_2$  estabeleceu-se o uso de frascos de 50 mL com 35 mL de meio artificial MCM, irradiância de  $42 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , temperatura de  $25^\circ\text{C}$  e período de incubação de uma semana. Foram estabelecidos métodos fotográficos para medição de área e de alterações na pigmentação. Estes porém não foram utilizados por serem adequados apenas para uso com algas coralináceas crescendo em manchas sobre superfícies planas, não tendo sido possível obter algas nessas condições em quantidade suficiente para os experimentos. Também estabeleceu-se o método de estimativa de área de nódulos de algas através da diferença de peso antes e após recobrimento com verniz, comparando-se com objeto de área conhecida sujeito ao mesmo tratamento. Para os experimentos de enriquecimento com  $\text{CO}_2$  foram utilizados nódulos de *Lithophyllum* sp. incubados após borbulhamento com diferentes volumes desse gás. Para isolar o efeito da acidificação foram feitas injeções de  $\text{CO}_2$  em meio com e sem adição de tampão. Também foram feitas incubações em meio acidificado com HCl de modo a verificar o efeito da acidificação independente de um aumento de  $\text{CO}_2$ . O crescimento foi estimado pela calcificação, medida através da técnica de anomalia de alcalinidade. Para os grupos experimentais em meio tamponado, a injeção de volumes progressivamente maiores de  $\text{CO}_2$  levou a um aumento na taxa de crescimento até o limite de 0,2 L. Esse limite é provavelmente devido à saturação do meio e não da alga, uma vez que o borbulhamento foi feito apenas no início do período de incubação. Nos grupos sem tamponamento, pequenos volumes de  $\text{CO}_2$  (0,06 L) provocam um aumento na taxa de calcificação. Volumes um pouco maiores (0,2 L) provocam queda na taxa de crescimento; acima desse valor ocorre a morte das algas após algumas semanas. Os resultados das injeções em meio sem adição de tampão são consistentes com os valores obtidos com a acidificação do meio sem enriquecimento com  $\text{CO}_2$ . *Lithophyllum* sp. apresenta crescimento normal em pH 8,0 a 7,5, queda na taxa de crescimento em pH 7,0 e morte em pHs abaixo de 6,5. Os resultados dos experimentos de enriquecimento com  $\text{CO}_2$ , devido às suas limitações, não são conclusivos, mas indicam *Lithophyllum* sp., e provavelmente as demais algas coralináceas, podem sequestrar carbono dentro de certos valores de pH. Devido à utilização de meio de cultura artificial rico em carbonatos, o limite obtido de pH 7,0 para crescimento deve ser maior em ambiente natural. Faz-se necessário a realização de trabalhos mais extensos, para os quais as técnicas e procedimentos descritos neste trabalho podem ser utilizados. Além disso, o pouco conhecimento das formações calcárias algais em todo o mundo dificulta estimativas do impacto dessas nas questões ligadas ao aumento de  $\text{CO}_2$  atmosférico, sendo necessário também um maior esforço no sentido de identificar e estudar essas formações.

## General Abstract

### **CaCO<sub>3</sub> precipitation in marine calcareous seaweeds and the atmospheric CO<sub>2</sub> concentration: can the marine calcareous deposits act as planetary carbon sinks?**

The human activities in the last two centuries provoked an increase in the atmospheric concentration of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>). One of the effects of this increase is an increment in the primary production of some terrestrial vegetal species that in this way act as carbon sinks. The increase in atmospheric CO<sub>2</sub> concentration also leads, in different scales of time, to an increase in the concentration of other carbon system compartments. In the oceans, where the CO<sub>2</sub> is stored mainly as calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>), the increase in its concentration leads to an acidification of the seawater and to a decrease in the availability of carbonate ions. In this case the marine calcareous organisms at principle don't act as carbon sinks because the calcification process produces CO<sub>2</sub>. However, the majority of the measures of CO<sub>2</sub> in marine communities neglect the calcareous seaweed formations. In these seaweeds the CO<sub>2</sub> produced in the calcification is used by the photosynthesis. Moreover, increases in the CO<sub>2</sub> concentration can lead to an increase in the growth rates, although these rates can be negatively affected by a decrease in the carbonate ions availability. Thus, the objective of this work is to verify if the increase in the CO<sub>2</sub> concentration and the seawater acidification affects the growth rates of marine calcareous seaweeds. In view of the absence of references on studies of this type with calcareous seaweeds, and considering that the non-articulated coralline algae, which is the main group of calcareous seaweeds, are difficult to work in laboratory due to its extremely low growth rates, the first stage of the project was dedicated to establish seaweed cultures and work methodologies. Calcareous seaweeds of diverse groups were analyzed, and the non-articulated coralline algae was chosen because its calcification presents a constant relation with growth and is high enough to compensates its slow growth. For the experiments of CO<sub>2</sub> injection was established the use of 50 mL flasks with 35 mL of MCM artificial medium, irradiance of 42  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , temperature of 25°C and one week as incubation time. Photographic method for measurement of area and alterations in pigmentation was established. However this method was not used, once it is only efficient for use with spots of coralline algae growing on plain surfaces, and it was not possible to obtain enough seaweeds in these conditions for the experiments. We also established the method for estimation of the area of seaweed nodules through the weight difference before and after covering the nodule with varnish, comparing this difference with an object of known area subject to the same treatment. For the experiments of CO<sub>2</sub> enrichment nodules of *Lithophyllum* sp. were incubated after bubbling different volumes of this gas. To isolate the acidification effect, CO<sub>2</sub> injections were made in medium with and without buffer. Incubations in medium acidified with HCl were also performed to verify the effect of acidification independent of the CO<sub>2</sub> increase. The growth was estimated by the calcification, measured through the alkalinity anomaly technique. For the buffered medium experimental groups, the injection of gradually higher volumes of CO<sub>2</sub> led to an increase in the growth rate until the limit of 0.2 L. This limit is probably due to the saturation of the medium and not of the seaweed, once the bubbling was limited to only in the beginning of the incubation period. In the groups without buffering, small volumes of CO<sub>2</sub> (0.06 L) provokes an increase in the calcification rate. Little higher volumes (0.2 L) provoke a decrease in growth rates and above this value the seaweeds begin to die after some weeks. These results values are consistent with the results of acidified medium without CO<sub>2</sub> enrichment. *Lithophyllum* sp. presents normal growth in pH 8.0 to 7.5. A decrease in growth rate occurs in pH 7.0 and death occurs in pH below 6.5. Due to its limitations, the results of CO<sub>2</sub> enrichment experiments are not conclusive, but indicate that *Lithophyllum* sp. and probably the other coralline algae can be carbon sinks under certain pH values. Due to the use of a carbonate rich artificial culture medium, the observed pH 7.0 limit for growth must be higher in natural environments. More extensive work is necessary to understand the role of these seaweeds on questions related to the atmospheric CO<sub>2</sub> increase, for which the techniques and procedures described in this work can be used. Moreover, the low knowledge of the algal calcareous formations around the world make it difficult to estimate their impact, being also necessary efforts in to identify and study these formations.

# **Capítulo 1**

---

## Introdução Geral

## Resumo

As atividades humanas após a Revolução Industrial causaram um aumento na concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$ , acompanhado por um proporcional aumento na temperatura média global. Um dos efeitos do aumento de  $\text{CO}_2$  é um incremento na produtividade primária de alguns ecossistemas terrestres, que dessa maneira atuam como reservas de carbono. Nos ambientes marinhos o  $\text{CO}_2$  é armazenado principalmente na forma de  $\text{CaCO}_3$ . Dos ecossistemas calcificadores marinhos o mais estudado são os recifes de coral, considerados de maneira geral como fontes de  $\text{CO}_2$ , mesmo que não atuem de maneira significativa no balanço atmosférico. Isso não apenas porque os recifes de coral possuem altas taxas respiratórias como também porque o processo de calcificação libera  $\text{CO}_2$ . Assim, as algas marinhas calcificadoras poderiam atuar como reservas de carbono uma vez que o  $\text{CO}_2$  produzido pela calcificação é aproveitado pela fotossíntese. Das algas marinhas calcárias, destacam-se as algas coralináceas não-articuladas, cujo talo chega a ser formado por 99% de  $\text{CaCO}_3$ . Estas algas possuem não apenas importante função na estruturação de recifes como também formam extensos bancos por todo o mundo. Porém nenhum estudo até o momento foi focado exclusivamente nas algas coralináceas como possíveis sequestradoras de carbono. Assim sendo, o objetivo deste trabalho é verificar se o aumento na concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$  influencia no crescimento e calcificação de algas calcárias, sendo necessário para isso o estabelecimento de cultivos em laboratório e metodologias próprias adequadas.

## Abstract

The human activities after the Industrial Revolution caused an increase in the atmospheric concentration of  $\text{CO}_2$ , followed by a proportional increase in the global temperature. One of the effects of the  $\text{CO}_2$  increase is an increment in the primary production of some terrestrial ecosystems that, in this way, act as carbon sinks. In marine environments the  $\text{CO}_2$  is stored mainly as  $\text{CaCO}_3$ . Most studies on calcareous marine ecosystems are focused on coral reefs, generally considered a source of  $\text{CO}_2$ , although without a significant role in the atmospheric balance. This occurs due to the high respiratory rate of coral reefs and because the calcification process produces  $\text{CO}_2$ . On the other hand, the calcareous seaweeds could act as carbon sinks, once the  $\text{CO}_2$  produced in the calcification is used in the photosynthesis. Among the calcareous seaweeds, the non-articulated coralline algae can be formed by 99% of  $\text{CaCO}_3$ . These seaweeds have an important function in the formation of reefs, as well as in the formation of extensive banks around the world. However, no studies, until this moment, were focused exclusively on coralline algae as potential carbon sink. Thus the objective of this work is to verify if the increase in the atmospheric concentration of  $\text{CO}_2$  influences the growth and calcification of calcareous seaweeds. For this objective we first established laboratory cultures and developed proper methodologies.

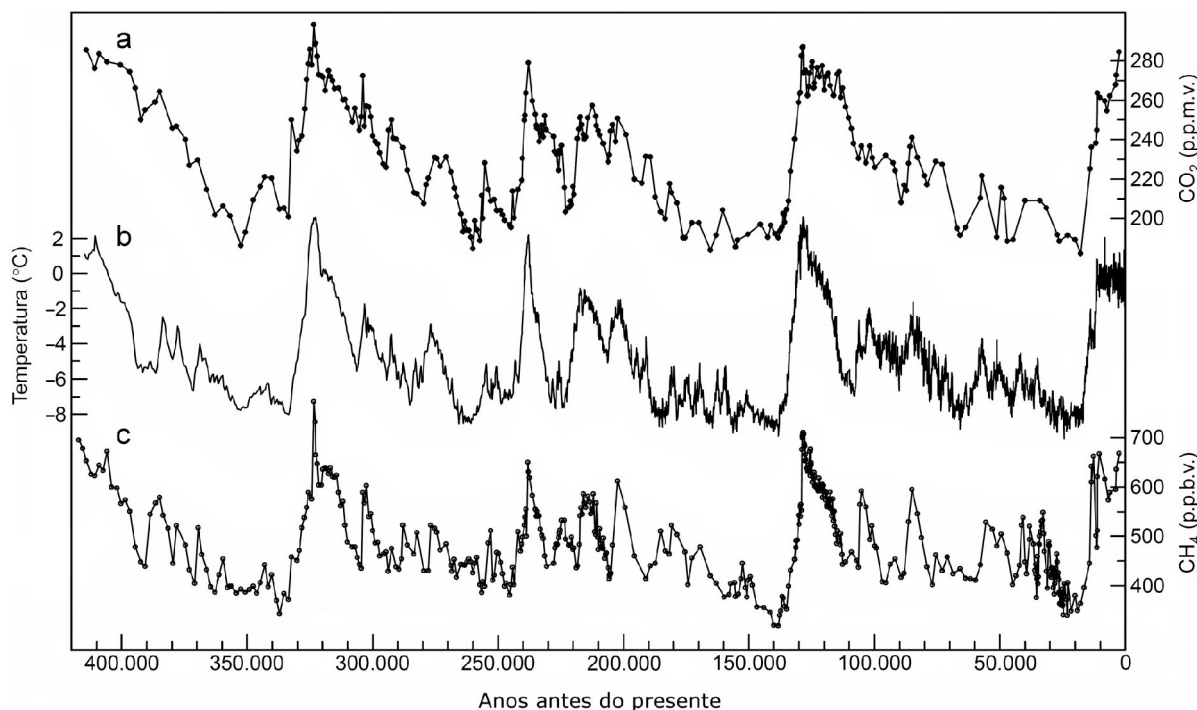
# Introdução

## Aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> e aquecimento global

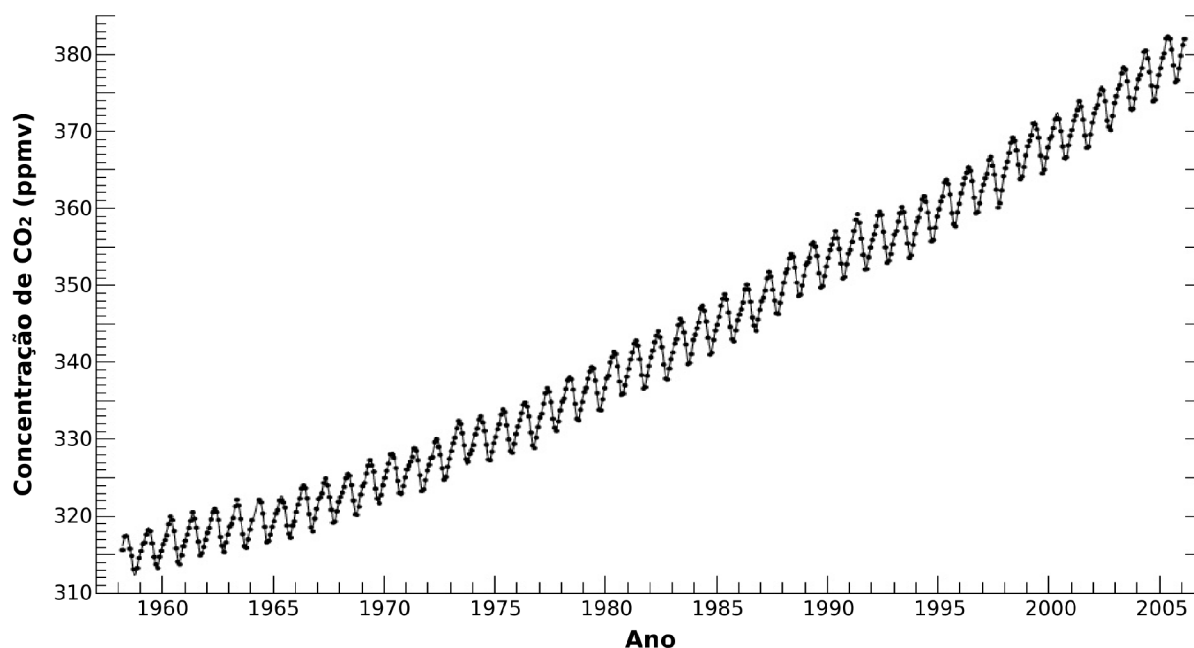
A partir da Revolução Industrial, no início do século XIX, as atividades humanas desenvolveram-se de tal maneira que suas consequências deixaram de ter impacto apenas local, passando a ter reflexos em todo o planeta. Desses impactos globais então surgidos, o com maior potencial para afetar os ecossistemas a médio e longo prazo é o aumento na concentração atmosférica de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

Esse aumento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico é acompanhado pelo aumento proporcional na temperatura média global (HANSEN *et al.*, 2005). Mesmo que não causal, essa relação foi constatada para a história geológica do planeta nos últimos quatro ciclos glaciais (figura 1.1) o que tornaria estes aumentos esperados uma vez que estamos em um período inter-glacial. Acontece, porém, que esse aumento está acima do esperado para flutuações naturais. Nos últimos 160.000 anos, até por volta do início do século XVII, a concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> nunca ultrapassou a faixa de 280 a 300 partes por milhão de volume (ppmv). Entretanto, as emissões decorrentes de atividades humanas após a Revolução Industrial levaram a um aumento muito acima dessa faixa, chegando hoje a valores na ordem de 380 ppmv (figura 1.2).

Esse aumento leva à uma amplificação do chamado efeito estufa, um dos processos que controla a temperatura no planeta. O efeito estufa é um fenômeno natural no qual certos gases na alta atmosfera absorvem parte da radiação emitida pela Terra e a emitem de volta, evitando seu resfriamento e auxiliando a manter a relativa estabilidade do clima em nosso planeta. O aumento na concentração dos chamados gases causadores de efeito



**Figura 1.1:** Variações temporais nos últimos 420.000 anos com base em análise do gelo do Lago Vostok, Antártica. **a.** Concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), em partes por milhão de volume (ppmv). **b.** Temperatura isotópica da atmosfera (variação em relação à média atual, em °C). **c.** Concentração de metano (CH<sub>4</sub>), em partes por bilhão de volume (ppbv). *Adaptado de PETIT et al. (1999).*



**Figura 1.2:** Variação na concentração de dióxido de carbono atmosférico (em partes por milhão de volume) de 1958 a 2006. Dados do Observatório Mauna Loa, Programa Scripps (Pieters Tans, NOAA/ESRL – [www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends](http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends)).

estufa – dentre os quais o  $\text{CO}_2$ , seguido do gás metano ( $\text{CH}_4$ ), são os mais significativos – causa uma maior retenção de calor pelo sistema terrestre, aumentando a temperatura média atmosférica e oceânica e provocando, assim, alterações nos padrões de circulação das correntes e no clima global.

## Aquecimento global e mobilizações internacionais

Embora o grande aumento da concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$  após a Revolução Industrial e sua relação direta com o aumento global da temperatura não tenha sido, a princípio, aceita como um consenso, a constatação das alterações no clima global e seu impacto nos mais diversos aspectos da vida humana levaram à mobilização de instituições internacionais para seu estudo.

A primeira iniciativa nesse sentido foi o estabelecimento do *World Climate Programme* (WCP) e seu componente de pesquisa, o *World Climate Research Programme* (WCRP), organizados em 1979 pela *World Meteorological Organization* (WMO).

Como resultado de uma conferência da WMO em parceria com o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP – *United Nations Environment Programme*) foi estabelecido em 1988 o *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), com a finalidade de estudar essas alterações climáticas a nível mundial, avaliar os impactos ambientais e sócio-econômicos dessas alterações e elaborar estratégias apropriadas para responder a esses impactos.

Com enfoque em aspectos mais abrangentes do que o clima, foi estabelecido o *International Geosphere-Biosphere Programme* (IGBP), em parceria com o WCRP, pelo *International Council of Scientific Unions* (ICSU) com o intuito de estudar as interações entre os processos físicos, químicos e biológicos que regulam o sistema planetário terrestre, e a maneira pela qual são influenciadas pelas atividades humanas.

Na Conferência Mundial de Meio Ambiente (Eco92), realizada no Rio de Janeiro em 1992, as alterações globais e seus impactos foram reconhecidos e ganharam visibilidade. Seu segundo relatório de avaliação conclui que há uma influência humana significativa sobre o clima do planeta (IPCC, 1995). Desde então, alterações desse tipo vêm sendo reportadas ao longo dos últimos anos e estudos recentes indicam que a probabilidade dessas alterações serem consequência de variabilidade natural é muito pequena (OBASI, 1997).

Com a confirmação de que as ações humanas possuem impacto significativo no clima mundial, foi estabelecido em 1997 o Tratado da ONU sobre Mudanças Climáticas, mais conhecido como Protocolo de Kyoto, o qual, apesar de sua reconhecida importância, recebeu fortes críticas. A Cúpula Mundial sobre Desenvolvimento Sustentável (Rio+10), organizada pela ONU em 2002, em Johannesburgo, fracassou na elaboração de uma agenda socioambiental, mas a pressão pela ratificação do Protocolo de Kyoto pelos países desenvolvidos, entre outras medidas, tomou corpo. Apesar disso, o Protocolo de Kyoto só entrou em vigor em fevereiro de 2005. Mas com a demora, as metas estabelecidas sete anos antes já se mostram insuficientes.

## Seqüestro de CO<sub>2</sub> e crédito de carbono

As alterações globais afetam o funcionamento dos ecossistemas terrestres de diversas maneiras. Entre os diversos efeitos observados, constatou-se um aumento geral na produtividade primária como um todo, embora cada ecossistema responda de maneira variada. Dessa forma, as grandes formações vegetais funcionariam como reservas de carbono, auxiliando no balanço de CO<sub>2</sub> atmosférico (IGBP, 1997; NORBY *et al.*, 2001).

Em vista da dificuldade dos países desenvolvidos em alcançarem as metas de redução na emissão de CO<sub>2</sub> e considerando que os países com maiores reservas florestais são, de maneira geral, aqueles em desenvolvimento e com menores emissões, criou-se o conceito de crédito carbono o qual funciona como uma moeda para comercialização entre países.

SCHIMEL (1995) estima que cerca de 2,1 bilhões de toneladas de carbono por ano sejam absorvidos por esses ecossistemas, através do efeito combinado de reflorestamentos, fertilização com dióxido de carbono e deposição de nitrogênio (tabela

**Tabela 1.1:** Balanço anual médio de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para o período de 1980 a 1989. Fluxo médio anual, expresso em bilhões de toneladas de carbono por ano (Gt·C·ano<sup>-1</sup>). O total dos fluxos de reflorestamento, fertilização e deposição de nitrato deve ser visto com ressalvas, uma vez que parte dele acaba reciclado para a atmosfera. *Dados do IPCC (1994) complementados com estimativas de SCHIMEL (1995); adaptado de IGBP (1997).*

Fontes de CO <sub>2</sub>	Gt·C·ano <sup>-1</sup>
Queima de combustíveis e produção de cimento	5,5 ± 0,5
Alterações no uso do solo	1,6 ± 1,0
Reservas de CO <sub>2</sub>	
Atmosfera	3,2 ± 0,2
Oceanos	2,0 ± 0,8
Reflorestamento, fertilização com CO <sub>2</sub> e deposição de nitrato (N)	2,1 ± 0,5

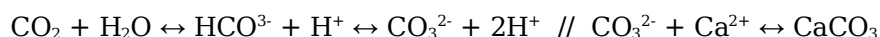


1.1). Entretanto, parte desse carbono acaba retornando à atmosfera pelo próprio uso do solo e da madeira reflorestada, constituindo-se mais em uma reciclagem do que uma reserva. Além disso, não há evidências concretas de que a vegetação em escala mundial esteja retendo CO<sub>2</sub> mais do que este é emitido (KERR, 1995), bem como muitas das estimativas de sequestro de carbono feitas com experimentos de enriquecimento de CO<sub>2</sub> em comunidades vegetais podem estar superestimadas (NICKLAUS *et al.*, 2000).

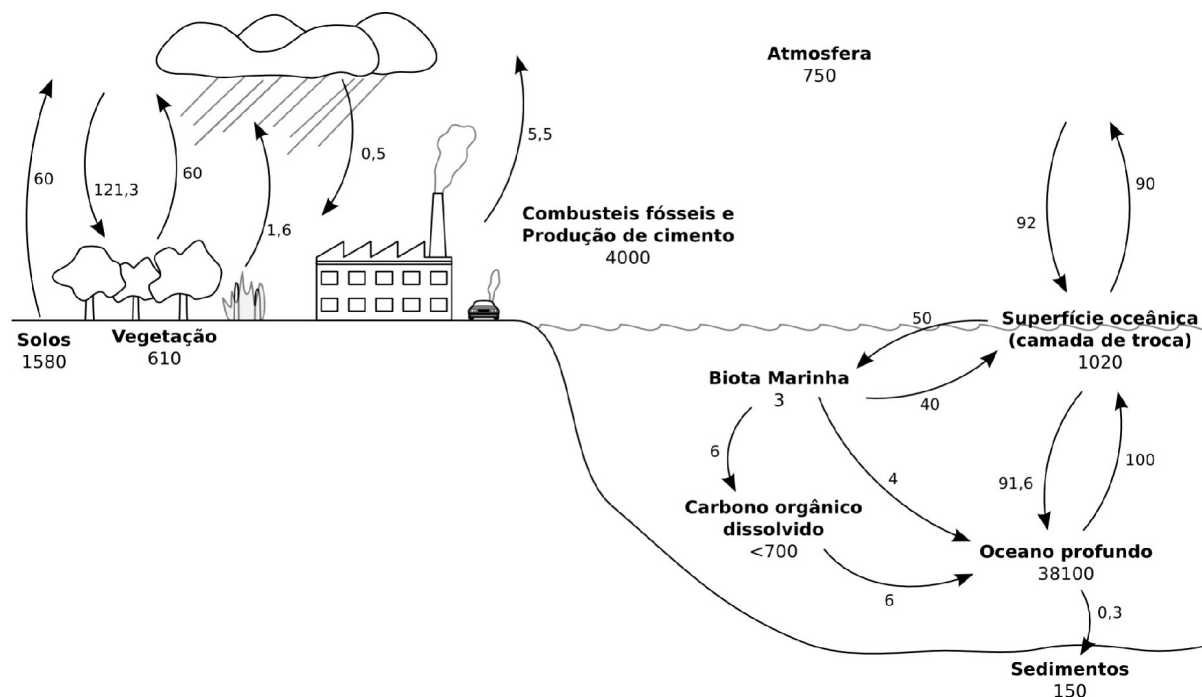
## Balço de CO<sub>2</sub> em ecossistemas marinhos

O sistema carbono planetário, como todo ciclo biogeoquímico, é um sistema complexo, formado por diferentes compartimentos (figura 1.3), e um aumento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> causa alterações em todo o sistema, apesar de cada compartimento ter um tempo de resposta diferente.

Embora os oceanos sejam o maior reservatório de carbono do planeta, os ecossistemas marinhos são menos estudados como sequestradores de CO<sub>2</sub>, apesar de constituírem uma fonte de produção primária de grande importância. Nestes ecossistemas o carbono é retido não só como matéria orgânica mas também na forma de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>). O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) dissolvido combina com água gerando íons bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e íons carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). O íon carbonato reage com íons de cálcio (Ca<sup>2+</sup>), precipitando na forma de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>):



Dentre os ecossistemas marinhos, o mais estudado quanto aos fluxos de gases são os recifes de coral. Como a calcificação utilizando o bicarbonato, que é abundante na água do mar, acaba liberando parte do dióxido de carbono convertido em íons (2HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> + Ca<sup>2+</sup> ↔



**Figura 1.3:** Esquema do ciclo global do carbono. Estimativa dos fluxos e reservas totais com base em dados do *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA). Reservas em gigatoneladas (Gt) de carbono; fluxos em gigatoneladas por ano (Gt·ano<sup>-1</sup>). Adaptado de *NASA Earth Science Enterprise - eobglossary.gsfc.nasa.gov/Library/CarbonCycle*.

$\text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ), alguns autores concluíram que os recifes fornecem  $\text{CO}_2$  para a atmosfera, ao invés de retê-lo (WARE *et al.*, 1996). Contribui para isso também o fato dos recifes de corais possuírem alta taxa respiratória.

Apesar dos vários estudos feitos em recifes, não há um consenso quanto à relação dos recifes e o balanço de  $\text{CO}_2$  atmosférico. Diversos trabalhos medindo produção primária e fluxos de gases em recifes apontam para o fato de que estes funcionam como fontes de dióxido de carbono (p.e. FRANKIGNOULLE *et al.*, 1994; FRANKIGNOULLE *et al.*, 1996; GATTUSO *et al.*, 1993; GATTUSO *et al.*, 1996; SMITH, 1995; SMITH & PESRET, 1974), enquanto outros apontam para evidências em contrário, demonstrando um balanço negativo de  $\text{CO}_2$  (p.e. BARNES & LAZAR, 1993; KAYANNE *et al.* 1995; KINSEY, 1979; PICHON & MORRISSEY, 1985; SMITH, 1973; SMITH & MARSH, 1973).

De maneira geral, mesmo considerando que recifes de corais “típicos” sejam fontes de  $\text{CO}_2$ , o status do sistema completo de recifes é incerto (GATTUSO *et al.*, 1995). Isso pode ser reflexo do perfil dos trabalhos realizados, uma vez que a maior parte deles é baseado em medições pontuais ou de curto prazo, sendo os resultados extrapolados para fenômenos mais globais. Além disso, tratam-se de medições em campo aberto, e, portanto, sujeitas à influência de fluxos vindos do entorno, externos ao ecossistema em análise.

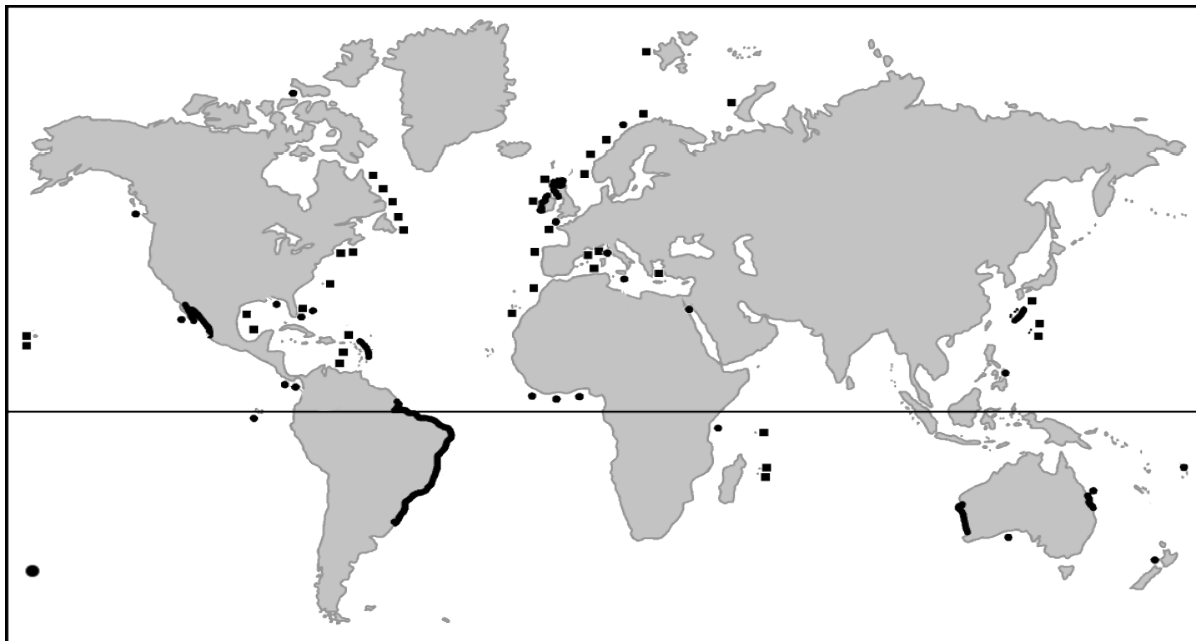
GATTUSO *et al.* (1997) demonstraram que alterações na composição da comunidade e metabolismo devido a perturbações humanas podem fazer um recife passar de fonte a reserva de  $\text{CO}_2$ . Dessa maneira, medidas de curto prazo de fluxo de  $\text{CO}_2$  acabam sendo reflexos de um estado momentâneo do sistema dinâmico, não implicando na caracterização de um recife como fonte ou reserva. Um mesmo sistema recifal pode, em diferentes períodos e condições, ter balanços de  $\text{CO}_2$  ora positivos, ora negativos.

FRANKIGNOULLE *et al.* (1996) ponderam que mesmo se considerados como fontes de dióxido de carbono, a produção líquida nos recifes é pequena, e como a troca de  $\text{CO}_2$  na interface ar-água é um processo lento, contribuem muito pouco para o equilíbrio atmosférico.

Entretanto, mesmo com pouca ou nenhuma expressão no balanço dinâmico das pressões atmosféricas, esse diferencial, mesmo que pequeno, pode ser significativo ao longo do tempo geológico. Por essa perspectiva de longo prazo, os recifes podem ter tido um papel importante na regulação da pressão atmosférica de  $\text{CO}_2$  na transição entre os períodos glacial e interglacial (BERGER, 1982; OPDYKE & WALKER, 1992).

## Formações calcárias marinhas formadas por algas

As algas marinhas calcárias são fundamentais como formadoras e cimentadoras de recifes (BJÖRK *et al.*, 1995; LITTLER & LITTLER, 1995), ao ponto de alguns autores denominarem essas formações como “recifes de algas” (GOREAU, 1963; HILLIS-COLINVAUX, 1986), com coberturas que chegam de 20 a 39% da superfície de alguns recifes (FABRICIUS & DE'ATH 2001; IRYU & MATSUDA, 1988; LITTLER, 1973). Nesse ponto, destacam-se as coralináceas não-articuladas. Estas algas também são importantes na formação de sedimentos calcários, chegando a ser responsáveis por um terço da formação de biosedimento (HALFAR *et al.*, 2000). No caso da formação de sedimentos calcários, destaca-se também o gênero *Halimeda* (Chlorophyta, Halimedaceae). Além disso, fragmentos de coralináceas não-articuladas de vida livre (rodolitos) podem acumular-se por grandes



**Figura 1.4:** Distribuição das formações calcárias compostas por algas coralináceas (bancos de rodolitos) no mundo com base em informação disponível em literatura. Retirado de FOSTER (2001).

extensões de fundos arenosos, formando bancos.

Esses bancos formados pela deposição e crescimento de rodolitos possibilitam um substrato consolidado e uma estrutura tridimensional complexa, sendo pontos de alta biodiversidade em locais em que o substrato geológico não o permitiria. Existem também indícios de que coralináceas produzem indutores para o povoamento de crustáceos marinhos (MORSE & MORSE, 1991; 1996) e corais (HARRINGTON *et al.*, 2004; SLATTERY *et al.*, 1999).

Os bancos de rodolitos ocorrem em todo o mundo (figura 1.4), em substratos consolidados ou não-consolidados, desde águas rasas até profundidades de 270 m (STENECK, 1986), sendo os organismos fotossintetizantes macroscópicos a ocorrerem em maior profundidade (LITTLER *et al.* 1985). Entretanto, são menos reconhecidos como um ecossistema próprio do que outras formações calcárias marinhas, tal como os recifes de corais. Esse fato, aliado à ocorrência em profundidades superiores aos dos recifes faz com que a ocorrência de bancos de rodolitos no mundo seja pouco reportada. Isso faz com que novos bancos sejam detectados mesmo em locais bastante estudados (KONAR *et al.*, 2006).

Algas calcárias chegam a possuir 95% de sua massa seca constituída por  $\text{CaCO}_3$  (BLUNDEN *et al.*, 1997), fazendo com que essas algas sejam utilizadas em todo o mundo como fertilizantes e corretores de solo. Mesmo considerando que as espécies com maior grau de calcificação possuem um crescimento lento, a longevidade (RIVERA *et al.*, 2004) e extensão dessas formações as tornam um recurso natural importante. Por outro lado, a exploração desses recursos possui um componente ambiental sensível e é alvo constante de grandes polêmicas devido aos danos ambientais que podem causar (WILSON *et al.*, 2004).

Estimativas dos depósitos calcários formados por algas na plataforma continental brasileira (MILLIMAN & AMARAL, 1974) chegam a  $2 \times 10^{11}$  toneladas de sedimentos, dos quais mais de 75% correspondem a  $\text{CaCO}_3$ . Essa valor é mais de 50 vezes o estimado para a reserva terrestre brasileira e corresponde ao maior depósito marinho mundial, embora esse valor esteja provavelmente superestimado, devido à irregularidade das formações

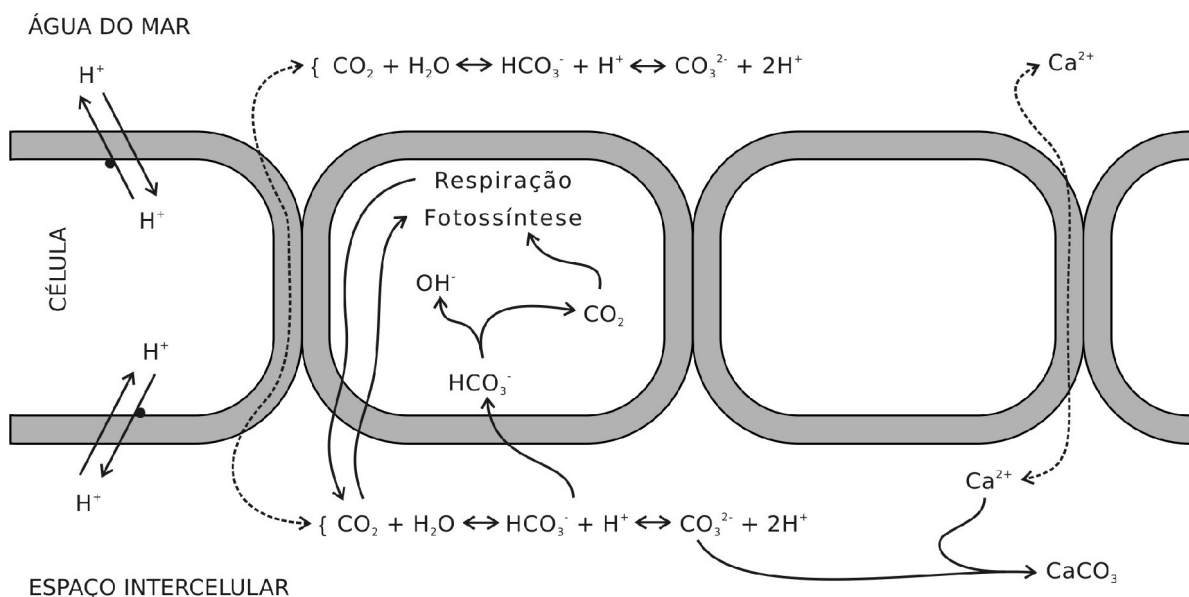
calcárias ao longo da costa do país (BERCHEZ<sup>1</sup>, *com pes.*). Deve-se considerar, por outro lado, que a maior parte dos bancos de rodolitos brasileiros permanecem desconhecidos ou não reportados, principalmente aqueles que ocorrem em maiores profundidades (AMADO FILHO<sup>2</sup>, *com pes.*).

## Algas calcárias como reservas de carbono

OLIVEIRA (1989) foi o primeiro autor a chamar atenção para o possível papel das algas calcárias como reserva global de carbono. Embora a situação dos recifes seja controversa, constata-se que aqueles recifes que possuem um balanço negativo de CO<sub>2</sub>, e que poderiam assim funcionar como reservas de carbono, são os que apresentam alta produtividade primária, com dominância de algas. Essa maior dominância de algas muitas vezes é decorrência do impacto de atividades antrópicas, como despejo de esgotos e aumento de sedimentação, embora possa estar relacionada com fenômenos naturais esporádicos, como a ocorrência do El Niño, no Oceano Pacífico (EAKIN, 1996).

Os aspectos morfológicos e fisiológicos da calcificação em algas marinhas foram revisados por BOROWITZKA (1987, 1989), JOHANSEN (1981), PENTECOST (1985) e SIMKISS & WILBUR (1989). Com as algas, o CO<sub>2</sub> proveniente da precipitação de carbonato e da respiração é utilizado na fotossíntese (figura 1.5), favorecendo um maior equilíbrio no fluxo de gases. Dessa maneira, os extensos depósitos de algas calcárias possuem um grande potencial como reservas de carbono, embora pouca atenção tenha sido dada a estas formações nos estudos de balanço de CO<sub>2</sub> e ciclo de carbono (OLIVEIRA, 1996).

SMALL & ADEY (2001) apontam que a maioria dos estudos em recifes não leva em consideração a comunidade de algas livres que ocupam mais da metade de sua superfície. Essas algas apresentam alta produtividade e utilizam o CO<sub>2</sub> produzido pelos corais e outros animais calcificadores do recife. Os autores também demonstram a importância do uso de um ambiente controlado em laboratório para a obtenção de resultados precisos.



**Figura 1.5:** Modelo de calcificação no gênero *Halimeda* (Chlorophyta). Os pontos pretos na plasmalema indicam possível transporte ativo. Outros gêneros de algas calcificadoras seguem o basicamente o mesmo modelo, variando apenas o compartimento celular no qual o carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) é depositado. Adaptado de BOROWITZKA (1977), apud LOBBAN & HARRISON (1994).

## Objetivos

- Estabelecer um cultivo estável de algas calcárias em laboratório.
- Verificar possíveis influências do aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico no crescimento e calcificação de algas marinhas calcárias.
- Estabelecer metodologias de trabalho adequadas aos objetivos acima propostos.

## Referências

- BARNES, D.J. & LAZAR, B.** 1993. Metabolic performance of a shallow reef patch near Eilat on the Red Sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 174: 1-13.
- BERGER, W.H.** 1982. Increase of carbon dioxide in the atmosphere during deglaciation: the coral reef hypothesis. *Naturwissenschaften* 69: 87-88.
- BJÖRK, M., MOHAMMED, S.M., BJÖRKLUND, M. & SEMESI, A.** 1995. Coralline algae: important coral-reef builders threatened by pollution. *Ambio* 24: 502-505.
- BLUNDEN, G., CAMPBELL, S.A., SMITH, J.R., GUIRY, M.D., HESSION, C.C. & GRIFFIN, R.L.** 1997. Chemical and physical characterization of calcified red algal deposits known as maërl. *J. Appl. Phycol.* 9: 11-17.
- BOROWITZKA, M.A.** 1987. Calcification in algae: mechanisms and the role of metabolism. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 6: 1-45.
- BOROWITZKA, M.A.** 1989. Carbonate calcification in algae: initiation and control. *In:* Mann, S., Webb, J. & Williams, R.J.P. (eds.). *Biomineralization – chemical and biochemical perspectives. Weinheim, Germany: VCH Publications.* pp. 63-94.
- EAKIN, C.M.** 1996. Where have all the carbonate gone? A model comparison of calcium carbonate budgets before and after the 1982-1983 El Niño at Uva Island in the eastern Pacific. *Coral Reefs* 15: 109-119.
- FABRICIUS, K. & DE'ATH, G.** 2001. Environmental factors associated with the spatial distribution of crustose coralline algae on the Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 19: 303-309.
- FOSTER, M.S.** 2001. Rhodoliths: between rocks and soft places. *J. Phycol.* 37: 659-667.
- FRANKIGNOULLE, M., CANON, C. & GATTUSO, J.-P.** 1994. Marine calcification as a source of carbon dioxide: positive feedback of increasing atmospheric CO<sub>2</sub>. *Limnol. Oceanogr.* 39: 458-462
- FRANKIGNOULLE, M., GATTUSO, J.-P., BIONDO, R., BOURGE, I., COPIN-MONTÉGUT, G. & PICHON, M.** 1996. Carbon fluxes in coral reefs: 2. Eulerian study of inorganic carbon dynamics and measurement of air-sea CO<sub>2</sub> exchanges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 145: 123-132.
- GATTUSO, J.-P., FRANKIGNOULLE, M., SMITH, S.V., WARE, J.R. & WOLLAST, R.** 1996. Coral reefs and carbon dioxide. *Science* 271: 1298.
- GATTUSO, J.-P., PAYRI, C.E., PICHON, M., DELESALLE, B. & FRANKIGNOULLE, M.** 1997. Primary production, calcification and air-sea CO<sub>2</sub> fluxes of a macroalgal-dominated coral reef community (Moorea, French Polynesia). *J. Phycol.* 33: 729-738.
- GATTUSO, J.-P., PICHON, M., DELESALLE, B., CANON, C. & FRANKIGNOULLE, M.** 1996. Carbon fluxes in coral reefs: 1. Lagrangian measurement of community metabolism and resulting air-sea CO<sub>2</sub> disequilibrium. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 145: 109-121.
- GATTUSO, J.-P., PICHON, M., DELESALLE, B. & FRANKIGNOULLE, M.** 1993. Community metabolism and air-sea CO<sub>2</sub> fluxes in a coral reef ecosystem (Moorea, French Polynesia). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 96: 259-267.

- GATTUSO, J.P., PICHON, M. & FRANKIGNOUILLE, M.** 1995. Biological control of air-sea CO<sub>2</sub> fluxes: effect of photosynthetic and calcifying marine organisms and ecosystems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 129: 307-312.
- GOREAU, T.F.** 1963. Calcium carbonate deposition by coralline algae and corals in relation to their roles as reef-builders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 109: 127-167.
- HALFAR, J., GODINEZ-ORTA, L. & INGLE, J.C.** 2000. Microfacies analysis of recent carbonate environment in the Southern Gulf of California, México – a model for warm-temperate to subtropical carbonate formation. *Palaios* 15: 323-342.
- HANSEN, J.E., NAZARENKO, L., RUEDY, R., SATO, M., WILLIS, J., GENIO, A.D., KOCH, D., LACIS, A., LO, K., MENON, S., NOVAKOV, T., PERLWITZ, J., RUSSELL, G., SCHMIDT, G.A. & TAUSNEV, N.** 2005. Earth's energy imbalance: confirmation and implications. *Science Express* 11102521 (28 April 2005).
- HARRINGTON, L., FABRICIUS, K.; DE'ATH, G. & NEGRI, A.** 2004. Recognition and selection of settlement substrata determine post-settlement survival in corals. *Ecology* 85: 3428-3437.
- HILLIS-COLINVAUX, L.** 1986. Deep water populations of *Halimeda* in the economy of an atoll. *Bulletin of Marine Science* 38: 155-169.
- IGBP - INTERNATIONAL GEOSPHERE-BIOSPHERE PROGRAMME,** 1997. The terrestrial biosphere and global change: implications for natural and managed ecosystems. *IGBP Science* 1: 1-33.
- IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE,** 1994. Climate change 1994: radiative forcing of climate change and an evaluation of the IPCC IS92 emission scenarios. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 339p.
- IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE,** 1995. Climate change 1995: the science of climate change – Second assesment report. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 572p.
- IRYU, Y. & MATSUDA, S.** 1988. Depth distribution, abundance and species assemblages of nonarticulated coralline algae in the Ryukyu Islands, Southwestern Japan. *Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium, Australia* 3: 101-106.
- JOHANSEN, H.W.** 1981. Coralline algae: a first synthesis. Boca Raton, FL: CRC Press. 233p.
- KAYANNE, H., SUZUKI, A. & SAITO, H.** 1995. Diurnal changes in the partial pressure of carbon dioxide in coral reef water. *Science* 269: 214.
- KERR, R.A.** 1995. Fugitive carbon dioxide: it's not hiding in the ocean. *Science* 256: 35.
- KINSEY, D.W.** 1979. Carbon turnover and accumulation by coral reefs. *Tese: Universidade do Hawaii, Honolulu, Hawaii.* 260p.
- KONAR, B., RIOSMENA-RODRIGUEZ, R. & IKEN, K.** 2006. Rhodolith bed: a newly discovered habitat in the North Pacific Ocean. *Botanica Marina* 49: 355-359.
- LITTLER, M.M.** 1973. The population and community structure of Hawaiian fringing-reef crustose corallinaceae (Rhodophyta, Cryptonemiales). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 11: 103-120.
- LITTLER, M.M. & LITTLER, D.S.** 1995. Impact of CLOD pathogen on Pacific coral reefs. *Science*

267: 1356–1360.

- LITTLER, M.M., LITTLER, D.S., BLAIR, S.M. & NORRIS, J.N. 1985. Deepest known plant life discovered on an uncharted seamount. *Science* 227: 57–59.
- MILLIMAN, J.D. & AMARAL, C.A.B. 1974. Economic potential of brazilian continental margin sediments. *Anais do XXVIII Congresso Brasileiro de Geologia*: 335-344.
- MORSE, A.N.C. & MORSE, D.E. 1991. Enzymatic characterization of the morphogen recognized by *Agaricia humilis* (Scleractinian coral) larvae. *Biological Bulletin* 181: 104–122.
- MORSE, A.N.C. & MORSE, D.E. 1996. Flypapers for coral and other planktonic larvae. *BioScience* 46: 254–262.
- NIKLAUS, P.A., STOCKER, R., KÖRNER, C.H. & LEADLEY, P.W. 2000. CO<sub>2</sub> flux estimates tend to overestimate ecosystem C sequestration at elevated CO<sub>2</sub>. *Functional Ecology* 14: 546–559.
- NORBY, R.J., KOBAYASHI, K. & KIMBALL, B.A. 2001. Rising CO<sub>2</sub>: future ecosystems. *New Phytologist* 150: 215-221.
- OBASI, G.O.P. 1997. Some scientific issues related to climate change. *Lecture presented to the 6th General Conference of the Third World Academy of Sciences (Rio de Janeiro, Brazil, 9 september 1997)*.
- OLIVEIRA, E.C. 1989. The exploitation of calcareous algae in Brazil: economic potential and consequences. *Abstracts of XIII Internacional Seaweed Symposium, Vancouver, Canada. pp A60*.
- OLIVEIRA, E.C. 1996. Is there a relation among the global warming, the missing carbon and the calcareous algae? *An. Acad. Bras. Ci.* 68: 17-21.
- OPDYKE, B.N. & WALKER, J.C.G. 1992. Return of the coral reef hypothesis: basin to shelf partitioning of CaCO<sub>3</sub> and its effect on atmospheric CO<sub>2</sub>. *Geology* 20: 733-736.
- PENTECOST, A. 1985. Photosynthetic plants as intermediary agents between environmental HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and carbonate deposition. In: Lucas, W.J. & Berry, J.A. (eds.) Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms. *Bethesda, Md: American Society of Plant Physiologists, pp. 459-480*.
- PETIT, J.R., JOUZEL, J., RAYNAUD, D., BARKOV, N.I., BARNOLA, J.-M., BASILE, I., BENDER, M., CHAPPELLAZ, J., DAVIS, M., DELAYGUE, G., DELMOTTE, M., KOTLYAKOV, V.M., LEGRAND, M., LIPENKOV, V.Y., LORIUS, C., PE'PIN, L., RITZ, C., SALTZMANK, E. & STIEVENARD, M. 1999. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature* 399: 429-436.
- PICHON, M. & MORRISSEY, J. 1985. Premières mesures de bilan métabolique dans l'écosystème récifal de Tulear (Madagascar). *C. R. Séances Acad. Ci. Ser. III Sci. Vie* 300: 99-101.
- RIVERA, M.G., RIOSMENA-RODRÍGUEZ, R. & FOSTER, M.S. 2004. Edad y crecimiento de *Lithothamnion muelleri* (Corallinales, Rhodophyta) en el suroeste del Golfo de California, México. *Ciencias Marinas* 30: 253-249.
- SCHIMMEL, D.S. 1995. Terrestrial ecosystems and the carbon cycle. *Global Changes Biology* 1: 77-91.



- SIMKISS, K & WILBURN, K.M.** 1989. Biomineralization: cell biology and mineral deposition. *Orlando, USA: Academic Press.*
- SLATTERY, M., HINES, G.A., STARMER, J. & PAUL, V.J.** 1999. Chemical signals in gametogenesis, spawning and larval settlement and defense of the soft coral *Sinularia polydactyla*. *Coral Reefs 18: 75-84.*
- SMALL, A.M. & ADEY, W.H.** 2001. Reef corals, zooxanthellae and free-living algae: a microcosm study that demonstrates synergy between calcification and primary production. *Ecological Engineering 16: 443-457.*
- SMITH, S.V.** 1973. Carbon dioxide dynamics: a record of organic carbon production, respiration and calcification in the Eniwetok reef flat community. *Limnol. Oceanogr. 18: 106-120.*
- SMITH, S.V.** 1995. Reflections on the measurement and significance of carbon metabolism on coral reefs. *Lawrence, Kansas: Kansas Geological Survey Open-File Report 95-96a. 18pp.*
- SMITH, S.V. & MARSH, J.A.** 1973. Organic carbon production on the windward reef flat of Eniwetok atoll. *Limnol. Oceanogr. 18: 953-961.*
- SMITH, S.V. & PESRET, F.** 1974. Processes of carbon dioxide flux in the Fanning Island lagoon. *Pac. Sci. 28: 225-245.*
- STENECK, R.S.** 1986. The ecology of coralline algal crusts: convergent patterns and adaptative strategies. *Ann. Rev. Ecol. Syst. 17: 273-303.*
- WARE, J.R., SMITH, S.V. & REAKA-KUDLA, M.L.** 1992. Coral reefs: sources of atmospheric CO<sub>2</sub>? *Coral Reefs 11: 127-130.*
- WILSON, S., BLAKE, C., BERGES, J.A. & MAGGS, C.A.** 2004. Environmental tolerances of free-living coralline algae (maerl): implications for European marine conservation. *Biological Conservation 120: 283-293.*

## **Capítulo 2**

---

# Crescimento de espécies de algas calcárias *in vitro*: testes de cultivo e de metodologias

## Resumo

As algas coralináceas (Rhodophyta, Corallinaceae), em especial as não-articuladas, são as principais algas marinhas calcificadoras. Devido à alta calcificação, possuem baixas taxas de crescimento e são difíceis de serem manipuladas e mantidas em laboratório, sendo também o grupo de algas menos estudado. Em função disso, além do estabelecimento dos melhores parâmetros de cultivo dessas algas em laboratório, testou-se a utilização de diferentes abordagens metodológicas para definir os procedimentos dos experimentos de crescimento em função de aumento de CO<sub>2</sub>. Foram também analisadas outras algas calcárias, não coralináceas, como possíveis alternativas para os experimentos. Verificou-se que as taxas de crescimento das algas coralináceas não-articuladas é compensado pelo seu alto grau de calcificação, além da calcificação nessas algas ser bastante constante em relação ao crescimento, sendo esse grupo o escolhido como grupo experimental. Como condições de cultivo estabeleceu-se o uso de meio artificial MSM, de irradiância de 42  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e temperatura de 25°C. Para as incubações com CO<sub>2</sub>, definiu-se o uso de tubos Falcon de 50 mL com 35 mL de meio e período de incubação de uma semana. Para medição de área estabeleceu-se o método de diferença de peso antes e após recobrimento com verniz, comparando-se com objeto de área conhecida sujeito ao mesmo tratamento. Métodos fotográficos foram testados para estimativa de área e de perda de pigmentação. Estes métodos mostraram-se adequados apenas para uso com manchas de algas coralináceas crescendo sobre superfícies planas.

## Abstract

The coralline algae (Rhodophyta, Corallinaceae), specially the non-articulated ones, are the main calcareous seaweeds. Due to their high calcification they have low growth rates and are difficult to be manipulated and kept in laboratory. Due to these difficulties, they are also the less studied seaweed group. Considering this, we established optimal *in vitro* culture parameters for these seaweeds in laboratory. We also tested the use of different methodological approaches to define the protocol for the experiments of growth in function of CO<sub>2</sub> increase. Non-coralline calcareous seaweeds were also analyzed as possible alternatives for the experiments. It was verified that the growth rates of the non-articulated coralline algae are compensated by its high degree of calcification. This group was also chosen by this constant calcification rate in relation to the growth rate. For the culture conditions we established the use of MCM artificial medium, irradiance of 42  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  and temperature of 25°C. For the incubations with CO<sub>2</sub> we defined the use of Falcon flasks of 50 mL with 35 mL of medium and one week for incubation. For area calculation we established the method of measurement of the weight difference before and after covering the nodule with varnish, comparing the measurements from the nodule with an object of known area subjected to the same treatment. Photographic methods had been tested for estimations of area and pigmentation loss. These methods had revealed to be adequate only for the use with coralline algae growing as spots on flat surfaces.

## Introdução

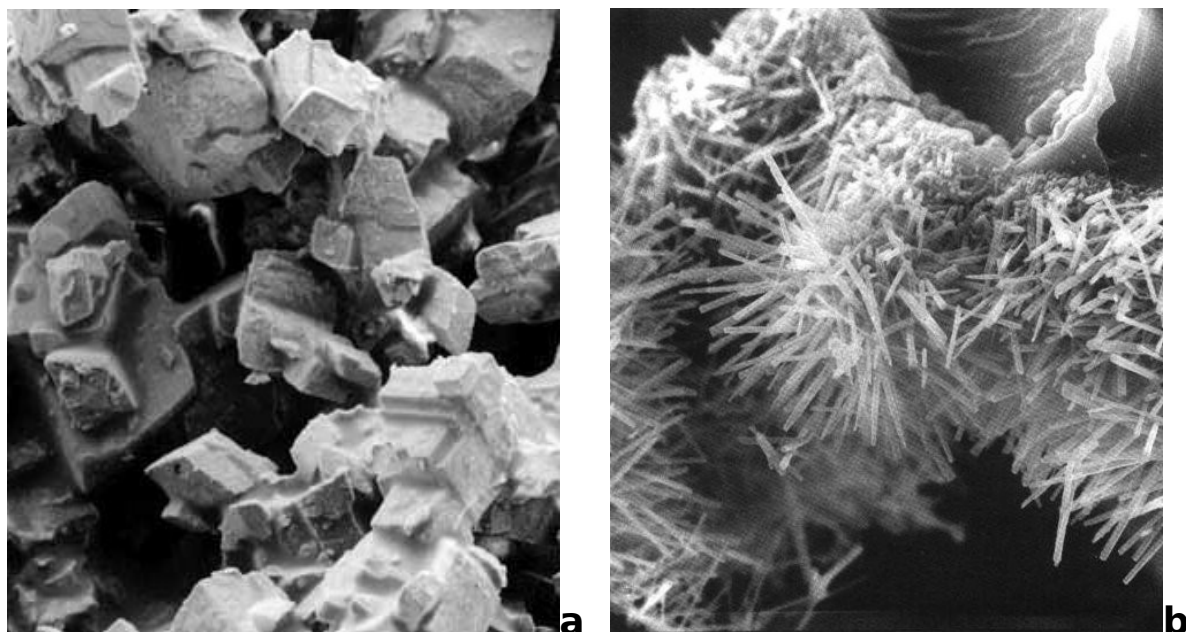
### Calcificação em algas marinhas

A deposição de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) ocorre em todos os grandes grupos de algas, mas na maioria das espécies essa deposição é pequena. O  $\text{CaCO}_3$  ocorre em duas formas cristalinas: calcita (cristal hexagonal-romboedral – figura 2.1a) e aragonita (cristal ortorrômbico – figura 2.1b), sendo que as duas nunca ocorrem juntas na mesma alga em condições naturais (LOBBAN & HARRISON, 1994). Aragonita é a forma mais comum e a que precipita abioticamente. É também a forma cristalina mais frágil, que se rompe com maior facilidade. As diferentes formas de calcificação nas algas podem ser vistas de maneira resumida na tabela 2.1.

Dentre todos os grupos, as principais calcificadoras são as algas coralináceas (Rhodophyta, Corallinaceae). Estas podem ser divididas, por sua morfologia (JOLY, 1967), em:

- articuladas ou geniculadas: não possuem calcificação em todo o talo, mas em segmentos intercalados por porções não calcificadas (genículos), as quais conferem mobilidade ao indivíduo (figura 2.2a).
- não-articuladas ou não-geniculadas: possuem deposição de  $\text{CaCO}_3$  ao longo de todo o talo (figura 2.2b); podem ter hábito arborescente (com talos eretos, em geral ramificados) ou crostoso (talo prostrado, crescendo em manchas). Eventualmente fragmentos de coralináceas não-articuladas podem se desprender ou crescer envolvendo uma pedra, fragmento de concha ou qualquer objeto solto; essas formas que crescem não aderidas a um substrato são comumente chamadas de rodolitos.

Nas coralináceas não-articuladas o carbonato de cálcio corresponde a mais de 95% do peso do indivíduo, podendo a proporção chegar a 99%. Em consequência, estas algas possuem um crescimento bastante lento.



**Figura 2.1:** Formas cristalinas de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) em algas marinhas calcárias. **a.** Cristais hexagonais-romboedrais (calcita); ampliado 4000x. **b.** Cristais ortorrômbicos (aragonita); ampliado 2800x. Retirado de LOBBAN & HARRISON (1994).

**Tabela 2.1:** Diferentes formas de calcificação em algas. *Adaptado de SIMKISS & WILBUR (1989).*

Local	Forma	Exemplos
<i>Extracelular</i>		
superfície da parede celular	bandas concêntricas de agulhas de aragonita	<i>Padina</i> (Dictyotaceae)
	encrustação de cristais de calcita	<i>Chaetomorpha</i> (Cladophoraceae)
intercelular	agulhas finas de aragonita	<i>Halimeda</i> (Halimedaceae) <i>Neomeris</i> (Dasycladaceae)
	cristais de calcita ou aragonita	<i>Liagora</i> (Liagoraceae) <i>Galaxaura</i> (Galaxauraceae)
membrana	agulhas de aragonita na membrana externa	<i>Penicillus</i> , <i>Udotea</i> (Udoteaceae)
	grupos irregulares de cristais de calcita	<i>Plectonema</i> (Oscillatoriaceae)
entre paredes celulares	cristais de calcita	<i>Lithopphyllum</i> , <i>Lithothamnion</i> (Corallinaceae)
<i>Intracelular</i>		
vesículas de Golgi	placas de várias formas, geralmente calcita	<i>Emiliania</i> , <i>Cricosphaera</i> (Prymnesiophyceae)

## Cultivo de algas calcárias em laboratório

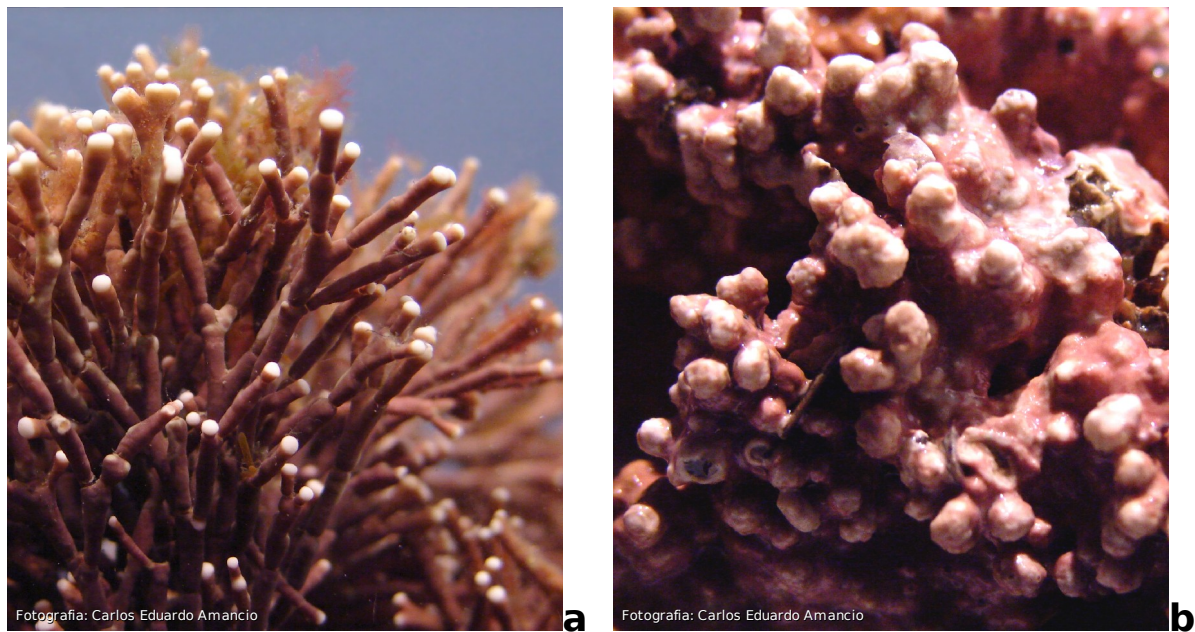
Apesar dos avanços já feitos sobre a biologia de macroalgas marinhas no Brasil e o sucesso no cultivo de várias espécies em laboratório (p.e. MACCHIAVELLO *et al.*, 1999; PAULA *et al.*, 2001; PLASTINO *et al.*, 2004; URSI & PLASTINO, 2001; YOKOYA & HANDRO, 2002), ainda não se conseguiu no país manter cultivos de longo prazo de algas calcárias em laboratório.

Em relação às algas coralináceas não-articuladas, a maior dificuldade está relacionada às suas baixas taxas de crescimento. A literatura mostra que espécies de talo arborescente possuem taxas de 0,01 a 0,4 mm/ano (BOSELLINI & GINSBURG, 1971; LITTLER *et al.*, 1991). Mesmo considerando que a taxa de crescimento das coralináceas pode ser acima de 20% maior em laboratório do que em campo, ainda assim tem-se taxas de menos de 1 milímetro por ano (RIVERA *et al.*, 2004). A revisão de dados de literatura feita por FOSTER (2001) indica valores variando de cerca de 2,7 a menos de 0,01 mm por ano.

## Estudos com coralináceas não-articuladas

A despeito de sua importância para a constituição e consolidação de formações calcárias marinhas, as coralináceas não-articuladas são as algas menos estudadas, devido às dificuldades em se trabalhar com esse grupo (HORTA, 2000).

Em termos de produção primária e fluxo de carbono, os estudos disponíveis em geral referem-se a trabalhos de campo em recifes, os quais envolvem medidas da comunidade como um todo (SMALL & ADEY, 2001). Isso pode ser causado pelas baixas taxas de crescimento das coralináceas não-articuladas, aliado à necessidade de uma biomassa



**Figura 2.2:** Detalhe do aspecto morfológico de duas algas coralináceas (Rhodophyta, Corallinaceae). **a.** Articulada ou geniculada (*Corallina panizzoi*). **b.** Não-articulada ou não-geniculada (*Lithothamnion* sp.).

relativamente alta para estimativas de fotossíntese e crescimento por medição de alcalinidade total (CHISHOLM, 2000).

Nesse caso, o uso de traçador radioativo carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ) para medidas de produção primária, bastante utilizado para fitoplâncton por ser preciso e adequado para amostras pequenas (GAETA *et al.*, 1995), é um método de alto custo e que exige infraestrutura adequada para trabalho com materiais radioativos. Uma alternativa seria o uso de sistemas de respirometria, capazes de detectar pequenas variações nas concentrações atmosféricas de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$ , mas seu uso com organismos aquáticos não é adequado devido ao grande número de compostos secundários que interferem nas medidas (KAUFMANN *et al.*, 1989). O uso cada vez mais comum de analisadores de gás por infravermelho (IRGA – *infrared gas analyser*) para as medições de respiração e fotossíntese em plantas (p.e. SANTOS & BUCKERIDGE, 2004) e o desenvolvimento de novas metodologias para trabalhos com coralináceas crustosas podem mudar esse quadro.

## Identificação taxonômica

Outra dificuldade referente ao trabalho com coralináceas não-articuladas refere-se à sua identificação taxonômica. A morfologia desse grupo é determinada por fatores ambientais, principalmente pela movimentação da água (ADEY, 1998; STELLER & FOSTER, 1995). Além disso, estudo de LITTLER *et al.* (1991) indicam que a queda de irradiância em função da profundidade é um dos fatores que contribuem para a mudança de formas mais ramificadas para mais esféricas. Isso faz com que muitas das espécies descritas de rodolitos sejam na verdade variações morfológicas de um mesma espécie. Como exemplo, um trabalho de revisão da ocorrência do gênero *Lithophyllum* no Golfo da Califórnia (RIOSMENA-RODRIGUEZ *et al.*, 1999) indicou que as cinco espécies reportadas para a região são diferentes formas de crescimento de uma mesma espécie, *L. margaritae*.

Dessa maneira, características morfológicas não permitem a identificação de gêneros e espécies, sendo necessária a presença de estruturas reprodutivas (WOMERSLEY, 1996). A identificação no nível de gênero pode ser feita por características celulares vegetativas, mas mesmo assim com incerteza (HARVEY *et al.*, 2005).

## Objetivos

- Estabelecer os melhores parâmetros para cultivo de algas coralináceas não-articuladas dentro da estrutura disponível no Laboratório de Algas Marinhas “Édson José de Paula”.
- Estabelecer metodologias adequadas para o trabalho com esse grupo de algas.
- Testar a possibilidade de utilização de espécies de algas calcárias não coralináceas como alternativa para os trabalhos de calcificação com enriquecimento de CO<sub>2</sub>.
- Estabelecer o protocolo de incubação para os experimentos de enriquecimento com CO<sub>2</sub>.

# Material & Métodos

## Condições gerais

Para manutenção dos espécimes em laboratório utilizou-se água do mar filtrada e fervida enriquecida com solução de von Stosch (EDWARDS, 1970; com modificação de PLASTINO, 1985) a 25%, em uma proporção de 1L de meio para cada 5 a 10g de alga, aproximadamente. O meio de cultura era trocado semanalmente e na mesma ocasião os indivíduos eram limpos com pincel para remoção de eventuais organismos aderidos. Os indivíduos só foram utilizados para experimentos após estabelecimento unialgal, ou seja, após comprovação de que nenhum outro organismo estivesse crescendo no frasco ou sobre os indivíduos.

Durante os períodos experimentais os frascos foram distribuídos aleatoriamente de modo a não ocorrer diferenças entre os grupos por gradientes de variação das condições da câmara de cultivo. Para isso utilizou-se o método de blocos randômicos descrito por HURLBERT (1984), mas fixando-se o número de pares, de modo que houvesse sempre um número igual de cada combinação, dessa maneira melhor distribuindo as amostras e evitando possíveis enviesamentos.

Utilizou-se em todos os casos câmara de cultivo com fotoperíodo de 14 horas claro : 10 horas escuro, temperatura de 25°C, irradiância de  $40 \pm 2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  e aeração em intervalos alternados de 30 minutos.

As análises estatísticas foram feitas com o programa PAST<sup>3</sup> 1.4 (HAMMER *et al.*, 2001), com exceção de análises de variância (ANOVA) multifatorial, realizadas com o programa Statistica 6.0. Os tratamentos e análises de imagem foram realizados com os programas GNU Image Manipulation Program (GIMP<sup>4</sup>) 2.2 e UTHSCA ImageTool<sup>5</sup> 3.0. Todas as imagens digitais foram feitas com câmera Sony DSC-H1, utilizando resolução de 5 megapixels, sensibilidade ISO 100 e padrão RGB de cor.

Todas as pesagens foram feitas com balança Mettler AE200. As medidas de pH foram feitas com pHmêtros microprocessados Denver S10234 e Quimis Q400M. As medidas de oxigênio dissolvido foram feitas com sensor YSI 51B.

## Estabelecimento das espécies de trabalho

Tendo em vista as dificuldades em se trabalhar com as algas coralináceas foram testados os cultivos de outras espécies que, embora possuam um grau de calcificação menor e tenham menor importância no desenvolvimento de formações calcárias, possuem maiores taxas de crescimento e poderiam, portanto, fornecer respostas mais rápidas.

Assim sendo, foram estabelecidos e testados cultivos de:

- Coralináceas não-articuladas (identificação incerta)

*Lithophyllum* Philippi (Rhodophyta, Corallinaceae)

*Lithothamnion* Heydrich (Rhodophyta, Corallinaceae)

3. PALaeontological STatistics – <http://folk.uio.no/ohammer/past> (*freeware*).

4. [www.gimp.org](http://www.gimp.org) (*software* livre).

5. University of Texas Health Science Center at San Antonio – <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig> (*freeware*).



*Mesophyllum* Lemoine (Rhodophyta, Corallinaceae)

- Coralináceas articuladas

*Amphiroa beauvoisii* J.V. Lamouroux (Rhodophyta, Corallinaceae)

*Jania adhaerens* J.V. Lamouroux (Rhodophyta, Corallinaceae)

- Outras Rodofíceas calcificadoras

*Dichotomaria marginata* (Ellis & Solander) Lamarck (Rhodophyta, Scinaiaceae)

*Tricleocarpa cylindrica* (J. Ellis & Solander) Huisman & Borowitzka (Rhodophyta, Galaxauraceae)

- Clorofíceas calcificadoras

*Halimeda tuna* (J. Ellis & Solander) J.V. Lamouroux (Chlorophyta, Halimedaceae)

*A. beauvoisii*, *D. marginata*, *J. adhaerens* e *T. cylindrica* foram coletadas em diferentes pontos do litoral do município de Ubatuba (SP); *H. tuna* e *Lithophyllum* foram coletadas em aquários de lojas especializadas em aquarofilia da cidade de São Paulo (SP); e *Lithothamnion*, *Lithophyllum* e *Mesophyllum* foram coletadas através de mergulho autônomo na região circunvizinha à Reserva Biológica Marinha do Arvoredo (SC). As coralináceas não-articuladas têm identificação incerta devido à ausência de estruturas reprodutivas nos espécimes coletados.

Após serem coletados, os espécimes foram limpos de organismos contaminantes com o uso de uma pinça e de pincel macio. Indivíduos de mesma espécie e mesma procedência foram mantidos em mesmo frasco, de modo a padronizar as condições iniciais para experimentos futuros. Os nódulos de coralináceas foram fragmentados até obter-se nódulos com cerca de 2 a 5 cm de diâmetro.

Como parâmetros para comparar as diferentes espécies analisadas foram levados em consideração as taxas de crescimento e o grau de calcificação. Adicionalmente foram anotados critérios subjetivos, como grau de contaminação por diatomáceas e fragilidade à manipulação em laboratório.

O crescimento de rodolitos e bancos calcários costuma ser feito por aumento de tamanho em relação ao tempo (p.e. FIGUEIREDO, 1997; RIVERA *et al.*, 2004). Apesar de dificultar a comparação com outros trabalhos, optamos por medir crescimento com base em peso por podermos melhor estabelecer uma relação com assimilação de carbono, quer por fotossíntese ou por calcificação, além de facilitar a comparação com outros grupos de algas.

Dessa maneira, para estimativa do crescimento, os indivíduos eram levemente secos com papel absorvente e pesados. A taxa de crescimento (TC) foi definida como o ganho percentual de peso em função do tempo, de modo a poder ser comparada com o grau de calcificação:

$$TC = \left( 100 - \frac{P_f \cdot 100}{P_i} \right) \cdot t^{-1}, \text{ sendo } P_i \text{ o peso inicial e } P_f \text{ o peso final após o tempo } t.$$

O tempo entre as medidas variou de 3 a 4 dias (duas vezes por semana) a 7 dias, tendo sido padronizado para as comparações o tempo de uma semana. As amostras foram pesadas à fresco, sendo levemente secas com papel absorvente antes das medidas. Entre as coralináceas utilizou-se nódulos recém fragmentados de modo a garantir que houvesse crescimento durante o experimento, observado pela ocupação da área fragmentada.

Para a determinação do grau de calcificação os indivíduos foram pesados à fresco (massa fresca) e em seguida colocados em estufa à 60°C por 48 a 72 horas, até parar de perder peso. Ao serem retiradas da estufa as amostras foram imediatamente transferidas para um dessecador e logo após pesadas (peso da massa seca total). As amostras, em placas de Petri, foram então cobertas com ácido clorídrico (HCl) 5% por 48 horas, sendo o ácido renovado após 24 horas. O ácido restante foi removido por sucção através de bomba de vácuo, tomando-se o cuidado de que fragmentos das amostras não fossem removidos acidentalmente. Nos casos em que houve sucção de fragmentos do talo, a amostra foi imediatamente removida do experimento. Após esse procedimento as amostras retornaram à estufa à 60°C por 48 a 72 horas, sendo logo após pesadas (assumido como peso da biomassa).

Como quantidade em peso de CaCO<sub>3</sub> considerou-se a massa seca menos a biomassa. Definiu-se grau de calcificação (G<sub>c</sub>) como a porcentagem de CaCO<sub>3</sub> em relação à massa seca total:

$$G_c = \frac{(\text{massa seca} - \text{biomassa}) \cdot 100}{\text{massa seca}}$$

A massa fresca, por possuir uma margem de erro bastante elevada devido à rápida perda de água das algas quando expostas ao ar, foi utilizada apenas como medida de controle em relação às pesagens para estimativa das taxas de crescimento.

## Transplante e crescimento de crostas de coralináceas

Devido à dificuldade em se conseguir uma biomassa de algas coralináceas não-articuladas suficientemente alta para obter medidas de crescimento por peso, testou-se o desenvolvimento de crostas de coralináceas não-articuladas sobre lâminas de vidro. Para tanto, foram utilizadas duas abordagens diferentes:

1. Em uma primeira abordagem, placas de vidro de 9×12 cm por 3 mm de espessura foram colocadas em aquários de água marinha de lojas e distribuidores especializados em aquarofilia da cidade de São Paulo. Nesses estabelecimentos, manchas de algas calcárias crostosas surgem e crescem espontaneamente nos vidros dos aquários, a partir de esporos de algas presentes no próprio ambiente, sendo consideradas como pragas pelos aquarofilistas.

2. Na segunda abordagem, pequenos fragmentos (1 a 2 mm de diâmetro) de crostas de algas calcárias eram retirados com o uso de bisturi e/ou estilete citológico dos nódulos em cultivo e transferidos para lâminas de vidro de microscopia, cuidando para que os fragmentos contivessem porção viva em toda sua espessura. Cada lote de 5 lâminas era colocado em aquário de vidro de 14 × 9 × 8 cm com 500 mL de meio de cultura MCM. Alternativamente, como a fixação dos filamentos depende em parte da presença ou ausência de luz, foram testados também lâminas de plástico preto e rodolitos mortos secos e esterilizados. Os filamentos transplantados são acompanhados semanalmente para verificar a fixação e crescimento.

A estimativa do crescimento neste caso é feita por área, através de fotografias digitais analisadas com o programa ImageTool, com base em escalas de 4 mm colocadas nas próprias lâminas de vidro.

## Testes de condições de cultivo

Uma vez tendo sido selecionadas as espécies que melhor se adequam ao desenvolvimento dos objetivos do projeto, foram feitos testes para determinar as melhores condições de cultivo. Foram feitos testes referentes à irradiância, ao meio de cultivo e à escala temporal das medidas.

As condições testadas foram delimitadas com base na estrutura disponível para cultivo no laboratório e em informações disponíveis em literatura relativas à temperatura (JOHANSEN, 1981; JONES & WOELKERLING, 1983; STENECK, 1986) e irradiação (ICHIKI *et al.* 2000). Em linhas gerais, as algas calcárias possuem bom crescimento com temperaturas entre 15 e 20°C, irradiação por volta de 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e altas salinidades (30 ups), sendo que esta, em função da concentração de íons, influencia diretamente a taxa de calcificação (KING & SCHRAMM, 1982).

## Irradiância e tempo de uso de meio de cultivo

Foi realizado um primeiro experimento utilizando 8 fragmentos de *Lithothamnion* sp., mantidos em tubos plásticos transparentes tipo Falcon. Foram utilizados em uma primeira etapa tubos de 15 mL com 12 mL de meio de cultivo MCM e, em uma segunda etapa, tubos Falcon de 50 mL com 30 mL de meio. Os frascos foram colocados de ponta-cabeça, de modo que a tampa não sombreasse os nódulos, e incubados por uma semana.

Em cada etapa os tubos foram divididos em dois grupos na câmara de cultivo de acordo com a irradiância incidente, de  $42\pm 1,5$  e de  $4,5\pm 0,5$   $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Medidas foram feitas após 2, 3 e 7 dias e em seguida semanalmente por quatro semanas. O meio foi mantido sem troca para determinar o tempo de esgotamento dos nutrientes. Como parâmetro de crescimento utilizou-se a variação de massa fresca e a variação de pH do meio.

## Meio de cultivo

Foram testados três meios de cultivo:

- Água do mar: coletada na região costeira do Município de São Sebastião, decantada, filtrada e fervida em banho-maria de modo a eliminar organismos vivos e sedimentos em suspensão;
- VS: água do mar, enriquecida com solução de von Stosch (EDWARDS, 1970; com modificação de PLASTINO, 1985) diluída à 25% (tabela 2.2);
- MCM: meio artificial específico para coralináceas, preparado conforme WOELKERLING *et al.* (1983), sem acréscimo de Tris [tris-(hidroximetil)-aminometano] (tabela 2.2).

Utilizou-se 16 fragmentos de *Lithothamnion* sp., originários de um mesmo nódulo. A fragmentação foi feita meses antes, de modo que toda a superfície dos fragmentos já se encontrava cicatrizada (recoberta por novos filamentos). Os indivíduos foram divididos em dois grupos experimentais (A e B), com fragmentos de tamanhos similares distribuídos entre ambos.

Cada fragmento foi colocado em tubo Falcon transparente de 50 mL, com 35 mL de meio de cultivo. Os frascos foram fechados hermeticamente e incubados por uma semana, colocados de ponta-cabeça para não ocorrer sombreamento dos nódulos pela tampa. O meio era trocado toda semana no mesmo horário. Para determinação da calcificação e

**Tabela 2.2:** Composição dos meios de cultura testados (quantidade de composto por litro de meio) **a.** Meio para enriquecimento Von Stoch (PLASTINO, 1985); valores correspondentes à concentração final adicionada à água do mar (VS 25%). **b.** Meio artificial MCM (WOELKERLING *et al.*, 1983);  $\text{CoCl}_2$  e  $\text{CuCl}_2$  foram substituídos respectivamente por  $\text{CoSO}_4$  e  $\text{CuSO}_4$ .

Composto	VS 25%	MCM
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	–	734,75 mg
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	–	52,2 $\mu\text{g}$
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	–	75,6 $\mu\text{g}$
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	67,5 $\mu\text{g}$	162,2 $\mu\text{g}$
$\text{H}_3\text{BO}_3$	–	61,8 $\mu\text{g}$
KCl	–	745,5 mg
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	–	8,13175 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4,96 $\mu\text{g}$	197,8 $\mu\text{g}$
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	0,93 mg	2,2192 mg
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	2,6875 mg	10,75 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	–	246 $\mu\text{g}$
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	–	142 mg
NaCl	–	26,298 g
$\text{NaHCO}_3$	–	21 mg
$\text{NaNO}_3$	10,625 mg	84,925 mg
$\text{ZnCl}_2$	–	136,6 $\mu\text{g}$
biotina	0,25 $\mu\text{g}$	987,0124 $\mu\text{g}$
cianocobalamina	0,25 $\mu\text{g}$	992,951388 $\mu\text{g}$
tiamina	0,05 mg	499,1596 mg

crescimento foi determinada a variação de pH e da quantidade de oxigênio de uma semana para outra, de acordo com método descrito por BARNES (1983).

Como a calcificação e o crescimento do rodolito dependem de sua área e tendo em vista a dificuldade de determiná-la com precisão, estabeleceu-se dois períodos amostrais, com a inversão do meio de cultivo de cada grupo. Desse modo pode-se comparar a ação de cada meio nos mesmos indivíduos, de tal modo que a variável área pode ser descartada dos resultados. Esse desenho experimental também eliminaria eventuais diferenças individuais, mesmo considerando que os fragmentos utilizados tinham origem de um mesmo nódulo.

Em um primeiro experimento o grupo A foi iniciado com VS e o grupo B com MCM, e os meios foram invertidos após quatro semanas, seguindo com os meios invertidos pelo mesmo tempo. Em um segundo experimento testou-se, pelo mesmo protocolo, as diferenças entre VS e água do mar sem adição de solução nutritiva.

Para comparar a calcificação de acordo com as diferentes variáveis (grupo, meio de cultivo, período experimental e semana), foi feita uma análise de variância (ANOVA) multifatorial.

## Testes de metodologia

### Calcificação

O método mais simples para determinar a quantidade de carbonato de cálcio

(CaCO<sub>3</sub>) em uma amostra é através da diferença de peso antes e após a dissolução com ácido, sendo o mais comum a utilização de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) e de ácido clorídrico (HCl) (p.e. DIGBY, 1977). No caso do ácido clorídrico a reação produz cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>), água (H<sub>2</sub>O) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), de acordo com a reação:  $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$

As amostras são colocadas em placas de Petri e cobertas com o ácido, em tempo suficiente para que todo o CaCO<sub>3</sub> seja reduzido (indicado pela ausência de emissão de bolhas da amostra). Sendo o cloreto de cálcio altamente solúvel em água, ambos são eliminados por sucção através de bomba de vácuo.

Apesar da dissolução do carbonato de cálcio ocorrer com qualquer ácido forte, para garantir que não houvesse diferenças nas medidas de grau de calcificação pelo uso de ácidos diferentes, foram feitos testes utilizando tanto HNO<sub>3</sub> quanto HCl, com as algas calcificadoras *J. adhaerens* (42 ramos no total, sendo 21 para cada ácido) e *D. marginata* (26 ramos no total). Em ambas as espécies, foram utilizados organismos coletados diretamente do mar; os ramos foram limpos para eliminação de organismos aderidos e porções de talo mortas (despigmentadas) ou com estruturas reprodutivas foram removidos para evitar enviesamento dos resultados.

Adicionalmente usou-se as algas sem calcificação *Gracilaria domingensis* (Kützinger) Sonder ex Dickie (Rhodophyta, Gracilariaceae) – 48 ramos no total – e *Valonia utricularis* (Roth) C. Agardh (Chlorophyta, Valoniaceae) – 30 ramos –, provindas de cultivos unialgais já estabelecidos no LAM, para testar se os ácidos não afetariam também a matéria orgânica, verificando possíveis diferenças no peso antes e após aplicação dos ácidos.

Sendo a concentração do ácido indiferente para a reação, utilizou-se para os experimentos dissolução de 4% para ambos os ácidos, por ser uma concentração bastante segura de se manipular e permitindo que o CaCO<sub>3</sub> seja dissolvido lentamente, garantindo sua saída da célula e evitando danos maiores à estrutura do talo, o que poderia levar à perda de material durante a sucção.

Os resultados foram analisadas por teste t (paramétrico) ou de Mann-Whitney (não-paramétrico), após verificação de normalidade por teste de Shapiro-Wilk.

## Medição de área

Uma vez que apenas a porção mais externa de um rodolito é viva, faz-se necessária a medição da área como parâmetro padronizador das medidas de crescimento e para cálculo da superfície de trocas com o meio.

O método mais simples para estimar a área de nódulos calcários consiste na medição dos eixos maior e menor, calculando a área como a de um ovóide. Esse cálculo leva à uma subestimação da área e possui uma margem de erro muito grande, visto as irregularidades no formato dos nódulos. Embora adequada para a estimativa de área de nódulos grandes em campo, essa abordagem não possuiu precisão suficiente para nossos experimentos. Uma alternativa seria dividir o nódulo em várias seções, de acordo com sua rugosidade, calculando-as como meia-esferas. Mas além de trabalhoso, o ganho de precisão não é alto. No extremo oposto, a técnica que ofereceria maior resolução é a de escaneamento a laser, formando uma imagem computadorizada tridimensional com resolução de até 0,1mm (CAMPAGNER<sup>6</sup>, com. pes.) e cuja área pode ser calculada por programas CAD (*Computer Auxiliated Drawing*). Porém essa técnica possui alto custo,

6. José Carlos Campagner, Empresa Brasileira de Aeronáutica S.A. (EMBRAER).

tornando-a impraticável para ser utilizada com diversas amostras.

Para este trabalho testamos uma nova metodologia, estimando a área com base no peso de uma substância de recobrimento. Para os testes utilizamos 12 rodolitos mortos de diferentes espécies (a maioria não determinada), com diferentes tamanhos e formatos. Como substância de recobrimento utilizamos verniz fosco Sparlack. Como desmoldantes foram testados detergente e óleo de soja. Os rodolitos foram presos por linha de costura fina aproveitando pequenas irregularidades nos mesmos, de modo a minimizar a superfície coberta pelo fio. Os rodolitos foram então mergulhados completamente no verniz e deixados curar por 48 horas, para então serem recobertos com o desmoldante também por imersão e escurimento. Essa primeira camada de verniz tem a dupla finalidade de cobrir pequenos orifícios nos nódulos que levariam um aumento da margem de erro da medida e de evitar a absorção do desmoldante devido à porosidade dos nódulos calcários. Após o desmoldante estar completamente seco (cerca de 24 horas), os nódulos foram novamente mergulhados em verniz e deixados curando por mais 48 horas. Ao final, a película formada pela segunda camada de verniz era retirada e pesada. Paralelamente, uma esfera de área conhecida passou pelo mesmo processo, de modo que o peso da película desta servisse de parâmetro para as estimativas da área dos rodolitos. A cada nova medida por esse método, uma esfera de área conhecida passava pelo mesmo processo, de modo a garantir a precisão dos resultados frente a variações na densidade do verniz.

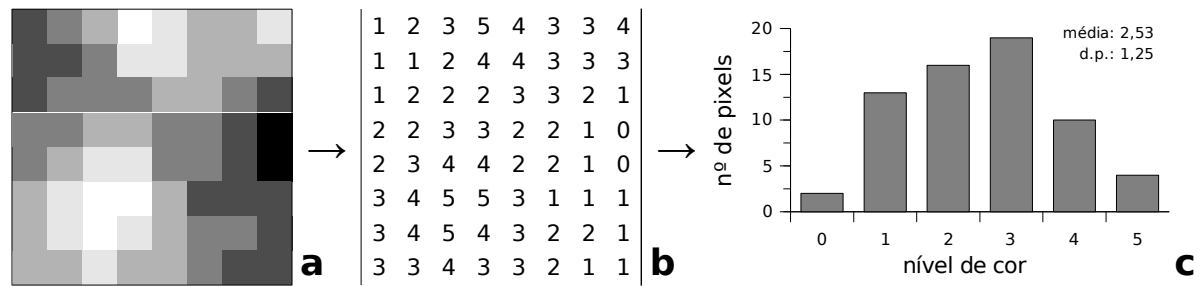
### **Perda de pigmentação**

Os métodos acima descritos servem para estimar a morte por perda de área. Entretanto, antes dessa perda ocorrer ocorre a despigmentação parcial dos nódulos, que pode ser usada como estimativa de efeitos negativos sobre os nódulos. Para tentar quantificar essa perda testou-se a utilização de fotografias digitais.

Uma imagem digital nada mais é do que uma matriz de dados na qual cada ponto da imagem (*pixel*) corresponde a uma entrada de dados da matriz com um valor indicativo de sua cor. Os formatos de imagem digital possuem 8 bits de informação para cada canal de cor, de modo que cada pixel possui um valor variando de 0 a 255 por canal ( $8 \text{ bits} = 2^8 = 256$ ). Imagens em escala de cinza possuem um canal, ao passo que imagens coloridas usualmente possuem 3 (padrão RGB – 24 bits) ou 4 canais (padrão CMYK – 32 bits). Além disso, formatos digitais com suporte à transparência possuem adicionalmente um canal de informação referente ao nível de transparência do *pixel* (canal *alpha*).

Como a perda de pigmentação nos nódulos ocorre por branqueamento e não por alteração de cor, utilizou-se imagens em escala de cinza, de modo a trabalhar-se com apenas um canal de informação de cor. A quantificação é feita por análise de níveis, presente na maioria dos programas de manipulação de imagens. Essa análise produz um gráfico em histograma com a quantidade de *pixels* por nível de cor, indicando também a média e o desvio padrão (figura 2.3). Sendo que o valor zero corresponde à ausência de tom (preto), a diminuição do valor médio corresponde à diminuição da pigmentação (branqueamento).

Os nódulos são fotografados semanalmente contra um fundo infinito azul, sempre a uma mesma distância e com mesma iluminação (*flash* embutido da própria câmera). Mesmo com esse cuidado, coloca-se junto ao nódulo a ser fotografado um cartão de cores padrão, neste caso uma placa plástica fosca com as cores preta, branca e cinza meio tom. A imagem digital é analisada com o programa GIMP.



**Figura 2.3:** Exemplo de análise de níveis de cor em imagem digital. **a.** Imagem tamanho 8x8 *pixels* com um canal de cor (escala de cinza) com 6 níveis de cor (0 a 5). **b.** Matriz com a distribuição de *pixels* da imagem e seus correspondentes valores de cor. **c.** Histograma com a distribuição de pontos da imagem por nível de cor.

Através do ajuste de níveis e usando o cartão padrão como referência, corrige-se a luminosidade. A seguir, tanto a placa padrão quanto o fundo azul são selecionados e descartados, de modo a isolar a imagem do nódulo. A imagem é então convertida para escala de cinza e através da geração de histograma determina-se o nível médio de cor e o respectivo desvio padrão.

## Resultados e Discussão

### Estabelecimento das espécies de trabalho

#### Notas gerais sobre os cultivos

- Coralináceas não-articuladas (*Lithophyllum* sp., *Lithothamnion* sp. e *Mesophyllum* sp.): estas algas mantêm-se bem em laboratório, mas possuem taxa de crescimento muito baixa. Em nódulos fragmentados é possível acompanhar a expansão da área viva por estereomicroscópio pela pigmentação (não é possível distinguir filamentos individualizados), em uma escala de semanas, mas esse crescimento não é mensurável por peso da biomassa. A identificação das algas deste grupo permanece incerta mesmo no nível de gênero, uma vez que a correta identificação depende da presença de estruturas reprodutivas, não observadas em nenhum dos espécimes coletados até o momento. Outros caracteres, como tipo de talo e padrão de crescimento servem para delimitar os gêneros, mas não são conclusivos. Assim, no âmbito deste relatório, as identificações dentro deste grupo se restringem ao nível genérico e mesmo assim devem ser vistas como incertas. Esperamos obter a identificação deste material através da colaboração de um especialista na taxonomia deste grupo antes da conclusão do projeto.
- Coralináceas articuladas (*Amphiroa beauvoisii* e *Jania adhaerens*): embora cresçam relativamente bem em laboratório, apresentam alta contaminação, principalmente por diatomáceas, por possuírem talos bastante ramificados, que se entrelaçam, dificultando a limpeza e eliminação de organismos incrustantes. Apresentaram várias porções dos talos mortas (identificadas por perda irreversível de pigmentação), provavelmente devido à essa conformação de emaranhados, que causa sombreamento entre os diversos ramos. Aderem-se facilmente à parede dos frascos de cultivo, dificultando a manipulação e também favorecendo a fragmentação durante a manipulação.
- Rodofíceas não coralináceas (*Dichotomaria marginata* e *Tricleocarpa cylindrica*): crescem bem em laboratório, mas apresentam grande variação no grau de calcificação. Têm como principal problema para o uso no projeto uma grande fragilidade à manipulação, principalmente *T. cylindrica*, cujos inter-genículos rompiam-se frequentemente. *T. cylindrica* também demonstrou grande contaminação por diatomáceas, provavelmente pela dificuldade em mantê-las limpas sem fragmentar o talo.
- *Halimeda tuna*: cresce relativamente bem em laboratório. Desenvolveu algumas anomalias nas ramificações por crescer não aderida à um substrato, com novos ramos surgindo a partir do meio dos segmentos, fazendo com que o crescimento ocorresse em diferentes planos, ao contrário do que é observado na natureza. A calcificação variou bastante, não acompanhando o crescimento: novos ramos crescem inicialmente com baixa calcificação, o que é facilmente verificado pela sua translucidez, e só após um certo período de crescimento intensificavam o grau de deposição de  $\text{CaCO}_3$ .

#### Comparação entre as espécies

Os valores obtidos de taxa de crescimento (TC) e grau de calcificação ( $G_c$ ) e a relação entre eles estão listados na tabela 2.3. Considerando que nosso principal interesse está na quantidade de carbonato de cálcio fixado ao longo do tempo, altos valores de calcificação podem compensar baixas taxas de crescimento, o que é verificado pelo produto  $\text{TC} \times G_c$ . É o que se verifica entre as coralináceas articuladas testadas (A.



**Tabela 2.3:** Valores médios de taxa de crescimento (TC – em % de massa fresca por semana) e grau de calcificação ( $G_c$  – em %CaCO<sub>3</sub> por massa seca) das espécies testadas ( $\pm$  desvio padrão). As coralináceas não-articuladas não apresentaram variação significativa de peso, não sendo exibidas na tabela (ver texto para maiores detalhes).

	TC	$G_c$	TC x $G_c$
<b>coralináceas articuladas</b>			
<i>Amphiroa beauvoisii</i>	3,54 $\pm$ 1,97	86,67 $\pm$ 2,06	306,81
<i>Jania adhaerens</i>	3,78 $\pm$ 2,04	85,37 $\pm$ 2,19	322,70
<b>rodofíceas não-coralináceas</b>			
<i>Dichotomaria marginata</i>	4,39 $\pm$ 2,62	60,83 $\pm$ 8,48	266,17
<i>Tricleocarpa cylindrica</i>	3,91 $\pm$ 3,31	68,12 $\pm$ 2,46	266,35
<b>clorofíceas</b>			
<i>Halimeda tuna</i>	5.63 $\pm$ 6.74	74.13 $\pm$ 12.43	417.35

*beauvoisii* e *J. adhaerense*) e *D. marginata* e *T. cylindrica*: embora estas últimas tenham taxas de crescimento maior, sua menor calcificação não compensa seu uso. *H. tuna* seria uma espécie a ser considerada não só pelo seu TC x  $G_c$  mais alto (417,35), mas também por ser uma importante formadora de depósitos calcários marinhos. Entretanto, possui uma variabilidade muito alta no  $G_c$  (desvio padrão da mesma ordem da média), além desta não acompanhar diretamente o crescimento, o que complica seu uso para estimativas de fluxo de CO<sub>2</sub> por calcificação.

Quanto à *H. tuna*, testou-se paralelamente ao experimento o uso de fotografias digitais para a estimativa de crescimento por área, visto que esta espécie normalmente cresce seguindo um único plano. Essa abordagem apresentou inicialmente boas perspectivas, mas as anomalias no crescimento dos ramos por causa do cultivo impossibilitaram sua continuidade.

As coralináceas crostosas não apresentaram variação significativa de peso ao longo do experimento, motivo pelo qual optou-se pelo uso de estimativas por variação na alcalinidade do meio nos experimentos seguintes. Quanto ao  $G_c$ , não foi possível fazer uma estimativa confiável devido à impossibilidade, ao tempo deste experimento, em se conseguir crostas inteiramente vivas, pois os nódulos de que se dispunha possuíam o interior morto, o que leva a uma quantificação de CaCO<sub>3</sub> muito acima do que seria proporcional à biomassa.

Medidas feitas posteriormente a este experimento, utilizando crostas retiradas de vidros de aquários indicaram  $G_c$  de 98,87 $\pm$ 2,56% (n=17). Porém, devido ao tamanho reduzido dessas crostas, o alto erro padrão das medidas torna inviável a utilização desses dados para comparações. Por esse mesmo motivo, não foi possível identificar o material, não havendo garantias de que todas as amostras eram da mesma espécie.

Dados sobre crescimento de coralináceas não-articuladas na literatura mostram crescimentos de 43,8% por ano para *Lithothamnion corallioides* baseado na variação em peso de CaCO<sub>3</sub> (POTIN *et al.*, 1990). Estimativas de crescimento em área chegam a 1 mm por ano para *Lithothamnion glaciale* (FREIWALD & HENRICH, 1994) e 2,7 mm por ano para *Phymatolithon calcareum* (BÖHM *et al.* 1978, *apud* FOSTER 2001). Em relação à calcificação, para esses mesmos gêneros são reportados taxas de 88 a 164 g de CaCO<sub>3</sub> por m<sup>2</sup> por ano para *L. corallioides* e de 79 a 422 g de CaCO<sub>3</sub> por m<sup>2</sup> por ano para *P. calcareum* (BOSENCE 1980, *apud* GHERARDI, 2004).

Assim, apesar das baixas taxas de crescimento reportadas em literatura para as coralináceas não-articuladas, estas possuem alto grau de calcificação, o que compensa as baixas taxas de crescimento. Além disso, a biomassa nas coralináceas não-articuladas representa apenas uma pequena fração da massa seca, fazendo com que o crescimento, se analisado como assimilação de carbono por matéria orgânica, seja similar ao de algas vermelhas não calcificadoras (KING & SCHRAMM, 1982). Mesmo se considerarmos, em termos comparativos, que se obtivesse valores mais baixos de  $TC \times G_c$  para esse grupo, o fato de serem as principais algas responsáveis por formações calcárias faz com que sejam as escolhidas para os futuros experimentos de fluxo de  $CO_2$ .

Mesmo assim, as algas calcárias geniculadas não foram utilizadas por não possuírem todo o talo calcificado, o que influi em estimativas de calcificação por área, como será visto adiante. Além disto, não há grandes depósitos destas algas, o que tornaria a pesquisa irrelevante para os fins pretendidos. Devido a essas estimativas, também foram evitadas formas de crescimento não-geniculadas de talo arborescente, preferindo-se as de hábito crostoso. O alto grau de calcificação e a alta relação área/volume dessas algas acabam compensando a menor taxa de crescimento.

## **Transplante e crescimento de crostas de coralináceas**

Não houve fixação dos filamentos transplantados em nenhum dos substratos testados.

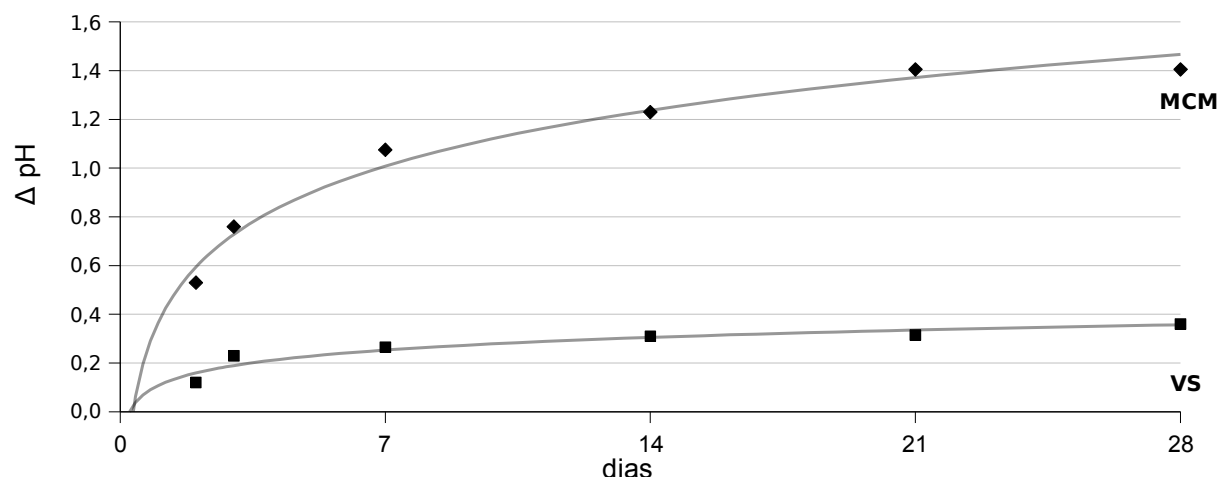
Quanto às placas mantidas em aquários, houve fixação e crescimento de manchas após cerca de quatro a seis meses, ocorrendo antes um total recobrimento primeiro por cianobactérias e posteriormente também por algas filamentosas.

## **Testes de condições de cultivo**

### **Irradiância e tempo de uso de meio**

Não houve variações mensuráveis no peso dos nódulos. Quanto às variações de pH, verificou-se que o pHmetro utilizado apresentava um longo tempo de estabilização das medições, devido à oxidação de seu eletrodo. Embora esse defeito a princípio não afete os valores medidos, provoca uma diferença de horas entre a primeira e a última medição de um dia, levando a um erro experimental por diferença no tempo de incubação. Em função disso, os resultados da primeira etapa do experimento, feita com tubos de 15 mL, foram descartados por considerarmos que a amplitude de variação medida (máximos de 0,19 para VS e 0,61 para MCM) era muito baixa em relação à precisão do método.

Os resultados da segunda etapa, com tubos de 50 mL, estão apresentados no gráfico 2.1. Como os valores não foram corrigidos em função do tamanho dos indivíduos amostrais (nódulos), os valores de variação de pH só são comparáveis dentro de cada grupo. Apesar dos dois grupos experimentais serem constituídos por nódulos de tamanhos equivalentes, possíveis variações individuais não permitem, neste experimento, concluir com certeza qual dos dois meios é mais eficaz para o crescimento da alga testada. Dessa maneira, este experimento serviu apenas para definir o tempo de utilização dos meios, definindo-se o período de incubação de uma semana para as medições dos próximos



**Gráfico 2.1:** Variação média de pH ( $\Delta\text{pH}$ ) em relação ao meios VS (■) e MCM (◆). As curvas representam regressão logarítmica. Considerar que pela metodologia utilizada apenas o padrão da curva deve ser considerado; os valores em si não são comparativos para os meios de cultura testados.

experimentos com coralináceas crostosas.

Não foram observadas variações significativas nos níveis de irradiância testados devido à grande variabilidade das medidas, optando-se por manter nos experimentos subsequentes valores na faixa dos  $42 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , por não terem ocorridos efeitos deletérios visíveis (indicativos de fotoinibição) e por considerarmos, a princípio, que valores maiores de irradiância levam à maior produtividade (GAETA, 1999).

### Meio de cultivo

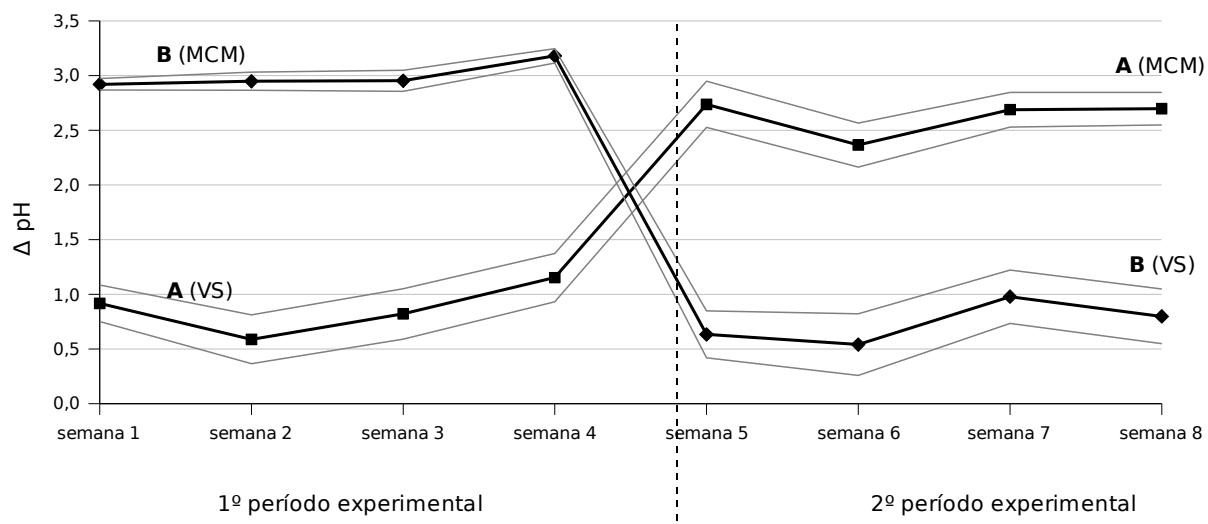
Devido à um erro nos procedimentos de medição de oxigênio não foi possível estabelecer o grau de calcificação a partir das medidas de pH. Entretanto, como todas as amostras pertenciam à um mesmo nódulo que foi fragmentado, tendo, portanto, origem de um mesmo indivíduo, podemos considerar os coeficientes fotossintéticos e respiratórios iguais para todas as amostras. Embora não determinados, esses coeficientes iguais conferem à variação no pH um critério confiável como medida comparativa para as taxas de calcificação e crescimento.

Os valores médios da variação de pH nos diferentes períodos amostrais das duas etapas, referentes aos meios de cultivo utilizados em cada grupo, estão apresentados na tabela 2.4. Os dois grupos experimentais (A e B) foram considerados como réplicas para cada meio testado.

Observa-se que o uso de MCM leva à uma calcificação – e, portanto, à uma taxa de crescimento – mais de três vezes maior do que o de VS. Observa-se também uma menor variância na calcificação com o uso do MCM, indicada por valores menores dos desvios

**Tabela 2.4:** Média e desvio padrão da variação de pH em função dos meios de cultivo testados e relação entre os valores médios de cada meio. Os grupos experimentais A e B foram estabelecidos como réplicas.

	VS	MCM	água marinha	MCM:VS	MCM:água marinha	VS:água marinha
<b>A</b>	$0,83 \pm 0,40$	$2,62 \pm 0,29$	$0,69 \pm 0,35$	3,17	3,82	1,20
<b>B</b>	$0,74 \pm 0,38$	$3,00 \pm 0,15$	$0,44 \pm 0,42$	4,07	6,80	1,67



**Gráfico 2.2:** Variação média do pH ( $\Delta$ pH) nos grupos experimentais A (■) e B (◆). As linhas mais fracas representam  $\pm$  intervalo de confiança (95%). 1º período experimental (semanas 1 a 4): grupo A incubado com VS e grupo B com MCM. 2º período experimental (semanas 5 a 8): inversão dos meios de cultivo.

padrões, consequência provavelmente da maior variabilidade da disponibilidade de nutrientes na água natural.

O resultado da análise de variância indicou haver diferenças entre os grupos experimentais em relação ao meio utilizado apenas quanto ao uso de MCM ( $p=0,000054$ ), com o qual o grupo B teve valores significativamente maiores, o que pode ser resultado de diferenças quanto à biomassa total dos dois grupos, sendo que essa diferença não se manifestou com os outros meios devido à maior variância destes. Os meios testados deram resultados significativamente diferentes entre si, independente do grupo experimental ( $p=0,000001$ ).

Esses resultados, quanto aos meios VS e MCM, podem ser facilmente observados no gráfico 2.2. É interessante verificar que, de maneira geral, as pequenas variações de semana a semana ocorrem simultaneamente nos dois grupos, sendo provavelmente resultantes de oscilações nas condições da câmara de cultivo. Verifica-se também que na escala de tempo adotada (uma semana), não se observa um “período de adaptação” ao novo meio (que se manifestaria por valores diferentes na semana logo após a troca de meio em relação às semanas consecutivas), o que indica uma pronta resposta por parte das algas à nova disponibilidade de nutrientes.

Mesmo com melhores resultados com o uso de MCM, este será utilizado apenas em situações experimentais. Para manutenção dos espécimes continuará sendo utilizado VS, devido ao seu menor custo.

Finalmente, o desenho experimental adotado mostrou que o uso de tubos Falcon com volume de 50mL e incubação por período de uma semana fornecem condições adequadas para obter medidas significativas de crescimento de coralináceas pelo método de eletrodos de pH e oxigênio.

## Testes de metodologia

### Calcificação

Em nenhum dos grupos experimentais foram obtidas distribuições normais, optando-se assim pelo uso de teste não-paramétrico para as análises. Não houve diferenças significativas entre o uso de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) e ácido clorídrico (HCl) para nenhuma das espécies testadas. Optou-se assim pelo uso de HCl para futuras determinações, por este ser mais seguro de manipular e por ter descarte mais simples, uma vez que a Universidade de São Paulo não possui um serviço de recolhimento e tratamento de resíduos químicos.

Quanto à possível influência do ácido na matéria orgânica, houve em média uma redução de 0,04% do peso após aplicação do ácido para *Gracilaria domingensis* e de 0,29% para *Valonia utricularis*, embora não tenham sido observadas diferenças significativas pela análise estatística ( $p=0,8575$  e  $p=0,8187$ , respectivamente). Essa diferença pode ser causada pela reação do ácido com carbonatos e bicarbonatos presentes no vacúolo, mas de qualquer maneira a diferença é suficientemente pequena para se acomodar dentro do erro experimental.

Embora os resultados tenham mostrado a adequação das reações com ácido para estimativa do grau de calcificação, esse método não deve ser utilizado para os rodolitos uma vez que apenas sua porção mais externa está viva, fazendo com que a porcentagem de CaCO<sub>3</sub> fique superestimada. Para esse caso poderíamos proceder de maneira inversa, determinando a biomassa a partir do peso da matéria orgânica, estimada por oxidação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (JACKSON, 1958). Como a matéria orgânica encontra-se apenas na área mais superficial do nódulo, pela relação entre biomassa e quantidade de CaCO<sub>3</sub> deriva-se a calcificação. Entretanto esse procedimento tem como desvantagem a necessidade de matar a alga, impossibilitando o uso do mesmo nódulo para outros experimentos, por esse motivo não tendo sido utilizada neste trabalho.

### Medição de área

Nenhum dos desmoldantes testados foi satisfatório. Entretanto, considerou-se que o uso desse tipo de substância não é necessário, podendo a área ser estimada com base na diferença de peso do nódulo antes e após a aplicação da segunda camada de verniz.

Embora não ofereça resultados extremamente precisos, devido à irregularidade da distribuição da substância de recobrimento em função da rugosidade do nódulo, a técnica alia baixo custo e simplicidade com resultados mais precisos do que a medição de eixos.

### Perda de pigmentação

Os testes realizados indicaram que a abordagem serve como forma de quantificar um critério normalmente utilizado de forma subjetiva. Entretanto, a técnica só apresenta resultados confiáveis quando utilizada com manchas ou fragmentos planos, uma vez que irregularidades de superfície não apenas causam variação por alteração da área da alga como também por alteração na iluminação. A distribuição irregular da iluminação pela superfície causa sombreamento de algumas regiões e super exposição de outras. Mesmo sendo os nódulos fotografados sempre na mesma posição e a estimativa da perda de pigmentação por este método ser relativa, ainda assim isso induz a erros.

## Conclusão

Apesar da falha em se obter valores precisos de coeficientes respiratório e fotossintético, o desenvolvimento dos experimentos garantiu que se chegasse a um procedimento preciso para a utilização do método de eletrodos de pH e oxigênio, o qual se mostrou mais adequado. O uso de traçadores radioativos ( $^{14}\text{C}$  e  $^{45}\text{Ca}$ ), apesar de se verificar a praticidade e eficiência do  $^{14}\text{C}$ , foram descartados pelo alto custo.

O método de recobrimento tendo mostrado-se eficiente para medida de área permite que sejam utilizados nódulos de qualquer formato. Tendo em vista a inexpressividade do ganho em massa, visto pela variação de peso, podemos considerar que não ocorreram variações significativas de área dos nódulos ao longo dos experimentos.

A variação de área e de pigmentação poderia ser feita de maneira não destrutiva através do acompanhamento fotográfico. Porém, tal só é possível com a utilização de algas crescendo sobre superfícies planas. Infelizmente, devido a problemas com as lojas de aquários não foi possível recuperar as placas sobre as quais estavam crescendo as manchas de algas calcárias. Mesmo não podendo ter sido utilizada nos trabalhos de enriquecimento de  $\text{CO}_2$  (Capítulo 3), essa abordagem mostrou ser a mais promissora para futuros trabalhos com esse grupo de algas marinhas.

## Referências

- ADEY, W.H. 1998. Coral reefs: algal structured and mediated ecosystems in shallow turbulent, alkaline waters. *J. Phycol.* 34: 393-406.
- BARNES, D.J. 1983. Profiling coral reef productivity and calcification using pH and oxygen electrodes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66: 149-161.
- BÖHM, L., SCHRAMM, W. & RABSH, U. 1978. Ecological and physiological aspects of some coralline algae from the western Baltic: calcium uptake and skeleton formation in *Phymatolithon calcareum*. *Kieler Meeresforsch* 4: 282-284.
- BOSELLINI, A. & GINSBURG, R.N. 1971. Form and internal structure of recent algal nodules (Rhodolites) from Bermuda. *J. Geol.* 79: 669-682.
- BOSENCE, D.W.J. 1980. Sedimentary facies, production rates and facies models for recent coralline algal graves, Co. Galway, Ireland. *Geol. J.* 15: 91-111.
- CHISHOLM, J.R.M. 2000. Calcification by crustose coralline algae on the northern Great Barrier Reef, Australia. *Limnol. Oceanogr.* 45: 1476-1484.
- DIGBY, P.S.B. 1977. Photosynthesis and respiration in the coralline algae *Clathromorphum circumscriptum* and *Corallina officinalis* and the metabolic basis of calcification. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 57: 1111-1124.
- EDWARDS, P. 1970. Illustrated guide to the seaweeds and sea grasses in the vicinity of Porto Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sc.* 15(sup.): 1-228.
- FIGUEIREDO, M.A.O. 1997. Colonization and growth of crustose coralline alga in Abrolhos, Brazil. *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Coral Reef Symp.* 1: 689-694.
- FOSTER, M.S. 2001. Rhodoliths: between rocks and soft places. *J. Phycol.* 37: 659-667.
- FREIWALD, A. & HENRICH, R. 1994. Reefal coralline algal build-ups within the Arctic Circle: morphology and sedimentary dynamics under extreme environmental seasonality. *Sedimentology* 41: 963-984.
- GAETA, S.A., ABE, D.S., METZLER, P.M. & TEIXEIRA, C. 1995. Photosynthetic parameters of coastal marine phytoplankton from the Ubatuba region, Brazil. *Publicação Esp. Inst. Oceanogr. São Paulo* 11: 163-169.
- GHERARDI, D.F.M. 2004. Community structure and carbonate production of a temperate rhodolith bank from Arvoredo Island, Southern Brazil. *Braz. J. Oceanogr.* 52: 207-224.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T. & RYAN, P.D. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9.
- HARVEY, A., WOELKERLING, W., FARR, T., NEILL, K., NELSON, W. 2005. Coralline algae of central New Zealand: an identification guide to common 'crustose' species. *NIWA Information Series* 57. 145p.
- HORTA, P.A. 2000. Macroalgas do infralitoral do Sul e Sudeste do Brasil: taxonomia e biogeografia. *Tese (Doutorado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.*

- HURLBERT, S.J. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiment. *Ecol. Monogr.* 54: 187-211.
- ICHIKI, S., MIZUTA, H. & YAMAMOTO, H. 2000. Effects of irradiance, water temperature and nutrients on the growth of sporelings of the crustose coralline alga *Lithophyllum yessoense* Foslie (Corallinales, Rhodophyceae). *Phycol. Res.* 48: 115-120.
- JACKSON, M.L. 1958. Soil chemical analysis. *Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.* 498p.
- JOHANSEN, H.W. 1981. Coralline algae: a first synthesis. *Boca Raton, FL: CRC Press.* 233p.
- JOLY, A.B. 1967. Gêneros de algas marinhas da Costa Atlântica Latino-Americana. *São Paulo, SP: Editora da Universidade de São Paulo.*
- JONES, P.L. & WOELKERLING, W.J. 1983. Some effects of light and temperature on growth and conceptacle production in *Fosliella cruciata* Bressan (Corallinaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 22: 449-452.
- KAUFMANN, R., FORSTNER, H. & WIESER, W. 1989. Respirometry: methods and approaches. In: Bridges CR & Butler PJ (eds) Techniques in comparative respiratory physiology. *Cambridge, UK: Cambridge University Press.*
- KING, R.J. & SCHRAMM, W. 1982. Calcification in the maerl coralline algae *Phymatolithon calcareum*: effects of salinity and temperature. *Marine Biology* 70: 197-204.
- LITTLER, M.M., LITTLER, D.S. & HANISAK, M.D. 1991. Deep-water rhodolith distribution, productivity and growth history at sites of formation and subsequent degradation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 150: 163-182.
- LOBBAN, C.S. & HARRISON, P.J. 1994. Seaweed ecology and physiology. *Cambridge, UK: Cambridge University Press.* 366pp.
- MACCHIAVELO, J., SAITO, R., GARÓFALO, G. & OLIVEIRA, E.C. 1999. A comparative analysis of agarans from commercial species of *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta) grown in vitro. *Hydrobiologia* 398/399: 397-400.
- PAULA, E.J., PEREIRA, R.T.L. & ERBERT, C. 2001. Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in vitro. *Phycol. Res.* 49: 155-161.
- PLASTINO, E.M. 1985. As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP: aspectos biológicos e fenologia. *Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.*
- PLASTINO E.M., URSI S., FUJII M.T. 2004. Color inheritance, pigment characterization, and growth of a rare light green strain of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycol. Res.* 52: 45-52.
- POTIN, P., FLOCH, J.Y., AUGRIS, C. & CABIOCH, J. 1990. Annual growth rate of the calcareous red alga *Lithothamnion corallioides* (Corallinales, Rhodophyta) in the Bay of Brest, France. *Hydrobiologia* 204/205: 263-267.
- RIOSMENA-RODRIGUEZ, R., WOELKERLING, W.J. & FOSTER, M.S. 1999. Taxonomic reassessment of rhodolith-forming species of *Lithophyllum* (Corallinales, Rhodophyta) in the Gulf of California, Mexico. *Phycologia* 38: 401-417.
- RIVERA, M.G., RIOSMENA-RODRIGUEZ, R. & FOSTER, M.S. 2004. Edad y crecimiento de



*Lithothamnion muelleri* (Corallinales, Rhodophyta) en el suroeste del Golfo de California, México. *Ciencias Marinas* 30: 253-249.

**SANTOS, H.P. & BUCKERIDGE, M.S.** 2004. The role of the storage carbon of cotyledons in the establishment of seedlings of *Hymenaea courbaril* under different light conditions. *Annals of Botany* 94: 819-830.

**SIMKISS, K & WILBURN, K.M.** 1989. Biomineralization: cell biology and mineral deposition. Orlando, USA: Academic Press.

**SMALL, A.M. & ADEY, W.H.** 2001. Reef corals, zooxanthellae and free-living algae: a microcosm study that demonstrates synergy between calcification and primary production. *Ecological Engineering* 16: 443-457.

**STELLER, D.L. & FOSTER, M.S.** 1995. Environmental factors influencing distribution and morphology of rhodoliths in Bahía Concepción, B.C.S., México. *J. Exp. mar. Biol. Ecol.* 194(2): 201-212.

**STENECK, R.S.** 1986. The ecology of coralline algae crusts: convergent patterns and adaptative strategies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 273-303.

**URSI, S. & PLASTINO, E.M.** 2001. Crescimento in vitro de linhagens de coloração vermelha e verde de *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta) em dois meios de cultura: análise de diferentes estádios reprodutivos. *Rev. Bras. Bot.* 24: 587-594.

**WOELKERLING, W.J., SPENCER, K.G. & WEST, J.A.** 1983. Studies on selected Corallinaceae (Rhodophyta) and other algae in a defined marine culture medium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 67: 61-77.

**WOMERSLEY, H.B.S.** 1996. The marine benthic flora of Southern Australia - part IIIB: Gracilariales, Rhodymeniales, Corallinales and Bonnemaisoniales. *Flora of Australia Supplementary Serie n<sup>o</sup> 5.*

**YOKOYA, N.S. & HANDRO, W.** 2002. Effects of plant growth regulators and culture medium on morphogenesis of *Solieria filiformis* (Rhodophyta) cultured in vitro. *J. Appl. Phycol.* 14: 97-102.

## Capítulo 3

---

Efeitos do aumento na  
concentração de CO<sub>2</sub>  
no crescimento de  
*Lithophyllum* sp.

## Resumo

O aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> leva a um aumento na sua concentração nos oceanos, provocando alterações no equilíbrio do sistema carbonato marinho e levando à acidificação da água do mar. Essas alterações, embora difíceis de serem previstas, devem provocar impactos nos organismos marinhos calcificadores, por alteração na disponibilidade de íons e do ponto de dissociação do carbonato de cálcio. Para verificar esses os efeitos do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> no crescimento de algas coralináceas, nódulos de *Lithophyllum* sp. foram incubados após o borbulhamento com diferentes concentrações desse gás. Para diferenciar os efeitos da acidificação, foram realizadas incubações com e sem adição de tampão ao meio, além de incubações com meio acidificado sem acréscimo de CO<sub>2</sub>. O crescimento foi medido através da estimativa da calcificação pela técnica de alteração na alcalinidade. Os resultados mostraram que para o meio tamponado o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> injetado leva a um aumento no crescimento até o limite de 0,2 L, a partir do qual aumentos na concentração não provocam alterações. Sem tamponamento, o crescimento é semelhante ao meio tamponado para baixos volumes de CO<sub>2</sub>; em volumes de 0,33 L ocorre queda na taxa de crescimento e em volumes a partir de 0,66 L, danos aos nódulos. Os resultados das incubações sem tamponamento são consistentes com as taxas de crescimento obtidas com a acidificação do meio sem a injeção de CO<sub>2</sub>. Os resultados levam à conclusão de que impactos negativos pelo aumento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> na alga coralinácea testada ocorrem apenas se a água mar chegar a valores de pH abaixo de 7,0.

## Abstract

The increase of the CO<sub>2</sub> atmospheric concentration leads to an increase in its concentration in oceans, disturbing the marine carbonate system and leading to a seawater acidification. These alterations are difficult to foreseen, although, they must provoke impacts on the calcareous marine organisms, once they cause alterations in ions availability and in CaCO<sub>3</sub> dissociation point. To verify the effects of the increase in carbon dioxide concentration in marine coralline algae, nodules of *Lithophyllum* sp. were incubated with different concentrations of CO<sub>2</sub>. Incubations were made with and without the addiction of buffer to the medium to isolate the effect of acidification. For this objective medium acidification without injection of CO<sub>2</sub> was also conducted. The growth was measured through estimation of the calcification by the alkalinity anomaly technique. The results showed that in buffered medium increasing CO<sub>2</sub> concentration leads to an increase in the growth until the limit of 0.2 L. Beyond this volume an increase in CO<sub>2</sub> concentration do not provoke alterations. Without buffering the growth is similar for low volumes of CO<sub>2</sub>. With volume of 0.33 L occur a decrease in the growth rates and damage to the nodules is observed for volumes from 0.66 L. The results of the incubations in medium not buffered are consistent with the growth rates obtained from acidifying the medium without CO<sub>2</sub> injection. These results lead to the conclusion that in the tested coralline alga negative effects for increased atmospheric CO<sub>2</sub> concentration occurs only with seawater pH values below 7.0.

## Introdução

### Aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico e o sistema carbonato marinho

A relação entre a concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico e o sistema carbonato marinho está esquematizada na figura 3.1. A pressão parcial de CO<sub>2</sub> na atmosfera entra em equilíbrio com a pressão na camada de mistura do oceano na escala de tempo de um ano (BATES, 2001). Na água do mar a concentração do CO<sub>2</sub> dissolvido é alterada localmente pelos processos de respiração e fotossíntese e, indiretamente, pelo de calcificação.

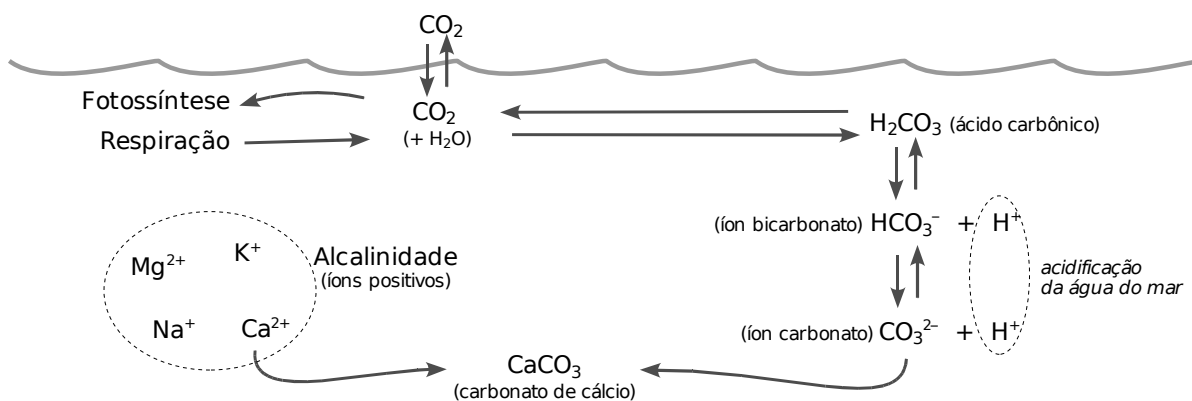
Na água o CO<sub>2</sub> reage diretamente com o íon carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), formando íons bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), de acordo com a equação:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_3^{2-} \leftrightarrow 2\text{HCO}_3^-$ , o que explica a diferente disponibilidade de cada forma na água do mar em diferentes pHs (figura 3.2).

O carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) pode ser precipitado tanto pela biota marinha quanto abioticamente, formando sedimentos calcários de fundo com importância geológica. Embora o CaCO<sub>3</sub> possa ser dissociado formando novamente íons carbonato e íons hidrogênio, o carbonato de cálcio é uma forma bastante estável, e sua dissociação só ocorre normalmente nos oceanos em algumas condições, caso das grandes pressões em profundidades maiores.

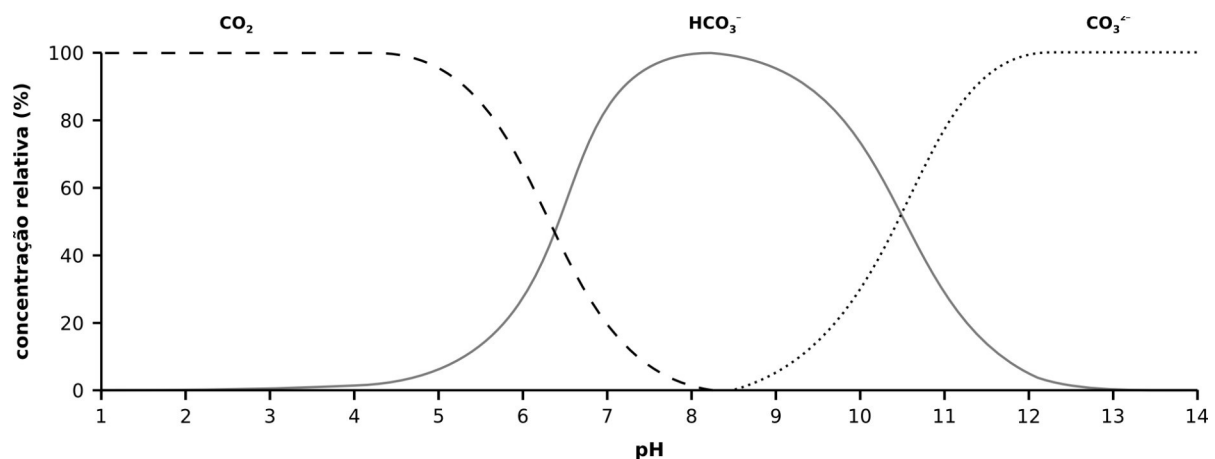
### Acidificação da água do mar

Os efeitos do aumento na concentração de CO<sub>2</sub> dissolvido no oceano são difíceis de prever em função da interação com diversos fatores (FALKOWSKI *et al.*, 1998; 2000), mas alguns desses efeitos já são observáveis, como no caso da acidificação da água do mar (SABINE *et al.*, 2004) em função do aumento na liberação de íons H<sup>+</sup> (figura 3.1).

Atualmente o carbonato de cálcio encontra-se em saturação na água do mar, porém a acidificação do oceano altera o balanço iônico da água do mar. Seguindo o ritmo atual de acidificação (figura 3.3), estima-se que em meados de 2050 atinja-se o limite de saturação na camada superficial do Hemisfério Sul e em meados de 2150 o limite seja atingido em todo o oceano (FEELY *et al.*, 2004; ORR *et al.*, 2005); a partir de então, prevalecerá a



**Figura 3.1:** Esquema do sistema carbonato marinho e sua relação com o CO<sub>2</sub> atmosférico. Adaptado de KLEYPAS & LANGDON (2002).



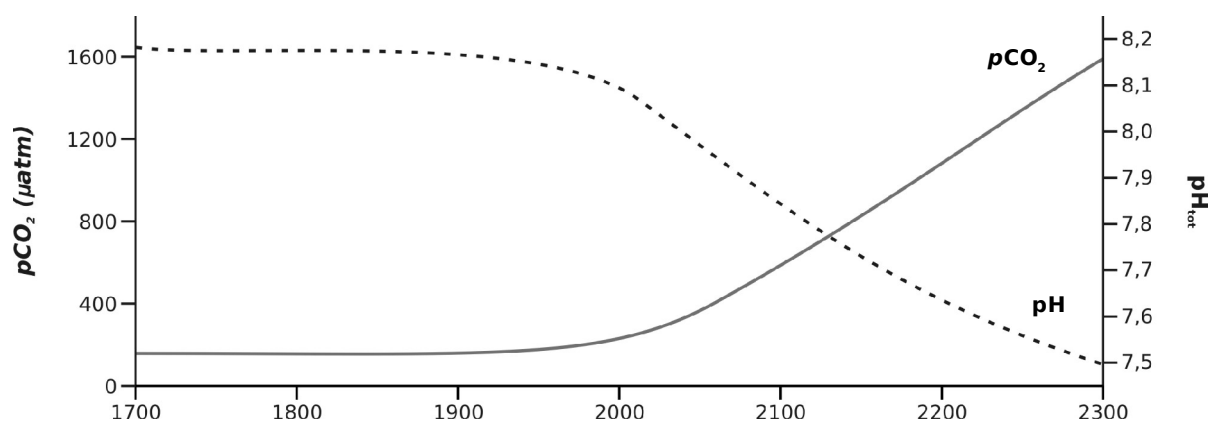
**Figura 3.2:** Concentração das diferentes formas de carbono dissolvido na água da mar em função do pH: dióxido de carbono (CO<sub>2</sub> – linha tracejada), íon bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> – linha contínua) e íon carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> – linha pontilhada). Adaptado de RAVEN (2005).

dissolução do carbonato de cálcio ao invés de sua deposição espontânea.

Outras estimativas indicam que a produção de CaCO<sub>3</sub> biológico deve ser reduzida em 50% por volta do ano 2250 (HEINZE, 2004), além de haver alterações na composição dos sedimentos calcários inorgânicos (MORSE *et al.*, 2006).

Os efeitos da acidificação para a biota marinha deverão ser observados em relação a problemas fisiológicos por alteração na disponibilidade e captação de íons e, nos organismos calcificadores, na capacidade de deposição de carbonato de cálcio (RAVEN, 2005), uma vez que em pHs baixos a disponibilidade de íons carbonato e bicarbonato torna-se bastante reduzida (figura 3.2).

Nenhum estudo foi publicado sobre os efeitos da acidificação do meio marinho nas algas coralináceas. Entretanto, espera-se que, como nos demais organismos calcificadores, a taxa de calcificação seja reduzida, levando a menor crescimento dos indivíduos e o desenvolvimento de indivíduos menos calcificados e, portanto, mais frágeis e mais sujeitos à predação. Quanto ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub>, TRIBOLLET *et al.* (2006) realizaram experimentos com injeção de CO<sub>2</sub> em recifes, mostrando que em concentração de 750ppm a taxa fotossintética líquida das comunidades dominadas por algas coralináceas diminuiu em 35%, embora não tenha ocorrido alteração nas taxas respiratórias. As cianobactérias e demais algas não foram afetadas significativamente pelo aumento na concentração de CO<sub>2</sub>.



**Figura 3.3:** Estimativa das variações da pressão parcial atmosférica de dióxido de carbono (pCO<sub>2</sub> – linha contínua) e do pH da água do mar (linha tracejada) com base em modelo de sistema aberto. Adaptado de MORSE *et al.* (2006).

## Aumento na concentração de CO<sub>2</sub> e crescimento de algas

Já foi estabelecido para uma série de espécies de plantas terrestres que o aumento nas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico provoca aumento na taxa de fotossíntese e no crescimento, e mesmo na fertilidade (LADÉAU & CLARK, 2001).

Quanto às algas, há diversas referências sobre a necessidade de CO<sub>2</sub> (p.e. CHOO *et al.*, 2002; GRANBON & PEDERSEN, 1999; RAY *et al.*, 2003; SNOEIJES *et al.*, 2002), embora SMITH & MACKENZIE (1991) apontem indícios de que o carbono não limita a produtividade oceânica. Entretanto, COLLINS & BELL (2004) estudaram o efeito do aumento de dióxido de carbono na alga verde unicelular *Chlamydomonas*, mostrando que houve aumento de crescimento e taxa de fotossíntese, mas indica também que as algas podem não se adaptar a aumentos muito elevados de CO<sub>2</sub>. Para algas calcárias o único estudo semelhante é o de TRIBOLLET *et al.* (2006), mesmo assim feito em campo, em um recife dominado por algas calcárias não-articuladas, com resultados relativos ao metabolismo da comunidade. Não existe nenhum trabalho desse tipo feito em banco de rodolitos.

## Objetivos

- Verificar se variações na concentração de CO<sub>2</sub> influenciam no crescimento e na calcificação de algas coralináceas.
- Verificar os efeitos da acidificação do meio no desenvolvimento de algas coralináceas.

## Material & Métodos

### Condições gerais

Para manutenção dos espécimes em laboratório utilizou-se água do mar filtrada e fervida, enriquecida com solução de von Stosch (EDWARDS, 1970; com modificação de PLASTINO, 1985) a 25%. O meio de cultivo foi trocado semanalmente, e na mesma ocasião os indivíduos foram limpos com pincel para remoção de eventuais organismos contaminantes.

Tanto para a manutenção dos espécimes quanto para os experimentos utilizou-se câmara de cultivo com fotoperíodo de 14h claro : 10h escuro, temperatura de 25°C, irradiância de  $40 \pm 2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  e aeração em intervalos alternados de 30 minutos. Como parâmetro geral para os experimentos utilizou-se nódulos individuais (rodolitos) de *Lithophyllum* sp.<sup>7</sup> incubados por uma semana em tubos Falcon de 50 mL com 35 mL de meio de cultivo MCM (WOELKERLING *et al.*, 1983), de acordo com o estabelecido no Capítulo 2. De modo a manter a uniformização dos indivíduos amostrais, todos os espécimes foram mantidos em um mesmo recipiente antes dos experimentos, com meio em quantidade considerada acima da necessária para a massa viva total.

Em todos os experimentos os frascos foram distribuídos aleatoriamente de modo a não ocorrer diferenças entre os grupos por gradientes de variação das condições da câmara de cultivo, segundo o método de blocos randômicos descrito por HURLBERT (1984), mas fixando-se o número de pares de modo a melhor distribuir as amostras, evitando assim a possibilidade de ocorrer enviesamento por diferença na quantidade de posições de amostras sorteadas por grupo. Também a fim de minimizar enviesamentos, os indivíduos amostrais foram distribuídos de modo que entre os grupos houvesse nódulos de tamanho semelhante e com variedade de tamanho dentro de cada grupo.

As análises estatísticas foram feitas com o programa PAST<sup>8</sup> 1.4 (HAMMER *et al.*, 2001) e com o programa Statistica 6.0 (para as análises de variância multifatorial – ANOVA). Todas as análises foram feitas de acordo com os métodos e procedimentos descritos em SOKAL & ROHLF (1995) e em ZAR (1996).

As medidas de pH foram feitas com pHmetro microprocessado Denver S10234 e pHmetro microprocessado Quimis Q400M. As medidas de oxigênio dissolvido foram feitas com sensor YSI 51B e YSI 58.

### Testes preliminares

Para o estabelecimento da metodologia de trabalho foram feitos diversos testes de modo a se estabelecer o melhor desenho experimental. Utilizando tubos Falcon de 50mL com 35mL de meio MCM, foram testados:

- Diferentes fluxos de CO<sub>2</sub> sem a presença de nódulos, medindo-se o pH do meio logo após a injeção.
- O mesmo procedimento acima, porém com a medição após uma semana com o tubo fechado na câmara de cultivo.

---

7. Identificação incerta devido à ausência de estruturas reprodutivas.

8. PALaeontological STatistics – <http://folk.uio.no/ohammer/past> (*freeware*).

- Medição do pH após adição de diferentes concentrações de ácido clorídrico (HCl), sem tamponamento e com a adição de diferentes concentrações de tampão.

Devido a limitada disposição de indivíduos amostrais, esses testes foram feitas com poucas ou até mesmo uma única amostra, de modo a não comprometer os experimentos definitivos. Dessa maneira, esses testes não tiveram validade estatística, servindo apenas para estabelecer a melhor forma de injeção de CO<sub>2</sub> nas amostras, os valores de volume e fluxo de injeção, a quantidade de tampão a ser utilizada e a faixa de valores de pH.

## Experimentos de injeção de CO<sub>2</sub>

Afim de verificar a possível influência de aumentos na concentração atmosférica de dióxido de carbono na calcificação de algas coralináceas, nódulos de *Lithophyllum* sp. foram submetidos a injeções de CO<sub>2</sub> em diferentes concentrações, com e sem tamponamento do meio de cultivo. Também foi verificada a calcificação em função da acidificação direta do meio.

Como sistema de injeção foi utilizado um cilindro de CO<sub>2</sub> da White-Martins com dois estágios de redução de pressão. A injeção no meio foi feita através de uma pipeta Pasteur esterilizada, de modo a evitar contaminação do meio. Devido ao fluxo constante mínimo permitido pelo sistema ser de 4L/minuto, sendo este um fluxo bastante alto para o volume de meio utilizado (35mL), optou-se por fixar esse fluxo mínimo para todos os grupos experimentais, variando o volume de CO<sub>2</sub> injetado em função do tempo de borbulhamento.

Para o experimento foram separados seis grupos experimentais, cada qual contendo seis nódulos (indivíduos amostrais), com o seguinte perfil de borbulhamento com CO<sub>2</sub>:

- sem injeção;
- borbulhamento por 1 segundo (0,06 L de CO<sub>2</sub>; 1,9 mL CO<sub>2</sub> / mL de meio);
- borbulhamento por 3 segundos (0,20 L de CO<sub>2</sub>; 5,7 mL CO<sub>2</sub> / mL de meio);
- borbulhamento por 5 segundos (0,33 L de CO<sub>2</sub>; 9,5 mL CO<sub>2</sub> / mL de meio);
- borbulhamento por 10 segundos (0,66 L de CO<sub>2</sub>; 19,0 mL CO<sub>2</sub> / mL de meio);
- borbulhamento por 15 segundos (1 L de CO<sub>2</sub>; 28,5 mL CO<sub>2</sub> / mL de meio).

Para isolar os efeitos do CO<sub>2</sub> de efeitos causados pela acidificação do meio foram feitas duas baterias de experimentos: uma com adição de 0,1g de CaCO<sub>3</sub> como tampão e outra sem tamponamento. A quantidade de tampão foi fixada pelos testes preliminares, sendo o valor utilizado suficiente para haver saturação, constatada por deposição no fundo. Ambas as baterias foram conduzidas ao longo de oito semanas, com tomada de valores semanais. Foram utilizados os mesmos indivíduos amostrais em ambas as baterias, sendo estes redistribuídos pelos grupos amostrais e sendo mantido um período de recuperação de seis semanas entre as duas baterias, suficientes para que fosse restabelecida a coloração normal dos nódulos.

O crescimento dos nódulos foi medido através da calcificação, estimada pela técnica de anomalia da alcalinidade (SMITH & KEY, 1975; DIGBY, 1979). A calcificação altera a alcalinidade total (AT) pela remoção de íons Ca<sup>+</sup> e altera o pH pela liberação de íons H<sup>+</sup> devido à alteração no balanço do sistema carbonato (ver figura 3.1). Dessa forma, para estimar a calcificação faz-se necessário, além da medida de variação de pH, a medição de pelo menos um dos componentes do sistema carbonato. Tradicionalmente utiliza-se



medições de CO<sub>2</sub> dissolvido total, seguindo a relação  $[CO_3^{2-}] = AT - \sum CO_2$  (KLEYPAS & LANGDON, 2002). Porém, devido à estrutura disponível para este trabalho utilizou-se o método descrito por BARNES (1983). Por esse método, estima-se a variação na concentração de CO<sub>2</sub> no meio pela variação de oxigênio dissolvido, sendo calculada como  $-\Delta CO_2 = \Delta O_2 \cdot Q$ , onde  $Q$  é o coeficiente respiratório da amostra. Considera-se assim as alterações de CO<sub>2</sub> do meio como uma função da fotossíntese, da respiração e da calcificação.

As medições de pH e O<sub>2</sub> iniciais foram feitas nos frascos antes da colocação dos rodolitos. Em seguida os nódulos foram colocados nos frascos e foi feito o borbulhamento com CO<sub>2</sub>. Os frascos foram então vedados e incubados por uma semana. Após esse período foram feitas novas medições de pH e O<sub>2</sub>, obtendo-se assim a variação do meio durante a incubação. Os nódulos foram então transferidos para novos frascos com meio renovado, repetindo-se os procedimentos anteriores.

Cada um dos grupos experimentais possuía um grupo controle, cada qual com seis frascos submetidos aos mesmos tratamentos, porém sem rodolito. Para garantir que as variações no meio fossem devidas apenas à ação dos rodolitos utilizou-se para os cálculos de calcificação os valores de variação de pH e oxigênio corrigidos pela média da variação semanal dos respectivos controles.

## **Experimento de acidificação do meio**

Para verificar a influência da acidificação independente do aumento na concentração de CO<sub>2</sub>, foi realizada uma série de incubações com meio de cultivo acidificado através da adição de diferentes concentrações de ácido clorídrico (HCl).

Foram utilizados seis grupos experimentais, com seis rodolitos (indivíduos amostrais) cada, com pH de 8 (pH 7,96, correspondente ao lote de meio MCM utilizado sem adição de HCl), 7,5, 7,0, 6,5, 6,0 e 5,5. Cada grupo experimental teve seu respectivo grupo controle, com cinco frascos contendo apenas o meio de cultivo. Utilizou-se ao longo de todo experimento um mesmo lote de meio de cultivo, de modo a não haver variações no pH do grupo mais alcalino.

A calcificação foi estimada seguindo o mesmo procedimento dos experimentos de injeção de CO<sub>2</sub>.

## Resultados e Discussão

### Testes preliminares

Os testes preliminares serviram principalmente para delimitar o desenho experimental utilizado nos experimentos de injeção de CO<sub>2</sub> e de acidificação do meio.

Verificou-se perda de pigmentação após apenas uma semana de incubação com valores de pH abaixo de 6,5. Nesses casos o rodolito recuperava-se após retornar a meio com pH normal (8,0). Abaixo de pH 5,5 ocorre a morte do rodolito após poucos dias.

Quanto aos volumes de CO<sub>2</sub> injetado, tempos a partir de cerca de 1 minuto de borbulhamento levavam à quebra do tamponamento, com acidificação do meio para valores abaixo de pH 6,5. Sem tamponamento esses valores chegavam a pH 4,5 com um minuto de borbulhamento e na faixa de 6,5 a 6,0 com tempos acima de 15 segundos, sendo este estabelecido como tempo máximo para os experimentos.

### Experimentos de injeção de CO<sub>2</sub>

Os resultados foram analisados através de análise de variância multifatorial (ANOVA) (tabela 3.1). Os resultados semanais dos experimentos estão listados na tabela 3.2.

Nos grupos com meio tamponado não houve diferença significativa de semana a semana dentro de cada grupo, mostrando uma taxa de calcificação, e portanto de crescimento, constante ao longo do tempo. Nos grupos sem tamponamento, o mesmo ocorreu no grupo sem injeção de CO<sub>2</sub> e nos grupos com borbulhamento de 0,06 e 0,2 L. Os grupos injetados com 0,33, 0,66 e 1 L exibiram queda na taxa de calcificação após as primeiras duas semanas, sendo significativa a diferença entre as primeiras e as últimas

**Tabela 3.1:** Resultado da análise de variância (ANOVA) multifatorial dos grupos com e sem tamponamento. Valores de p marcados com asterisco indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

	graus de liberdade	F	p
<i>com tamponamento</i>			
CO <sub>2</sub>	5	88,453	0,000000 *
semana	15	1,811	0,030629
CO <sub>2</sub> x semana	75	1,079	0,316740
<i>sem tamponamento</i>			
CO <sub>2</sub>	5	137,875	0,000000 *
semana	15	6,944	0,000000 *
CO <sub>2</sub> x semana	75	1,889	0,000040 *
<i>geral</i>			
tamponamento	1	1601,488	0,000000 *
CO <sub>2</sub>	5	40,753	0,000000 *
semana	15	3,319	0,000018 *
tamponamento x CO <sub>2</sub>	5	175,043	0,000000 *
tamponamento x semana	15	4,342	0,000000 *
CO <sub>2</sub> x semana	75	1,391	0,018455 *
tamponamento x CO <sub>2</sub> x semana	75	1,404	0,015914 *

**Tabela 3.2:** Valores semanais médios de crescimento (em µg de CaCO<sub>3</sub>) e respectivos desvios padrão para os experimentos com e sem tamponamento do meio. Campos vazios indicam situação em que apenas 2 ou menos indivíduos amostrais sobreviveram, não sendo, portanto, estatisticamente representativos.

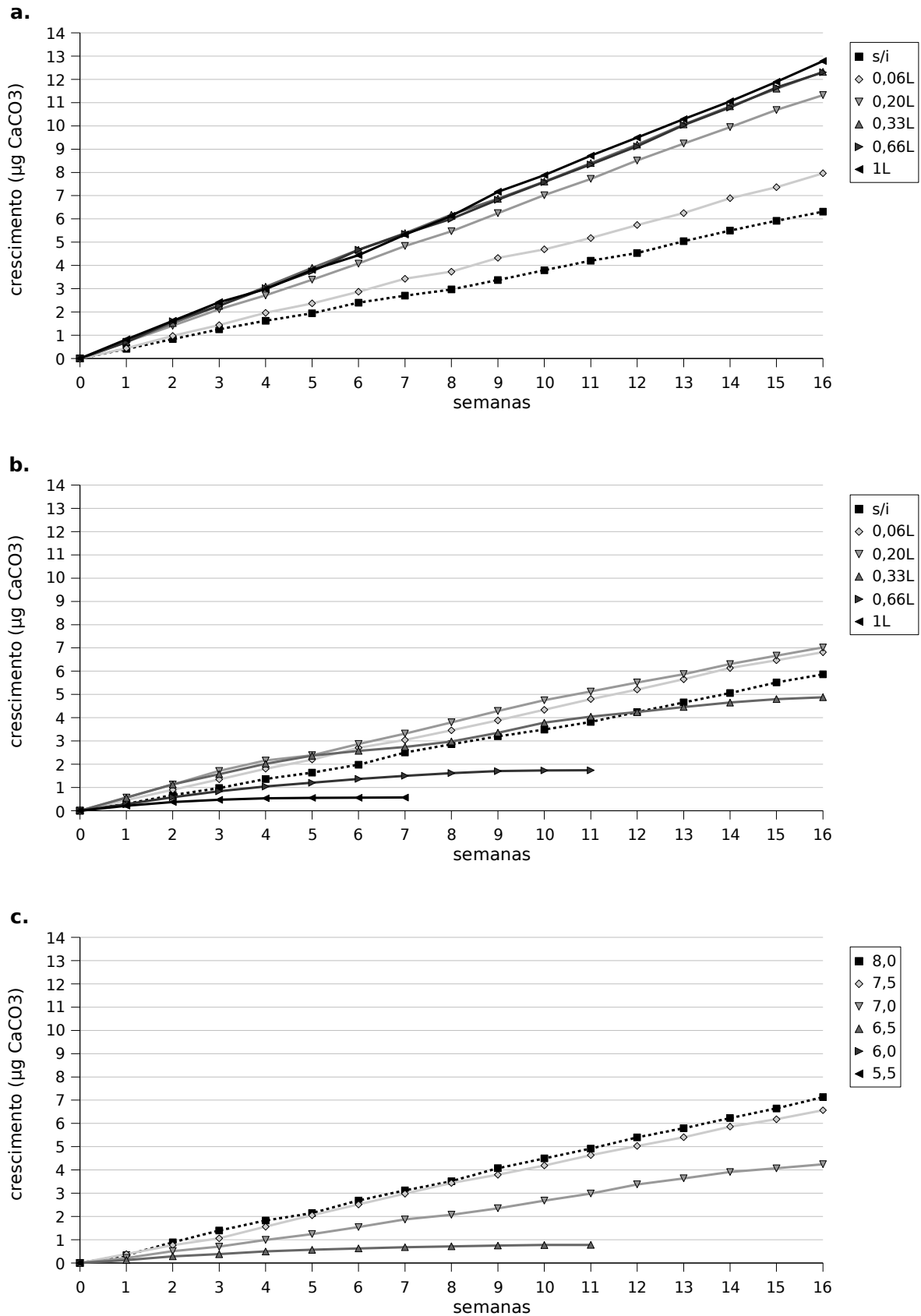
CO <sub>2</sub>	semanas															
	(L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
com tamponamento																
<b>s/i</b>	0,41 ±,17	0,42 ±,16	0,42 ±,11	0,37 ±,12	0,32 ±,14	0,46 ±,07	0,30 ±,06	0,27 ±,12	0,41 ±,14	0,42 ±,10	0,41 ±,15	0,33 ±,14	0,51 ±,11	0,46 ±,19	0,42 ±,15	0,39 ±,18
<b>0,06</b>	0,44 ±,17	0,53 ±,22	0,46 ±,22	0,53 ±,20	0,40 ±,10	0,50 ±,17	0,56 ±,16	0,30 ±,05	0,59 ±,13	0,37 ±,18	0,49 ±,23	0,56 ±,11	0,51 ±,24	0,64 ±,08	0,47 ±,20	0,60 ±,07
<b>0,2</b>	0,72 ±,16	0,69 ±,13	0,71 ±,12	0,60 ±,11	0,68 ±,13	0,69 ±,22	0,75 ±,13	0,64 ±,14	0,78 ±,16	0,77 ±,13	0,70 ±,10	0,79 ±,12	0,73 ±,16	0,71 ±,21	0,74 ±,12	0,64 ±,16
<b>0,33</b>	0,73 ±,16	0,80 ±,15	0,75 ±,12	0,82 ±,10	0,81 ±,14	0,77 ±,13	0,72 ±,15	0,79 ±,13	0,69 ±,19	0,74 ±,14	0,79 ±,14	0,80 ±,15	0,86 ±,12	0,78 ±,14	0,76 ±,17	0,72 ±,16
<b>0,66</b>	0,70 ±,24	0,90 ±,16	0,66 ±,21	0,76 ±,27	0,72 ±,18	0,93 ±,17	0,69 ±,21	0,64 ±,25	0,82 ±,21	0,76 ±,27	0,76 ±,27	0,78 ±,24	0,91 ±,24	0,75 ±,18	0,86 ±,28	0,65 ±,18
<b>1</b>	0,82 ±,24	0,80 ±,24	0,81 ±,26	0,56 ±,15	0,83 ±,17	0,63 ±,10	0,89 ±,18	0,80 ±,19	1,04 ±,13	0,71 ±,17	0,84 ±,19	0,78 ±,30	0,80 ±,27	0,77 ±,25	0,84 ±,21	0,89 ±,26
sem tamponamento																
<b>s/i</b>	0,30 ±,13	0,37 ±,14	0,30 ±,14	0,39 ±,19	0,27 ±,23	0,34 ±,16	0,52 ±,09	0,36 ±,16	0,34 ±,17	0,29 ±,19	0,33 ±,10	0,43 ±,11	0,41 ±,17	0,40 ±,12	0,46 ±,18	0,35 ±,07
<b>0,06</b>	0,46 ±,15	0,44 ±,14	0,45 ±,20	0,46 ±,18	0,39 ±,17	0,51 ±,23	0,34 ±,23	0,41 ±,18	0,43 ±,13	0,46 ±,26	0,46 ±,21	0,41 ±,16	0,44 ±,16	0,48 ±,13	0,34 ±,21	0,34 ±,17
<b>0,2</b>	0,57 ±,13	0,56 ±,19	0,58 ±,11	0,45 ±,17	0,23 ±,06	0,48 ±,23	0,45 ±,10	0,48 ±,16	0,49 ±,13	0,46 ±,19	0,38 ±,25	0,39 ±,13	0,36 ±,17	0,43 ±,26	0,36 ±,12	0,35 ±,22
<b>0,33</b>	0,56 ±,17	0,57 ±,17	0,45 ±,19	0,44 ±,17	0,35 ±,20	0,21 ±,15	0,17 ±,25	0,24 ±,18	0,38 ±,27	0,43 ±,22	0,27 ±,19	0,19 ±,08	0,22 ±,08	0,19 ±,08	0,15 ±,09	0,08 ±,07
<b>0,66</b>	0,28 ±,07	0,30 ±,08	0,25 ±,09	0,21 ±,07	0,16 ±,07	0,17 ±,03	0,13 ±,06	0,12 ±,04	0,08 ±,03	0,03 ±,02	0,01 ±,00	-	-	-	-	-
<b>1</b>	0,21 ±,07	0,16 ±,03	0,10 ±,06	0,06 ±,07	0,02 ±,01	0,01 ±,01	0,01 ±,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-

semanas. Além disso, nos grupos 0,66 e 1 L os nódulos apresentaram perda de pigmentação e estagnação na calcificação (interrupção no crescimento), com menos de três indivíduos amostrais sem danos após a 11<sup>a</sup> e a 7<sup>a</sup> semana, respectivamente. Considerando que três indivíduos amostrais é o número mínimo para análises estatísticas, esses grupos foram descontinuados.

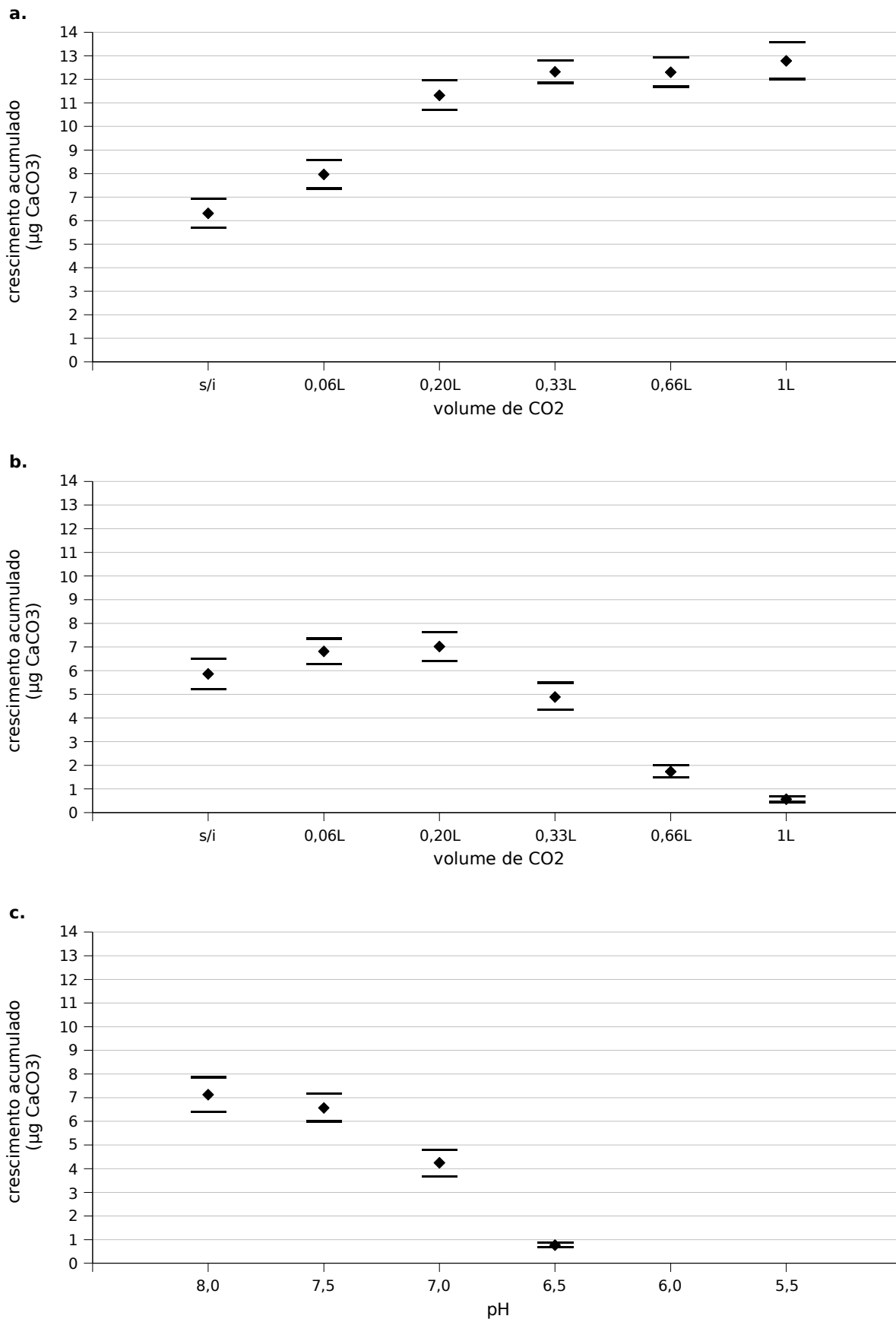
A diferença nas taxas de crescimento pode ser melhor visualizada nos gráficos 3.1a e 3.1b, que exibem o crescimento cumulativo ao longo do período amostral dos experimentos de injeção de CO<sub>2</sub> com e sem tamponamento.

No caso do meio tamponado podemos observar que ocorre um aumento no crescimento com o aumento da injeção de CO<sub>2</sub> até um volume de 0,2 L. A partir desse valor, embora ocorra um pequeno aumento nas taxas de crescimento, esse não é significativo (gráfico 3.2a). Considerando que as taxas de crescimento foram constantes ao longo de todo o período amostral, pode-se considerar que houvesse diferenças significativas caso os experimentos continuassem sendo conduzidos por mais tempo. Por outro lado, considerando o volume de meio das amostras e que o borbulhamento de CO<sub>2</sub> não foi contínuo mas feito em apenas um momento no início da incubação, é provável que tenha-se atingido o limite de saturação de CO<sub>2</sub> do meio utilizado.

Em relação aos experimentos utilizando meio sem tampão, os grupos sem injeção



**Gráfico 3.1:** Crescimento semanal médio acumulado. As interrupções nas linhas referem-se às situação em que menos de três indivíduos amostrais não apresentavam danos, sendo o tratamento interrompido. **a.** Meio tamponado borbulhado com diferentes fluxos de CO<sub>2</sub>. **b.** Meio sem tamponamento borbulhado com diferentes fluxos de CO<sub>2</sub>. **c.** Meio acidificado para diferentes valores de pH sem borbulhamento com CO<sub>2</sub>; nos pHs 6,0 e 5,5 houve danos intensos nos indivíduos logo no início do tratamento.



**Gráfico 3.2:** Crescimento (em µg de CaCO<sub>3</sub>) acumulado médio ao longo dos períodos amostrais; as barras representam ± intervalo de confiança de 95%. **a.** Meio tamponado borbulhado com diferentes fluxos de CO<sub>2</sub>; s/i indica grupo amostral sem injeção de CO<sub>2</sub> **b.** Meio sem tamponamento borbulhado com diferentes fluxos de CO<sub>2</sub>. **c.** Meio com acidificado para diferentes valores de pH sem borbulhamento com CO<sub>2</sub>; nos pHs 6,0 e 5,5 houve morte dos indivíduos no início do tratamento.

de CO<sub>2</sub> e com injeção de 0,06 L mostraram valores semelhantes aos mesmos grupos do experimento com meio tamponado. Os grupos com injeção de 0,2 L em diante apresentaram valores menores em relação aos equivalentes grupos com tampão. O grupo com injeção de 0,2 L – que no experimento com meio tamponado exibia um crescimento muito acima dos grupos sem injeção e com volume de 0,06 L – apresenta valores sem diferença significativa com os grupos anteriores (gráfico 3.2b). Apesar disso, os valores são ligeiramente maiores sucessivamente entre esses três grupos, o que poderia novamente levar a diferenças significativas em períodos maiores.

Os grupos seguintes apresentam reduções significativas no crescimento com o sucessivo aumento da injeção de CO<sub>2</sub>. Apenas o grupo com injeção de 0,33 L não apresenta diferenças significativas com o grupo sem injeção, apesar de ser significativamente diferente do grupo anterior, com volume injetado de 0,2 L.

Vale ressaltar que a comparação do valor de crescimento acumulado dos grupos sem tampão com injeção de 0,66 e 1 L de CO<sub>2</sub> com os dos demais grupos pode ser feita apesar deles terem sido descontinuados antes do final do período amostral pela presença de danos nos rodolitos (evidenciados por perda de pigmentação). Isso se deve ao fato de o crescimento dos nódulos ter cessado antes da aparição dos danos, o que faria com que os valores cumulativos se mantivessem os mesmos até o final do período amostral.

A interrupção desses grupos experimentais foi feita como modo de resguardar os rodolitos, evitando que as algas morressem, comprometendo análises futuras dos espécimes. Em todos os casos os rodolitos recuperaram a pigmentação quando colocados em meio regular, voltando a crescer após algumas semanas.

## Experimento de acidificação do meio

Os resultados estão apresentados na tabela 3.3. Nos grupos com pH 6,0 e 5,5 os rodolitos sofreram danos logo na primeira semana, sendo descontinuados. Optou-se por mantê-los representados nas tabelas e gráficos como indicação dos efeitos da acidificação para pHs abaixo de 6,5.

**Tabela 3.3:** Valores semanais médios de crescimento (em µg de CaCO<sub>3</sub>) e respectivos desvios padrão para o experimento de acidificação sem injeção de CO<sub>2</sub>. Campos vazios indicam situação em que apenas 2 ou menos indivíduos amostrais sobreviveram, não sendo portanto estatisticamente representativos.

pH	semanas															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>8,0</b>	0,34 ±,12	0,55 ±,16	0,51 ±,10	0,43 ±,20	0,32 ±,18	0,54 ±,16	0,43 ±,14	0,40 ±,08	0,56 ±,10	0,42 ±,18	0,42 ±,24	0,49 ±,16	0,39 ±,19	0,44 ±,24	0,41 ±,07	0,49 ±,23
<b>7,5</b>	0,38 ±,17	0,39 ±,19	0,29 ±,15	0,50 ±,14	0,49 ±,21	0,46 ±,17	0,47 ±,18	0,46 ±,18	0,36 ±,15	0,40 ±,21	0,45 ±,24	0,39 ±,19	0,37 ±,16	0,46 ±,21	0,32 ±,14	0,39 ±,19
<b>7,0</b>	0,22 ±,14	0,29 ±,15	0,19 ±,17	0,29 ±,19	0,25 ±,19	0,30 ±,12	0,33 ±,13	0,20 ±,16	0,28 ±,15	0,33 ±,13	0,30 ±,14	0,39 ±,13	0,26 ±,10	0,27 ±,16	0,16 ±,11	0,17 ±,11
<b>6,5</b>	0,13 ±,05	0,16 ±,05	0,09 ±,05	0,11 ±,07	0,07 ±,07	0,06 ±,03	0,05 ±,03	0,04 ±,02	0,04 ±,05	0,02 ±,02	0,00 ±,00	-	-	-	-	-
<b>6,0</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>5,5</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

O crescimento cumulativo, indicador da taxa de crescimento (gráfico 3.1c), foi constante para pH 8 (7,96) e 7,5. Não houve diferença significativa no crescimento acumulado ao final de todo o período amostral (gráfico 3.2c) entre esses dois grupos. O grupo com pH 7,0, apesar de possuir uma calcificação significativamente menor, também apresentou crescimento constante ao longo do período amostral. O grupo em pH 6,5 apresentou queda significativa na taxa de crescimento ao longo do experimento, sendo descontinuado após a 11<sup>a</sup> semana por haver a partir de então apenas dois indivíduos amostrais. Entretanto, esses dois nódulos continuaram apresentando taxas mínimas de crescimento (abaixo de 0,01) até a 14<sup>a</sup> semana, sendo que estes dados não estão representados na tabela e no gráfico por não serem estatisticamente representativos. Isso indica que o limite de tolerância para *Lithophyllum* sp. está na faixa de pH de 7,0 a 6,5, considerando-se variações individuais.

Se comparados com os resultados dos experimentos de injeção de CO<sub>2</sub>, verificamos que sem a adição de tampão os valores de pH chegaram, em média, a 6,89 e 6,52 respectivamente nos grupos com injeção de 0,66 e 1L de CO<sub>2</sub>, contra uma média de 8,88 no grupo sem injeção. Nos grupos com adição de tampão os valores flutuaram em torno de 7,5 a 8,5.

## Conclusão

Os resultados aqui apresentados demonstram que, considerando como fator isolado, o aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  dissolvido leva a um aumento na taxa de crescimento da alga coralinácea testada.

Reduções na taxa de crescimento pelo aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  estão relacionadas mais à acidificação do meio do que a um efeito direto do  $\text{CO}_2$ , provavelmente devido à queda na disponibilidade de íons carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) em pHs abaixo de 7,0.

Cruzando os dados de crescimento em meio acidificado pela adição de HCl com aqueles acidificados pela adição de  $\text{CO}_2$ , verifica-se que até o limite de acidificação para pH 7,5 o aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico causa um aumento na taxa de crescimento de *Lithophyllum* sp.. Até o limite de pH 7,0, apesar de uma taxa de crescimento menor, não ocorrem efeitos danosos, ao menos em curto prazo. Considerando que o meio utilizado (MCM) é rico em carbonatos e assim mais tamponado do que a água do mar, esses valores limite de pH devem sofrer variações se considerarmos o ambiente marinho natural, sendo provavelmente mais altos.

Finalmente, apesar dos experimentos terem sido feitos com apenas uma espécie, proveniente de um único local, podemos esperar comportamentos semelhantes aos aqui obtidos para outras algas coralináceas não-articuladas, visto que a calcificação é uma característica basal desse grupo.



## Considerações finais

A maior parte das técnicas estabelecidas neste trabalho foram projetadas para serem utilizadas com algas coralináceas não-articuladas crescendo sobre placas, que não puderam ser utilizadas por motivos alheios ao desenvolvimento deste. Por essa impossibilidade e pela dificuldade em obter nódulos de grande tamanho e em grandes quantidades, os experimentos tiveram que ser conduzidos com um número amostral muito baixo. Além disso, a correção dos valores de calcificação pela área dos nódulos, prevista no Capítulo 2, não foi possível devido à redução da área viva dos nódulos, o que provocaria erro nas estimativas.

Mas apesar dos resultados apresentados não serem conclusivos, devido às suas limitações, eles demonstram que as questões relativas ao impacto do aumento na concentração de CO<sub>2</sub> não são tão simples em se tratando de algas calcárias. Os dados de organismos calcificadores, vindos em sua maioria de corais, não podem ser extrapolados para as algas calcificadoras.

Os resultados obtidos com os experimentos de injeção de CO<sub>2</sub> indicam que, inicialmente, as algas coralináceas poderiam ser sequestradoras de carbono, baseado no fato de terem aumento em sua taxa de crescimento com pequenos aumentos de concentração. Porém esse aumento nas taxas de crescimento é limitado pela queda do pH do meio, abaixo de 7,0 para *Lithophyllum* sp. nas condições testadas e provavelmente abaixo de 7,5 em ambientes naturais.

Devemos considerar que os experimentos foram feitos em volumes pequenos, e que no oceano as mudanças no meio ocorrem de maneira mais lenta, abrindo a possibilidade para que a atuação das algas calcárias ocorra por maiores períodos de tempo. Mas, da mesma maneira que recifes de coral, ao que tudo indica, não terem um papel significativo na concentração de gases atmosféricos, o mesmo poderia ser esperado para formações calcárias algais. Por outro lado, os bancos de rodolitos, possuem distribuição mais ampla e certamente existe um número maior de formações desse tipo do que as conhecidas atualmente, o que poderia modificar essa hipótese. Para estimativas do papel das formações calcárias algas devem ser considerados também outros impactos decorrentes do aumento de CO<sub>2</sub>, como aquecimento global e alterações climáticas (ver Anexo).

Apesar de conclusões sobre impactos globais só poderem ser feitas com base em análises na mesma escala, o desenvolvimento dessas só é possível a partir de dados locais bem estruturados para lhes servirem de base. É o caso, por exemplo, da inclusão de georeferenciamento e outras medidas de precisão geográfica em levantamentos de campo e em medidas de laboratório o estudo do comportamento das espécies frente à variação de parâmetros ambientais.

Ao final, fazem-se necessários extensos trabalhos de pesquisa tanto em laboratório quanto em bancos de rodolitos e outros ambientes calcários formados por algas. Esperamos que este trabalho sirva como fonte de discussões que dêem origem a novos trabalhos que procurem elucidar com mais clareza o papel da calcificação nas algas marinhas para as questões relativas ao aumento global de CO<sub>2</sub> e seus impactos no planeta.

## Referências

- BARNES, D.J.** 1983. Profiling coral reef productivity and calcification using pH and oxygen electrodes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66: 149-161.
- BATES, N.R.** 2001. Interannual variability of oceanic CO<sub>2</sub> and biogeochemical properties in the western North Atlantic subtropical gyre. *Deep-Sea Res.* 48: 1507-1528.
- CHOO, K.S., SNOEIJ, P. & PEDERSEN, M.** 2002. Uptake of inorganic carbon by *Cladophora glomerata* (Chlorophyta) from the Baltic Sea. *J. Phycol.* 38: 493-502.
- COLLINS, S. & BELL, G.** 2004. Phenotypic consequences of 1,000 generations of selection at elevated CO<sub>2</sub> in a green alga. *Nature* 431: 566-569.
- DIGBY, P.S.B.** 1979. Reducing activity and the formation of base in the coralline algae: an electrochemical model. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 59: 455-477.
- EDWARDS, P.** 1970. Illustrated guide to the seaweeds and sea grasses in the vicinity of Porto Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sc.* 15(sup.): 1-228.
- FALKOWSKI, P.G., BARBER, R.T. & SMETACEK, V.** 1998. Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science* 281: 200-206.
- FALKOWSKI, P., SCHOLES, R.J., BOYLE, E., CANADELL, J., CANFIELD, D., ELSER, J., GRUBER, N., HIBBARD, K., HÖGGER, P., LINDER, S., MACKENZIE, F.T., MOORE, B., PEDERSEN, T., ROSENTHAL, Y., SEITZINGER, S., SMETACEK, V. & STEFFEN, W.** 2000. The global carbon cycle: a test of our knowledge of earth as a system. *Science* 290: 291-296.
- FEELY, R.A., SABINE, C.L., LEE, K., BERELSON, W., KLEYPAS, J., FABRY, V.J. & MILLERO, F.J.** 2004. Impact of anthropogenic CO<sub>2</sub> on the CaCO<sub>3</sub> system in the oceans. *Science* 305: 362-366.
- GRANBON, M. & PEDERSEN, M.** 1999. Carbon acquisition strategies of the red alga *Eucheuma denticulatum*. *Hydrobiologia* 399: 349-354.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T. & RYAN, P.D.** 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeont. Elect.* 4: 1-9.
- HEINZE, C.** 2004. Simulating oceanic CaCO<sub>3</sub> export production in the greenhouse. *Geoph. Res. Lett.* 31: 1-4.
- HURLBERT, S.J.** 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiment. *Ecol. Monogr.* 54: 187-211.
- KLEYPAS, J.A. & LANGDON, C.** 2002. Overview of CO<sub>2</sub>-induced changes in seawater chemistry. *Proc. 9th Int. Coral Reef Symp.* 2: 1085-1089.
- LADÉAU, S.L. & CLARK, J.S.** 2001. Rising CO<sub>2</sub> levels and the fecundity of forest trees. *Science* 292: 95-98.
- MORSE, J.W., ANDERSSON, A.J. & MACKENZIE, F.T.** 2006. Initial responses of carbonate-rich shelf sediments to rising atmospheric pCO<sub>2</sub> and "ocean acidification": role of high Mg-calcites. *Geoch. Cosmoch. Acta* 70: 5814-5830.
- ORR, J.C., FABRY, V.J., AUMONT, O., BOPP, L., DONEY, S.C., FEELY, R.A., GNANADESIKAN, A., GRUBER, N., ISHIDA, A., JOOS, F., KEY, R.M., LINDSAY, K., MAIER-REIMER, E., MATEAR, R.,**

- MONFRAY, P., MOUCHET, A., NAJJAR, R.G., PLATTNER, G.K., RODGERS, K.B., SABINE, C.L., SARMIENTO, J.L., SCHLITZER, R., SLATER, R.D., TOTTERDELL, I.J., WEIRIG, M.F., YAMANAKA, Y. & YOOL, A.** 2005. Anthropogenic ocean acidification over twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437: 681-686.
- PLASTINO, E.M.** 1985. As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP: aspectos biológicos e fenologia. *Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.*
- RAVEN, J. (org)** 2005. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. *The Royal Society Report.* 68p.
- RAY, S., KLENELL, M., CHOO, K.S., PEDERSEN, M. & SNOEIJIS, P.** 2003. Carbon acquisition mechanisms in *Chara tomentosa*. *Aquatic Botany* 76: 141-154.
- SABINE, C.L., FEELY, R.A., GRUBER, N., KEY, R.M., LEE, K., BULLISTER, J.L., WANNINKHOF, R., WONG, C.S., WALLACE, D.W.R., TILBROOK, B., MILLERO, F.J., PENG, T.H., KOZYR, A., ONO, T. & RIOS, A.F.** 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO<sub>2</sub>. *Science* 305: 367-371.
- SMITH, S.V. & KEY, G.S.** 1975. Carbon dioxide and metabolism in marine environments. *Limnol. Oceanogr.* 20: 493-495.
- SMITH, S.V. & MACKENZIE, F.T.** 1991. Comments on the role of oceanic biota as a sink for anthropogenic CO<sub>2</sub> emissions. *Global Biogeochemical Cycles* 5: 189-190.
- SNOEIJIS, P., KLENELL, M., CHOO, K.S., COMHAIRE, I., RAY, S. & PEDERSEN, M.** 2002. Strategies for carbon acquisition in the red marine macroalga *Coccotylus truncatus* from the Baltic Sea. *Mar. Biol.* 140: 435-444.
- SOKAL, R. & ROHLF, F.J.** 1995. Biometry – the principles and practice of statistics in biological research. *New York: W.H. Freeman & Co.* 887p.
- TRIBOLLET, A., ATKINSON, M.J. & LANGDON, C.** 2006. Effects of elevated pCO<sub>2</sub> on epilithic and endolithic metabolism of reef carbonates. *Global Change Biology* 12: 2200-2208.
- WOELKERLING, W.J., SPENCER, K.G. & WEST, J.A.** 1983. Studies on selected Corallinaceae (Rhodophyta) and other algae in a defined marine culture medium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 67: 61-77.
- ZAR, J.H.** 1996. Biostatistical analysis (3rd ed.). *New Jersey, USA: Prentice Hall.* 662p.

## **Anexo**

---

# Possíveis impactos das mudanças climáticas globais nas comunidades de organismos marinhos bentônicos da costa brasileira

Berchez, F.; Amancio, C.E.; Ghilardi, N.P. & Oliveira, E.C.

## **Anexo**

### **Possíveis impactos das mudanças climáticas globais nas comunidades de organismos marinhos bentônicos da costa brasileira.**

Berchez, F.; Amancio, C.E.; Ghilardi, N.P. & Oliveira, E.C.

*Capítulo de livro*

Buckeridge, M.S. (ed.) 2007. Biologia das mudanças globais no Brasil. *in press*.

## Introdução

Nos últimos dois séculos a influência do homem sobre os ecossistemas aumentou de maneira significativa, crescendo a um ritmo sem precedentes. A ação antrópica e seus impactos, antes bem localizados e restritos, estenderam-se gradualmente e em muitos casos hoje afetam todo o planeta. O conjunto de alterações climáticas em nível planetário passou então a ser o agente impactante, já independente de suas causas.

Esse desenvolvimento de impactos locais para globais pode ser bem visto nos ambientes marinhos. Sujeitos a uma crescente pressão de exploração de seus recursos e recipientes de um volume cada vez maior dos dejetos das atividades humanas, os oceanos vêm sofrendo alterações consideráveis em suas características físicas e químicas, gerando distúrbios que resultam na mudança da estrutura de suas comunidades biológicas, com conseqüências ecológicas que resultam em problemas econômicos e sociais.

A ação antrópica era inicialmente localizada, sendo restrita a determinados pontos, como bancos de pesca, enquanto os efeitos da poluição eram particularmente notados nos arredores de metrópoles costeiras e grandes áreas portuárias. Entretanto, esses impactos foram se estendendo gradualmente para áreas maiores e em alguns casos se alastraram para todo o planeta, a exemplo da camada de óleo que é atualmente encontrada recobrando a superfície dos oceanos.

Dentre as mudanças globais, a mais notória e divulgada tem sido a provocada pelo aumento da quantidade de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na atmosfera, considerada como a maior fonte de distúrbios potenciais diretos e indiretos em todos os ecossistemas em médio e longo prazo.

Neste capítulo trataremos das comunidades que compõe o bentos macroscópico, isto é, os animais, algas e demais plantas marinhas que ocorrem sobre a superfície oceânica e são visíveis a olho nu. Tendo características especiais, essas comunidades apresentam também fragilidades próprias, diferentes dos demais ecossistemas marinhos.

Dentre estas daremos ênfase às comunidades de substrato consolidado, assentadas numa base sólida, de origem geológica ou biológica. A existência dessa base tem grande importância ecológica por permitir o assentamento de outros organismos sobre ela, contrapondo-se a ambientes de fundos arenosos ou lodosos. Estes são comparativamente muito mais pobres superficialmente, uma vez que, por serem muito instáveis não permitem, na maior parte dos casos, a fixação de organismos sobre eles embora muitos animais vivam enterrados neste tipo de substrato.

No ambiente marinho, a produção primária é realizada pelos organismos fotossintetizantes que são chamados de fitobentos, nome que designa aqueles que vivem fixos a um substrato ou fitoplâncton, formado por organismos igualmente fotossintetizantes que vivem livres na coluna de água. Em conjunto, eles suprem os elos da teia da vida marinha de matéria orgânica e são de grande importância na manutenção da composição da atmosfera terrestre, sendo os principais responsáveis pela absorção do gás carbônico, transformando-o em matéria orgânica e liberando oxigênio através do processo da fotossíntese. Além das algas em geral e das plantas, participam da produção primária alguns grupos de bactérias que integram tanto o bentos como o plâncton.

Além de sua importância ecológica, as comunidades bentônicas apresentam grande importância econômica, tanto pela utilização dos organismos que a constituem como matéria prima ou fonte direta de alimento, como por servir como região de procriação e alimentação para organismos utilizados na alimentação humana como, por exemplo, cardumes de peixes, moluscos e crustáceos. Apesar disso, são freqüentemente desconsideradas nas discussões sobre as alterações que vêm sendo detectadas no ambiente marinho que, na maior parte das vezes, são direcionadas às comunidades planctônicas.

Embora os problemas aqui referidos se apliquem de um modo geral para quase todas as regiões marinhas, procuraremos concentrar nossa análise no litoral do Brasil inicialmente descrevendo os tipos de ambientes e estruturas existentes para, em seguida, tecer considerações sobre os possíveis impactos que eles sofrerão, ou que já estão sofrendo, em decorrência das mudanças climáticas globais.

## As comunidades marinhas de substrato consolidado do litoral brasileiro

As comunidades marinhas bentônicas podem ser divididas arbitrariamente naquelas de fundos areno-lodosos, não consolidados e nas de fundos duros, consolidados. Dentro desta última categoria podem ser destacados os costões rochosos, os recifes de arenitos, os recifes de corais e os bancos de algas calcárias.

Para que se compreenda o impacto que as alterações globais poderão ter nesses ecossistemas é necessário o entendimento de sua estrutura e de algumas características que resultam em sensibilidades.

A denominação “ecossistemas de costão rochoso” se refere àquelas comunidades assentadas sobre rochas do tipo gnaisse ou granito, sendo situados, em sua maior parte, onde cadeias de montanhas se encontram com o mar.

Ocorrem desde Torres, norte do RS, até o Estado do Maranhão, com maior extensão linear na região sudeste, onde o litoral se apresenta bastante recortado e a Serra do Mar próxima da linha de costa. A partir do norte do Estado do Rio de Janeiro as formações rochosas costeiras tornam-se menos extensas e frequentes.

Os costões rochosos podem ser encontrados na forma de paredões contínuos ou de blocos fragmentados, neste caso com inúmeras facetas que resultam em um grande número de habitats e em uma grande diversidade biológica. De forma geral se estendem pouco em direção ao mar, pois apresentam declividade acentuada e logo atingem o fundo com substrato inconsolidado ou substrato consolidado de origem calcária. Na região continental apresentam profundidade máxima normalmente ao redor de 10 a 15m, embora em ilhas possam ser mais profundos.

Os ecossistemas de recifes de arenito compreendem as comunidades presentes sobre rochas de origem metamórfica que acompanham as planícies costeiras desde o litoral do Estado do Espírito Santo até o nordeste, ocorrendo tanto junto à praia como formando barreiras a certa distância do mar. Caracterizam-se por formar um substrato bastante erodido, apresentando inúmeras fendas e locas que, como nos costões rochosos, se refletem em uma alta diversidade.

Devido à sua posição e declividade, sua porção virada para mar aberto é sujeita à ação de intenso hidrodinamismo, termo que aqui utilizamos para designar o grau de movimentação da água, seja por correntes ou ondas, enquanto que a face voltada para a terra é protegida do embate das ondas. Atingem profundidades semelhantes aos dos costões rochosos, mas normalmente se estendem em direção ao mar aberto por distâncias maiores.

Os ecossistemas de recifes de coral são estruturas calcárias de origem biológica relacionadas à ação de corais e de algas coralináceas crostosas, as quais também precipitam uma matriz de carbonatos. Estas formações são usadas como suporte e abrigo por inúmeros outros organismos, com grande biodiversidade. Os recifes coralinos se distribuem em manchas ou cordões interrompidos em vários pontos da costa, especialmente no nordeste do país. Sua distribuição é mais restrita, latitudinalmente, que os ecossistemas de costão rochoso, embora no litoral da Bahia, na região do Arquipélago de Abrolhos, se estendam por uma vasta área, constituindo-se no maior complexo recifal do Atlântico Sul. Embora atinjam profundidades um pouco maiores que a média de ocorrência de costões rochosos, sua expansão é limitada pela penetração da radiação fotossinteticamente ativa na água do mar, da qual dependem as zooxantelas, algas microscópicas associadas aos corais, essenciais para sobrevivência destes organismos.

Os ecossistemas de bancos de algas calcárias são resultantes do crescimento de algas crostosas da Família Corallinaceae, que formam incrustações calcárias laminares, nódulos ou blocos calcários de diferentes tamanhos. Os nódulos, conhecidos como rodolitos por serem avermelhados e semelhantes a pequenos blocos de pedra ou de coral; aparecem geralmente sobre substrato não consolidado, constituído por um cascalho calcário resultante de sua decomposição. São utilizados como suporte por uma grande diversidade de organismos, incluindo algas foliáceas ou carnosas e vários grupos de invertebrados que vivem sobre eles ou no interior de suas cavidades. De forma semelhante aos recifes de coral, essa também é uma formação calcária de origem biológica.

Os fundos de algas calcárias diferem dos fundos rochosos, entre outros aspectos, por apresentar gradientes mais amenos, especialmente de declividade e se estenderem até profundidades mais elevadas. Em virtude disto não apresentam faixas dominadas por uma espécie, mas sim um complexo mosaico de espécies diferentes vivendo lado a lado. Esse ecossistema, embora muito pouco conhecido no Brasil, ocupa vastas áreas da parte mais rasa da plataforma continental, indo desde o limite inferior das marés mais baixas até cerca de 100 m de profundidade. É encontrado, com algumas descontinuidades, desde o litoral norte do Rio de Janeiro até o Maranhão, embora manchas isoladas ocorram também em Santa Catarina.

A existência de substrato consolidado em uma área tão extensa tem grande importância ecológica e econômica, pois resulta em uma maior diversidade e biomassa de organismos, alguns com importância econômica direta como, por exemplo, lagostas ou diversas espécies de pescado, ou indireta, na alimentação e como berçário de espécies comerciais.

Diferem da região equivalente da plataforma continental brasileira ao sul do Rio de Janeiro, onde predominam fundos areno-lodosos, muito mais pobres em biomassa, diversidade e na presença de produtores primários.

Além dos ambientes já descritos cabe mencionar os ecossistemas de manguezal que, em sua maioria, ocupam extensas áreas na região das planícies costeiras de confluência de rios com o mar. Embora de fundo não consolidado, permitem a fixação de organismos macroscópicos sobre a porção de caules e raízes sujeitas à inundação pelas marés altas. Com alta concentração de nutrientes e oferecendo um ambiente mais protegido do que o mar aberto, os manguezais são especialmente importantes como locais de procriação e sobrevivência de formas juvenis de peixes e crustáceos.

## **Possíveis impactos das mudanças ambientais globais nas comunidades do bentos marinho**

As comunidades biológicas têm sua estrutura regulada por uma interação complexa de fatores bióticos e abióticos, o que torna a previsão dos resultados de uma alteração ambiental imprecisa e difícil de ser feita. Além disso, fenômenos biológicos possuem caracteristicamente alta plasticidade de resposta, ao contrário dos físicos e químicos, restringindo nossas projeções a tendências mais gerais. Veremos que isso é particularmente verdade no caso das alterações globais e do ambiente marinho, onde diversos desses fatores ecológicos interligados estão sendo alterados e influenciados simultaneamente. Acresce a isso a relativa falta de conhecimentos sobre essas interações no mar, especialmente quando comparadas ao ambiente terrestre, muito mais estudado. Dessa forma, as hipóteses que apresentamos a seguir têm um caráter reflexivo, visando nortear eventuais programas de monitoramento e ações de proteção.

Lobban & Harrison (1995) e Pereira & Soares-Gomes (2002) servem como referências iniciais dos fatores que regulam a estrutura das comunidades bentônicas e qual sua importância. Nessas comunidades, assim como no ambiente marinho de forma geral, esses fatores diferem bastante daqueles considerados como importantes no ambiente terrestre, sendo grande parte deles relacionado à água do mar, como o hidrodinamismo, a deposição de sedimentos ou a variação de marés.

### **Hidrodinamismo – alterações associadas a distúrbios atmosféricos**

O termo hidrodinamismo designa o grau de movimentação de água, seja ele causado por qualquer fonte e em qualquer escala como, por exemplo, a movimentação de ondas e correntes. As últimas, por possuírem características particulares, serão tratadas aqui em um tópico à parte.

Como fator ambiental sem paralelo no ambiente terrestre, o hidrodinamismo tem extraordinária importância para as comunidades bentônicas marinhas, regulando sua estrutura mesmo em baixas escalas de variação e impactando-as profundamente quando de seu aumento, normalmente associado à ocorrência de tempestades, ressacas, furacões, ciclones e mesmo outros distúrbios atmosféricos de menor intensidade. O aumento da incidência destes fenômenos, que aparentemente já é uma realidade, tem um impacto devastador nas



comunidades marinhas.

No ambiente marinho cada organismo apresenta um nível ótimo e uma faixa de tolerância ao grau de movimentação da água. O limite mínimo está ligado principalmente ao índice de difusão das substâncias dissolvidas na água, essencial para trocas gasosas e de nutrientes e para eliminação de excretas. O limite máximo está relacionado à capacidade de resistência das estruturas de fixação ao arranque pelo impacto das ondas e correntes, ou à abrasão pelo sedimento particulado, como areia ou silte, carregado pela água, sem falar dos danos causados por projéteis maiores, como pedras.

A movimentação da água resulta ainda na instabilidade do substrato ao qual os organismos bentônicos estão aderidos. Blocos de rocha de pequeno e grande tamanho podem ser carregados, tendo sua posição e a dos organismos a eles ligados alterada, com completa mudança das condições ambientais.

Esse tipo de impacto nas comunidades bentônicas pode ser observado em costões rochosos após a ocorrência de ressacas de maior intensidade, podendo-se constatar a remoção da maior parte dos organismos das partes diretamente voltadas para o mar, restando apenas fragmentos, como manchas isoladas de algas filamentosas e a base de algumas algas. Mesmo organismos mais resistentes e com carapaça, como cracas, podem ser totalmente destruídos, restando, apenas um disco branco de sua parte basal. O impacto nas faces laterais e posteriores das rochas também é considerável, embora não tão intenso. Inúmeros blocos de médio porte e mesmo alguns acima de meio metro de diâmetro são revirados ou transportados para níveis mais altos, com a conseqüente morte dos organismos a eles fixados.

Em outros casos, quando o substrato consolidado ocorre entremeado ao inconsolidado, além de uma maior abrasão os organismos estão sujeitos ao soterramento, com conseqüências previsíveis.

Isso ocorre, por exemplo, nos bancos de algas calcárias situados na plataforma continental de média profundidade (aproximadamente 5 a 25 metros) do litoral sul do Espírito Santo. Tendo em vista que o substrato consolidado que suporta os organismos nesses ecossistemas é constituído, em sua maioria, por rodolitos ou blocos calcários de pequeno tamanho, circundado por cascalho ou areia, uma maior agitação da água do mar resultam em um impacto acentuado. Observações feitas entre 1986 e 1994 mostraram uma estabilidade na estrutura na comunidade até 1992. De 1992 a 1994, data da última observação realizada, notou-se uma drástica redução na complexidade, diversidade e riqueza da comunidade, sendo beneficiadas aquelas espécies caracteristicamente resistentes ao soterramento. Associada a isso foi constatada a presença de grande quantidade de restos de organismos enterrados, parcialmente ou totalmente danificados, ainda presos aos rodolitos a que se fixavam.

Esse caso ainda exemplifica um grande problema, que é a diferenciação de fenômenos de ocorrência natural causados por ciclos estacionais, interanuais ou de longa duração, sobre os quais conhecemos quase nada, daqueles ligados aos impactos globais. Embora ainda difíceis de detectar, mudanças locais de hidrodinamismo já vêm ocorrendo e podem já estar influenciando as comunidades marinhas.

Em outros casos, onde o sedimento inconsolidado próximo ao fundo é de granulação menor, do tipo argila ou silte, o aumento na agitação da água do mar pode resultar ainda em sua suspensão, com aumento da sua deposição sobre os organismos bentônicos e redução drástica da penetração da radiação solar, impactando a produtividade primária e alterando a relação entre produtores e consumidores. É o caso, por exemplo, dos costões situados nas enseadas da região de Ubatuba (SP) durante os meses de outono, quando as seguidas frentes frias provocam um aumento do hidrodinamismo.

Esses exemplos deixam evidente que distúrbios relacionados ao hidrodinamismo são constantes e, em determinadas situações, causam grande impacto nas comunidades bentônicas. No caso de distúrbios atmosféricos de grande intensidade, como tempestades e furacões, tendo em vista serem distúrbios pontuais e de curto prazo, as comunidades marinhas costumam se restabelecer de maneira particularmente rápida quando comparadas às de ambientes terrestres. Entretanto, essa capacidade de recuperação é limitada e pode ser insuficiente, caso efetivamente ocorra um aumento na intensidade e frequência desses distúrbios, o que resultaria em alterações definitivas na estrutura da comunidade.

## Hidrodinamismo – correntes marinhas

Relacionado ainda à movimentação da água do mar podem ser consideradas as correntes marinhas, tanto locais como oceânicas, que têm grande influência na distribuição dos organismos, sendo fundamentais na determinação da composição dos componentes das comunidades, sua abundância e tamanho.

No Brasil, as águas costeiras de forma geral são quentes e pobres em nutrientes. Entretanto, correntes frias provenientes do sul correm paralelamente à costa nas regiões mais profundas da plataforma continental ressurgindo, por exemplo, na região de Cabo Frio. Correntes frias, que trazem águas de regiões mais profundas normalmente são ricas em nutrientes e resultam, por sua temperatura, em uma maior relação entre taxa fotossintética e respiratória, permitindo o desenvolvimento mais rápido de produtores primários com porte maior, que resultam em uma cadeia ecológica mais longa, com maior biomassa e renovação mais rápida. As algas marinhas gigantes (*kelps*) estão, por exemplo, associadas a esse tipo de água.

Não só em Cabo Frio, mas também em outros pontos do litoral sudeste, essas massas de água fria afloram na superfície causando o fenômeno também conhecido como ressurgência e se aproximam da região costeira durante os meses de verão, promovendo, na região de interface, o enriquecimento da água quente superficial.

Esta mudança nas propriedades da água ocasiona alterações marcantes na biota local nas regiões localizadas onde ocorrem. Em curto prazo resultam em uma concentração elevada de organismos planctônicos e bentônicos, com reflexos na pesca. Esse fenômeno resulta na ocorrência nessa região, situada entre sul e sudeste brasileiros e denominada por alguns como “Arco de Capricórnio”, de organismos característicos tanto de regiões de águas frias como quentes.

Da mesma forma, no litoral do Espírito Santo é bem possível que a grande riqueza de algas se deva à ocorrência de representantes tanto da flora caribenha como sub-tropical, relacionada a correntes frias. Ali, na região mais profunda da plataforma, essa corrente fria é relacionada, por exemplo, à ocorrência de espécies de algas de grande porte do gênero *Laminaria*, na região denominada “Mar das Bananeiras”, que recebe esse nome em função da forma característica desse gênero.

Embora o efeito de eventuais alterações no sentido de circulação e velocidade dessas correntes como consequência das mudanças climáticas globais seja imprevisível, é muito provável que resulte em alterações significativas da estrutura das comunidades bentônicas de forma geral.

Ao se considerar correntes locais, de menor porte, mudanças em curto prazo podem vir a ocorrer em função de alterações nas condições atmosféricas.

Como exemplo pode ser citado o caso das correntes que entram no Canal de São Sebastião, SP, circundado por costões rochosos. A corrente flui na maior parte do tempo a partir da entrada nordeste do canal (sentido SW), sendo então de menor intensidade e associada a águas provenientes das enseadas próximas, que carregam grande quantidade de sedimentos que se depositam sobre os organismos bentônicos, recobrando-os totalmente em alguns locais.

Em outros períodos, normalmente relacionados à entrada de frentes frias, flui a partir da entrada sudoeste do canal (sentido NE), tendo então maior velocidade e estando associada a correntes de mar aberto, de águas mais frias e claras. Nesses períodos, grande parte do sedimento lodoso é retirado de sobre os organismos, mudando totalmente as condições a que eles estão sujeitos e a fisionomia das comunidades. Pode-se também notar nesses períodos a entrada de organismos característicos de águas oceânicas que podem influenciar a comunidade local. Dessa forma, a prevista alteração da frequência de frentes frias por ação de mudanças globais pode influenciar as dinâmicas locais de circulação, levando alterações da comunidade.

O mesmo é esperado para cada enseada ou baía, com sua dinâmica específica. Além disso, as correntes locais também devem sofrer mudanças em longo prazo em consequência do aumento no nível do oceano o que provocará uma mudança no perfil da costa.

Não discutimos aqui as mudanças previstas na circulação das grandes correntes oceânicas, cujos resultados poderão afetar o clima, de forma dramática, sob diferentes aspectos, em regiões geográficas muito extensas.

### **Aquecimento da água do mar**

Dentre as alterações globais esperadas como consequência do acúmulo do CO<sub>2</sub> na atmosfera está o aumento médio da temperatura da biosfera e, conseqüentemente, também da água do mar. Devido ao elevado calor específico da água, isto é, da quantidade de energia necessária para aumentar a temperatura de uma determinada massa de água, as variações de temperatura esperadas no ambiente marinho são menores do que as esperadas para o ambiente terrestre. No entanto, como a temperatura é um fator chave na distribuição dos organismos, mesmo pequenas variações podem ter efeitos significativos nas comunidades.

Já está bem demonstrado que o aquecimento da água superficial está relacionado à morte de corais. Este fenômeno é conhecido como “branqueamento” e é causado pela morte das algas associadas aos corais, denominadas zooxantelas, e que são essenciais para a sobrevivência.

No Brasil esse fenômeno é particularmente importante para as grandes comunidades de recifes de coral da Bahia e nordeste brasileiro. Entretanto, embora esse fato seja muito menos conhecido ou divulgado, o mesmo fenômeno afetaria as comunidades de zoantídios, popularmente chamados de corais moles. Essas comunidades recobrem grande parte do substrato no infralitoral e a franja do médio-litoral brasileiro sendo, portanto, muito importantes e abundantes em toda a costa brasileira, tanto em costões rochosos, como em recifes de arenito e mesmo em alguns bancos de algas calcárias situados mais próximos à costa. Empiricamente, temos observado em costões rochosos da região de Ubatuba que essas colônias apresentam retrações em sua distribuição durante os meses quentes de verão, quando os indivíduos mais próximos da costa e mais superficiais sofrem inicialmente um branqueamento e depois se desprendem, sendo substituídos por outros organismos.

Entretanto, mesmo para outros organismos, alterações nas temperaturas médias e a ocorrência de picos incomuns de temperatura mais elevada devem levar a mudanças na estrutura das comunidades, devido à alteração nos limites ótimos de desenvolvimento ou de resistência. As espécies respondem a aumentos de temperatura em diferentes taxas devido a diferenças em seus metabolismos, processos fisiológicos e comportamento, que influenciam o crescimento e sobrevivência, a taxa reprodutiva, fenologia e sucesso no recrutamento. Contrações e expansões dos limites de distribuição geográfica levarão tanto ao desaparecimento quanto à introdução de espécies oriundas de outras regiões nas comunidades. Entre muitos exemplos possíveis, isso foi reportado para espécies do Reino Unido, sendo que algumas ampliaram sua distribuição geográfica em direção ao norte enquanto outras tiveram expansão do ciclo anual reprodutivo e da sobrevivência de indivíduos juvenis.

No litoral brasileiro, à medida que o aquecimento global continua, é esperado um aumento da amplitude geográfica das espécies no sentido sul, já que as mesmas respondem à alteração do “espaço climático” propício que elas podem habitar.

### **Variação do nível médio do mar**

Um efeito esperado em função do aumento global da temperatura do planeta está relacionado ao aumento do nível médio do mar, consequência do derretimento do gelo das calotas polares e da dilatação da água do mar, que embora pequena pode ser significativa devido ao volume total dos oceanos.

Uma característica universal dos organismos marinhos bentônicos de substrato consolidado é sua distribuição em zonas, como em curvas de nível, particularmente bem delimitadas na região entre marés, onde agrupamentos de espécies diferentes de algas e animais se sucedem em uma escala vertical característica. Esta distribuição em faixas verticais é conhecida como zonação e mesmo pequenas variações do nível da água podem resultar na não adaptação e morte de organismos.

No caso dos organismos da região entre marés isso ocorre como resultado principalmente da variação do tempo de exposição ao ar durante a maré baixa. Em áreas mais profundas, o impacto maior ocorre nos organismos dependentes da fotossíntese, como algas, corais e zoantídios, devido à variação da quantidade de radiação solar disponível. Em uma reação em cadeia, essas mudanças podem alterar as interações bióticas de competição e predação, tendo como resultado grandes mudanças nas comunidades afetadas.

## **Acidificação da água do mar**

O aumento da acidez da água do mar vem sendo apontado em trabalhos recentes como um dos distúrbios mais críticos que as comunidades marinhas deverão sofrer.

Cerca de um quarto do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) liberado na atmosfera se dissolve no oceano. Parte desse  $\text{CO}_2$  reage com a água formando ácido carbônico que, por sua vez, reage com íons carbonato presentes na água, resultando na liberação de íons  $\text{H}^+$ . A quantidade de íons  $\text{H}^+$  determina o grau de acidez ou alcalinidade e é medido pela unidade pH: quanto menor o pH, maior a quantidade de íons  $\text{H}^+$  e maior a acidez.

Estima-se que desde o início da era industrial o pH dos oceanos tenha sofrido uma queda média de 0,1 devendo cair mais 0,3 até o final do século. Esse processo deverá ser inicialmente mais intenso nas regiões mais frias, estendendo-se progressivamente em direção às águas tropicais.

Além de impactos na fisiologia dos organismos, por alterações no balanço iônico das substâncias presentes na água do mar, a acidificação dos oceanos provoca alterações no sistema carbonato, comprometendo a sobrevivência de algas calcárias e de animais como moluscos, corais, crustáceos e outros animais calcificados. Se a tendência atual de acidificação se mantiver, após o ano 2150 o pH deve atingir um valor no qual o balanço químico do sistema carbonato se inverterá, prevalecendo a dissolução do carbonato de cálcio ao invés de sua deposição o que acarretará a saída de  $\text{CO}_2$  do mar para a atmosfera agravando ainda mais o efeito estufa. Ensaios realizados com organismos calcificados mostram que em condições de acidez bem menores que essa a deposição de cálcio se torna instável. Além disso, a reação do gás carbônico dissolvido com o íon carbonato reduz a disponibilidade desse íon, matéria prima na formação das matrizes calcárias.

Embora a principal ameaça sugerida na literatura como relacionada à acidificação da água do mar seja o comprometimento dos organismos planctônicos calcificados, no caso do bentos da costa brasileira a principal ameaça parece estar relacionada aos extensos bancos de algas calcárias da plataforma continental e aos recifes de coral.

Embora não conheçamos ensaios a respeito, possivelmente o aumento da acidez resulte no comprometimento do crescimento e da estabilidade das algas calcárias, presentes tanto nos nódulos e blocos calcários dos bancos de algas calcárias, as quais atuam na consolidação dos recifes de coral. Mesmo a matriz calcária morta teria muito mais facilidade para se fragmentar, reduzindo drasticamente a disponibilidade de substrato consolidado nesses ecossistemas, que seria substituído por áreas de cascalho ou areia, com dramática redução da biodiversidade e sérias implicações ecológicas e econômicas.

As alterações listadas anteriormente eram, em sua maioria, de natureza física e acarretavam impactos relacionados principalmente à estrutura ecológica das comunidades. Alterações nas características químicas em um meio circundante aos organismos, como a água do mar, resultam em impactos com menor possibilidade de adaptação por parte das comunidades biológicas.

## **Considerações finais e propostas de ação**

As considerações apresentadas neste trabalho representam uma visão particular e especulativa dos principais cenários que podem ser esperados a partir dos distúrbios decorrentes de alterações globais nas comunidades bentônicas do litoral brasileiro.

Além da complexidade de fatores e interações envolvidos e da plasticidade dos sistemas biológicos, previsões mais precisas são comprometidas pela falta de informações acerca dos ambientes marinhos, dentre as quais destacamos o mapeamento das comunidades e os correspondentes dados descritivos sobre suas estruturas, os quais são muito escassos ou inexistentes.

Essa falta impede até o monitoramento, essencial para saber se efetivamente estão ocorrendo alterações. Considerando os trabalhos já publicados, temos uma área mapeada inferior a  $500 \text{ m}^2$  para o litoral do Brasil inteiro. Talvez a maior deficiência seja em relação aos bancos de algas calcárias, tipo de ambiente de maior área e possivelmente importância de nossa costa, sobre o qual não há nenhum estudo publicado.

Essa situação é muito diferente do que ocorre nos ecossistemas terrestres onde, devido a vários fatores, relativos ao fato do homem ser um animal terrestre, e ao uso de técnicas de sensoriamento remoto ou relacionadas à ecologia da paisagem, temos grande parte do território mapeado com razoável grau de precisão.

Outros dados que permitam prever o comportamento de populações e comunidades frente a distúrbios também são escassos como, por exemplo, os de ecofisiologia, de ecologia experimental ou sobre os efeitos de diferentes tipos de impactos antrópicos. Mesmo os levantamentos taxonômicos, embora mais numerosos e abrangendo todos os ambientes da costa brasileira, são normalmente restritos a determinadas estações de coleta e a determinados grupos taxonômicos, havendo filões inteiros que não possuem especialistas atuando no Brasil.

Essa ausência de dados compromete a própria percepção da existência, extensão e grau de importância de eventuais mudanças nas comunidades bentônicas, bem como limita os dados que podem ser obtidos a partir de seu monitoramento, essencial para a tomada de medidas mitigadoras como, por exemplo, o manejo de recursos naturais ameaçados.

Além disso, há que se considerar a dificuldade de previsões frente a um tipo de distúrbio que nunca ocorreu antes, o que é verdade mesmo para as comunidades terrestres. Apesar de terem sido apresentados em tópicos separados, os diferentes distúrbios descritos atuam simultaneamente e interagem entre si, bem como alteram outros fatores ambientais, possivelmente potencializando seu impacto nos ecossistemas, o que torna a projeção de um cenário ainda mais incerta.

Tomando como exemplo os bancos de algas calcárias, blocos e nódulos já parcialmente descalcificados como conseqüência da acidificação da água do mar poderão sofrer um aumento no processo de fragmentação devido ao aumento do hidrodinamismo, resultando em uma maior proporção de substrato areia ou silte o que, por sua vez facilitará o soterramento dos blocos restantes pela própria ação das ondas. Simultaneamente o aumento do nível da água do mar reduzirá a penetração de radiação solar, comprometendo a fotossíntese.

Um aspecto muito importante é a ausência de consenso no que tange às previsões de caráter geral relacionadas às mudanças climáticas globais. No caso do litoral brasileiro não há registros ainda de alterações causadas pelo aumento da temperatura, não porque eles ainda não tenham se efetivado, mas porque não existem registros pretéritos seguros que nos sirvam de base de comparação em séries históricas.

No que diz respeito ao fitobentos, o caso mais bem estudado é o da Baía de Santos que vem sendo acompanhado por um período de cerca de 50 anos e que passou por grandes alterações ao longo do tempo. No entanto, ao que tudo indica, estas alterações estão ligadas a problemas locais de poluição causados pelo crescimento das cidades e da região industrial de Cubatão e não a impactos globais, constituindo um bom exemplo de como as comunidades são dinâmicas e se alteram no tempo em função da mudança de parâmetros ambientais. Esse caso ilustra também a existência de distúrbios ambientais locais tão graves que podem sobrepor ou mascarar, por enquanto, efeitos globais.

Mesmo que nem todas as previsões de alterações se confirmem, a ocorrência de apenas algumas delas já nos parece um cenário altamente preocupante, com conseqüências econômicas e sociais desproporcionais. O comprometimento das áreas de produção marinhas terá como conseqüência a redução possivelmente dramática dos recursos obtidos de forma extrativista como, por exemplo, a partir da pesca, ou de parte das fazendas marinhas.

Entretanto, apesar do dinamismo das comunidades biológicas e do grande impacto de distúrbios ambientais locais, o fato é que precisamos estar preparados para identificar eventuais alterações causadas por mudanças climáticas globais e sua amplitude. Embora não haja evidências definitivas de sua ocorrência em nosso litoral, isso não significa que se deva ignorar a essa possibilidade, uma vez que grandes alterações climáticas, em escala nunca antes observada certamente vêm ocorrendo, mesmo que não seja possível termos certeza absoluta sobre suas causas.

Na ausência de um conhecimento de base que nos permita avaliá-las e delinear ações preventivas, só nos resta formular hipóteses e criar cenários alternativos ainda bastante imprecisos.

No que concerne ao bentos da costa brasileira pode-se lançar algumas hipóteses de trabalho, como por exemplo que (1) o aumento da temperatura da água do mar ocasionará uma

redistribuição das espécies ao longo da costa; (2) a acidificação trará sérios problemas aos organismos que precipitam carbonatos como alguns grupos de algas, recifes de coral e animais com conchas e carapaças, bem como para os recifes e fundos calcários, que servem como substrato para uma alta biodiversidade de organismos; (3) o aumento do nível médio do mar ocasionará uma migração vertical de organismos e colonização de novas áreas ou e (4) que uma parcela significativa de espécies que não tiverem capacidade de se adaptar será eliminada devido a esse conjunto de transformações, reduzindo significativamente a biodiversidade.

Como recomendação geral nos parece que a providência imediata a ser tomada é conscientizar o governo sobre a necessidade de um esforço concentrado no estudo do ambiente marinho, aprofundando e estendendo a linha de ação lançada com o programa REVIZEE (Programa de Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva), através do estudo não apenas taxonômico, mas também ecológico desses ecossistemas, em especial no mapeamento da distribuição espacial desses organismos, de forma a permitir o estabelecimento de estações para seu monitoramento temporal.

Nesse sentido, seria desejável promover a união, em um esforço comum e organizado, de todos os grupos que atualmente se dedicam à caracterização estrutural das comunidades bentônicas e multiplicar o número de pesquisadores existentes através de programas de formação específicos, intensivos e de caráter urgente. Além disso, frente a mudanças complexas e de alcance planetário, faz-se necessário o estabelecimento de programas multidisciplinares e inter-institucionais.

A implantação de projetos extensos de mapeamento e o conseqüente estabelecimento de estações de monitoramento dependerão certamente do desenvolvimento de técnicas não convencionais, em especial ligadas ao sensoriamento remoto por satélites ou aviões e à caracterização de comunidades em níveis hierárquicos superiores ao de espécie. Técnicas desse tipo permitem o estudo das comunidades biológicas por grandes extensões geográficas em curtos espaços de tempo.

Diversas metodologias com esse objetivo tem sido testadas no estudo das comunidades bentônicas, por exemplo, onde apenas as espécies dominantes são amostradas, ou quando é feito o uso de imagens como elementos amostrais ou ainda com a amostragem de elementos visuais da paisagem com nível, dentro da heterogeneidade espacial, superior a espécie.

Na nossa opinião, o ambiente prioritário, mas não exclusivo, a ser estudado é a região de média profundidade da plataforma continental constituída pelos bancos de algas calcárias, por ser o ambiente de maior amplitude, possivelmente de maior importância ecológica e que estará mais sujeito a distúrbios oriundos de mudanças globais e onde, paradoxalmente, praticamente não existem trabalhos publicados.

## Sugestão de leituras

- LOBBAN, C. & HARRISON, P.J.** 1994. Seaweed ecology and physiology. *Cambridge: Cambridge University Press. 366p.*
- OLIVEIRA, E.C., HORTA, P.A., AMANCIO, C.E. & SANT'ANNA, C.L.** 2001. Algas e angiospermas marinhas bênticas do litoral brasileiro. *In: Ministério do Meio Ambiente (org.). Macrodiagnóstico da Zona Costeira do Brasil. Rio de Janeiro: Ministério do Meio Ambiente.*
- PEREIRA, R.C. & SOARES-GOMES, A. (org.)** 2002. Biologia marinha. *Rio de Janeiro: Interciência. 382p.*

## Sites

Algae Maris Brasilis – [www.ib.usp.br/algaemaris](http://www.ib.usp.br/algaemaris)

Programa REVIZEE – [www.mma.gov.br/port/sqa/projeto/revizee/](http://www.mma.gov.br/port/sqa/projeto/revizee/)

Projeto Ecossistemas Costeiros – [www.ib.usp.br/ecosteios](http://www.ib.usp.br/ecosteios)

“A história, é claro, está longe de ter terminado. Mas sabemos que não conseguiremos mais nada dessa fonte e, com desconforto, partimos. As névoas estão se erguendo, e é hora de voltar.

Chegamos no meio, observamos por um tempo, partimos antes que as luzes se acendam. Se não existe início, não pode haver um fim. Estamos sozinhos na escuridão. Cada resposta suscita outra pergunta, e as coisas estão acontecendo o tempo todo.”

Neil Gaiman  
*A casa de bonecas*

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)