

Amanda Rodrigues Chiamonte

Efeitos da temperatura em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos em diferentes populações da costa brasileira

Effects of temperature on *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): physiology studies in different populations that occur on the Brazilian coastline

São Paulo

2022

Amanda Rodrigues Chiaramonte

Efeitos da temperatura em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos em diferentes populações da costa brasileira

Effects of temperature on *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): physiology studies in different populations that occur on the Brazilian coastline

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

Orientador(a): Profa. Dra. Estela Maria Plastino

Dissertation presented to the Institute of Biosciences of the University of São Paulo to obtain MSc degree in Botany

Supervisor: Prof. Dra. Estela Maria Plastino

São Paulo

2022

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

Efeitos da temperatura em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos em diferentes populações da costa brasileira / Amanda Rodrigues Chiaramonte – São Paulo: A.R.C, 2022, 77pp.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Botânica.

1 – *Gracilaria caudata*; 2 – Alga vermelha; 3 – Ecótipo; 4 – Temperatura; 5 – Diversidade intraespecífica; 6 – Mudanças climáticas;

I - Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Orientador(a)

It's raining and the sky is clear
The dark clouds turn white
The hidden sun brightens
The sunset glow is more red

It's been a hard time
Whether the painful wound hurts
I can't feel the pain anymore
How many times have you cried?

After a sigh
I have shed tears
Hold on, hold on, hold on, you have to get up
Even if you fall on your knees, you just have to get up again

After pain comes joy
Happiness comes after joy
After happiness, love comes
Don't frown, everything will come

- **Monsta X**, Stand Up

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, primeiramente, à minha orientadora, Estela Maria Plastino, por acreditar no meu potencial e me incentivar e inspirar a entrar neste maravilhoso mundo que é o estudo de algas marinhas. Agradeço a paciência de sempre, confiança e carinho. Foi uma honra escutar seus ensinamentos, tanto como orientadora como professora nas aulas da graduação e mestrado.

Agradeço aos meus colegas de LAM:

Profs. Mariana, Fungyi, Valeria e Flávio por serem excepcionais em seu trabalho, e servirem de inspiração para tantos alunos, como serviram para mim.

Rosário e Vivian, sem eles nada disso seria possível. Obrigada por todo suporte!

André, pela paciência e conhecimento, sempre se mostrou solícito e presente a me ensinar e apoiar nos momentos de desespero.

Fabiana, pela paciência, solicitude, conhecimento e parceria.

Lígia e Fábio, que apesar de figuras distantes, me inspiraram muito através de suas lindas e extensas pesquisas;

Nuno, Michele, Inara e Mayara, pela sabedoria e pelas risadas, que me deram tanta força para continuar.

Vitinho, meu querido, pelo companheirismo, carinho, amizade, parceria e momentos de desabafos. Sua alegria e força me motivaram a continuar.

Agradeço imensamente à minha família:

Meus pais, Eunice e Bruno, que sempre me permitiram a sonhar a seguir forte e firme o meu caminho, sempre me incentivaram a estudar, a ser alguém curiosa e determinada.

Minha irmã Aline, pelo incentivo a sempre estudar, pelas mentorias e pela pessoa inteligente e inspiradora que ela é.

Minha tia Paula, que sempre foi pilar fundamental na minha educação.

Meus avós Bianca e Remo (in memoriam), pela sabedoria, ensinamentos, e por serem exemplos na minha vida.

Minha querida avó Eunice (in memoriam), por ter sido uma segunda mãe para mim e por ter me ensinado o valor da vida. Sinto sua falta.

Aos meus amigos queridos,

Letícia, Haru, Camilla e Letícia pela tremenda força em todos os meus piores e melhores momentos, por serem essas pessoas maravilhosas e parceiras de sempre.

Vanessa, Paloma e Thamires, por estarem presentes na minha vida desde sempre, e por não terem desistido de mim em minhas mais diversas fases.

Stephanie, Matheus e Rodrigo, por serem meus parceiros durante a graduação, cujas dificuldades nos colocou juntos, e o Beco nos uniu.

Ao meu querido Nathan,

Por toda parceria, amor e carinho. Obrigada por sempre se dispor a me ajudar, pelo incentivo a continuar forte, pelas palavras e principalmente, pela paciência. Sem você, eu não teria conseguido terminar este trabalho.

Sumário

Resumo	7
Abstract	8
1) Introdução geral	9
1.1) Mudanças climáticas	9
1.2) Macroalgas	11
1.3) Diversidade intraespecífica	12
1.4) O gênero <i>Gracilaria</i> : contextualização e importância	14
1.5) <i>Gracilaria caudata</i> : contextualização e importância	16
2) Hipóteses	19
3) Objetivos	20
4) Materiais e métodos	21
4.1) Material biológico	21
4.2) Condições gerais de cultivo	22
4.3) Desenho experimental	23
4.4) Aspectos morfológicos	25
4.5) Taxas de crescimento	26
4.6) Fluorescência <i>in vivo</i> da clorofila <i>a</i>	26
4.7) Quantificação de ficobiliproteínas, clorofila <i>a</i> e carotenóides	27
4.8) Análise estatística	28
4.9) Temperaturas da superfície do mar	28
5) Resultados	30
5.1) Taxa de crescimento	30
5.2) Fluorescência <i>in vivo</i> da clorofila <i>a</i>	39
5.3) Quantificação de ficobiliproteínas, clorofila <i>a</i> e carotenóides	47
6) Discussão	52
6.1) Limites térmicos	53
6.2) Aspectos morfológicos	55
6.3) Taxas de Crescimento	55
6.4) Fluorescência <i>in vivo</i> da clorofila <i>a</i>	56
6.5) Composição pigmentar	58
6.6) Possíveis impactos do aumento de temperatura no planeta Terra em populações de <i>G. caudata</i> que ocorrem na costa do Brasil	60
7) Considerações finais	64
8) Referência bibliográfica	66

Resumo

Efeitos da temperatura em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos em diferentes populações da costa brasileira

Nas últimas décadas, o aumento da temperatura global vem se mostrando impactante em ambientes terrestres e aquáticos. Até o momento, aponta-se que houve pelo menos aumento de 1°C na média da temperatura da superfície global, e que em até 2.100, este número pode aumentar entre 3,7°C a 4,8°C, se não houver esforços para mitigação. Os limites térmicos de uma espécie são determinados por sua genética, ou seja, por sua capacidade de adaptação e aclimatação. Variações genotípicas relacionadas à adaptação, em resposta a situações ambientais distintas, podem resultar em populações com “pools genéticos” bastante diversos. Populações que apresentam essa diversidade são chamadas de ecótipos. *Gracilaria caudata* é uma espécie de alga vermelha que ocorre nos mares da América Central e do Sul, presente em quase toda costa brasileira, e, portanto, sujeita à grande diversidade climática. Deste modo, levantam-se questões relacionadas aos limites fisiológicos de *G. caudata* quanto a diferentes temperaturas e à ocorrência de ecótipos. Neste trabalho, gametófitos femininos de quatro populações de *G. caudata*, duas do Nordeste (Estado do Ceará, CE; e Estado da Bahia, BA), uma do Sudeste (Estado do Espírito Santo, ES) e uma do Sul (Estado de Santa Catarina, SC) do Brasil, foram expostos a nove tratamentos de temperatura (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33 e 35 °C) por um período de 28 dias em condições controladas de laboratório. As variáveis analisadas foram taxa de crescimento (TC), comprimento do talo, número de ramificações, fluorescência *in vivo* da clorofila *a* e composição pigmentar (apenas para CE e ES). As populações analisadas mostraram respostas morfológicas e fisiológicas distintas nas diferentes temperaturas, com exceção de 35 °C, considerada letal para todas. As maiores diferenças com relação às taxas de crescimento, comprimento do talo e rendimento quântico máximo foram verificadas entre as populações dos estados do CE e de SC na maioria dos tratamentos de temperatura. Dos 23 aos 30°C, a população do CE mostrou maior desempenho fisiológico; já aos 18 e 20°C, isto ocorreu para a população de SC. Indivíduos da BA e ES apresentaram resultados intermediários relativos aos parâmetros analisados, similares aos das populações do estado do CE ou de SC. Os indivíduos da população da BA foram os que apresentaram capacidade de sobrevivência em maior amplitude térmica (15 a 33°C), seguidos dos indivíduos da população do estado do CE (18 a 33°C), do ES (15 a 30°C), e de SC (18 a 30°C). Esses dados, acrescidos das diferenças quantitativas observadas quanto aos valores obtidos para os parâmetros fisiológicos e morfológicos analisados, permitem afirmar que se trata de populações ecotípicas. Ressalta-se o desempenho fisiológico dos indivíduos procedentes do CE, que se mostraram mais promissores para futuros cultivos comerciais (TC: 23°C, ±10,85%; 25°C, ±11,23%; 28°C, ±11,83%; e 30°C, ±11,60%). Além disso, a população do estado do CE parece mais propensa a resistir a possíveis aumentos de temperatura, uma vez que a 33°C, apesar de suas taxas de crescimento terem sido inferiores (±5,98%) às observadas na faixa de 23 a 30°C, foram superiores às verificadas para indivíduos do estado da BA (±3,82%) que foi a única outra população que teve sobreviventes a este tratamento de temperatura.

Palavras-chave: *Gracilaria caudata*; Alga vermelha; Ecótipo; Temperatura; Diversidade intraespecífica; Mudanças climáticas.

Abstract

Effects of temperature on *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): physiology studies in different populations that occur on the Brazilian coastline

In recent decades, the increase in global temperature has been proving to have an impact on terrestrial and aquatic environments. Thus far, it has been shown that there was an increase of at least 1°C in the average temperature of the global surface, and that by 2,100, this number can increase from 3.7°C to 4.8°C, if no mitigating measures are implemented. The thermal limits of a species are determined by its genetics, that is, by its adaptability and acclimation capacity. Genotypic variations related to adaptation, as a response to distinct environmental situations, can result in populations with quite diverse “genetic pools”. Populations that exhibit this diversity are called ecotypes. *Gracilaria caudata* is a species of red algae that occurs in the seas of Central and South America, being present on almost the entire Brazilian coast, and therefore subject to great climatic diversity. Thus, questions are raised related to the physiological limits of *G. caudata* regarding different temperatures and the occurrence of ecotypes. In this work, female gametophytes of four populations of *G. caudata*, two from the Northeast (Ceará State, CE; and Bahia State, BA), one from the Southeast (Espírito Santo State, ES) and one from the South (Santa Catarina State, SC) of Brazil, were exposed to nine temperature treatments (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33 and 35 °C) for a period of 28 days under controlled laboratory conditions. The variables analyzed were growth rate (GR), thalli length, number of branches, *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence and pigment composition (only for CE and ES). The analyzed populations have showed distinct morphological and physiological responses in the different temperatures, with the exception of 35°C, considered lethal for all of them. The greatest differences regarding growth rates, thalli length and maximum quantum yield were found between populations from CE and SC states in most temperature treatments. From 23 to 30°C, the CE population showed greater physiological performance; in contrast, from 18 to 20°C, the same occurred for the population from SC. Individuals of the populations from BA and ES presented intermediate results in relation to the parameters analyzed, similar to populations from the state of CE or SC. Individuals of the population from BA were the ones that showed the ability to survive in the greatest temperature range (15 to 33°C), followed by individuals of the population from the State of CE (18 to 33°C), from ES (15 to 30°C), and from SC (18 to 30°C). These data, added to the quantitative differences observed in the values obtained for the analyzed physiological and morphological parameters, allow us to state that these are ecotypic populations. It should be noted the physiological performance of the individuals originating from CE, that showed to be more promising for future commercial farming (GR: 23°C, ±10.85%; 25°C, ±11.23%; 28°C, ±11.83%; e 30°C, ±11.60%). In addition, the population from the state of CE seems more inclined to resist the possible increases in temperature, once at 33°C, although the growth rate was inferior (±5.98%) to the one observed between 23 and 30°C, it was superior to the rate verified for individuals from the state of BA (±3.82%) which was the only other population that had survivors to this temperature treatment.

Keywords: *Gracilaria caudata*; Red alga; Ecotype; Temperature; Intraspecific diversity; climate change.

1) Introdução geral

1.1) Mudanças climáticas

As mudanças climáticas vêm sendo um tópico de crescente interesse da comunidade científica a partir das décadas de 80 e 90, quando se começou a compreender e a se observar com maior frequência a ocorrência de fenômenos naturais, como tsunamis, ondas de calor e furacões, decorrentes de mudanças ambientais ocorridas ao longo do tempo. Desde então, centenas de milhares de artigos foram publicados sobre o assunto, abarcando o tema tanto de forma conceitual quanto investigativa (CALLAGHAN *et al.* 2020; EINECKER & KIRBY, 2020). Ações antrópicas nos ecossistemas são consideradas como os principais fatores propulsores das mudanças climáticas globais. Como exemplos dessas ações, têm-se: a constante emissão de poluentes na atmosfera e nos oceanos, que influencia diretamente na promoção do efeito estufa, e consequente aumento da temperatura global; o consumo de bens naturais de forma irresponsável, podendo levar a extinções locais; e, a promoção de extinções por causa humana, favorecendo o aparecimento de espécies invasoras, que podem modificar a estrutura de comunidades inteiras (HALPERN *et al.*, 2008; POLOCZANSKA *et al.*, 2013; TURRA *et al.*, 2013; GARCÍA *et al.*, 2018; IPCC, 2018; UN ENVIRONMENT, 2019).

Alterações climáticas ocorrem com relação aos: i) fatores abióticos, levando a variações na temperatura global e local, aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico, mudança no padrão de chuvas, maior ou menor irradiância, variações de pH (acidificação ou basificação) (HOEGH-GULDBERG & BRUNO, 2010; HARLEY *et al.*, 2012); e, ii) fatores bióticos, como as interações ecológicas. Essas mudanças podem afetar a distribuição e abundância dos organismos, proporcionando migrações, e alterar as estruturas das cadeias tróficas. Além disso, afeta também as características próprias dos organismos como sua morfologia, fisiologia e fenologia (VERGÉS, 2014).

No que se refere a publicações acerca do tema das mudanças climáticas, HARLEY (2006) e CAHILL (2014) indicam que, na maioria dos casos, o principal fator abiótico estudado é a temperatura. Essa desempenha papel crucial no funcionamento dos seres vivos, regula processos internos dos organismos, como o transporte entre membranas, ação de enzimas e proteínas, desempenho metabólico, crescimento e reprodução, e composição química e molecular (RAVEN & GEIRER, 1988; HOEGH-GULDBERG &

BRUNO, 2010; HOFMANN & TODGHAM, 2010; KORDAS *et al.*, 2014). Ademais, a temperatura determina a distribuição espacial dos organismos nas comunidades, uma vez que estes apresentam faixas de tolerância a certas temperaturas e temperaturas ótimas de sobrevivência.

Quando submetidos a temperaturas próximas ou além do seu limite, organismos podem ir lentamente diminuindo em abundância, e há severos desequilíbrios na estrutura das comunidades (HARLEY *et al.*, 2006; HOFMANN & TODGHAM, 2010; HARLEY *et al.*, 2012; GARCÍA *et al.*, 2018). Até o momento, aponta-se que houve pelo menos aumento de 1°C na média da temperatura global, e que em até 2100 ela pode aumentar em 4°C (UM ENVIRONMENT, 2019), causando impacto tanto nos ecossistemas terrestres quanto marinhos (HARLEY *et al.*, 2012) (Fig.1).

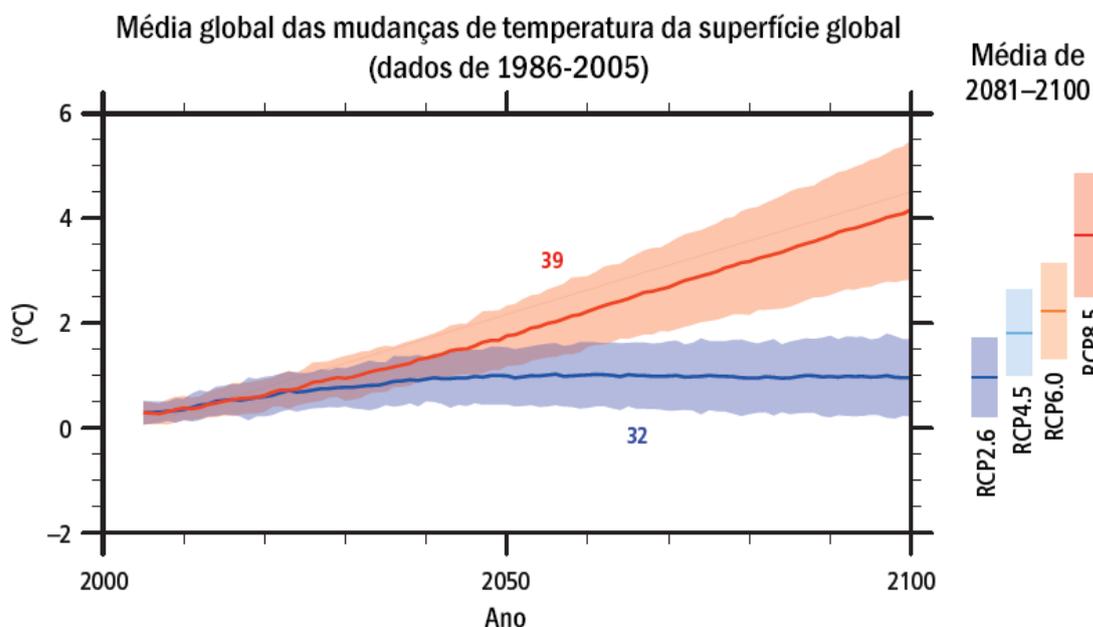


Figura 1 – Dados históricos e projeção da média global das mudanças de temperatura da superfície global (dados de 1986-2005). Estimativa do aumento de temperatura na superfície do globo ao longo do tempo baseada em quatro diferentes cenários de mitigação de emissão de gases poluentes dos anos 2006 a 2100, em que RCP 2.6 (Representative Concentration Pathway) (azul) representa o melhor cenário de emissão e RCP8.5 (vermelho) o pior cenário de emissão de gases poluentes. O número acima da projeção representa a média do ‘multi-modelo’, utilizando o “Coupled Model Intercomparison Project Phase 5” (CMIP5) (Traduzido e adaptado de IPCC, 2014)

Os ecossistemas marinhos estão entre os maiores e mais importantes do planeta, abrigando grande parte da biodiversidade mundial. São responsáveis pelo ajuste do clima e são essenciais para os seres humanos, fornecendo bens de consumo com expressiva

participação na economia mundial (HALPERN, 2008, TURRA *et al.*, 2013, FAO, 2016). O efeito das mudanças climáticas nesses ecossistemas pode levar à: diminuição da biodiversidade local, acidificação dos oceanos, desertificação local, mudança no padrão das cadeias tróficas, perturbações na distribuição dos indivíduos, mortalidade e, em seu último estágio, à extinção (TURRA *et al.*, 2013; POLOCZANSKA *et al.*, 2013; IPCC, 2014; GARCÍA *et al.*, 2018; UN ENVIRONMENT, 2019). Diversos estudos apontam evidências sobre o impacto do aumento de temperatura nos oceanos. Um dos organismos mais estudados a esse respeito são os recifes de corais, que são sensíveis a mudanças de temperatura, e cujas populações de alguns locais já vêm apresentando progressivo embranquecimento e morte (McCLANAHAN *et al.*, 2007). Outro grupo de organismos marinhos bastante suscetível às alterações de temperatura global são as macroalgas.

1.2) Macroalgas

As macroalgas são organismos abundantes e bastante diversos presentes nos ecossistemas marinhos bentônicos. Desempenham papéis essenciais, como a produção primária de energia, manutenção das cadeias tróficas, servindo de alimento para outros organismos marinhos, e podem ser aliados da biorremediação no ambiente aquático. São encontradas nos mais distintos ambientes marinhos, nas mais variadas formas e até associadas a outros organismos (HOFMANN & TODGHAM, 2010; HARLEY *et al.*, 2013; MACREADIE *et al.*, 2017). Além de sua importância ambiental, as macroalgas são extensamente exploradas pelos seres humanos, apresentando expressiva participação no mercado mundial de bens extraídos do mar, a aquicultura (FAO, 2016).

O aumento da temperatura ocorre em escala global, porém distintamente nas diferentes partes do mundo. O aumento da temperatura da superfície do oceano também apresentou evidentes consequências para a vida marinha de modo geral, alterando a distribuição e abundância dos organismos marinhos, dentre eles as macroalgas. A distribuição das macroalgas é diretamente pautada pela temperatura local. Além disso, a temperatura tem efeito nos mais importantes processos fisiológicos das algas, tais como a fotossíntese e a respiração (EGGERT, 2012; PIÑEIRO-COBEIRA *et al.*, 2018).

Diversos estudos já foram e vêm sendo realizados no que se refere ao impacto da temperatura em macroalgas. Quando são expostas a seus limites de temperatura, observa-se a ocorrência de respostas fisiológicas, tais como dessecação, perda de rendimento fotossintetizante, mudanças na composição química e alteração no padrão de produção

de estruturas reprodutivas (DAVISON, 1991; DAVISON & PEARSON, 1996; FERREIRA, 2014). Além disso, desequilíbrios nesse fator abiótico causam impacto nas relações tróficas entre os peixes e as algas, afetando a herbivoria e, conseqüentemente, desestabilizando as populações locais de algas (DAVISON, 1991; VERGÉS, 2014). Nesse contexto, é importante compreendermos como as mudanças climáticas podem afetar espécies tanto do ponto de vista ecológico quanto do comercial.

1.3) Diversidade intraespecífica

A diversidade intraespecífica compreende o conjunto de expressões fenotípicas e genotípicas resultantes de processos de aclimação e adaptação com relação a mudanças no ambiente em populações de uma espécie (KELLY *et al.*, 2012). Em outras palavras, pode ser considerada a “riqueza alélica” genotípica e fenotípica dentre as populações. A tolerância dos organismos a certas situações ambientais é pautada pelo conjunto de suas características genéticas, determinando assim sua distribuição local e regional (RAFFARD *et al.*, 2018).

A expressão fenotípica do “ajuste” dos organismos a essas situações, respeitando seus limites genéticos, é chamada de aclimação. Já a adaptação decorre de alterações a nível genético nos organismos ao longo do tempo com relação às mudanças ambientais (PLASTINO & GUIMARÃES, 2001; KELLY *et al.*, 2012). A persistência e a transmissão dessas variações genéticas em descendentes dependem de condições favoráveis para que se estabeleçam nas populações (PLASTINO, 2008; KING *et al.*, 2019).

Variações genotípicas relacionadas à adaptação, em resposta a situações ambientais distintas, podem resultar em populações com “pools genéticos” bastante diversos. Essas populações podem ser consideradas como ecótipos (INNES, 1984; PLASTINO & GUIMARÃES, 2001). Se a variação intraespecífica ocorrer em nível de aclimação, ou seja, se o genótipo dos organismos é capaz de suportar e variar com relação às mudanças ambientais, a probabilidade de sobrevivência é alta. Porém, se a variação ocorrer em nível de adaptação, a probabilidade de sobrevivência é menor, uma vez que a seleção natural ocorre a um passo mais lento que as mudanças climáticas, gerando possíveis extinções (WATTIER & MAGGS, 2001; QUINTERO & WIENS, 2013, KING *et al.*, 2019). Adaptação local a determinada temperatura ocorre em nível celular de forma a modificar a quantidade, tipo, concentração e modulação das enzimas ligadas a respostas fisiológicas à temperatura (CLARKE, 2003)

Assim como todas as suas características, os limites térmicos de uma espécie são determinados por sua genética, ou seja, pela capacidade de adaptação e aclimação. Deste modo, a ocorrência de espécies em locais frios ou locais quentes, por exemplo, pode ser considerado como uma resposta adaptativa ao ambiente (ANGILLETTA *et al.*, 2003). No contexto do aquecimento global, em que o aumento da temperatura se dá em escala de décadas, aparece a preocupação sobre conhecer cada vez melhor os limites térmicos das espécies e observar se elas estão preparadas para essas mudanças na temperatura do planeta (KING *et al.*, 2017).

Estudos sobre o impacto das mudanças climáticas em diversas espécies, sejam aquáticas ou terrestres, geralmente não consideram a distribuição regional/local das populações das espécies e as concebem como unidades únicas e iguais (BENNET *et al.* 2015). Entretanto, a plasticidade fenotípica interpopulacional é um fator existente e que deve ser considerado quando se realiza esse tipo de estudo (BENNET *et al.*, 2015; KING *et al.*, 2017). Ademais, há evidências que a diferenciação genética em algas pode ocorrer mesmo a curtas distâncias e que barreiras físicas podem desempenhar um forte papel neste processo (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019). Deste modo, apesar de ocorrer diferenciação genética entre as populações devido à ação ambiental, as barreiras atuam como um empecilho para troca gênica, diminuindo o ‘pool’ genético das populações (BILLOT *et al.*, 2003).

A ocorrência de ecótipos relacionados à temperatura em macroalgas vem sendo cada vez mais reportada, tanto para populações separadas por grandes distâncias quanto para populações próximas (BREEMAN, 1994). Em levantamento com inúmeras espécies de macroalgas da região do Norte Atlântico, BREEMAN (1988) observou os limites térmicos e a ocorrência de ecótipos para algumas dessas espécies. Além disso, discutiu e correlacionou a persistência de algumas espécies em determinadas regiões que apresentam grande variação termal relacionada à sazonalidade com a ocorrência de ecótipos. NOVACZEK *et al.* (1990) realizaram um estudo com espécies de macroalgas vermelha, verde e parda, e verificaram variações fisiológicas entre populações que ocorrem em diferentes regiões do oceano Atlântico com relação à temperatura, caracterizando-as como ecótipos. ORFANIDIS *et al.* (1999) reportaram a ocorrência de ecótipos para duas espécies de alga vermelha do Mediterrâneo, *Eupogodon spinellus* e *E. planus*, que ocorrem em faixas térmicas diferentes. A costa brasileira tem cerca de 10.959 km em sua extensão total (IBGE, 2020). Devido à variação latitudinal, está exposta a uma grande amplitude de variações ambientais e climáticas. Poucos são os estudos que

abordam a ocorrência de ecótipos relacionados ao efeito da variação térmica em macroalgas da costa brasileira. NAUER *et al.* (2019), utilizando haplótipos de mtDNA (COI-5P), identificou diversidade para algumas populações de *Hypnea pseudomusciformis* da costa brasileira, levando à formação de haplogrupos: i) Tropical: Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Bahia, ii) Zona de transição: Espírito Santo, e, iii) Subtropical: Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, surgindo a ocorrência de ecótipos de irradiância para a espécie. YOKOYA & OLIVEIRA (1992) avaliaram diversas espécies de algas vermelhas, na faixa dos 18 aos 30°C. Duas populações distintas de *P. capilacea* (Cabo Frio e Ubatuba) tiveram melhores respostas fisiológicas em temperaturas distintas, suportando a ideia de que sejam ecótipos de temperatura. Estudo com indivíduos de duas populações de *Ulva fasciata* do estado do Rio de Janeiro cultivados em gradiente de temperatura e submetidos a “onda de calor” mostrou que apesar das taxas de fotossíntese não apresentarem diferenças significativas, o conteúdo pigmentar e a taxa de crescimento se mostraram diferentes entre as duas populações, podendo ser caracterizadas como ecótipos (MARTINS, 2016). Essas populações diferiram também no conteúdo de carboidratos (FIGUEIRA *et al.*, 2021). Duas populações de *Gracilaria dominguenses*, uma da região tropical (Espírito Santo) e outra região subtropical (Santa Catarina), foram avaliadas quanto ao efeito da temperatura e da irradiância sobre a taxa de crescimento, conteúdo pigmentar e concentração proteica. Foi verificado que a população da região tropical apresentou maiores taxas de crescimento em uma amplitude de temperaturas maior que a população subtropical, sugerindo a possibilidade de serem ecótipos (CASTRO & YOKOYA, 2018). As populações de *G. caudata* dos estados de São Paulo e do Ceará mostraram diferenças nas taxas de crescimento, fotossíntese e composição pigmentar quando expostas à radiação UV (ARAÚJO *et al.*, 2014) ou cultivadas em irradiâncias de 70 e 150 μmol (FARIA *et al.*, 2017), apresentando assim plasticidade fenotípica e sugerindo que essas populações sejam ecótipos.

1.4) O gênero *Gracilaria*: contextualização e importância

Gracilaria Greville é um dos gêneros de algas vermelhas (Rhodophyta) da ordem Gracilariales mais importantes no mundo, sendo conhecido pela sua utilização para extração de ágar, um ficocolóide amplamente utilizado na confecção de bens e insumos para as indústrias alimentícia, farmacêutica e na biotecnologia (BIXLER & PORSE,

2011; FAO, 2016). Sua obtenção se dá primariamente pela coleta direta dos ambientes em que ocorre naturalmente. Isto vem causando um declínio nas populações, mas também faz com que alguns países demonstrem cada vez mais interesse e invistam na maricultura para algumas espécies. Diversas espécies de *Gracilaria* apresentam forte potencial para maricultura, e algumas já vêm sendo cultivadas, na América do Sul, como *G. chilensis* no Chile (BIXLER & PORSE, 2011). Espécies de *Gracilaria* ocorrem amplamente em quase todos os mares do mundo, com exceção do Ártico (MCLACHLAN & BIRD, 1984). Desta forma, é possível concluir que espécies desse gênero estão expostas às mais diversas condições ambientais, entretanto, a maioria das espécies ocorre nas regiões tropicais (OLIVEIRA & PLASTINO, 1994).

No que se refere à temperatura, um estudo realizado com várias espécies de *Gracilaria*, sendo estas *G. tikvahiae* (duas populações: Nova Scotia, Canada; Tampa Bay, EUA), *G. foliifera* (Devon, EUA), *G. bursa-pastoris* (duas populações: Isle of Wight, Reino Unido; Havai, EUA), *Gracilaria* sp. (cinco populações: Mar Adriático, próximo à Itália; San Diego, EUA; Santa Lucia; Vancouver, Canada; Maullin, Chile), *G. coronopifolia* (Havai, EUA), *G. cornea*, como *G. debilis* (Santa Lucia), *G. mammillaris* (Tampa Bay, EUA), *G. chilensis*, como *G. lemaneiformis* (duas populações: Mejillones e Maullin, Chile), encontrou diferentes faixas de tolerância de temperatura quando essas foram cultivadas em laboratório, porém a maioria se desenvolveu melhor entre 20 a 30°C (MCLACHLAN & BIRD, 1984). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por YOKOYA & OLIVEIRA (1992), sob temperaturas de 25 a 30°C e em condições de laboratório, para *Gracilaria cornea* e *G. caudata* (como *G. aff. verrucosa*), que ocorrem na costa do Brasil, *G. chilensis* (Chile) e *G. gracilis* (como *G. verrucosa*, Argentina). MACHIAVELLO & OLIVEIRA (1998) encontraram, para populações de quatro espécies de *Gracilaria*, sendo estas *G. caudata* (São Paulo, Brasil), *G. chilensis* (Porto Mont, Chile), *G. gracilis* (Puerto Madryn, Argentina; Luderitz, Namibia) e *G. tenuistipitata* (Haikou, China), limites térmicos de 13,5 a 33,1 °C (com exceção de *G. caudata*, cujo limite térmico inferior foi de 17,3°C). Em estudo com linhagens de *G. gracilis* (como *G. verrucosa*), DAUGHERTY & BIRD (1988) demonstraram que a produção de ágar para esta espécie é inversamente proporcional ao aumento da salinidade e da temperatura, e que temperaturas ideais de cultivo estariam entre 22 e 32 °C. CHOI *et al.* (2016) observaram que para as linhagens da Coreia do Sul de *G. gracilis* (como *G. verrucosa*) e *G. chorda*, cultivadas *in natura*, a faixa de temperatura ideal de cultivo seria

entre 25 e 30°C. Entretanto, os resultados decorrentes desses vários artigos devem ser considerados com cautela, já que as condições de cultivo em laboratório diferiram, dificultando, portanto, análises comparativas consistentes.

1.5) *Gracilaria caudata*: contextualização e importância

Dentre as 184 espécies confirmadas de *Gracilaria* (LYRA *et al.*, 2015) está *G. caudata* J. Agardh (Fig. 2). Essa espécie produz ágar economicamente viável (YOSHIMURA, 2006) e é explorada para esse fim no Brasil desde a década de 70 (OLIVEIRA & MIRANDA, 1998), sendo a região Nordeste aquela que abriga seu maior banco natural (CARNEIRO *et al.*, 2011). Ela ocorre nos mares da América Central e do Sul, e por quase toda costa brasileira, dos estados do Maranhão à Santa Catarina (PLASTINO & OLIVEIRA, 1997; NUNES, 2005). Por se tratar de uma espécie que ocorre por quase toda a costa brasileira e, portanto, estar sujeita à diversidade climática, levantam-se questões sobre os limites fisiológicos de *G. caudata* quanto à temperatura.



Figura 2 - Aspecto geral de *Gracilaria caudata* na natureza (Foto: E. M. Plastino).

A variabilidade intraespecífica de *G. caudata* e sua extensa ocorrência ao longo da costa são fortes indicadores de sua alta capacidade de adaptação a condições diversas

de temperatura. Os limites térmicos estabelecidos para indivíduos de *G. caudata* da população do estado de São Paulo mostram sua sobrevivência na faixa dos 17,3 °C aos 33,1 °C (MACCHIAVELLO *et al.*, 1998), e mais alto desempenho fisiológico na faixa dos 25°C aos 30 °C (como *G. verrucosa*, YOKOYA & OLIVEIRA, 1992). ARAÚJO *et al.* (2014) e FARIA *et al.* (2017) mostraram também que populações de *G. caudata*, quando expostas à radiação UV ou cultivadas em irradiâncias de 70 e 150 µmol, apresentam diferentes taxas de crescimento, fotossíntese e composição pigmentar.

Estudo realizado por AYRES-OSTROCK *et al* (2015; 2019) identificou as relações filogenéticas entre populações de *G. caudata*, baseando-se no gene *rbcL*, na análise concatenada de haplótipos de DNA mitocondrial (COI e o gene espaçador *cox2-3*) e microssatélites. Os resultados indicaram a existência de grupos genéticos distintos, sendo estes chamados de i) “nordeste” e ii) “sudeste”, e a iii) população da “Bahia”, que se diferenciou das demais, por compartilhar características genéticas com ambos os grupos. Este estudo inclui no grupo “nordeste” as populações dos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco. Já o grupo do “sudeste” contemplou as populações dos estados de Espírito Santo e São Paulo. Apesar da distinção genotípica, estudo realizado com a espécie indicou que ainda há compatibilidade sexual entre uma população do Nordeste e duas do Sudeste (diferentes haplótipos), uma vez que, a partir de cruzamentos entre indivíduos dessas populações, foram gerados descendentes férteis, e seus descendentes geraram outros descendentes férteis (CHIARAMONTE *et al.*, 2018). De modo geral, esses estudos trazem à luz que apesar das diferenças genéticas promovidas por adaptação local e o conhecimento de ecótipos, ainda assim trata-se de uma espécie; e que a ampla distribuição geográfica de *G. caudata* pode ser considerada uma evidência de sua maior capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais.

A alga vermelha *Gracilaria caudata* presente na costa brasileira é estudada há anos, tanto pela sua importância econômica, já conhecida, quanto para melhor compreensão dos seus mais peculiares aspectos morfológicos, genéticos, fisiológicos e reprodutivos. Não existem informações sobre os limites de temperatura para populações de *G. caudata* que não as do estado São Paulo (YOKOYA & OLIVEIRA, 1992; MACCHIAVELLO *et al.*, 1998). Conhecer os possíveis efeitos das mudanças na temperatura em diferentes populações, considerando-se as que ocorrem nos limites de distribuição do país, é importante, tanto do ponto de vista ecológico, quanto da necessidade de ações de conservação e preservação. Devido à sua ampla distribuição na

costa brasileira, indaga-se como são estruturadas as suas populações, e como a exposição às mais diversas condições bióticas e abióticas as afeta. Ademais, como essa importante espécie de alga vermelha responderá a cenários de mudanças ambientais que cada vez mais se anunciam pelo aumento de temperatura que o planeta Terra vem sofrendo? Neste cenário, alguma população será beneficiada? Ou alguma poderá deixar de existir?

2) Hipóteses

Sabendo-se que as temperaturas da água do mar variam consideravelmente ao longo da costa brasileira, e que *Gracilaria caudata* ocorre desde o estado do Maranhão até o estado de Santa Catarina, espera-se que:

i) populações de *G. caudata* tenham desenvolvido adaptações específicas que permitiram sua permanência nesses diferentes ambientes;

ii) populações de *G. caudata* apresentem perfis fisiológicos distintos, caracterizando-se como ecótipos relacionados à temperatura;

iii) populações de *G. caudata* do nordeste do país estejam mais adaptadas a temperaturas mais altas (28-35°C) quando comparadas às do sul e sudeste, as quais estariam mais adaptadas a temperaturas mais baixas (15-23°C).

3) Objetivos

Avaliar taxas de crescimento, parâmetros da fotossíntese e conteúdo pigmentar de indivíduos de quatro populações de *Gracilaria caudata* distribuídas ao longo da costa brasileira, procedentes dos estados do Ceará, Bahia, Espírito Santo e Santa Catarina, quando submetidos a diferentes temperaturas (15, 18, 20, 23, 25, 30, 33 e 35°C). A distância entre as populações localizadas nos limites de distribuição da espécie no país (Estados do Ceará e Santa Catarina) é de 6.024,85 km (IBGE, 2020). Esses estudos devem possibilitar a caracterização fisiológica desses indivíduos e o reconhecimento de possíveis ecótipos para a espécie. Além disso, devem fornecer subsídios para melhor compreender como essas populações poderiam responder a um possível aumento nas temperaturas da água do mar previsto pelo estudo IPCC (2019) e UN ENVIRONMENT (2019).

4) Materiais e métodos

4.1) Material biológico

O material biológico consiste em gametófitos femininos, procedentes de populações dos estados brasileiros: Ceará (CE), Bahia (BA), Espírito Santo (ES) e Santa Catarina (SC). De cada uma dessas populações, quatro gametófitos femininos distintos foram selecionados como n amostral. Esses foram coletados na população de origem, com exceção dos gametófitos femininos procedentes da população do Ceará e de um indivíduo da população de SC, os quais foram obtidos a partir de tetrásporos de tetrasporófitos trazidos nessa população. Na Tabela 1 estão descritas as localidades, coordenadas e data das coletas dos materiais, e na Figura 3 está uma representação dos locais de coleta. Os indivíduos estão depositados no “Banco de germoplasma de algas gracilarióides” do Laboratório de Algas Marinhas Edson José de Paula – LAM, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – IBUSP (COSTA *et al.*, 2012) e no herbário SPFF do Departamento de Botânica, IBUSP.

Localidade	Coordenadas	Data da coleta
Praia do Naufrágio, Município de Paracuru, Ceará	03°23'50,5"S 39°00'38,8"W	09/02/2012
Praia do Emissário, Município de Arembepe, Bahia	12°44'28,0"S 38°09'01,0"W	15/10/2012
Praia de Parati, Município de Ubú, Espírito Santo	20°48'31,0"S 40°36'39,0"W	05/05/2012
Praia de Zimbros, Município de Bombinhas, Santa Catarina	27°11'00,13"S 48°32'33,24"W	14/10/2016

Tabela 1 – Localização, coordenadas e data da coleta de indivíduos nas populações de *G. caudata* ao longo da costa brasileira selecionadas para a realização deste trabalho.

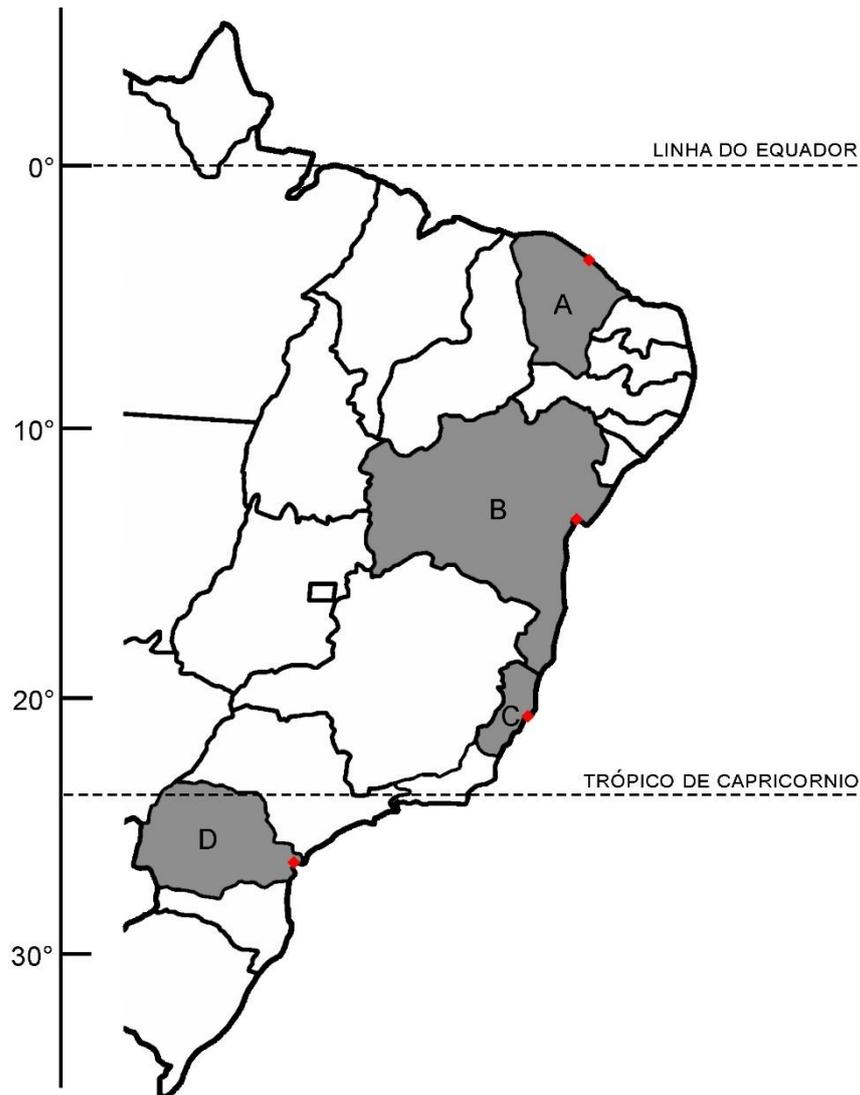


Figura 3 – Mapa do Brasil com as posições geográficas dos locais de coleta dos indivíduos de *Gracilaria caudata* utilizados nos experimentos de temperatura. Em cinza, estão sinalizados os estados. Os losangos vermelhos indicam as praias de onde os indivíduos foram coletados: A, Praia do Naufrágio, Município de Paracuru, Ceará; B, Praia do Emissário, Município de Arembépe, Bahia; C, Praia de Parati, Município de Ubú, Espírito Santo; e D, Praia de Zimbros, Município de Bombinhas, Santa Catarina.

4.2) Condições gerais de cultivo

4.2.1) Meio de cultura

O meio de cultura foi preparado com água do mar coletada no Município de São Sebastião, São Paulo (salinidade 32), submetida à dupla filtragem em filtro de pressão (Cuno), com porosidade de 5 e 1 μm e esterilizada por Radiação Ionizante (Lâmpada UV – C, sistema QUIMIS Q884-21 – 3,8L/min) (PETTI & PLASTINO, 2012). Após o processo de esterilização, a água do mar foi enriquecida com solução von Stosch 25%

(Edward, 1970) modificada (URSI & PLASTINO, 2001). O meio foi renovado semanalmente.

4.2.2) Condições abióticas (temperatura, irradiância, fotoperíodo e aeração)

Durante o período de crescimento, as algas foram mantidas em câmaras de cultivo a temperaturas controladas de 25 ± 1 °C e iluminadas por lâmpadas fluorescentes “Luz do Dia” (Osram 40W). A irradiância adotada foi de 70 ± 3 μmol de fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, mensurada com um sensor esférico Li-COR modelo L1-193, conectado a um medidor de quanta Li-OR modelo L1-185. O fotoperíodo foi de 14 horas de luz e 10 de escuro (14L:10E). Aeração foi fornecida em períodos alternados de 30 minutos por um compressor radial de diafragma e isento de óleo (IBRAM C03).

4.3) Desenho experimental

O experimento foi realizado em gradiente de temperatura com nove tratamentos diferentes: 15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33 e 35°C (Fig. 4). Esses tratamentos de temperatura foram simulados em “Câmaras de demanda biológica de oxigênio (BOD)”. Foram utilizados três ápices de cada um dos quatro gametófitos femininos ($n=4$) por população para cada tratamento (Fig. 4). Ou seja, de cada gametófito feminino foram obtidos 27 ápices (3 ápices para cada condição de temperatura). Isso foi repetido para os indivíduos das quatro populações (CE, BA, ES e SC). Os ápices foram cultivados em Erlenmeyers de 500ml contendo 450ml de água do mar enriquecida e em “condições gerais de cultivo” por duas semanas com a finalidade de crescimento das algas em tamanho e biomassa. Após este período, três ápices de cada indivíduo foram colocados em frascos distintos. Em seguida, os frascos contendo os ápices foram colocados por 10 dias em cultivo nos tratamentos de temperatura para aclimação (Fig. 5). Após este período, os ápices foram cortados para obtenção de massa inicial de aproximadamente 5 mg e comprimento de 1,0 a 1,5 cm.

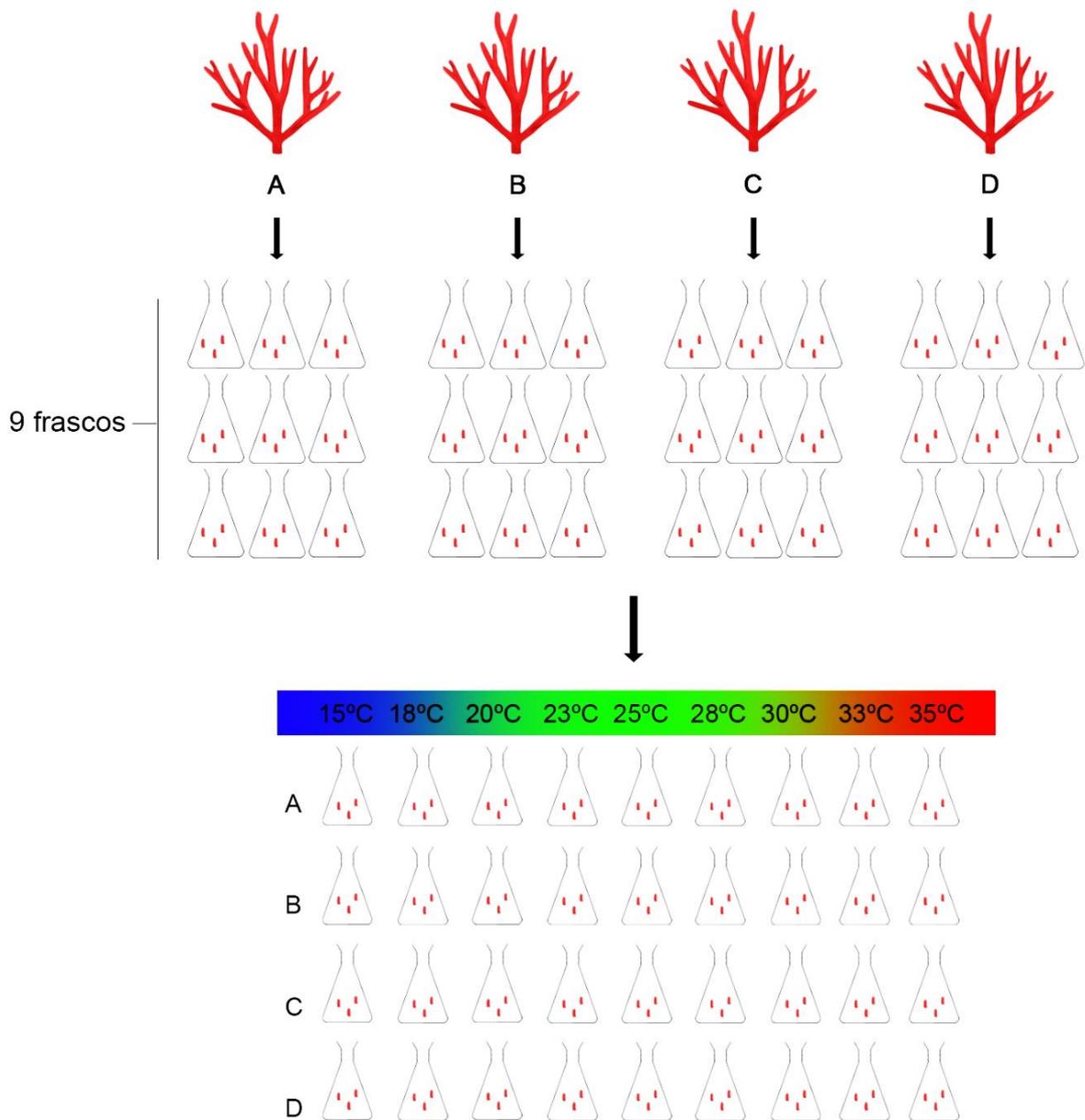


Figura 4 – Obtenção de ápices de gametófitos femininos de *Gracilaria caudata* para o teste de temperatura, a partir de quatro populações (estados do Ceará, Bahia, Espírito Santo e Santa Catarina). De cada população, foram obtidos 4 indivíduos (A, B, C e D). Os indivíduos foram cultivados até cada um produzir 27 ápices, um total de 108 ápices por população. Os 27 ápices de cada indivíduo foram distribuídos em 9 frascos, número equivalente aos tratamentos de temperatura (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33 e 35°C), totalizando 3 ápices por frasco e quatro repetições por tratamento.

Para cada tratamento de temperatura, o experimento foi conduzido por um período de 28 dias (Fig.5). As condições de cultivo foram as mesmas que as apresentadas anteriormente, e a troca de meio de cultura foi realizada semanalmente. Foi realizado registro fotográfico das algas no primeiro, 14º e 28º dias de cultivo, a fim de comparar as possíveis mudanças morfológicas. As taxas de crescimento foram mensuradas a cada sete dias, e as taxas de fotossíntese a cada quinze dias. Após o encerramento dos experimentos de temperatura, os ramos foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -80°C até a realização da extração de ficobiliproteínas e de clorofila *a*.

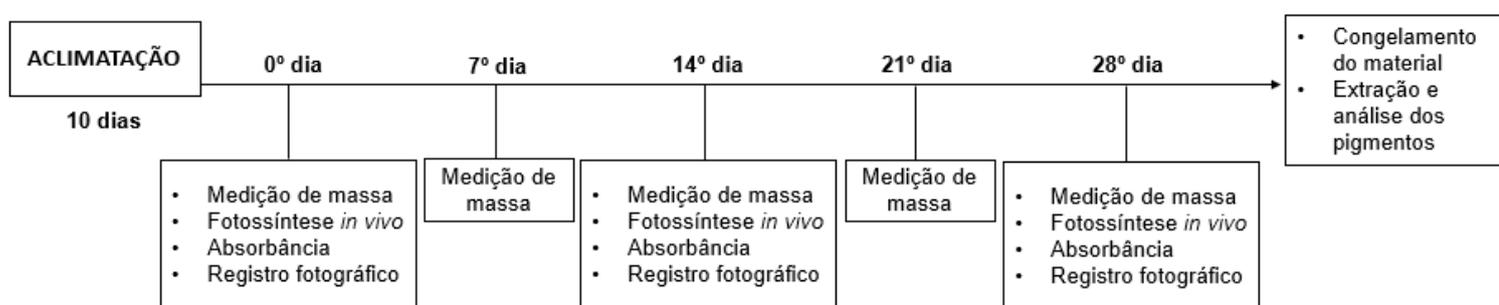


Figura 5 – Síntese do desenho experimental referente ao teste de temperatura em *Gracilaria caudata*, incluindo todos os experimentos em ordem cronológica realizados ao longo dos 28 dias.

4.4) Aspectos morfológicos

Foram obtidos registros fotográficos de pelo menos um indivíduo de cada população estudada. Os indivíduos (três ápices) a serem fotografados foram selecionados ao acaso dentre os indivíduos de cada população. A fim de ilustrar o desenvolvimento dos ápices ao longo do experimento, foi construída uma figura constituída de registros de dois momentos diferentes de crescimento, no 14º e 28º dias de cultivo. Embora tenha sido realizado o registro da primeira semana, este não foi incluso, pois os ápices não apresentaram diferenças visuais em tamanho ou ramificações (todos sem ramificação e com aproximadamente 1,5 cm). O comprimento dos três ápices de cada um dos indivíduos foi medido utilizando-se o software ImageJ, a partir dos registros fotográficos. Foi considerada a média dos três ápices como o crescimento total para aquele indivíduo numa dada condição de cultivo.

4.5) Taxas de crescimento

O desenvolvimento dos ramos em massa foi mensurado semanalmente em balança analítica Mettler AE200. Os dados de massa fresca foram calculados segundo a fórmula de YOUNG et al. (2013):

- $TC = [(M_f/M_i)^{1/t} - 1] * 100$

(TC = Taxa de crescimento, M_f = Massa final, M_i = Massa inicial e t = tempo).

A massa total utilizada para o cálculo de taxa de crescimento é equivalente à soma das massas dos três ápices/ramos presentes em cada frasco de experimento de cada tratamento. Os dados obtidos foram estatisticamente avaliados *a posteriori*.

4.6) Fluorescência *in vivo* da clorofila *a*

As medições de fluorescência *in vivo* ocorreram na 1^o, 14^o e 28^o dias de cultivo, no período das 4 a 6 horas após o início do período de luz. Desta forma, foram obtidos três momentos de medições. Anteriormente ao início das medições, todos os ápices foram colocados em completo escuro por aproximadamente 35 minutos.

Para a quantificação *in vivo* da clorofila *a* foi utilizado o fluorômetro subaquático Walz Diving-PAM® (“Pulse Amplitude Modulation”). A fluorescência foi obtida a partir dos ápices organizados sobre a extremidade da fibra ótica (Diving-F) com o auxílio de um “pregador magnético” (“magnetic sample holder”) sem sobreposição deles. Na opção “Light Curve” (Curva de Luz), para a obtenção de “curvas rápidas de luz”, foram empregados oito pulsos com níveis de irradiância distintos, mensurados por meio do medidor de quanta Li-COR modelo L1-185 (8, 25, 50, 90, 132, 184, 276, 378 μmol de fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (SUGGETT *et al.*, 2011). O tempo de exposição dos ápices a cada pulso de irradiância foi de 0,8s intercalados por 20 segundos. Esses dados foram utilizados para a construção de curvas Taxa de Transporte de Elétrons (ETR) X Irradiância (I) (SUGGETT *et al.*, 2011). Para o cálculo do ETR foi usada a seguinte fórmula (SUGGETT *et al.*, 2011):

- $ETR = \Delta F/F_m' * E_{PAR} * A * \sigma_{PSII} / \sigma_{PSU}$

$\Delta F/F_m'$: rendimento quântico efetivo ou eficiência fotoquímica do PSII (adimensional), obtido diretamente do fluorômetro, após um pulso inicial de saturação, quando as amostras encontravam-se sob uma luz azul de baixíssima intensidade (aproximadamente 3 μmol de fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$);

E_{PAR} : irradiância do pulso (μmol de fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) referente ao $\Delta F/F_m'$ mensurado;

$\sigma_{PSII}/\sigma_{PSU}$: fração da luz incidente absorvida diretamente pelo PSII, equivalente a 0,15 para algas vermelhas (GRZYMSKI *et al.*, 1997);

A: absortância (adimensional), fração da luz incidente absorvida por pigmentos fotossintetizantes (SUGGETT *et al.*, 2011), calculada pela seguinte fórmula:

$$A = 1 - (E_{\lambda 0}/E_{\lambda}) - R$$

$E_{\lambda 0}/E_{\lambda}$ representa a transmitância (T)

R representa a reflectância.

A variante R foi desconsiderada por possuir valores próximos a zero e insignificantes em relação aos demais parâmetros, sendo assim, foi adotada a fórmula reduzida $A = 1 - T$, segundo recomendado por SUGGETT *et al.* (2011). A obtenção da transmitância se deu a partir da disposição dos ápices sobre o medidor de quanta Li-COR modelo L1-185, que mediu os valores de irradiação na ausência (E_{λ}) e na presença dos ápices ($E_{\lambda 0}$). O $ETR_{m\acute{a}x}$ (taxa de transporte de elétrons máxima) foi corrigido segundo a equação de WEBB *et al.* (1974):

$$P = P_{m\acute{a}x} * [1 - \exp(-\alpha * I / P_{m\acute{a}x})]$$

(P= fotossíntese; $P_{m\acute{a}x}$ = fotossíntese máxima; α = eficiência fotossintetizante; I= irradiação)

O rendimento quântico máximo (F_v/F_m) foi obtido diretamente por medição do aparelho PAM.

4.7) Quantificação de ficobiliproteínas, clorofila *a* e carotenóides

Após os experimentos de temperatura e fluorescência, os ramos foram lavados com água destilada e secos com papel absorvente, e em seguida congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -20°C até a extração pigmentar. A extração e a quantificação de ficobiliproteínas e de clorofila *a* foram baseadas no protocolo proposto por de KURSAR *et al.* (1983a) com modificações (PLASTINO & GUIMARÃES, 2001) e com algumas adaptações realizadas para este experimento. As amostras foram colocadas em Eppendorfs de 1,5ml contendo no máximo 70 mg. Em seguida, foram maceradas em nitrogênio líquido, sendo acrescida quantidade de tampão fosfato 50mM, pH 5,5, relativa à massa inicial da amostra (a cada 1 mg, foi acrescido 1μL de tampão). A solução obtida foi centrifugada por 20 minutos a 44.000 xg e 4°C. O sobrenadante (ficobiliproteínas) foi transferido para tubos de ensaio, sendo mantidos no escuro até a leitura em espectrofotômetro. O conteúdo sedimentado foi ressuscitado em metanol 90% em quantidade relativa à massa inicial da amostra, e centrifugado a 12.000 xg e 4°C por 15 minutos. O sobrenadante (clorofila *a*) foi transferido para tubos de ensaio, sendo mantidos

no escuro e em temperatura de 4° C até a leitura em espectrofotômetro. Os espectros de absorção foram obtidos registrando-se as absorbâncias no intervalo de 400-700nm com varredura durante um segundo. A calibragem do espectrofotômetro (Hewlett Packard 8452A) foi realizada com os solventes empregados para cada pigmento.

As fórmulas utilizadas para quantificação de ficobiliproteínas foram as propostas por KURSAR *et al.* (1983a):

- Ficoeritrina= $155,8 \cdot A_{498,5} - 40,0 \cdot A_{614} - 10,5 \cdot A_{651}$
- Ficocianina = $151,1 \cdot A_{614} - 99,1 \cdot A_{651}$
- Aloficocianina= $181,3 \cdot A_{651} - 22,3 \cdot A_{614}$

A fórmula para quantificação de clorofila *a* foi elaborada por LICHTENTHALER & BUSCHMANN (2001) e a dos carotenoides por WELLBURN (1994), ambas modificadas por TORRES *et al.* (2014):

- Clorofila *a*: $11,41 \times \text{Abs}_{664}$
- Carotenoides: $(1000 \times \text{Abs}_{470} - 2,77 \times \text{Chl } a/213)$

(Em que Abs *n*° representa a um dos 700 pontos de medição obtidos a partir da análise do espectrofotômetro)

4.8) Análise estatística

Os resultados obtidos nos experimentos de crescimento, fotossíntese e pigmentos foram submetidos ao teste de homoscedasticidade utilizando-se o modelo de Cochran (nível de significância $\alpha > 0.05$) e ao teste de normalidade utilizando-se o modelo de Kolmogorov-Smirnov e Lilliefors. Após avaliação e confirmação de homogeneidade e normalidade das amostras, os resultados obtidos foram submetidos a análises estatísticas (ANOVA Fatorial, com múltiplas categorias). Quando houve diferenças significativas, foi aplicado um teste *a posteriori* de Newman-Keuls (ZAR, 1999). Todas as análises foram realizadas no programa STATISTICA 12 (StatSoft, Inc.).

4.9) Temperaturas da superfície do mar

A fim de ter como base as possíveis variações de temperatura que as populações de *G. caudata* estudadas estão expostas, esses dados foram levantados nos pontos específicos onde foram realizadas as coletadas do material biológico (dados oficiais de temperatura da superfície do oceano, JPL MUR MEaSURES Project, NASA). Os dados compilados correspondem a três anos (Setembro de 2017 a Setembro de 2020), sendo

selecionados os valores de máximo e mínimo de cada ano. Os dados dos três anos para máximo e mínimo foram submetidos ao cálculo de média, conforme apresentado na Tabela 2.

Variação de temperatura por ano

Localidade da medição		Set/2017 a Set/2018		Set/2018 a Set/2019		Set/2019 a Set/2020		Média	
		Mín. (°C)	Máx. (°C)	Mín. (°C)	Máx. (°C)	Mín. (°C)	Máx. (°C)	Mín. (°C)	Máx. (°C)
Ceará	Paracuru (03°23'50,5"S; 39°00'38,8"W)	26,4	29,7	26,2	29,7	26,6	30,2	26,4	29,9
Bahia	Arembepe (12°44'28,0"S; 38°09'01,0"W)	25,0	28,6	25,3	30,3	25,8	29,4	25,4	29,4
Espírito Santo	Ubú (20°48'31,0"S; 40°36'39,0"W)	21,9	26,7	22,5	28,2	22,5	28,3	22,3	27,7
Santa Catarina	Bombinhas (27°11'00,13"S; 48°32'33,24"W)	16,6	26,4	17,4	27,1	17,7	26,1	17,2	26,5

Tabela 2 – Temperaturas mínimas e máximas da superfície do oceano em três períodos (2017-2018, 2018-2019 e 2019-2021), e valores médios para esses três anos. Dados relativos às coordenadas indicadas de cada local de coleta das populações de *Gracilaria caudata* utilizadas neste experimento. O ‘máximo’ e ‘mínimo’ indicados correspondem a avaliações realizadas com relação às médias máximas e mínimas de temperatura do mês inteiro. Dados obtidos da ferramenta ‘State of the Ocean’ (SOTO, 2020).

5) Resultados

Os gametófitos femininos de *Gracilaria caudata* das quatro populações estudadas, Ceará (CE), Bahia (BA), Espírito Santo (ES) e Santa Catarina (SC), mostraram respostas morfológicas e fisiológicas distintas quando submetidos a diferentes temperaturas. Ressalta-se que as demais condições de cultivo foram as mesmas, desta forma, foi possível isolar a variável temperatura. Logo no período de aclimação foi possível identificar o efeito da temperatura nos ápices de indivíduos de todas as populações estudadas. Um dos mais perceptíveis efeitos de temperaturas extremas (15, 18, 33 e 35°C) foi a alteração na coloração dos ápices, especialmente despigmentação, que ocorreu para todas as populações. Visualmente, outros aspectos, além da despigmentação, puderam ser considerados sinais do estresse causado por essas temperaturas, tais como achatamento, fragmentação e deformação do talo (Fig. 6).

Houve sobrevivência de todos os indivíduos das quatro populações estudadas quando cultivados na faixa dos 18 aos 30°C. Foi considerado sucesso de sobrevivência da população quando pelo menos três indivíduos sobreviveram ao experimento. Aos 35°C, houve apenas a sobrevivência dos ápices de um único indivíduo da população do estado do Ceará, porém esses estavam embranquecidos e de tamanho e massa menores que os do início do experimento, devido à fragmentação e morte de porções dos talos. Aos 15°C houve apenas sobreviventes dos estados do Espírito Santo (4 indivíduos) e da Bahia (3 indivíduos); nessa temperatura, os estados do Ceará e de Santa Catarina tiveram apenas um indivíduo sobrevivente (todos os ápices). Ao tratamento de 33°C houve apenas três indivíduos sobreviventes das populações dos estados do Ceará e da Bahia (Fig. 8).

Na maioria dos casos, houve o surgimento de ramificações ao longo dos 28 dias de cultivo, como o esperado para *G. caudata*. Porém, estas foram mais frequentes para os indivíduos das populações dos estados do Ceará e da Bahia e menos frequentes para os indivíduos procedentes do Estado de Santa Catarina (Tabela 4). Com relação aos aspectos fisiológicos, foram observadas diferentes respostas de taxa de crescimento, fluorescência in vivo da clorofila *a* (F_v/F_m e $ETR_{máx}$), e composição pigmentar entre as diferentes populações e tratamentos de temperatura.

5.1) Taxa de crescimento

Os dados referentes às taxas de crescimento (TC) dos quatro indivíduos (três ápices por frasco), para cada uma das populações de *G. caudata*, nos nove tratamentos de

temperatura propostos, foram tratados estatisticamente e estão representados na Fig. 7. A análise de significância indicou que houve interação entre as variáveis ‘temperatura’ ($F = 540,48$; $p < 0,00$), ‘população’ ($F = 65,14$; $p < 0,00$) e ‘temperatura x população’ ($F = 18,73$; $p < 0,00$). Foi possível identificar que há diferenças significativas entre as taxas de crescimento das populações com relação aos tratamentos de temperatura pelo teste ANOVA Fatorial. O teste de Newman-Keuls permitiu a identificação de como os tratamentos de temperatura e populações diferenciam-se entre si. Quando pelo menos três dos quatro indivíduos de uma população morreram, foi desconsiderado o dado do único indivíduo sobrevivente. A Fig. 7 indica quando houve morte de todos e ou de pelo menos três dos quatro indivíduos de determinada população. Isso ocorreu com a população do estado do CE a 15°C , com a população do estado do ES a 33°C , e, com a população do estado de SC a 15 e 33°C . Os resultados encontrados são concordantes com aqueles observados para o comprimento dos ápices que foram avaliados em apenas um dos indivíduos cultivados em cada temperatura testada, selecionado ao acaso para o registro fotográfico (Tabela 3). Os limites de sobrevivência para cada população estudada foram baseados nas TC e estão representados na Fig. 9.

5.1.1) Indivíduos de uma mesma população cultivados em diferentes temperaturas

a) Indivíduos da população do Estado do Ceará

Durante o período de aclimação houve morte dos ápices de três indivíduos sob tratamento de temperatura de 35°C , restando apenas um indivíduo. Ao final do experimento, os ápices estavam frágeis (Fig. 6), tendo também ocorrido fragmentação ao longo dos 28 dias de cultivo. Para vias de comparação estatística, este único indivíduo não foi considerado, pois conforme mencionado anteriormente, o sucesso de sobrevivência foi determinado apenas quando três dos quatro indivíduos sobreviveram ao teste de temperatura. Aos 15°C , houve sobrevivência de ápices de apenas um dos indivíduos, que também não foi considerado para o tratamento estatístico (a partir do 14º dia de cultivo, os ápices tornaram-se frágeis, com porções mortas). Os maiores valores de TC e comprimento do talo para indivíduos desta população foram observados nas temperaturas 23 ($\pm 10,85\%$ e $\pm 5,60\text{cm}$), 25 ($\pm 11,23\%$ e $\pm 6,54\text{cm}$), 28 ($\pm 11,83\%$ e $\pm 7,58\text{cm}$) e 30°C ($\pm 11,60\%$ e $\pm 6,68\text{cm}$). Indivíduos cultivados em 20 ($\pm 6,61\%$) e 33°C

($\pm 5,98\%$) apresentaram TC inferiores às citadas anteriormente e semelhantes entre si, porém, estas foram superiores às observadas em 18 ($\pm 1,02\%$). Houve ramificação em maior quantidade quando sob tratamentos de 23, 25 e 28°C (Tabela 4).

b) Indivíduos da população do Estado da Bahia

Durante o período de aclimação, houve morte de todos os indivíduos sob tratamento de temperatura aos 35°C. Houve morte também de um dos indivíduos nas temperaturas de 15 e de 33°C no 21º dia de experimento. Observou-se que os valores de TC e comprimento do talo foram semelhantes nos tratamentos 23 ($\pm 8,26\%$ e $\pm 5,78\text{cm}$), 25 ($\pm 8,59\%$ e $\pm 6,00\text{cm}$), 28°C ($\pm 8,56\%$ e $\pm 6,36\text{cm}$) e 30°C ($\pm 7,23\%$ e $\pm 4,79\text{cm}$). Tratamento a 20°C ($\pm 5,16\%$ e $\pm 2,99\text{cm}$) foi diferente dos demais, e menor que as anteriores (Fig. 6). As TC observadas em 33°C ($\pm 3,82\%$) foram inferiores às anteriores. As menores TC foram observadas nos tratamentos de 15 ($\pm 0,26\%$), 18 ($\pm 1,50\%$). O comprimento do talo ($\pm 6,36\text{ cm}$) e a quantidade de ramificações foram maiores sob temperatura de 28°C.

c) Indivíduos da população do Estado do Espírito Santo

Durante a aclimação, houve morte de todos os indivíduos sob tratamento a 35°C. Sob temperatura de 33°C, houve morte de três dos quatro indivíduos em cerca do 21º dia de cultivo. Os maiores valores em taxas de crescimento ($\pm 10,63\%$) ocorreram aos 25°C ($\pm 9,80\%$) e 25°C ($\pm 10,63\%$), que foram semelhantes (Fig. 6). As TC observadas em 25°C não diferiram das verificadas em 23°C ($\pm 8,79\%$), e estas últimas não diferiram das obtidas em 30°C ($\pm 7,81\%$). Nas demais temperaturas, as TC foram inferiores, ou seja, os tratamentos a 15 ($\pm 0,43\%$), 18 ($\pm 1,71\%$) e 20°C ($\pm 5,80\%$). Ressalta-se que indivíduos dessa população sobreviveram ao tratamento de 15°C, e o maior valor em comprimento de talo observado sob temperatura de 25°C ($\pm 9,80\%$). Ramificações não foram numerosas para indivíduos desta população.

d) Indivíduos da população do Estado de Santa Catarina

No período de aclimação, houve morte de todos os indivíduos sob tratamento de temperatura a 35°C, e de dois indivíduos sob temperatura de 15°C. No 21º dia de cultivo, houve morte do terceiro indivíduo sob temperatura de 15°C. Aos 33°C, houve morte de um ápice no 7º dia de cultivo, e de outro indivíduo no 14º dia de cultivo; no 21º dia de cultivo restava apenas um indivíduo, que morreu antes do final do experimento. Sendo

assim, os tratamentos de temperatura a 15, 33 e 35°C foram considerados como sendo de valor zero. As maiores TC foram observadas nos tratamentos de 23 ($\pm 8,28\%$), 25 ($\pm 9,14\%$) e 28°C ($\pm 9,15\%$) (Fig. 6). Aos 18°C ($\pm 4,02\%$) ocorreu o menor crescimento dentre os tratamentos que houve sobreviventes, seguido de 30°C ($\pm 6,00\%$) e 20 ($\pm 6,77\%$), que tiveram valores maiores e semelhantes entre si. Aos 28°C ocorreu maior crescimento em comprimento do talo ($\pm 4,36$ cm), e as ramificações ocorreram em pouca quantidade.

5.1.2) Indivíduos de diferentes populações cultivados em uma mesma temperatura

a) Tratamento a 15°C

Avaliando-se as TC de indivíduos cultivados em 15°C (Fig. 6), independentemente da população, nota-se que apenas os indivíduos das populações do estado da Bahia ($\pm 0,26\%$) e do Espírito Santo ($\pm 0,43\%$) sobreviveram a essa temperatura (três indivíduos de cada população), e tiveram TC semelhantes entre si.

b) Tratamento a 18°C

Na temperatura a 18°C (Fig. 6), indivíduos da população de Santa Catarina apresentaram a maior TC ($\pm 4,02\%$), quando comparados aos indivíduos das demais populações, que mostraram dados semelhantes (CE: $\pm 1,02\%$; BA: $\pm 1,50\%$; ES: $\pm 1,71\%$) O comprimento do talo também foi maior para SC ($\pm 2,72$ cm) quando comparado aos observados nos demais.

c) Tratamento a 20°C

As TC de indivíduos das populações dos estados de CE, ES e SC foram semelhantes ($\pm 6,61\%$; $\pm 5,80\%$; $\pm 6,77\%$) quando cultivados em 20°C (Fig. 6). As TC observadas para indivíduos procedentes da população do estado da Bahia foram inferiores, diferentes de CE e SC, porém semelhantes com Espírito Santo. Indivíduos dos estados de SC e ES apresentaram maiores comprimentos de talo que os demais ($\pm 3,62$ cm e $\pm 3,66$ cm, respectivamente).

d) Tratamento a 23 °C

Os indivíduos procedentes da população do estado do Ceará tiveram a maior taxa de crescimento quando sob tratamento de temperatura a 23°C ($\pm 10,85\%$), comparativamente às demais populações. Os indivíduos das populações dos estados da

BA, do ES e de SC apresentaram TC semelhantes entre si. O maior comprimento de talo foi observado para os indivíduos da população do estado do BA ($\pm 5,78$ cm).

e) Tratamento a 25°C

Indivíduos procedentes da população do estado do CE apresentaram as maiores taxas de crescimento em 25°C ($\pm 11,23\%$), quando comparados aos indivíduos das demais populações (Fig. 6). Os indivíduos das populações da BA, ES e SC apresentaram TC semelhantes. Aos 25°C, o comprimento do talo foi maior para o CE ($\pm 6,54$ cm).

f) Tratamento a 28°C

As TC de indivíduos procedentes do estado do CE ($\pm 11,83\%$) e de ES ($\pm 9,80\%$) cultivados em 28°C não diferiram entre si, porém foram superiores às TC observadas para indivíduos do estado da BA ($\pm 8,56\%$) e de SC ($\pm 9,15\%$), as quais foram semelhantes (Fig. 6). O comprimento do talo obtido para o CE foi o maior dentre todos os valores encontrados nas demais populações ($\pm 7,58$ cm).

g) Tratamento a 30°C

Na temperatura de 30°C, indivíduos procedentes do CE ($\pm 11,61\%$) apresentaram valores de TC superiores aos demais (Fig. 6). Indivíduos do estado da BA ($\pm 7,23\%$) e ES ($\pm 7,81\%$) tiveram valores semelhantes. Os indivíduos do estado de SC ($\pm 6,00\%$) apresentaram valores inferiores aos observados em indivíduos do ES, porém semelhantes aos verificados para indivíduos da população do BA. O maior comprimento de talo ($\pm 6,68$ cm) foi observado para a população do CE.

h) Tratamento a 33°C

Apenas indivíduos procedentes dos estados do CE ($\pm 5,98\%$) e da BA ($\pm 3,82\%$) sobreviveram à temperatura de 33°C (Fig. 6). As TC verificadas para indivíduos procedentes do estado do CE foram maiores que as verificadas para os procedentes do estado da BA. Em comprimento de talo, indivíduos do estado do CE também apresentaram o maior valor ($\pm 2,97$ cm). Indivíduos das populações de ES e SC tiveram um ou nenhum sobrevivente neste tratamento de temperatura, sendo considerados com valores de TC igual a zero.

i) Tratamento a 35°C

Houve apenas um indivíduo da população do estado do CE que sobreviveu à temperatura de 35°C (Fig. 6). Porém, seus ápices estavam extremamente debilitados ao final do experimento, e não houve ganho de massa.



Figura 6 – *Gracilaria caudata*: ramos de gametófitos femininos de quatro populações distintas (CE, estado do Ceará; BA, estado da Bahia; ES, estado do Espírito Santo; e SC, estado de Santa Catarina) no 14º dia de cultivo nas temperaturas de 15°C e 35°C. Notam-se diferenças de coloração dos ápices sob cultivo a temperaturas extremas. Houve apenas um único indivíduo sobrevivente a 35°C, da população do estado do Ceará, que apresentou leve embranquecimento do ápice. Para todas as populações sob tratamento a 15°C houve embranquecimento generalizado do talo.

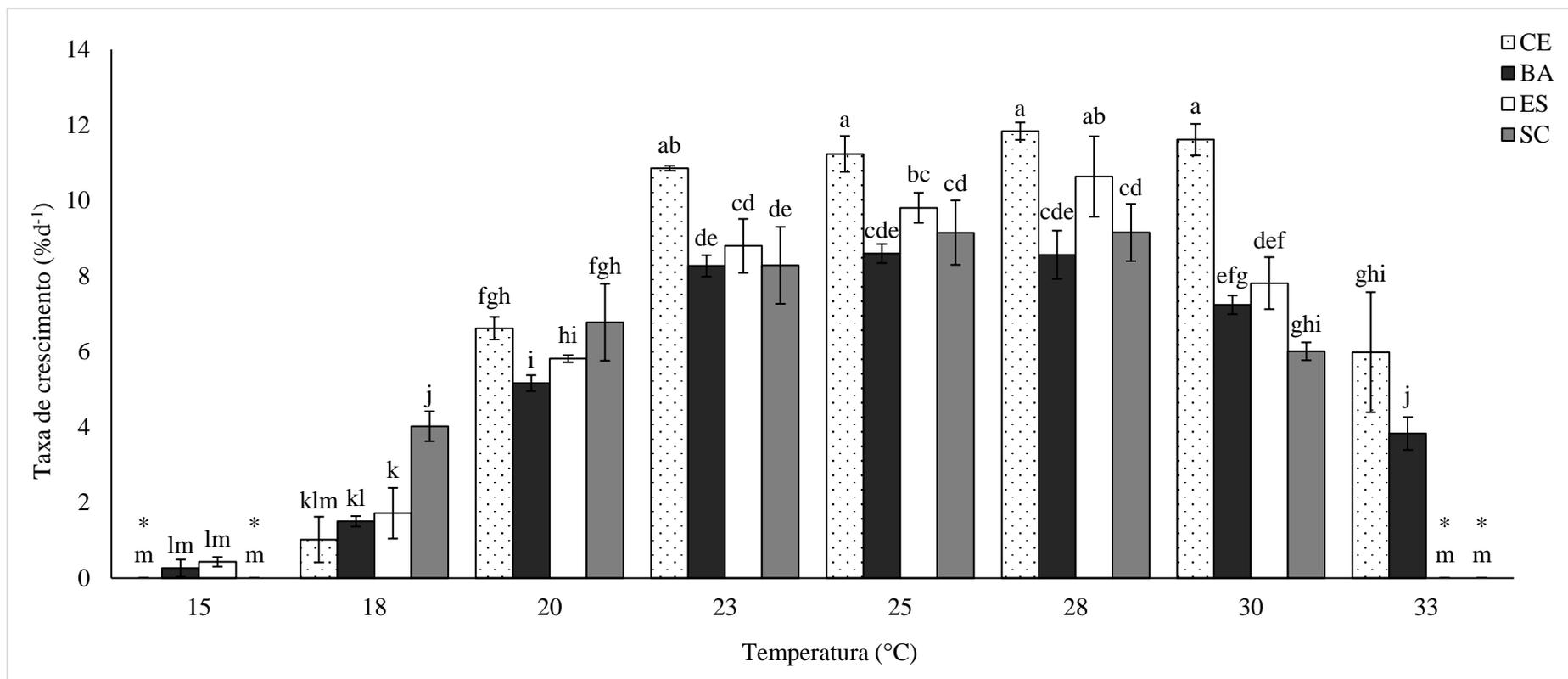


Figura 7 – Taxas de crescimento de gametófitos femininos de *G. caudata* procedentes de quatro populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; e SC, Santa Catarina) no período de 28 dias cultivados em diferentes temperaturas (18, 20, 23, 25, 28, 30 e 33°C). Dados apresentados como média e desvio padrão (n=4). As letras representam as diferenças significativas pela análise ANOVA e teste de Newman-Keuls (P<0,05). (*) Indica que houve morte de todos ou pelo menos três dos quatro indivíduos de determinada população, sendo considerado o valor do tratamento igual a zero. O tratamento de temperatura de 35°C não foi incluído no gráfico, devido à maioria ou todos os indivíduos da população não ter resistido ao experimento.

Populações	Períodos	Temperaturas								
		15	18	20	23	25	28	30	33	35
CE	A	1,76	1,79	2,50	3,39	3,53	4,47	4,05	2,04	1,82
	B	x	2,10	3,45	5,60	6,54	7,58	6,68	2,97	1,92
BA	A	1,58	1,87	2,53	3,37	3,57	3,71	3,95	1,68	x
	B	1,90	2,06	2,99	5,78	6,00	6,36	4,79	2,51	x
ES	A	1,79	1,91	2,64	3,25	3,30	3,13	2,49	1,40	x
	B	1,93	2,50	3,66	4,60	5,24	4,40	3,52	x	x
SC	A	1,64	1,79	2,97	3,28	3,18	3,09	1,41	x	x
	B	x	2,72	3,62	3,96	3,75	4,36	2,45	x	x

Tabela 3 – *Gracilaria caudata*: média do comprimento dos três ápices (cm) de um dos indivíduos, selecionado ao acaso, das quatro populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; SC, Santa Catarina), cultivado em diferentes temperaturas por um período de 15 dias (A) e 28 dias (B). As medidas foram realizadas considerando-se apenas o eixo principal do ramo. O (x) indica não sobrevivência de indivíduos da população.

Populações	Períodos	Temperaturas								
		15	18	20	23	25	28	30	33	35
CE	A	x	0	1	0	7	7	5	0	1
	B	x	8	5	19	8	12	12	0	1
BA	A	0	0	1	3	8	1	7	1	x
	B	0	1	11	11	6	19	17	18	x
ES	A	0	0	2	2	0	1	0	0	x
	B	0	0	3	3	0	4	1	0	x
SC	A	x	0	0	0	0	0	0	0	x
	B	x	2	0	1	1	2	0	0	x

Tabela 4 – *Gracilaria caudata*: número total de ramificações dos três ápices (cm) de um dos indivíduos, selecionado ao acaso, das quatro populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; SC, Santa Catarina), cultivado em diferentes temperaturas por um período de 15 dias (A) e 28 dias (B). O (x) indica não sobrevivência de indivíduos da população.

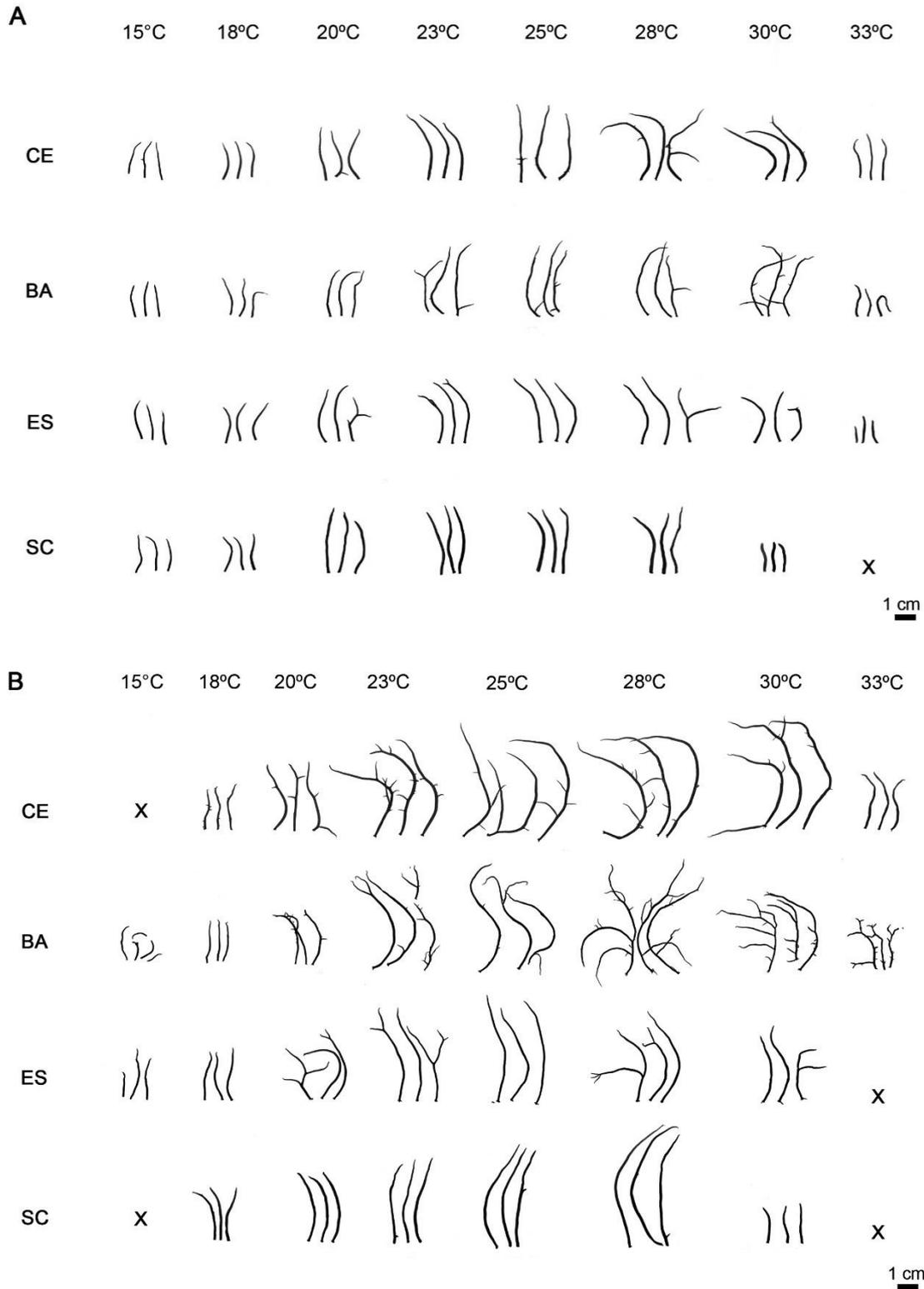


Figura 8 – *Gracilaria caudata*: ramos de gametófitos femininos de quatro populações distintas (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; e SC, Santa Catarina) cultivados por 15 dias (A) e 28 dias (B) em diferentes temperaturas (18, 20, 23, 25, 28, 30 e 33°C). (X) representa morte dos indivíduos para aquele tratamento de temperatura. Um único indivíduo do CE sobreviveu à temperatura de 35°C.

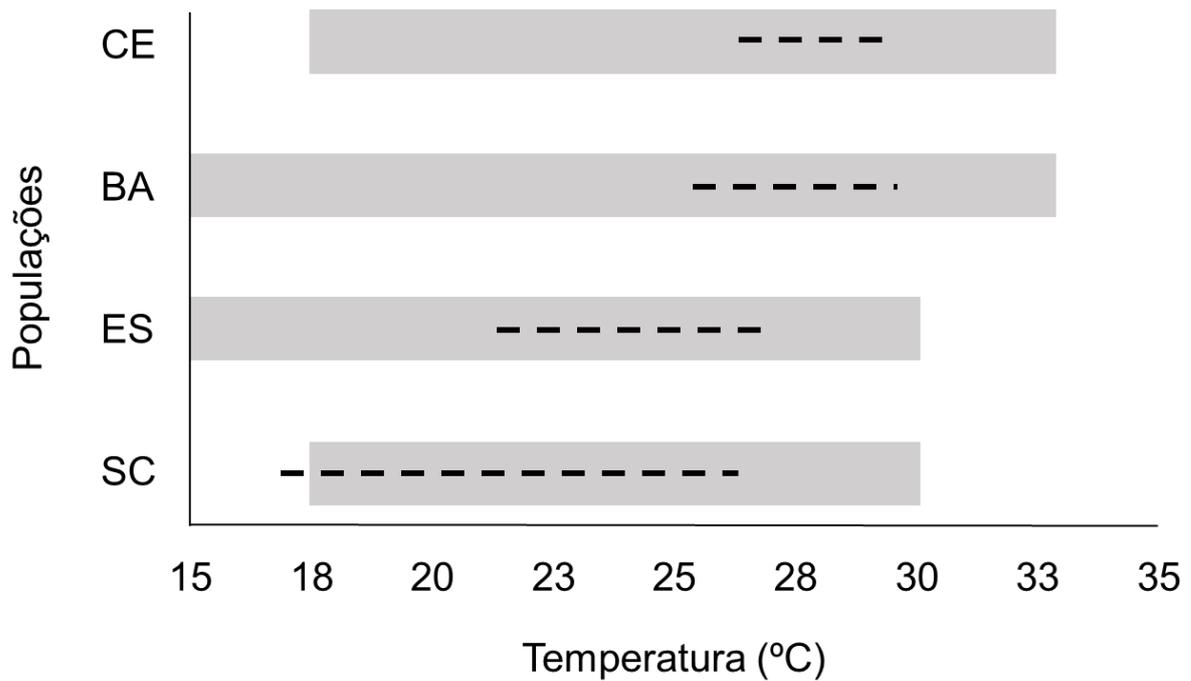


Figura 9 – *Gracilaria caudata*. Limites térmicos verificados para indivíduos procedentes de populações dos estados do Ceará (CE), Bahia (BA), Espírito Santo (ES) e Santa Catarina (SC) (retângulos coloridos), cultivados em nove diferentes tratamentos de temperaturas (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33 e 35°C) e as temperaturas mínimas e máximas observadas na superfície do oceano relativas às coordenadas indicadas de cada local de coleta das populações utilizadas neste experimento (linhas tracejadas). Os limites foram estabelecidos quando pelo menos três dos quatro indivíduos procedentes de cada população sobreviveram até o final do experimento (28 dias). Dados de temperatura da superfície foram obtidos da ferramenta ‘State of the Ocean’ (SOTO, 2020).

5.2) Fluorescência *in vivo* da clorofila *a*

Os parâmetros da fluorescência *in vivo* da clorofila *a*, rendimento quântico máximo (F_v/F_m) e taxa de transporte de elétrons máxima ($ETR_{m\acute{a}x}$), em *G. caudata* cultivada por 28 dias, foram influenciados pelas populações (CE, BA, ES e SC) e temperaturas (15-35°C) (efeito isolado e interagindo; Figs. 9 e 10). O teste ANOVA indicou que havia interação entre as variáveis ‘temperatura’ ($F = 164,10$; $p = 0,00$), ‘população’ ($F = 144,02$; $p = 0,00$) e ‘temperatura x população’ ($F = 41,64$; $p = 0,00$) para F_v/F_m . Para a taxa de transporte de elétrons, o teste ANOVA indicou que havia interação entre as variáveis ‘temperatura’ ($F = 46,79$; $p = 0,00$), ‘população’ ($F = 25,74$; $p = 0,00$) e ‘temperatura x população’ ($F = 20,55$; $p = 0,00$). O teste de Newman-Keuls permitiu a identificação de como os tratamentos de temperatura diferenciam-se entre si para o rendimento quântico máximo e taxa de transporte de elétrons máxima. Foram construídas curvas Taxa de Transporte de Elétrons (ETR) X Irradiância (I), para os indivíduos sobreviventes aos experimentos de temperatura (Fig. 12). De acordo com a temperatura

analisada, os indivíduos das diferentes populações apresentaram valores de rendimento quântico máximo (F_v/F_m) distintos (Fig. 10). Comparando as populações separadamente, os valores de $ETR_{m\acute{a}x}$ se mantiveram semelhantes em quase todos os tratamentos, porém, houve alguns valores distintos (Fig. 11). Quando pelo menos três dos quatro indivíduos de uma população morreram, foi desconsiderado o dado do único indivíduo sobrevivente. As Figs. 10 e 11 indicam quando houve morte de todos e ou de pelo menos três dos quatro indivíduos de determinada população. Isso ocorreu com a população do estado do CE a 15°C, com a população do estado do ES a 33°C, e, com a população do estado de SC a 15 e 33°C.

5.2.1) Indivíduos de uma mesma população cultivados em diferentes temperaturas

a) Indivíduos da população do Estado do Ceará

Os dados de F_v/F_m para indivíduos da população do estado do Ceará se mantiveram semelhantes para os cultivos das temperaturas de 18 a 33°C. Não houve avaliação de fluorescência *in vivo* da clorofila *a* para os tratamentos de temperatura a 15 e 35°C, por ter ocorrido morte de três ou mais indivíduos. Com relação aos dados de $ETR_{m\acute{a}x}$, o maior valor foi observado em 18°C ($\pm 1,37$), seguido do observado em 20°C ($\pm 0,99$). Os resultados de $ETR_{m\acute{a}x}$ foram semelhantes para os demais tratamentos de temperatura.

b) Indivíduos da população do Estado da Bahia

Não houve avaliação de fluorescência *in vivo* da clorofila *a* para os tratamentos de temperatura a 35°C, por ter ocorrido morte de três ou mais indivíduos. Com relação à indivíduos da população do estado da Bahia, os valores de F_v/F_m para as temperaturas de 15 ($\pm 0,20$) e 23°C ($\pm 0,36$) foram semelhantes e inferiores aos demais, com exceção dos observados em 28 ($\pm 0,56$) e 33°C ($\pm 0,58$), os quais não diferiram dos verificados em 23°C. Os maiores valores de F_v/F_m foram observados em 18, 20, 25 e 30, os quais foram semelhantes aos valores observados em 28 e 33°C. Com relação a $ETR_{m\acute{a}x}$, estes foram semelhantes e superiores nas temperaturas de 18, 25, 28, 30°C. Valores inferiores de $ETR_{m\acute{a}x}$ foram observados em 15, 20, 23, 33, porém esses não diferiram dos observados em 25, 28 e 30 °C.

c) Indivíduos da população do Estado do Espírito Santo

Para a os indivíduos da população do estado do Espírito Santo, os dados de F_v/F_m apresentaram-se semelhantes, com exceção do observado em 15°C ($\pm 0,31$), que foram inferiores aos demais. Não houve diferenças de $ETR_{m\acute{a}x}$ entre os tratamentos. Não houve avaliação de fluorescência *in vivo* da clorofila *a* para os tratamentos de temperatura a 15, 33 e 35°C, por ter ocorrido morte de três ou mais indivíduos.

d) Indivíduos da população do Estado de Santa Catarina

Não houve sobreviventes aos tratamentos de 15, 33 e 35°C. Os indivíduos da população do estado de Santa Catarina apresentaram dados de F_v/F_m semelhantes para todos os tratamentos de temperatura, com exceção aos 20°C ($\pm 0,56$), que foi maior que demais. Os valores para $ETR_{m\acute{a}x}$ foram semelhantes em quase todos os tratamentos de temperatura, sendo a exceção aos 20°C ($\pm 1,82$), que foi maior os demais. Não houve avaliação de fluorescência *in vivo* da clorofila *a* para os tratamentos de temperatura a 15 e 35°C, por ter ocorrido morte de três ou mais indivíduos.

5.2.2) Indivíduos de diferentes populações cultivados em uma mesma temperatura

a) Tratamento a 15°C

Ao cultivo a 15°C, houve morte de todos ou de pelo menos três dos quatro indivíduos das populações de CE e SC. As populações sobreviventes, ou seja, dos estados da Bahia e do Espírito Santo, apresentaram F_v/F_m com valores distintos, sendo que os dados dos indivíduos do estado do ES foram maiores que os observados para indivíduos do estado da BA ($\pm 0,31$ e $0,20$, respectivamente). Para $ETR_{m\acute{a}x}$, os indivíduos do estado do ES ($\pm 0,64$) apresentaram $ETR_{m\acute{a}x}$ semelhante aos indivíduos do estado da BA ($\pm 0,28$).

b) Tratamento a 18°C

Ao tratamento de temperatura de 18°C, apenas indivíduos das populações dos estados do Ceará ($\pm 0,54$) e de Santa Catarina ($\pm 0,42$) apresentaram valores de F_v/F_m diferentes entre si, sendo CE maior que SC. Indivíduos da as populações dos estados de BA e ES apresentaram valores semelhantes entre si, e semelhantes com CE. Com relação a $ETR_{m\acute{a}x}$, os indivíduos da população do estado do CE ($\pm 1,37$) mostraram dados maiores

e distintos das outras populações. Os demais que foram semelhantes entre si (BA, $\pm 0,71$; ES, $\pm 0,42$; e SC, $\pm 0,53$).

c) Tratamento a 20°C

Em temperatura de 20°C, não houve diferenças entre os valores de F_v/F_m para os indivíduos de todas as populações. Os indivíduos do estado de SC ($\pm 1,82$) apresentaram os maiores valores de $ETR_{m\acute{a}x}$, seguidos dos indivíduos da população de CE ($\pm 0,99$). As menores taxas de $ETR_{m\acute{a}x}$ foram observadas para indivíduos da BA ($\pm 0,71$) e do ES ($\pm 0,51$).

d) Tratamento a 23 °C

Cultivo a 23°C promoveu maior F_v/F_m para os indivíduos das populações do CE ($\pm 0,56$) e do ES ($\pm 0,46$), em comparação com os indivíduos do estado da BA ($\pm 0,36$). Entretanto, indivíduos do estado de SC ($\pm 0,40$) apresentaram valores de F_v/F_m semelhantes aos procedentes da BA e ES. Com relação a $ETR_{m\acute{a}x}$, os indivíduos das populações do CE ($\pm 0,74$) e do ES ($\pm 0,61$) apresentaram valores semelhantes. Os valores observados para os indivíduos do CE foram maiores que os das populações da BA ($\pm 0,31$) e de SC ($\pm 0,36$), semelhantes entre si. Entretanto, esses dados da BA e SC não diferiram dos observados para indivíduos do ES.

e) Tratamento a 25°C

Ao tratamento a 25°C, indivíduos da população do estado do CE ($\pm 0,54$), apresentaram valores de F_v/F_m superiores aos observados para indivíduos do estado do ES ($\pm 0,42$) e de SC ($\pm 0,37$), semelhantes entre si. Os indivíduos da população do estado da BA ($\pm 0,49$) apresentaram dados semelhantes aos dos CE e ES, porém superiores aos verificados para indivíduos de SC. Não houve diferenças entre os indivíduos de todas as populações para $ETR_{m\acute{a}x}$ (CE, $\pm 0,56$; BA, $\pm 0,41$; ES, $\pm 0,49$; SC, $\pm 0,34$).

f) Tratamento a 28°C

Ao tratamento de temperatura 28°C, apenas os indivíduos do estado do CE ($\pm 0,53$) e de SC ($\pm 0,41$) apresentaram valores de F_v/F_m diferentes entre si, sendo CE maior que SC. Não houve diferenças entre os indivíduos de todas as populações para $ETR_{m\acute{a}x}$ (CE, $\pm 0,71$; ES, $\pm 0,57$; BA, $\pm 0,34$; e SC, $\pm 0,34$).

g) Tratamento a 30°C

Em temperatura de 30°C, não houve diferenças entre os valores de F_v/F_m entre nenhum dos indivíduos das populações estudadas. Referente a $ETR_{máx}$, também não houve diferenças entre as populações.

h) Tratamento a 33°C

Para a temperatura de 33°C, houve morte de todos ou de pelo menos três dos quatro indivíduos das populações de ES e SC. Entre os indivíduos dos estados do CE ($\pm 0,58$) e da BA ($\pm 0,44$) os valores de F_v/F_m apresentaram-se distintos entre si, sendo o de CE maior que o de BA. Os valores para $ETR_{máx}$ foram semelhantes entre CE ($\pm 0,52$) e BA ($\pm 0,25$).

i) Tratamento a 35°C

Houve apenas um indivíduo da população do estado do CE que sobreviveu à temperatura de 35°C. Porém, seus ápices estavam extremamente debilitados ao final do experimento, e não houve avaliação de fotossíntese.

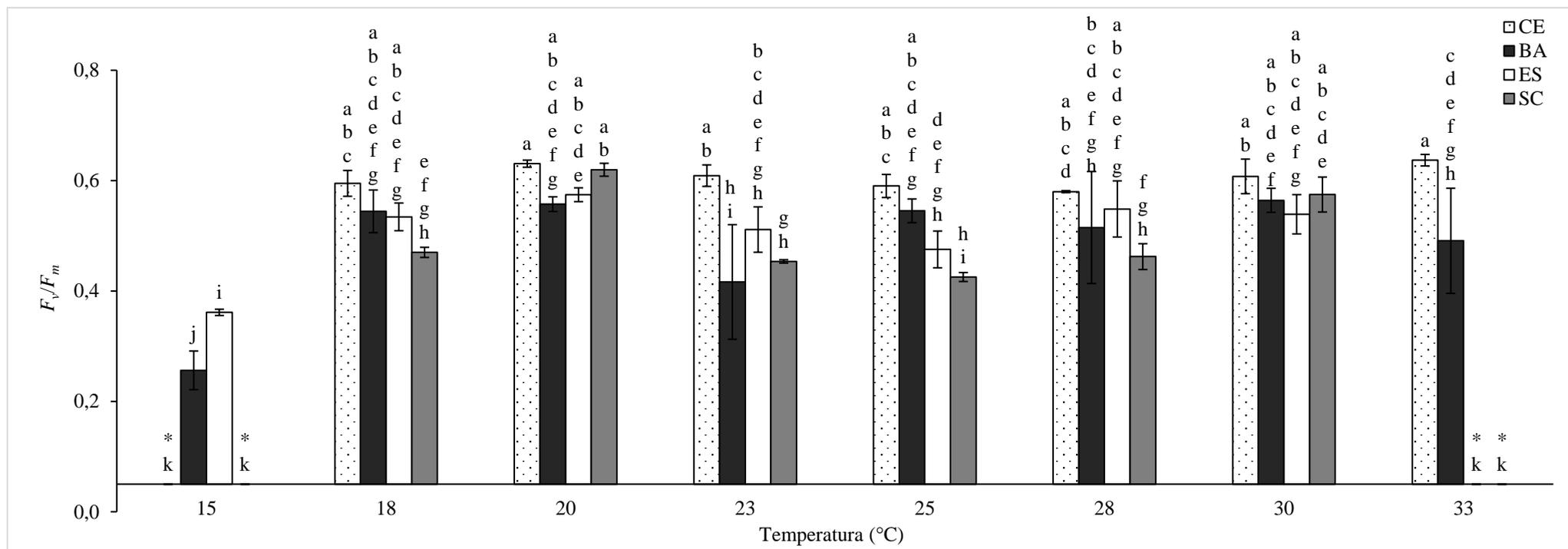


Figura 10 - Rendimento quântico máximo (F_v/F_m): Medições realizadas em gametófitos femininos de *Gracilaria caudata* de quatro diferentes populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; SC, Santa Catarina) quando submetidos a nove tratamentos de temperatura (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30 e 33°C). Os dados são representados por médias e desvio padrão (n=4) para o experimento de 28 dias. As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os valores de média de acordo com os testes ANOVA e Newman-Keuls ($P < 0.05$). (*) Indica que houve morte de todos ou pelo menos três dos quatro indivíduos de determinada população, sendo considerado o valor do tratamento igual a zero. O tratamento de temperatura de 35°C não foi incluído no gráfico, devido à maioria ou todos os indivíduos da população não ter resistido ao experimento.

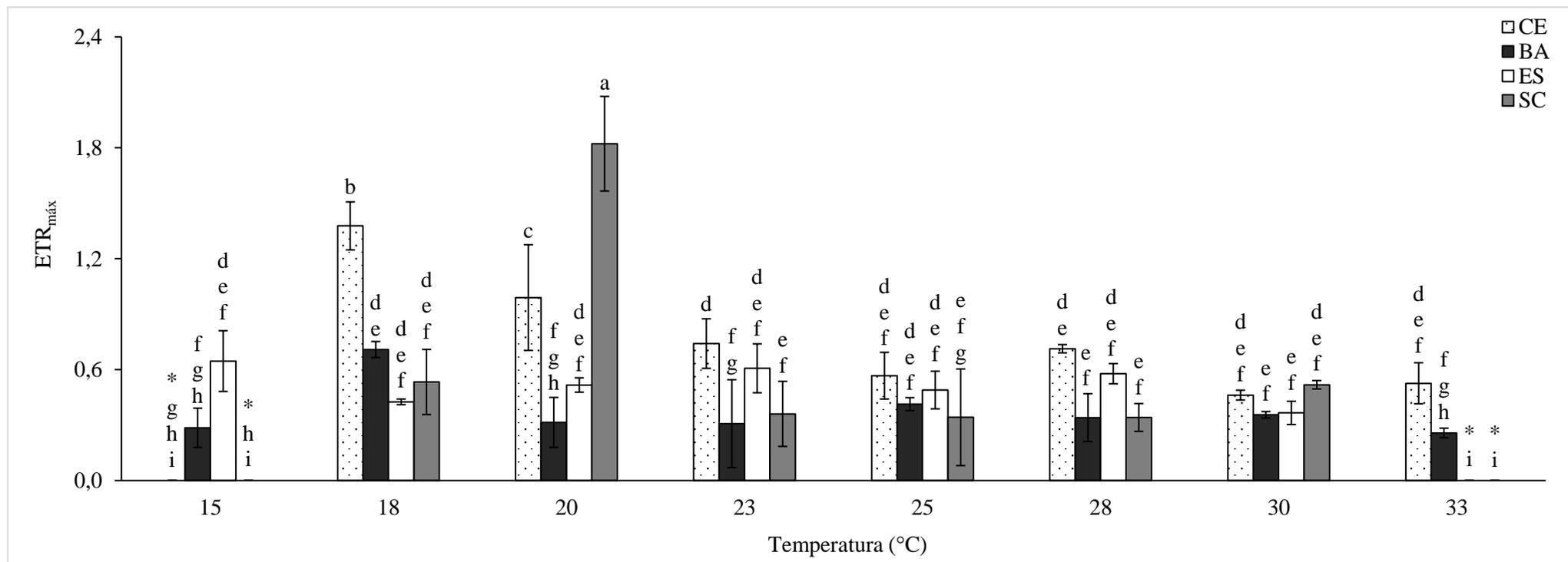


Figura 11 – Taxa de transporte de elétrons máxima ($ETR_{m\acute{a}x}$): Medições realizadas em gametófitos femininos de *Gracilaria caudata* de quatro diferentes populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; SC, Santa Cararina) quando submetidos a nove tratamentos de temperatura (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33, e 35°C). Os dados são representados por médias e desvio padrão (n=4), para o período de 28 dias de cultivo. As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os valores de média de acordo com os testes ANOVA e Newman-Keuls ($P < 0.05$). (*) Indica que houve morte todos ou de pelo menos três dos quatro indivíduos de determinada população, sendo considerado o valor do tratamento igual a zero. O tratamento de temperatura de 35°C não foi incluso no gráfico, devido à maioria ou todos os indivíduos da população não ter resistido ao experimento.

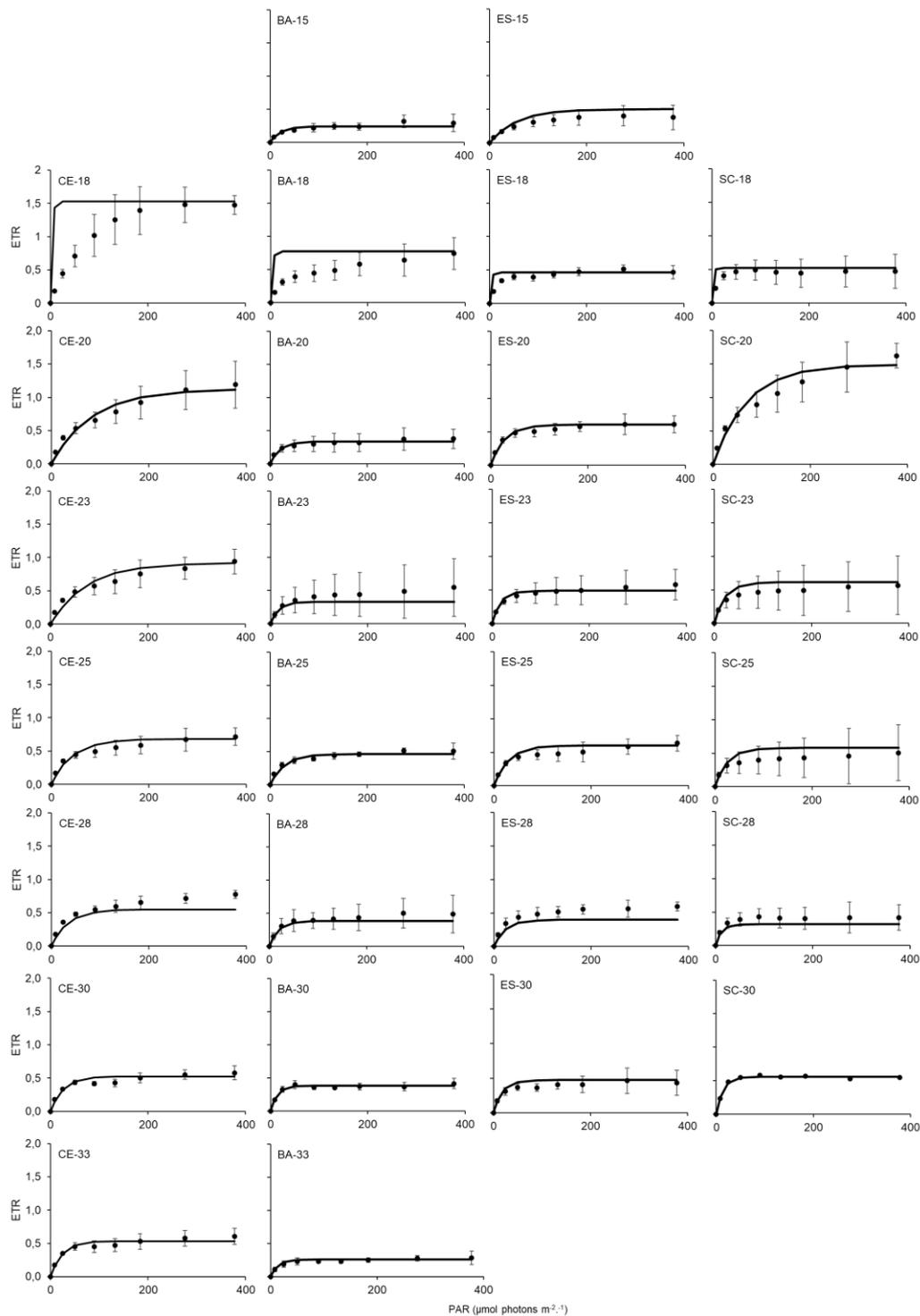


Figura 12 - *Gracilaria caudata*: curvas de Fotossíntese-Irradiância obtidas pelo método da fluorescência in vivo da clorofila *a* de gametófitos femininos de diferentes populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; SC, Santa Catarina) quando cultivados em nove tratamentos de temperatura (15, 18, 20, 23, 25, 28, 30, 33, e 35°C) durante 28 dias. O tratamento a 35°C não foi avaliado, pois houve apenas um ou nenhum indivíduo sobrevivente. Curvas representam os resultados obtidos no 28º dia de cultivo.

5.3) Quantificação de ficobiliproteínas, clorofila *a* e carotenoides

Foi realizada a extração e quantificação pigmentar de todos os ápices/ramos sobreviventes do experimento de temperatura. Entretanto, devido a um problema técnico no freezer de armazenamento das amostras, os indivíduos das populações de Santa Catarina e Bahia tiveram que ser descartados. Sendo assim, serão apenas representados os dados dos indivíduos das populações do Ceará e de Espírito Santo.

Houve morte de todos ou de pelo menos três dos quatro indivíduos ($n=4$) da população do estado do CE a 15 e 35°C e dos indivíduos da população do estado do ES a 15, 33 e 35°C. Sendo assim, não há dados para concentração de pigmentos para essas temperaturas. Foi possível analisar e quantificar as ficobiliproteínas (ficoeritrina, ficocianina e aloficocianinas), a clorofila *a* e os carotenoides dos indivíduos dos estados do CE e do ES. Foram realizadas análises estatísticas para cada pigmento separadamente e comparando as variáveis ‘população’ e ‘temperatura’, e a interação ‘população x temperatura’. O teste de ANOVA e o teste de Newman-Keuls (*a posteriori*) mostraram as diferenças significativas entre as populações e o efeito da temperatura para cada um dos pigmentos analisados (Fig.13).

a) Ficoeritrina

Com relação ao pigmento ficoeritrina (FE), foi verificada interação entre as variáveis citadas acima (‘população’: $F=177,20$ e $p<0.00$; ‘temperatura’: $F=29,44$ e $p<0.00$; ‘população x temperatura’: $F=10,49$; e $p<0.00$). Não houve diferenças na concentração pigmentar entre os indivíduos de ambas as populações (estados do CE e do ES), aos tratamentos de temperatura a 18, 20 e 30°C. Nos tratamentos de temperatura a 23, 25 e 28°C a concentração de FE foi maior para os indivíduos da população do ES do que para os da população do CE.

Para os indivíduos da população do estado do CE, não houve diferenças na concentração pigmentar de FE entre 18-28°C, apenas a 30°C ($\pm 767,61$) houve um aumento desses valores. Com relação aos indivíduos do estado do ES, as menores concentrações de FE ocorreram em temperaturas mais baixas, de 18 ($\pm 384,05$) e 20°C ($\pm 379,60$), valores semelhantes entre si. As maiores concentrações de FE para indivíduos do ES ocorreram em 25 ($\pm 986,18$), 28 ($\pm 958,01$) e 30°C ($\pm 949,65$), sendo todos semelhantes entre si; valores intermediários entre as menores e maiores temperaturas foram observados em 23°C ($\pm 643,40$).

b) Ficocianina

O pigmento ficocianina (FC) mostrou interação entre as variáveis estudadas ('população': $F=136,161$ e $p<0.00$; 'temperatura': $F=42,43$ e $p<0.00$; 'população x temperatura': $F=20,53$; e $p<0.00$). Ocorreu em quantidades mais elevadas para indivíduos da população do ES em quase todos os tratamentos de temperatura, com exceção de 20°C ($\pm 96,81$), em que o valor de concentração foi semelhante ao da população do estado do CE; e aos 30°C, em que os indivíduos da população do estado do CE ($\pm 283,60$) mostraram maior concentração desse pigmento que os do estado do ES ($\pm 267,90$). Apenas à temperatura de 20°C não houve diferenças entre as concentrações de FC em ambas as populações (CE: $\pm 59,11$; e ES: $96,81$).

Com relação às populações, para indivíduos provenientes do estado do CE, não houve diferenças no intervalo de tratamento 18-28°C. Apenas a 30°C houve aumento de concentração pigmentar ($\pm 283,60$). Já para indivíduos da população do estado do ES, os maiores valores foram encontrados em 25 ($\pm 311,53$) e 28°C ($\pm 296,00$). Os valores observados nas demais temperaturas foram inferiores e semelhantes entre si.

c) Aloficocianina

O pigmento aloficocianina (AFC) mostrou interação entre as variáveis estudadas ('população': $F=28,33$ e $p<0.00$; 'temperatura': $F=44,059$ e $p<0.00$; 'população x temperatura': $F=20,05$; e $p<0.00$). Concentrações semelhantes foram observadas entre as populações do CE e ES nas temperaturas de 18, 20 e 23°C. Entretanto, observou-se que os indivíduos do estado do ES apresentaram maiores concentrações de AFC que os do estado do CE às temperaturas de 25 e 28°C. Porém, à temperatura de 30°C, indivíduos do CE ($\pm 715,40$) apresentaram maiores concentrações desse pigmento do que os do ES ($\pm 468,81$).

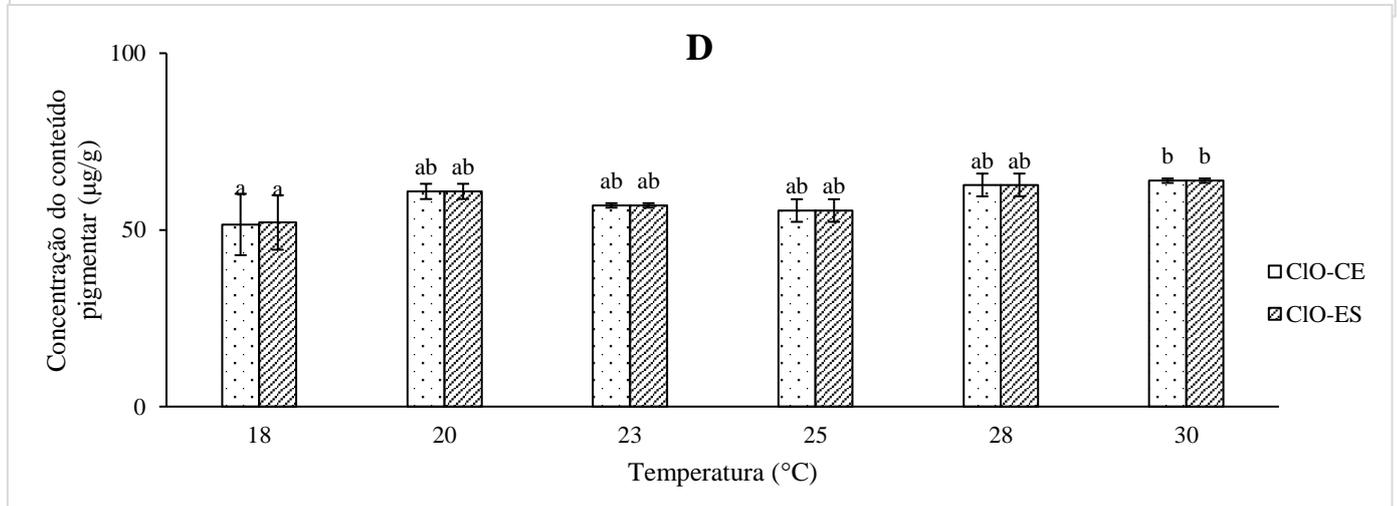
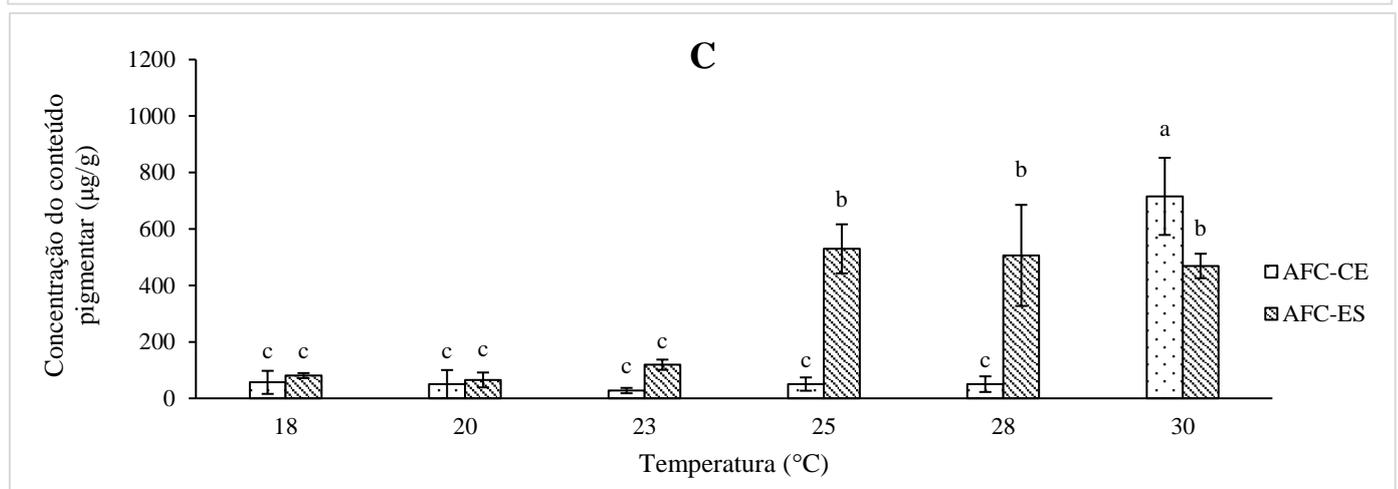
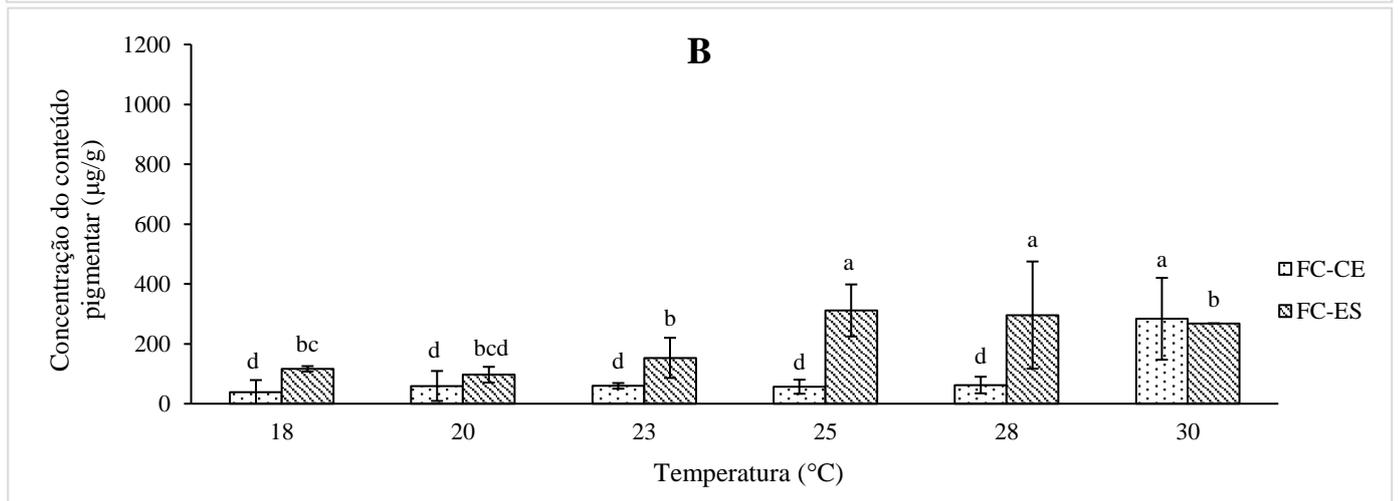
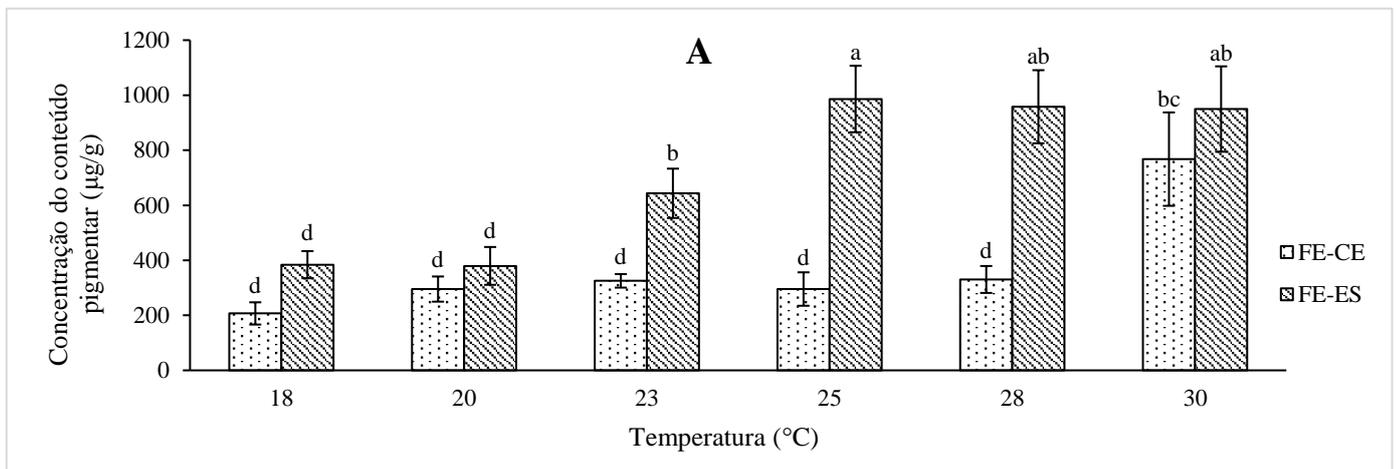
Indivíduos da população do estado do CE apresentaram valores de concentração de AFC semelhantes para os tratamentos de temperatura de 18 a 28°C, entretanto, a concentração pigmentar no tratamento de 30°C foi maior. Indivíduos da população do ES apresentaram valores semelhantes quando cultivados em temperaturas de 25-30°C. Esses valores foram maiores quando comparados aos de temperaturas inferiores, os quais foram semelhantes entre si (18-23°C).

d) Clorofila *a*

O pigmento clorofila *a* mostrou interação apenas para a variável ‘temperatura’, significando que entre as populações não foram observadas interações, ou seja, diferenças, entre as concentrações pigmentares (‘população’: $F=0,005$ e $p<0,943$; ‘temperatura’: $F=8,385$ e $p<0,0001$; ‘população x temperatura’: $F=0,0052$; e $p<0,99$). Diferenças nos valores de concentração desse pigmento para ambas as populações, ocorreram apenas entre 18°C (CE: $\pm 56,95$; ES: $\pm 57,58$) e 30°C (CE: $\pm 70,65$; ES: $\pm 70,65$), sendo o resultado a 30°C maior que o verificado em 18°C. Os valores de concentração nas demais temperaturas foram intermediários aos observados entre 18 e 30°C.

e) Carotenoides

As concentrações de carotenoides mostraram interação entre todas as variáveis estudadas (‘população’: $F= 54,30$ e $p<0,00$; ‘temperatura’: $F= 8,34$ e $p<0,00$; ‘população x temperatura’: $F= 3,21$; e $p< 0,02$). Nos tratamentos de temperatura a 18, 20, 23 e 30°C, não foram observadas diferenças entre indivíduos das populações do CE e ES. Indivíduos do ES apresentaram maiores concentrações de carotenoides nas temperaturas de 25 e 28°C, quando comparados aos procedentes do CE. Indivíduos da população do estado do CE apresentaram maiores valores de carotenoides em 30°C, quando comparados aos indivíduos cultivados entre 18-28°C, que mostraram valores semelhantes. Os maiores valores para indivíduos do ES foram observados em 25-30°C (semelhantes entre si). Entretanto, os valores observados em 23°C foram semelhantes aos observados em 18, 20 e 28°C.



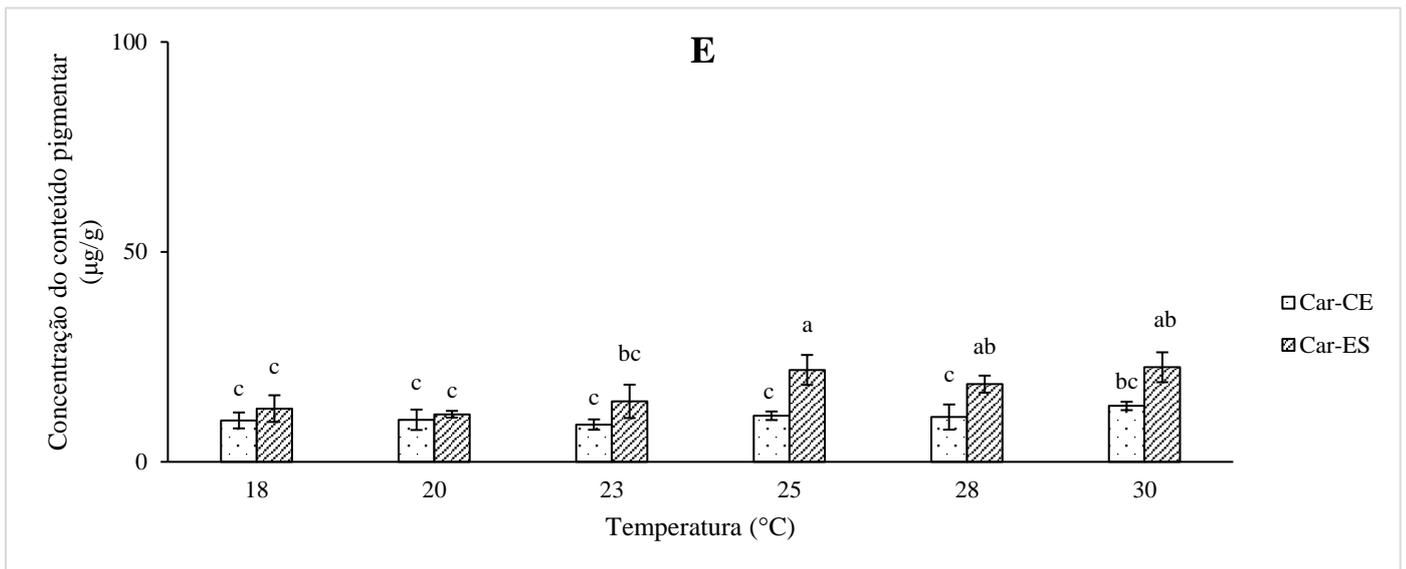


Figura 13 – Concentrações de ficoeritrina (FE) (A), ficocianina (FC) (B), aloficianina (AFC) (C), clorofila *a* (ClO) (D) e carotenoides (Car) (E) de gametófitos femininos de *Gracilaria caudata* de quatro populações (CE, Ceará; BA, Bahia; ES, Espírito Santo; SC, Santa Catarina), que tiveram sobreviventes ao final do experimento, quando submetidos aos seguintes tratamentos de temperatura: 18, 20, 23, 25, 28 e 30°C. Os dados obtidos são representados por médias e desvio padrão (n=4). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os valores de média de acordo com os testes ANOVA e Newman-Keuls ($P < 0.05$).

6) Discussão

Com os dados obtidos neste estudo, foram identificados os principais efeitos de temperatura sobre a espécie de alga vermelha *Gracilaria caudata*. Os experimentos de temperatura, considerando taxa de crescimento, rendimento quântico máximo (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons máxima ($ETR_{m\acute{a}x}$) e composição pigmentar, permitiram-nos verificar diferenças e similaridades entre as quatro populações estudadas provenientes dos estados do Ceará (CE), da Bahia (BA), do Espírito Santo (ES) e de Santa Catarina (SC). Foi observado que, para a maioria das temperaturas avaliadas, os indivíduos da população do estado do CE apresentaram maiores taxas de crescimento, comprimento de talo e valores de F_v/F_m do que os da população do estado de SC, que se situa ao extremo sul de distribuição desta espécie. Os indivíduos das populações dos estados da BA e do ES apresentaram resultados intermediários, ou similares aos indivíduos do estado do CE, ou aos do estado de SC. Com relação à $ETR_{m\acute{a}x}$, observou-se diferenças apenas para os tratamentos de temperatura a 18 e 20°C, sendo que os indivíduos da população do estado de CE apresentam maiores valores de $ETR_{m\acute{a}x}$ que os demais aos 18°C; e, aos 20°C, os indivíduos da população de SC tiveram valores de $ETR_{m\acute{a}x}$ maiores que os de CE, seguidos pelos da BA e ES, que foram similares entre si.

A análise pigmentar entre indivíduos das populações dos estados de CE e ES mostrou que na faixa dos 23/25°C aos 28°C, os indivíduos do ES apresentaram maior concentração de ficobiliproteínas em geral, e aos 30°C as concentrações foram semelhantes ou que indivíduos do CE apresentaram maiores valores, dependendo da ficobiliproteína analisada. Para clorofila *a*, houve apenas diferença entre os tratamentos de temperatura de 18 e 30°C, sendo que a 30°C a concentração deste pigmento foi maior para ambas as populações. E, por fim, a avaliação dos carotenoides mostrou diferenças apenas sob os tratamentos de 23 a 28°C, sendo que indivíduos do ES apresentaram maiores valores que os observados para os do CE.

Nossos resultados sugerem que as populações estudadas no presente trabalho sejam ecotípicas com relação a variável temperatura. Cada uma delas está exposta a um clima diferente e sujeita a ações abióticas e bióticas locais distintas. As pressões a que essas populações vêm sendo submetidas ao longo da evolução promoveram diferenciação genética, o que possibilitou respostas fisiológicas distintas, quando submetidas às mesmas condições de cultivo. Adaptações relacionadas à irradiância já haviam sido reconhecidas para algumas populações de *G. caudata* (ARAÚJO *et al.* 2014; FARIA *et al.* 2017).

6.1) Limites térmicos

A temperatura é um fator abiótico decisório para a ocorrência das quatro populações estudadas de *G. caudata* (Ceará, Bahia, Espírito Santo e Santa Catarina) em suas determinadas localizações. Pudemos observar que todos os indivíduos, independentemente da população de origem, tiveram pouco crescimento ou morreram, quando submetidos aos tratamentos de temperatura de 15 e 35°C, e em alguns casos isso ocorreu aos 33°C, como para os procedentes dos estados do Espírito Santo (ES) e Santa Catarina (SC) que apresentaram limites térmicos entre 15 a 30°C e 18 a 30°C, respectivamente. Esses limites foram de 18 a 33°C para indivíduos da população do estado do Ceará (CE), e de 15 a 33°C para os indivíduos da população da Bahia (BA). Nota-se que os indivíduos do ES e BA foram os únicos que resistiram a temperatura de 15°C. Os indivíduos da população do estado da BA apresentaram maior amplitude térmica com relação aos demais. Conforme relatado para outras espécies de *Gracilaria*, seus limites térmicos tendem a ser amplos, entretanto, o intervalo entre 33 e 35°C de temperatura parece corresponder à faixa máxima de sobrevivência para a maioria das espécies já estudadas (MCLACHLAN & BIRD, 1984). Em estudos de temperatura realizados com indivíduos da população de *G. caudata* provenientes do estado de São Paulo, houve sugestão de que a faixa de sobrevivência seria de 17,3°C aos 33,1 °C (MACCHIAVELLO *et al.*, 1998), e o mais alto desempenho fisiológico foi observado na faixa dos 25°C aos 30 °C (como *G. verrucosa*, YOKOYA & OLIVEIRA, 1992).

No que se refere às temperaturas extremas (15, 18, 33 e 35°C), a sobrevivência dos indivíduos das populações dos estados da BA e do ES, quando expostos ao tratamento de 15°C, pode ser explicada por sua exposição ao fenômeno da ressurgência, que afeta a região de Cabo Frio, no estado do Rio de Janeiro e propaga águas frias pelas regiões próximas, sendo observadas temperaturas de água do mar com cerca de 10 a 15°C (VALENTIN *et al.*, 1987; VALENTIN, 2001). O estado do Rio de Janeiro está localizado entre os estados do Espírito Santo e de São Paulo, desta forma, promovendo variações climáticas a esta região. Há sugestão de ocorrência de outros pontos de ressurgência pela costa do Brasil, como ao sul da Bahia (KAEMPF & CHAMPMAN, 2016). A ressurgência que ocorre nessa região pode ser um fator que determine a sobrevivência de *G. caudata* procedente deste estado, com relação a temperaturas mais baixas.

Ressalta-se que o levantamento realizado para este estudo a partir de SOTO (2020) é relativo à média das mínimas e máximas temperaturas mensais em um ano todo, não

proporcionando dados referentes a flutuações de temperatura diária ou semanal, como as promovidas pela ressurgência ao longo dos meses em que esta ocorre. Os indivíduos dos estados do Ceará e da Bahia podem ter sobrevivido ao tratamento de temperatura a 33°C, pois estão naturalmente expostos a maior irradiância e temperatura, uma vez que são populações mais próximas da Linha do Equador, podendo ter ocorrido adaptação local a esta situação. Ademais, é importante ressaltar que se trata de populações que apresentam maior diversidade de haplótipos com relação às demais, baseados na análise concatenada do gene COI, espaçador *cox2-3* e 15 microssatélites (AYRES-OSTROCK *et al.* 2019), acarretando em um maior “pool” genético, e assim proporcionando maiores chances de sobrevivência de indivíduos a variações ambientais. Ao contrário do esperado, os indivíduos da população do estado de Santa Catarina não sobreviveram ao tratamento de temperatura a 15°C, apesar de estarem expostos, na natureza, às temperaturas de aproximadamente 16°C, ou até mais baixas durante o período de inverno (SOTO 2020). Entretanto, é importante ressaltar que Santa Catarina é a região limite de distribuição de *G. caudata* ao Sul, e essa população pode estar sob estresse ambiental definitivo para sua ocorrência. Ademais, trata-se de uma população com o registro de apenas dois haplótipos (AYRES-OSTROCK, comunicação pessoal), um deles semelhante ao encontrado para a população do estado de SP (AYRES-OSTROCK *et al.* 2019), o qual foi utilizado no presente estudo. Deste modo, a população de SC parece ser pouco diversa, com menores chances de sobrevivência a variações ambientais drásticas.

Há referências de que os estádios reprodutivos promovem diferenças fisiológicas quando comparados, como observado para *G. birdiae* (BONOMI-BARUFI *et al.*, 2015), por exemplo, e para a própria *G. caudata* (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019; FARIA *et al.*, 2017). No que se refere ao material biológico utilizado no presente estudo, gametófitos femininos foram escolhidos com o pressuposto de haver mínima ou nula interferência do gasto energético para produção de células reprodutivas, e desta forma teríamos uma resposta fisiológica mais precisa quanto ao efeito de diferentes temperaturas sob diferentes populações da espécie.

Temperaturas de 35°C foram letais para indivíduos de todas as populações estudadas. Nossos dados corroboram estudos anteriores em que temperaturas iguais ou acima dos 35°C foram letais para a germinação de esporos de *G. caudata* (como *Hidropuntia caudata*, MIRANDA *et al.* 2012). Nesse estudo, o estresse térmico promoveu efeito em outros aspectos das algas, como a formação de células reprodutivas, uma vez que seu crescimento e fisiologia foram diretamente afetados, sendo as reservas

de energia direcionadas para a sobrevivência do indivíduo em um primeiro momento.

6.2) Aspectos morfológicos

Foi possível observar, sob os tratamentos de temperatura extremos, ou seja, 15, 18, 33 e 35°C, que houve evidentes exemplos de sinais de estresse nos indivíduos de *G. caudata*, independentemente da população analisada. Observou-se diminuição do crescimento, fragilidade do talo e embranquecimento do talo/ápice, que em muitos casos resultaram em morte dos indivíduos. Os sinais de estresse se apresentaram em momentos diferentes, por exemplo, os indivíduos da população do estado de SC tiveram embranquecimento do talo e fragmentação em momento anterior ao dos de CE quando expostos às temperaturas de 18, 33 e 35°C. Indivíduos da população do estado de SC, em especial, demonstraram esses efeitos, principalmente, quando sob tratamentos de temperatura de 33 e 35°C. Esses resultados reforçam a fragilidade da população de SC, possivelmente por estar localizada no limite Sul de distribuição da espécie.

Foi possível verificar, conforme esperado para esta espécie, que houve ocorrência de ramificações, sendo estas mais comuns para os indivíduos da população do estado da Bahia e menos comuns para os da população do estado de Santa Catarina, e sob a faixa de temperatura de 23 a 30°C. Embora baseados em uma das repetições por tratamento de temperatura, esses dados são válidos como uma análise qualitativa, já que essas repetições foram selecionadas por representar o aspecto de todo o conjunto de indivíduos de cada tratamento.

6.3) Taxas de Crescimento

As taxas de crescimento obtidas para *Gracilaria caudata* nas diferentes temperaturas foram semelhantes às encontradas para outras populações já estudadas, havendo diferenças em relação quanto à faixa ótima verificada para cada população. Por exemplo, no atual trabalho, indivíduos de Santa Catarina apresentaram ótimos de crescimento entre 23 e 28°C, enquanto que para a população de São Paulo, as maiores taxas de crescimento ocorreram na faixa dos 25°C aos 30 °C (como *G. verrucosa*, YOKOYA & OLIVEIRA, 1992). Essas diferenças podem tanto ser justificadas por adaptação local das populações a condições de temperatura distintas às quais estão expostas no ambiente, quanto ao fato da metodologia empregada ter sido muito diferente da utilizada em nosso trabalho. Já, as taxas de crescimento obtidas por FARIA & PLASTINO (2015) para as populações dos estados do Ceará e Bahia, nas condições a

25°C e $\pm 70\mu\text{mol de f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, s\u00e3o semelhantes, quando comparadas \u00e0s obtidas no presente estudo, apesar dos autores terem utilizado a concentra\u00e7\u00e3o de 50% para o meio de cultura Von Stosch, e no presente estudo foi utilizada a concentra\u00e7\u00e3o de 25%.

Indiv\u00edduos da popula\u00e7\u00e3o do estado do Cear\u00e1, al\u00e9m de sobreviverem entre a faixa de temperatura dos 18 aos 33°C, apresentaram maiores taxas de crescimento que os indiv\u00edduos das demais popula\u00e7\u00f5es em temperaturas de 23 a 33°C, sobressaindo-se dos demais. Esses indiv\u00edduos, al\u00e9m de estarem expostos a temperaturas mais elevadas que os demais no ambiente em que habitam (25-33°C; SOTO, 2020), est\u00e3o separados das demais popula\u00e7\u00f5es estudadas neste trabalho por barreiras geogr\u00e1ficas entre os estados da Bahia e de Pernambuco, sendo elas a cadeia submarina vulc\u00e2nica Vit\u00f3ria-Trindade (PINHEIRO *et al.*, 2017) e a foz do Rio S\u00e3o Francisco (CARNAVAL & MORITZ, 2008). Ressalta-se ainda que, de todas as popula\u00e7\u00f5es estudadas, esta \u00e9 a que apresenta a maior diversidade de hapl\u00f3tipos (AYRES-OSTROCK *et al.* 2019), o que possivelmente proporciona maiores chances de sobreviv\u00eancia de indiv\u00edduos a varia\u00e7\u00f5es ambientais.

As taxas de crescimento observadas para indiv\u00edduos das popula\u00e7\u00f5es da BA e ES foram semelhantes em temperaturas de 15-23 e 30°C. Sabe-se que indiv\u00edduos da Bahia compartilham hapl\u00f3tipos com a popula\u00e7\u00e3o do Cear\u00e1, por\u00e9m n\u00e3o compartilham hapl\u00f3tipos com indiv\u00edduos da popula\u00e7\u00e3o do estado do Esp\u00edrito Santo, a qual apresenta hapl\u00f3tipo \u00fanico (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019). Este \u00faltimo \u00e9 considerado um estado localizado na “regi\u00e3o de transi\u00e7\u00e3o”, juntamente ao da Bahia (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019; NAUER *et al.* (2019). De modo geral, as taxas de crescimento verificadas para indiv\u00edduos procedentes das popula\u00e7\u00f5es dos estados da Bahia e Esp\u00edrito Santo assemelharam-se mais com as observadas para a popula\u00e7\u00e3o do estado de Santa Catarina do que a do Cear\u00e1. Os indiv\u00edduos da popula\u00e7\u00e3o de Santa Catarina apresentaram taxas de crescimento superiores \u00e0s das demais popula\u00e7\u00f5es no tratamento de temperatura a 18°C. Esses resultados s\u00e3o compat\u00edveis \u00e0s temperaturas a que s\u00e3o submetidos ao longo do ano, que est\u00e3o na faixa dos 15 aos 28°C (SOTO, 2020).

6.4) Fluoresc\u00eancia *in vivo* da clorofila *a*

A fluoresc\u00eancia *in vivo* da clorofila *a* \u00e9 considerada como um dado suporte, ou seja, auxilia na interpreta\u00e7\u00e3o de outros dados, como as taxas de crescimento. Esse m\u00e9todo vem sendo aplicado em algas marinhas, uma vez que se desenvolveram ferramentas mais precisas e capazes de realizar tais medi\u00e7\u00f5es (ENRIQUEZ & BOROWITZKA, 2011). Medi\u00e7\u00f5es de F_v/F_m devem considerar fatores como crescimento e idade, condicionamento

e exposição à luz (ENRIQUEZ & BOROWITZKA, 2011). O presente estudo considerou medições de ápices, que se desenvolveram nas mesmas condições de exposição à luminosidade, validando assim a precisão dos dados de F_v/F_m obtidos. Ademais, as medições ocorreram em horários similares, e com exposição ao escuro de 30 minutos de forma o mais precisa possível. Outro fator que poderia influenciar a precisão das medições de fluorescência *in vivo* é a presença de contaminantes, que, neste caso, está fora de cogitação, uma vez que os cultivos eram unialgáceos. No que se refere ao $ETR_{m\acute{a}x}$, consideramos o modelo de curva de luz, para determinarmos a taxa de transporte de elétrons máxima, após exposição de 30 minutos ao escuro.

A temperatura não mostrou influência sobre F_v/F_m para cada uma das populações estudadas, com algumas exceções, como no caso dos indivíduos do estado da Bahia aos 23°C (menor às demais temperaturas) e de SC aos 20°C (maior às demais temperaturas). É interessante ressaltar também que aos 15°C, os valores de F_v/F_m dos indivíduos do estado da Bahia foram os menores encontrados para essa população. Porém, ao compararmos os dados observados entre populações, os valores obtidos para indivíduos do estado do CE foram maiores que os de SC em quase todos os tratamentos de temperatura, com exceção dos 20°C. Ressalta-se que nessa temperatura as taxas de crescimento foram semelhantes para ambas as populações, e nas temperaturas de 23-33°C, indivíduos do CE apresentaram os maiores valores, compatíveis com os dados obtidos para F_v/F_m .

Não foi possível também identificar diferenças significativas nos valores de $ETR_{m\acute{a}x}$ dentro de cada uma das populações em relação à temperatura. Ocorreram casos em que houve diferenças entre os indivíduos sob alguns tratamentos de temperatura, como por exemplo, os indivíduos do estado do CE aos 18°C, indivíduos de SC e CE aos 20°C, que foram maiores que os demais; e, os indivíduos dos estados do ES e da BA aos 15°C, sendo os dados do ES maiores que os da BA.

Dados de fotossíntese para diferentes populações de *G. caudata* que ocorrem na costa brasileira são limitados. A maioria deles se referem à temperatura de 25°C, sendo avaliados outros fatores como irradiância e variantes de cor, por exemplo. (ARAÚJO *et al.*, 2014; AYRES-OSTROCK, 2014; FARIA & PLASTINO, 2016; FARIA *et al.*, 2017, MARCHI & PLASTINO, 2020). Além disso, as condições abióticas empregas nesses artigos diferem em maior ou menor grau das utilizadas por nós, impossibilitando comparações com os dados obtidos no presente trabalho. Entretanto, foi possível traçar um paralelo entre os dados de campo para indivíduos das populações dos estados do CE

e do ES (AYRES-OSTROCK, 2014); porém, os obtidos pela autora foram maiores, uma vez que as avaliações de fotossíntese foram realizadas logo após a coleta.

Nossos resultados mostram que é possível identificar diferenças marcantes entre os dados de $ETR_{m\acute{a}x}$ e F_v/F_m ao compararmos os indivíduos das populações dos estados do CE e de SC em alguns tratamentos de temperatura específicos. Além disso, reforçam que os indivíduos procedentes dos estados de ES e da BA fazem parte de populações de transição, mostrando respostas fotossintetizantes semelhantes à população do estado de CE, ou de SC. Assim, os dados relacionados aos parâmetros de fotossíntese corroboram também a hipótese de ocorrência de ecótipos de temperatura para *G. caudata*.

6.5) Composição pigmentar

Conforme mencionado anteriormente, para este experimento, obtivemos apenas resultados dos indivíduos das populações dos estados do Ceará e do Espírito Santo, devido a um problema técnico do freezer onde estavam armazenadas as amostras. Deste modo, não se fez possível comparação entre indivíduos das populações consideradas de ocorrência extrema na costa do Brasil, ou seja, entre Ceará e Santa Catarina. A extração pigmentar de *Gracilaria caudata* apresentou perfil de maior concentração pigmentar de ficobiliproteínas, sendo encontradas em maior concentração as ficoeritrinas, conforme esperado para algas vermelhas (GLAZER *et al.*, 1994), seguidas das aloficocianinas e das ficocianinas. Depois das ficobiliproteínas, o pigmento em maior concentração foi a clorofila *a* e por último os carotenoides.

Quanto à *G. caudata*, não existem trabalhos que investigaram o efeito da temperatura na composição pigmentar. Geralmente, são realizados experimentos referentes ao efeito da irradiância, uma vez que esse fator está mais diretamente relacionado aos pigmentos (ARAÚJO *et al.* 2014). Esses autores, analisaram o efeito da irradiância e de UV-B em indivíduos de uma população de *G. caudata* do estado do Ceará. Na irradiância de $70 \mu\text{mol.f\acute{o}tons.m}^{-2}.s^{-1}$ e temperatura a 25°C , os valores da concentração pigmentar de ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina obtidos no nosso trabalho, nessa temperatura, foram semelhantes aos verificados por ARAÚJO *et al.* (2014). Quanto aos pigmentos clorofila *a* e carotenoides, as populações do CE e ES apresentaram valores semelhantes entre si e semelhantes também aos obtidos por ARAÚJO *et al.* (2014), referente a população do CE. FARIA *et al.* (2015) trabalharam com populações do CE, BA e SP, em temperatura de 25°C ; porém, a concentração do meio de cultura Von Stosch foi diferente (50%), e o experimento ocorreu por 30 dias, não sendo possível realizar

comparações precisas, já que as metodologias foram distintas. Entretanto, os valores de concentração pigmentar encontrados em nosso experimento foram aparentemente menores do que os encontrados por FARIA et al. (2015).

A maioria das ficobiliproteínas apresenta estabilidade entre os 4 a 40°C, sendo que a partir dos 60-80°C diminuem em concentração e eficiência (RASTORGI *et al.*, 2015; SALURI *et al.*, 2019). Considerando essa informação, sua sobrevivência, mesmo que quando expostas às temperaturas mais extremas deste experimento, não deve ser afetada. No que se refere à composição pigmentar encontrada para as populações dos estados do CE e do ES, uma localizada na região nordeste e outra localizada na região de transição, respectivamente, os resultados mostraram que na faixa de temperatura dos 18 aos 23°C, não houve diferenças significativas na concentração de ficobiliproteínas entre os indivíduos. Porém, a partir dos 23 e até os 28°C, os indivíduos da população do estado do ES apresentam aumento na concentração de ficobiliproteínas, mostrando valores maiores que os dos indivíduos do estado do CE. Ocorre alteração deste perfil ao tratamento de temperatura de 30°C, em que a concentração pigmentar dos indivíduos procedentes do estado do Ceará foi maior (ficocianina e aloficocianina) ou semelhante (ficoeritrina) a dos indivíduos procedentes do ES.

Considerando o ambiente onde ocorrem, os indivíduos da população do estado do CE estão naturalmente expostos a uma maior irradiância solar do que os da população do ES (ATLAS BRASILEIRO DE ENERGIA SOLAR, 2017), e conseqüentemente, também estão expostos a temperaturas mais elevadas que ES (SOTO, 2021), justamente por seu posicionamento mais próximo à linha do Equador. Deste modo, sugere-se que o metabolismo dos indivíduos do CE deva estar adaptado a essas condições, não havendo aumento na produção de pigmentos para sua manutenção. Entretanto, conforme observado, houve aumento da concentração pigmentar nos indivíduos do estado do ES em 23-25°C. Talvez, esses resultados possam ser explicados pelo fato dos indivíduos da população do ES estarem expostos a temperaturas mais baixas (SOTO, 2021), que ao sinal de aumento de temperatura, seus mecanismos internos promovam um aumento na concentração pigmentar a fim de garantir a eficiência fotossintetizante. Porém, futuros estudos envolvendo outras populações de *G. caudata* podem evidenciar possíveis explicações.

No que se refere à clorofila *a*, não houve diferenças significativas entre as populações, mas sim com relação à temperatura entre indivíduos de uma mesma população. Aos 18°C, a concentração de clorofila *a* foi menor do que aos 30°C para ambas

as populações. O mesmo resultado foi observado para a alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* (CALIFOUR et al. 2014). Outro experimento, em que três tipos de algas vermelhas foram cozidas, ocorreu modificação das propriedades da clorofila *a*, entretanto, é notável que mesmo após o processo de cocção, ainda havia significativa quantidade deste pigmento, demonstrando sua resistibilidade a altas temperaturas (CHEN & ROCA, 2018). Já, com relação aos carotenoides, os indivíduos da população do estado do ES demonstraram maior concentração deste pigmento acessório a partir dos 23°C, com exceção do tratamento aos 30°C, em que CE e ES não apresentaram diferenças. Esses dados foram similares aos encontrados para a alga verde *Dunaliella bardawil* (BEN-AMOTZ 1996), em que houve aumento da concentração de um tipo de carotenoide, o β -caroteno, conforme o aumento de temperatura.

Pode-se sugerir que, de certo modo, a temperatura promoveu alteração na composição pigmentar de *G. caudata*, especialmente no que se refere a altas temperaturas, assim como ocorrem diferenças entre as populações. Esses resultados corroboram também a ocorrência de ecótipos de temperatura para essa espécie. A fim de complementar os dados obtidos neste estudo, seria interessante a realização de futuros estudos, que incluíssem outras populações das regiões “sudeste” e “nordeste”.

6.6) Possíveis impactos do aumento de temperatura no planeta Terra em populações de *G. caudata* que ocorrem na costa do Brasil

Unindo as informações de limites térmicos de cada uma das populações estudadas (Ceará, Bahia, Espírito Santo e Santa Catarina) e as médias anuais de temperatura da superfície do mar (SOTO, 2020), é possível estimar como essas populações de *G. caudata* podem responder ao aumento de temperatura segundo projeção sobre seu aumento no planeta Terra nos próximos anos. Foi possível identificar o quão próximo do limite térmico essas populações estão expostas na natureza, ou seja, a tolerância que essas populações ainda teriam com relação à temperatura que estão expostas e à faixa de temperatura a qual sobreviveriam. Entretanto, deve-se considerar que nossos experimentos foram feitos em condições controladas, e na natureza as populações estão sujeitas à combinação e variação de outros fatores não contemplados experimentalmente, sugerindo cautela na transposição dos dados.

No que se refere aos indivíduos da população do estado CE, cujos limites térmicos verificados em nosso trabalho foram entre os 18 e 33°C, a temperatura média da água a qual estão expostos varia aproximadamente dos 26,4 aos 29,9°C, sendo assim, ocorrendo

uma margem de pelo menos 3°C até atingir seu limite de temperatura máximo. Os indivíduos da população de BA, demonstraram tolerância de 15 a 33°C, sendo expostos a temperaturas médias aproximadas de 25,4 a 29,5°C, ocorrendo tolerância de cerca de 3,5°C para temperatura máxima. Os indivíduos da população de ES têm tolerância de 15 a 30°C de temperatura, estando expostos de 22,3 a 27,7°C, havendo tolerância de cerca de 2,3°C à temperatura máxima. E por fim, referente à população de SC, seu limite térmico é de 18 a 30°C, estando exposta à faixa de 17,2 a 26,5°C, havendo tolerância de 3,5°C com relação ao limite de temperatura máxima observado neste trabalho.

Muito provavelmente estas populações estão expostas a temperaturas mais baixas ou mais altas do que as encontradas pela ferramenta SOTO (2020), uma vez que se trata de médias de temperatura anuais. Entretanto, o período de exposição às temperaturas mais baixas ou mais altas pode ser mais curto do que o simulado neste experimento, que ocorreu por 28 dias consecutivos em mesmo tratamento de temperatura. Durante o ano, podem ocorrer fenômenos que promovam alterações de temperatura, como a variação sazonal, eventos climáticos (como ondas de calor) e oceanográficos (como a ressurgência, citada anteriormente). Esses fenômenos podem aumentar ou diminuir a temperatura local, de forma a aproximar ou distanciar os organismos de seus limites térmicos. Essa dinâmica, de certa forma, pode levar à promoção de seleção de indivíduos mais aptos a resistir às mudanças, ou promover surgimento de novas características genéticas para tais populações.

É importante ressaltar como se estruturam geneticamente as populações estudadas, e tentar relacionar esse fator com as respostas fisiológicas encontradas no presente estudo, ao que se refere às mudanças de temperatura. Populações mais próximas ao seu limite de distribuição ('edge populations') tendem a apresentar características, como menor densidade populacional, maior flutuação quanto ao número de indivíduos e menor variabilidade genética (HAMPE & PETIT, 2005; BONTRAGER & ANGERT, 2018). Dentre as quatro populações estudadas, as que mais se aproximam dessa descrição são as populações dos estados de Santa Catarina e Espírito Santo. Foi observada baixa diversidade genética para estas populações (AYRES-OSTROCK et al. 2019), e, além disso, observamos menor desempenho fisiológico, principalmente com relação à população do estado do SC, em comparação com a população do estado do CE. Ademais, ambas populações estão submetidas às maiores variações de temperatura dentre todas as estudadas, tornando-se um desafio maior sua resistência ao aumento previsto de temperatura no planeta Terra.

No caso da população do estado da Bahia, avaliamos apenas indivíduos que apresentam um dos sete haplótipos que essa população possui (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019). A variabilidade genética encontrada nessa população pode permitir a expressão de fenótipos com maior capacidade de resistência a altas temperaturas (SOMERO, 2009), podendo, a longo prazo, não ser tão ameaçada quanto a um possível aumento de temperatura global.

No que tange à população do estado do Espírito Santo, essa se mostra diferente das demais em alguns aspectos. Apesar de suas respostas fisiológicas serem similares às da Bahia na maioria dos casos, e também similares ou com Ceará ou com Santa Catarina, sua estrutura genética e o ambiente em que está inserida são singulares. A população do Espírito Santo apresenta apenas um haplótipo, que não é compartilhado com nenhuma outra população (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019). O ambiente da costa do estado do ES é atingido pelo fenômeno das ressurgências (VALENTIN *et al.*, 1987; VALENTIN, 2001), expondo os organismos que a habitam a variações inesperadas de temperatura da água, e, além disso, nessa região ocorre grande diversidade de ambientes. A junção desses fatores proporciona a ocorrência de espécies características de clima frio e de clima quente em uma mesma região (HORTA *et al.*, 2001). Outro fator a ser considerado é a possível competição biótica que pode também interferir na seleção de fenótipos mais adaptados de *G. caudata*, o que poderia contribuir para a ocorrência da baixa diversidade genética observada nessa região.

A população do estado do Ceará parece mais propensa a resistir a possíveis aumentos de temperatura, uma vez que se observou a sobrevivência de um indivíduo cultivado sob temperatura de 35°C; e, que a 33°C, apesar de suas taxas de crescimento terem sido menores do que as observadas na faixa de 23 a 30°C, foram superiores às verificadas para os estados de BA, ES e SC. Além disso, essa população apresenta pelo menos nove haplótipos (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019), sendo considerada diversa, e por isso podendo apresentar fenótipos com maior capacidade de resistência a altas temperaturas. Entretanto, apesar da possibilidade dessa população apresentar alta resistência térmica, a costa do estado do Ceará apresenta temperaturas de aproximadamente 31°C (SOTO, 2020), que é próxima da temperatura do limite térmico desta população (33°C).

Apesar das diferenças genéticas (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019) e fisiológicas observadas em nosso trabalho com relação às populações de *G. caudata* procedentes do estado do Ceará e do estado do Espírito Santo, testes de cruzamentos realizados com os

mesmos indivíduos indicaram que ainda há fluxo gênico entre essas populações, tratando-se, portanto, da mesma espécie biológica (CHIARAMONTE et al., 2018).

O aumento de temperatura global está ocorrendo ao passo da interferência dos seres humanos no meio ambiente. O processo de adaptação pode ocorrer ao mesmo passo que as mudanças climáticas ou não. Neste último caso, populações estarão sujeitas a maiores períodos de estresse térmico, e conseqüentemente, podem diminuir em abundância ou até deixarem de existir se não apresentarem plasticidade fenotípica para resistir a tais mudanças. Os indivíduos das populações de BA e ES, apresentaram valores, de modo geral, semelhantes entre si, e semelhantes ou com CE ou com SC, dependendo da temperatura estudada. Com relação ao clima que as regiões citadas estão expostas, entre o Ceará e a Bahia o clima caracteriza-se como tropical, e a região do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul se caracteriza como de clima temperado. A região de transição, entre o clima temperado e o clima tropical, mais especificamente a costa do estado do Espírito Santo, apresenta particularidades, sendo muito rica e diversa quando comparada com o restante da costa brasileira (HORTA *et al.*, 2001). Isto, de certa forma, explica a ação do fator climático sobre cada população e a determinação dos grupos haplotípicos sugeridos por AYRES-OSTROCK *et al.* (2019). Ademais, é possível correlacionar a existência de ecótipos de irradiância para *G. caudata*, conforme sugerido por ARAÚJO *et al.* (2014) e FARIA *et al.* (2017), com este trabalho e sugerir a existência de ecótipos de temperatura para esta espécie. A seguir, serão contextualizadas cada aspecto e variável individualmente.

7) Considerações finais

Gracilaria caudata é uma espécie de alga vermelha que apresenta distribuição ao longo de quase toda a costa brasileira, do estado do Maranhão até Santa Catarina. Ocorre também nos mares do Caribe, chegando até o estado da Flórida nos Estados Unidos da América (PLASTINO & OLIVEIRA 1997). Sua abrangente distribuição nos faz questionar sobre como essa alga é capaz de sobreviver a tantas variações de temperatura ao longo do tempo e espaço. Sendo assim, a proposta deste estudo foi compreender os efeitos da temperatura na fisiologia de indivíduos de quatro populações de *G. caudata*, distribuídas ao longo de 10.959 Km, levando-se em consideração também outros aspectos, como as possíveis consequências do efeito do aumento de temperatura previsto no planeta Terra.

Foi possível compreender o perfil de quatro diferentes populações de *Gracilaria caudata* (Ceará, Bahia, Espírito Santo e Santa Catarina) com relação a nove diferentes tratamentos de temperatura, e como essas populações podem responder ao aumento de temperatura previsto para o planeta. Entretanto, deve-se levar em conta que em condições de laboratório ocorre a tentativa de isolar fatores abióticos como variáveis, e aplicar metodologias a favor de compreender seus efeitos, embora esse isolamento possa não representar de forma completamente precisa o que ocorreria em ambiente natural. Foram verificados os limites térmicos de cada uma das populações estudadas. Os indivíduos da população da Bahia foram aqueles que apresentaram capacidade de sobrevivência em maior amplitude térmica (15 a 33°C), seguidos dos indivíduos da população do estado do Ceará (18 a 33°C), do ES (15 a 30°C), e de SC (18 a 30°C). A determinação desses limites permitiu inferir como essas populações responderiam a um possível aumento de temperatura no planeta, além de revelar as temperaturas em que ocorreram o melhor desenvolvimento fisiológico. Esses dados são importantes para avaliar a possibilidade de cultivo dessa espécie para fins comerciais. Nesse sentido, ressalta-se o desempenho fisiológico dos indivíduos procedentes do CE, que se mostraram mais promissores em futuros cultivos.

O aumento de temperatura pode afetar de forma intensa as populações de *G. caudata* ao sul e sudeste do país, uma vez que estão mais próximas ao limite geográfico de ocorrência dessa espécie e mostrarem limites térmicos à temperatura de 30°C. Entretanto, há também chances de as populações da região do nordeste serem afetadas pelo aumento da temperatura, uma vez que ocorrem temperaturas acima dos 30°C nesta

região. O limite térmico para *G. caudata* procedente do Estado do Ceará foi de 33°C, sendo que um possível aumento de temperatura da água do mar pode se aproximar deste limite. Desta forma, tanto as populações do nordeste quanto as do Sul/Sudeste podem estar ameaçadas pelo aumento de temperatura global, porém em escalas diferentes.

Os indivíduos da população do estado do Ceará apresentaram taxas de crescimento e rendimento quântico máximo maiores do que os do estado do SC para temperaturas mais altas (23 a 33°C), enquanto que os indivíduos procedentes de SC apresentaram resultados para estas variáveis maiores que CE quando em tratamentos de temperaturas mais baixas (18 e 20°C). Foi possível observar também que os indivíduos da população do estado da BA, que é considerada uma população de transição (AYRES-OSTROCK *et al.*, 2019), apresentou o maior limite térmico que as demais, o que pode ser uma resposta fisiológica à sua grande diversidade genética e também ao fato de estar submetida a variações de temperatura em seu ambiente natural, como consequência dos efeitos de ressurgência, mesmo que ocorram de forma esporádica (VALENTIN *et al.*, 1987; VALENTIN, 2001; KAEMPF & CHAMPMAN, 2016). A população do estado do ES, que também está na região de transição (como a do estado da BA), por estar exposta a condições ambientais únicas (HORTA *et al.*, 2001), acabou por ser selecionada a ponto de apresentar características diferenciadas das demais populações.

Diante do exposto, é possível afirmar que as quatro populações de *G. caudata* utilizadas neste estudo apresentam perfis diferentes no que tange à resposta a diferentes tratamentos de temperatura. As populações dos estados do Ceará (nordeste) e de Santa Catarina (sul) apresentaram as respostas fisiológicas mais distintas entre si, e as populações dos estados da Bahia e do Espírito Santo apresentam respostas fisiológicas intermediárias, semelhantes à população do CE, ou à de SC. Deste modo, foi possível caracterizar a ocorrência de ecótipos de temperatura e caracterizá-los de acordo com sua sobrevivência a diferentes tratamentos de temperatura. A população do CE está mais adaptada a condições de temperatura mais alta, assim como a população do estado da BA. Já a população do estado de SC está adaptada a temperaturas mais baixas, assim como a população do estado do ES.

8) Referência bibliográfica

ANGILLETTA, M. J.; WILSON, R. S.; NAVAS, C. A.; & JAMES, R. S. (2003). Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends in Ecology & Evolution*. 18, 234–240.

ARAÚJO, F. O.; URSI, S.; & PLASTINO, E. M. (2014). Intraspecific variation in *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, pigment content, and photosynthesis. *Journal of Applied Phycology*. 26, 849–858.

AYRES-OSTROCK L. M. (2014) Estudos populacionais em *Gracilaria birdiae* e *G. caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): aspectos fenológicos, fisiológicos e moleculares. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo. 210p.

AYRES-OSTROCK, L. M.; MAUGER, S.; PLASTINO, E. M.; OLIVEIRA, M. C.; VALERO, M.; & DESTOMBE, C. (2015). Development and characterization of microsatellite markers in two agarophyte species, *Gracilaria birdiae* and *Gracilaria caudata* (Gracilariaceae, Rhodophyta), using next-generation sequencing. *Journal of Applied Phycology*. 28, 653–662.

AYRES-OSTROCK, L. M.; VALERO, M.; MAUGER, S.; OLIVEIRA, M. C.; PLASTINO, E. M.; GUILLEMIN, M. L.; & DESTOMBE, C. (2019). Dual influence of terrestrial and marine historical processes on the phylogeography of the Brazilian intertidal red alga *Gracilaria caudata*. *Journal of Phycology*. 55, 1096–1114.

BONOMI-BARUFI, J. B.; FIGUEROA, F. L.; & PLASTINO, E. M. (2015). Effects of light quality on reproduction, growth and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta: Gracilariales). *Scientia Marina*. 79, 15–24.

BEN-AMOTZ, A. (1996). Effect of low temperature on the stereoisomer composition of beta-carotene in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil* (Chlorophyta). *Journal of Phycology*. 32, 272–275.

BILLOT, C.; ENGEL-GAUTIER, C.; ROUSVOAL, S.; KLOAREG, B.; VALERO, M. (2003). Current patterns, habitat discontinuities and population genetic structure: the case

of the kelp *Laminaria digitata* in the English Channel. Marine Ecology Progress Series. 253, 111-121.

BIXLER, H. J., & PORSE, H. (2010). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. Journal of Applied Phycology. 23, 321–335.

BONTRAGER, M. & ANGERT, A. L. (2018). Gene flow improves fitness at a range edge under climate change. Evolution Letters. 3, 55–68.

BREEMAN, A. M. (1988). Relative importance of temperature and other factors in determining geographic boundaries of seaweeds: Experimental and phenological evidence. Helgoländer Meeresuntersuchungen. 42, 199–241.

BREEMAN, A. M.; & PAKKER, H. (1994). Temperature Ecotypes in Seaweeds: Adaptive Significance and Biogeographic Implications. Botanica Marina. 37.

CAHILL, A. E.; AIELLO-LAMMENS, M. E.; CAITLIN FISHER-REID, M.; HUA, X.; KARANEWSKY, C. J.; RYU, H. Y.; *et al* (2013). Causes of warm-edge range limits: systematic review, proximate factors and implications for climate change. Journal of Biogeography. 41, 429–442.

CALLAGHAN, M. W.; MINX, J. C.; & FORSTER, P. M. (2020). A topography of climate change research. Nature Climate Change. 10, 118–123.

CARNAVAL, A. C. & MORITZ, C. (2008). Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest. Journal of Biogeography. 35, 1187-1201.

CARNEIRO, M. A. A.; MARINHO-SORIANO, E.; & PLASTINO, E. M. (2011). Phenology of an agarophyte *Gracilaria birdiae* Plastino and E.C. Oliveira (Gracilariales, Rhodophyta) in Northeastern Brazil. Revista Brasileira de Farmacognosia. 21, 317–322.

- CASTRO, J. Z., & YOKOYA, N. S. (2018). Growth and biochemical responses of tropical and subtropical strains of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) to temperature and irradiance variations. *Journal of Applied Phycology*. 31.
- CLARKE, A. (2003). Costs and consequences of evolutionary temperature adaptation. *Trends in Ecology & Evolution*. 18, 573–581.
- CHALIFOUR, A.; ARTS, M. T.; KAINZ, M. J.; & JUNEAU, P. (2014). Combined effect of temperature and bleaching herbicides on photosynthesis, pigment, and fatty acid composition of *Chlamydomonas reinhardtii*. *European Journal of Phycology*. 49, 508–515.
- CHEN, K. & ROCA, M. (2018). Cooking effects on chlorophyll profile of the main edible seaweeds. *Food Chemistry*. 266, 368–374.
- CHIARAMONTE, A. R., PARRA, P. A., AYRES-OSTROCK, L. M., & PLASTINO, E. M. (2018). *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) is reproductively compatible along the whole Brazilian coast. *Journal of Applied Phycology*. 31:931–937.
- CHOI, H. G.; KIM, Y. S.; KIM, J. H.; LEE, S. J.; PARK, E. J.; RYU, J. & NAM, K. W. (2006). Effects of temperature and salinity on the growth of *Gracilaria verrucosa* and *G. chorda*, with the Potential for mariculture in Korea. *Journal of Applied Phycology*. 18, 269–277.
- COSTA, E. S.; PLASTINO, E. M.; PETTI, R.; OLIVEIRA, E. C.; & OLIVEIRA, M. C. (2012). The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil—a DNA barcoding approach. *Journal of Applied Phycology*. 24, 1643–1653.
- DAUGHERTY, B. K., & BIRD, K. T. (1988). Salinity and temperature effects on agar production from *Gracilaria verrucosa* Strain G-16. *Aquaculture*. 75, 105–113.
- DAVISON, I. R. (1991). Environmental effects on algal photosynthesis: Temperature. *Journal of Phycology*, 27, 2–8.

DAVISON, I. R. & PEARSON, G. A. (1996). Stress tolerance in intertidal seaweeds. *Journal of Phycology*, 32, 197–211.

EGGERT, A. (2012). Seaweed Responses to Temperature. *Seaweed Biology*, 47–66.

EINECKER, R. & KIRBY, A. (2020). Climate Change: A Bibliometric Study of Adaptation, Mitigation and Resilience. *Sustainability*. 12, 6935.

ENRÍQUEZ, S. & BOROWITZKA, M. A. (2010). The Use of the Fluorescence Signal in Studies of Seagrasses and Macroalgae. *Chlorophyll *a* Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications*. 187–208.

F.A.O. (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2016) The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

FARIA, A. V. F. & PLASTINO, E. M. (2015). Physiological assessment of the mariculture potential of a *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) variant. *Journal of Applied Phycology*. 28, 2445–2452.

FARIA, A. V. F.; BONOMI-BARUFI, J. & PLASTINO, E. M. (2017). Ecotypes of *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): physiological and morphological approaches considering life history phases. *Journal of Applied Phycology*. 29, 707–719.

FERREIRA, J. G.; ARENAS, F.; MARTÍNEZ, B.; HAWKINS, S. J. & JENKINS, S. R. (2014). Physiological response of furoid algae to environmental stress: comparing range centre and southern populations. *New Phytologist*. 202, 1157–1172.

FIGUEIRA, T. A.; MARTINS, N. T.; AYRES-OSTROCK, L.; PLASTINO, E. M.; ENRICH-PRAST, A. & OLIVEIRA, V. P. DE. (2021). The effects of phosphate on physiological responses and carbohydrate production in *Ulva fasciata* (Chlorophyta) from upwelling and non-upwelling sites. *Botanica Marina*. 64, 1–11.

GARCÍA, F. C.; BESTION, E.; WARFIELD, R. & YVON-DUROCHER, G. (2018). Changes in temperature alter the relationship between biodiversity and ecosystem functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 201805518.

GLAZER, A. N. (1994). Phycobiliproteins - a family of valuable, widely used fluorophores. *Journal of Applied Phycology*. 6, 105–112.

GRZYMSKI, J.; JOHNSEN, G. & SAKSHAUG, E. (1997). The significance of intracellular self-shading on the biooptical properties of brown, red, and green macroalgae. *Journal of Phycology*. 33, 408–414.

HALPERN, B.S., WALBRIDGE, S., SELKOE, K.A.; KAPPEL, C.V., MICHELI, F., *et al* (2008) A Global map of human impact on Marine Ecosystems. *Science*. 319: 948-952

HARLEY, C. D. G.; RANDALL HUGHES, A.; HULTGREN, K. M.; MINER, B. G., *et al* (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters*. 9, 228–241.

HARLEY, C. D. G.; ANDERSON, K. M.; DEMES, K. W.; JORVE, J. P.; KORDAS, R. L.; COYLE, T. A.; & GRAHAM, M. H. (2012). Effects of climate change on global seaweed communities. *Journal of Phycology*. 48, 1064–1078.

HAMPE, A. & PETIT, R. J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters*. 8, 461–467.

HOEGH-GULDBERG, O. & BRUNO, J. F. (2010). The Impact of Climate Change on the World's Marine Ecosystems. *Science*. 328, 1523–1528.

HOFMANN, G. E. & TODGHAM, A. E. (2010). Living in the Now: Physiological Mechanisms to Tolerate a Rapidly Changing Environment. *Annual Review of Physiology*. 72, 127–145.

HORTA, P.; AMANCIO, E.; COIMBRA, C.S. & OLIVEIRA, E.C. (2001). Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea*. 28. 243-265.

IBGE (2020) Anuário estatístico do Brasil. 80. 492p.

INNES, D. J. (1984). Genetic differentiation among populations of marine algae. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*. 38, 401–417.

IPCC (2014): Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

IPCC (2018): *Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty* [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, H.-O. Pörtner, D. Roberts, J. Skea, P.R. Shukla, A. Pirani, W. Moufouma-Okia, C. Péan, R. Pidcock, S. Connors, J.B.R. Matthews, Y. Chen, X. Zhou, M.I. Gomis, E. Lonnoy, T. Maycock, M. Tignor, and T. Waterfield (eds.)].

KÄMPF, J. & CHAPMAN, P. (2016). Seasonal Wind-Driven Coastal Upwelling Systems. *Upwelling Systems of the World*. 315–361.

KELLY, S. A., PANHUIS, T. M., & STOEHR, A. M. (2012). Phenotypic Plasticity: Molecular Mechanisms and Adaptive Significance. *Comprehensive Physiology*. 2, 1417-1439.

KING, N. G.; MCKEOWN, N. J.; SMALE, D. A.; WILCOCKSON, D. C., *et al* (2019). Evidence for different thermal ecotypes in range centre and trailing edge kelp populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 514-515, 10–17.

KING, NATHAN G; MCKEOWN, NIALL J; SMALE, DAN A; MOORE, PIPPA J (2017). The importance of phenotypic plasticity and local adaptation in driving intraspecific variability in thermal niches of marine macrophytes. *Ecography*. 41, 1469–1484.

KORDAS, R. L.; HARLEY, C. D. G. & O’CONNOR, M. I. (2011). Community ecology in a warming world: The influence of temperature on interspecific interactions in marine systems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 400, 218–226.

KURSAR, T. A.; VAN DER MEER, J.; & ALBERTE, R. S. (1983). Light-Harvesting System of the Red Alga *Gracilaria tikvahiae*: I. Biochemical Analyses of Pigment Mutations. *Plant physiology*. 73, 353–360.

LICHTENTHALER, H. K. & BUSCHMANN, C. (2001). Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 1, F4.3.1–F4.3.8.

LYRA, G. DE M.; COSTA, E. DA S.; DE JESUS, P. B.; DE MATOS, J. C. G.; *et al.* (2015). Phylogeny of Gracilariaceae (Rhodophyta): evidence from plastid and mitochondrial nucleotide sequences. *Journal of Phycology*. 51, 356–366.

MACCHIAVELLO, J.; PAULA, É. J.; & OLIVEIRA, E. C. (1998). Growth Rate Responses of Five Commercial Strains of *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales) to Temperature and Light. *Journal of the World Aquaculture Society*. 29, 259–266.

MARCHI, F. & PLASTINO, E. M. (2020). Codominant inheritance of polymorphic color mutant and characterization of a bisexual mutant of *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*. 32, 4385–4398.

MACREADIE, P. I.; JARVIS, J.; TREVATHAN-TACKETT, S. M.; & BELLGROVE, A. (2017). Seagrasses and Macroalgae: Importance, Vulnerability and Impacts. *Climate Change Impacts on Fisheries and Aquaculture*. 729–770.

MARTINS, N. T. (2016). Respostas fisiológicas de *Ulva fasciata* Delile (Ulvaes, Chlorophyta): comparação de duas populações de locais termicamente distintos do litoral brasileiro. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo. 73p.

MIRANDA, G. E. C. DE; YOKOYA, N. S. & FUJII, M. T. (2012). Effects of temperature, salinity and irradiance on carposporeling development of *Hidropuntia caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 22, 818–824.

McLACHLAN, J.; & BIRD, C. J. (1984). Geographical and experimental assessment of the distribution of *Gracilaria* species (Rhodophyta: Gigartinales) in relation to temperature. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*. 38, 319–334.

MCCLANAHAN, T.; ATEWEBERHAN, M.; SEBASTIAN, C.; GRAHAM, N.; WILSON, S.; GUILLAUME, M. & BRUGGEMANN, H. (2007). Western Indian Ocean coral communities: Bleaching responses and susceptibility to extinction. *Marine Ecology Progress Series*. 337. 1-13.

NAUER, F.; GURGEL, C. F. D.; AYRES-OSTROCK, L. M.; PLASTINO, E. M. & OLIVEIRA, M. C. (2019). Phylogeography of the *Hypnea musciformis* species complex (Gigartinales, Rhodophyta) with the recognition of cryptic species in the western Atlantic Ocean. *Journal of Phycology*. 55, 676–687.

NOVACZEK, I.; LUBBERS, G. W. & BREEMAN, A. M. (1990). Thermal ecotypes of amphi-Atlantic algae. I. Algae of Arctic to cold-temperate distribution (*Chaetomorpha melagonium*, *Devaleraea ramentacea* and *Phycodrys rubens*). *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 44, 459–474.

NUNES, J. M. C. (2005). Rodófitas marinhas bentônicas do Estado da Bahia, Brasil. Tese de Pós-Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 410p.

OLIVEIRA, E. C. & MIRANDA, G. E. C. (1998). Aspectos sociais e econômicos da exploração de algas marinhas no Brasil. Pp. 147-156. In: E.J. PAULA; M. CORDEIRO-MARINO; D.P. SANTOS; E.M. PLASTINO; M.T. FUJII E N.S. YOKOYA (eds.). IV

Congresso Latino-Americano de Ficologia, II Reunião Ibero-Americana de Ficologia e VII Reunião Brasileira de Ficologia. Caxambu 1996. EXATA Ed. v.II.

OLIVEIRA E.C. & PLASTINO E.M. (1994). Gracilariaceae. In Akatsuka I (ed.) Biology of Economic Algae. The Hague: SPB Academic Publishing. 185-226.

ORFANIDIS, S.; VENEKAMP, L.; & BREEMAN, A. (1999). Ecophysiological adaptations of two Mediterranean red algae in relation to distribution. European Journal of Phycology 34, 469–476.

PEREIRA, E. B.; MARTINS, F. R.; GONÇALVES, A. R.; COSTA, R. S.; LIMA, F. L.; RÜTHER, R.; ABREU, S. L.; TIEPOLO, G. M.; PEREIRA, S. V.; SOUZA, J. G. Atlas brasileiro de energia solar. 2.ed. São José dos Campos: INPE, 2017. 80p.

PETTI, R.; PLASTINO, E. M. (2012) Estudo comparativo de dois processos de esterilização de água do mar para preparação de meios de cultura de algas em laboratório. (ed. por E. OLIVEIRA, G. MIRANDA, E. PAULA, M. CORDEIRO-MARINO E D. SANTOS). XIV Congresso Brasileiro de Ficologia.

PIÑEIRO-CORBEIRA, C.; BARREIRO, R.; CREMADES, J.; & ARENAS, F. (2018). Seaweed assemblages under a climate change scenario: Functional responses to temperature of eight intertidal seaweeds match recent abundance shifts. Scientific Reports, 8.

PINHEIRO, H. T.; BERNARDI, G.; SIMON, T.; *et al.* (2017). Island biogeography of marine organisms. Nature 549, 82–85.

PLASTINO E. M.; OLIVEIRA, E. C. (1997) *Gracilaria caudata* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta)-restoring an old name for a common western Atlantic alga. Phycologia. 36, 225-232.

PLASTINO, E. M. (2008) Diversidade intraespecífica em algas. Série Livros Museu Nacional, Rio de Janeiro. 30, 187-202.

PLASTINO, E. M.; GUIMARÃES, M. (2001). Diversidad intraespecífica. (K.V. Alveal e T.J. Antezana eds.). Sustentabilidad de la Biodiversidad. Concepción, Universidad de Concepción. 19-27.

POLOCZANSKA, E. S.; BROWN, C. J.; SYDEMAN, W. J.; KIESSLING, W.; (2013). Global imprint of climate change on marine life. *Nature Climate Change*. 3, 919–925.

QUINTERO, I.; & WIENS, J. J. (2013). Rates of projected climate change dramatically exceed past rates of climatic niche evolution among vertebrate species. *Ecology Letters*. 16, 1095–1103.

RAFFARD, A.; SANTOUL, F.; CUCHEROUSSET, J.; & BLANCHET, S. (2018). The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis. *Biological Reviews*. 94, 648-661

RASTOGI, R. P.; SONANI, R. R. & MADAMWAR, D. (2015). Physico-chemical factors affecting the in vitro stability of phycobiliproteins from *Phormidium rubidum* A09DM. *Bioresource Technology*. 190, 219–226.

RAVEN, J. A. & GEIDER, R. J. (1988). Temperature and algal growth. *New Phytologist*. 110, 441–461.

SALURI, M.; KALDMÄE, M. & TUVIKENE, R. (2019). Extraction and quantification of phycobiliproteins from the red alga *Furcellaria lumbricalis*. *Algal Research*. 37, 115–123.

SOMERO, G. N. (2010). The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers.” *Journal of Experimental Biology*. 213, 912–920.

SOTO. (2020). State of the Oceans (Nasa). <https://podaac-tools.jpl.nasa.gov/soto/>

SUGGETT, D. J.; PRÁŠIL, O. & BOROWITZKA, M. A. (2011). *Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences*. Springer.

TURRA, A.; CRÓQUER, A.; CARRANZA, A.; MANSILLA, A.; *et al.* (2013). Global environmental changes: setting priorities for Latin American coastal habitats. *Global Change Biology*. 19, 1965–1969.

UN ENVIRONMENT (Ed.). (2019). *Global Environment Outlook – GEO-6: Healthy Planet, Healthy People*. Cambridge: Cambridge University Press.

URSI, S.; & PLASTINO, E. M. (2001). Crescimento *in vitro* de linhagens de coloração vermelha e verde clara de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) em dois meios de cultura: análise de diferentes estádios reprodutivos. *Revista Brasileira de Botânica*. 24.

VALENTIN, J. L.; ANDRE, D. L. & JACOB, S. A. (1987). Hydrobiology in the Cabo Frio (Brazil) upwelling: two-dimensional structure and variability during a wind cycle. *Continental Shelf Research*. 7, 77–88.

VALENTIN, J. L. (2001). The Cabo Frio Upwelling System, Brazil. *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. 97–105.

VERGES, A.; STEINBERG, P. D.; HAY, M. E.; POORE, A. G. B.; *et al.* (2014). The tropicalization of temperate marine ecosystems: climate-mediated changes in herbivory and community phase shifts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 281, 20140846–20140846.

WATTIER, R. & MAGGS, C. A. (2001). Intraspecific variation in seaweeds: The application of new tools and approaches. *Advances in Botanical Research*. 171–212.

WEBB, W. L.; NEWTON, M. & STARR, D. (1974). Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*. *Oecologia*, 17, 281–291.

WELLBURN, A. R. (1994). The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144, 307–313.

YOKOYA, N. S.; OLIVEIRA, E. C. (1992a). Effects of salinity on the growth rate, morphology and water content of some Brazilian red algae of economic importance. *Ciências Marinas*. 18, 49-64.

YOSHIMURA, C. Y. (2006) Avaliação do potencial de cultivo e produção de ágar de *Gracilaria domingensis* e de *Gracilaria caudata* (Rhodophyta, Gracilariales) na Enseada de Armação do Itapocoroy (Penha, Santa Catarina). Tese de pós-doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, Brazil. 166p.

ZAR, J. H. (1996). *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River. 3ª edição.