UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” - UNESP
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – CAMPUS DO LITORAL PAULISTA

LETÍCIA VIANA BARBOZA

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ACIDIFICAÇÃO OCEÂNICA NA FOTOSSÍNTESE DE *ULVA FASCIATA*

SÃO VICENTE - SP
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" - UNESP
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – CAMPUS DO LITORAL PAULISTA

LETÍCIA VIANA BARBOZA

Avaliação dos efeitos da acidificação oceânica na fotossíntese de *Ulva fasciata*

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Gerenciamento Costeiro pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Orientador: Professor Dr. Milton Costa Lima Neto

Co-orientadora: Me. Fernanda Ribeiro de Freitas

SÃO VICENTE - SP
2023

B239a

Barboza, Letícia Viana
Avaliação dos efeitos da acidificação oceânica na fotossíntese de Ulva fasciata / Letícia Viana Barboza. -- São Vicente, 2023
34 f. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente
Orientador: Milton Costa Lima Neto
Coorientadora: Fernanda Ribeiro De Freitas

1. Fisiologia Vegetal. 2. Alga Marinha. 3. Fotossíntese. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, Rute Viana e Celso Felipe, obrigada por todo o apoio que vocês me deram ao longo da minha vida escolar e acadêmica, sempre me incentivando a continuar apesar das dificuldades e dos problemas. Agradeço imensamente por sempre estarem ao meu lado me aconselhando e ajudando, sem vocês não teria chegado até aqui. Nunca conseguirei retribuir tudo o que já fizeram por mim, saibam que vocês fizeram o melhor possível e muito além dele. Amo vocês!

Agradeço também a minha irmã, Anne Viana, minha prima e quase irmã Daniele Viana, minha madrinha Dora, prima Niara, prima Laura e toda a minha família, vocês são muito importantes para mim.

Agradeço também aos meus amigos Liliane Gomes, Thiago Delmiro, Vitany Xavier, Gabrielle Nascimento e Beatriz Donadio. Vocês me ajudaram muito ao longo da graduação e foram muito importantes para a minha formação, obrigada por todas as risadas, sem dúvidas deixaram esses anos mais leves e suportáveis. Agradeço demais por vocês terem entrado na minha vida, principalmente durante o momento tão assustador que foi a pandemia. Nunca vou me esquecer de vocês! (e, claro, agradecimento especial ao Thiago/Frozen por ter me ajudado com minhas algas).

Outro importante agradecimento vai para o meu orientador, Dr. Milton Costa, obrigada por todo o apoio ao longo desse último ano de graduação, por responder todas as minhas dúvidas e por ter me ajudado a iniciar nas ciências, com certeza levarei para toda minha carreira os aprendizados que obtive durante esse período.

Agradeço também a minha co-orientadora, Fernanda Ribeiro, por ter me ajudado ao longo dos experimentos e sempre ter tirado minhas dúvidas e me incentivado a seguir nas ciências.

Aos integrantes do laboratório LABMEP, por terem sido tão acolhedores e por terem me ajudado com as minhas algas e dúvidas.

Ao Dr. Ítalo Braga, por ter cedido seu laboratório na Unifesp para a realização dos meus experimentos com pH.

Ao Dr. Rafael Duarte, por ter fornecido os aquários e equipamentos para o cultivo de minhas algas.

E, por fim, a FAPESP, por ter financiado minha pesquisa de IC e possibilitado a sua realização.

RESUMO

Com a industrialização ocorreu um aumento da emissão do gás dióxido de carbono, o que tem provocado diversos problemas, desde questões acerca das mudanças climáticas até a acidificação dos oceanos. A acidificação oceânica é ocasionada, pois os oceanos funcionam como sequestradores de carbono, absorvendo uma parcela considerável do CO_2 atmosférico. Entretanto, essa captação provoca uma diminuição do pH e aumento da acidez oceânica, já que quando o CO_2 é absorvido pelo oceano ele reage com a água, desencadeando uma série de reações químicas reversíveis que resultam na liberação de íons de hidrogênio (H^+) nesse meio. Assim, como resultado dessa alteração do pH, são diversos os impactos sobre os organismos marinhos, influenciando na fisiologia, fixação de carbono e na taxa de calcificação desses. Além disso, considerando que em regiões costeiras a acidificação oceânica pode, ainda, ser ocasionada por outros fatores, é imprescindível a realização de estudos quanto aos possíveis impactos dessa mudança sobre os organismos costeiros, principalmente com relação às algas marinhas e a fotossíntese. A partir disso, o presente estudo utilizou a espécie *Ulva fasciata*, considerando sua ampla distribuição, abundância e importância econômica. Desta forma, foram avaliados os efeitos fotossintéticos resultantes da exposição da *U. fasciata* a dois diferentes valores de pH: pH 8.2, grupo controle e pH 7.5, valor representativo da acidez oceânica; outros parâmetros também foram estudados, como o dano de membrana, umidade, teores de pigmentos fotossintéticos e conteúdo relativo de água. Os resultados demonstraram que a espécie estudada apresenta tolerância ao pH 7.5, já que a eficiência fotossintética não foi alterada com a acidez.

Palavras-chave: acidificação oceânica; *Ulva fasciata*; fotossíntese.

ABSTRACT

With industrialization, there has been an increase in the emission of carbon dioxide gas, which has caused several problems, from questions about climate change to ocean acidification. Ocean acidification is caused, as the oceans act as a carbon sink, absorbing a considerable portion of atmospheric CO2. However, this uptake causes a decrease in pH and an increase in ocean acidity, since when CO2 is absorbed by the ocean it reacts with water, triggering a series of reversible chemical reactions that result in the release of hydrogen ions (H+) in this medium. Thus, as a result of this change in pH, there are several impacts on marine organisms, influencing their physiology, carbon fixation and their calcification rate. In addition, considering that in coastal regions ocean acidification can also be caused by other factors, it is essential to carry out studies on the possible impacts of this change on coastal organisms, especially in relation to marine algae and photosynthesis. From this, the present study used the species *Ulva fasciata*, considering the numerous characteristics of this important macroalgae, such as: wide distribution, abundance and economic importance. Thus, the photosynthetic effects resulting from the exposure of *U. fasciata* to two different pH values were evaluated: pH 8.2, control group, and pH 7.5, a representative value of oceanic acidity; other parameters were also studied, such as membrane damage, humidity, photosynthetic pigments, and relative water content. The results demonstrated that the studied species present tolerance to pH 7.5 since the photosynthetic efficiency was not altered with acidity.

Keywords: ocean acidification; *Ulva fasciata*; photosynthesis.

LISTA DE SIGLAS

ATP - Adenosina tri-fosfato,

PSII - Fotossistema II,

Y(II) - Eficiência quântica efetiva do PSII,

Fv/Fm - Eficiência quântica potencial do PSII,

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato,

NPQ - Quenching não fotoquímico,

qP - Quenching fotoquímico,

ETR - Taxa aparente de transporte de elétrons.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 8

2 OBJETIVOS..... 14
2.1 Gerais..... 14
2.2 Específicos..... 14

3 MATERIAIS E MÉTODOS.....15
3.1 Design Experimental.....15
3.2 Fluorescência de Clorofila a..... 16
3.3 Conteúdo Relativo de Água e Umidade.....17
3.4 Dano de Membrana.....17
3.5 Determinação dos teores de clorofilas e carotenóides..... 18
3.6 Análises Estatísticas.....19

4 RESULTADOS..... 20
4.1 Fluorescência da clorofila a..... 20
4.2 Conteúdo Relativo de Água, Umidade e Dano de Membrana.....23
4.3 Determinação dos teores de clorofilas e carotenóides..... 23

5 DISCUSSÃO..... 25

6 CONCLUSÃO..... 28

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 29

1 INTRODUÇÃO

A acidificação oceânica envolve tanto a diminuição do pH quanto às alterações no equilíbrio químico dos oceanos, sendo que tais fatores decorrem da maior liberação de íons de hidrogênio (H^+), o que impacta de diferentes formas o ambiente marinho (Doney et al., 2009). O desenvolvimento e o agravamento deste problema tem relação com o aumento das emissões do gás dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera, o que se tornou frequente desde o início do desenvolvimento industrial (Sousa et al., 2021). A queima de combustíveis fósseis, fabricação de cimento e o desmatamento são algumas das práticas antropogênicas que fazem com que o gás carbônico alcance a atmosfera (Doney et al., 2009; Doney; Schimel, 2007; Martens et al., 2017; NOAA, 2019).

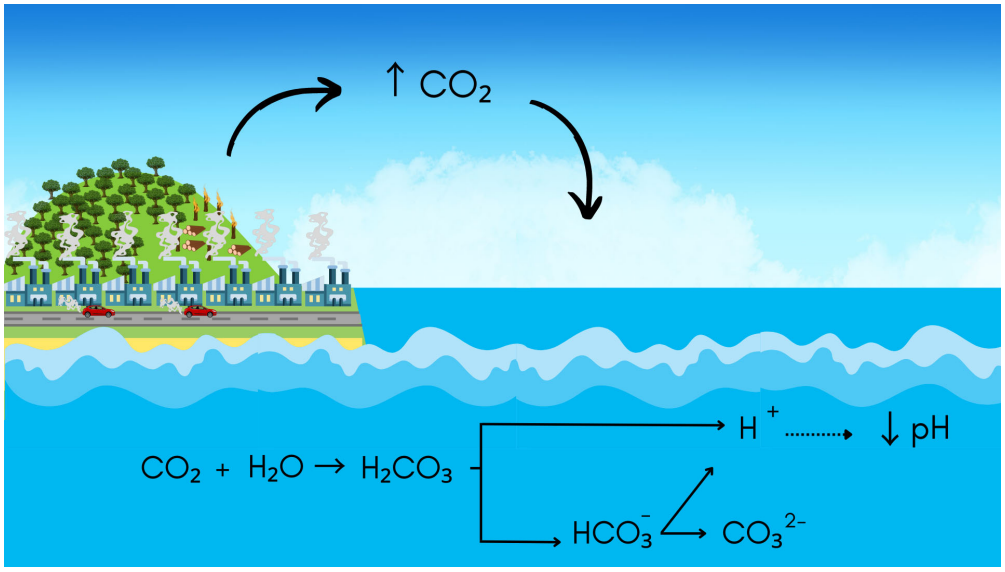
Atualmente, a concentração de CO_2 atmosférico já ultrapassou o valor de 400 ppm, representando um aumento de cerca de 47% desde o começo da Revolução Industrial (Gao et al., 2018; Sousa et al., 2021). Por isso, há uma preocupação quanto aos possíveis efeitos que esse aumento pode ocasionar sobre os ecossistemas terrestres e aquáticos, principalmente com relação às mudanças climáticas e a acidificação oceânica (Guldberg; Bruno, 2010).

É válido ressaltar, porém, que a concentração de CO_2 na atmosfera poderia ser ainda maior do que a atual, caso não existissem os chamados "drenos de carbono", como as florestas e os oceanos (Martens et al., 2017; McKinley et al., 2017; NOAA, 2019). Esses drenos são capazes de absorver parte do dióxido de carbono atmosférico, e possuem a tendência de manter um equilíbrio de concentração com os valores encontrados na atmosfera, ou seja, possuem um efeito tampão (Doney et al., 2009; NOAA, 2019).

Há dois principais fatores que possibilitam o oceano de ser um dreno de carbono, o primeiro é a fixação biológica do carbono pelos organismos autotróficos por meio da fotossíntese, sendo este o processo que mais consome CO_2. Portanto, qualquer impacto na fisiologia fotossintética poderá influenciar na eficiência com que o CO_2 é retirado da atmosfera (Nikinmaa, 2013; Zeng; Chen; Zhuang, 2015). O segundo fator é devido a elevada solubilidade do gás carbônico em água (McKinley et al., 2017; Moreira; Pires, 2016). Diante disso, cerca de 30% do CO_2 antropogênico lançado na atmosfera desde 1751 foi absorvido pelos oceanos, o que, de certa forma, resulta em uma compensação da elevada quantidade de gás carbônico emitido devido aos drenos de carbono (Doney et al., 2009; Martens et al., 2017; NOAA, 2019) . Entretanto, por outro lado, essa crescente taxa de absorção do CO_2 pelos oceanos desencadeia a “acidificação oceânica” (Doney et al., 2009).

A acidificação oceânica ocorre porque, após ser capturado pela porção mais superficial do oceano, o dióxido de carbono reage com a água (H_2O) formando o ácido carbônico (H_2CO_3). Entretanto, este ácido é bastante instável e rapidamente se dissocia em íons de hidrogênio (H^+) e bicarbonato (HCO_3^-), o qual também pode se dissociar em íons H^+ e carbonato (CO_3^{-2}) (Burger; John; Frölicher, 2020; Doney et al, 2009; Ridgwell; Zeebe, 2005; Sousa et al., 2021). A partir dessas reações reversíveis, ocorre uma elevada liberação de íons de hidrogênio, aumentando sua concentração no oceano e, consequentemente, diminuindo seu pH (Figura 1).

Figura 1 - Diagrama da emissão de dióxido de carbono por fontes antropogênicas e das reações químicas resultantes da captação de CO_2 pelos oceanos.



Fonte: Autoria própria.

Desde o início da Revolução Industrial ocorreu uma diminuição de 0.1 unidades de pH, o que equivale a um aumento de 30% da concentração de íons H^+ no oceano (Gao et al., 2018, IPCC, 2022; Sousa et al., 2021). Vale salientar também que o pH expressa a concentração de H^+ em uma escala logarítmica. Além disso, a acidificação oceânica está entre as cinco principais ameaças atuais à biodiversidade, dada a sua capacidade de desencadear diversas consequências ao ambiente e aos organismos marinhos, como impactos na fisiologia e na taxa de calcificação. O último ocorre em razão da alteração da concentração de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) nos oceanos (Feely et al., 2010; Zeng; Chen; Zhuang, 2015).

O carbonato de cálcio é um mineral formado a partir da reação química entre o íon carbonato e o íon cálcio, ele apresenta diferentes formas polimórficas, como a calcita e aragonita, e compõe as conchas e os esqueletos de muitos organismos marinhos (Doney et al., 2009; Ridgwell; Zeebe, 2005). Na condição de acidificação oceânica, a fim de compensar o

aumento da quantidade de íons de hidrogênio e manter o pH alcalino, ocorre uma conversão de íons carbonato em íons bicarbonato, o que ocasiona o tamponamento parcial desse sistema. Porém, isso diminui a concentração de carbonato de cálcio, assim como diminui também seu estado de saturação (Burger; John; Frölicher, 2020; Doney et al., 2009). Tal questão afeta muitos organismos, desde corais, moluscos bentônicos, equinodermos até os cocolitóforos, foraminíferos, pterópodes e as algas marinhas calcificantes (Doney et al., 2009; Zeng; Chen; Zhuang, 2015).

Ademais, não é somente no oceano aberto que a acidificação representa um problema, nas regiões costeiras, para além dessa acidificação resultante do aumento das emissões de CO_2, observa-se também uma ampla gama de fatores, como as modificações nas bacias hidrográficas, eutrofização, eventos de ressurgência e poluentes marinhos, os quais podem influenciar no valor do pH de forma transitória, seja para aumentá-lo ou diminuí-lo (Duarte et al., 2013; Sousa et al., 2021; Zeng; Chen; Zhuang, 2015). Isso ocorre porque o ambiente costeiro é muito complexo, contando com interações entre o meio terrestre, a atmosfera e o oceano aberto; além de todos serem, atualmente, muito influenciados por ações antrópicas (Duarte et al., 2013).

As modificações e impactos ocasionados ao longo das bacias hidrográficas correspondem a um dos fatores que alteram o pH, pois podem afetar o transporte de carbono orgânico, carbono inorgânico, nutrientes, ácidos e alcalinidade carbonática para o oceano (Aufdenkampe et al., 2011). Tais modificações são resultantes de algumas atividades antrópicas, como o desmatamento, mineração, agricultura e urbanização. A mineração, em específico, ocasiona o aumento da exportação de ácido e consequente diminuição do pH na região costeira receptora. Enquanto a agricultura, devido ao uso do cal para diminuição da acidez do solo, ocasiona um aumento do pH nas zonas costeiras (Duarte et al., 2013).

Outro fator é a entrada de grande quantidade de matéria orgânica, responsável pelo processo de eutrofização. A eutrofização pode desencadear tanto um aumento do pH, quando há aumento da absorção de CO_2 pelos organismos, quanto diminuição do pH, quando há aumento da liberação de CO_2 pela respiração desses. E, até mesmo a entrada de poluentes no ambiente marinho contribui para a redução do pH, como metais pesados (mercúrio e chumbo), hidrocarbonetos e pesticidas. Portanto, é possível notar que nas regiões costeiras há tanto os efeitos da acidificação oceânica, que é constante, como dos diversos processos transitórios, por isso podem existir variações de até 0,5 unidades de pH nesses ambientes (Duarte et al., 2013).

É válido destacar que as regiões costeiras são as zonas marinhas mais produtivas e que concentram grande quantidade de espécies fundamentais tanto no aspecto ecológico quanto no econômico, um exemplo são as algas marinhas. Por isso, representa um sério problema quando se é observada uma diminuição do pH nessas regiões, já que essa mudança pode causar consequências aos organismos, como já mencionado (Bonanno; Bonaca, 2018).

As algas marinhas desempenham um importante papel ecológico, por constituírem a base da cadeia trófica costeira e marinha e por participarem da produtividade primária oceânica, ciclagem do carbono e de nutrientes (Areco; Salomone; Afonso, 2021; Bonanno; Bonaca, 2018; Gao et al., 2018). Elas são relevantes economicamente tanto por causa de suas múltiplas utilizações pelas indústrias farmacêuticas, alimentícias, cosmética e química, quanto por formarem a base da cadeia alimentar de muitas espécies de interesse econômico (Gao et al., 2018, Harley et al., 2012).

Considerando o exposto, é possível observar que as algas marinhas ganharam destaque no meio econômico, e por isso sua demanda é crescente. Anteriormente, não havia alternativa para a colheita desordenada e maléfica do ponto de vista ambiental, porém foi desenvolvido o cultivo desses organismos. Mas, esse cultivo também pode gerar impactos diretos e indiretos nos ecossistemas, quando é realizado de forma não sustentável (Mantri et al., 2011; Oirschot et al., 2017).

Devido a algumas de suas características, as algas marinhas são aproveitadas também como bioindicadores de diversos parâmetros ambientais nas regiões costeiras e marinhas. Essas características vão desde sua ampla distribuição e disponibilidade ao longo do ano, até sua tolerância a certas faixas de salinidade, turbidez e elevadas quantidades de poluentes e pela maioria de suas espécies serem sésseis e passíveis de serem mantidas em condições laboratoriais (Areco; Salomone; Afonso, 2021; Desrosiers et al., 2013; Soane et al., 2018).

Há muitas espécies de algas marinhas, como é o caso das pertencentes ao gênero *Ulva* (Chlorophyta). Estas possuem uma ampla distribuição, sendo encontradas desde o Ártico até as áreas tropicais; além de viverem em diversos ambientes, como os de água doce, marinho, estuarino e entre-marés (Gao et al., 2018; Lu; Sung; Lee, 2006; Mantri et al., 2020). Essa grande distribuição só é possível em razão de sua tolerância diante de variações na salinidade e temperatura, assim como por suas adaptações fisiológicas, bioquímicas e moleculares para lidarem com tais condições (Mantri et al., 2020). Elas podem formar florações chamadas de “marés verdes”, quando há um grande aumento de sua quantidade em um dado local (Rybak, 2018).

A Chlorophyta *Ulva spp.* também é muito importante economicamente, já que possui espécies com constituintes químicos que podem ser utilizados em remédios, fertilizantes e alimentos (Mantri et al., 2020). Um exemplo de espécie pertencente a este gênero é a *Ulva fasciata* Delile, esta macroalga é comestível e representa uma fonte de proteínas, ácidos graxos, aminoácidos do tipo essenciais, minerais e fibras alimentares (Mantri et al., 2011). Além disso, o carboidrato é um dos componentes dominantes nessa macroalga, transformando-as em uma fonte importante para diferentes tipos de aplicações, como a alimentar (Barakat et al., 2021).

Dada a importância das algas marinhas, investigações quanto aos possíveis efeitos que a diminuição do pH oceânico pode ocasionar sobre a taxa fotossintética da macroalga *U. fasciata* e das demais espécies fotossintetizantes são essenciais, principalmente no caso das regiões costeiras. Sendo assim, para realizar essa investigação foi aplicado um método bastante utilizado atualmente e muito útil para a análise da eficiência fotossintética: a medição de fluorescência de clorofila *a* (Qi; Wang; Wang, 2013; Tan et al., 2019). Este método é muito importante nos estudos de exposição a estressores ambientais, já que a fluorescência disponibiliza dados relacionados com a capacidade do organismo de tolerar tais condições e quando esse fator estressante começa a danificar o aparato fotossintético (Maxwell; Johnson, 2000).

A partir das análises de fluorescência, é possível mensurar diversos parâmetros, como o rendimento quântico potencial (Fv/Fm), ou seja, a eficiência fotossintética máxima, um valor potencial que representa um cenário em que todos os centros de reações do PSII estivessem abertos (Maxwell; Johnson, 2000). É válido destacar que, quando os centros de reações são ditos “abertos”, isso significa que o primeiro aceptor da cadeia de transporte de elétrons está em seu estado oxidado, apto a receber os elétrons. Já o centro de reação dito “fechado” ocorre depois que a energia luminosa excita os centros de reação P680, transportando os elétrons por essa cadeia transportadora e provocando a redução do primeiro aceptor (Higo et al., 2017; Oxborough; Baker, 1997).

O rendimento quântico efetivo (Y(II)), parâmetro que demonstra a quantidade de energia que, de fato, é utilizada na realização da fotossíntese. Sob condições normais, uma parcela da energia luminosa absorvida pelas clorofilas é utilizada para a realização de reações fotossintéticas, como o transporte de elétrons, formação de ATP e NADPH (Buschmann, 2007). Porém, ainda assim, diferentemente do Fv/Fm, no Y(II) é considerado que há dissipação da energia luminosa, parâmetro representado pelo NPQ (quenching não fotoquímico) (Higo et al., 2017, Holzwarth; Lenk; Jahns, 2013).

O que acontece é que, após captar a energia luminosa, a clorofila *a* fornece uma parte desta para a realização da fotossíntese e outra é perdida para o meio (Atherton; Nichol; Castell, 2016; Buschmann, 2007). Essa parcela reemitida ao meio pode ocorrer, por exemplo, devido a um excesso de energia absorvida e saturação do PSII. Além disso, há duas formas pelas quais a energia pode ser dissipada: como calor ou como fluorescência (Higo et al., 2017). Esse processo de perda é importante, pois evita problemas como a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e consequente dano às estruturas celulares (Torres et al., 2004).

A taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), é um parâmetro que possibilita a análise da eficiência fotossintética por um meio diferente do Fv/Fm, Y(II) e NPQ, já que possui como foco quantificar o transporte de elétrons que ocorre ao longo da cadeia transportadora de elétrons, e não avaliar o uso e perda de energia. Já o quenching fotoquímico (qP), representa a proporção de centros abertos do PSII , sendo que quanto mais moléculas aceptoras de elétrons estejam reduzidas, menor será o valor de qP (Kramer et al., 2004).

Logo, diante do exposto, o presente estudo buscou avaliar os efeitos na fotossíntese da macroalga *Ulva fasciata*, a partir de sua exposição a dois diferentes valores de pH, analisando principalmente os rendimentos quânticos fotossintéticos e bioindicadores de estresse.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

Avaliar os possíveis efeitos resultantes da exposição a dois diferentes valores de acidez oceânica na fotossíntese de *Ulva fasciata*.

2.2 Específicos

As macroalgas da espécie *U. fasciata*, expostas aos dois níveis de pH, foram avaliadas com a finalidade de: comparar a produtividade da eficiência fotossintética, por meio de parâmetros de medidas de clorofila *a* por fluorescência; mensurar a concentração de pigmentos fotossintéticos e acessórios; determinar o conteúdo relativo de água (CRA), umidade e o dano de membrana (DM).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Design Experimental

A macroalga *Ulva fasciata* foi coletada no costão rochoso de Encantadas (25º34’22,97244”S 48º18’56,48112”W) na Ilha do Mel – PR , situada a 15 milhas do Porto de Paranaguá-PR, tendo seu ponto mais próximo do continente a 4 km de Pontal do Sul, no município de Pontal do Paraná, litoral do estado do Paraná, Brasil. Após serem coletadas, as macroalgas foram transportadas até o laboratório de ficologia (Laquamar) da Unespar e acondicionadas em aquários contendo água do mar com salinidade 35 e aeração constante. A primeira parte dos experimentos ocorreu em julho de 2022 e a segunda parte em outubro de 2022, totalizando 20 dias de experimentos.

Após 4 dias de aclimatação na Unespar, as macroalgas foram transportadas para a UNIFESP em Santos, São Paulo. Na universidade ocorreram parte dos experimentos relacionados com a exposição das macroalgas aos dois valores de pH, sendo eles: pH 8.2 e 7.5. O pH 8.2 é o encontrado atualmente nas regiões costeiras, portanto foi utilizado como grupo controle ao longo da experimentação. Já o pH 7.5 foi usado como tratamento e representa uma extrapolação do pior cenário de acidificação oceânica previsto pelo Sexto Relatório de Avaliação do IPCC de 2022 (AR6) (IPCC, 2022; Sousa et al., 2021).

No laboratório da UNIFESP, as macroalgas foram acondicionadas em béqueres e divididas em um tratamento (pH 7.5) e no grupo controle (pH 8.2), sendo que cada experimento foi realizado em triplicata. A variação do pH nos recipientes deu-se a partir de um sistema baseado no aumento da concentração do CO_2 e consequente diminuição do pH. Neste sistema, ocorre a injeção automática de CO_2 gasoso a uma determinada pressão e sob condições controladas, sendo que a regulação da quantidade de gás injetado é feita através de sensores de pH e válvulas solenóides conectadas ao computador, e seu monitoramento ocorreu pelo software Aqua Medic (Basallote et al., 2012; Basallote et al., 2015; Sousa et al., 2021).

Além disso, na primeira parte dos experimentos (julho) as macroalgas ficaram expostas aos respectivos valores de pH por 8 dias consecutivos, enquanto que, na segunda parte experimental (outubro), o tempo foi de 9 dias. Além disso, no primeiro experimento as macroalgas utilizadas eram mais jovens do que no segundo (Figura 2, Figura 3).

Figura 2 - Imagens das macroalgas do primeiro experimento (julho).

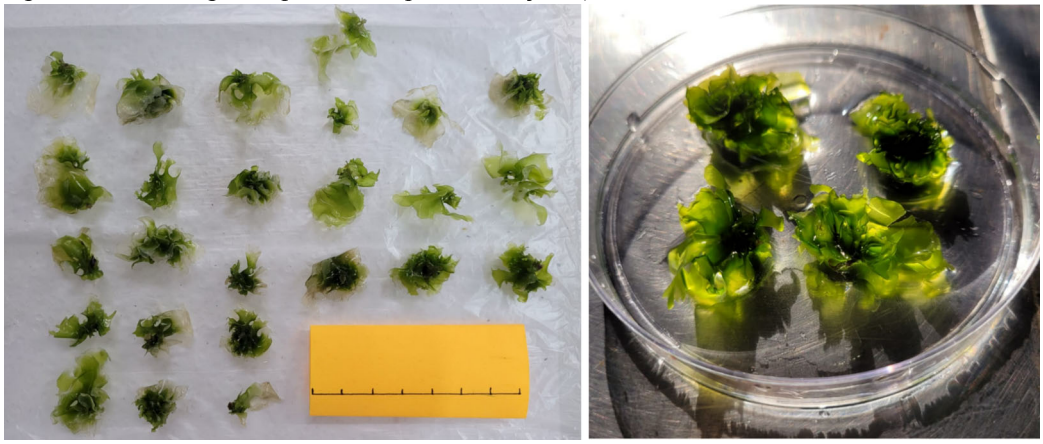
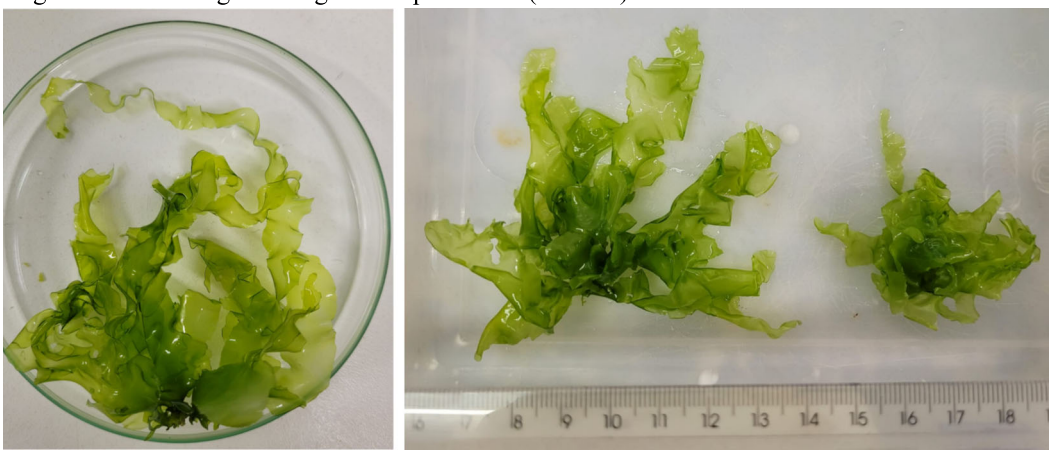


Figura 3 - Imagens das macroalgas do segundo experimento (outubro).



3.2 Fluorescência de Clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi mensurada ao longo do experimento de exposição aos valores de pH, sendo que na primeira parte experimental (julho), com exceção da última mensuração que ocorreu no oitavo dia, todas as outras ocorreram a cada 3 dias, assim como na segunda parte do experimento (outubro). Tais mensurações ocorreram a partir do uso do equipamento JrPAM (WALZ, Alemanha).

Primeiramente, antes da utilização do equipamento, as macroalgas foram adaptadas ao escuro pelo tempo aproximado de 30 minutos, para que seus transportadores de elétrons ficassem em um estado oxidado, possibilitando a determinação do valor de Fo (fluorescência mínima). Enquanto que o Fm (Fluorescência máxima) é determinado quando a macroalga é exposta a uma luz saturante, de alta intensidade e curta duração, momento em que ocorre a

redução das moléculas aceptoras da cadeia transportadora de elétrons (Higo et al., 2017). Os valores de Fo e Fm possibilitam a determinação do parâmetro Fv/Fm (Fv = Fm - Fo) (Maxwell; Johnson, 2000).

Após esse período, as macroalgas foram expostas a luz actínica (250 mmol m^{-2} s^{-1}) e a indução fotossintética foi acompanhada por 10 minutos, com o primeiro pulso de saturação após um minuto da ativação da luz actínica, enquanto o segundo, terceiro e quarto pulsos de saturação ocorreram a cada 3 minutos para a determinação dos parâmetros do claro. Os seguintes parâmetros foram analisados: Fv/Fm, Y(II), NPQ, ETR e qP (Maxwell; Johnson, 2000).

3.3 Conteúdo Relativo de Água e Umidade

O conteúdo relativo de água (C.R.A) da macroalga foi calculado a partir de sua massa fresca (MF), massa túrgida (MT) e massa seca (MS), utilizando-se a fórmula: C.R.A = [(MF-MS)/(MT-MS)] x 100. Tanto a MF, quanto a MT e MS foram determinadas após os 8 dias de exposição aos valores de pH. A MS foi estipulada por meio de uma balança analítica, enquanto que, no caso da MT, as macroalgas foram separadas em tubos Falcon com água destilada na temperatura de 4 ºC, onde permaneceram no escuro por um período de 6 horas. Já a MS foi determinada após 24 horas em estufa a 60º C (Neto et al., 2014; adaptado de Silveira et al., 2009). Enquanto a umidade foi calculada a partir da fórmula: MF - MS/MF x 100 (%).

3.4 Dano de Membrana

A análise do dano de membrana, determinado a partir do vazamento de eletrólitos, foi realizada de acordo com o apresentado por Silva (2010). As macroalgas foram dispostas em tubos Falcon contendo 10 mL de água destilada e incubadas a uma temperatura de 25ºC em banho-maria por um período de 6 h, sob agitação ocasional. Então, ocorreu a leitura da condutividade elétrica da solução (C1) pelo equipamento “Condutivímetro de Bancada”. Depois, as macroalgas foram fervidas a 100º C por um período de 60 min, com subsequente resfriamento até alcançar a temperatura ambiente de 25º C, quando ocorreu a segunda leitura de condutividade elétrica da solução (C2). Por fim, ocorreu o cálculo do dano de membrana por meio da equação: DM (%) = C1/C2 x 100.

3.5 Determinação dos teores de clorofilas e carotenóides

A determinação do teor de clorofilas (*a*, *b* e totais) e carotenóides totais foi realizada segundo descrito por Lichtenthaler (1987). As macroalgas do grupo controle e do tratamento foram divididas em tubos Falcon contendo 5 mL de acetona 80% gelada, utilizada para a extração dos pigmentos. A leitura dos teores de pigmentos foi realizada após 24 horas, e para isso utilizou-se o espectrofotômetro. No equipamento, para a obtenção dos teores de clorofilas *a* e *b*, utilizou-se as leituras de absorbâncias nos seguintes comprimentos de onda: 645 e 663 ηm; já o comprimento de onda de 652 ηm foi também lido para a realização do cálculo de clorofila total. Enquanto que, no caso dos carotenóides totais, o comprimento de onda lido foi no valor de 470 ηm.

As absorbâncias (A) nesses comprimentos de onda foram empregadas nas seguintes equações:

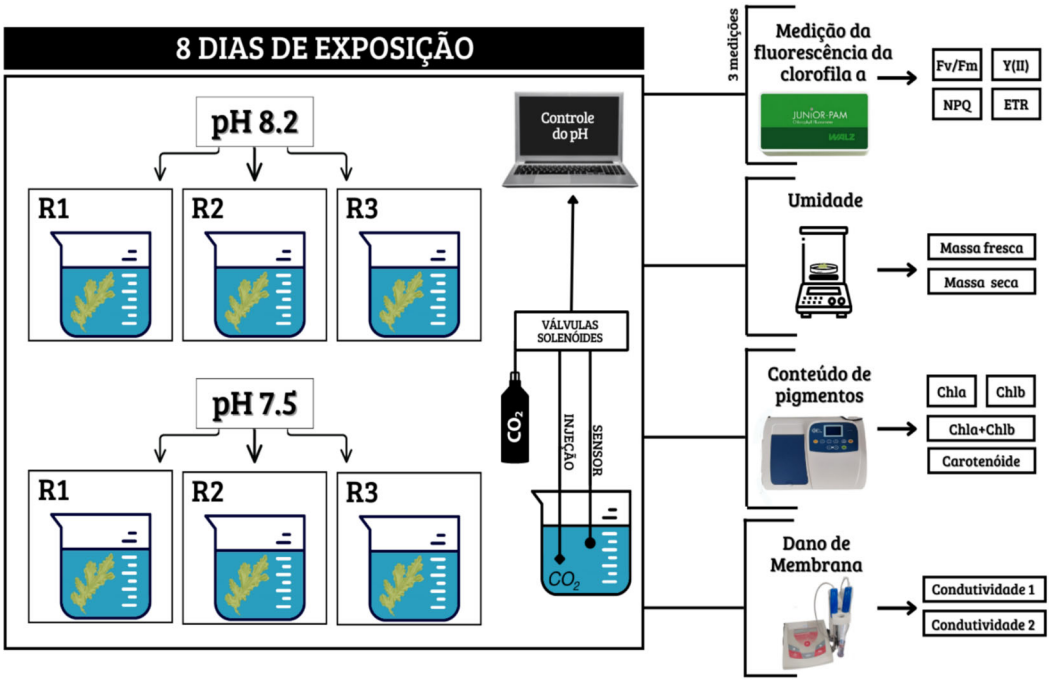
Chl*a* (mg g^{-1}MF) = (12,7*A663 - 2,69*A645)V/1000W (1)

Chl*b* (mg g^{-1}MF) = (22,9*A645 - 4,68*A663)V/1000W (2)

Chltotal = Chl*a* + Chl*b* (3)

Carotenóides totais = (1000*A470 - 1,82*Chl*a* - 85,02 Chl*b*)/198 (4)

Figura 4 - Diagrama representativo das etapas da metodologia. Foram analisados: fluorescência da clorofila *a*, umidade, conteúdo de pigmentos e dano de membrana (Adaptado de Sousa et al., 2021).



Fonte: Adaptado de Sousa et al., 2021.

3.6 Análises Estatísticas

Para a análise estatística foi utilizado o programa Rstudio. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com tratamentos de 2 níveis de pH e os experimentos foram realizados em triplicatas.

Os dados foram avaliados por média e desvio padrão, assim como por testes estatísticos paramétricos e não paramétricos, sendo eles: Teste t não pareado e Teste de Mann-Whitney, respectivamente. O teste paramétrico foi utilizado para comparação de médias ($P < 0.05$), enquanto o teste não paramétrico foi usado para comparação de medianas ($P < 0.05$).

Para realização do teste t não pareado foi utilizado o Teste de Shapiro Wilk para avaliação da distribuição normal dos dados, enquanto a homogeneidade das variâncias foi avaliada a partir do Teste de Levene. Além disso, quando os dados não geram homogeneidade das variâncias pelo Teste de Levene, o programa R Studio corrige o problema excluindo outlines e alterando os graus de liberdade, que ficam em decimais, para que então possa ser utilizado o teste t não pareado.

4 RESULTADOS

4.1 Fluorescência da clorofila *a*

Com os valores obtidos a partir das leituras de fluorescência de clorofila *a* foram elaborados cinco gráficos, cada um correspondente a um parâmetro, Fv/Fm, Y(II), NPQ, ETR e qP. Nos gráficos há os valores de média e desvio padrão de cada leitura, cujas quais foram realizadas nos dias três, seis e oito de exposição ao pH (Figura 5, Figura 6).

Figura 5 - Gráficos de dispersão das médias dos parâmetros Fv/Fm, Y(II) e NPQ, obtidos a partir das leituras de fluorescência de clorofila *a*.

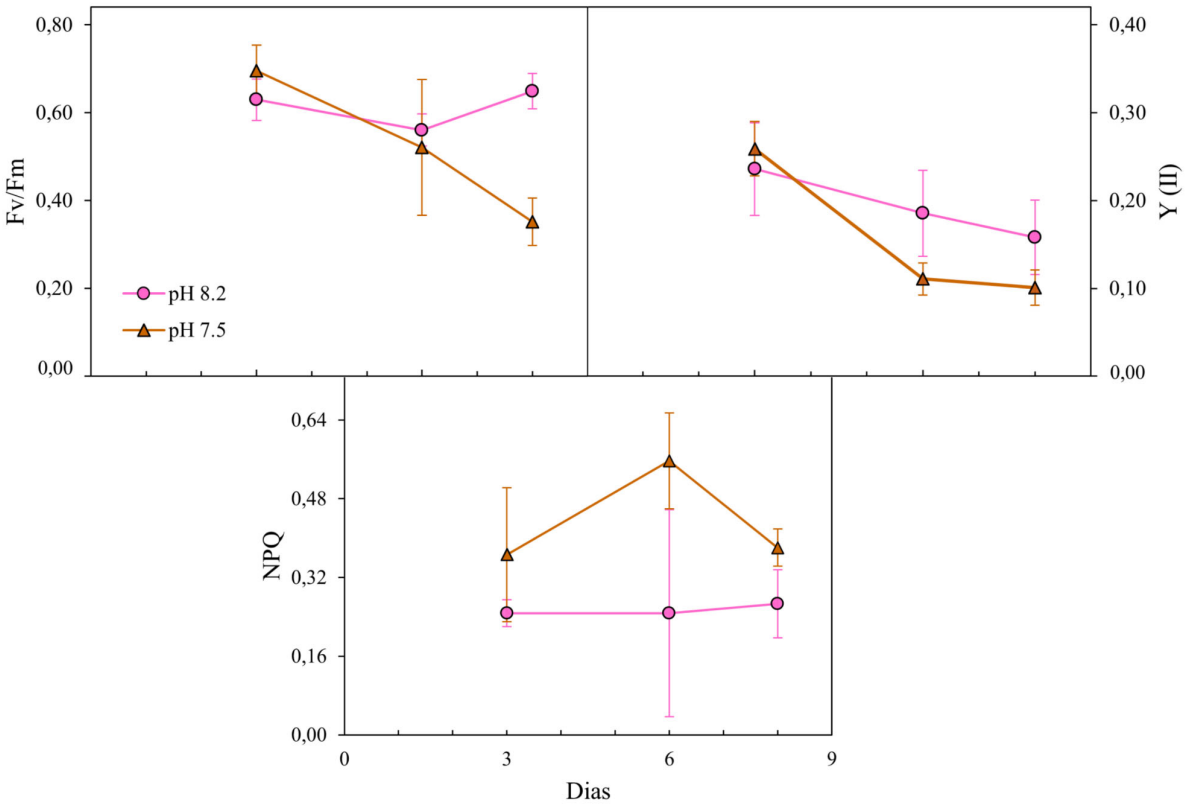
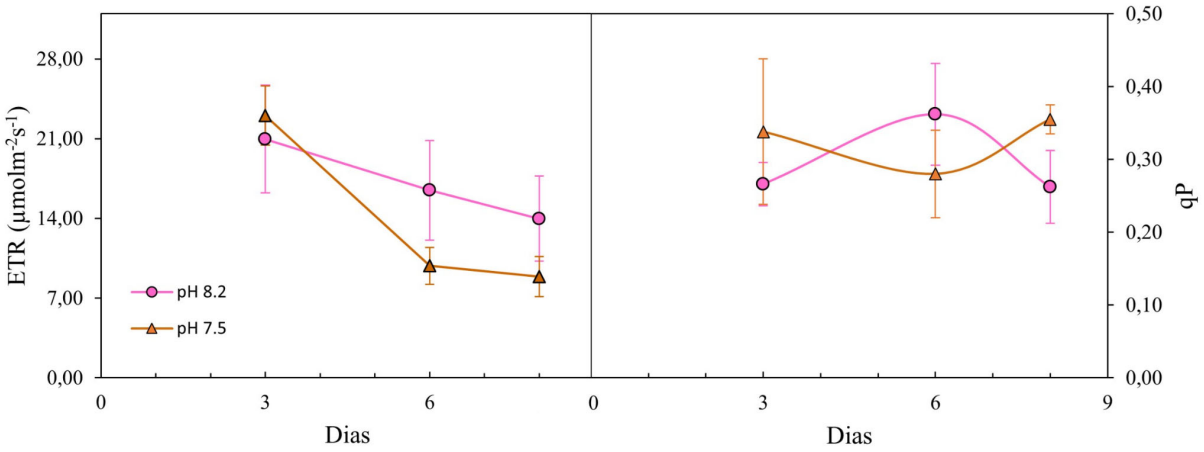


Figura 6 - Gráficos de dispersão das médias dos parâmetros ETR e qP, obtidos a partir das leituras de fluorescência de clorofila *a*.



As análises estatísticas realizadas com os dados obtidos pelas leituras mostraram que, com exceção dos parâmetros Fv/Fm, NPQ e qP, os outros dados relativos ao dia três não seguem uma distribuição normal, o que foi concluído diante dos valores de p inferiores a 0,05 no teste de Shapiro-Wilk. Por isso, como alternativa utilizou-se para esses parâmetros a comparação de medianas com o teste de Mann-Whitney. Enquanto que, para os dados com distribuição normal foi usado o teste de Levene para avaliação da homogeneidade das variâncias e o teste t para comparação das médias. Neste dia, em nenhum dos parâmetros analisados observa-se diferenças estatisticamente significativas entre as médias ou entre as medianas (Tabela 1).

Tabela 1 - Teste t não pareado e teste de Mann-Whitney, utilizados para análise estatística dos parâmetros resultantes das leituras de fluorescência de clorofila *a* no dia três de experimentação.

Variável	t	df	W	p-value
Rendimento Quântico potencial	1,5045	4	-	0,2069
Rendimento Quântico efetivo	-	-	4	1
Quenching não fotoquímico	-1,4819	2,1589	-	0,2677
Quenching fotoquímico	-1,2491	4	-	0,2797
Taxa Aparente de Transporte de Elétrons	-	-	4	1

Termos: t = valor de t do teste t; df = graus de liberdade ; w = valor de w do teste de Mann- Whitney; p-value = valor de p. “p” apresenta um nível de significância de 95% neste estudo.

Já no dia seis, todos os dados apresentaram distribuição normal a partir do teste de Shapiro-Wilk. Porém, no parâmetro Fv/Fm o teste de Levene demonstrou não homogeneidade

das variâncias, por isso o grau de liberdade apresenta um valor em decimais. Em todos os parâmetros foram utilizados o teste t não pareado. Neste dia, também não observa-se diferenças estatisticamente significativas entre as médias (Tabela 2).

Tabela 2 - Teste t não pareado, utilizado para análise estatística dos parâmetros resultantes das leituras de fluorescência de clorofila *a* no dia seis de experimentação.

Variável	t	df	p-value
Rendimento Quântico potencial	0,4358	2,221	0,7017
Rendimento Quântico efetivo	2,4677	4	0,06912
Quenching não fotoquímico	-2,3184	4	0,08128
Quenching fotoquímico	1,4203	4	0,2286
Taxa Aparente de Transporte de Elétrons	2,4677	4	0,06912

Termos: t = valor de t do teste t; df = graus de liberdade; p-value = valor de p. “p” apresenta um nível de significância de 95% neste estudo.

Por fim, no último dia de leitura, todos os dados apresentaram distribuição normal e homogeneidade das variâncias. E, com o teste t, apenas os parâmetros Fv/Fm e qP indicaram diferenças estatisticamente significativas entre as médias, sendo que, no Fv/Fm a maior média é observada no pH 8.2, enquanto no qP a maior média está presente no pH 7.5 (Tabela 3).

Tabela 3 - Teste t não pareado, utilizado para análise estatística dos parâmetros resultantes das leituras de fluorescência de clorofila *a* no dia oito de experimentação.

Variável	t	df	p-value
Rendimento Quântico potencial	7,6583	4	0,001562
Rendimento Quântico efetivo	2,1108	4	0,1024
Quenching não fotoquímico	-2,5102	4	0,06604
Quenching fotoquímico	-3,082	4	0,03686
Taxa Aparente de Transporte de Elétrons	2,1226	4	0,101

Termos: t = valor de t do teste t; df = graus de liberdade; p-value = valor de p. “P” apresenta um nível de significância de 95% neste estudo.

4.2 Conteúdo Relativo de Água, Umidade e Dano de Membrana

O CRA, umidade e o DM para cada pH foram calculados e, a partir dos resultados, elaborou-se um gráfico de barras com os valores de média e desvio padrão (Figura 7). No caso do CRA, a partir da análise estatística, não há diferença entre as médias do grupo controle e do tratamento, considerando o valor de p maior do que 0,05 (Tabela 4). A umidade, outro parâmetro analisado após o período de oito dias de exposição ao pH, também foi calculada e o teste aplicado demonstrou que há diferença entre as duas médias, devido ao valor de p inferior a 0,05. Por fim, no DM, não observa-se diferença significativa entre as médias do grupo controle e do tratamento.

Figura 7 - Gráfico de barras das médias dos parâmetros: CRA, Umidade e DM, obtidos após o período de oito dias de exposição ao pH.

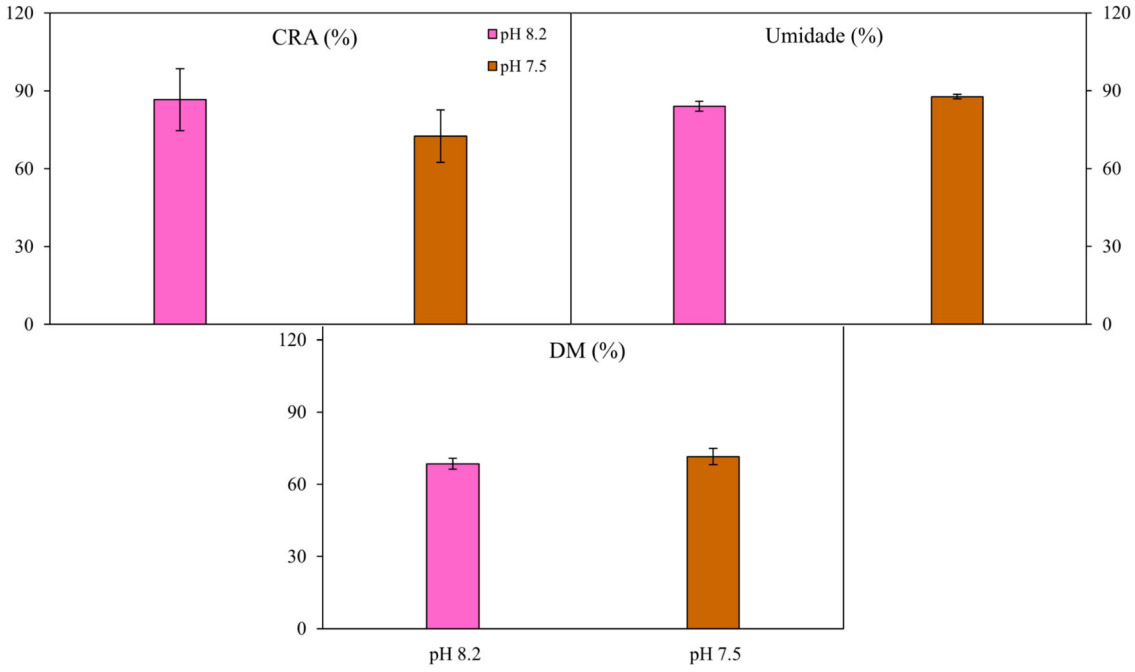


Tabela 4 - Teste t não pareado, utilizado para análise estatística dos parâmetros.

Variável	t	df	p-value
Conteúdo relativo de Água	1,551	4	0,1958
Umidade	-3,1559	4	0,03432
Dano de Membrana	-1,2834	4	0,2687

Termos: t = valor de t do teste t; df = graus de liberdade; p-value = valor de p. “p” apresenta um nível de significância de 95% neste estudo.

4.3 Determinação dos teores de clorofilas e carotenóides

Os valores das médias e do desvio padrão de clorofila *a*, *b*, total e carotenóides totais estão presentes no gráfico de barras (Figura 8). Diante da análise estatística, nenhum dos teores de pigmentos fotossintéticos apresentaram médias com diferenças estatísticas significativas (Tabela 5).

Figura 8 - Gráfico de barras das médias dos parâmetros relacionados ao teor de pigmentos fotossintéticos, obtidos após o experimento de pH.

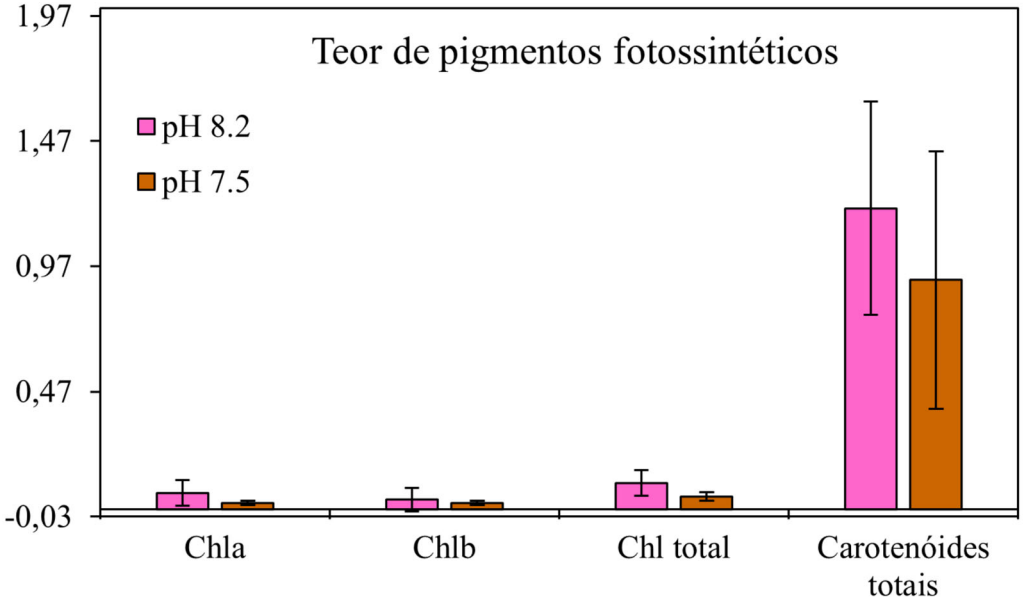


Tabela 5 - Teste t não pareado, utilizado para análise estatística dos parâmetros relacionados ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos.

Variável	t	df	p-value
Clorofila *a*	1,3624	2,11	0,3002
Clorofila *b*	0,4765	2,15	0,6777
Clorofila total	1,7095	4	0,1625
Carotenóides totais	0,7416	4	0,4995

Termos: t = valor de t do teste t; df = graus de liberdade; p-value = valor de p. “p” apresenta um nível de significância de 95% neste estudo.

5 DISCUSSÃO

A utilização da técnica de medição de fluorescência de clorofila *a* com o equipamento JrPAM foi importante para a realização deste estudo. Isso ocorreu devido a este método ser rápido, sensível, não destrutivo e não invasivo, o que permitiu a análise de processos e da eficiência fotossintética por meio da obtenção de parâmetros como rendimento quântico potencial (Fv/Fm) e rendimento quântico efetivo (Y(II)), assim como a determinação da fluorescência variável e o monitoramento dos efeitos ocasionados pelo estressor ambiental, no caso a diminuição do pH (Long et al., 2018; Maxwell; Johnson, 2000; Qi; Wang; Wang, 2013; Tan et al., 2019; Wang; Wang; Tan, 2014).

Com relação aos parâmetros e pigmentos fotossintéticos, apenas o Fv/Fm e o quenching fotoquímico (qP) apresentaram diferenças estatísticas entre as médias do grupo controle e do tratamento no último dia de medição, isso significa que parâmetros como o rendimento quântico efetivo (Y(II)), quenching não fotoquímico (NPQ), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) e pigmentos como clorofila *a*, *b*, total e carotenóides totais não foram alterados com a diminuição do pH. No caso do Y(II), não ocorreram mudanças quanto à quantidade de energia utilizada para realizar a fotossíntese, demonstrando que não aconteceram prejuízos na fotossíntese advindos da exposição ao baixo pH (Miao; Wang; Juneau, 2009). Os resultados do ETR também denotam que a atividade fotossintética não foi influenciada, pois a taxa de transporte, parte indispensável do processo, não foi diminuída (Buschmann, 2007; Higo et al., 2017).

Também não diferiu a quantidade de energia luminosa reemitida como calor e/ou fluorescência, como pode ser observado pelo NPQ. Portanto, interpreta-se que há certa tolerância à diminuição do pH nesta espécie, já que o aumento da perda de energia luminosa pode ocorrer devido a exposição a estressores ambientais, o que não aconteceu nesse caso, assim como não foi observada limitação da capacidade do aparato fotossintético em utilizar a energia absorvida para a realização da atividade fotossintética (Adams; Adams, 1992; Holzwarth; Lenk; Jahns, 2013; Torres et al., 2004). Além disso, a fluorescência também é um fator que disponibiliza dados quanto à capacidade dos organismos de serem tolerantes a estressores, o que é favorável com a observação anterior (Maxwell; Johnson, 2000).

Os resultados dos pigmentos fotossintéticos mostraram que a captação da energia luminosa não foi alterada com a diminuição do pH, o que não interferiu na fotossíntese, sendo outro demonstrativo de que essa espécie apresenta tolerância a essa condição (Atherton; Nichol; Castell, 2016; Buschmann, 2007). Quanto ao qP, mudanças neste parâmetro podem

ser ocasionadas em razão da saturação do aparato da fotossíntese, consequência do fechamento dos centros de reação (Maxwell; Johnson, 2000). Porém, neste estudo, a diferença entre as médias não ocasionou efeitos expressivos na fisiologia fotossintética das macroalgas.

Em relação ao Fv/Fm, como apenas no último dia de medição verificou-se diferença estatística significativa e considerando que, da mesma forma do Y(II), esse parâmetro também disponibiliza informações quanto à tolerância ao estressor, é possível que essa macroalga tolere essa nova condição até certo ponto, já que o potencial quântico potencial foi maior no pH 8.2, apesar de não ter sido comprovada mudanças no Y(II) até esse dia (Miao; Wang; Juneau, 2005). A fim de validar essa possibilidade, devem ser realizados experimentos de exposição a longo prazo, pois este trabalho somente analisou respostas a curto prazo.

Ademais, outros fatores avaliados foram o CRA, DM e umidade, sendo que somente a umidade apresentou diferença significativa, logo, a integridade celular nos dois tratamento se manteve a mesma, com o pH não influenciando nas membranas celulares das macroalgas e nem em seu conteúdo de água (Silva, 2010).

A umidade é um componente que se relaciona com a pressão de turgor e potencial osmótico, principalmente quando o foco são organismos marinhos, considerando a alta salinidade desses ambientes e as adaptações que eles devem possuir para sobreviverem nele. A pressão de turgor é, resumidamente, a diferença entre a pressão hidrostática externa e a interna em uma célula, esse turgor é importante no caso das macroalgas bentônicas, pois é ele quem fornece uma forma e sustentação para que essas se mantenham erguidas na coluna d'água (Bisson; Kirst, 1995).

Portanto, as algas precisam ajustar o potencial osmótico celular, a fim de deixar essa pressão de turgor sem alterações, pois, além disso, as condições internas das células devem estar em uma dada faixa para a manutenção do metabolismo, e regular a composição iônica é importante. Para essa finalidade, as células utilizam íons inorgânicos, como K^+, Na^+ e Cl^-, assim como os osmólitos orgânicos, como sacarose, polina e glicerol (Kirst, 1989). Desta forma, apesar da média do pH 7.5 ter sido maior, isso não ocasionará consequências para as algas do grupo controle.

As espécies do gênero *Ulva*, de forma geral, toleram muitas condições consideradas estressantes, como faixas de temperatura e salinidade (Mantri et al., 2020). Por isso elas apresentam uma ampla distribuição e são encontradas em vários ambientes com características diferentes e, em alguns, com grandes variações, como nas regiões entre-marés (Snehya et al., 2021).

Além disso, a tolerância das espécies de *Ulva* pode ser observada também no caso das grandes florações que formam as “marés verdes”, que se localizam onde há muita disponibilidade de nutrientes (Kang et al., 2021; Kang; Chung, 2017; Teichberg et al, 2010). A *U. fasciata* pode formar essas florações (Snehya et al., 2021). O que acontece é que nesses corpos d’água eutrofizados, há muita atividade microbiana, a qual consome a matéria orgânica e aumenta os níveis de CO_2, diminuindo o pH no local. E, apesar desse ambiente de grande perturbação, com baixo pH e hipóxia, as macroalgas sobrevivem, demonstrando seu grande potencial de tolerância (Cai et al., 2011; Kang; Chung, 2017, Young; Gobler, 2016; Wallace et al., 2014).

6 CONCLUSÃO

A partir do exposto, observou-se que a plasticidade do metabolismo fotossintético desses organismos a torna tolerante ao incremento da acidez oceânica, até o valor de pH 7.5, como parte do cenário de mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, B Demmig-; ADAMS, W W. Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, [*s. l.*], v. 43, p. 599-626, 1992.

ARECO, María M.; SALOMONE, Vanesa N.; AFONSO, María dos Santos. *Ulva lactuca* : A bioindicator for anthropogenic contamination and its environmental remediation capacity. Marine Environmental Research, [s.l.], v. 171, 2021.

ATHERTON, J.; NICHOL, C.J.; CASTELL, A.Porcar-. Using spectral chlorophyll fluorescence and the photochemical reflectance index to predict physiological dynamics. Remote Sensing of Environment, [*s. l.*], v. 176, p. 17-30, 2016.

AUFDENKAMPE, Anthony K *et al*. Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere. Frontiers in Ecology and the Environment, [*s. l.*], v. 9, p. 53-60, 2011.

BARAKAT, Khouloud M. *et al*. Effects of ocean acidification on the growth and biochemical composition of a green alga (Ulva fasciata) and its associated microbiota. Saudi Journal of Biological Sciences, [*s. l.*], v. 28, p. 5106–5114, 2021.

BASALLOTE, M. D *et al*. Lethal effects on different marine organisms, associated with sediment–seawater acidification deriving from CO2 leakage. Environmental Science and Pollution Research , [*s. l.*], p. 2550–2560, 2012.

BASALLOTE, M. Dolores *et al*. Evaluation of the threat of marine CO2 leakage-associated acidification on the toxicity of sediment metals to juvenile bivalves. Aquatic Toxicology, [*s. l.*], v. 166, p. 63-71, 2015.

BISSON, Mary A.; KIRST , Gunter O. Osmotic acclimation and turgor pressure regulation in algae. Naturwissenschaften, [*s. l.*], v. 82, p. 461–471, 1995.

BONANNO, Giuseppe; BONACA, Martina Orlando-. Trace elements in Mediterranean seagrasses and macroalgae. A review. Science of The Total Environment, v. 618, p. 1152-1159, 2018.

BURGER, Friedrich A.; JOHN, Jasmin G.; FRÖLICHER, Thomas L. Increase in ocean acidity variability and extremes under increasing atmospheric CO2. Biogeosciences, [s.l.], v. 17, ed. 18, p. 4633–4662, 2020.

BUSCHMANN, Claus. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. Photosynthesis Research, [*s. l.*], v. 92, p. 261–271, 2007.

CAI, Wei-Jun *et al*. Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. Nature Geoscience, [*s. l.*], v. 4, p. 766–770, 2011.

DESROSIERS, Catherine *et al*. Bioindicators in marine waters: Benthic diatoms as a tool to assess water quality from eutrophic to oligotrophic coastal ecosystems. Ecological Indicators, [*s. l.*], v. 32, p. 25–34, 2013.

DONEY, Scott C.; SCHIMEL, David S. Carbon and climate system coupling on timescales from the precambrian to the anthropocene. Annual Review of Environment and Resources, [*s. l.*], v. 32, p. 31–66, 2007.

DONEY, Scott C. *et al*. Ocean acidification: The other CO2 problem. Annual Review of Marine Science, [*s. l.*], v. 1, p. 169–192, 2009.

DUARTE, Carlos M. *et al*. Is Ocean Acidification an Open-Ocean Syndrome? Understanding Anthropogenic Impacts on Seawater pH. Estuaries and Coasts, [*s. l.*], v. 36, p. 221–236, 2013.

FEELY, Richard *et al*. Present and future changes in seawater chemistry due to ocean acidification. Geophysical Monograph Series, [*s. l.*], v. 183, p. 175-188, 2010.

GAO, Guang *et al*. Ocean acidification and nutrient limitation synergistically reduce growth and photosynthetic performances of a green tide alga Ulva linza. Biogeosciences, [*s. l.*], v. 15, p. 3409–3420, 2018.

GULDBERG, Ove Hoegh; BRUNO, John F. The Impact of Climate Change on the World 's Marine Ecosystems. Science, [s. l.], v. 328, p. 1523-1528, 2010.

HARLEY, Christopher D G *et al*. Effects of Climate Change on Global Seaweed Communities. J Phycol., [*s. l.*], p. 1064-78, 2012.

HIGO, Shota *et al*. Application of a pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometer reveals its usefulness and robustness in the prediction of Karenia mikimotoi blooms: A case study in Sasebo Bay, Nagasaki, Japan. Harmful Algae, [*s. l.*], v. 61, p. 63-70, 2017.

HOLZWARTH, Alfred R.; LENK, Dagmar; JAHNS, Peter. On the analysis of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching curves: I. Theoretical considerations. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, [*s. l.*], v. 1827, p. 786-792, 2013.

IPCC, Sixth Assessment Report (AR6): Climate Change 2022 Impacts, Adaptation, and Vulnerability. [*S. l.*], 2022.

KANG, Eun Ju *et al*. Evaluating bloom potential of the green-tide forming alga Ulva ohnoi under ocean acidification and warming. Science of The Total Environment, [*s. l.*], v. 769, 2021.

KANG, Jin Woo; CHUNG, Ik Kyo. The effects of eutrophication and acidification on the ecophysiology of Ulva pertusa Kjellman. Journal of Applied Phycology, [*s. l.*], v. 29, p. 2675–2683, 2017.

KIRST, G. O. Salinity Tolerance of Eukaryotic Marine Algae. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, [*s. l.*], v. 41, p. 21-53, 1990.

KRAMER, David M. *et al*. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. Photosynthesis Research, [*s. l.*], v. 79, p. 209-218, 2004.

LICHTENTHALER, Hartmut K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, [*s. l.*], v. 148, p. 350-382, 1987.

LONG, Marc *et al*. A rapid quantitative fluorescence-based bioassay to study allelochemical interactions from Alexandrium minutum. Environmental Pollution, [*s. l.*], v. 242, p. 1598-1605, 2018.

LU, I-Fan; SUNG, Ming-Shiuan; LEE, Tse-Min. Salinity stress and hydrogen peroxide regulation of antioxidant defense system in Ulva fasciata. Marine Biology, [*s. l.*], v. 150, p. 1–15, 2006.

MANTRI, Vaibhav A. *et al*. Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in Ulva fasciata (Chlorophyta, Ulvales). Journal of Applied Phycology, [*s. l.*], v. 23, p. 243–250, 2011.

MANTRI, Vaibhav A. *et al*. Concise review of green algal genus Ulva Linnaeus. Journal of Applied Phycology, v. 32, p. 2725–2741, 2020.

MARTENS, Johan A. *et al*. The Chemical Route to a Carbon Dioxide Neutral World. ChemSusChem, [*s. l.*], v. 10, p. 1039 –1055, 2017.

MAXWELL, Kate; JOHNSON, Giles N. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. Journal of Experimental Botany, [*s. l.*], v. 51, p. 659–668, 2000.

MCKINLEY, Galen A. *et al*. Natural Variability and Anthropogenic Trends in the Ocean Carbon Sink. Annual Review of Marine Science, [*s. l.*], v. 9, p. 125-150, 2017.

MIAO, Aijun; WANG, Wen-Xiong; JUNEAU, P. Comparison of Cd, Cu, and Zn toxic effects on four marine phytoplankton by pulse‐amplitude‐modulated fluorometry. Environmental Toxicology and Chemistry, [*s. l.*], v. 24, 2005.

MOREIRA, Diana; PIRES, José C.M. Atmospheric CO2 capture by algae: Negative carbon dioxide emission path. Bioresource Technology, v. 215, p. 371-379, 2016.

NETO, Milton C.Lima *et al*. Dissipation of excess photosynthetic energy contributes to salinity tolerance: A comparative study of salt-tolerant Ricinus communis and salt-sensitive *Jatropha curcas*. Journal of Plant Physiology, [*s. l.*], v. 171, p. 23-30, 2014.

NIKINMAA, Mikko. Climate change and ocean acidification—Interactions with aquatic toxicology. Aquatic Toxicology, [*s. l.*], v. 126, p. 365-372, 2013.

NOAA-National Oceanic and Atmospheric Administration, CarbonTracker CT2019B. *In*: Global Monitoring Laboratory: Earth System Research Laboratories. [*S. l.*], 2019.

OIRSCHOT, Roel van *et al*. Explorative environmental life cycle assessment for system design of seaweed cultivation and drying. Algal Research, [*s. l.*], v. 27, p. 43-54, 2017.

OXBOROUGH, Kevin; BAKER, Neil R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components – calculation of qP and Fv0 /Fm0 without measuring Fo0. Photosynthesis Research, [*s. l.*], v. 54, p. 135–142, 1997.

QI, Hongju; WANG, Jiangtao; WANG, Zhaoyu. A comparative study of maximal quantum yield of photosystem II to determine nitrogen and phosphorus limitation on two marine algae. Journal of Sea Research, [*s. l.*], v. 80, p. 1-11, 2013.

RIDGWELL, Andy; ZEEBE, Richard E. The role of the global carbonate cycle in the regulation and evolution of the Earth system. Earth and Planetary Science Letters, [*s. l.*], v. 234, p. 299-315, 2005.

RYBAK, Andrzej S. Species of Ulva (Ulvophyceae, Chlorophyta) as indicators of salinity. Ecological Indicators, [*s. l.*], v. 85, p. 253-261, 2018.

SEOANE, R.García- *et al*. Use of macroalgae to biomonitor pollutants in coastal waters: Optimization of the methodology. Ecological Indicators, [*s. l.*], v. 84, p. 710-726, 2018.

SILVA, E.N *et al*. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of Jatropha curcas plants. Journal of Arid Environments, [*s. l.*], v. 74, p. 1130-1137, 2010.

SILVEIRA, Joaquim Albenisio Gomes *et al*. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in Atriplex nummularia. Environmental and Experimental Botany, [*s. l.*], v. 66, p. 1-8, 2009.

SNEHYA, A.V. *et al*. Studies on evaluation of surfactant coupled sonication pretreatment on Ulva fasciata (marine macroalgae) for enhanced biohydrogen production. Ultrasonics Sonochemistry, [*s. l.*], v. 81, 2021.

SOUSA, Gabriela Tavares *et al*. Photoprotection and antioxidative metabolism in Ulva lactuca exposed to coastal oceanic acidification scenarios in the presence of Irgarol. Aquatic Toxicology, [*s. l.*], v. 230, *p. 1-9*, 2021.

TAN, Liju *et al*. The feasibility of Fv/Fm on judging nutrient limitation of marine algae through indoor simulation and in situ experiment. Estuarine, Coastal and Shelf Science, [*s. l.*], v. 229, 2019.

TEICHBERG, Mirta *et al*. Eutrophication and macroalgal blooms in temperate and tropical coastal waters: nutrient enrichment experiments with Ulva spp. Global Change Biology, [*s. l.*], v. 16, p. 2624-2637, 2010.

TORRES, Eduardo Pérez- *et al*. The role of photochemical quenching and antioxidants in photoprotection of Deschampsia antarctica. Functional Plant Biology, [*s. l.*], v. 31, p. 731-741, 2004.

YOUNG, Craig S.; GOBLER, Christopher J. Ocean Acidification Accelerates the Growth of Two Bloom-Forming Macroalgae. PLoS One, [*s. l.*], 2016.

WALLACE, Ryan B. *et al*. Coastal ocean acidification: The other eutrophication problem. Estuarine, Coastal and Shelf Science, [*s. l.*], v. 148, p. 1-13, 2014.

WANG, Zhaoyu; WANG, Jiangtao; TAN, Liju. Variation in photosynthetic activity of phytoplankton during the spring algal blooms in the adjacent area of Changjiang River estuary. Ecological Indicators, [*s. l.*], v. 45, p. 465-473, 2014.

ZENG, Xiangfeng; CHEN, Xijuan; ZHUANG, Jie. The positive relationship between ocean acidification and pollution. Marine Pollution Bulletin,, v. 91, p. 14-21, 2015.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: LETÍCIA VIANA BARBOZA

Título: *"Avaliação dos efeitos da acidificação oceânica na fotossíntese de Ulva fasciata"*

Orientador: Prof. Dr. Milton Costa Lima Neto

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Gerenciamento Costeiro

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Prof. Dr. Milton Costa Lima Neto	Aprovada
Prof Dr. Yoannis Dominguez Rodriguez	Aprovada

PARECER:
Aprovada cumprindo as exigências da UNA.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Letícia Viana Barboza** obteve o seguinte conceito:

☒ APROVADO ☐ REPROVADO

São Vicente, 01 de fevereiro de 2023.

Prof. Dr. Milton Costa Lima Neto

Prof Dr. Yoannis Dominguez Rodriguez