Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

Efeitos da acidificação dos oceanos nos processos biogeoquímicos em
sedimentos costeiros: Experimentos *in situ* e em laboratório

Betina Galerani Rodrigues Alves

Tese apresentada ao
Instituto Oceanográfico da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor em Ciências, Programa de
Oceanografia, área de Oceanografia Biológica.

Orientador Prof. Dr. Paulo Yukio Gomes Sumida

São Paulo

2014

Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

Efeitos da acidificação dos oceanos nos processos biogeoquímicos em
sedimentos costeiros: Experimentos *in situ* e em laboratório

VERSÃO CORRIGIDA

Betina Galerani Rodrigues Alves

Tese apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo como
parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, Programa de
Oceanografia, área de Oceanografia Biológica.

Julgada em ____/____/____

Prof. (a) Dr. (a)

Conceito

Prof. (a) Dr. (a)

Conceito

Prof. (a) Dr. (a)

Conceito

Prof. (a) Dr. (a)

Conceito

Prof. (a) Dr. (a)

Conceito

*Dedico este trabalho a memória da minha
eterna amiga e irmã Mariana Camargo
(1/05/1980 - 03/07/2010)*

Agradecimentos

Gostaria primeiramente de agradecer ao meu marido Djalma, por estar do meu lado hoje e para o resto da minha vida. Obrigada por tudo meu companheiro, meu grande amor. Eu amo você mais que tudo.

A toda minha família, meus pais Edson e Maria Luiza, meus irmãos Franklin e Fábio, minha sobrinha Rafaela, minha cunhada Tauana, meu sogro Djalma e minha sogra Eloisa, muito obrigada por todo apoio, amor, carinho e paciência, eu amo muito vocês!

Ao meu orientador, professor Paulo Yukio Gomes Sumida, pela orientação, pelo apoio incondicional desde o mestrado, pelos ensinamentos, pelas discussões e conversas, pelas experiências, por toda força e ajuda! muito obrigada por tudo sempre!

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento concedido ao projeto Acidbenthos (Processo n° 2010/20350-08), o qual o meu doutorado está inserido, e pela concessão da bolsa de doutorado (Processo n° 2011/13912-12).

Ao Instituto Oceanográfico da USP (IOUSP) por me permitir realizar este trabalho.

A todos os funcionários do IOUSP que, de alguma forma, ajudaram na realização deste trabalho: Pessoal da oficina, Zé Carlos, Edson e toda equipe, pessoal do lab geral, Tomás, Ruth, Cida e Cidinha, Valter pela eterna ajuda com os eletrônicos, Ayrton pela ajuda com os motores, secretaria do DOB, Marlene, Miriam e Maria, CPG, Ana Paula e Silvana, ao Natal do LIO, Fátima do serviço de bases, aos motoristas do IOUSP, ao pessoal da cantina, Didi, Betão e meninas, ao pessoal da limpeza, a todos que não estão aqui mas foram importantes, muito obrigada pela força!

Ao querido Tomazinho por toda ajuda desde meu início no IO em campo e com as análises granulométricas, obrigada sempre!

A professora Elizabete Braga por todas as conversas, discussões e sugestões, sua ajuda foi fundamental para a realização desse trabalho, muito obrigada professora!

Ao Vitor Gonzalez Chiozzini e toda equipe do LabNut pela ajuda com os nutrientes, obrigada!

Ao pessoal do laboratório de Produção Primária, Mayza, Pedro e Giulia pela eterna ajuda, muito obrigada!

A Cintia Organo Quintana e Thomas Valdemarsen pela ajuda com as análises de água intersticial, muito grata!

Ao Arthur Ziggiatti Güth pela identificação dos crustáceos, ao Mauricio Shimabukuro pela identificação dos poliquetas e a Karin Elbers pela identificação dos Echinodermata, Mollusca, Sipuncula, Echiura e todo o resto, muito grata!

Ao pessoal da base de Ubatuba, Manoel, dona Cida e Vânia por todo apoio, ao Ricardo pelos lindos desenhos das minhas câmaras, ao Roberto por todas as idas e vindas com cilindros, muito obrigada por todo apoio, vocês foram essenciais para que este trabalho existisse!

Aos meus queridos companheiros do Velliger, Daico, Oziel, seu Silvio e Adriano, muito obrigada pelo apoio, pela força!

A todas as pessoas que participaram dos campos, e principalmente minha amiga Paula Moraes, por toda ajuda e companheirismo em todos os momentos! muito obrigada pela ajuda minha amiga!

Aos meus companheiros de laboratório Paula, obrigada pelo apoio incondicional em tudo, no projeto, no campo, no laboratório, em todos os momentos, Marcos, pela ajuda no artigo, pelas conversas, pela companhia, Karin, pela amizade e companhia em todos esses anos, pelas identificações sempre impecáveis, por tudo, Arthur, por toda ajuda com o projeto, nos campos, na identificação, com as análises estatísticas, consultorias, pela companhia nas viagens e cursos, Linda, pela paciência em corrigir esse abstract e muitos outros textos meus, pela companhia naquela viagem deliciosa, pela grande ajuda em todos os momentos que precisei, Mau, pela ajuda com os poliquetas, com o experimento, por tudo, e a todos, Felipe, Joan, Romina, Maria Carolina, Miguel, Arthur Tenorio, Ana, Camila, Carol e Olivia, por toda ajuda nos experimentos, no campo e no laboratório, pelas conversas e por compartilhar bons momentos!

Aos meus amigos mais que queridos Caia, Cau, Gui, Paula, Karin, Dea, San, Bica e Marcos, pelo apoio nessa minha longa jornada, pela amizade que desenvolvemos e que carrego no meu coração, pelo carinho, pela convivência deliciosa, por tudo, amo vocês!

As minhas queridas /irmãs Aninha, Cristiane, Kelize, Karine, Poline e Mariana (em memória) pela eterna amizade, pelo eterno carinho e amor, por todo apoio, amo vocês!

Agradeço a todos que não estão aqui mas que participaram de alguma forma deste trabalho, obrigada!

Índice

Resumo.....	xiv
Abstract.....	xv
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	7
3. Materiais e Métodos.....	7
3.1. Área de Estudo.....	7
3.2. Experimentos de incubação in situ: Dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos.....	9
3.3. Experimentos de acidificação in situ: Efeitos da acidificação na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos	12
3.4. Experimento em Laboratório: Simulação da Acidificação dos Oceanos na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos	14
3.5. Métodos Analíticos - Coluna d'água.....	17
3.6. Métodos analíticos - Coluna sedimentar.....	19
3.7. Métodos analíticos - Água Intersticial.....	21
3.8. Análises estatísticas.....	23
4. Resultados.....	24
4.1. Experimento de incubação in situ Dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos costeiros.....	24
4.2. Experimento de acidificação in situ - Efeitos da acidificação na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos.....	47
4.3. Experimento de acidificação em laboratório - Efeitos da acidificação na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos.....	59
4.4. Análises estatísticas.....	77
5. Discussão.....	87
5.1. Experimento de incubação in situ Dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos costeiros.....	87

5.2. Efeitos da acidificação nos processos biogeoquímicos de sedimentos costeiros Experimentos In situ e em Laboratório.....	94
6. Respostas às perguntas formuladas.....	102
7. Conclusões.....	103
8. Considerações Finais.....	104
9. Referências Bibliográficas.....	106

Índice de Tabelas

Tabela I. Parâmetros medidos durante os experimentos de incubação nos pontos 1 (Silte) e 2 (Areia).....	25
Tabela II. Análise granulométrica dos pontos utilizados nas incubações in situ. POS: Pobremente Selecionado. MPS: Muito Pobremente Selecionado.....	26
Tabela III. Evolução dos valores de Temperatura (°C), Salinidade e pH, medidos durante os experimentos de incubação in situ realizados no ponto 1 e ponto 2.....	28
Tabela IV. Valores da porcentagem de CaCO ₃ , teor de Carbono Orgânico Total (%), do teor de Nitrogênio Total (%) e razão C/N, encontrados na coluna sedimentar dos testemunhos coletados durante os experimentos de incubação in situ realizados nos ponto 1 e 2. ND: valores não detectados. NC: valores não calculados.....	42
Tabela V. Densidade média (Ind.m ⁻²) das espécies da macrofauna bêntica encontradas nos testemunhos utilizados no experimento de acidificação in situ.....	46
Tabela VI. Parâmetros físico-químicos medidos durante o experimento de acidificação in situ realizado no ponto 1. Erro indica ± 1 erro padrão. T°C: temperatura na superfície, Sal sup: Salinidade na superfície, O ₂ sup: Concentração de oxigênio da superfície, AT: Alcalinidade Total.....	47
Tabela VII. Densidade média (Ind.m ⁻²) das espécies da macrofauna bentônica encontradas nos testemunhos utilizados no experimento de acidificação in situ.....	58
Tabela VIII. Medidas de temperatura (T°C), salinidade (Sal), pH e alcalinidade total (μmol/kg) realizadas durante o experimento de acidificação no laboratório. Os demais parâmetros foram calculados através do programa CO ₂ Calc (Robbins et al., 2010).....	60
Tabela IX. Densidade média (Ind.m ⁻²) das espécies da macrofauna bentônica encontradas nos testemunhos dos tipo silte e areia, utilizados no experimento de acidificação em laboratório.....	74
Tabela X. Análise de correlação de Pearson realizada com as medidas de fluxos de O ₂ , tCO ₂ e nutrientes dissolvidos: nitrato (NO ₃ ⁻), nitrito (NO ₂ ⁻), amônio (NH ₄ ⁺), fosfato (PO ₄ ³⁻) e silicato (SiO ₄), em relação ao ponto 1 clara (1), ponto 1 escura (b), ponto 2 clara (c), ponto 2 escura (d). N = 45 (claras), N= 36 (escuras). Os valores significativos (p ≤ 0,05) estão em negrito.....	78
Tabela XI. Análise de correlação de Pearson realizada com as medidas de fluxos de O ₂ , tCO ₂ e nutrientes dissolvidos: nitrato (NO ₃ ⁻), nitrito (NO ₂ ⁻), amônio (NH ₄ ⁺), fosfato (PO ₄ ³⁻) e silicato (SiO ₄), em relação ao experimento de acidificação em laboratório, nos dois tipos de sedimento e para os dois tratamentos: Silte	

pH 8.1 (a), Silte pH 7.3 (b), Areia pH 8.1 (c), Areia pH 7.3 (d). N= 27. Os valores significativos ($p \leq 0,05$) estão em negrito.....80

Tabela XII. Valores médios de Riqueza de espécies (S), Número de espécies (N), equitatividade (J') e índice de diversidade de espécies (H') observados no ponto 1 e 2, durante os experimentos de incubação in situ. Erros indicam ± 1 erro padrão.....84

Tabela XIII. Valores médios de Riqueza de espécies (S), Número de espécies (N), equitatividade (J') e índice de diversidade de espécies (H') observados nos dois tipos de tratamento, durante o experimento de acidificação in situ. Erros indicam ± 1 erro padrão.....84

Tabela XIV. Valores médios de Riqueza de espécies (S), Número de espécies (N), equitatividade (J') e índice de diversidade de espécies (H') observados nos dois tipos de sedimento (Areia e Silte), em ambos os tratamentos, durante o experimento de acidificação em laboratório. Erros indicam ± 1 erro padrão.....85

Tabela XV. Taxas de mineralização do Carbono Orgânico (CO) existentes na literatura e para este estudo. D: métodos diretos (incubações).....91

Tabela XVI. Taxas de remineralização do Carbono Orgânico (CO) calculados a partir do consumo médio de O_2 , para o experimento de acidificação em laboratório realizado na base norte do IOUSP em Ubatuba.....97

Índice de Figuras

Figura 1. Representação esquemática dos principais processos biogeoquímicos que ocorrem no sedimento marinho (modificado de: http://www.awi.de/index.php?id=5462&type=123&filename=awi.pdf)	5
Figura 2. Pontos de coleta e de realização dos experimentos in situ na Enseada das Palmas (Ilha Anchieta, Ubatuba).....	9
Figura 3. a. Desenho esquemáticos de uma câmara bêntica. b. Câmara bêntica sendo utilizada durante os experimentos de incubação in situ.....	10
Figura 4. Ilustração esquemática da disposição das câmaras bênticas nos experimentos de incubação in situ.....	11
Figura 5. Conjunto de sistemas de aquários contendo três tanques de circulação na parte superior e os <u>sumps</u> na parte inferior. O cilindro no lado direito da imagem fornece o CO ₂ para o sistema, que é controlado eletronicamente por um conjunto de sensores e válvulas solenoides.....	14
Figura 6. a. Sistema de aquários com os 12 testemunhos acondicionados na câmara de temperatura constante do LIPO, na base norte do IOUSP. b. Incubação sendo realizada nos testemunhos do ponto 2 (Areia).....	16
Figura 7. Processamento das amostras para análises da água intersticial em atmosfera inerte (glovebox).....	22
Figura 8. Evolução das concentrações (μM) dos nutrientes dissolvidos amônio (NH ₄ ⁺), nitrito (NO ₂ ⁻), nitrato (NO ₃ ⁻) e oxigênio dissolvido (O ₂) na coluna d'água durante os experimentos de incubação in situ realizados no Ponto 1.....	29
Figura 9. Evolução das concentrações (μM) dos nutrientes dissolvidos amônio (NH ₄ ⁺), nitrito (NO ₂ ⁻), nitrato (NO ₃ ⁻) e oxigênio dissolvido (O ₂) na coluna d'água durante os experimentos de incubação in situ realizados no Ponto 2.....	30
Figura 10. Fluxos de oxigênio dissolvido (O ₂) e gás carbônico total (tCO ₂) na interface água-sedimento, medidos em mmol m ⁻² d ⁻¹ , obtidos através dos experimentos de incubação in situ realizados nos Pontos 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	32
Figura 11. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO ₃ ⁻), nitrito (NO ₂ ⁻), amônio (NH ₄ ⁺), fosfato (PO ₄ ³⁻) e silicato (SiO ₄) na interface água-sedimento, medidos em μmol m ⁻² d ⁻¹ , obtidos através dos experimentos de	

incubação in situ realizados no Ponto 1: 25/07/2012; 19/03/2013; 09/04/2013; 19/06/2013; 24/06/2013. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	34
Figura 12. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) na interface água-sedimento, medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, obtidos através dos experimentos de incubação in situ realizados no Ponto 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	35
Figura 13. Perfis verticais das densidade (g mL^{-1}), porosidade (cm^3 de sedimento), matéria orgânica total (%MOT) e conteúdo de água (%) do sedimento coletados das câmaras bênticas após a incubação nos pontos 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	37
Figura 14. Perfis verticais de clorofila-a (Chl-a) e feopigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$) encontrados no sedimento durante os experimentos de incubação in situ realizados nos ponto 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	39
Figura 15. Concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) (μM) e amônio (NH_4^+) (μM) na água intersticial dos testemunhos retirados das câmaras bênticas, após os experimentos de incubação in situ realizados nos ponto 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	42
Figura 16. Concentrações de Fe^{2+} (μM) e sulfetos totais (tH_2S) (μM) na água intersticial dos testemunhos retirados das câmaras bênticas, após os experimentos de incubação in situ realizados nos ponto 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	43
Figura 17. Evolução das concentrações de oxigênio dissolvido (O_2) e CO_2 dissolvido na interface água-sedimento durante os experimentos de acidificação in situ realizados no Ponto 1. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	48
Figura 18. Evolução das concentrações dos nutrientes dissolvidos na interface água-sedimento: amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4), medidas durante o experimento de acidificação in situ realizado no Ponto 1. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	50
Figura 19. Fluxos de oxigênio dissolvido (O_2) e gás carbônico dissolvido (CO_2) na interface água-sedimento em $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ medidos durante o experimento de acidificação in situ, realizado no ponto 1. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	52
Figura 20. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) na interface água-sedimento, medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, obtidos durante o experimento de acidificação in situ realizado na região de Ubatuba, SP, em 01/07/2013. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....	54

- Figura 21. Perfis verticais de clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$) e feopigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos testemunhos retirados das câmaras após quatro horas de incubação. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....55
- Figura 22. Perfis verticais das concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) (μM), amônio (NH_4^+) (μM) e ferro dissolvido (Fe^{2+}) (μM) e sulfetos totais (tH_2S) (μM) na água intersticial dos testemunhos utilizados durante o experimento de acidificação *in situ*.....56
- Figura 23. Densidade média (Indivíduos.m^{-2}) dos organismos da macrofauna encontrados nos testemunhos utilizados durante o experimento de acidificação *in situ*. Outros: Anthozoa, Porifera, Sipuncula, Nemertea. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....57
- Figura 24. Fluxos de oxigênio dissolvido (O_2) e gás carbônico dissolvido (CO_2) em $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, medidos durante o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....61
- Figura 25. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, retirados do sedimento tipo silte, durante o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....63
- Figura 26. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, retirados do sedimento tipo areia, durante o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....65
- Figura 27. Perfis verticais das concentrações de clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$), feopigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$) e Matéria Orgânica Total (MOT) (%) nos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados para o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....67
- Figura 28. Perfis verticais da porcentagem de Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio Total (NT) e razão Carbono/Nitrogênio (C/N) dos testemunhos dos tipos silte e areia utilizados durante o experimento em laboratório. Não houve replicagem das amostras.....69
- Figura 29. Perfis verticais das concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) (μM) e amônio (NH_4^+) (μM) na água intersticial dos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados durante o experimento em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....71
- Figura 30. Perfis verticais das concentrações de ferro dissolvido (Fe^{2+}) (μM) e sulfetos totais (tH_2S) na água intersticial dos testemunhos (silte e areia), utilizados durante o experimento. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....72
- Figura 31. Densidade média (Ind.m^{-2}) dos organismos da macrofauna encontrados em ambas as camadas (0-5 e 5-10 cm) dos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados durante o experimento em laboratório.

Outros: Anthozoa, Sipuncula, Ophiuroidea, Nemertea e Turbellaria. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.....74

Figura 32. Análise de correlação de Pearson com os resultados da coluna sedimentar: Densidade (g/ml), % Água, Porosidade (cm^3 sed), %MO, Chl-a ($\mu\text{g.g}^{-1}$), Feopigmentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$), PO_4^{3-} (μM), NH_4^+ (μM), Fe^{2+} (μM) e H_2S (μM), referente aos experimentos de incubação in situ. Coeficientes de correlação de Pearson significativos ($p \leq 0,05$).....81

Figura 33. Análise de correlação de Pearson com os resultados da coluna sedimentar: Densidade (g/ml), % Água, Porosidade (cm^3 sed), %MO, Chl-a ($\mu\text{g.g}^{-1}$), Feopigmentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$), PO_4^{3-} (μM), NH_4^+ (μM), Fe^{2+} (μM) e H_2S (μM), referente ao experimento de acidificação em laboratório, no sedimento tipo silte (a) e no tipo areia (b). Coeficientes de correlação de Pearson significativos ($p < 0,05$).....83

Figura 34. Análise de ordenação MDS da densidade da macrofauna encontrada nos experimentos de incubação in situ, em função do período de coleta (Março e Abril/2013) e em função do tipo de câmara (clara e escura).....85

Figura 35. Análise de ordenação MDS da densidade da macrofauna encontrada no experimento de acidificação in situ, em função do tipo de tratamento (acidificado e controle).....86

Figura 36. Análise de ordenação MDS da densidade da macrofauna em relação ao tipo de sedimento (silte e areia) e ao tipo de tratamento (acidificado e controle).....86

Resumo

A acidificação dos oceanos, resultado do aumento das emissões de gás carbônico (CO_2), por atividades antrópicas, vem causando uma mudança no equilíbrio químico do sistema carbonato e uma consequente diminuição do pH nos oceanos mundiais. Cerca de 30% das emissões antropogênicas de CO_2 é absorvida pelo oceano, o que já reduziu o PH em 0,1 unidade em águas superficiais e são esperadas ainda maiores reduções. A escala de mudanças “toleráveis” de pH ainda é incerta para muitos organismos e pouco conhecida para muitos processos biológicos, particularmente no sedimento. Este trabalho teve como objetivo quantificar tanto as taxas atuais de remineralização da matéria orgânica e fluxos de nutrientes na interface água-sedimento, como as alterações nessas taxas em resposta a diferentes cenários de acidificação do oceano, usando câmaras de incubação bêntica tanto *in situ* como em laboratório. Os experimentos *in situ* e coleta de material para montagem dos experimentos em laboratório foram realizados através de mergulho autônomo, na área rasa de Ubatuba-SP (6-8 m de profundidade). As incubações mostraram alto consumo de O_2 , variando entre $-17 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ em Julho de 2012 e $-112 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ em Abril e Junho de 2013. Houve uma dominância da nitrificação, com fluxos entre 0,2 and $0,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (sem variação temporal). As incubações também mostraram fluxos positivos de amônio, sendo os mais altos ($1,0 - 1,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) observados em Março, Abril e Junho de 2013. No geral, os processos de heterotrofia líquida prevaleceram sobre os processos autotróficos na região de estudo. Esses resultados indicam que os processos que ocorrem nos sedimentos costeiros de Ubatuba são: (1) remineralização aeróbica bêntica, (2) processos de nitrificação maiores que denitrificação e (3) provável excreção de organismos bênticos. O experimento de acidificação *in situ* indicou um aumento nos fluxos de O_2 (de 0,02 para $45 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Os experimentos com acidificação mostraram efeitos similares: aumento do consumo médio de O_2 e liberação de CO_2 , principalmente na areia. Houve diminuição nos processos de nitrificação em resposta à diminuição do pH. O estudo forneceu resultados importantes e inéditos sobre os processos biogeoquímicos em sedimentos costeiros da região de Ubatuba (SP), assim como os efeitos da acidificação dos oceanos nos processos biogeoquímicos em sedimentos costeiros.

Palavras-chave: acidificação dos oceanos, fluxos bênticos, processos biogeoquímicos, sedimentos costeiros, nutrientes, Ubatuba

Abstract

Ocean acidification, a result of an increase in carbon dioxide (CO₂) anthropic emissions, has caused a change in the chemical balance of the carbonate system and a consequent pH decrease in the world's oceans. Approximately 30% of anthropogenic CO₂ is absorbed by the ocean, which has already reduced the pH by ~0.1 units in surface waters (with further reductions expected). The scale of "tolerable" pH changes is still uncertain for many organisms and little-known for biological processes, particularly for the sediment. This work aimed to quantify both the current rates of organic matter remineralization and nutrient fluxes at the sediment-water interface and the changes in those rates in response to different ocean acidification scenarios, using benthic incubation chambers both *in situ* and in the laboratory. The *in situ* studies and sample collections for laboratory experiments were performed via SCUBA in a shallow area near Ubatuba-SP (6-8 m deep). Incubation experiments showed high oxygen (O₂) consumption, ranging from -17 mmol m⁻² d⁻¹ in July 2012 to -112 mmol m⁻² d⁻¹ in April and June 2013. They also exhibited a dominance of nitrification, with fluxes between 0.2 and 0.4 μmol m⁻² d⁻¹ (with no temporal variation). Incubations also exhibited a release of ammonium, with the highest fluxes (1.0 – 1.5 μmol m⁻² d⁻¹) in March, April and June 2013. In general, net heterotrophic processes prevailed over autotrophic processes for the study region. The interstitial water parameters (ammonium, phosphate, dissolved iron and total sulfides) exhibited no significant difference between the two kinds of sediment analyzed, silt (station 1) and sand (station 2). These results suggested that the processes occurring in the coastal sediments of Ubatuba are: (1) benthic remineralization mediated by bacterial biota, (2) nitrification prevailed over denitrification and (3) probably excretion by benthic organisms. The experiment *in situ* indicated an increase in the fluxes of O₂ (from -70 to -108 mmol m⁻² d⁻¹) and CO₂ (from 0.02 to 45 mmol m⁻² d⁻¹). The acidification experiments showed a similar effect: a higher O₂ average consumption and CO₂ release, mostly in the sandy sediment. A decrease in nitrification processes occurred in response to decreased pH. This work has provided a baseline for the biogeochemical processes in coastal sediments in Ubatuba (SP), as well as demonstrated the effects of ocean acidification on biogeochemical processes in coastal sediments.

Key-words: ocean acidification, benthic fluxes, biogeochemical processes, coastal sediments, nutrients, Ubatuba

1. Introdução

Atualmente é incontestável que a acidificação dos oceanos é um fato real decorrente das emissões de gás carbônico (CO_2) por atividades antrópicas. Estima-se que cerca de 30% do CO_2 antropogênico seja absorvido pelos oceanos (Caldeira & Wickett, 2003; Sabine et al., 2004), o que vem causando uma mudança no equilíbrio químico do sistema carbonato e uma consequente diminuição do pH.

Quando o CO_2 se dissolve na água do mar, ele é hidratado, formando então o ácido carbônico (H_2CO_3). Esta reação é lenta quanto à ionização do H_2CO_3 sendo possível distinguir entre CO_2 dissolvido, CO_2 (aq), e a forma hidratada, H_2CO_3 (Soli & Byrne, 2002). No equilíbrio, a concentração de H_2CO_3 representa apenas um milésimo da concentração de CO_2 (aq) e, portanto, podemos representar a concentração destas duas espécies como CO_2^* (Pitzer & Brewer, 1961). Em soluções ácidas, (i.e., $\text{pH} < 5$), o CO_2^* é a forma dominante, porém em pHs mais altos, o CO_2^* ioniza-se na forma bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}). Os equilíbrios químicos citados estão ilustrados na série abaixo:

Dessa forma, o aumento na concentração de CO_2 dissolvido na água do mar resulta no aumento da concentração de íons hidrogênio (H^+) e íons bicarbonato (HCO_3^-), e na diminuição de íons carbonato (CO_3^{2-}). Como o pH é definido pela atividade de íons H^+ , fica claro que um aumento na concentração de íons H^+ resulta em um decréscimo do pH. É por isso que este processo é referido como "acidificação" (Dickson, 2007). Em relação ao sistema ácido/base que rege o pH nos oceanos, alguns parâmetros analíticos são fundamentais para o cálculo da concentração de tCO_2 na água do mar, são eles (Dickson, 1993):

1. *Salinidade e Temperatura*: Muito importante e necessário a obtenção desses valores na água do mar. Muitas constantes de equilíbrio são funções da salinidade e temperatura (Millero et al. 2008), e a composição dessa amostra de água do mar que está analisada por várias outras medidas analíticas dependerá desses valores.

2. *Carbono Inorgânico Dissolvido (CID)*: É o total de carbono inorgânico dissolvido em uma amostra de água do mar:

$$CID = [CO_2^*] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]$$

3. *Alcalinidade Total*: A alcalinidade total de uma amostra de água do mar pode ser denominada como uma expressão de conservação de massa em relação ao valor zero para o íon hidrogênio. Pode-se simplificar a expressão para águas abertas como sendo:

$$A_t \approx [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [B(OH)_4^-] + [OH^-] - [H^+]$$

4. *Concentração do íon Hidrogênio*: A concentração do íon hidrogênio na água do mar é reportada como pH:

$$pH = -\lg [H^+]$$

Onde $\lg x = \log_{10} x$, expresso em escalal total, em mol kg⁻¹.

5. *p(CO₂)*: A pressão parcial do gás carbônico no ar em equilíbrio com uma amostra de água do mar, à uma temperatura específica, é a medida do grau de saturação da amostra com CO₂ (g). A pCO₂ de uma amostra de água do mar é uma função da temperatura, podendo haver mudanças de 4,2% por Kelvin, e é expressa por:

$$p(CO_2) = x(CO_2)p$$

Onde $x(CO_2)$ é a fração molar do CO₂ na fase gasosa (ar) e p é a pressão total.

Comparado aos níveis pré-industriais, o pH das águas superficiais do oceano já foi reduzido em cerca de 0,1 unidade (Raven et al., 2005; Zeebe et al., 2008). Caso os níveis de CO₂ atmosférico atinjam 800 ppmv (um dos cenários previstos pelo quinto relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC) (ver IPCC, 2007; 2013), espera-se uma diminuição de mais 0,3 a 0,4 unidade de pH em 2100 e de cerca de 0,7 unidade em 2300 (IPCC, 2013; Orr et al., 2005). Tais alterações são sem precedentes se considerarmos que o pH oceânico vem se mantendo relativamente constante nos últimos 300 milhões de anos, com exceção de mudanças ocorridas durante eventos catastróficos (Caldeira & Rampino, 1993; Beerling & Berner, 2002). Segundo Caldeira & Wickett (2003), as mudanças previstas para o próximo século incluem índices de acidificação oceânica não vistas nos últimos 800 mil anos.

A absorção de CO_2 antropogênico pelos oceanos, a redução de pH e a diminuição do ponto de saturação do CaCO_3 em águas superficiais, local de grande produção fotossintética, já estão bem verificados por modelos, cruzeiros hidrográficos e dados de séries temporais (Caldeira & Wickett, 2003; 2005; Feely et al., 2004; 2008; Orr et al., 2005; Solomon et al., 2007). Em escala global, os *inputs* antropogênicos de ácidos (HNO_3 , H_2SO_4) e bases fortes (NH_3), em função da queima de combustíveis fósseis e agricultura, contribuem com uma pequena fração para a acidificação, porém esses *inputs* estão mais concentrados em águas costeiras, local onde as respostas à acidificação podem ser mais sérias para a humanidade (Doney et al., 2009).

A acidificação oceânica tem o potencial de alterar a dinâmica biogeoquímica do carbono orgânico e nutrientes no oceano de inúmeras maneiras. O aumento na dissolução do CaCO_3 na coluna d'água pode diminuir a contribuição deste elemento no balanço de carbono em mar profundo (Passow, 2004), resultando em mais carbono orgânico para remineralização em águas rasas e prejudicando a eficiência da absorção de CO_2 atmosférico pelos oceanos. Experimentos laboratoriais em mesocosmo sugerem que certas espécies fitoplanctônicas, submetidas a altas concentrações de CO_2 , produzem matéria orgânica com altas razões C/N (Riebesell et al., 2004). Essas alterações podem levar à degradação da qualidade da matéria orgânica consumida pelo zooplâncton e pelas comunidades microbianas (Doney et al., 2009) e, em última instância, pelos organismos bênticos.

O aumento das concentrações de CO_2 na água do mar acarreta em maiores taxas de fixação de nitrogênio (N_2 em NH_3) por bactérias fotossintetizantes (Fu et al., 2008; Hutchins et al., 2007). Isso pode alterar sua fisiologia (Wu et al., 2010), assim como a especiação química, como por exemplo a diminuição da disponibilidade biológica do ferro (Shi et al., 2010) e amônio (Beman et al., 2011) para a comunidade fitoplânctônica. No entanto, trabalhos mais recentes vêm mostrando que os efeitos da acidificação podem ser muito diversos. Em experimentos laboratoriais, Iglesias-Rodriguez et al. (2008) demonstraram que as taxas de calcificação e produção primária líquida em cocolitoforídeos da espécie *Emiliana huxleyi* são significativamente maiores com o aumento da pressão parcial do CO_2 . Dupont et al. (2012) mostraram que vermes acelomados autotróficos e fotossimbiontes apresentam grande resistência a altas concentrações de CO_2 e respostas até positivas em relação à sobrevivência, crescimento e fertilidade. Ou seja, a escala de mudanças “toleráveis” de pH ainda é incerta para muitos organismos e pouco conhecida para os processos biológicos (Raven et al., 2005).

No ambiente marinho, o mecanismo geral do ciclo do material orgânico é bem conhecido: a matéria orgânica entra na coluna d'água pela produção fotossintética, uma parcela das partículas orgânicas é reciclada na própria coluna d'água e outra é depositada no fundo. Parte da matéria orgânica depositada é então remineralizada e os nutrientes são regenerados no sedimento, retornando para a coluna d'água através de fluxos difusivos (e.g., Rowe et al., 1975; 1977; Nixon et al., 1980; Berner, 1980; Hopkinson, 1985; 1987). Uma outra pequena fração da matéria orgânica é enterrada por diversos mecanismos, entre os quais a bioturbação por organismos do bentos é uma das mais importantes (Smith & Rabouille, 2002). Esse ciclo é fundamental no oceano, pois permite uma retroalimentação da comunidade fotossintetizante planctônica e bêntica, com nova síntese de material orgânico lábil para as comunidades marinhas.

A interface sedimento-água é caracterizada por apresentar gradientes biológicos e físico-químicos que promovem mudanças na natureza e quantidade da matéria orgânica depositada (Berner, 1980). Reações biogeoquímicas presentes na camada limite entre sedimento e coluna d'água determinam a taxa de remineralização da matéria orgânica, o que leva à regeneração de nutrientes e CO_2 . A diagênese da matéria orgânica em sedimentos costeiros resulta em oxidação aeróbica e redução de sulfato (Jørgensen, 1982), e pode causar um acentuado gradiente vertical no pH e na concentração de carbono orgânico (Andersen & Kristensen, 1988) dentro da camada sedimentar. O transporte de carbono orgânico pela água intersticial é inicialmente produzido por difusão molecular, sendo substancialmente reforçado por processos de irrigação nos primeiros centímetros do sedimento (Boudreau, 1997). Os produtos da oxidação bêntica do carbono são gerados através de uma rede complexa de vias de degradação, sendo os principais aceptores de elétrons: O_2 , NO_3^- e óxidos de Mn, Fe e SO_4^{2-} , e CH_4 (e.g., Jørgensen, 1977; Froelich et al., 1979; Berner, 1980; Canfield et al., 1993; Thamdrup et al., 1998) (Figura 1). A importância relativa de cada via de degradação muda de acordo com o tipo de sedimento e taxa de sedimentação, mas em termos energéticos o oxigênio é o aceptor de elétrons mais favorável para a respiração aeróbica microbiana (Fenchel et al., 1998).

Figura 1. Representação esquemática dos principais processos biogeoquímicos que ocorrem no sedimento marinho (modificado de: <http://www.awi.de/index.php?id=5462&type=123&filename=awi.pdf>).

O acesso a medidas de fluxos bênticos pode ser feito por incubação *in situ* de câmaras no sedimento e em laboratório, com o subsequente monitoramento das mudanças na concentração de solutos em um volume de água conhecido (e.g. Kristensen, 1993). Para determinação *in situ* do consumo bêntico de O₂, assim como dos fluxos de nutrientes na água intersticial, equipamentos de medição direta no assoalho oceânico vêm sendo desenvolvidos nas últimas décadas (ver revisão Tengberg et al., 1995; Nicholson et al., 1999, Jahnke et al., 1990; 2000; 2004; Marinelli et al., 1998; Reimers & Glud, 2000; Reimers et al., 2000; Forja et al., 2004), além de sistemas de incubação em laboratório (Rabouille et al., 2003; Tengberg et al., 2004). De uma maneira geral, esses estudos demonstram que a troca de solutos é controlada pela difusão molecular e transporte não-molecular, sendo estes relacionados à atividade e abundância de organismos macrobênticos (Jahnke, 2001). Vantagens do estudo *in situ* de fluxos de solutos no sedimento incluem: (1) ausência de perturbações nas amostras, e.g.

variações na pressão hidrostática, temperatura, pH, alcalinidade, ao serem trazidas à superfície; (2) economia de tempo de utilização da embarcação em comparação às técnicas convencionais de coleta com testemunhos, na medida em que, enquanto se coloca o equipamento em funcionamento, outras operações podem ser realizadas até o momento da retirada.

Grande parte das pesquisas atuais sobre as consequências da acidificação dos oceanos tem se limitado a organismos que dependem da disponibilidade de íons carbonato na água para formação de seus esqueletos e conchas, e.g. corais (Gattuso et al., 1998; Marubini et al., 2001, 2003; Langdon & Atkinson, 2005; Kleypas et al., 2006; Rodolfo-Metalpa et al., 2009), cocolitoforídeos (Riebesell et al., 2000; Sciandra et al., 2003; Iglesias-Rodrigues et al., 2008), foraminíferos (Bijma et al., 1999, 2002), algas coralináceas (Jokiel et al., 2008), equinodermes (Shirayama & Thorton, 2005; Dupont et al., 2010), moluscos (Orr et al., 2005, Findlay et al., 2011), comunidades recifais (Langdon et al., 2000, 2003) e larvas de corais (Cohen et al., 2009). Estudos mais recentes tem levado em consideração potenciais consequências sobre processos biológicos e serviços ecossistêmicos (Murray et al., 2012), interações entre produtores primários (Gao et al., 2012), produtores secundários (Russell et al., 2012) e interações animal-sedimento (Widdicombe et al., 2013; Laverock et al., 2013). Porém, ainda são incipientes estudos envolvendo experimentos *in situ*, com destaque para Kline et al. (2012) e Ishida et al. (2013).

Este trabalho está inserido no projeto de pesquisa intitulado *Efeitos da Acidificação no Metabolismo e Trofodinâmica no Bentos Marinho* (ACIDBENTHOS), financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo nº 2010/20350-8). A bolsa de doutorado para a realização deste trabalho também foi financiada pela FAPESP (Processo nº 2011/13912-2). O estudo contribuiu com informações inéditas sobre os processos biogeoquímicos em sedimentos costeiros da enseada das Palmas, Ubatuba (SP), assim como os efeitos da acidificação dos oceanos nesse ambiente, com experimentos *in situ* e em laboratório, indicou variações nos fluxos de oxigênio, gás carbônico e nutrientes, e ainda mostrou uma tendência de prováveis impactos na comunidade bacteriana e na macrofauna bêntica.

2. Objetivos

O presente trabalho teve caráter eminentemente experimental e visou quantificar, através de experimentos de incubação em câmaras bênticas *in situ* e em laboratório, as taxas de remineralização da matéria orgânica e dos fluxos de nutrientes na interface água-sedimento atuais e em resposta a um diferente cenário de acidificação do oceano (AO). Testou-se as seguintes hipóteses:

1. A acidificação dos oceanos altera os fluxos de O_2 e tCO_2 na interface sedimento-água pela presença de maiores concentrações de CO_2 na água do mar.
2. A acidificação dos oceanos altera os fluxos de nutrientes dissolvidos (amônio, nitrato, nitrito, fosfato e silicato) na interface sedimento-água, em função de alterações químicas decorrentes da diminuição do pH.

Para responder estas hipóteses foram feitas medidas das taxas de metabolismo bêntico através de câmaras de incubação *in situ* e experimentos em laboratório em condições de acidificação (baixo pH) e o controle (pH medido *in situ*), com níveis atuais. Os experimentos quantificaram o metabolismo bêntico em função dos fluxos de tCO_2 , O_2 e dos fluxos de regeneração bêntica dos nutrientes inorgânicos dissolvidos (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SiO_4^{4-}) na interface sedimento-água. Na água intersticial foram medidas as concentrações de ferro dissolvido (Fe^{2+}), sulfetos totais (tH_2S), NH_4^+ e PO_4^{3-} , assim como parâmetros da coluna sedimentar: porosidade, densidade, conteúdo de água, teor de matéria orgânica, fitopigmentos, carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT) e razão C/N. Além disso, analisou-se a estrutura e composição da macrofauna bêntica.

3. Materiais e Métodos

3.1. Área de Estudo

A plataforma continental SE ao largo de Ubatuba, São Paulo, é caracterizada por um regime de produtividade meso-oligotrófico, sendo a produtividade primária limitada pela escassez de nutrientes inorgânicos, em parte devido ao baixo aporte fluvial (Braga & Müller, 1998). O pH na região varia entre 7,95 e 8,11, sendo o menor valor encontrado em regiões

estuarinas e próximas a aportes de água doce, e o maior em áreas oceânicas. Além disso, o pH não apresenta variações sazonais significativas (Teixeira, 1973). A regeneração de nutrientes prevalece durante todo o ano (Braga & Müller, 1998), enquanto que no verão, a intrusão em subsuperfície da massa de água ACAS, fria rica em nutrientes, pode causar esporádicos aumentos na produção nova, com florescimentos de diatomáceas em áreas internas da plataforma continental (Castro-Filho et al., 1987; Aidar et al., 1993; Gaeta et al., 1995; 1999). No entanto, a produtividade primária local é dominada por espécies do nanoplâncton (Sassi & Kutner, 1992; Aidar et al., 1993; Gaeta et al., 1999).

Os experimentos *in situ* e a coleta de sedimentos para os experimentos de simulação da acidificação dos oceanos em laboratório foram realizados na Enseada das Palmas, Ilha Anchieta (Ubatuba/SP, 23°31.805'S, 045°03.743'W), com profundidade de 8 metros no ponto 1 e 6 metros no ponto 2 (Figura 2). Essa enseada possui um ambiente bastante abrigado, com condições estáveis de vento e ondas, água limpa e clara. Apresenta uma fauna rica em número e composição de espécies, assim como ampla presença de macrófitas e filmes de microfitobentos. Além disso, possui características granulométricas muito distintas em relação à proximidade da costa, sendo encontrado um sedimento mais arenoso nas proximidades da costa e características mais silticas distanciando-se da costa. Todas essas condições agrupam-se em características muito propícias para realização de experimentos com mergulho autônomo e coleta de sedimento para os experimentos em laboratório.

Os experimentos de incubação *in situ* utilizando câmaras bêmicas envolveram um segundo ponto, muito próximo do primeiro, com características granulométricas diferentes, e que foram observadas somente após a coleta prévia de sedimento realizada para análise do local de estudo. Dessa forma optou-se por realizar os experimentos nesses dois pontos. O primeiro considerado mais siltico (Ponto 1) e o segundo, mais arenoso, o Ponto 2 (Figura 2).

Figura 2. Pontos de coleta e de realização dos experimentos *in situ* na Enseada das Palmas (Ilha Anchieta, Ubatuba).

3.2. Experimentos de incubação *in situ*: Dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos

3.2.1. Câmaras Bênticas

Para a realização dos experimentos foram confeccionadas seis câmaras bênticas, sendo três delas utilizadas para medidas de fluxos envolvendo a produção primária (câmaras claras) e três encapadas com um material plástico na cor preta para eliminar o efeito da produção primária (câmaras escuras). As câmaras foram feitas de acrílico e cada uma é composta de um cilindro de 30 cm de altura e 30 cm de diâmetro interno, uma aba de acrílico, colada externamente ao cilindro, para auxiliar no enterramento e posterior sustentação, e uma tampa de acrílico contendo: uma válvula para amostragem de água, um cilindro de pvc provido de motor (60 rpm, 6V), um eixo com ímãs e duas pilhas grandes soldadas formando uma única bateria. Na parte interna da tampa foi colocada uma pequena hélice acoplada a um ímã. O funcionamento da hélice foi realizado por magnetismo, ou seja, o motor girava o eixo com ímãs que, por sua vez, girava a hélice acoplada a outro ímã. (Figura 3 a, b).

Figura 3. a. Desenho esquemáticos de uma câmara bêntica. b. Câmara bêntica sendo utilizada durante os experimentos de incubação *in situ*.

3.2.2. Desenho experimental

Os experimentos de incubação *in situ* foram utilizados para quantificar as taxas de remineralização da matéria orgânica e dos processos biogeoquímicos atuais. Isso serviu como linha de base para a análise posterior das respostas a diferentes cenários de acidificação do oceano (AO).

Com exceção de 25 de julho de 2012 e 1 de julho de 2013, em cada um dos períodos (março, abril e junho) foram realizados dois dias de experimentos, um no ponto 1 e outro no

ponto 2. No ponto 1, os experimentos foram realizados em 25/07/12, 19/03/13, 09/04/13, 19 e 24/06/13 e 01/07/13. No ponto 2, os experimentos foram realizados em 20/03/13, 11/04/13, 20 e 26/06/13.

Para a realização das incubações, as câmaras foram colocadas a uma distância de 3 metros uma da outra, formando no conjunto uma radial, sustentada ao centro por uma poita de 30kg, provida de uma bóia sinalizadora (Figura 4). Inicialmente, as câmaras abertas foram enterradas manualmente no sedimento até a metade da altura (15 cm), obtendo-se, dessa forma, 15 cm de coluna d'água e 15 cm de coluna sedimentar. Com as câmaras fixadas, foi realizada uma primeira amostragem de água com seringas de 60 ml. Para se obter o volume de água necessário, foram coletadas 8 seringas de 60 ml para cada câmara. Em seguida, as câmaras foram fechadas com as respectivas tampas e mantidas no local de estudo por um período de 4 horas. Após as duas primeiras horas, amostras de água foram coletadas com as seringas através da válvula de amostragem para análise dos fluxos de oxigênio, CO₂ e nutrientes dissolvidos. Simultaneamente aos experimentos, foram realizadas perfilagens da coluna d'água com sensor CTD (CastAway CTD – SonTek®), para medidas de temperatura, salinidade e profundidade, coleta de amostras de água para análise de oxigênio dissolvido, CO₂ e alcalinidade total.

Figura 4. Ilustração esquemática da disposição das câmaras bênticas nos experimentos de incubação in situ

Após 4 horas de incubação, amostras de água foram coletadas para análise dos fluxos de oxigênio, CO₂ e nutrientes dissolvidos. Em seguida, as câmaras foram abertas e uma porção do sedimento de dentro das câmaras foi retirado por mergulho autônomo, utilizando-se 3

testemunhos de 10 cm de diâmetro e 30 cm de altura, sendo 1 testemunho para análises sedimentares (granulometria, densidade, porosidade, conteúdo de água, MOT, clorofila-a e feopigmentos), 1 para macrofauna e 1 para análise de água intersticial (Fe , H_2S , NH_4^+ e PO_4^{3-}). Os testemunhos para as análises sedimentares, granulometria e água intersticial foram fatiados verticalmente em cinco horizontes (0-2, 2-4, 4-6, 6-8 e 8-10 cm). Os testemunhos para macrofauna foram fatiados em dois horizontes (0-5 cm e 5-10 cm). O sedimento foi lavado em peneira de 0,5 mm e o material restante foi fixado em álcool 70% para posterior triagem e identificação dos organismos ao nível taxonômico mais específico. As amostras de sedimento foram devidamente guardadas e congeladas para posterior análise. As amostras de água previamente filtradas com filtro GF/F 0,4 μm , foram congeladas para posterior análise.

3.3. Experimentos de acidificação *in situ*: Efeitos da acidificação na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos

3.3.1. Desenho experimental

Este experimento foi realizado com o objetivo de detectar possíveis efeitos da acidificação dos oceanos nos fluxos biogeoquímicos da interface sedimento-água. O experimento foi realizado na região de Ubatuba, no denominado ponto 1 (Figura 2), no dia 01/07/2013. O experimento consistiu da utilização de seis câmaras bênticas escuras (as seis foram revestidas com material plástico preto), instaladas da mesma maneira que foi mostrada na Figura 4, sendo três utilizadas como tratamento "controle", e três como tratamento "acidificado", com pH em torno de 7,3, valor previsto para os próximos 150 anos, segundo o quarto relatório do IPCC 2007 e Orr et al. (2005). O tratamento "acidificado" foi realizado através da adição de duas soluções, uma de 1647 μmol de NaHCO_3 e outra de 1647 μmol de HCl . As soluções foram introduzidas nas câmaras pelas válvulas de amostragem, com seringas de 60 ml, semelhantes às utilizadas para coleta de água. A escolha dessas soluções foi feita pois, para experimentos de acidificação *in situ*, a adição de bicarbonato de sódio e HCl permite que haja um aumento do carbono inorgânico dissolvido (CID) sem alterar a alcalinidade total, refletindo as condições naturais dos efeitos da acidificação dos oceanos. Além disso, a adição dessas duas soluções causam o mesmo efeito ao borbulhamento de CO_2 , porém é uma metodologia mais apropriada para experimentos *in situ* por ser tecnicamente mais simples.

Sabe-se através dos cálculos de alcalinidade total que, em uma temperatura de 23°C e salinidade de 35, a alcalinidade total é 2350 $\mu\text{mol/L}$ e a pCO_2 é 390 μatm . Para esses valores de

alcalinidade e $p\text{CO}_2$, o CID é $2028 \mu\text{mol/kg}$. O decréscimo de pH 8.12 para 7,3 gera um aumento em $p\text{CO}_2$ de 390 para $900 \mu\text{atm}$, resultando um valor de CID = $2189 \mu\text{mol/kg}$. Dessa forma, é necessário que o CID sofra um aumento de $161 \mu\text{mol/kg}$ ($2189 - 2028$) dentro das câmaras. Como as câmaras têm 10L de volume, seguem os cálculos:

$$10\text{L} * 1.023 \text{ Kg/L} * 161 \mu\text{mol/kg} = 1647 \mu\text{mol de NaHCO}_3$$

Onde:

10: Volume da câmara;

1023: Densidade da água do mar;

161: Concentração de CID necessária para o experimento

Foi feita uma solução de HCl na mesma concentração que o NaHCO_3 para que a alcalinidade total não fosse alterada, somente o CID. Para a solução de $1647 \mu\text{mol/L}$ de NaHCO_3 , foram pesados 34,587 g de NaHCO_3 . Para a solução de $1647 \mu\text{mol/L}$ de HCl, foram adicionados 34,175 ml de HCl.

Com as câmaras instaladas, foi realizada uma primeira amostragem de água, para análise de oxigênio, CO_2 e alcalinidade total. Em seguida, as câmaras foram fechadas com as respectivas tampas. Nas câmaras "acidificadas" adicionou-se as duas soluções, sendo primeiro adicionada a de NaHCO_3 e logo em seguida a de HCl. As câmaras foram mantidas fechadas no local de estudo por um período de 4 horas. Nas primeiras duas horas de experimento, amostras de água foram coletadas através da válvula de amostragem para análise dos fluxos de oxigênio, CO_2 , alcalinidade total e nutrientes dissolvidos. Simultaneamente aos experimentos, foram realizadas perfilagens da coluna d'água com CTD para medidas de temperatura, salinidade e condutividade, e coleta de amostras de água para análise de oxigênio dissolvido, tCO_2 e alcalinidade. Após 4 horas de incubação, amostras de água foram coletadas para análise dos fluxos de oxigênio, tCO_2 e nutrientes dissolvidos. Em seguida as câmaras foram abertas e o sedimento coletado por mergulho autônomo, da mesma maneira que o descrito na seção anterior, assim como o armazenamento das amostras para análises em laboratório.

3.4. Experimento em Laboratório: Simulação da Acidificação dos Oceanos na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos

3.4.1. Desenho experimental

O experimento em laboratório foi realizado na sala de temperatura controlada do Laboratório Integrado de Processos Oceanográficos (LIPO) na base de Ubatuba do Instituto Oceanográfico da USP. O objetivo deste experimento foi avaliar como a acidificação dos oceanos afeta a dinâmica do metabolismo bêntico, bem como as vias do carbono orgânico e os processos biogeoquímicos do sedimento.

Dois sistemas de aquários capazes de controlar o pH da água do mar foram utilizados. Cada um desses sistemas funcionam independentemente e são formados por quatro aquários, sendo três tanques de 60 L cada para circulação e realização do experimento e um tanque de 100 L denominado *sump*, onde é feito o controle da qualidade da água. Cada sistema é munido de (1) um *skimmer* para retirada de compostos nitrogenados; (2) bombas de circulação; (3) sensor de nível da coluna de água; (4) resfriador e aquecedor para controle da temperatura e; (5) reator de CO₂ (Figura 5).

Figura 5. Conjunto de sistemas de aquários contendo três tanques de circulação na parte superior e os sumps na parte inferior. O cilindro no lado direito da imagem fornece o CO₂ para o sistema, que é controlado eletronicamente por um conjunto de sensores e válvulas solenoides.

A acidificação da água do mar nos experimentos deu-se através de um sistema de borbulhamento de CO₂ nos tanques de água dos aquários (*sumps*). O gás foi alimentado através de um cilindro de CO₂ de 25 kg munido de válvula solenoide controlada e monitorada pelo controlador *ReefKeeper Elite Aquarium Controller* (Digital Aquatics®) em resposta aos sensores de pH, temperatura e potencial redox instalados nos sistemas. Aumentos do pH do sistema acionam a válvula solenoide através do controlador, injetando CO₂ na água do mar do tanque principal (“*sump*”) até que o pH se estabilize novamente no nível desejado. O tanque principal alimenta os aquários contendo os experimentos com água do mar acidificada.

O sistema de borbulhamento de CO₂ para alteração do pH da água do mar foi utilizado por ser o que mais se assemelha ao que acontece no ambiente natural, sem que haja alteração da alcalinidade final (ver acima).

Este experimento foi conduzido no período de 20 a 30 de junho de 2013, na base norte do IOUSP em Ubatuba, São Paulo. A coleta dos testemunhos intactos foi realizada por mergulho autônomo nos mesmos pontos, 1 (Silte) e 2 (Areia) dos experimentos de incubação *in situ*. Para a coleta foram utilizados 12 testemunhos de acrílico, com 20 cm de diâmetro interno e 30 cm de altura, sendo seis testemunhos para o ponto 1 e seis para o ponto 2. Após a coleta, os testemunhos foram levados para a Base Norte do IOUSP, em Ubatuba, e acondicionados na câmara de temperatura controlada da LIPO a 23°C.

Em laboratório, os testemunhos foram imediatamente colocados no sistema de aquários para aclimação por 24 horas. O experimento foi realizado em dois sistemas de aquários contendo três tanques cada. Foram colocados dois testemunhos por tanque, sendo um coletado no ponto 1 e outro no ponto 2. No total foram três aquários para o controle e três para o tratamento acidificado. No sistema controle, foi mantido o valor de pH original do ambiente em estudo (8,1). No sistema acidificado, o valor de pH foi 7,3.

Após 24 horas foi feita a primeira amostragem para medida de O₂, tCO₂ e nutrientes (nitrato, nitrito, fosfato e silicato), que corresponderam ao período pré-acidificação (Pré-AO). Logo em seguida, o sistema de borbulhamento foi ativado e deu-se início ao experimento (Figura 6). Vinte e quatro horas após o acionamento do sistema de acidificação, a água sobrejacente de cada testemunho foi amostrada com seringas de 60 ml para medida de nutrientes e fluxos de O₂ e CO₂. Os testemunhos foram então selados com suas respectivas tampas, dotadas de um sistema de circulação interna (60 rpm) muito semelhante às câmaras

de incubação *in situ*, porém os motores foram alimentados pela rede elétrica local através de cabos, e uma válvula de amostragem. Após incubação por três a quatro horas, os testemunhos foram amostrados novamente para as análises da água sobrejacente. Esta primeira incubação denominou-se T1 (24 h). As amostragens posteriores foram realizadas em 48 h (T2), 5 dias (T3) e 9 dias (T4) após o início do experimento. No décimo dia de experimento, os testemunhos foram retirados do sistema para o término da amostragem. De cada testemunho maior (20 cm), foram retirados três testemunhos menores, um de 10 cm de diâmetro externo e 30 cm de altura e dois de 10 cm de diâmetro e 30 cm de altura. Dos dois testemunhos de 7 cm, um foi utilizado para análise de água intersticial (Fe , H_2S , NH_4^+ , PO_4^{3-}) e um para as características do sedimento (densidade, porosidade, conteúdo de água, clorofila, feopigmentos e MOT). O testemunho de 10 cm foi utilizado para análise da macrofauna bêntica. Os testemunhos para as análises sedimentares e água intersticial foram verticalmente fatiados em cinco horizontes (0-2, 2-4, 4-6, 6-8 e 8-10 cm). Os testemunhos para macrofauna foram fatiados em dois horizontes (0-5 cm e 5-10 cm). O sedimento foi lavado em peneira de 0,5 mm de malha. O material retido na peneira foi fixado em álcool 70% para posterior triagem e identificação dos organismos ao nível taxonômico mais específico possível. As amostras sedimentares, de água e da água intersticial foram fixados e armazenados como descrito anteriormente.

a.

b.

Figura 6. a. Sistema de aquários com os 12 testemunhos acondicionados na câmara de temperatura constante do LIPO, na base norte do IOUSP. b. Incubação sendo realizada nos testemunhos do ponto 2 (Areia).

3.5. Métodos Analíticos - Coluna d'água

3.5.1. Oxigênio Dissolvido

A concentração do oxigênio dissolvido da água foi determinada pelo método de titulação de Winkler (ver Grasshoff et al., 1999).

3.5.2. Alcalinidade Total da água do mar

A alcalinidade total foi analisada pelo método de titulação potenciométrica com ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹ (Dickson, 1981).

O ácido titulante foi preparado com a adição de cloreto de sódio até atingir a salinidade da água do mar da área de estudo. Esse procedimento é necessário para que a solução titulante tenha o mesmo valor da força iônica da água do mar e, assim, manter os coeficientes de atividade aproximadamente constantes durante a titulação. O progresso da titulação foi monitorado utilizando-se o titulador automático Titrino (848) da Metrohm®.

A alcalinidade total foi determinada pelas medidas de volume de titulante e da força eletromotriz (E) obtidas durante a titulação. Para o cálculo, utiliza-se o método de Gran simples, que permite a linearização dos dados para a determinação do ponto de equivalência da titulação (ver Dickson et al., 2007). As concentrações de tCO₂, pCO₂ e as concentrações de carbonato e bicarbonato foram calculadas através das medidas de alcalinidade total e pH utilizando o programa CO₂ calc (Robbins et al., 2010). As constantes para o CO₂ K₁ e K₂ foram as propostas por Mehrbach et al., 1973, revisadas por Dickson e Millero, 1987. A escala de pH utilizada foi a escala total (mol/KgSW). A constante para KHSO₄ utilizada foi proposta por Dickson (1990). O fluxo ar-mar foi calculado pelo programa CO₂ calc, baseado em Wanninkhof (1992).

3.5.3. Nutrientes inorgânicos dissolvidos

3.5.3.1. Nitrato (NO₃⁻) e Nitrito (NO₂⁻)

A determinação do nitrito e nitrato seguiu o método colorimétrico com uso de coluna de cádmio cuperizado para a redução do nitrato a nitrito (Wood et al., 1967). O valor de nitrito total (nitrito + nitrato reduzido) menos o valor do nitrito inicial fornece o valor de nitrato. As

análises foram realizadas por procedimento automático – *AutoAnalyzer II (Bran-Luebbe®)*, em fluxo contínuo com arraste por bolhas baseada em Grasshoff et al. (1999), Tréguer & Le Corre (1975). A precisão do método para nitrito foi de 0,01 µM e para nitrato foi de 0,02 µM.

3.5.3.2. N-amoniaco/Amônio (NH_4^+)

A metodologia utilizada foi descrita por Tréguer & Le Corre (1975). O método baseia-se na formação do azul de indofenol pela reação alcalina do amoníaco com solução de hipoclorito, fenol e nitroprussiato, que atua como catalisador. O comprimento óptico de leitura foi de 630 nm, feita em espectrofotômetro Genesys (Bausch & Lomb®). A precisão do método foi de 0,05 µM.

3.5.3.3. Fosfato (PO_4^{3-})

As concentrações de fosfato foram determinadas pela metodologia proposta por Grasshoff et al. (1999). O método baseia-se na reação de molibdato de amônio com o fósforo em suas formas de ortofosfatos, em meio ácido. O comprimento óptico de leitura foi 880 nm, em espectrofotômetro Hitachi® U-1100. A precisão do método foi de 0,01 µM.

3.5.3.4. Silicato (SiO_4)

As concentrações de silicato foram medidas seguindo a metodologia descrita em Grasshoff (1969), com modificações de Carmouze (1994) para pequenos volumes de amostra. O método envolve a reação entre o ácido silíceo e heptamolibdato de amônio, em meio ácido, resultando em um silicomolibdico. Este complexo é reduzido pelo ácido ascórbico, formando uma solução azulada. O comprimento óptico de leitura foi de 810 nm, em espectrofotômetro Hitachi® U-1100. A precisão do método foi de 0,02 µM.

3.5.4. Fluxos bênticos - O_2 e CO_2 e nutrientes

Com os resultados das concentrações de oxigênio dissolvido e CO_2 foram calculados os fluxos (liberação ou consumo) por m^2 da superfície do sedimento por dia (mmol d^{-1}), de acordo com a seguinte fórmula:

Fluxo = variação da concentração x volume de água/área de superfície/tempo

$$J = (C_f - C_i) \times p \times r^2 \times h / p \times r^2 \times t \text{ (valores)}$$

$$\text{mmol m}^2 \text{ d}^{-1} = \text{mmol m}^{-3} \times \text{m}^3 / \text{m}^2 / \text{d} \text{ (unidades)}$$

Os fluxos dos nutrientes inorgânicos dissolvidos foram calculados com a mesma fórmula, com resultado em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$. Os cálculos de fluxos basearam-se em Berner (1980).

3.6. Métodos Analíticos - Coluna sedimentar

3.6.1. Características do sedimento

As análises envolveram: densidade, porosidade, conteúdo de água e teor de matéria orgânica. A metodologia foi baseada em Kristensen & Andersen (1987). A densidade do sedimento foi determinada pelo peso de um volume conhecido. Uma alíquota de 4 mL foi retirada das amostras de sedimento úmido utilizando-se uma seringa de 4 mL. Desta alíquota, foi mensurado o peso úmido e o peso seco (100°C em estufa por 24 h). Dessa forma, a densidade do sedimento foi calculada por: *densidade do sedimento* = *peso sedimento seco*/4 mL, expressa em g mL^{-1} . A porosidade do sedimento foi calculada a partir do conteúdo de água (peso úmido do sedimento – peso seco, em %) e densidade do sedimento através da seguinte fórmula: *porosidade* = *conteúdo de água* x *densidade do sedimento*/100. O teor de matéria orgânica foi medida pela combustão das amostras em mufla a 500°C por 4 horas.

3.6.2. Análise Granulométrica

A análise das amostras foi realizada pelo Laboratório de Sedimentologia do IOUSP, seguindo o método de peneiramento e pipetagem descrito em Suguio (1973). As amostras de sedimento foram classificadas segundo Folk & Ward (1957). Os teores de carbonato detrítico foram obtidos através da diferença de peso de alíquotas das amostras de sedimento, antes e após o ataque com solução de HCL 10% (método de dissolução ácida). As porcentagens de matéria orgânica foram determinadas a partir da oxidação das amostras de sedimento com peróxido de hidrogênio.

3.6.3. Teor de Carbonato de Cálcio (% CaCO_3), teor de Carbono Orgânico Total (% COT), teor de Nitrogênio Total (% NT)

Para a determinação do teor de CaCO_3 no sedimento uma alíquota de sedimento de aproximadamente 500 mg foi atacada com 2 mL de HCL 1 mol L^{-1} e homogeneizada,

permanecendo em ácido por 24 h. Foram adicionados duas a três gotas de HCl concentrado (P.A.) a fim de certificar a total eliminação do CaCO_3 e em seguida água Milli Q até um volume de 9 mL e centrifugadas a 2500 rpm durante 12 minutos. O sobrenadante foi descartado e a lavagem das amostras foi repetida por cinco ou seis vezes até a total eliminação do HCl. As amostras foram colocadas em estufa a 60° C e o teor de CaCO_3 determinado pela diferença de massa de sedimento inicial e final.

O teor de COT foi determinado na alíquota de sedimento submetido à remoção do CaCO_3 . Aproximadamente 10 mg de sedimento foram acondicionados em cartuchos de estanho (5 x 9 mm) e submetidos à análise elementar e isotópica no analisador elementar Costec Instruments Elemental Combustion System acoplado ao detector de espectrometria de massas com razão isotópica Thermo Scientific Delta V Advantage Isotope Ratio MS (EA-IRMS).

O teor de NT foi determinado em alíquota de 10 mg de sedimento sem a remoção de CaCO_3 , acondicionada em cápsula de estanho, sendo submetida à análise elementar e isotópica no EA-IRMS. As análises foram realizadas no Instituto Oceanográfico da USP.

3.6.4. Fitopigmentos do sedimento

As concentrações da clorofila-a e feopigmentos da coluna sedimentar foram quantificadas pelo método espectrofotométrico através da extração com acetona 100% (Plante-Cuny, 1978).

Um a três gramas de sedimento contendo 5 mL de acetona foi ultrassonicado (Thorton T14) por 10 min a 100 W. Posteriormente, as amostras foram incubadas à -20°C no escuro por 18-24 h para evitar fotodegradação dos pigmentos. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 3000 rpm para remover partículas em suspensão. O sobrenadante foi então analisado em espectrofotômetro (Micronal® AJX3000PC). Os cálculos para obtenção das concentrações de clorofila-a (Clor) e feopigmentos (Feo) do sedimento, expressos em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de sedimento seco, foram realizados utilizando-se as seguintes equações propostas por Lorenzen (1967):

$$Chla (\mu\text{g/g}) = \frac{26,7 [(C665 - C750) - (F665 - F750)](vol. \text{ água} + vol. \text{ acetona})}{\text{peso da amostra úmida} - vol. \text{ água}}$$

$$Feo (\mu\text{g/g}) = \frac{26,7 [(1,7C665) - (C750)](vol. \text{ água} + vol. \text{ acetona})}{\text{peso da amostra úmida} - vol. \text{ água}}$$

Onde:

26,7 = coeficiente da absorbância da clorofila-a corrigido para a absorbância inicial de sua concentração;

C665 e C750 = leitura nas densidades ópticas de 665 e 750 nm;

F665 e F750 = leitura nas densidades ópticas de 665 e 750 nm após acidificação com HCl;

1,7 = taxa de C665/F665 na ausência de feopigmentos;

Peso da amostra e volume de H₂O em cm³

3.6.5. *Análise da Macrofauna Bêntica*

Para a coleta de sedimento foi utilizado um testemunho de acrílico de 0,068m² de área. Após a coleta, o sedimento foi fatiado (0-5, 5-10 cm), peneirado em malha de 0,5 mm e as amostras foram fixadas em álcool 70%. Em laboratório, os organismos foram triados sob estereomicroscópio para separação da macrofauna e posterior contagem e identificação. As espécies foram identificadas até o menor nível taxonômico possível com o auxílio de especialistas.

3.7. *Métodos Analíticos - Água Intersticial*

Para extração da água intersticial, as fatias dos dois testemunhos coletados foram extraídas dentro de uma *glove box*, uma caixa de acrílico com atmosfera inerte, de gás nitrogênio N₂ (Figura 7). As amostras foram centrifugadas (3000 rpm) e filtradas (filtro GF/F 0,4 µm), a fim de se analisar as concentrações de: ferro dissolvido (Fe), sulfetos totais dissolvidos (tH₂S) e nutrientes (NH₄⁺ e PO₄³⁻). As amostras de ferro e sulfeto dissolvidos foram preservadas com ácido clorídrico 0,5 M (HCl) e acetato de zinco, respectivamente. As amostras de Fe e tH₂S foram mantidas em geladeira. As amostras de nutrientes dissolvidos foram congeladas para posterior análise em laboratório.

3.7.1. *Fosfato (PO₄³⁻) e Amônio (NH₄⁺) dissolvidos*

O método utilizado para análise da concentração de fosfato dissolvido na água intersticial foi baseado em Koroleff (1983). O método para amônio dissolvido foi baseado em Bower &

Holm-Hansen (1980). Os comprimentos de leitura óptica foram 882 nm para fosfato e 630 nm para amônio, lidos em espectrofotômetro (Micronal® AJX3000PC).

3.7.2. Determinação dos sulfetos totais (tH_2S)

A concentração de sulfeto dissolvido na água intersticial foi medida utilizando-se o método de Cline (1969). Para a determinação de sulfeto utilizou-se o reagente “Low Cline”, preparado a partir de 2 g de sulfato de N,N-dimetil-p-fenilenodiamina e 3 g de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ dissolvido em um volume total de 500 mL de HCl 6 M. As amostras de água intersticial foram diluídas 5 vezes diretamente em cubetas, sendo o volume total da diluição 2 mL. Foram então adicionados 160 μ L de reagente Low Cline, as amostras foram agitadas e deixadas para reagir por 30 minutos. A absorbância foi medida no espectrofotômetro em comprimento de onda de 650 nm. A concentração final de sulfeto dissolvido foi obtida a partir da curva de calibração do reagente, da absorbância medida e do fator de diluição.

Figura 7. Processamento das amostras para análises da água intersticial em atmosfera inerte com N_2 (glovebox).

3.7.3. Determinação de Ferro dissolvido (Fe^{2+})

Para as análises de ferro dissolvido o método utilizado foi baseado em Stookey (1970). Para o ferro dissolvido da água intersticial, foi extraída uma alíquota de 0,5 mL da amostra,

colocada em um tubo e adicionado 0,1 mL de NH_2OH 0,5 M (hidroxilamina). Após 30 minutos de agitação, foram transferidos 100 μL desta amostra para uma cubeta contendo 2 mL de solução de ferrozina. A absorbância foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 562 nm. A concentração de ferro dissolvido foi calculada através da curva de calibração da solução de ferrozina mais a absorbância medida de cada amostra, com as devidas correções pela adição de hidroxilamina (i.e., multiplicando-se a absorbância medida por 1,2).

3.8. Análises estatísticas

Foram realizados testes de normalidade e homogeneidade de variâncias para se obter informações sobre a distribuição dos dados. O teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) foi aplicado para os conjuntos de dados que apresentaram distribuição normal, variâncias homogêneas. Estes dados foram, então, testados com o teste *a posteriori* de Tukey (Zar, 1999). Para os conjuntos de dados que se mostraram não normais e com variâncias diferentes, o teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi empregado, com o teste *a posteriori* de Dunn (Zar, 1999). Não foram realizadas análises de variância nos dados de água intersticial referentes aos experimentos de acidificação *in situ*, pois não houve replicagem das amostras.

A normalidade dos dados de cada variável foi testada pelo teste de Lilliefors e em caso da não normalidade dos dados, os mesmos foram transformados para $\log(x+1)$ (Zar, 1999). O grau de relação entre as variáveis foi avaliado através do teste paramétrico de correlação de Pearson, considerando-o significativo para $p < 0,05$.

Os descritores da comunidade macrobêntica como, número de indivíduos (N), de riqueza específica (S: número de espécies $0,068 \text{ m}^{-2}$), diversidade de espécies de Shannon-Wiener (H' em $\log_e$: nats/indivíduos) e equitatividade de Pielou (J') foram calculados. Nos experimentos de incubação *in situ* utilizaram-se os valores médios da abundância das espécies amostradas, dos dois tipos de câmaras (clara e escura), dos dois pontos de coleta, com o objetivo de aumentar a área analisada. Nos experimentos de acidificação, utilizaram-se os valores médios das espécies amostradas nos dois tipos de tratamento e, no caso do experimento em laboratório, nos dois tipos de sedimento (areia e silte). Foram empregadas análises de escalonamento não-métrico multidimensional (MDS) (Clarke & Warwick, 1994) com o objetivo de verificar a similaridade da composição e abundância das espécies da macrofauna em relação aos tratamentos acidificado e controle. Os valores de estresse fornecidos pela análise MDS indicam o grau de representação da ordenação dos dados no plano bidimensional. Uma boa representação pode ser observada em MDS com valores de estresse menores do que

0,2 (Clarke & Warwick, 1994). O programa estatístico Primer® 6.0 foi utilizado para os cálculos dos descritores da comunidade da macrofauna e da análises de ordenação.

4. Resultados

4.1. Experimento de incubação *in situ* - Dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos costeiros

4.1.1. Caracterização dos parâmetros ambientais

Em relação aos parâmetros físico-químicos dos dois pontos utilizados nos experimentos de incubação, foi observado que a coluna d'água apresentou-se bastante homogênea no ponto 1, com valores de temperatura entre 23,1 na superfície e 22,9 no fundo, salinidade entre 34,0 na superfície e 33,7 no fundo (Tabela I). No ponto 2, a temperatura variou entre 23,2 na superfície e 22,7°C no fundo. A salinidade apresentou os mesmos valores nos dois pontos (Tabela I). Os valores de pH também foram próximos, sendo encontrado 8,12 em média para o ponto 1 e 8,1 em média para o ponto 2. A concentração de oxigênio dissolvido foi maior na superfície em relação ao fundo em ambos os pontos. A Alcalinidade Total (AT) e tCO_2 foram muito semelhantes nos dois pontos (Tabela I). A pCO_2 foi ligeiramente maior no ponto 2. As concentrações de carbonato (CO_3^{2-}) e bicarbonato HCO_3^- foram semelhantes, sendo a concentração de HCO_3^- cerca de 7 vezes maior que a concentração de CO_3^{2-} .

Tabela I. Parâmetros medidos durante os experimentos de incubação nos pontos 1 (Silte) e 2 (Areia).

	Ponto 1	Ponto 2
Lat/Long	23°31.820'S 45°03.727'W	23°31,770'S 45° 03.699'W
Prof (m)	6m	8m
T°C sup	23,1	23,2
Sal sup	34	34
T°C fundo	22,9	22,7
Sal fundo	33,7	33,7
pH	8,122 ± 0,02	8,110 ± 0,02
O ₂ sup ml/L	4,5 ± 0,12	4,8 ± 0,15
O ₂ fundo l/L	4,37 ± 0,23	4,45 ± 0,11
AT µmol/Kg	2437,67 ± 109,88	2437,61 ± 112,34
tCO ₂ mmol/Kg	2,08	2,09
pCO ₂ µatm	358,06	377,51
CO ₃ ²⁻ µmol/Kg	249,32	244,82
HCO ₃ ⁻ µmol/Kg	1825,67	1839,93

Em relação à análise granulométrica, o ponto 1 foi classificado como areia muito fina na primeira camada sedimentar e o restante como silte grosso (Folk & Ward, 1957). A porcentagem de grânulos variou entre 0,03% na primeira camada e 0,48% na última camada (Tabela II). Entre os tipos de areia, houve dominância de areia muito fina, variando entre 70% na superfície e 67% na camada mais inferior. A maior porcentagem de silte (15%) foi encontrada na terceira camada sedimentar, assim como para as argilas (10%, Tabela II). Os carbonatos variaram entre 27,7% na superfície do sedimento a 33,6% na camada mais profunda (Tabela II).

O ponto 2 foi selecionado como areia muito fina (Folk & Ward, 1957). A porcentagem de grânulos foi maior (1,0%) na penúltima camada e menor (0,2%) na superfície (Tabela II). Entre os tipos de areia, areia fina (22%) e muito fina (43%) foram as mais representativas (Tabela II). As porcentagens de silte variaram entre 15,4% na penúltima e 10,9% na terceira camadas. A menor porcentagem de argila foi na superfície e na penúltima camada (9%), já a maior (13%) ocorreu na terceira camada (Tabela II). A porcentagem de carbonatos foi bem mais elevada no ponto 2, com 39 % na camada superficial e 41 % na camada mais profunda (Tabela II).

Tabela II. Análise granulométrica dos pontos utilizados nas incubações in situ. POS: Pobremente Selecionado. MPS: Muito Pobremente Selecionado.

Ponto de Coleta	Prof do sedimento (cm)	GRN (%)	AMG (%)	AG (%)	AM (%)	AF (%)	AMF (%)	SIL (%)	ARG (%)	Carbonatos (%)	Diâmetro Médio (f)	Grau de Seleção	Folk&Ward, 1957
Ponto 1	0-2	0,03	0,13	0,48	0,47	6,2	70,77	13,49	8,43	8,17	3,96	POS	areia muito fina
	2-4	0,1	0,34	0,3	0,4	6,53	67,44	14,92	10,04	8,73	4,04	POS	silte grosso
	4-6	0,27	0,54	0,37	0,33	6,58	66,73	15,17	10,07	9,43	4,3	POS	silte grosso
	6-8	0,2	0,53	0,37	0,53	7,03	67,06	14,43	10,04	9,23	4,29	POS	silte grosso
	8-10	0,48	0,38	0,34	0,51	6,99	67,97	11,4	11,94	10,25	4,14	POS	silte grosso
Ponto 2	0-2	0,27	1,1	2,5	7,27	22,28	43,58	13,02	9,99	39,19	3,63	POS	areia muito fina
	2-4	0,75	0,99	2,66	7,98	23,25	41,26	12,87	10,24	39,04	3,78	POS	areia muito fina
	4-6	0,37	0,84	2,34	8,09	23,34	40,64	10,97	13,41	39,07	4,11	MPS	silte grosso
	6-8	1,02	1,51	3,94	10,16	22,91	35,23	15,4	9,83	38	3,77	MPS	areia muito fina
	8-10	0,9	1,24	2,85	8,31	22,8	37,87	14,13	11,72	41,96	3,97	MPS	areia muito fina

4.1.2. Câmaras bênticas - Colunda d'água

4.1.2.1. Evolução dos parâmetros ambientais - Temperatura (°C), Salinidade e pH

Em relação ao ponto 1, a temperatura aumentou ligeiramente ao longo do período de incubação, tanto nos experimentos realizados no ponto 1 quanto no ponto 2. Porém, esse aumento foi registrado apenas na primeira casa decimal (Tabela III). O menor valor (23,0°C) foi registrado em Junho (26/06), já o maior valor (24,0°C) foi registrado em Abril (09/04).

A salinidade apresentou uma tendência semelhante à temperatura, mostrando um ligeiro aumento ao longo do período de incubação, com os valores entre 34,3 e 35,6 (Tabela III).

O pH decaiu ligeiramente ao longo do tempo de incubação, devido ao aumento da concentração de CO₂ nas câmaras em função de sua liberação por atividades metabólicas. Quando houve diminuição dos valores de CO₂ devido a eventos de produção autotrófica (24/06), os valores de pH sofreram um ligeiro aumento (Tabela III). Os menores valores (7,8 - 7,9) foram registrados em Abril (09/04). Nos demais períodos, os valores variaram entre 8,1 e 8,2 (Tabela III).

O ponto 2 apresentou as mesmas tendências que o ponto 1, mostrando um ligeiro aumento na temperatura e na salinidade ao longo do tempo de incubação (Tabela III), e as mesmas alternâncias nos valores de pH em relação a eventos de atividade metabólica e produção autotrófica (11/04, 20/06, Tabela III).

Em relação à temperatura, houve diferenças significativas entre os períodos analisados ($F = 16,80$, $p < 0,001$), sendo 19/03, 20/03, 09/04, 19/06 e 20/06 significativamente mais quentes que 24/06, 26/06 e 01/07 ($p < 0,001$). A salinidade também foi significativamente diferente entre os períodos analisados ($F = 48,99$, $p < 0,001$), sendo os valores de 20/03, 09/04, 11/04, 20/06

significativamente maiores que 20/06, 24/06, 26/06 e 01/07 ($p < 0,001$). Os valores de pH também foram significativamente diferentes entre os períodos analisados ($F = 18,62$, $p < 0,001$), sendo 19/03, 20/03 significativamente maiores que 09/04 e 11/04 ($p < 0,001$), assim como 09/04 e 11/04 significativamente menores que 24/06, 26/06 e 01/07 ($p < 0,001$).

Tabela III. Evolução dos valores de Temperatura (°C), Salinidade e pH na coluna d'água, medidos durante os experimentos de incubação in situ realizados nos pontos 1 e 2.

	Temperatura °C	Salinidade	pH
Ponto 1			
19/03/13			
t0	23,54	34,35	8,14
2h	23,58	34,66	8,1
4h	23,79	34,77	8,07
09/04/13			
t0	23,89	35,59	8,08
2h	23,9	35,65	7,98
4h	24,01	35,6	7,89
19/06/13			
t0	23,54	34,33	8,17
2h	23,92	34,6	8,18
4h	24,05	34,72	8,21
24/06/13			
t0	23,56	34,74	8,1
2h	23,56	34,75	8,14
4h	23,78	34,88	8,07
01/07/13			
t0	22,99	34,46	8,24
2h	22,99	34,46	8,21
4h	23,08	34,51	8,21
Ponto 2			
20/03/13			
t0	23,58	35,5	8,12
2h	23,65	35,61	8,1
4h	23,67	35,65	8,08
11/04/13			
t0	23,83	35,46	7,9
2h	23,83	35,49	7,94
4h	23,79	35,5	7,89
20/06/13			
t0	23,57	34,7	8,22
2h	23,58	34,88	8,3
4h	23,6	34,91	8,26
26/06/13			
t0	23,07	34,5	8,21
2h	23,08	34,66	8,18
4h	23,08	34,67	8,17

4.1.2.2. Evolução das concentrações de O_2 e nutrientes dissolvidos (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+)

Em relação ao ponto 1, as câmaras claras mostraram, no geral, padrões temporais semelhantes entre março e abril e junho e julho. As menores concentrações foram encontradas em 19/06. Já as maiores concentrações foram encontradas em 19/03. Nas câmaras escuras, o padrão temporal não foi observado, sendo que os processos de consumo e liberação de nutrientes foram mais complexos, mas ainda sim houve predomínio da liberação dos compostos nitrogenados e consumo de oxigênio (Figura 8).

O ponto 2 apresentou uma tendência linear das concentrações versus tempo com maiores variações entre os períodos de amostragem e entre as câmaras claras e escuras, porém, mantendo a predominância de atividades de heterotrofia, com a ocorrência de apenas dois eventos de liberação de O_2 e consumo de nutrientes devido a atividades de produção na superfície do sedimento (Figura 9). Nas claras, observou-se também o padrão temporal entre março e abril e junho e julho, e nas escuras esse padrão foi bastante evidente (Figura 8).

Houve diferenças significativas nas concentrações de O_2 em relação ao tipo de câmara ($F = 5,00$, $p = 0,027$) e quanto ao tipo de sedimento ($F = 4,65$, $p = 0,011$). Em relação aos nutrientes, somente o NO_2^- mostrou diferenças significativas, em relação ao tempo de incubação ($F = 3,35$, $p = 0,038$) e ao tipo de sedimento ($F = 8,12$, $p = 0,005$). Os demais não apresentaram diferenças significativas.

Ponto 1

Câmaras Claras

Câmaras Escuras

Figura 8. Evolução das concentrações (μM) dos nutrientes dissolvidos amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e oxigênio dissolvido (O_2) na coluna d'água durante os experimentos de incubação *in situ* realizados no Ponto 1.

Ponto 2

Câmaras Claras

Câmaras Escuras

Figura 9. Evolução das concentrações (μM) dos nutrientes dissolvidos amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e oxigênio dissolvido (O_2) na coluna d'água durante os experimentos de incubação in situ realizados no Ponto 2.

4.1.2.3. Fluxos bênticos - O_2 e tCO_2

Em relação aos fluxos de O_2 , houve consumo, ou seja, fluxos negativos deste composto por atividades metabólicas da biota bêntica na grande maioria das incubações, tanto nas câmaras claras como nas escuras (Figura 10). Os maiores consumos de O_2 medidos na interface sedimento-água ocorreram em março e junho de 2013 no ponto 1. O menor fluxo de O_2 foi registrado em julho de 2012 no ponto 1, nas câmaras escuras, sendo encontrado $-17,0 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Figura 10). Porém, essa campanha foi a única realizada em 2012. Houve diferenças significativas apenas em relação ao tipo de câmara ($F = 20,68$, $p < 0,001$).

Em abril (11/04) e junho (20/06, 24/06) de 2013, houve produção de O_2 (fluxos positivos) nas câmaras claras, no ponto 1 e 2, sendo encontrado fluxos positivos de O_2 e negativos de CO_2 (Figura 10). Durante a maior parte dos experimentos, houve predomínio de céu nublado e chuva, com o disco de Secchi acusando 4 m. Porém, a produção de O_2 encontrada aconteceu em dias muito ensolarados, com o disco de Secchi acusando 6 m.

Ponto 1

Ponto 2

Figura 10. Fluxos de oxigênio dissolvido (O_2) e gás carbônico total (tCO_2) na interface água-sedimento, medidos em $mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$, obtidos através dos experimentos de incubação *in situ* realizados nos Pontos 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

Foram medidos fluxos de liberação de tCO_2 (positivos) em todos os períodos de consumo de O_2 . A liberação de CO_2 , ocorrendo concomitante ao consumo de O_2 tanto nas câmaras claras como nas escuras, indica claramente atividades de heterotrofia líquida no sedimento. Não houve diferenças significativas dos fluxos de tCO_2 entre os períodos analisados.

4.1.2.4. Fluxos bênticos - Nutrientes dissolvidos (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , SiO_4)

Em relação ao ponto 1, os fluxos de NH_4^+ foram todos positivos, havendo, dessa forma, liberação deste composto do sedimento para a coluna d'água. As câmaras escuras apresentaram maiores valores de liberação em relação às claras, com maiores valores principalmente em março (19/03/13) e abril (09/04/13), e menores valores em julho de 2012 (25/07/12), junho (19/06/13) e julho de 2013 (01/07/13). Os fluxos NO_2^- seguiram a mesma tendência observada para o NH_4^+ , com predominância de fluxos positivos e maiores valores em março e abril de 2013. Porém, os fluxos de NO_2^- foram maiores nas câmaras claras (Figura 11). Os fluxos de NO_3^- foram praticamente todos positivos (liberação) e maiores em março (11/03/13), principalmente nas câmaras escuras. Os fluxos de PO_4^{3-} foram todos positivos, porém apresentando valores quase nulos (Figura 10). Os fluxos de SiO_4 foram positivos e mais altos

principalmente em março (19/03/13) (Figura 11).

O ponto 2 também apresentou fluxos positivos de nutrientes dissolvidos, com tendências distintas ao ponto 1 quanto aos fluxos de NH_4^+ , com maiores valores em junho (20/06/13 e 26/06/13), nas câmaras claras (Figura 12). A mesma tendência foi observada para os fluxos de NO_2^- e NO_3^- , com maiores fluxos observados em junho (19/06/13), nas câmaras claras (Figura 12). Não houve diferenças significativas dos fluxos de NH_4^+ , NO_3^- e NO_2^- entre os períodos analisados, os pontos de coleta e as câmaras.

Fluxos de PO_4^{3-} e SiO_4 também apresentaram resultados distintos do ponto 1, com maiores variações em relação ao consumo (20/03, 11/04, 20/06 e 26/06/13) e liberação (20/03, 20/06 e 26/06/13) deste composto tanto nas claras quanto nas escuras (Figura 12).

Houve diferenças significativas nos fluxos de PO_4^{3-} em relação aos pontos de coleta ($F = 4,87, p = 0,32$). Os fluxos de SiO_4 foram significativamente diferentes em relação aos períodos analisados, sendo que em 19/03 os valores foram menores que em 20/03 ($p = 0,004$), 09/04 ($p = 0,006$), 11/04 ($p = 0,007$) e 20/06 ($p = 0,003$).

No ponto 1, o consumo de O_2 e liberação de compostos nitrogenados (NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^-) como resultado de degradação de matéria orgânica, foi praticamente constante em relação ao tempo de incubação. As diferenças entre as concentrações ocorreram devido a diferenças em relação ao período de amostragem (Figuras 8 e 9). Pôde-se observar apenas um evento de liberação de O_2 e consumo de nutrientes (24/06/13), por ocorrência de produção autotrófica na superfície do sedimento.

Ponto 1

Figura 11. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) na interface água-sedimento, medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, obtidos através dos experimentos de incubação in situ realizados no Ponto 1: 25/07/2012; 19/03/2013; 09/04/2013; 19/06/2013; 24/06/2013. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

Ponto 2

Figura 12. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fósforo (PO_4^{3-}) e silicato (Si(OH)_4) na interface água-sedimento, medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, obtidos através dos experimentos de incubação in situ realizados no Ponto 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.1.3. Câmaras bênticas - Coluna sedimentar

4.1.3.1. Características do sedimento

Em relação ao ponto 1 que, de acordo com a análise granulométrica realizada, possui uma maior quantidade de silte (Tabela II), apresentou perfis verticais de densidade do sedimento com valores ligeiramente maiores ($1,0 - 1,5 \text{ g mL}^{-1}$; Figura 12) que no ponto 2 ($0,9 - 1,4 \text{ g mL}^{-1}$; Figura 12) e muito semelhantes entre as câmaras claras e escuras. Os maiores valores ocorreram nas duas primeiras camadas do sedimento (Figura 12).

Os perfis verticais de porosidade também foram maiores no ponto 1 e muito semelhantes entre dois os tipos de câmaras, variando entre $0,3$ e $0,4 \text{ cm}^3$, apresentando os maiores valores nas duas primeiras camadas do sedimento (Figura 13). O conteúdo de água (%) praticamente não variou entre as câmaras claras e escuras, com menores valores nas camadas mais profundas da coluna sedimentar (Figura 13). O teor de matéria orgânica total (MOT) apresentou algumas diferenças entre claras e escuras, sendo que nas claras houve uma tendência de diminuição dos valores ao longo da camada sedimentar. Nas escuras, o maior valor foi encontrado na terceira camada sedimentar (Figura 13).

O ponto 2, mais arenoso e com maior porcentagem de carbonatos que o ponto 1, apresentou diferenças na densidade entre os dois tipos de câmaras, sendo que nas claras houve uma tendência de diminuição da densidade ao longo da coluna sedimentar. As escuras apresentaram uma tendência contrária (Figura 13). A porosidade foi bastante semelhante entre os dois tipos de câmaras, com valores muito próximos em toda a coluna sedimentar. O conteúdo de água também foi bastante semelhante entre os dois tipos, com exceção da primeira camada, que apresentou maior porcentagem nas escuras. Os valores de MOT apresentaram uma tendência de diminuição nas camadas mais profundas, tanto nas câmaras claras quanto nas escuras (Figura 13).

Figura 13. Perfis verticais das densidade (g mL^{-1}), porosidade (cm^3 de sedimento), matéria orgânica total (%MOT) e conteúdo de água (%) do sedimento coletados das câmaras bêmicas após a incubação nos pontos 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

Os perfis verticais de densidade não apresentaram diferenças significativas entre os períodos analisados, entre os tipos de sedimento, entre os tipos de câmaras e em relação à profundidade do sedimento. A porosidade do sedimento mostrou diferenças significativas em relação aos períodos ($F = 7,70$, $p = 0,007$), aos pontos de coleta ($F = 7,70$, $p = 0,007$) e à profundidade do sedimento ($F = 3,82$, $p = 0,008$). As porcentagens de água foram significativamente diferentes também em relação aos períodos analisados ($F = 11,35$, $p < 0,001$), aos pontos de coleta ($F = 11,35$, $p < 0,001$) e quanto à profundidade de sedimento ($F = 2,78$, $p = 0,036$). Os perfis verticais de MOT foram significativamente diferentes em relação aos períodos analisados ($F = 27,70$, $p < 0,001$) e aos pontos de coleta ($F = 27,73$, $p < 0,001$).

4.1.3.2. Fitopigmentos

Em relação ao ponto 1, os maiores valores de clorofila-a (entre 2,5 e 3,0 $\mu\text{g g}^{-1}$) foram encontrados em abril de 2013, na camada superficial, tanto nas câmaras claras quanto nas escuras. Os menores valores foram encontrados nas últimas camadas, tanto em abril como em junho de 2013 (Figura 14). Os valores de feopigmentos foram sempre maiores que os de clorofila-a, tanto em abril como em junho de 2013, nos dois tipos de câmaras (Figura 14). Os maiores valores foram encontrados nas primeiras camadas, com tendência de decréscimo ao longo da coluna sedimentar (Figura 14).

No ponto 2, os valores de clorofila-a foram maiores em abril, principalmente na camada superficial (Figura 14), quando foi detectada produção fotossintética através dos fluxos de O_2 e CO_2 . Em junho, quando também foi detectada produção fotossintética, os valores, porém, foram bem menores e semelhantes ao longo da coluna, com exceção da terceira camada, que apresentou o maior valor ($\sim 10 \mu\text{g g}^{-1}$; Figura 14). Os maiores valores de feopigmentos foram encontrados em junho, na camada superficial (cerca de 40 $\mu\text{g g}^{-1}$). Os menores valores foram encontrados nas camadas mais profundas do sedimento, em ambos os períodos amostrados (Figura 14).

Foram encontradas diferenças significativas somente em relação à profundidade do sedimento, tanto para clorofila-a ($F = 3,13$, $p = 0,017$), quanto para feopigmentos ($F = 25,33$, $p < 0,001$). Em relação à clorofila, a camada superficial (0-2 cm) apresentou valor significativamente

maior que as camadas de 4-6 cm e de 8-10 cm ($p = 0,043$), no ponto 1. Em relação aos feopigmentos, a camada superficial foi significamente maior que as demais ($p < 0,001$), no ponto 2.

Figura 14. Perfis verticais de clorofila-a (Chl-a) e feopigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$) encontrados no sedimento durante os experimentos de incubação in situ realizados nos ponto 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.1.3.3. Porcentagem de CaCO_3 , % Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio Total (NT) e razão C/N

O ponto 1 apresentou menor teor de carbonatos em relação ao ponto 2, variando entre 25,1 a 27,5 % nas câmaras claras e 16,4 a 17,7% nas escuras (Tabela IV). Nas claras, os teores de COT variaram entre 0,11% na primeira camada do sedimento e 0,3% na terceira camada. As escuras apresentaram os mesmos valores na superfície sedimentar (0,1%) e maiores valores nas camadas mais profundas do sedimento (0,4%). O teor de NT foi muito mais baixo em ambos os tipos de câmaras, com valores entre 0,04 e 0,05% na superfície e 0,06-0,07% nas camadas mais profundas. A razão C/N foi maior (5,7 - 6,0) nas câmaras escuras, nas camadas mais profundas do sedimento. Os menores valores (2,1) foram encontrados na segunda camada das câmaras claras (Tabela IV).

O ponto 2 apresentou altos teores de CaCO_3 , chegando a 81,7% na terceira camada, nas câmaras claras. O menor valor encontrado foi 17,0%, na superfície sedimentar das câmaras escuras, mas as porcentagens estiveram em sua maioria entre 71 e 77% (Tabela IV). Os teores de COT e NT foram mais baixos que os encontrados no ponto 1, sendo que a %COT variou entre 0,02 e 0,1%, com maiores valores nas camadas mais superficiais do sedimento, tanto nas claras como nas escuras. Os teores de NT (%) foram muito semelhantes entre as camadas no ponto 2, com valores entre 0,03 e 0,07%. A razão C/N também apresentou menores valores em comparação ao ponto 2, sendo a maior razão (3,7) encontrada na penúltima camada sedimentar, nas câmaras claras. A menor razão (0,5) foi medida na segunda camada sedimentar das câmaras claras (Tabela IV).

4.1.4. Água intersticial

4.1.4.1. Nutrientes dissolvidos (PO_4^{3-} e NH_4^+)

Em relação ao ponto 1, as concentrações de PO_4^{3-} e NH_4^+ na água intersticial foram semelhantes entre as câmaras claras e escuras e seguiram o padrão esperado, ou seja, um aumento das concentrações ao longo das primeiras camadas da coluna sedimentar e posterior queda em direção às camadas mais profundas do sedimento (Figura 15). O ponto 2 apresentou as mesmas tendências observadas no ponto 1, porém ocorreram maiores valores de NH_4^+ nas câmaras escuras (Figura 15). Houve diferenças significativas nas concentrações de PO_4^{3-} ($F = 26,14$, $p < 0,001$) e NH_4^+ ($F = 6,95$, $p = 0,011$) em relação aos pontos de coleta 1 e 2.

Tabela IV. Valores da porcentagem de CaCO_3 , teor de Carbono Orgânico Total (%), do teor de Nitrogênio Total (%) e razão C/N, encontrados na coluna sedimentar dos testemunhos coletados durante os experimentos de incubação *in situ* realizados nos ponto 1 e 2. ND: valores não detectados. NC: valores não calculados.

Ponto 1	% CaCO_3	% C org Total	% N Total	Razão C/N
Profundidade (cm)				
Câmaras claras				
2	25,13	0,11	0,04	2,69
4	27,54	0,15	0,07	2,10
6	26,12	0,29	0,07	3,94
8	26,50	0,17	0,06	2,79
10	26,17	0,16	0,06	2,66
Câmaras escuras				
2	16,81	0,11	0,05	2,47
4	16,47	ND	0,06	NC
6	17,69	0,43	0,07	6,01
8	17,31	0,42	0,07	5,77
10	16,88	ND	0,06	NC
Ponto 2				
Câmaras claras				
2	73,02	ND	0,05	
4	71,27	0,08	0,06	1,49
6	81,72	0,02	0,05	0,49
8	65,17	0,12	0,03	3,75
10	76,21	ND	0,04	NC
Câmaras escuras				
2	17,04	ND	0,06	NC
4	71,35	0,08	0,05	1,62
6	72,96	ND	0,04	NC
8	76,09	0,03	0,03	0,94
10	76,71	0,08	0,03	2,88

Figura 15. Concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) (μM) e amônio (NH_4^+) (μM) na água intersticial dos testemunhos retirados das câmaras bêmicas, após os experimentos de incubação in situ realizados nos ponto 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.1.4.2. Ferro dissolvido (Fe^{2+}) e sulfetos totais (tH_2S)

As concentrações de Fe^{2+} na água intersticial dos testemunhos coletados no ponto 1 e no ponto 2 apresentaram um padrão com aumentos subsuperficiais nas concentrações entre 2 e 8 cm da coluna sedimentar, com valores menores tanto na superfície como na última camada sedimentar (Figura 16). Houve uma tendência contrária nas concentrações de Fe^{2+} da segunda camada sedimentar, em relação às câmaras claras e escuras, tanto no ponto 1 como no 2 (Figura 16).

Os dois pontos apresentaram valores muito baixos de sulfetos totais, variando entre 2 a 5 μM , com exceção da segunda camada, no ponto 2, que apresentou um alto valor em relação aos demais (9 μM , Figura 16). Não houve diferenças significativas em relação às concentrações de Fe^{2+} e tH_2S .

Figura 16. Concentrações de Fe^{2+} (μM) e sulfetos totais (tH_2S) (μM) na água intersticial dos testemunhos retirados das câmaras bênticas, após os experimentos de incubação *in situ* realizados nos ponto 1 e 2. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.1.5. Análise da macrofauna bêntica

A análise da macrofauna bêntica retirada dos experimentos de incubação *in situ* foi prejudicada devido a perda de alguns testemunhos durante o processo de fatiamento. Dessa forma, apenas os resultados de março e abril serão apresentados e foram compilados para o comprimento total do testemunho (10 cm) (Tabela V).

As maiores densidades de indivíduos foram encontrados em março, tanto nas câmaras claras quanto nas escuras (Tabela V). O grupo mais abundante foi Polychaeta, com 26 espécies encontradas, sendo a espécie *Magelona posterelongata* a mais abundante (Tabela V). O segundo grupo em densidade foi Mollusca, representado neste estudo apenas por Bivalvia, sendo encontradas 13 espécies, das quais a mais abundante foi *Transenella catharinae* (Tabela V). O grupo Crustacea foi representado por 12 espécies, sendo o anfípode *Ampelisca pugetica* a espécie mais abundante.

Densidades bem menos representativas foram encontradas no mês de abril em relação a

março, com um número muito menor de espécies encontradas (Tabela V). O grupo mais abundante foi Polychaeta, sendo *Prionospio pinnata* e *Mediomastus* sp. as espécies mais representativas (Tabela V). Além de Polychaeta, foram encontradas quatro espécies de Crustacea. Não foram encontrados moluscos e outros grupos menos representativos da macrofauna (Tabela V).

Tabela V. Densidade média (Ind.m⁻²) das espécies da macrofauna bêntica encontradas nos testemunhos utilizados no experimento de acidificação *in situ*.

Incubação in situ - Dados integrados (0-10cm)	Março-2013		Abril-2013	
	Câmara Clara	Câmara Escura	Câmara Clara	Câmara Escura
Crustacea				
<i>Ampelisca cristata</i>		220,59		
<i>Ampelisca pugetica</i>		441,18		
<i>Mesokalliapseudes cf. brasiliensis</i>			147,06	147,06
<i>Nikoides schimitti</i>	147,06	147,06		
<i>Photis brevipes</i>		147,06		
<i>Platylambrus sp.</i>				147,06
<i>Saltpedus paulensis</i>				294,12
<i>Tiburonella viscana</i>		147,06	147,06	
<i>Upogebia noronhensis</i>	147,06	147,06		
<i>Echinodermata</i>	147,06			
<i>Amphiodia pulchella</i>	147,06			
<i>Hemipholis elongata</i>	147,06			
Mollusca				
<i>Bivalvia sp. 1</i>		147,06		
<i>Callista maculata</i>	147,06			
<i>Corbula pulchella</i>	147,06			
<i>Corbula swiftiana</i>	147,06			
<i>Cyclinella tenuis</i>	147,06	147,06		
<i>Diplodonta patagonica</i>	147,06			
<i>Dosinia concentrica</i>	147,06			
<i>Natica sp. 1</i>	147,06			
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>	147,06	147,06		
<i>Pitar fulminatus</i>	147,06	147,06		
<i>Tellina martinicensis</i>		147,06		
<i>Tellina sp. 1</i>	147,06			
<i>Transenella stimponi</i>	220,59	147,06		
Outros				
<i>Bryozoa sp. 1</i>	147,06			
<i>Edwardsiidae sp.</i>	147,06	147,06		
<i>Nemertea sp. 1</i>		147,06		
<i>Tetilla radiata</i>	147,06	147,06		
<i>Thysanocardia catharinae</i>	147,06	735,29		
Polychaeta				
<i>Aphelocheata sp.</i>			147,06	
<i>Aphelocheata sp.2</i>			147,06	
<i>Aricidea (Aricidea) taylora</i>	147,06	196,08	147,06	
<i>Armandia sp.</i>			147,06	
<i>Cirrophorus americanus</i>			147,06	
<i>Diopatra sp.</i>	147,06	147,06		
<i>Exogone sp.</i>	147,06	294,12		
<i>Fimbriosthenelais marianae</i>			147,06	
<i>Goniada brunnea</i>			147,06	
<i>Goniadides carolinae</i>	294,12	1470,59		
<i>Laonice petergenae</i>		147,06		
<i>Leodice rubra</i>		147,06		
<i>Levinsenia gracilis</i>			147,06	
<i>Linophasus ambigua</i>	147,06	294,12		
<i>Lumbrineris cf. tetraura</i>			294,12	
<i>Magelona posterelongata</i>	1544,12	931,37	147,06	
<i>Maldanidae sp.</i>			147,06	
<i>Mediomastus sp.</i>	147,06	735,29	637,25	
<i>Nematonereis sp.</i>	294,12	147,06		
<i>Owenia sp.</i>	147,06			
<i>Prionospio pinnata</i>	147,06	441,18	794,12	
<i>Prionospio sp.</i>		147,06	147,06	
<i>Schistomeringos rudolphii</i>			147,06	
<i>Scolecopsis sp.</i>		147,06		
<i>Sigambra rubra</i>			294,12	
<i>Syllis garciai</i>		147,06		

4.2. Experimento de acidificação *in situ* - Efeitos da acidificação na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos

4.2.1. Caracterização dos parâmetros ambientais

No geral, os valores de temperatura, salinidade, O₂ e AT foram muito semelhantes entre os dois tratamentos. As concentrações de nutrientes dissolvidos foram muito semelhantes entre os dois tratamentos (Tabela VI). As concentrações de carbonato (CO₃²⁻) e bicarbonato (HCO₃⁻) apresentaram um padrão contrário ao longo do período de incubação, sendo menores as concentrações de carbonato e maiores de bicarbonato no controle e, maiores de bicarbonato e menores de carbonato no acidificado. As concentrações de tCO₂, assim como a pCO₂ também foram maiores no tratamento acidificado (Tabela VI).

Tabela VI. Parâmetros físico-químicos medidos durante o experimento de acidificação *in situ* realizado no ponto 1. Erro indica ± 1 erro padrão. T°C: temperatura na superfície, Sal sup: Salinidade na superfície, O₂ sup: Concentração de oxigênio da superfície, AT: Alcalinidade Total.

	Tratamento	
	acidificado	controle
T°C sup	23,12	23,10
T°C fundo		
Sal sup	34,00	34,00
Sal fundo		
pH	7,30	8,12
O ₂ sup (ml/L)	4,85 $\pm$ 1,13	4,91 $\pm$ 1,02
O ₂ fundo (ml/L)	3,98 $\pm$ 0,84	4,22 $\pm$ 1,55
AT μ mol/Kg	2440,05	2439,52
tCO ₂ mmol/Kg	4,36	2,04
pCO ₂ μ atm	938,44	262,84
CO ₃ ²⁻ μ mol/Kg	10,97	283,14
HCO ₃ ⁻ μ mol/Kg	2414,64	1752,23
NH ₄ ⁺ μ M	2,09	0,52
NO ₃ ⁻ μ M	0,79	0,69
NO ₂ ⁻ μ M	0,20	0,18
PO ₄ ³⁻ μ M	0,86	0,55
SiO ₄ μ M	4,55	11,65

4.2.2. Coluna d'água

4.2.2.1. Evolução das concentrações de O_2 , CO_2 e nutrientes dissolvidos (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} e SiO_4)

As concentrações de O_2 durante o experimento de acidificação *in situ* seguiram uma tendência linear decrescente e com concentrações mais baixas em pH 7,3 em comparação ao controle (Figura 17). Não houve diferenças significativas nas concentrações de O_2 em relação ao tratamento e ao tempo de incubação.

As concentrações de CO_2 praticamente não mudaram durante o período de incubação em pH 8,1 (Figura 17). Já em pH 7,3, as concentrações aumentaram substancialmente nas primeiras duas horas de incubação. Houve então uma diminuição das concentrações a partir da segunda hora até o final do período (Figura 17). As diferenças encontradas entre os dois tratamentos foram significativas ($F = 29,92$, $p < 0,001$), assim como, entre os dois tratamentos, quanto ao tempo de incubação ($p < 0,001$).

Figura 17. Evolução das concentrações de oxigênio dissolvido (O_2) e CO_2 dissolvido na interface água-sedimento durante os experimentos de acidificação *in situ* realizados no Ponto 1. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

As concentrações de amônio (NH_4^+) variaram de maneira semelhante nos dois tratamentos, com um aumento das concentrações nas primeiras duas horas de incubação e uma diminuição da segunda hora até o final do experimento, sendo maiores os valores encontrados no pH 8,1 do que em pH 7,3 (Figura 18). As concentrações de nitrito (NO_2^-) em pH 8,1 aumentaram linearmente ao longo do tempo. Já em pH 7,3, as concentrações aumentaram até a segunda hora de incubação e, da segunda até o final da incubação, os valores diminuíram (Figura 18).

As concentrações de NO_3^- aumentaram ao longo do tempo de incubação, com uma ligeira alternância entre os tratamentos (Figura 18). As concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) apresentaram a mesma tendência nos dois tratamentos, sendo que em pH 8,1 houve uma maior liberação deste composto do que em pH 7,3, principalmente nas últimas duas horas de experimento (Figura 18). As concentrações de SiO_4 apresentaram os mesmos padrões observados para o PO_4^{3-} , em ambos os tratamentos (Figura 18). Não houve diferenças significativas entre os tratamentos em relação aos nutrientes analisados.

Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de nutrientes entre os tratamentos.

Experimento AO In Situ - Julho 2013
Evolução das concentrações de nutrientes

Figura 18. Evolução das concentrações dos nutrientes dissolvidos na interface água-sedimento: amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4), medidas durante o experimento de acidificação in situ realizado no Ponto 1. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.2.2.2. Fluxos bênticos - O_2 e tCO_2

Os fluxos de consumo de O_2 e liberação de CO_2 foram maiores no tratamento acidificado do que no controle (Figura 19). É importante destacar que os fluxos do controle foram semelhantes aos encontrados nos experimentos de incubação *in situ* demonstrados anteriormente. Foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos somente em relação às concentrações de tCO_2 ($F = 41,21$, $p = 0,023$).

Figura 19. Fluxos de oxigênio dissolvido (O_2) e gás carbônico dissolvido (CO_2) na interface água-sedimento em $mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$ medidos durante o experimento de acidificação *in situ*, realizado no ponto 1. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.2.2.3. Fluxos bênticos - Nutrientes dissolvidos (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} e SiO_4)

Os fluxos de NH_4^+ foram semelhantes entre os dois tipos de pH, sendo encontrado um valor ligeiramente maior ($0,59\ \mu mol\ m^{-2}\ d^{-1}$) em pH 7,3 do que em pH 8,1 ($0,5\ \mu mol\ m^{-2}\ d^{-1}$). Já os fluxos de NO_2^- e NO_3^- foram muito similares entre os dois tratamentos, com valores em torno de $0,3\ \mu mol\ m^{-2}\ d^{-1}$ de NO_3^- e $0,06\ \mu mol\ m^{-2}\ d^{-1}$ de NO_2^- (Figura 20).

Os fluxos de PO_4^{3-} foram ambos positivos, sendo levemente menores no tratamento acidificado ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$), em comparação ao controle ($0,023 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Os fluxos de SiO_4 também foram maiores em pH 7,3 ($6,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) em relação ao pH 8,1 ($2,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) (Figura 20). Não foram observadas diferenças significativas nos fluxos de nutrientes dissolvidos.

Experimento AO In Situ - Julho 2013
Fluxos Nutrientes

Figura 20. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) na interface água-sedimento, medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, obtidos durante o experimento de acidificação in situ realizado na região de Ubatuba, SP, em 01/07/2013. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.2.3. Coluna sedimentar

4.2.3.1. Fitopigmentos

A concentração de clorofila-a foi menor no tratamento acidificado até a terceira camada sedimentar. Nas duas últimas camadas, o controle apresentou os menores valores. Já as concentrações de feopigmentos foram menores no controle em toda a coluna sedimentar (Figura 21). Houve diferenças significativas nas concentrações de clorofila-a quanto à profundidade do sedimento ($F = 19,48$, $p < 0,001$), sendo que, no controle, os valores da camada superficial e a segunda camada foram significativamente maiores que a penúltima ($p < 0,001$) e última camadas ($p < 0,001$).

Figura 21. Perfis verticais de clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$) e feopigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos testemunhos retirados das câmaras após quatro horas de incubação. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.2.4. Água Intersticial

4.2.4.1. PO_4^{3-} , NH_4^+ , Fe^{2+} e tH_2S

Os perfis verticais das concentrações de PO_4^{3-} na água intersticial foram muito semelhantes entre os tratamentos, com valores entre 0,1 e 0,2 μM (Figura 22), assim como ao longo da camada sedimentar (Figura 22). As concentrações de NH_4^+ na água intersticial foram entre 0,5 e 1,3 μM , muito semelhantes entre os dois pHs, apresentando um padrão mais conhecido, de maiores valores nas camadas intermediárias do sedimento. Com exceção da última camada sedimentar analisada, as concentrações em pH 8,1 foram menores que em pH

7,3 (Figura 22).

As concentrações de Fe^{2+} também não foram diferentes entre os tratamentos, com valores entre 40 e 50 μM , apresentando o mesmo padrão observado nas incubações *in situ*, de um pico subsuperficial e menores valores acima e abaixo na coluna sedimentar (Figura 22). As concentrações de sulfetos totais (tH_2S) foram muito baixas em ambos os tratamentos, sendo menores (0,5-0,6 μM) no tratamento acidificado, com exceção da penúltima camada (Figura 22). Os maiores valores foram encontrados na primeira e segunda camadas em pH 8,1. Nas demais, as concentrações diminuíram, com um ligeiro aumento na camada inferior (Figura 22).

Figura 22. Perfis verticais das concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) (μM), amônio (NH_4^+) (μM) e ferro dissolvido (Fe^{2+}) (μM) e sulfetos totais (tH_2S) (μM) na água intersticial dos testemunhos utilizados durante o experimento de acidificação *in situ*.

4.2.5. Análise da Macrofauna bêntica

Em relação ao controle (pH 8,1), a densidade média da macrofauna total foi maior na camada superior (0-5 cm), com cerca de 2500 Ind.m^{-2} . Na camada inferior (5-10 cm) a densidade da macrofauna total foi de 1100 Ind.m^{-2} cm. Em ambas as camadas, o grupo Polychaeta foi o

mais abundante (Figura 23), com 12 espécies encontradas (Tabela VII), sendo que a mais abundante foi *Poecilochaetus perequensis*, em ambas as camadas (Tabela VII).

O grupo Mollusca foi o segundo mais abundante, sendo representado principalmente pelo bivalve *Corbula pulchella* (Tabela VII). Os grupos menos representativos da macrofauna, aqui representados por Outros, foram abundantes (Figura 22), principalmente pela presença da espécie de Sipuncula *Thysanocardia catharinae* (Tabela VII). Crustacea foi o grupo menos abundante, sendo mais encontrados na camada superior (Figura 23). Observou-se diferenças significativas no grupo Polychaeta em relação às camadas ($F = 12,53$, $p < 0,001$).

O tratamento acidificado (pH 7,3) apresentou maior densidade da macrofauna total, com maiores valores nas primeiras camadas do sedimento (3300 Ind.m^{-2} entre 0-5 cm e 1800 Ind.m^{-2}) (Figura 23). O grupo mais abundante foi Polychaeta, principalmente na camada inferior, também pela presença da espécie *Poecilochaetus perequensis* (Tabela VII).

O grupo Outros foi o segundo mais abundante, apresentou maiores valores também na primeira camada, principalmente pela presença da espécie de Sipuncula *Thysanocardia catharinae* (Tabela VII). Mollusca foi o terceiro mais abundante e também apresentou maiores valores na primeira camada (Figura 23). A espécie mais representativa foi o bivalve *Macoma uruguayensis* (Tabela VII). O grupo Crustacea foi o menos representativo em ambas as camadas (Figura 23). Observou-se diferenças significativas na densidade apenas em relação às camadas, na macrofauna total ($F = 17,42$, $p < 0,001$) e no grupo Polychaeta ($F = 21,13$, $p < 0,001$).

Figura 23. Densidade média (Indivíduos.m^{-2}) dos organismos da macrofauna encontrados nos testemunhos utilizados durante o experimento de acidificação in situ. Outros: Anthozoa, Porifera, Sipuncula, Nemertea. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

Tabela VII. Densidade média (Ind.m⁻²) das espécies da macrofauna bentônica encontradas nos testemunhos utilizados no experimento de acidificação *in situ*.

Experimento Acidificação <i>In Situ</i>	pH 7,3		pH 8,1	
Profundidade do sedimento (cm)	0-5	5-10	0-5	5-10
Espécies				
Anthozoa				
Edwardsiidae sp.	147,06		441,18	
Bivalvia				
<i>Callista maculata</i>			147,06	
<i>Corbula pulchella</i>			294,12	
<i>Cyclinella tenuis</i>	147,06	147,06		
<i>Dalocardia muricata</i>			147,06	
<i>Diplodonta patagonica</i>	147,06			
<i>Dosinia concentrica</i>	147,06			
<i>Macoma uruguayensis</i>	294,12			
<i>Nucula semiornata</i>	147,06		147,06	
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>				147,06
<i>Pitar fulminatus</i>	147,06			
<i>Tellina martinicensis</i>	147,06		147,06	
<i>Tellina trinitatis</i>	147,06			
<i>Transenella stimponi</i>	147,06		147,06	
Crustacea				
<i>Alpheus floridanus</i>			147,06	
<i>Alpheus</i> sp.	147,06			
<i>Ampelisca cristata</i>	147,06			
<i>Biffarius</i> sp.		147,06		
<i>Hepatus pudibundus</i>			147,06	
Paguro NI			147,06	
<i>Polyonyx gibbesi</i>			147,06	
<i>Upogebia noronhensis</i>			147,06	147,06
Nemertea				
Nemertea sp.	147,06			
Polychaeta				
<i>Ancistrosyllis jonesi</i>		147,06		
<i>Armandia</i> sp.	147,06			
Capitellidae sp.			147,06	
<i>Chaetopterus variopedatus</i>				147,06
<i>Chone</i> sp.	147,06			
<i>Exogone</i> sp.	294,12		294,12	
<i>Goniada brunnea</i>			147,06	
<i>Leodice rubra</i>	294,12		441,18	
<i>Levinsenia gracilis</i>			147,06	
<i>Lumbrineris</i> cf. <i>tetraura</i>	147,06		147,06	
<i>Magelona papillicornis</i>	1911,76	2500,00	441,18	735,29
<i>Magelona variolamellata</i>		441,18		
<i>Mediomastus</i> sp.		294,12		

<i>Mesochaetopterus</i> sp.	147,06			
<i>Mooreonuphis</i> sp.			147,06	
<i>Nematonereis</i> sp.	294,12			
<i>Poecilochaetus perenquensis</i>	2500,00	294,12	735,29	
<i>Sigambra rubra</i>	147,06			
<i>Spiochaetopterus nonatoi</i>	147,06			
Porifera				
<i>Tetilla radiata</i>			147,06	
Sipuncula				
<i>Thysanocardia catharinae</i>	1323,53	588,24	294,12	588,24

4.3. Experimento de acidificação em laboratório - Efeitos da acidificação na dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos

4.3.1. Caracterização dos parâmetros ambientais

Os parâmetros químicos medidos durante o período do experimento estão compilados na Tabela VIII abaixo. A temperatura manteve-se praticamente constante, entre 22,3 e 22,9°C. A salinidade sofreu um ligeiro aumento, de 34,5 para 35,0 apenas no final do experimento, mantendo-se praticamente constante. A alcalinidade foi constante ao longo de todo o experimento, com valores entre 2438,0 e 2438,6 $\mu\text{mol kg}^{-1}$. Porém, notou-se que maiores valores ocorreram no tratamento acidificado. O CO_2 total também foi ligeiramente maior no tratamento acidificado, durante todo o experimento, variando entre 2,1 e 2,2 mmol kg^{-1} no controle e entre 2,4 e 2,5 mmol kg^{-1} no acidificado. Diferenças mais significativas foram observadas nos valores de pCO_2 , CO_3^{2-} e HCO_3^- . A pCO_2 manteve-se de 5 a 6 vezes mais alta no tratamento acidificado, com valores entre 2200-2600 μatm e entre 350-400 μatm no controle. As concentrações de CO_3^{2-} foram sempre mais baixas no tratamento acidificado, enquanto que as concentrações de HCO_3^- foram sempre mais altas no tratamento acidificado (Tabela VIII).

Tabela VIII. Medidas de temperatura ($T^{\circ}\text{C}$), salinidade (Sal), pH e alcalinidade total ($\mu\text{mol/kg}$) realizadas durante o experimento de acidificação no laboratório. Os demais parâmetros foram calculados através do programa CO_2 Calc (Robbins et al., 2010).

	$T^{\circ}\text{C}$	Sal	pH	Alcalinidade $\mu\text{mol/Kg}$	tCO_2 mmol/Kg	pCO_2 μatm	CO_3^{2-} $\mu\text{mol/Kg}$	HCO_3^- $\mu\text{mol/Kg}$
T1 24h								
acidificado								
Silte	22,63	34,50	7,26	2438,42	2,52	2217,99	34,54	2354,77
Areia	22,98	34,50	7,28	2438,66	2,54	2879,61	28,67	2369,40
controle								
Silte	22,38	34,50	8,12	2438,25	2,10	374,44	242,03	1849,65
Areia	22,82	34,50	8,15	2438,55	2,20	555,00	178,40	2005,46
T2 48h								
acidificado								
Silte	22,63	34,50	7,26	2438,42	2,52	2217,99	34,54	2354,77
Areia	22,98	34,50	7,26	2438,65	2,55	2044,50	27,52	2372,08
controle								
Silte	22,38	34,50	8,15	2438,25	2,08	346,63	256,83	1813,45
Areia	22,82	34,50	8,16	2438,55	2,20	570,00	178,40	2005,46
T3 5d								
acidificado								
Silte	23,12	34,50	7,33	2438,76	2,45	2697,70	49,25	2319,49
Areia	22,10	34,50	7,29	2438,07	2,47	2955,11	44,34	2330,57
controle								
Silte	22,82	35,00	8,03	2438,57	2,16	450,97	203,86	1943,45
Areia	22,55	35,00	8,11	2438,38	2,18	495,78	190,48	1975,77
T4 9d								
acidificado								
Silte	22,93	35,00	7,38	2438,63	2,43	2351,82	55,75	2303,56
Areia	24,80	35,00	7,63	2438,65	2,31	1561,76	120,43	2146,72
controle								
Silte	23,00	35,00	8,01	2438,67	2,20	543,32	180,67	2000,11
Areia	22,60	35,00	8,01	2438,42	2,20	537,58	181,18	1998,48

4.3.2. Coluna d'água

4.3.2.1. Fluxos bênticos - O_2 e tCO_2

Nos testemunhos tipo silte, os maiores fluxos de consumo de O_2 ocorreram nas primeiras 24 horas de experimento, sendo que o tratamento acidificado apresentou maior valor ($-131,8 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, Figura 24). Houve, em seguida, uma diminuição no consumo de O_2 em ambos os tratamentos. Ao final, os fluxos voltaram a subir, sendo maior no tratamento acidificado ($-107,7 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, Figura 24). Os fluxos de liberação de CO_2 alternaram entre maiores e menores valores em ambos os tratamentos, com um aumento ao final do experimento (Figura 23).

Nos testemunhos tipo areia, os fluxos de consumo de O_2 foram sempre maiores no tratamento acidificado, e houve um aumento nos fluxos ao longo do experimento, em ambos os tratamentos (Figura 24). Os fluxos de liberação de CO_2 diminuíram ao longo do experimento em ambos os tratamentos, com valores quase sempre menores no tratamento acidificado (Figura 24).

Não houve diferenças significativas nos fluxos de O_2 . Houve diferenças significativas nos fluxos de tCO_2 em relação aos tratamentos, no nono dia de incubação ($F = 2,84$, $p < 0,05$).

Figura 24. Fluxos de oxigênio dissolvido (O_2) e gás carbônico dissolvido (CO_2) em $mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$, medidos durante o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.3.2.2. Fluxos bênticos - nutrientes inorgânicos dissolvidos (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , SiO_4)

No sedimento tipo silte, os fluxos de NH_4^+ foram inicialmente quase nulos em ambos os tratamentos. A partir do segundo dia de experimento, houve um aumento nos fluxos de liberação, com valores entre 0,5 no segundo dia e 1,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no quinto dia, em ambos os tratamentos. No último dia de experimento, a tendência de aumento na liberação de NH_4^+ manteve-se no controle, com um fluxo de quase 3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, porém o tratamento acidificado apresentou resultado contrário, apresentando um fluxo negativo (consumo) de NH_4^+ (-0,02 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; Figura 25).

Os fluxos de NO_2^- foram todos positivos em ambos os tratamentos. Com exceção do primeiro dia, o tratamento acidificado apresentou valores ligeiramente menores que o controle, sendo que no controle os fluxos foram em torno de 0,05-0,06 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e, no acidificado, ca. 0,02 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Os fluxos de NO_3^- também foram positivos ao longo de todo experimento, em ambos os tratamentos. Os menores valores foram encontrados no primeiro dia de experimento. Houve um ligeiro aumento no segundo dia, principalmente em pH 8,1. Os maiores valores foram encontrados no quinto dia, sendo que o tratamento controle apresentou o maior valor (0,43 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) em comparação ao acidificado (0,40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). No último dia, houve uma diminuição na liberação de NO_3^- no tratamento acidificado para quase zero. Essa diminuição foi muito menos acentuada no pH controle (Figura 25).

Nos cinco primeiros dias de experimento, os fluxos de PO_4^{3-} foram muito similares entre os tratamentos, com valores quase nulos. Houve um aumento substancial na liberação de PO_4^{3-} no último dia de experimento, saltando para 2,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no controle e 1,3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no acidificado (Figura 25). Os fluxos de SiO_4 foram os que apresentaram as maiores variações entre liberação e consumo, assim como entre os tratamentos, sendo ambos positivos no primeiro e no quinto dia. No segundo dia, observou-se consumo no controle (-3,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). No quinto dia houve liberação deste composto em ambos os tratamentos. No último dia de experimento, observou-se consumo em pH 7,3 (-4,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) e liberação em pH 8,11 (6,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; Figura 25).

Experimento AO lab

Fluxos nutrientes - sedimento ponto 1 - Silte

■ pH 7.3

■ pH 8.1

Figura 25. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, retirados do sedimento tipo silte, durante o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

Em relação ao sedimento tipo Areia, os fluxos de NH_4^+ foram contrários inicialmente, havendo consumo em pH 7,3 ($-0,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) e liberação em pH 8,1 ($0,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Já no segundo dia, ambos os tratamentos apresentaram fluxos positivos, sendo que o tratamento acidificado apresentou o maior valor ($2,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). No quinto dia, os fluxos foram contrários novamente, havendo uma pequena liberação de NH_4^+ no tratamento controle ($0,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) e consumo no acidificado ($-0,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). No último dia de experimento, os fluxos foram ambos positivos e foram os maiores valores encontrados, sendo $2,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ no acidificado e $2,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ no controle (Figura 26).

Os fluxos de NO_2^- foram ambos positivos e maiores no controle, nos dois primeiros dias de experimento, com valores entre 0,02 em pH 7,3 e $0,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ no controle. No quinto dia, observou-se fluxos negativos, sendo o maior fluxo encontrado em pH 7,3 ($-0,05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Já no nono dia, os fluxos voltaram a ser positivos, com valores muito similares em ambos os tratamentos, entre 0,02 e $0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$. Os fluxos de NO_3^- foram quase nulos nos dois primeiros dias de experimento, nos dois tratamentos. Observou-se fluxos negativos no quinto dia, sendo o maior encontrado em pH 7,3 ($-0,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Já no último dia, os fluxos voltaram a ser positivos e com os maiores valores encontrados, principalmente em pH 7,3 ($6,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$; Figura 26).

Os fluxos de PO_4^{3-} foram inicialmente positivos nos dois tratamentos, sendo maiores no controle ($0,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Do segundo ao quinto dia os fluxos foram praticamente inexpressivos, com um leve consumo no tratamento acidificado no quinto dia ($-0,2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). No nono dia, observou-se fluxos negativos nos dois pHs, sendo o maior fluxo encontrado no pH 7,3 ($-1,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Os fluxos de SiO_4 foram contrários no início do experimento, havendo consumo em pH 7,3 e liberação em pH 8,1. Em seguida, notou-se um declínio nos valores, tanto em relação ao consumo em pH 7,3 como à liberação no controle. A partir do quinto dia em diante, os fluxos foram se tornando cada vez mais positivos, sendo que a maior liberação foi observada no último dia, no tratamento acidificado (Figura 26).

Os fluxos de NH_4^+ foram significativamente diferentes somente em relação aos períodos analisados ($F = 3,63$, $p = 0,021$), sendo o primeiro dia significativamente diferente do último ($p = 0,035$). Não houve diferenças significativas nos fluxos de NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} e SiO_4 .

Experimento AO lab

Fluxos nutrientes - sedimento ponto 2 - Areia

■ pH 7.3

■ pH 8.1

Figura 26. Fluxos dos nutrientes dissolvidos nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4) medidos em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, retirados do sedimento tipo areia, durante o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.3.3. Coluna sedimentar

4.3.3.1. Fitopigmentos e MOT

No sedimento tipo Silte, as concentrações de chl-a foram maiores em pH 7,3. O maior valor foi registrado na superfície ($10 \mu\text{g g}^{-1}$), em pH 7,3. As concentrações diminuíram bastante ao longo das três primeiras camadas, chegando a quase zero, com um ligeiro aumento na última camada. As concentrações de feopigmentos foram muito maiores que as de chl-a, com maiores valores em pH 7,3. A maior concentração foi $40 \mu\text{g g}^{-1}$ na superfície, em pH 7,3. Houve uma diminuição das concentrações, mais representativa no tratamento acidificado, chegando a $18 \mu\text{g g}^{-1}$ na terceira camada sedimentar (Figura 27). A porcentagem de MO apresentou um padrão muito semelhante entre os dois tratamentos, com valores ligeiramente menores em pH 7,3. A maior porcentagem (0,5%) foi encontrada na penúltima camada do tratamento controle (Figura 27).

No sedimento tipo areia, observou-se um pico subsuperficial nas concentrações de chl-a, no tratamento acidificado ($10 \mu\text{g g}^{-1}$), com uma drástica diminuição em direção às camadas mais profundas. As concentrações de feopigmentos também foram maiores que as de chl-a. Foi observado o mesmo pico subsuperficial no tratamento acidificado ($40 \mu\text{g g}^{-1}$), assim como a mesma diminuição nas camadas mais profundas. Em geral, os valores em pH 7,3 foram maiores que em pH 8,1 (Figura 27). A porcentagem de MOT foi praticamente a mesma entre os dois tratamentos, com exceção da camada superficial, que apresentou um valor bem mais alto em pH 7,3 (2,3%) do que em pH 8,1 (0,4%) (Figura 26).

Observou-se diferenças significativas somente nos feopigmentos, em relação à profundidade do sedimento ($F = 3,73$, $p = 0,014$). Clorofila-a e MOT não apresentaram diferenças significativas.

Figura 27. Perfis verticais das concentrações de clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$), feopigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$) e Matéria Orgânica Total (MOT) (%) nos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados para o experimento de acidificação em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.3.3.2. Porcentagem de CaCO_3 , % COT, % NT, razão C/N

O sedimento tipo Silte apresentou menores quantidades de CaCO_3 (5-12%) em comparação ao tipo Areia (46-53%), como esperado (Figura 28). Entre os tratamentos, o acidificado possuiu menores valores, principalmente na superfície do sedimento. No tipo Areia, o controle apresentou um padrão de alternância entre maiores valores na segunda e quarta camadas, e menores na superfície, terceira e última camadas. Já em pH 7,3, houve um

decréscimo de CaCO_3 da superfície para os dois primeiros centímetros de sedimento. Em seguida, os valores voltam a aumentar em direção às camadas mais profundas.

As porcentagens de COT no tipo Silte foram muito similares, variando entre 0,1 e 0,3%. O tratamento em pH 7,3 apresentou valores levemente maiores e observou-se um pico na terceira camada, saltando para 0,4%, em ambos os tratamentos. O controle apresentou perfil praticamente constante ao longo da coluna sedimentar, com valores entre 0,05 e 0,1% (Figura 28). As porcentagens de COT no tipo Areia também foram muito similares entre os tratamentos, variando entre 0,1 e 0,2%, com um pico substancial na segunda camada, chegando a 1,5%, provavelmente resultado de uma aglomeração de carbono orgânico como um organismo, por exemplo (Figura 28). Em relação à porcentagem de NT, os valores foram praticamente constantes, em torno de 0,04%, em ambos os tratamentos e tipo de sedimento (Figura 28). A razão C/N acompanhou as tendências observados na porcentagem de COT, variando de 2,0 a 6,0 no Silte e de 1,5 a 18,0 na Areia. Essa alta razão deu-se em função do pico de 1,5% de COT encontrado.

Figura 28. Perfis verticais da porcentagem de Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio Total (NT) e razão Carbono/Nitrogênio (C/N) dos testemunhos dos tipos silte e areia utilizados durante o experimento em laboratório. Não houve replicagem das amostras.

4.3.4. Água Intersticial

4.3.4.1. PO_4^{3-} e NH_4^+

Em geral, as concentrações de PO_4^{3-} e NH_4^+ na água intersticial foram muito similares entre os tratamentos, em ambos os tipos de sedimento (Figura 29). Em relação ao PO_4^{3-} , os valores foram de 0,2-0,4 μM no tipo silte, sendo o maior valor encontrado na segunda camada, em ambos os tratamentos. No tipo Areia, as concentrações foram de 0,2-0,25 μM e muito semelhantes entre os tratamentos. Os perfis verticais das concentrações de NH_4^+ foram ainda mais parecidos entre os tratamentos, principalmente no silte, com valores entre 2,0 e 3,0 μM . Na Areia, os perfis verticais de NH_4^+ foram bem similares, com o maior valor (cerca de 3,5 μM) encontrado na última camada do sedimento, no tratamento acidificado. O menor valor foi 1,7 μM , encontrado na superfície, em ambos os tratamentos (Figura 29). Houve diferenças significativas nas concentrações de PO_4^{3-} ($F = 3,26$, $p = 0,024$) e NH_4^+ ($F = 3,08$, $p = 0,039$) em relação à profundidade de sedimento.

Figura 29. Perfis verticais das concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) (μM) e amônio (NH_4^+) (μM) na água intersticial dos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados durante o experimento em laboratório. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.3.4.2. Ferro dissolvido (Fe^{2+}) e sulfetos totais (tH_2S)

No sedimento tipo silte, as concentrações de Fe^{2+} foram bem semelhantes entre os dois tratamentos. Observou-se tendências similares, com maiores valores na segunda e quarta camadas. O maior valor ($60,0 \mu\text{M}$) foi encontrado em pH 8,1, na penúltima camada sedimentar. O menor valor ($30,0 \mu\text{M}$) foi encontrado na terceira camada, em ambos os tratamentos (Figura 29). No sedimento tipo Areia, observou-se maiores diferenças entre os dois tratamentos, sendo que o controle apresentou um padrão mais conhecido, com um pico subsuperficial ($65,0 \mu\text{M}$) e menores valores acima e abaixo. o perfil vertical em pH 7,3 não apresentou um padrão definido, com o maior valor na superfície ($80,0 \mu\text{M}$) e uma diminuição ao longo da coluna sedimentar (Figura 30). Foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de Fe^{2+} apenas em relação à profundidade do sedimento ($F = 6,13$, $p < 0,001$), sendo a concentração na primeira camada significativamente maior na terceira ($p = 0,011$).

No sedimento tipo silte, as concentrações de sulfetos totais em pH 8,1 foram muito baixas, com os maiores valores na superfície e na última camada (Figura 30). As concentrações no tratamento acidificado foram maiores, principalmente na segunda camada. As concentrações diminuíram em direção às camadas mais profundas. No sedimento tipo areia, as concentrações foram muito semelhantes entre os tratamentos, só diferindo os valores na última camada, sendo maior em pH 8,1 (Figura 30). Não houve diferenças significativas nas concentrações de sulfetos totais.

Figura 30. Perfis verticais das concentrações de ferro dissolvido (Fe²⁺) (μM) e sulfetos totais (tH₂S) na água intersticial dos testemunhos (silte e areia), utilizados durante o experimento. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

4.3.5. Análise da Macrofauna Bêntica

Em relação ao sedimento tipo silte, a grande maioria dos organismos foi encontrada nas primeiras camadas do sedimento, em ambos os tratamentos (Figura 31). A macrofauna total foi menor no tratamento controle, variando entre 1600 Ind.m⁻² na primeira camada e cerca de

300 Ind.m⁻² na segunda camada (Figura 31). O grupo mais abundante foi Polychaeta, representado principalmente pela espécie *Magelona papilicornis* na camada superior e *Lumbrineris cf. tetraura* na inferior (Tabela IX). Mollusca foi o segundo grupo mais denso, sendo o bivalve *Tellina martinicensis* a espécie mais abundante. Houve ausência desse grupo na camada inferior (Figura 31).

O grupo Outros foi o menos representativo (Figura 31). As espécies mais abundantes desse grupo foram o antozoário Edwardsiidae sp. na camada superior e a espécie de Sipuncula *Thysanocardia catharinae* na camada inferior (Tabela IX). Os crustáceos estiveram ausentes nas duas camadas analisadas (Figura 31).

Em pH 7,3, o grupo mais abundante foi Polychaeta, sendo encontrados 1470 Ind.m⁻² na camada superior e 588 Ind.m⁻² na inferior (Figura 31). A espécie mais abundante em ambas as camadas foi *Poecilochaetus perequensis* (Tabela IX). O segundo grupo mais abundante foi o grupo Outros, representado principalmente pelos antozoários Edwardsiidae sp. (Tabela IX). Crustacea e Mollusca foram os menos densos e, junto com os demais grupos menos representativos, estiveram ausentes nas camadas inferiores do sedimento (Figura 31).

Houve diferenças significativas na densidade de Polychaeta em relação às camadas no pH 7,3 ($F = 13,67, p < 0,001$) e no pH 8,1 ($F = 8,45, p < 0,001$).

No sedimento tipo areia, a densidade da macrofauna total foi maior em pH 8,1, principalmente na camada superior, com cerca de 3500 Ind.m⁻². Na segunda camada observou-se cerca de 800 Ind.m⁻² (Figura 31). No controle, o grupo Polychaeta foi o mais abundante, com 2843 Ind.m⁻² na primeira camada e 441 Ind.m⁻² na camada inferior (Figura 31). As espécies mais abundantes foram *Magelona papilicornis* e *Poecilochaetus perequensis* (Tabela IX). O segundo mais abundante foi o grupo Outros, com 441 Ind.m⁻² na camada superior e 220 Ind.m⁻² na inferior, sendo representado pela espécie de Sipuncula *Thysanocardia catharinae* (Tabela IX). Crustacea e Mollusca apresentaram a mesma densidade (147 Ind.m⁻²) em ambas as camadas sedimentares (Figura 31).

Em pH 7,3, a maior densidade total foi de 2700 Ind.m⁻² na primeira camada (Figura 31). Neste tratamento, o grupo Polychaeta também foi o mais abundante, principalmente na camada superior (Figura 31). O segundo mais abundante foi o grupo dos Outros, sendo representado principalmente pelo Sipuncula *Thysanocardia catharinae* (Tabela IX). Mollusca foi o terceiro mais abundante. O grupo Crustacea foi encontrado apenas na camada inferior

(Figura 31). O grupo Echinodermata, encontrado apenas na primeira camada deste tratamento e representado pelo ofiuróide *Amphiodia riisei* (Tabela IX).

Como no sedimento tipo silte, houve diferenças significativas somente no grupo Polychaeta, em relação às camadas no pH 7,3 ($F = 9,87$, $p < 0,001$) e no pH 8,1 ($F = 18,57$, $p < 0,001$).

Figura 31. Densidade média (Ind.m⁻²) dos organismos da macrofauna encontrados em ambas as camadas (0-5 e 5-10 cm) dos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados durante o experimento em laboratório. Outros: Anthozoa, Sipuncula, Ophiuroidea, Nemertea e Turbellaria. Barras de erro indicam ± 1 erro padrão.

Tabela IX. Densidade média (Ind.m⁻²) das espécies da macrofauna bentônica encontradas nos testemunhos dos tipos silte e areia, utilizados no experimento de acidificação em laboratório.

Experimento Acidificação Laboratório	pH 7,3		pH 8,1	
Profundidade do sedimento (cm)	0-5	5-10	0-5	5-10
Espécies				
AREIA				
Anthozoa				
Anthozoa sp.	294,12		294,12	
Edwardsiidae sp.				
Bivalvia				
<i>Chione paphia</i>	147,06			
<i>Diplodonta patagonica</i>		147,06		

<i>Lioberus cataneus</i>	147,06			
<i>Nucula semiornata</i>			147,06	
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>		147,06		
<i>Tellina martinicensis</i>	294,12			
<i>Thyasira trisinuata</i>				147,06
Crustacea				
<i>Biffarius</i> sp.			147,06	
<i>Upogebia noronhensis</i>				294,12
Ophiuroidea	147,06			
<i>Amphiodia riisei</i>	147,06			
Polychaeta				
<i>Aphelochaeta</i> sp.			147,06	147,06
<i>Aricidea (Aricidea) taylori</i>		147,06	735,29	
<i>Diopatra</i> sp.	147,06		147,06	
<i>Exogone</i> sp.			882,35	
<i>Fimbriosthenelais marianae</i>	147,06		294,12	
<i>Gymnonereis crosslandi</i>				294,12
<i>Leodice rubra</i>	735,29		147,06	
<i>Levinsenia gracilis</i>			147,06	147,06
<i>Lumbrineris</i> cf. <i>tetraura</i>	147,06		294,12	147,06
<i>Magelona papillicornis</i>	2352,94	147,06	2205,88	147,06
<i>Mooreonuphis</i> sp.		147,06		
<i>Neanthes</i> sp.			147,06	
<i>Nematonereis</i> sp.	294,12			
<i>Notomastus lobatus</i>			147,06	147,06
<i>Owenia</i> sp.			147,06	
<i>Pholoe</i> sp.	147,06			
<i>Poecilochaetus perenquensis</i>	1323,53		2647,06	147,06
<i>Pseudopolydora rosebelae</i>			147,06	
<i>Scoloplos</i> sp.	294,12			
<i>Spiochaetopterus nonatoi</i>				147,06
<i>Syllis garciai</i>			294,12	
Sipuncula				
<i>Thysanocardia catharinae</i>	1029,41	441,18	1029,41	441,18
SILTE				
Anthozoa				
Edwardsiidae sp.	441,18			
Bivalvia				
<i>Macoma uruguayensis</i>			147,06	
<i>Nucula semiornata</i>			147,06	
<i>Tellina martinicensis</i>	294,12		147,06	
Crustacea				
<i>Ampelisca cristata</i>	147,06			
<i>Mesokalliapseudes</i> cf. <i>brasiliensis</i>	147,06			
Nemertea				
Nemertea sp. 2				147,06
Polychaeta				

<i>Aphelochaeta</i> sp.	147,06	147,06		
<i>Aricidea (Aricidea) taylori</i>		147,06	147,06	
<i>Cirrophorus americanus</i>	147,06			
<i>Cossura</i> sp.			147,06	
<i>Exogone</i> sp.	147,06			
<i>Goniada littorea</i>			147,06	
<i>Goniadidae</i> sp.		147,06		
<i>Leitoscoloplos</i> sp.	147,06		294,12	
<i>Levinsenia gracilis</i>	147,06	147,06		
<i>Levinsenia gracilis</i>	147,06			
<i>Loimia</i> sp.			147,06	
<i>Lumbrineris cf. tetraura</i>	294,12		588,24	
<i>Magelona papillicornis</i>	1617,65		294,12	
<i>Magelona variolamellata</i>	147,06		147,06	
<i>Maldanidae</i> sp.	294,12			147,06
<i>Mediomastus</i> sp.			147,06	
<i>Neanthes bruaca</i>		147,06		
<i>Poecilochaetus perenquensis</i>	735,29	441,18	1323,53	294,12
<i>Schistomeringos rudolphii</i>	147,06			
<i>Sillidae</i> sp.	147,06			
<i>Spiophanes duplex</i>			147,06	
<i>Streblosoma</i> sp.	147,06		147,06	
<i>Terebellides anguicomus</i>			147,06	
Sipuncula				
<i>Thysanocardia catharinae</i>	147,06		882,35	
Turbellaria				
<i>Turbellaria</i> sp.	147,06			

4.4. Análises estatísticas

4.4.1. Correlação de Pearson - Coluna d'água

4.4.1.2. Incubações *in situ*

Para as análises de correlação de Pearson utilizou-se os dados de todas as réplicas e todos os períodos analisados. Para ambos os pontos, os resultados foram separados entre claras e escuras. O objetivo foi verificar o grau de relacionamento entre os fluxos de O_2 , tCO_2 e nutrientes na interface sedimento-água.

Em relação ao ponto 1, câmaras claras, os fluxos de tCO_2 apresentou correlação negativa com fluxos de O_2 (Tabela X a). Os fluxos de O_2 apresentaram correlações negativas com NO_3^- e tCO_2 . Os fluxos de NH_4^+ relacionaram-se positivamente com os fluxos de PO_4^{3-} e tCO_2 (Tabela X a). Os fluxos de NO_3^- relacionaram-se negativamente com os fluxos de O_2 (Tabela X a). Os fluxos de NO_2^- correlacionaram-se negativamente com O_2 e positivamente com PO_4^{3-} (Tabela X a). Os fluxos de PO_4^{3-} foram correlacionados positivamente com NH_4^+ e NO_2^- , e negativamente com SiO_4 (Tabela X a). Os fluxos de SiO_4 foram negativamente correlacionados com O_2 (Tabela X a). Em relação às câmaras escuras, os fluxos de O_2 foram negativamente correlacionados com os de tCO_2 e positivamente com NO_3^- (Tabela X b). Os fluxos de tCO_2 foram negativamente correlacionados com O_2 e positivamente NH_4^+ e PO_4^{3-} (Tabela X b). Os de NH_4^+ correlacionaram-se positivamente com NO_2^- e PO_4^{3-} (Tabela X b). Os fluxos de NO_3^- foram positivamente correlacionados com O_2 e PO_4^{3-} e negativamente com NO_2^- (Tabela X b). Os fluxos de NO_2^- correlacionaram-se com NH_4^+ positivamente e com NO_3^- negativamente. Os fluxos de PO_4^{3-} todos os compostos nitrogenados e negativamente com SiO_4 . Estes, por sua vez, correlacionaram-se negativamente com PO_4^{3-} (Tabela X b).

Tratando-se do ponto 2, câmaras claras, os fluxos de tCO_2 relacionaram-se negativamente com O_2 e positivamente com NO_2^- (Tabela X c). Os fluxos de O_2 foram negativamente correlacionados com CO_2 , NO_2^- e PO_4^{3-} (Tabela X c). Os fluxos de NH_4^+ apresentaram correlações positivas com NO_3^- (Tabela X c). Os fluxos de NO_3^- apresentaram correlações positivas com NH_4^+ . Os fluxos de NO_2^- correlacionaram-se positivamente com tCO_2 e PO_4^{3-} e negativamente com O_2 (Tabela X c). Os fluxos de PO_4^{3-} correlacionaram-se positivamente com NO_2^- e SiO_4 (Tabela X c). Os fluxos de SiO_4 apresentaram correlações

positivas com PO_4^{3-} (Tabela X c). Em relação às escuras, tCO_2 relacionou-se positivamente com O_2 e SiO_4 e negativamente com NH_4^+ e PO_4^{3-} (Tabela X d). Os fluxos de O_2 correlacionaram-se positivamente com tCO_2 e negativamente com PO_4^{3-} . Os fluxos de NH_4^+ foram negativamente correlacionados com tCO_2 e SiO_4 (Tabela X d). Os fluxos de NO_3^- correlacionaram-se positivamente com NO_2^- e PO_4^{3-} e negativamente com SiO_4 (Tabela X d). Os fluxos de NO_2^- foram positivamente correlacionados com PO_4^{3-} e negativamente com SiO_4 . Os fluxos de PO_4^{3-} correlacionaram-se positivamente com O_2 e tCO_2 e positivamente com NO_3^- e NO_2^- . Os fluxos de SiO_4 positivamente correlacionados com tCO_2 e negativamente com todos os compostos nitrogenados mais fósforo (Tabela X d).

Tabela X. Análise de correlação de Pearson realizada com as medidas de fluxos de O_2 , tCO_2 e nutrientes dissolvidos: nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fósforo (PO_4^{3-}) e silicato (SiOH_4), em relação ao ponto 1 clara (1), ponto 1 escura (b), ponto 2 clara (c), ponto 2 escura (d). N = 45 (claras), N = 36 (escuras). Os valores significativos ($p \leq 0,05$) estão em negrito.

(a) Ponto 1	tCO_2 clara	O_2 clara	NH_4^+ clara	NO_3^- clara	NO_2^- clara	PO_4^{3-} clara	SiO_4 clara
tCO_2 clara	1,0	-0,6	-0,5	0,3	-0,4	-0,3	0,3
O_2 clara	-0,6	1,0	-0,4	-0,8	-0,5	-0,1	-0,5
NH_4^+ clara	-0,5	-0,4	1,0	0,3	1,0	0,8	-0,2
NO_3^- clara	0,3	-0,8	0,3	1,0	0,4	-0,3	-0,2
NO_2^- clara	-0,4	-0,5	1,0	0,4	1,0	0,7	-0,1
PO_4^{3-} clara	-0,3	-0,1	0,8	-0,3	0,7	1,0	-0,3
SiO_4 clara	0,3	-0,5	-0,2	0,2	-0,1	-0,8	1,0

(b) Ponto 1	O_2 escura	tCO_2 escura	NH_4^+ escura	NO_3^- escura	NO_2^- escura	PO_4^{3-} escura	SiO_4 escura
O_2 escura	1,0	-0,6	-0,4	0,5	0,4	0,4	-0,1
tCO_2 escura	-0,6	1,0	0,4	-0,3	0,3	0,5	0,1
NH_4^+ escura	-0,4	0,5	1,0	-0,3	0,5	0,6	0,0
NO_3^- escura	0,5	-0,3	-0,3	1,0	-0,5	0,5	-0,3
NO_2^- escura	0,4	0,3	0,5	-0,5	1,0	0,4	-0,2
PO_4^{3-} escura	0,4	0,5	0,6	0,5	0,4	1,0	-0,8
SiO_4 escura	-0,1	0,1	0,0	-0,2	-0,2	-0,8	1,0

(c) Ponto 2	tCO ₂ clara	O ₂ clara	NH ₄ ⁺ clara	NO ₃ ⁻ clara	NO ₂ ⁻ clara	PO ₄ ³⁻ clara	SiO ₄ clara
tCO ₂ clara	1,0	-0,9	0,1	0,2	0,7	0,1	-0,2
O ₂ clara	-0,9	1,0	-0,4	-0,3	-0,8	-0,6	-0,4
NH ₄ ⁺ clara	0,1	-0,4	1,0	0,9	-0,2	0,1	0,3
NO ₃ ⁻ clara	0,2	-0,3	0,9	1,0	-0,4	-0,3	0,0
NO ₂ ⁻ clara	0,7	-0,8	-0,2	-0,4	1,0	0,7	0,4
PO ₄ ³⁻ clara	0,1	-0,6	0,1	-0,3	0,7	1,0	0,9
SiO ₄ clara	-0,2	-0,4	0,3	0,0	0,4	0,9	1,0

(d) Ponto 2	O ₂ escura	tCO ₂ escura	NH ₄ ⁺ escura	NO ₃ ⁻ escura	NO ₂ ⁻ escura	PO ₄ ³⁻ escura	SiO ₄ escura
O ₂ escura	1,0	0,8	-0,4	0,3	0,3	-0,6	0,4
tCO ₂ escura	0,8	1,0	-0,7	0,0	-0,1	-0,6	0,8
NH ₄ ⁺ escura	-0,4	-0,7	1,0	-0,4	-0,2	-0,1	-0,6
NO ₃ ⁻ escura	0,3	0,0	-0,4	1,0	1,0	0,6	-0,5
NO ₂ ⁻ escura	0,3	-0,1	-0,2	0,5	1,0	0,6	-0,6
PO ₄ ³⁻ escura	-0,6	-0,6	-0,1	0,6	0,6	1,0	-0,6
SiO ₄ escura	0,4	0,8	-0,6	-0,5	-0,6	-0,6	1,0

4.4.1.3. Experimento de acidificação em laboratório

Considerando o sedimento tipo silte, as correlações mais altas encontradas no tratamento controle foram as negativas entre os fluxos de amônio e silicato, positivas entre os fluxos de oxigênio e nitrato, oxigênio e nitrito, e negativas entre os fluxos de gás carbônico total e os compostos nitrogenados (Tabela XI a). No tratamento acidificado, as correlações mais altas foram as negativas entre os fluxos de amônio, gás carbônico total, nitrato e nitrito, e positivas entre os fluxos de oxigênio, amônio e nitrato (Tabela XI b).

Em relação ao sedimento tipo areia, o tratamento controle apresentou as maiores correlações entre os fluxos de amônio e oxigênio (negativas), oxigênio e fósforo (positivas), nitrato e nitrito (positivas) e gás carbônico total e fósforo (positivas) (Tabela XI c). No tratamento acidificado, as correlações mais altas foram negativas entre os fluxos de oxigênio e amônio, e positivas entre os fluxos de nitrato e nitrito, oxigênio e fósforo, e entre os fluxos de gás carbônico total, nitrito e fósforo (Tabela XI d).

Tabela XI. Análise de correlação de Pearson realizada com as medidas de fluxos de O_2 , tCO_2 e nutrientes dissolvidos: nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e silicato (SiO_4), em relação ao experimento de acidificação em laboratório, nos dois tipos de sedimento e para os dois tratamentos: Silte pH 8.1 (a), Silte pH 7.3 (b), Areia pH 8.1 (c), Areia pH 7.3 (d). N= 27. Os valores significativos ($p \leq 0,05$) estão em negrito.

(a) SILTE pH 8.1	Fluxos NH_4^+	Fluxos NO_3^-	Fluxos NO_2^-	Fluxos PO_4^{3-}	Fluxos SiO_4	Fluxos O_2	Fluxos tCO_2
Fluxos NH_4^+	1,0	0,3	0,2	0,7	-0,8	0,6	0,0
Fluxos NO_3^-	0,3	1,0	0,7	-0,5	0,3	0,8	-0,7
Fluxos NO_2^-	0,2	0,7	1,0	-0,5	0,3	0,8	-0,7
Fluxos PO_4^{3-}	0,7	-0,5	-0,5	1,0	-0,9	0,0	0,7
Fluxos SiO_4	-0,8	0,3	0,3	-0,9	1,0	0,0	-0,6
Fluxos O_2	0,6	0,8	0,8	0,0	0,0	1,0	-0,6
Fluxos tCO_2	0,0	-0,7	-0,7	0,7	-0,6	-0,6	1,0

(b) SILTE pH 7.3	Fluxos NH_4^+	Fluxos NO_3^-	Fluxos NO_2^-	Fluxos PO_4^{3-}	Fluxos SiO_4	Fluxos O_2	Fluxos tCO_2
Fluxos NH_4^+	1,0	0,8	-0,8	-0,5	0,1	0,7	-0,5
Fluxos NO_3^-	0,8	1,0	-0,8	0,1	0,4	0,6	0,1
Fluxos NO_2^-	-0,8	-0,8	1,0	0,0	-0,6	-0,4	0,0
Fluxos PO_4^{3-}	-0,5	0,1	0,0	1,0	0,5	-0,3	0,8
Fluxos SiO_4	0,1	0,4	-0,6	0,5	1,0	-0,4	0,6
Fluxos O_2	0,7	0,6	-0,4	-0,3	-0,4	1,0	-0,3
Fluxos tCO_2	-0,5	0,1	0,0	0,8	0,6	-0,3	1,0

(c) AREIA pH 8.1	Fluxos NH_4^+	Fluxos NO_3^-	Fluxos NO_2^-	Fluxos PO_4^{3-}	Fluxos SiO_4	Fluxos O_2	Fluxos tCO_2
Fluxos NH_4^+	1,0	1,0	0,0	-0,6	-0,7	-1,0	-0,2
Fluxos NO_3^-	1,0	1,0	0,3	-0,4	-0,7	-0,9	0,1
Fluxos NO_2^-	0,0	0,3	1,0	0,8	0,0	0,2	0,9
Fluxos PO_4^{3-}	-0,6	-0,4	0,8	1,0	0,4	0,8	0,8
Fluxos SiO_4	-0,7	-0,7	0,0	0,4	1,0	0,6	-0,2
Fluxos O_2	-1,0	-0,9	0,2	0,8	0,6	1,0	0,4
Fluxos tCO_2	-0,2	0,1	0,9	0,8	-0,2	0,4	1,0

(d) AREIA pH 7.3	Fluxos NH_4^+	Fluxos NO_3^-	Fluxos NO_2^-	Fluxos PO_4^{3-}	Fluxos SiO_4	Fluxos O_2	Fluxos tCO_2
Fluxos NH_4^+	1,0	0,7	0,5	-0,4	0,6	-0,8	0,1
Fluxos NO_3^-	0,7	1,0	0,9	-0,4	0,6	-0,7	0,3
Fluxos NO_2^-	0,5	0,9	1,0	0,0	0,2	-0,4	0,7
Fluxos PO_4^{3-}	-0,4	-0,4	0,0	1,0	-0,5	0,9	0,7
Fluxos SiO_4	0,6	0,6	0,2	-0,5	1,0	-1,0	-0,6
Fluxos O_2	-0,8	-0,7	-0,4	0,9	-0,5	1,0	0,4
Fluxos tCO_2	0,1	0,3	0,7	0,7	-0,6	0,4	1,0

4.4.2. Correlação de Pearson - Coluna sedimentar e Água intersticial

4.4.2.1. Incubações in situ

Para as análises de correlação dos parâmetros medidos na coluna sedimentar foram utilizados os dados de características do sedimento (Densidade, Porosidade e Porcentagem de

água), Clorofila-a, Feopigmentos e %MO. A análise também contemplou os nutrientes dissolvidos na água intersticial (PO_4^{3-} e NH_4^+), Fe^{2+} e tH_2S . Os dados foram analisados em conjunto pela ausência de diferenças significativas entre os dois pontos. O objetivo foi verificar o grau de relacionamento entre as variáveis.

Considerando os experimentos de incubação *in situ* (Figura 32), as correlações significativas mais altas foram observadas entre Clorofila-a e Feopigmentos, entre Densidade e Feopigmentos e entre Densidade e Clorofila-a. Correlações significativas também foram observadas entre %MO e Porosidade, entre tH_2S e Chl-a, Feopigmentos e Densidade (Figura 32).

Figura 32. Análise de correlação de Pearson com os resultados da coluna sedimentar: Densidade (g/ml), % Água, Porosidade (cm^3 sed), %MO, Chl-a ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), Feopigmentos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), PO_4^{3-} (μM), NH_4^+ (μM), Fe^{2+} (μM) e tH_2S (μM), referente aos experimentos de incubação *in situ*. Coeficientes de correlação de Pearson significativos ($p \leq 0,05$).

4.4.2.2. Experimento de acidificação em laboratório

Como as análises de variância mostraram que praticamente não houve diferenças significativas entre os tratamentos para os resultados da coluna sedimentar, os dados foram analisados em conjunto. O objetivo foi verificar o grau de relacionamento entre as variáveis.

Considerando o experimento de acidificação em laboratório, o sedimento tipo silte (Figura 33 a) apresentou correlações significativas entre Densidade e Porosidade, entre PO_4^{3-} e NH_4^+ e entre Clorofila-a, Feopigmentos e % Água (Figura 33 a). O sedimento tipo areia apresentou um maior número de correlações significativas do que o sedimento tipo silte (Figura 33 b). As correlações significativas mais representativas foram entre Porosidade e Densidade, entre % Água e tH_2S e % Água e Fe^{2+} . Foram observadas correlações significativas também entre %MO e tH_2S e Chl-a e Feopigmentos com tH_2S e Fe^{2+} (Figura 33 b).

Figura 33. Análise de correlação de Pearson com os resultados da coluna sedimentar e água intersticial: Densidade (g/ml), % Água, Porosidade (cm³ sed), %MO, Chl-a (μg.g⁻¹), Feopigmentos (μg.g⁻¹), PO₄³⁻ (μM), NH₄⁺ (μM), Fe²⁺ (μM) e tH₂S (μM), referente ao experimento de acidificação em laboratório, no sedimento tipo silte (a) e no tipo areia (b). Coeficientes de correlação de Pearson significativos ($p \leq 0,05$).

4.5. Descritores da comunidade da macrofauna bêntica

A análise da macrofauna durante os experimentos de incubação *in situ* só foi possível nos meses de março e abril/2013, portanto, os descritores ecológicos bênticos foram calculados apenas para esses dois meses. Os cálculos foram realizados com os resultados do ponto 1 e ponto 2, separados por câmaras claras e escuras.

A riqueza de espécies (S) foi bem maior em Março/2013 principalmente nas câmaras escuras (14 espécies), assim como o número de espécies (N) (28 indivíduos) (Tabela XII). A equitatividade (J') foi semelhante entres as claras (0,8) e as escuras (0,9) independente do período (Tabela XII). A diversidade de espécies (H') foi maior em Março/2013, também nas escuras (2,2) (Tabela XII).

Tabela XII. Valores médios de Riqueza de espécies (S), Número de espécies (N), equitatividade (J') e índice de diversidade de espécies (H') observados no ponto 1 e 2, durante os experimentos de incubação *in situ*.

Erros indicam ± 1 erro padrão.

Período	Câmara	S	N	J'	H'(log _e)
Março	Clara	12,33 $\pm$ 4,9	26,7 $\pm$ 23,9	0,8 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,3
	Escura	14,0 $\pm$ 2,6	28,7 $\pm$ 4,6	0,9 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,1
Abril	Clara	9 $\pm$ 2,6	22,3 $\pm$ 8,3	0,8 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,4
	Escura	1,5 $\pm$ 0,7	2,5 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,5

Considerando o experimento de acidificação *in situ*, o maior número de espécies (S) foi encontrado no controle (15,5). Já o maior número e indivíduos (N) foi encontrado no pH 7,3 (32). A equitatividade foi maior no controle, sendo 0,9 no controle e 0,8 em pH 7,3. O índice de diversidade de espécies foi maior no tratamento controle, sendo 2,6 no controle e 2,1 em pH 7,3 (Tabela XIII).

Tabela XIII. Valores médios de Riqueza de espécies (S), Número de espécies (N), equitatividade (J') e índice de diversidade de espécies (H') observados nos dois tipos de tratamento, durante o experimento de acidificação *in situ*. Erros indicam ± 1 erro padrão.

	S	N	J'	H' (log _e)
Acidificado	13,7 $\pm$ 6,0	32 $\pm$ 8,7	0,8 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,4
Controle	15,5 $\pm$ 0,7	24 $\pm$ 2,8	0,9 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,1

Em relação ao experimento de acidificação em laboratório, no sedimento tipo areia, o controle apresentou os maiores valores, tanto em número de espécies (12,3) quanto de indivíduos (27,7), assim como o índice de diversidade (2,2). A equitatividade apresentou os mesmos valores nos dois tratamentos (Tabela XIV). No sedimento tipo silte, houve uma maior variação entre os dois tratamentos, sendo que o número de espécies (9,3) e o número de indivíduos (15,7) foram maiores em pH 7,3. A equitatividade também apresentou os mesmos valores nos dois tratamentos. O índice de diversidade foi ligeiramente maior no controle (1,9) (Tabela XIV).

Tabela XIV. Valores médios de Riqueza de espécies (S), Número de espécies (N), equitatividade (J') e índice de diversidade de espécies (H') observados nos dois tipos de sedimento (Areia e Silte), em ambos

os tratamentos, durante o experimento de acidificação em laboratório. Erros indicam ± 1 erro padrão.

Sedimento	Tratamento	S	N	J'	H'(log _e)
Areia	Acidificado	9,3 $\pm$ 3,8	20,3 $\pm$ 9,5	0,9 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,4
	Controle	12,3 $\pm$ 2,3	27,7 $\pm$ 3,5	0,9 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,2
Silte	Acidificado	9,3 $\pm$ 8,7	15,7 $\pm$ 7,8	0,9 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 1,0
	Controle	8,3 $\pm$ 0,6	13,0 $\pm$ 3,0	0,9 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,1

4.5.1. Ordenação por MDS (non-metric Multi Dimensional Scaling)

Análises de ordenação por MDS foram realizadas para verificar se houve alguma relação e/ou ordenação das espécies da macrofauna bêntica com os fatores analisados. Nos experimentos de incubação *in situ* os fatores foram: ponto 1 e 2, período de coleta e tipo de câmara. Nos experimentos de acidificação a variável foi o tratamento acidificado e controle.

Em relação às espécies da macrofauna encontradas nos experimentos de incubação *in situ*, os diagramas de ordenação mostraram claramente que não existe diferença entre Março/2013 e Abril/2013 em relação à densidade da macrofauna (Figura 34).

Figura 34. Análise de ordenação MDS da densidade da macrofauna encontrada nos experimentos de incubação *in situ*, em função do período de coleta (Março e Abril/2013) e em função do tipo de câmara (clara e escura).

O experimento de acidificação *in situ* foi analisado com apenas seis réplicas, três para cada tratamento, e a réplica 2 do controle não apresentou indivíduos da macrofauna, por isso não aparece no diagrama de ordenação. Apesar do reduzido número de amostras, observou-se

uma diferença entre o pH 7,3 e o pH natural quanto à densidade da macrofauna (Figura 35). Essa diferença está ligada à presença de crustáceos no controle (ver Tabela IX).

Figura 35. Análise de ordenação MDS da densidade da macrofauna encontrada no experimento de acidificação in situ, em função do tipo de tratamento (acidificado e controle).

Considerando o experimento de acidificação em laboratório, é possível notar uma tendência de agrupamento entre as amostras do tratamento acidificado e um outro agrupamento entre as amostras do controle, independente do tipo de sedimento (Figura 36).

Figura 36. Análise de ordenação MDS da densidade da macrofauna em relação ao tipo de sedimento (silte e areia) e ao tipo de tratamento (acidificado e controle).

5. Discussão

5.1. Experimento de incubação *in situ* - Dinâmica do metabolismo bêntico e fluxos biogeoquímicos em sedimentos costeiros

Os parâmetros ambientais medidos durante os experimentos de incubação *in situ*, nos dois pontos de coleta demonstram uma grande semelhança entre os dois pontos de amostragem, tanto em relação aos parâmetros da coluna d'água (temperatura, salinidade, pH, AT, O₂, CO₂) como aos parâmetros sedimentares (granulometria). Os dois pontos de estudo são compostos basicamente de sedimentos finos, principalmente areia muito fina e silte, com uma grande presença carbonática. Segundo Mahiques et al. (1998), apesar da homogeneidade em relação à maior presença de sedimentos finos, a região costeira de Ubatuba apresenta grandes variações nos constituintes das frações grossas. Essa característica foi observada neste estudo, pois a maior diferença em relação aos pontos foram justamente as frações grossas e a maior presença carbonática nas proximidades da costa (ponto 2, ver Figura 3). Trata-se de uma região que apresenta um gradiente de maior presença de areia nas proximidades da costa e maior presença de silte e argila distanciando-se da costa, em função, principalmente, do hidrodinamismo, que naturalmente transporta o sedimento de dentro para fora da enseada.

Parâmetros do sistema carbonato como carbonatos, bicarbonatos e alcalinidade total, foram medidos pela primeira vez na região, resultando em uma primeira descrição da área. Os valores de carbonatos foram cerca de sete vezes menores que os de bicarbonato, proporção semelhante à encontrada globalmente. Em torno de 90% do carbono inorgânico dissolvido na água do mar está na forma de íons bicarbonato, e a proporção para íons carbonato é em torno de 7 a 10 vezes menos (Dickson, 2011). A alcalinidade total (AT) também apresentou valores muito semelhantes entre si e em relação aos valores globais (Dickson, 2011). Segundo Redfield et al. (1963), processos biológicos como a fotossíntese e a oxidação da matéria orgânica exercem pouca influência na AT. Geralmente, esta tem um comportamento relativamente conservativo no oceano (Goyet & Brewer, 1993).

As medidas de temperatura, salinidade, pH e tCO₂ geradas durante os experimentos de incubação *in situ* mostram que não houve mudanças significativas nas características da água durante os experimentos, mesmo em diferentes períodos de amostragem. Os valores

encontrados neste estudo corroboram com estudos pretéritos realizados na região (Teixeira, 1979; Braga 1989). Apesar da grande influência que a Água Central do Atlântico Sul (ACAS) exerce ao largo de Ubatuba, principalmente no verão (Castro & Miranda, 1998), detectada na região a maiores profundidades (≥ 35 m) por Braga & Müller (1998), o estudo mostra que a baixa profundidade local (6 a 8 m) faz com que a coluna d'água apresente características mais homogêneas em termos de temperatura e salinidade, independentemente da época do ano.

As concentrações iniciais de O_2 e dos nutrientes dissolvidos também foram semelhantes às reportadas por Braga (1989) e, por tratar-se de um ambiente meso-oligotrófico (Braga & Müller, 1998; Braga et al., 2008), apontam baixas concentrações em relação a ambientes mais enriquecidos como a costa do Atlântico Norte (Dale & Prego, 2002), Mar Adriático (Brigolin et al., 2011) e Mar do Norte (Cooch et al., 2007).

Uma tendência linear entre as concentrações de solutos versus tempo de incubação gerada por meio de câmaras bênticas *in situ*, é indicativo de um fluxo constante na interface sedimento-água (Jahnke & Christiansen, 1989). Em geral, os resultados obtidos confirmaram essa tendência, mostrando resultados lineares das concentrações de O_2 , NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^- em quatro horas de incubação, com uma predominância de liberação de nutrientes e CO_2 e consumo de O_2 .

É interessante notar que já nas primeiras duas horas de incubação, detectou-se mudanças nas concentrações em todos os períodos analisados, sugerindo que o tempo de incubação utilizado nos experimentos parece ter sido suficiente para detectar essas variações na interface sedimento-água, apesar desse tempo de quatro horas ser muito menor do que a incubação realizada por *landers*, em áreas profundas (Jahnke et al., 1990; 2004; Skoog et al., 1996; Marinelli et al., 1998; Reimers & Glud, 2000; Reimers et al., 2000; Hammond et al., 2004; Ståhl et al., 2004a, b; Thorbergsdóttir et al., 2004; Cook et al., 2007). O ambiente costeiro consegue responder de uma forma muito mais rápida aos processos que estão acontecendo na interface sedimento-água (Cahoon & Cooke, 1992; Ferguson & Gay, 2003; Eyre & Ferguson, 2005).

Neste estudo, a grande maioria das concentrações de oxigênio diminuiu ao longo do tempo de incubação, sugerindo consumo deste composto por atividades metabólicas de respiração, consumo e degradação da matéria orgânica pela biota bêntica. Houve a ocorrência de apenas dois eventos de liberação de O_2 e consumo de nutrientes nas câmaras claras, devido a atividades de produção autotrófica na superfície do sedimento (ver Figuras 7 e 8). Isto significa que, na presença de luz suficiente, houve produção fotossintética na superfície do

sedimento e que as câmaras claras foram eficientes em detectar essa produção. Esse resultado não era esperado, já que as condições de transparência da água durante os experimentos eram muito ruins, ou seja, muito pouca ou quase nenhuma luz parecia atingir a superfície do sedimento. Observou-se durante os experimentos a presença em abundância de macrófitas do gênero *Halophila* sp. Também foi observado a presença de filmes de microfitobentos, porém em menor quantidade, mas também já reportados como importantes produtores primários na região (Corbisier et al., 1997). A presença das macrófitas e microalgas podem explicar a produção autotrófica registrada pelas câmaras, principalmente em Abril/2013, período de maior presença de clorofila-a na superfície do sedimento (ver Figura 14).

Foi observado em ambas as câmaras e nos dois pontos, maiores concentrações de NH_4^+ assim como maiores liberações deste composto em relação aos demais compostos nitrogenados. Isto sugere que a produção de NH_4^+ também pode ser gerada por fontes como a excreção dos organismos no sedimento e na própria coluna d'água.

5.1.2. Fluxos bênticos

O oxigênio é produzido durante a fotossíntese e consumido direta e/ou indiretamente durante a degradação de matéria orgânica. Dessa forma, representa um excelente traçador de atividade biológica (Fenchel & Jørgensen, 1977; Jørgensen, 2000; Glud, 2008). Fluxos negativos de O_2 podem indicar (1) atividade aeróbica heterótrofa da fauna e bactérias e (2) reoxidação de produtos inorgânicos reduzidos liberados durante a degradação anaeróbica heterotrófica (Glud, 2008). Como os solutos inorgânicos originados da mineralização anaeróbica são muito oxidados dentro dos sedimentos, o consumo bêntico de O_2 representa um "proxy" das taxas de mineralização bêntica do carbono orgânico (Canfield, 1993).

De um modo geral, os fluxos de consumo O_2 mostraram altos valores, independente do período e do local. Com exceção de alguns eventos de produção nas câmaras claras, os demais fluxos foram todos negativos, sugerindo um alto consumo de O_2 pela biota bacteriana bêntica em processos de reoxidação da matéria orgânica.

Os pequenos eventos de produção observados sugerem que, na região, a produção fotossintética está diretamente ligada à quantidade de luz que chega ao fundo, à turbidez da água e à presença de nutrientes, principalmente os nitrogenados e fosfato (Teixeira & Tundisi, 1981; Braga, 1989), independente da época do ano.

Foram medidos fluxos de liberação de CO_2 (positivos) em todos os períodos de consumo de O_2 . A liberação de CO_2 ocorrendo concomitante ao consumo de O_2 tanto nas câmaras claras

como nas escuras indica claramente atividades de heterotrofia líquida da biota bêntica no sedimento, sendo que, apesar de alguns eventos esporádicos de produção, os processos de degradação e reoxidação da matéria orgânica prevaleceram sobre os processos de produção autotrófica.

Os fluxos dos compostos nitrogenados (NO_3^- , NO_2^- e NH_4^+) foram quase todos positivos nos dois pontos de amostragem, havendo, dessa forma, eventos predominantes de liberação destes compostos para a coluna d'água. A liberação destes compostos englobam alguns processos como a nitrificação e a amonificação. Os processos de nitrificação estão relacionados à regeneração da MO tanto na coluna d'água, quanto no sedimento (Herbert, 1999). Fluxos positivos de nitrito e nitrato indicam maior atividade microbiana de oxidação aeróbica da MO na interface sedimento-água, resultando em posteriores incrementos no aporte destes compostos para a coluna de água (Henriksen et al., 1980). A oxidação bioquímica do amônio à nitrato pode consumir até cerca de 20% do amônio formado na interface sedimento-água (Aller & Benninger, 1981).

O termo amonificação está ligado à liberação de amônio pela degradação de matéria orgânica rica em nitrogênio lábil, como o fitoplâncton (Herbert, 1999). A amonificação é de fundamental importância na reciclagem de nitrogênio e, em ambientes costeiros (< 50 m de profundidade), a reciclagem bêntica do nitrogênio pela degradação fornece de 20-80% do nitrogênio necessário ao fitoplâncton (Jensen et al., 1990; Hansen et al., 1992). O presente estudo aponta para a dominância do processo de nitrificação e amonificação sobre o processo de denitrificação nos sedimentos costeiros de Ubatuba, sendo que os principais fatores são a presença de oxigênio e matéria orgânica lábil e de origem marinha (fitoplanctônica) nos sedimentos. Não se pode deixar de considerar a liberação de amônio pela excreção dos organismos bênticos e pelágicos. Esse processo fica mais evidente em experimentos de confinamento, como é o caso das incubações utilizando câmaras bênticas (Tengberg et al., 1995; Glud et al., 2003).

Os fluxos de fosfato e silicato apresentaram maiores variações entre consumo e liberação destes compostos para a coluna d'água, em ambos os pontos, em todo o período analisado. A liberação de fosfato e silicato dos sedimentos para a coluna d'água é bastante comum na maior parte dos sedimentos costeiros de margens continentais (Berelson et al., 2003), e é resultado dos processos de mineralização biogênica na interface sedimento-água.

O alto consumo de O_2 , a dominância da nitrificação e liberação de amônio indicam

basicamente os processos ocorrendo nos sedimentos costeiros de Ubatuba: (1) remineralização aeróbica bêntica, (2) processos de nitrificação maiores que denitrificação e (3) provável excreção de organismos bênticos. A região parece se comportar como ambientes meso-oligotróficos de mar profundo (Hammond et al., 1996), ou seja, um compartimento que engloba vários processos ocorrendo em resposta ao estocástico e pouco intenso aporte de matéria orgânica e, pela reduzida permanência da matéria orgânica na superfície do sedimento, pelo seu imediato retrabalhamento.

Sendo o consumo de O_2 o principal processo de mineralização nos sedimentos da costa sudeste de São Paulo, e assumindo que o O_2 foi muito pouco consumido na reoxidação de compostos redutores (NH_3 , Mn^{2+} , Fe^{2+} e H_2S), foi utilizado um quociente de 0,85 (Accornero et al., 2003) para converter o consumo de O_2 ($mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$) na taxa de mineralização de Carbono Orgânico ($mg\ C\ m^{-2}\ d^{-1}$). O quociente de 0,85 foi escolhido pois esse quociente foi calculado para o Golfo de Lion, no Mar Mediterrâneo (Accornero et al., 2003) e é considerado o valor mais adequado para se converter consumo de O_2 em demanda de carbono por comunidades bênticas em margens continentais similares ao nosso estudo (Smith 1974, 1978; de Bovée, 1987; Accornero et al., 2003). A Tabela XV abaixo ilustra uma comparação entre taxas de mineralização calculadas em diversas áreas e para este estudo. Pode-se observar que o valor encontrado para este estudo é baixo em comparação à outras regiões costeiras (Tabela XV).

Tabela XV. Taxas de mineralização do Carbono Orgânico (CO) existentes na literatura e para este estudo. D: métodos diretos (incubações).

Localização	Prof (m)	Mineralização do CO ($mg\ C\ m^{-2}\ d^{-1}$)	Métodos	Referência
Costa dinamarquesa	10	427,2	Consumo de O_2 (D)	Jørgensen 1977
Costa sueca	6	100,8 - 234,0	Produção de tCO_2 (D)	Anderson et al. 1986
Costa norte do Atlântico	8	822	Consumo de O_2 (D)	Chanton et al. 1987
Baía de Chesapeake (EUA)	12	349,2	Produção de tCO_2 (D)	Burdige & Homstead 1994
Califórnia (EUA)	95-3707	7,5 - 98,3	Produção de tCO_2 (D)	Berelson et al. 1996
Mar Mediterrâneo (FR)	35	104	Consumo de O_2 (D)	Accornero et al. 2003
Costa sudeste de São Paulo (BR)	8	65	Consumo de O_2 (D)	Este estudo

5.1.3. Coluna sedimentar

Em relação aos processos físicos dos sedimentos, o sedimento marinho é composto de dois elementos básicos: água do mar e partículas de sedimento. Estas partículas estão geralmente aglomeradas de maneira grosseira, permitindo a presença de espaços vazios ou poros. Em sedimentos marinhos muito irrigados, esses poros armazenam a água intersticial.

Enquanto muitos parâmetros sedimentares podem ser definidos por estes dois elementos básicos, informações adicionais sobre a microestrutura sedimentar são necessárias para se compreender as propriedades físicas e mecânicas dos sedimentos, assim como os processos de transporte que afetam a concentração de solutos presentes na água intersticial (Burdige, 2006). Dessa forma, medidas de densidade (g mL^{-1}), porosidade (%), porcentagem de água e de matéria orgânica foram realizadas.

Os pontos 1 e 2 localizam-se próximos um ao outro e não apresentaram diferenças muito grandes na porcentagem de água, na densidade e porosidade do sedimento. O ponto 1, mais siltico, apresentou maior densidade e conteúdo de água e maior porosidade que o ponto 2, mais arenoso, principalmente nas camadas mais inferiores do sedimento. A porosidade está relacionada principalmente ao tipo e tamanho dos grãos. Durante o fatiamento dos testemunhos, ficou clara a maior presença de sedimentos finos nas primeiras camadas, contribuindo para uma maior porosidade em função principalmente do tamanho dos grãos. Os perfis verticais do teor de MOT foram também similares entre os dois pontos, ambos apresentando baixos valores e pouca variação em relação à profundidade. Isso indica o baixo teor orgânico presente nos sedimentos costeiros de Ubatuba, corroborado pelos baixos valores nos fluxos de O_2 , devido a fatores como baixas taxas de sedimentação e deposição (Mahiques et al., 1998). Além dos eventos de ressuspensão, já reportados na região como responsáveis por lavar a superfície do sedimento (Quintana et al., 2010; Rodrigues Alves et al., 2014).

Os padrões da concentração de clorofila-a em relação à profundidade da coluna sedimentar resultam principalmente do balanço entre suprimento, transporte interno e decomposição de matéria orgânica (Sun et al., 1991). A clorofila-a mostrou um perfil típico de sedimento costeiro e corroborável com outros estudos na região (Sumida et al., 2005; Quintana et al., 2010; 2014) com maiores valores na superfície e menores nas camadas mais profundas, em ambos os pontos. Os feopigmentos, em concentrações sempre maiores, apresentaram o mesmo padrão que a clorofila-a, também em ambos os pontos.

Como esperado, o ponto 1 apresentou maior porcentagem de Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT) que o ponto 2, com maior porcentagem de carbonatos. A maior presença de sedimentos finos é responsável por agrupar e acumular maior porcentagem de matéria orgânica com um consequente aumento na atividade bacteriana bêntica (Cook et al. 2007). Os dois pontos apresentaram baixos valores e baixas razões C/N, o que indica labilidade

da matéria orgânica que atinge o sedimento (Gray & Elliot 2009), além da rapidez com que essa matéria orgânica é degradada e absorvida no sedimento. Estudos feitos por Hall et al. (1996) no Mar do Norte mostraram que baixas razões C:N (maior labilidade) estavam associadas a fluxos positivos de nitrato (nitrificação), e altas razões C:N (baixa labilidade) foram associadas a fluxos negativos de nitrato (denitrificação). Provavelmente, as taxas mais rápidas de remineralização do nitrogênio ocorram em sedimentos com menor razão C:N e onde o carbono lábil é mais abundante que o carbono refratário.

5.1.4. Água intersticial

Os perfis verticais das concentrações de PO_4^{3-} e NH_4^+ na água intersticial indicam que está havendo atividades de mineralização da matéria orgânica na coluna sedimentar (Kristensen et al., 1999). Esta matéria orgânica é produzida por algas na zona eufótica da coluna d'água pela fotossíntese. A porção que atinge o sedimento é a principal força propulsora dos processos diagenéticos de reoxidação da MO (Schulz & Zabel, 2005). Entretanto, os perfis foram constantes, além das concentrações terem sido muito baixas. Isto sugere baixas taxas metabólicas ocorrendo na coluna sedimentar, como já verificado nos fluxos. Esses processos multilíneares são naturalmente complexos, principalmente quando as concentrações são baixas, pois em condições de baixo metabolismo não há dominância aparente de um ou outro processo (Glud, 2008).

No sedimento marinho e de água doce, o ferro é liberado para a água intersticial como solução pela redução bacteriana de óxidos de Ferro (Canfield, 1993). Nos pontos 1 e 2, em ambos os tipos de câmaras, as concentrações de Fe^{2+} foram mais altas que as de tH_2S . Esta observação reforça o que sugerem Canfield et al. (2003) de que baixas concentrações de sulfetos em sedimentos marinhos superficiais são resultado de rápidas reações destes com óxidos de ferro reativos. Portanto, quanto menor a concentração de sulfetos presente na água intersticial, maior a presença e importância de óxidos de ferro reativos nos processos de remineralização bêntica. Já o aumento de H_2S da segunda para a terceira camada no ponto 2 pode indicar degradação de matéria orgânica sendo dominada pela presença de bactérias redutoras de sulfato, sendo o H_2S um dos principais produtos (Canfield et al., 2005).

5.1.5. Macrofauna

Os animais que vivem nos sedimentos não dependem apenas dos recursos disponíveis dentro e acima do próprio sedimento, mas eles conseguem modificar a textura e a geoquímica daquele ambiente (Kristensen, 2000; Meysmann et al., 2006). Organismos alimentando-se desses recursos na superfície do sedimento (depositívoros de superfície) ou dentro do sedimento (depositívoros de sub-superfície) geram efeitos não só no carbono orgânico (consumindo-o) e em outros organismos (pela predação e pastoreio), mas também pela modificação da estrutura sedimentar, bio-irrigação e mistura de partículas (Aller & Aller, 1998; Herman et al., 1999; Meysmann et al., 2006).

A bioirrigação, considerada o maior intercâmbio entre a água intersticial e a coluna d'água adjacente, é o resultado da atividade de buracos, construídos pela macrofauna, que lavam e bombeiam o sedimento, oxigenando-o (Aller, 2001; Kristensen et al., 2012). Essa oxigenação gera inúmeras consequências, como o maior transporte de oxigênio, nutrientes e outros metabólitos para dentro do sedimento e maiores taxas de respiração aeróbica (Aecher & Devol, 1992). A bioirrigação pode estimular a nitrificação pelo suprimento de oxigênio e também pode estimular liberações de amônio e nitrato pela excreção (Aller, 2001). As espécies da macrofauna presentes nos sedimentos costeiros de Ubatuba podem estar influenciando as maiores taxas de nitrificação encontradas, pela presença de muitas espécies bioirrigadoras como poliquetas da família Maldanidae e Spionidae (Morad et al., 2010) e crustáceos, principalmente talassinídeos da família Upogebiidae, construtores de tubos em Y (Candisani et al., 2001), considerados um dos grupos de bioturbadores mais ativos em sedimentos costeiros e regiões estuarinas (Griffen et al., 1994). Os bivalves e ofiuróides também foram abundantes neste estudo e são considerados muito ativos como bioirrigadores (Riisgård & Larsen, 2005; Quintana et al., 2011).

5.2. Efeitos da acidificação nos processos biogeoquímicos de sedimentos costeiros - Experimentos In situ e em Laboratório

As projeções do aumento da concentração de CO₂ na superfície oceânica para o final do

século apontam um decréscimo significativo nas concentrações hidrogeniônicas em relação a níveis pré-industriais, o que representa uma diminuição de pH 8,2 para pH 7,7 (Feely et al., 2009), para o oceano aberto. Variações ainda maiores são esperadas para as áreas costeiras (Donney et al., 2009). O pH controla as reações ácido/base e influencia a maioria das reações de oxidação/redução. Portanto, as mudanças esperadas na acidez da água do mar certamente causarão alterações na química dos oceanos e nas atividades biológicas dependentes destes processos químicos (Sunda, 2010).

5.2.1. Efeitos da acidificação nos parâmetros ambientais

Diversos estudos apontam para o problema que envolve a redução das taxas de calcificação em função da diminuição das concentrações de CO_3^{2-} na água do mar (Gattuso et al., 1998; Kleypas et al., 1999; Langdon et al., 2000; Riebesell et al., 2000; Kleypas et al., 2006; Gazeau et al., 2007). No entanto, estudos mais recentes alertam para novas descobertas. A diminuição nas taxas de calcificação variam muito de espécie para espécie e, em alguns casos, pode ocorrer até mesmo o aumento nas taxas, por comportamentos de resiliência e adaptação (Wood et al., 2008; Dupont et al., 2012). Atualmente, os estudos em acidificação procuram verificar respostas mais espécie-específicas, ou seja, quais espécies estão sendo prejudicadas, porém quais espécies respondem melhor e qual efeito acarretará na comunidade, sendo que cada espécie pode responder de uma maneira diferente aos impactos da acidificação (Dupont et al., 2012; Widdicombe et al., 2011).

Em relação ao experimento *in situ*, cabe ressaltar que o método de adição de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e HCl para simulação da diminuição do pH mostrou-se eficiente, já que o valor de pH para o tratamento acidificado (pH 7,3) foi atingido e mantido durante as quatro horas de incubação. Esse método, discutido por Gattuso et al. (2007) já foi utilizado com sucesso em outros experimentos (Langdon et al., 2000; 2003), pois pela adição de ácido forte, este método faz com que se aumente as concentrações de tCO_2 sem alterar a alcalinidade total.

O método de borbulhamento de CO_2 utilizado no experimento de 10 dias também mostrou-se muito eficaz. Os valores de pH 7,3 e 8,1 foram mantidos durante todo o período, sem variações. O experimento apresentou condições de temperatura e salinidade praticamente constantes, demonstrando que as condições originais do ambiente foram

mantidas durante todo o período. Os parâmetros do sistema carbonato também mantiveram-se constantes, em proporções semelhantes às encontradas no experimento de acidificação *in situ*: as concentrações de CO_3^{2-} foram sempre mais baixas, enquanto que as concentrações de HCO_3^- foram sempre mais altas no tratamento acidificado. A pCO_2 manteve-se de 5 a 6 vezes mais alta no tratamento acidificado. O método de borbulhamento vêm sendo o mais utilizado nos trabalhos envolvendo acidificação, pois, segundo Gattuso et al. (2007), o borbulhamento é o método que mais se aproxima das alterações que estão ocorrendo na água do mar em função do aumento das concentrações de CO_2 (ver Kurihara & Shirayama, 2004; Widdicombe & Needham, 2007; Widdicombe et al., 2007, 2011, 2013; Wood et al., 2008; Fu et al., 2008; Dashfield et al., 2008; Findlay et al., 2011; Hale et al., 2011; Laverock et al., 2013).

5.2.2. Efeitos da acidificação nas concentrações de O_2 e tCO_2

O experimento de acidificação *in situ* foi muito importante em demonstrar que os processos biogeoquímicos podem responder a mudanças nas condições ambientais em um curto período de tempo. Nas primeiras duas horas de experimento foi possível observar diferenças na evolução das concentrações. Os fluxos de O_2 e liberação de tCO_2 foram maiores no tratamento acidificado do que no controle. Isto sugere que a diminuição do pH em função do aumento da concentração de tCO_2 seja responsável por possíveis mudanças nos processos que estão ocorrendo no sedimento e na coluna d'água.

É provável que a diminuição de pH possa causar mudanças no consumo de O_2 e liberação de CO_2 , ou seja, nos processos de remineralização do carbono orgânico em sedimentos costeiros. Um estudo *in situ* para detectar possíveis efeitos do aumento da pCO_2 na biota bêntica realizado na costa norueguesa em uma profundidade de 400 m (Ishida et al., 2013), também mostrou aumento no consumo de O_2 no tratamento com pCO_2 mais alto. Porém, esse aumento foi muito menos expressivo, passando de uma taxa de consumo de $3,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para $3,9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Neste estudo, a taxa de consumo foi $-70,2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no controle e $-108,4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ em pH 7,3.

Para se verificar os efeitos da acidificação nas taxas de mineralização do Carbono Orgânico, calculou-se as taxas de mineralização em $\text{mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, através do consumo médio de O_2 nos experimentos *in situ* e em laboratório. No experimento de acidificação *in situ*, a maior taxa foi encontrada em pH 7,3 ($92 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). O tratamento controle (pH 8,1) apresentou

uma taxa semelhante à encontrada nas incubações, sendo encontrado 60 mg C m⁻² d⁻¹). Portanto, houve um aumento de 50% na taxas de remineralização em condições mais ácidas. No experimento de acidificação em laboratório, as taxas em pH 7,3 também aumentaram (Tabela XVI). Esses resultados sugerem que a acidificação dos oceanos pode alterar indiretamente as taxas de remineralização do Carbono Orgânico em sedimentos costeiros pelo maior consumo de O₂ observado em maiores concentrações de tCO₂.

Tabela XVI. Taxas de remineralização do Carbono Orgânico (CO) calculados a partir do consumo médio de O₂, para o experimento de acidificação em laboratório realizado na base norte do IOUSP em Ubatuba.

Taxa de remineralização mg CO m ⁻² d ⁻¹ - Acidificação em laboratório				
	pH 7,3		pH 8,1	
	silte	areia	silte	areia
t1 24h	112	57	90	48
t2 48h	40	74	117	53
t3 5d	40	63	53	56
t4 9d	86	112	78	74

5.2.3. Efeitos da acidificação nas concentrações de nutrientes dissolvidos (NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻ e SiO₄)

No experimento *in situ* os fluxos foram todos positivos, mostrando o predomínio de processos de liberação de nutrientes para a coluna d'água. Apesar dos fluxos apresentarem valores semelhantes entre os tratamentos, a liberação de NH₄⁺ foi ligeiramente maior e a de NO₃⁻ foi ligeiramente menor. Em laboratório, os fluxos dos nutrientes dissolvidos apresentaram baixas variações durante o experimento, sem um padrão muito claro em relação aos tratamentos, com maiores valores no sedimento tipo silte. Com algumas exceções, houve liberação de compostos para a coluna d'água. Porém, apesar do alto consumo de O₂ observado, os fluxos apresentaram baixos valores, em ambos os tipos de sedimento.

No sedimento tipo silte do experimento em laboratório, os fluxos de nitrato e nitrito foram ligeiramente menores em pH 7,3 do que no pH original, em ambos os tipos de sedimento. Ou seja, houve uma tendência de diminuição dos processos de nitrificação em condições mais ácidas, porém os resultados não foram significativos.

Os efeitos da acidificação nos processos biogeoquímicos ainda são muito controversos, mas se acredita que a acidificação pode causar modificações nos ciclos biogeoquímicos do carbono e nitrogênio, principalmente pela diminuição da nitrificação, processo responsável pela intersecção desses dois ciclos no oceano (Huesemann et al., 2002). Experimentos com organismos bioturbadores também observaram uma diminuição nas taxas de nitrificação (Widdicombe & Needham, 2007, Widdicombe et al., 2009). Essa diminuição está relacionada à redução do processo de oxidação do amônio em nitrito em pH mais ácido (Huesemann et al., 2002). Experimentos conduzidos em mesocosmo observaram uma redução nas taxas de oxidação bêntica do amônio, havendo maior acúmulo deste composto em condições mais ácidas (Laverock et al., 2013). Experimentos com bactérias e arqueas oxidadoras de amônio envolvendo análises de qPCR e "functional gene microarray" (Bowen et al., 2013) detectaram diferenças na composição da comunidade bacteriana oxidadora de amônio, pelo aumento na abundância do clado *Nitrosomonas ureae*.

Os fluxos de fosfato e silicato foram semelhantes nos dois tipos de sedimento e não demonstraram um padrão claro entre os tratamentos. Os maiores fluxos foram observados no final do experimento. Portanto, os maiores valores parecem estar mais relacionados às condições naturais de maior degradação observadas ao final do experimento, do que a resposta frente ao pH mais ácido. Widdicombe et al. (2009) também não encontraram diferenças significativas nos fluxos de fosfato e silicato frente a alterações no pH da água do mar.

Além do que foi discutido anteriormente, a acidificação pode alterar a dinâmica do carbono e nitrogênio de outras maneiras. Estudos com cianobactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Trichodesmium* sp., responsáveis por uma grande fração da produtividade primária em regiões oligotróficas, indicaram que elevadas concentrações de CO₂ causaram aumento nas taxas de fixação do carbono e nitrogênio e nas razões C/N (Tortell et al., 2000; Hutchins et al., 2007; Riebesell et al., 2007; Fu et al., 2008), assim como o aumento da produção primária em oceano aberto (Hein & Sand-Jensen, 1997). Portanto, as diferentes respostas à acidificação tendem a acentuar o importante papel da comunidade microbiana na resiliência dos ecossistemas marinhos frente à acidificação.

5.2.4. Efeitos da acidificação nos parâmetros da coluna sedimentar e na água intersticial

No experimento *in situ*, os fitopigmentos (chl-a e feopigmentos) apresentaram menores valores em pH 7,3, principalmente na primeira camada. Essa diferença não foi estatisticamente significativa, porém pode ser um indício de que um ambiente com maiores concentrações de CO₂ venha a interferir na labilidade da matéria orgânica que atinge o sedimento. Um estudo em laboratório para detectar mudanças na composição de ácidos graxos de algas e consequentes alterações no crescimento de copépodes (Rossoll et al. 2012) mostraram que elevadas concentrações de CO₂ alteraram significativamente a composição e concentração de ácidos graxos, diminuindo suas concentrações e consequentemente, diminuindo o crescimento e produção de ovos dos copépodes.

Os nutrientes dissolvidos na água intersticial (NH₄⁺ e PO₄³⁻), assim como o Fe²⁺ e tH₂S não parecem ter sido influenciados pela mudança no pH. Os valores foram muito semelhantes entre os tratamentos, sem diferenças significativas entre eles. Este estudo parece ser o primeiro a contemplar os efeitos de maiores concentrações de CO₂ sobre a coluna sedimentar e a água intersticial. Porém, a ausência de respostas era esperada, pelo curto período de tempo do experimento.

No experimento em laboratório, os perfis verticais dos fitopigmentos e MOT também foram muito semelhantes entre os dois tratamentos. As únicas diferenças foram encontradas na superfície do sedimento. Essas diferenças parecem estar mais relacionadas aos tipos de sedimento utilizados no experimento do que em função das alterações no pH. Perfis verticais semelhantes também foram observados para COT, NT e razão C/N, com exceção da segunda camada no tipo areia que apresentou um pico de COT em pH 7,3, muito provavelmente pelo acúmulo de material orgânico.

Observou-se que, no sedimento tipo silte, as concentrações de PO₄³⁻ foram menores no perfil do tratamento acidificado, mas essas diferenças não foram significativas. Portanto, não se pode inferir que os menores valores encontrados sejam em função da diminuição de pH. Os perfis de Fe²⁺ e tH₂S também foram muito semelhantes entre os tratamentos, com algumas diferenças entre os dois tipos de sedimento, mas não significativas.

No geral, os perfis verticais dos compostos na água intersticial foram muito semelhantes. Isto sugere que a acidificação não parece alterar de forma significativa os processos que estão ocorrendo no sedimento, independente de diferenças granulométricas

dos sedimentos analisados. Acredita-se que esse experimento de 10 dias tenha sido muito curto e não tenha sido suficiente para detectar mudanças na coluna sedimentar e na água intersticial em resposta aos efeitos da acidificação. Uma combinação entre experimentos curtos (2 semanas) e longos (5 meses) para se detectar efeitos da acidificação na produção primária de biofilmes e no consumo por *grazing* verificou respostas muito diferentes em relação ao tempo (Russell et al., 2013). Portanto, para se detectar possíveis alterações na coluna sedimentar, seria necessário um maior tempo de exposição em pH mais ácido.

A porcentagem de CaCO_3 apresentou as maiores diferenças nos perfis em relação aos tratamento e aos tipos de sedimento. A porcentagem de CaCO_3 foi menor no tratamento acidificado, nos dois tipos de sedimento, indicando que o meio mais ácido pode ter sido responsável pela diminuição nas porcentagens de CaCO_3 . O mineral CaCO_3 é derivado das conchas e esqueleto de organismos marinhos, incluindo o plâncton, corais, algas coralinas, e muitos outros. No ambiente pelágico, o carbonato vai descendo pela coluna d'água, sendo ou dissolvido ou depositado nos sedimentos costeiros e no mar profundo (Berelson et al., 2007; Feely et al., 2004). As taxas de formação e dissolução do CaCO_3 variam de acordo com seu estado de saturação (Ω), definido pelo produto entre a concentração do íon cálcio e do íon carbonato segundo a fórmula: $\Omega = [\text{Ca}^{2+}] [\text{CO}_3^{2-}] / K_{sp}$. A formação ocorre quando Ω for maior que 1 e a dissolução ocorre quando Ω for menor que 1. Como as concentrações de carbonato diminuem em pH mais ácido, muito modelos já mostraram que a dissolução de CaCO_3 está cada mais acentuada e ocorrendo em profundidades cada vez menores (Sabine et al., 2002; Feely et al., 2004, 2008).

5.2.5. Efeitos da acidificação sobre a composição, densidade e descritores ecológicos da macrofauna bêntica

Sabe-se que mudanças na acidez da água do mar, assim como o aumento na temperatura, podem alterar a estrutura e diversidade das comunidades bênticas marinhas (Hale et al., 2011). Os efeitos mais comuns observados estão relacionados à vulnerabilidade de alguns grupos em relação aos outros, sendo os moluscos e equinodermes considerados os mais vulneráveis e artrópodes e anelídeos os menos. Porém, algumas espécies mostraram respostas diferentes, indicando que as respostas da comunidade não estão apenas relacionadas à ausência ou presença deste ou daquele grupo, mas também respostas espécie-

específicas quanto à tolerância e a interações ecológicas. Adicionalmente, alguns organismos também podem reagir positivamente à mudanças no pH e temperatura, por estarem ancoradas em um forte controle ecológico (Hale et al., 2011).

A densidade dos principais grupos da macrofauna não apresentou variações significativas em relação aos tratamentos. Os descritores ecológicos apresentaram diferenças entre os tratamentos, sendo que o número de espécies e a diversidade de espécies foram menores em pH 7,3, nos dois tipos de sedimento. Essa diminuição também foi observada nos estudos de Hale et al. (2011) e Widdicombe et al. (2009). Diversos organismos marinhos possuem mecanismos, como a redução do crescimento e metabolismo, os quais permitem uma compensação fisiológica para curtas (semanas ou meses) exposições a pHs mais ácidos, garantindo sua sobrevivência (Pörtner et al., 2004). No entanto, esses mecanismos de compensação demandam uma grande quantidade de energia, que poderia se tornar insustentável a longo prazo. Um experimento com ofiuróides mostrou que a espécie bioturbadora *Amphiura filiformis* reabsorveu sua própria musculatura para suprir mecanismos fisiológicos necessários para sobreviver a 40 dias de exposição à pH 7,6 (Wood et al., 2008). É provável que se o experimento em laboratório proposto por esse estudo fosse mais longo, ou seja, meses ou mais, diferentes respostas da macrofauna poderiam ser observadas.

O presente estudo forneceu resultados importantes e ainda desconhecidos sobre os processos biogeoquímicos em sedimentos costeiros da enseada das Palmas, Ubatuba (SP), assim como os efeitos da acidificação dos oceanos nesse ambiente, com experimentos *in situ* e em laboratório, indicou variações nos fluxos de oxigênio, gás carbônico e nutrientes, e ainda prováveis impactos na estrutura da comunidade bacteriana e na macrofauna bêntica.

6. Respostas às hipóteses formuladas

Para este estudo, foram testadas duas hipóteses, que serão respondidas a seguir.

1. A acidificação dos oceanos altera os fluxos de O_2 e CO_2 na interface sedimento-água pela presença de maiores concentrações de CO_2 na água do mar.

O presente estudo mostrou que a acidificação dos oceanos aumentou os fluxos de O_2 e, principalmente de tCO_2 , em tratamento acidificado (pH 7,3), tanto no experimento *in situ* como no experimento em laboratório. Existem pouquíssimos estudos com incubação por câmaras bênticas e todos encontraram maiores fluxos de oxigênio e gás carbônico.

2 A acidificação dos oceanos altera os fluxos de nutrientes dissolvidos (amônio, nitrato, nitrito, fosfato e silicato) na interface sedimento-água, em função de alterações químicas decorrentes da diminuição do pH.

O presente estudo mostrou que a acidificação dos oceanos pode alterar os fluxos de alguns nutrientes, especialmente o nitrato e nitrito, que foram menores no tratamento acidificado (pH 7,3), e de amônio com resultado oposto, porém esses resultados não foram significativos. O estudo mostrou uma tendência de algumas mudanças nas reações químicas relacionadas aos compostos nitrogenados na interface sedimento-água. Fluxos de fosfato e silicato não foram diferentes entre tratamentos.

7. Conclusões

1. Não houve mudanças nos parâmetros ambientais (i.e., água e sedimentos) medidos ao longo dos experimentos;
2. Os processos de degradação e reoxidação da matéria orgânica prevaleceram sobre os processos de produção autotrófica na região estudada;
3. O alto consumo de O_2 , a dominância da nitrificação e liberação de amônio indicam que os principais processos biogeoquímicos ocorrendo nos sedimentos costeiros de Ubatuba são: (1) remineralização aeróbica bêntica (2) Processos de nitrificação prevalecem sobre os processos de denitrificação e (3) provável excreção de organismos bênticos;
4. A abundância de espécies bioirrigadoras, como poliquetas das famílias Maldanidae e Spionidae e crustáceos, principalmente talassinídeos da família Upogebiidae, possuem papel importante na dinâmica dos processos biogeoquímicos em Ubatuba;
5. A acidificação marinha nos níveis medidos no presente estudo parecem alterar os processos de remineralização do carbono orgânico nos sedimentos costeiros de Ubatuba, representando um aumento de 10 a 50% nas taxas de remineralização do Carbono orgânico em resposta à acidificação.
6. Há uma tendência de diminuição da nitrificação em condições mais ácidas (pH 7,3) em sedimentos mais sílticos;
7. Na janela temporal observada no presente estudo (i.e., 4 horas) não há influência da acidificação na água intersticial;

8. Considerações Finais

O presente estudo é pioneiro na realização de experimentos de acidificação e incubação *in situ*, gerando resultados importantes e ainda desconhecidos, como fluxos de oxigênio, gás carbônico e nutrientes dissolvidos sendo gerados simultaneamente em períodos distintos do ano. Adicionalmente, foram realizadas análises da água intersticial, como os nutrientes amônio e fosfato, ferro dissolvido e sulfetos totais, as quais ainda não tinham sido realizadas na região. Foi possível, dessa forma, chegar a conclusões importantes sobre a dinâmica dos processos biogeoquímicos na interface sedimento-água na área costeira de Ubatuba. Além disso, trata-se de um dos primeiros experimentos envolvendo os efeitos da acidificação em sedimentos costeiros na costa brasileira, gerando resultados inéditos e importantes, que auxiliarão em melhores interpretações de como a acidificação afetará os fluxos biogeoquímicos na interface sedimento-água, os processos da coluna sedimentar e a estrutura da macrofauna bêntica. Considerando a importância dos sedimentos costeiros no ciclo do carbono orgânico, alguns aspectos necessitam ser ampliados para fortalecer o entendimento das interações entre os processos biogeoquímicos e biológicos na área costeira de Ubatuba. Dessa forma sugere-se para trabalhos futuros:

- Desenvolver o uso de eletrodos, acoplando-os à câmaras bênticas, para realização de medidas constantes de temperatura, pH, potencial redox, oxigênio, entre outros, facilitando o acesso à taxas diárias dos processos metabólicos sedimentares;
- Coleta de amostras da coluna d'água seriam importantes, como material orgânico particulado e dissolvido, fitopigmentos, lipídios, sedimento para comunidade microbiana pelágica e bêntica, entre outros;
- Neste estudo houve a coleta de sedimento para análise microbiana. Portanto, é necessário avaliar a densidade, biomassa e diversidade microbiana dos experimentos, utilizando técnicas independentes de cultura, como gel de gradiente de desnaturação do DNA (DGGE) de sequências amplificadas do 16rRNA ou 16S rDNA da água e do sedimento, tanto das incubações, quanto dos experimentos de acidificação, para investigar possíveis modificações na estrutura das comunidades microbianas. Estudo semelhante está sendo realizado pelo Laboratório de Dinâmica Bêntica do IOUSP;
- Integrar outros estressores aos experimentos de acidificação como a temperatura, para se avaliar em conjunto possíveis efeitos desses dois grandes problemas relacionados a

mudanças climáticas (i.e., acidificação e aumento da temperatura média do mar), e como esses dois fenômenos afetam os processos biogeoquímicos do sedimento;

- Tentar prolongar os experimentos o máximo possível. Efeitos da acidificação na macrofauna, por exemplo, levam meses para serem observados. Portanto, é importante que se otimize os experimentos para que se atinja períodos maiores, sendo maiores as chances de resultados surpreendentes;
- Nos experimentos *in situ* e em laboratório, maior utilização de traçadores do carbono orgânico, como isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, traçadores de processos como denitrificação e nitrificação, redução de manganês, ferro e sulfato;
- Análise da meiofauna, taxas de bioturbação e bioirrigação, entre outros.

9. Referências Bibliográficas

- Accornero, A., Picon, P., de Bovée, F., Charrière, B., Buscail, R. 2003. Organic matter budget at the sediment-water interface on the Gulf of Lions continental margin. *Continental Shelf Research* 23: 79-92.
- Adersen, E., Kristensen. 1988. The influence of macrofauna on estuarine benthic community metabolism: A microcosm study. *Marine Biology* 99: 591- 603.
- Aidar, E., Gaeta, S.A., Ganesella-Galvão, S., Kutner, M.B.B. & Teixeira, C. 1993. Ecossistema costeiro subtropical: nutrientes dissolvidos, fitoplâncton e clorofila a e suas relações com as condições oceanográficas na região de Ubatuba, SP. *Publ. Esp. Inst. Oceanogr.* 10:9-43.
- Aller, R.C. 2001. Transport and reactions in the bioirrigated zone. In: Boudreau BP, Jørgensen BB (eds) *The benthic boundary layer*. Oxford University Press, Oxford: 269–301
- Aller, R.C., Aller, J.Y., 1998. The effect of biogenic irrigation intensity and solute exchange on diagenetic reaction rates in marine sediments. *Journal of Marine*
- Aller, R.C., Benninger. L.K. 1981. Spatial and temporal patterns of dissolved ammonium, manganese, and silica fluxes from bottom sediments of Long Island Sound, USA. *Journal of Marine Research* 39(2): 295-313.
- Andersen, F.Ø., Kristensen, E. 1991. Effects of burrowing macrofauna on organic matter decomposition in coastal marine sediments. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 63: 69-88.
- Anderson, L.G., Hall, P.O.J., Iverfeldt, A.R., van der Loeff, M.M., Sundby, B., Westerlund, S.F.G., 1986. Benthic respiration measured by total carbonate production. *Limnology and Oceanography* 32: 319–329.
- Archer, D. and Devol, A. 1992. Benthic oxygen fluxes on the Washington Shelf and Slope – a comparison of *in situ* microelectrode and chamber flux measurements, *Limnology and Oceanography* 37: 614–629,1992.
- Baumgarten, M. G. Z.; Niencheski, L. F. H.; Martins, B.A. D. 2005. Saco do Justino (RS-Brasil): Amônio e fosfato na coluna d'água e na água intersticial de uma enseada não contaminada. *Atlântica*, Rio Grande, 27(2): 113-129.
- Baumgarten, M. G. Z.; Niencheski, L. F. H.; Veeck, L. 2001. Nutrientes na coluna d'água e na água intersticial de sedimentos de uma enseada rasa estuarina com aportes de origem antrópica (RS–Brasil). *Atlântica*, Rio Grande, 23: 101-116.
- Beerling, D. J., Berner, R. A. 2002. Biogeochemical constraints on the Triassic-Jurassic boundary

carbon cycle event. *Global Biogeochemical Cycles* 16: 1-13.

- Beman J.M., Chow, C.E., King, A.L., Feng, Y. and others. 2011. Global declines in oceanic nitrification rates as a consequence of ocean acidification. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:208–213.
- Berelson, W.M., J. McManus, K. Coale, K. Johnson, D. Burdige, T. Kilgore, D. Colodner, F. Chavez, R. Kudela, and J. Boucher. 2003. A time series of benthic flux measurements from Monterey Bay, CA. *Continental Shelf Research* 23: 457–481.
- Berelson, W.M., McManus, J., Coale, K.H., Johnson, K.S., Kilgore, T., Burdige, D., Pilskaln, C., 1996. Biogenic matter diagenesis on the sea floor: a comparison between two continental margin transects. *Journal of Marine Research* 54: 731–762.
- Berner, R.A. 1980. Early Diagenesis. A Theoretical Approach (Princeton series in geochemistry).
- Bijma, J., Honisch, B., and Zeebe, R. E. 2002. Impact of the ocean carbonate chemistry on living foraminiferal shell weight: comment on “Carbonate ion concentration in glacial-age deepwaters of the Caribbean Sea” by W. S. Broecker and E. Clark. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 3: 1064.doi:10.1029/2002GC000388.
- Bijma, J.; Spero, H.J., Lea, D.W. 1999. Reassessing foraminiferal stable isotope geochemistry: impact of the ocean carbonate system (experimental results). In: Fisher, G. & Wefer, G. (eds). *Use of Proxies in Paleoceanography: Examples from the South Atlantic*. Springer Verlag, pp. 489-512.
- Boudreau. 1997. Diagenetic models and their implementation: Modeling Transport and reactions in aquatic sediments. Springer- Verlag, Berlin.
- Bowen, J.B.; Kearns, P.J., Holcomb, M.; Ward, B.B. 2013. Acidification alters the composition of ammonia-oxidizing microbial assemblages in marine mesocosms. *Marine Ecology Progress Series* 492: 1-8.
- Bower, C.E., Holm-Hansen, T. 1980. A Salicylate-hypochlorite Method for Determining Ammonia in Seawater. *Can. J. Aquat. Sci.* 37: 794-798.
- Braga, E. S. Estudos dos nutrientes dissolvidos na águas da enseada das Palmas, Ilha Anchieta (Ubatuba, SP), com ênfase às formas nitrogenadas e contribuição por aportes terrestres e atmosféricos. Dissertação de Mestrado, Instituto oceanográfico, Universidade de São Paulo, 207p.
- Braga, E. S., Chiozzini, V., Berbel, G., Maluf, J., Aguiar, V., Charo, M., Molina, D., Romero, S., Eichler, B. 2008. Nutrient distributions over the Southwestern South Atlantic continental

- shelf from Mar del Plata (Argentina) to Itajaí (Brazil): Winter-summer aspects. *Continental Shelf Research* 28: 1649-1661. of N and P fluxes at the sediment-water interface: Application to the northwestern Adriatic coastal zone. *Journal of Marine Systems* 87: 239-255.
- Braga, E.S.; Müller, T.J. 1998. Observation of regeneration of nitrate, phosphate and silicate during upwelling of Ubatuba, Brazil, 23°S. *Continental Shelf Research* 18: 915-922.
- Brigolin, D., Lovato, T., Rubino, A., Pastres, R. 2011. Coupling early-diagenesis and pelagic biogeochemical models for estimating the seasonal variability =
- Burdige, D.J. 2006. *Geochemistry of marine sediments*. Princeton University Press, 609 p.
- Burdige, D.J., Homstead, J., 1994. Fluxes of dissolved organic carbon from Chesapeake Bay sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 16: 3407-3424.
- Cahoon, L.B., and Cooke, J.E. 1992. Benthic microalgal production in Onslow Bay, North Carolina, USA. *Marine Ecological Progress Series* 84: 185-196.
- Caldeira, K. & Wickett, M.E. 2005. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *Journal of Geophysical Research* 110: 1-12.
- Caldeira, K., Rampino, M. R. 1993. Aftermath of the end-Cretaceous mass extinction: Possible biogeochemical stabilization of the carbon cycle and climate. *Paleoceanography* 8 (4): 515-525.
- Caldeira, K., Wickett, M.E. 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425: 365.
- Candisani, L.C.; Sumida, P.Y.G., Pires-Vanin, A.M.S. 2001. Burrow morphology and mating behaviour in the thalassinid shrimp *Upogebia noronhensis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 81: 799-803.
- Canfield, D.E., Thamdrup, B., Hansen, W. 1993. The anaerobic degradation of organic matter in Danish coastal sediments: Iron reduction, manganese reduction, and sulfate reduction. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57: 3867-3883.
- Canfield, D.E.; Thamdrup, B. & Kristensen, E. 2005. *Aquatic Geomicrobiology*. In: *Advances in Marine Biology*, Elsevier Academic Press, 638 p.
- Carmouze, J.P. 1994. O metabolismo dos ecossistemas aquáticos. Fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas. São Paulo: Editora Edgard Blücher - FAPESP, 255p.

- Castro-Filho, B.M., Miranda, L.B., Miyao, S.Y., 1987. Condições hidrográficas na plataforma continental ao largo de Ubatuba: variações sazonais e em média escala. *Bolm. Inst. Oceanogr.* 35: 135-151.
- Castro, B.M., Miranda, L.B. 1998. Physical oceanography of the Western Atlantic Continental Shelf located between 44°N and 34°S. In: *The Sea* vol 11: 209-251.
- Chanton, J.P., Martens, C.S., Goldhaber, M.B., 1987. Biogeochemical cycling in an organic rich coastal marine basin. 7. sulfur mass balance, oxygen uptake and sulfide retention. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51: 1187–1199.
- Clarke, K.R., Warwick R.M. 1994. Change in marine communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, 144p.
- Cline, J.D. 1969. Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnology and Oceanography* 14:454–458.
- Cohen, A.L., McCorkle, D.C., de Putron, G.A., Gaetani, Rose, K.A. 2009. Morphological and compositional changes in the skeletons of new coral recruits reared in acidified seawater: Insights into the biomineralization response to ocean acidification. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 10: Q07005, doi:10.1029/2009GC002411.
- composition and nutrient utilization in an Equatorial Pacific phytoplankton assemblage. *Marine Ecology Progress Series* 236: 37–43.
- Cook, P., Wenzhöfer, F., Glud, R., Janssen, F., Huettel, M. 2007. Benthic solute exchange and carbon mineralization in two shallow subtidal sandy sediments: Effect of advective pore-water exchange. *Limnology and Oceanography* 52 (5): 1943-1963.
- Corbisier, T.N., Sousa, E.C.P.M., Eichler, B.B. 1997. Distribuição espacial do meiobentos e do microfitobentos na Enseada do Flamengo, Ubatuba, São Paulo. *Revista Brasileira de Biologia* 57:109-119.
- Dale, A.W., Prego, R. 2002. Physico-biogeochemical controls on benthic-pelagic coupling of nutrient fluxes and recycling in a coastal upwelling system. *Marine Ecology Progress and Series* 235: 15-18.
- Dashfield, S.L., Somerfield, P.J., Widdicombe, S., Austen, M.C., Nimmo, M. 2008. Impacts of ocean acidification and burrowing urchins on within-sediment pH profiles and subtidal nematode communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 365: 46–52.
- de Bovée, F., 1987. Biomasse et équivalents energetiques des Nématodes libres marins. *Cahiers de Biologie Marine* 28: 367–372.
- Dickson, A. G. 1993. The measurement of sea water pH. *Marine Chemistry* 44: 131-142.

- Dickson, A. G., 1990. Thermodynamics of the dissociation of boric acid in synthetic seawater from 273.15 to 318.15 K. *Deep-Sea Research* 37: 755–766.
- Dickson, A. G., Millero, F. J., 1987. A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep-Sea Research* 34: 1733–1743.
- Dickson, A. G., Sabine C. L. & Christian J. R. (Eds), 2007. Guide to best practices for ocean CO₂ measurements. *PICES Special Publication* 3:1-191.
- Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., Kleypas, J.A. 2009. Ocean acidification: The other CO₂ problem. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 1: 69-92.
- Dupont, S. et al. (2010): Seawater carbonate chemistry and biological processes during experiments with a Sea Star *Crassaster papposus*, 2010. doi:10.1594/PANGAEA.757990, Supplement to: Dupont, Sam; Lundve, Bengit; Thorndyke, Mike. 2010. Near Future Ocean Acidification Increases Growth Rate of the Lecithotrophic Larvae and Juveniles of the Sea Star *Crassaster papposus*. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution*, 314B(5): 382-389, doi:10.1002/jez.b.21342.
- Dupont, S., Moya, A., Bailly, X. 2012. Stable Photosymbiotic Relationship under CO₂-Induced Acidification in the Acoel Worm *Symsagittifera Roscoffensis*. *PLoS ONE* 7(1): e29568. doi:10.1371/journal.pone.0029568
- Eyre, B., Fergusson, A. 2005. Benthic metabolism and nitrogen cycling in a subtropical east Australian estuary (Brunswick): Temporal variability and controlling factors. *Limnology and Oceanography* 50 (1): 81-96.
- Feely, R. A., Fabry, V. J., Dickson, A. G., Gattuso, J.P., Bijma, J., Riebesell, U., Doney, S., Turley, C., Saino, T., Lee, K., Anthony, K., Kleypas, J. 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science* 305: 362-366.
- Feely, R.A., Sabine, C.L., Hernandez-Ayon, J.M., Ianson, D., Hales, B. 2008. Evidence for upwelling of corrosive "acidified" water onto the continental shelf. *Science* 320: 1490-92.
- Fenchel, T., Jørgensen, B.B. 1977. Detritus food chains of aquatic systems: the role of bacteria. In: Alexander M, editor. *Advances in Microbial Ecology* 1. New York: Plenum Press, p1-58.
- Fenchel, T.; King, G. M.; Blackburn, T. H. 1998. *Bacterial Biogeochemistry: The Ecophysiology of Mineral Cycling*; Academic Press: San Diego, CA.
- Fergusson, A. J.P., Eyre, B.D., Gay, J. 2003. Organic matter and benthic metabolism in euphotic sediments along shallow sub-tropical estuaries, northern NSW, Australia. *Aquatic Microbial Ecology* 33: 137–154.

- Ferrón, S.; Ortega, T.; Forja, J. M. 2009. Benthic fluxes in a tidal salt marsh creek affected by "sh farm activities: Río San Pedro (Bay of Cádiz, SW Spain). *Marine Chemistry* 113: 50–62.
- Findlay, H., Kendall, M.A., Spicer, J.I., Widdicombe, S. 2011. Relative influences of ocean acidification and temperature on intertidal barnacle post-larvae at the northern edge of their geographic distribution. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 86: 675–682.
- Folk, R.L., Ward, W.C. Brazos River bar: a study of the signifance of grain size parameters. *J. Sedim. Petrology* 27: 3-26. 1957.
- Forja, J. M., Ortega, T., Angel Del Valls, T., Gómez-Parra, A. 2004. Benthic fluxes of inorganic carbon in shallow coastal ecosystems of the Iberian Peninsula. *Marine Chemistry* 85: 141-156.
- Freitas, U., Niencheski, L. F. H., Zarzur, S., Manzolli, P., Vieira, J., Rosa, L. 2008. Influência de um cultivo de camarão sobre o metabolismo bêntico e a qualidade da água. *Rev. Bras. Eng. Agr. Amb.* 12 (3): 293-301.
- Froelich, P.N., Klinkhammer, G.P., Bender, M.L., Luedtke, N.A., Heath, G.R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B., Maynard, V., 1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43: 1075-1090.
- Fu, F.X., Mulholland, M. R., Garcia, N. S., Beck, A., Bernhardt, P. W., Warner, M. E., Sañudo-Wilhelmy, S. A., Hutchins, D. A. 2008. Interactions between changing pCO₂, N₂ fixation, and Fe limitation in the marine unicellular cyanobacterium *Crocosphaera*. *Limnology and Oceanography* 53(6): 2472–2484.
- Gaeta, S.A., Abe, D.S., Metzler, P.M., Teixeira, C. 1995. Photosynthetic parameters of coastal marine phytoplankton, from the Ubatuba region, Brazil. *Publ. Esp. Inst. Oceanogr.* 11: 163-169.
- Gaeta, S.A., Ribeiro, S.M.S., Metzler, P.M., Francos, M.S. & Abe, 1999. D.S. Environmental forcing on phytoplankton biomass and primary productivity of the coastal ecosystem in Ubatuba region, southern Brazil. *Revista Brasileira de Oceanografia* 47:11-27.
- Gattuso, J.P., Frankignoulle, M., Bourge, I., Romaine, S., Buddemeier, R.W. 1998. Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification. *Global and Planetary Change* 18 (1-2): 37-46.
- Gazeau, F., Quiblier, C., Jansen, J.M., Gattuso, J.P., Middelburg, J.J., Heip, C.H.R. 2007. Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification. *Geophys. Res. Leters* 34: L07603.
- Glud, R. 2008. Oxygen dynamics of marine sediments. 2008. *Marine Biology Research* 4: 243-289.

- Glud, R., Gundersen, J.K., Røy, H., Jørgensen, B.B. 2003. Seasonal dynamics of benthic O₂ uptake in a semi-enclosed bay: importance of diffusion and fauna activity. *Limnol. Oceanogr.* 48: 1265-1276.
- Goyet, C., Brewer, P. 1993. Biogeochemical properties of the oceanic carbon cycle. In: Willebrand, J. & Anderson, D.L.T. (Eds.). *Modeling Oceanic Carbon Interaction*. NATO ASI Series, Springer Verlag, vol. I: 271–297.
- Grasshoff, K., Erhardt, M., Kremling, K. 1999. *Methods of Seawater Analysis*. 2 nd ed. Verlag Chemie, Weinheim; 423p.
- Gray, J.S., Elliot. 2009. *Ecology of Marine Sediments: From Science to Management*. Second Edition, Oxford University Press, 225p.
- Griffen, B.D., DeWitt, T.H., Langdon, C. 2004. Particle removal rates by the mud shrimp *Upogebia pugettensis*, its burrow, and a commensal clam: effects on estuarine phytoplankton abundance. *Marine Ecology Progress Series* 269: 223–236.
- Haese, R.R., Wallmann, K., Dahmke, A., Kretzmann, U., Müller, P.J., Schulz, H.D. 1996. Iron species determination to investigate early diagenetic reactivity in marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61:63-72.
- Hammond, D.E., Cummins, K.M., McManus, J., Berelson, W. M., Smith, G., Spagnoli, F. 2004. Methods for measuring benthic nutrient flux on the California Margin: Comparing shipboard core incubations to in situ lander results. *Limnology and Oceanography Methods* 2: 146-159.
- Hansen, L.S., Blackburn, T.H. 1992. Effect of algal bloom deposition on respiration and mineralization fluxes. *Marine Biology* 112:147-152.
- Hargrave, B.T., 1973. Coupling carbon flow through some pelagic and benthic communities. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 30: 1317–1326.
- Hein M, Sand-Jensen K. 1997. CO₂ increases oceanic primary production. *Nature* 388:526
- Henriksen, K., Hansen, J.I., Blackburn, T.H., 1980. The influence of benthic infauna on exchange rates of inorganic nitrogen between sediment and water. *Ophelia* (Suppl. 1), 249– 256.
- Herbert RA. 1999 Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev.* 23: 563–590 (doi:10.1111/j.1574-6976.1999.tb00414.x).
- Herman, P. M. J., J. J. Middelburg, J. Van de Koppel & C. H. R. HEIP. 1999. The ecology of estuarine macrobenthos. *Adv. Ecol. Res.* 29: 195-240.
- Holmer, M.; Kristensen, E. 1992. Impact of marine fish cage farming on metabolism and sulfate reduction of underlying sediments. *Marine Ecology Progress and Series* 80: 191-201.

- Hopkinson, C.S. 1985. Shallow-water benthic and pelagic metabolism: evidence of heterotrophy in the near shore Georgia Bight. *Marine Biology* 87: 19–32.
- Hopkinson, C.S. 1987. Nutrient regeneration in shallow-water sediments of the estuarine plume region of the nearshore Georgia Bight, USA. *Mar. Biol.* 94: 127–142.
- Huesemann, M.H., Skillman, A.D., Crecelius, E.A. 2002. The inhibition of marine nitrification by ocean disposal of carbon dioxide. *Marine Pollution Bulletin* 44:142–148.
- Hutchins, D.A., Fe F-X, Zhang, Y, Warner, M.E., Feng, Y. et al. 2007. CO₂ control of *Trichodesmium* N₂ fixation, photosynthesis, growth rates, and elemental ratios: implications for past, present, and future ocean biogeochemistry. *Limnol. Oceanogr.* 52(4): 1293–1304.
- Hutchins, D.A., Mulholland, R., Fu, F. 2009. Nutrient cycles and marine microbes in a CO₂ enriched ocean. *Oceanography* 22 (4): 128-145.
- Iglesias-Rodriguez, M.D., Buitenhuis, E.T., Raven, J.A., Schofield, O., Poulton, A.J., Gibbs, S. Halloran, P.R., de Baar, H.J.W. 2008. Response to Comment on Phytoplankton Calcification in a High-CO₂ World. *Science Technical Comment* 322: 1466c.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Climate Change 2007: The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. 2007.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Climate Change 2013: The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. 2013.
- Ishida, H., Golmen, L.G., West, J., Krüger, M., Coombs, P., Berge, J.A., Fukuhara, T., Magi, M., Kita, J. 2013. Effects of CO₂ on benthic biota: An *in situ* benthic chamber experiment in Storfjorden (Norway). *Marine Pollution Bulletin* 73(2): 443-451.
- Jahnke, R.A. 2001. Constraining organic matter cycling with benthic fluxes. In: *The Benthic Boundary Layer*, B. Boudreau and B. B. Jørgensen (eds.), Oxford Univ. Press, 302–317.
- Jahnke, R.A. 2004. Transport processes and organic matter cycling in coastal sediments. In: *The Sea*, cap. 6, v.13: 163-192.
- Jahnke, R.A., Christiansen, M.B., 1989. A free-vehicle benthic chamber instrument for sea floor studies. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research* 36: 625–637.
- Jahnke, R.A., J. R. Nelson, R. L. Marinelli and J. E. Eckman, 2000. Benthic flux of biogenic elements on the Southeastern US continental shelf: influence of pore water advective transport and benthic microalgae, *Continental Shelf Research* 20: 109–127.

- Jahnke, R.A., Reimers, C.E., Craven, D.B., 1990. Intensification of recycling of organic matter at the sea floor near ocean margins. *Nature* 348: 50–54.
- Jickells, T.D., An, Z.S., Andersen, K.K., Baker, A.R., Bergametti, G., Brooks, N., Cao, J.J., Boyd, P.W., Duce, R.A., Hunter, K.A., Kawahata, H., Kubilay, N., la Roche, J., Liss, P.S., Mahowald, N., Prospero, J.M., Ridgwell, A.J., Tegen, I., Torres, R., 2005. Global Iron Connections between Desert Dust, Ocean Biogeochemistry, and Climate. *Science* 308: 67-71.
- Jokiel, K.S., Rodgers, I.B., Kuffner, A.J., Andersson, Cox, E.F., Mackenzie, F.T. 2008. Ocean acidification and calcifying reef organisms: a mesocosm investigation. *Coral Reefs* 27: 473–483.
- Jørgensen, B.B. 1977. The sulfur cycle of coastal marine sediment. *Limnology and Oceanography* 22: 814-832.
- Jørgensen, B.B., 1982. Mineralization of organic matter in the sea bed: The role of sulfate reduction. *Nature* 296, 643–645.
- Kleypas, J.A., Buddemeier, R.W., Archer, D., Gattuso, J.P., Langdon, C., Opdyke, B.N. 1999. Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs. *Science* 284:118–20
- Kleypas, J.A., Feely, R.A., Fabry, V.J., Langdon, C., Sabine, C.L., Robbins, L.L. 2006. *Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: a guide for future research*. Report of a workshop sponsored by NSF, NOAA and the U.S. Geological Survey. Saint Petersburg, Florida. 88 p.
- Kleypas, J.A., Feely, R.A., Fabry, V.J., Langdon, C., Sabine, C.L., Robbins, L.L. 2006. *Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: a guide for future research*. 88 pp. *Report of a workshop sponsored by NSF, NOAA, and the U.S. Geological Survey*. St. Petersburg, Florida.
- Kline, D.I. et al. 2012. A short-term *in situ* CO₂ enrichment experiment on Heron Island (GBR). *Scientific Report* 2, p413. DOI:10.1038/srep00413.
- Koroleff, K. 1983. Determination of phosphate. In: Grasshof, K.; Erhardt, M. & Kremling, K. (eds). *Methods of Seawater Analysis*. 2nd ed. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 174-183.
- Kristensen, E. 1993. Seasonal variations in benthic community metabolism and nitrogen dynamics in a shallow, organic poor Danish lagoon. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 36: 565-586.
- Kristensen, E. 2000. Organic matter diagenesis at the oxic/anoxic interface in coastal marine

sediments, with emphasis on the role of burrowing animals. *Hydrobiologia* 426: 1-24.

- Kristensen, E., Ahmed, S.I., Devol, A. 1995. Aerobic and anaerobic decomposition of organic matter in marine sediments: Which is fastest? *Limnology and Oceanography* 40 (8): 1430-1437.
- Kristensen, E., Andersen, F.Ø. (1987). Determination of organic carbon in marine sediments: Comparison of two CHN-analyzer methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 109:15-23.
- Kristensen, E., Devol, A. H., Hartnett, H. E. 1999. Organic matter diagenesis in sediments on the continental shelf and slope of the eastern tropical and temperate North Pacific. *Continental Shelf Research* 19: 1331-1351.
- Kristensen, E., Jensen, M.H., Jensen, K.M. 1997. Temporal variations in microbenthic metabolism and inorganic nitrogen fluxes in sandy and muddy sediments of a tidally dominated bay in the northern Wadden Sea. *Helgol. Meeresunters* 51: 295-320.
- Kristensen, E., Penha-Lopez, G., Delefosse, M., Valdemarsen, T., Quintana, C., Banta, G. 2012. What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. *Marine Ecology progress Series* 446:285-302.
- Kurihara H., Shiriayama, Y. 2004. Effects of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development. *Marine Ecology Progress Series* 274:161–169.
- Langdon, C., and Atkinson, M. J. 2005. Effect of elevated pCO₂ on photosynthesis and calcification of corals and interactions with seasonal change in temperature/irradiance and nutrient enrichment. *Journal of Geophysical Research Oceans* 110: C09S07. doi:10.1029/2004JC002576.
- Langdon, C., Broecker, W. S., Hammond, G.E., Glenn, E., Kevin Fitzsimmons, K., Nelson, S. G., Peng, T., Hajdas, I., Bonani, G. 2003. Effect of elevated CO₂ on the community metabolism of an experimental coral reef. *Global Biogeochemical Cycles* 17 (1): 1011, doi:10.1029/2002GB001941.
- Langdon, C., Takahashi, T., Sweeney, C., Chipman, D., Goddard, J., et al. 2000. Effect of calcium carbonate saturation state on the calcification rate of an experimental coral reef. *Global Biogeochemical Cycles* 14:639–54.
- Laverock, B., Kitidis, V., Tait, K., Gilbert, J. A., Osborn, A. M., Widdicombe, S. 2013. Bioturbation determines the response of benthic ammonia-oxidizing microorganisms to ocean acidification. *Phil Trans R Soc B* 368: 20120441. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0441>
- Lorenzen, C.J. 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12: 343-346. 1967.

- Mahiques, M.M., Tessler, M.G., Furtado, V.V. 1998. Characterization of energy gradient in enclosed Bays of Ubatuba region, South-eastern Brazil. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 47: 431-446.
- Marinelli, R.L., Jahnke, R.A., Craven, D.B., Nelson, J.R., Eckman, J.E., 1998. Sediment nutrient dynamics on the South Atlantic Bight continental shelf. *Limnology and Oceanography*. 43: 1305–1320.
- Marubini, F., Barnett, H., Langdon, C., and Atkinson, M. J. 2001. Dependence of calcification on light and carbonate ion concentration for the hermatypic coral *Porites compressa*. *Marine Ecology Progress Series* 220: 153–162.
- Marubini, F., Ferrier-Pages, C., and Cuif, J. P. 2003. Suppression of skeletal growth in scleractinian corals by decreasing ambient carbonate-ion concentration: a cross-family comparison. *Proceedings of the Royal Society of London series B* 270: 179–184.
- Mehrbach, C., Culberson, C.H., Hawley, J.E., Pytkowicz, R.N., 1973. Measurement of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnology and Oceanography* 18: 897–907.
- Meysman, F.J.R., Middelburg, J.J., Heip, C.H.R. 2006. Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 688–695
- Millero, F.J., Lee, K., Roche, M. 1998. Distribution of alkalinity in the surface waters of the major oceans, *Marine Chemistry* 60: 111 – 130.
- Morad, M.R., Khalil, A., Roskosch, A., Lewandowski, J. 2010. Quantification of pumping rate of *Chironomus plumosus* larvae in natural burrows. *Aquatic Ecology* 44: 143–153.
- Morel, F.M.M., Price, N.M., 2003. The Biogeochemical Cycles of Trace Metals in the Oceans. *Science* 300: 944-947.
- Murray, F., Widdicombe, S., McNeill, C.L., Solan, M. 2012. Consequences of a simulated rapid ocean acidification event for benthic ecosystem processes and functions. *Marine Pollution Bulletin*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.11.023>.
- Nicholson, G.J., Longmore, A.R., Berelson, W.M., 1999. Nutrient fluxes measured by two types of benthic chamber. *Mar. Fresh. Res.* 50: 567-572.
- Nixon, S.W., Kelley, J.R., Furnas, B.N., Oviatt, C.A., Hale, S.S. 1980. Phosphorus regeneration and the metabolism of coastal marine bottom communities. In: *Marine Benthic Dynamics*, University of South Carolina Press, Columbia, pp. 219–242.
- 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 the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437: 681–686.
- Passow, U. 2004. Switching perspectives: Do mineral fluxes determine particulate organic carbon fluxes or vice versa? *Geochem. Geophys. Geosyst.* 5: Q04002.
- Plante-Cuny, M.R. 1978. Pigments photosynthétiques et production primaire des fonds meubles néritiques d'une région tropicale (Nosy-Bé, Madagascar). *Trav. Doc. ORSTOM* 96: 1-359.
- Pörtner, H.O., Langenbuch, M., Reipschläger, A. 2004. Biological impact of elevated ocean CO₂ concentrations: lessons from animal physiology and earth history. *Journal of Oceanography* 60: 705–718.
- Quintana C.O., Yoshinaga M.Y., Sumida P.Y.G. 2010. Benthic responses to organic matter variation in a subtropical coastal area off SE Brazil. *Marine Ecology* 31: 457–472.
- Quintana, C.O., Hansen, T., Delefosse, M., Banta, G.T., Kristensen, E. 2011. Burrow ventilation and associated porewater irrigation by the polychaete *Marenzelleria viridis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 397: 179–187.
- Quintana, C.O., Moraes, P., Yoshinaga, M., Wakeham, S., Sumida, P. 2014. Microbial biomass response to different quantities and sources of organic matter in Brazilian coastal sediments. *Marine Ecology* doi: 10.1111/maec.12182.
- Rabouille, C., Denis, L., Dedieu, K., Stora, G., Lansard, B., Grenz, C., 2003. Oxygen demand in coastal marine sediments: comparing in situ microelectrodes and laboratory core incubations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 285/286: 49-69.
- Raven, J. et al. 2005. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide (The Royal Society, Policy Document, London, UK, 51p.
- Reimers, C. E., R. A. Jahnke and L. Thomsen. 2000. In situ sampling in the benthic boundary layer, In: The Benthic Boundary Layer, B. Boudreau and B. B. Jørgensen (eds), Oxford Univ. Press, 245–268.
- Reimers, C.E., Glud, R.N., 2000. In situ chemical sensor measurements at the sediment-water interface. In: Varney, M. (ed.), Chemical Sensors in Oceanography. Gordon and Breach Publishing, Amsterdam, pp. 249–282.
- Research* 56: 905-936.

- Riebesell, U. 2004. Effects of CO₂ enrichment on marine phytoplankton. *Journal of Oceanography* 60: 719-729.
- Riebesell, U., Zondervan, I., Rost, B., Tortell, P.D., Zeebe, R.F., Morel, F.M.M. 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature* 407: 364-367.
- Riisgård, H.U., Larsen, P.S. 2005. Water pumping and analysis of flow in burrowing zoobenthos: an overview. *Aquatic Ecology* 39: 237-258.
- Robbins, L.L., Hansen, M.E., Kleypas, J.A., Meylan, S.C. 2010. CO₂calc—A user-friendly seawater carbon calculator for Windows, Max OS X, and iOS (iPhone): U.S. Geological Survey Open-File Report 2010-1280, 17 p.
- Rodolfo-Metalpa, R., Ferrier-Pagés, C. 2009. Physiological responses of Mediterranean corals to temperature and pH perturbations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 153 (2): 168-180.
- Rodrigues Alves, B., Güth, A.Z., Bícigo, M., Gaeta, S., Sumida, P. Benthic community structure and organic matter variation in response to oceanographic events on the Brazilian SE inner shelf. 2014. *Continental Shelf Research* 85: 106-116.
- Rossoll, D., Bermúdez, R., Hauss, H., Schulz, Riebesell, U., Sommer, U., Winder, M. 2012. Ocean acidification-induced food quality deterioration constrains trophic transfer. *Plos One* 7(4): e34737. doi:10.1371/journal.pone.0034737
- Rowe, G.T., Clifford, C.H., Smith, K.L. Jr. 1977. Nutrient regeneration in sediments off Cap Blanc, Spanish Sahara. *Deep-Sea Research* 24: 57-63.
- Rowe, G.T., Clifford, C.H., Smith, K.L., Jr., Hamilton, P.L. 1975. Benthic nutrient regeneration and its coupling to primary productivity in coastal waters. *Nature* 255: 215-217.
- Russell, B.D., Connell, S.D., Findlay, H.S., Tait, K., Widdicombe, S., Mieszkowska, N. 2013. Ocean acidification and rising temperatures may increase biofilm primary productivity but decrease grazer consumption. *Phil. Trans. R. Soc. B* 368: 20120438. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0438>.
- Sabine, C. L., Feely, R. A., Gruber, N., Key, R. M., Lee, K., Bullister, J. L., et al. 2004. The oceanic sink for CO₂. *Science* 305: 367-371.
- Sassi, R., Kutner, M.B.B. 1982. Variação sazonal do fitoplâncton da região do Saco da Ribeira, Ubatuba, Brasil. *Bolm. Inst. Oceanogr.* 31: 29-42.
- Schulz, H.D., Zabel M., 2006. Marine Geochemistry. Springer Verlag, Heidelberg, NY, 2.Ed., p241.

- Sciandra, A., Harlay, J., Lefevre, D., Lemee, R., Rimmelin, P., Denis, M., Gattuso, J.P. 2003. Response of coccolithophorid *Emiliania huxleyi* to elevated partial pressure of CO₂ under nitrogen limitation. *Marine Ecology Progress and Series* 261: 111–122.
- Shi, D., et al. 2010. Effect of ocean acidification on Iron availability to marine phytoplankton. *Science* 327: 676.
- Shirayama, Y., Thorton, H. 2005. Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *Journal of Geophysical Research* 110: C09S08.
- Silvert, S.M., Kiene, R.P., Schulz-Vogt, H.N. 2007. The sulfur cycle, *Oceanography* 20:117-123.
- Skoog, A.; Hall, P.O.J.; Hulth, S.; Paxéus, N.; van der Loeff, M.R.; Westerlund, S. 1996. Early diagenetic production and sediment-water exchange of fluorescent dissolved organic matter in the coastal environment. *Geoch. et Cosmoch. Acta* 60 (19): 3619-3629.
- Smith Jr., K.L., 1974. Oxygen demands of San Diego Trough sediments: an *in situ* study. *Limnology and Oceanography* 19: 939–944.
- Smith Jr., K.L., 1978. Benthic community respiration in the NW Atlantic Ocean: *in situ* measurements from 40 to 5200 m. *Marine Biology* 47: 337–347.
- Smith, C.R. & Rabouille, C. 2002. What controls the mixed-layer depth in deep-sea sediments? The importance of POC flux. *Limnology and Oceanography* 47: 418-426.
- Soli, A. L., Byrne R. H., 2002. CO₂ system hydration and dehydration kinetics and the equilibrium CO₂/H₂CO₃ ratio in aqueous NaCl solution. *Marine Chemistry* 78:68–73.
- Solomon, S., Qin D., Manning, M., Alley, R.B., Berntsen, T., Bindoff, N.L., Chen, Z., Chidthaisong, A., Gregory, J.M., Hegerl, G.C., Heimann, M., Hewitson, B., Hoskins, B.J., Joos, F., Jouzel, J., Kattsov, V., Lohmann, U., Matsuno, T., Molina, M., Nicholls, N., Overpeck, J., Raga, G., Ramaswamy, V., Ren J., Rusticucci, M., Somerville, R., Stocker, T.F., Whetton, P., Wood, R.A., Wratt D. 2007. Technical Summary. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Spilmont, N., Migne, A., Lefebvre, A., Artigas, L.F., Rauch, M., Davoult, D. 2005. Temporal variability of intertidal benthic metabolism underemersed conditions in an exposed sandy beach (Wimereux, eastern English Channel, France. *Journal of Sea Research* 53: 161– 167.

- Ståhl, H., Hall, P.O.J., Tengberg, A., Josefson, A.B., Streftaris, N., Zenetos, A., Karageorgis, A.P. 2004b. Respiration and sequestering of organic carbon in shelf sediments of the oligotrophic northern Aegean Sea. *Marine Ecology Progress Series* 269: 33–48.
- Ståhl, H., Tengberg, A., Brunnegård, J., Bjørnbom, E., Forbes, T. L., Josefson, A. B., Kaberi, H. G., Karle Hassellöv, I. M., Olsgard, F., Roos, P., Hall, P. 2004a. Factors influencing organic carbon recycling and burial in Skagerrak sediments. *Journal of Marine Research* 62: 867-907.
- Stookey, L.L. 1970. Ferrozine - a New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Analytical Chemistry* 42:779-781.
- Suguio, K. 1973. Introdução à sedimentologia. Edgard Blücher, São Paulo. 317 p.
- Sumida, P.Y., Yoshinaga, M., Ciotti, A., Gaeta, S. 2005. Benthic response to upwelling events of the SE Brazilian coast. *Marine Ecology Progress Series* 291: 35-42.
- Sun, M., Aller, R.C., Lee, C. 1991. Early diagenesis of chlorophyll-a in Long Island Sound sediments: A measure of carbon flux and particle reworking. *Journal of Marine Research* 49: 379-401
- Sunda, W. 2010. Iron and the carbon pump. *Science* 327: 654-655.
- Teixeira, C. 1973. Introdução aos métodos para medir a produção primária do fitoplâncton marinho. *Bolm. Inst. Oceanogr., São Paulo* 22: 59-92.
- Teixeira, C., Tundisi, J. G. 1981. The effects of nitrogen and phosphorus enrichments on phytoplankton in the region of Ubatuba (Lat. 23°30'S-Long. 45°06'W), Brazil. *Bolm. Inst. Oceanogr. S Paulo*, 30(1): 77-86.
- Tengberg, A., de Bovee, Hall, P., Berelson, W., Chadwick, D., Ciceri, G., Crassous, P., Devol, A., Emerson, S., Gage, J., Glud, R., Graziottini, F., Gundersen, J., Hammond, D., Helder, W., Hinga, K., Holby, O., Jahnke, R., Khripounoff, A., Liebermann, S., Nuppenau, V., Pfannkuche, O., Reimers, C., Rowe, G., Sahami, A., Sayles, F., Schurter, M., Smallman, D., Wehrli, B., de Wilde, P., 1995. Benthic chamber and profiling landers in oceanography: A review of design, technical solutions and functioning. *Progress in Oceanography* 35: 253-294.
- Tengberg, A., Stahl, H., Gust, G., Muller, V., Arning, U., Andersson, H., Hall, P.O.J., 2004. Intercalibration of benthic flux chambers I. Accuracy of flux measurements and influence of chamber hydrodynamics. *Progress in Oceanography* 60 (1): 1-28.
- Thamdrup, B., Fleisher, S. 1998. Temperature dependence of oxygen respiration, nitrogen mineralization, and nitrification in Arctic sediments. *Aquatic Microbial Ecology* 15: 191-1999.
- Thorbergsdóttir, I. M.; Gíslason, S. R.; Ingvason, H. r.; Einarsson, A. 2004. Benthic oxygen flux in

- the highly productive subarctic Lake Myvatn, Iceland: *In situ* benthic flux chamber study. *Aquatic Ecology* 38: 177–189.
- Thouzeau, G., Grall, J., Clavier, J., Chauvaud, I., Jean, F., Leynaert, A., Longphuir, S., Amice, E., Amouroux, D. 2007. Spatial and temporal variability of benthic biogeochemical fluxes associated with macrophytic and macrofaunal distributions in the Thau lagoon (France). *Estuarine Coastal and Shelf Science* 72: 432–446.
- Treguer, P., Le Corre, P. 1975. *Manuel d'analyses des sels nutritifs dans l'eau de mer*. 2^a éd. Brest. Université de Bretagne Occidentale, 110p.
- Tuominen, L., Mäkelä, K., Lehtonen, K.K., Haati, H., Hietanen, S., Kuparinen, J. 1999. Nutrient fluxes, porewater profiles and denitrification in sediment influenced by algal sedimentation and bioturbation by *Monoporeia affinis*. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 49: 83–97.
- Wanninkhof, R. 1992. Relationship between wind-speed and gasexchange over the ocean. *Journal of Geophysical Research* 97: 7373–7382.
- Widdicombe, S., Beesley, A., Berge, J.A., Dashfield, S.L., McNeill, C.L., Needham, H.R., S. Øxnevad, S. 2013. Impact of elevated levels of CO₂ on animal mediated ecosystem function: The modification of sediment nutrient fluxes by burrowing urchins. *Marine Pollution Bulletin* 73: 416–427.
- Widdicombe, S., Needham, H.R. 2007. Impact of CO₂-induced sea water acidification on the burrowing activity of *Nereis virens* and sediment nutrient flux. *Marine Ecology Progress Series* 341: 111–122.
- Widdicombe, S., Spicer, J.I., Kitidis, V., 2011. Effects of ocean acidification on sediment fauna. In: Gattuso, J.P., Hansson, L. (Eds.), *Ocean Acidification*. Oxford, University Press, pp. 176–191 (Chapter 9).
- Wood, E.D. Armstrong, F.A. J., Richards, F.A. 1967. Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 47: 23–31.
- Wu, Y., Gao, K., Riebesell, U. 2010. CO₂-induced seawater acidification affects physiological performance of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Biogeosciences* 7:2915–2923.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4th edition. Prentice-Hall, Inc. Upper saddle River, New Jersey. 663p.
- Zeebe, R., Zachos, J.C., Caldeira, K., Turrell, T. 2008. Carbon emissions and acidification. *Science* 321: 51–52.