

CAMILA ORTULAN PEREIRA

Fluxo de matéria orgânica em comunidades bênticas frente a condições atuais e de acidificação dos oceanos

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

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Yukio Gomes Sumida

São Paulo

2016

Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

Fluxo de matéria orgânica em comunidades bênticas frente a condições
atuais e de acidificação dos oceanos

VERSÃO CORRIGIDA

Camila Ortulan Pereira

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

Julgada em __/__/__

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

“Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil – e, no entanto, é a coisa mais preciosa que temos”. (Albert Einstein)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente ao meu orientador de longa data, Paulo Yukio Gomes Sumida, pelo apoio sempre. Minha eterna gratidão pelos ensinamentos, por ter me proporcionado muitas experiências enriquecedoras e pelas conversas que contribuíram em muito na minha formação, tanto profissional quanto pessoal.

Agradeço também à FAPESP pelos financiamentos do projeto ACIDBENTHOS (Processo 2010/20350-8), pela bolsa de doutorado direto (Processo 2012/14032-9) e pela bolsa estágio no exterior (Processo 2014/04328-3), sem os quais nada disso seria possível.

Às amigas de faculdade que se tornaram irmãs Maria, Caroline e Poliana que, entre idas e vindas, sempre estiveram presentes, nos momentos felizes e de crise. À querida Izadora, que entrou na minha vida durante a pós e conquistou um espacinho no meu coração. Obrigada meninas pelas risadas, pelos conselhos, pelo ombro amigo e pela companhia nos caminhos profissionais que percorremos juntas.

Sou muito grata também, em especial, ao Mauricio e a Ana, e também ao Arthur, a Michele e a Karin, que sempre me ajudaram muito desde quando os experimentos eram ainda ideias no papel. Obrigada pela amizade, pela ajuda em campo, nas análises e identificações dos organismos e pelas longas horas de trabalho, seja na chuva, no sol, no calor, no frio, em SP ou em Ubatuba!!

Aos demais amigos do LDB e “agregados”: Joan, Marquinhos, Betina, Romina, Renato, Felipe, Olivia, Paula, Miguel, Cíntia, Thomas, Sandrinha, Paulinha e Juliana. Obrigada pela força nos trabalhos de campo, pelos conselhos, debates científicos, pelas deliciosas horas de café e por estarem sempre dispostos a ajudar. A tantos funcionários do IOUSP e da base de Ubatuba que de alguma forma contribuíram para esse trabalho. Em especial, ao pessoal da oficina, à tripulação do B/Pq. Véliger II, ao Alexandre e todo pessoal do LaQIMar e ao Tomazinho do DOB. AO BMM por fornecer as cepas de Tetraselmis sp. e pela ajuda com o cultivos, em especial à Flávia e a Camila.

I also would like to thank Dr. Dick van Oevelen for hosting me at NIOZ, for all attention and help and Pieter van Rijswijk for technical and laboratory assistance.

Ao Anderson Cleber minha sincera gratidão, não só pelo amor e carinho que muito me ajudou neste importante período, mas também pelo incentivo, paciência e compreensão, mesmo estando do outro lado do oceano. Muito obrigado, meu amor.

Aos meus amados pais, Eliana e Marcos, pelo amor incondicional, dedicação e exemplo. Obrigado pelo apoio sempre e por me proporcionar condições para que eu trilhasse meu próprio caminho. E, à minha irmãzinha Carolina por estar sempre comigo, me ajudar e me apoiar, pelos conselhos e horas de relaxamento, comendo pipoca e vendo nossas séries favoritas!

E por fim, agradeço à Deus e aos bons espíritos amigos pela oportunidade de progredir, pela inspiração e força sempre. Sem fé no coração eu não teria chegado até aqui.

Sumário

Lista de abreviações.....	iii
Índice de Tabelas.....	iv
Índice de Figuras.....	vi
Resumo.....	1
Abstract.....	2
Capítulo 1.....	3
Introdução geral.....	3
1.1. <i>Dinâmica do carbono orgânico em ambientes costeiros</i>	3
1.2. <i>Química do carbono na água do mar</i>	4
1.3. <i>A teia trófica bêntica</i>	7
1.4. <i>Isótopos estáveis em estudos ecológicos</i>	8
1.5. <i>O sistema costeiro de Ubatuba</i>	11
1.6. <i>Objetivos</i>	13
Capítulo 2.....	15
Fontes de matéria orgânica e estrutura trófica no sistema bêntico da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP).....	15
Resumo.....	15
2.1. Introdução.....	15
2.2. Material e métodos.....	17
2.3. Resultados.....	23
2.4. Discussão.....	35
Capítulo 3.....	39
Tempo de resposta da comunidade bêntica frente à chegada de fitodetritos no sistema costeiro meso-oligotrófico de Ubatuba.....	39
Resumo.....	39
3.1. Introdução.....	40
3.2. Material e métodos.....	42
3.3. Resultados.....	50
3.4. Discussão.....	61
Capítulo 4.....	66
Fluxo de matéria orgânica em comunidades bênticas da zona costeira de Ubatuba frente a condições de acidificação dos oceanos.....	66
Resumo.....	66

4.1. Introdução.....	66
4.2. Material e métodos	68
4.3. Resultados.....	73
4.4. Discussão	92
Capítulo 5.....	97
Considerações finais e respostas às hipóteses	97
Referências bibliográficas	99
Apêndice	115

Lista de abreviações

MO – Matéria orgânica

MOP - Matéria orgânica particulada

TERR - Material orgânico terrestre

COT – Carbono orgânico total

AO – Acidificação dos oceanos

CID - Carbono inorgânico dissolvido

ACAS – Água Central de Atlântico Sul

AC – Água Costeira

AT - Água Tropical

NT – Nível trófico

I – Incorporação do isótopo estável de carbono (^{13}C , em $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) na biomassa dos organismos

PLFA - Ácidos graxos derivados de fosfolipídios (do inglês phospholipid fatty acids)

FAMEs – Ácido Graxo Metil Ester (do inglês Fatty acid Methyl Ester)

SCFA – Ácidos Graxos de Cadeia Curta (do inglês Short Chain Fatty Acids)

MUFA – Ácidos Graxos Monoinsaturados (do inglês Monounsaturated fatty acids)

PUFA – Ácidos Graxos Poli-insaturados (do inglês Polyunsaturated Fatty Acids)

BRANCH – Ácidos Graxos Ramificados (do inglês Branched-chain Fatty Acids)

LCFA – Ácidos Graxos de Cadeia Longa (do inglês Long Chain Fatty Acids)

ΣBac – somatório das concentrações dos PLFA atribuídos a fontes bacterianas

ΣFito - somatório das concentrações dos PLFA atribuídos a fontes fitoplanctônicas

ΣTerr - somatório das concentrações dos PLFA atribuídos a fontes terrígenas

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Localização, profundidade e características da coluna de água na Enseada das Palmas no inverno e primavera de 2013.	23
Tabela 2.2. Características sedimentares da Enseada das Palmas no inverno de 2013.	24
Tabela 2.3. Características sedimentares da Enseada das Palmas na primavera de 2013.	24
Tabela 2.4. Associação típica dos biomarcadores identificados nesse estudo com suas possíveis fontes (Modificado de Canuel e Cloern, 1995). SCFA: ácidos graxos de cadeia curta (<C20), PUFAS: ácidos graxos poli-insaturados e LCFA: ácidos graxos de cadeia longa (>C20).	28
Tabela 2.5. $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) (média \pm desvio padrão) e níveis tróficos (NT) dos componentes da teia trófica bêntica da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP) estudados no inverno de 2013.	32
Tabela 2.6. $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) (média \pm desvio padrão) e níveis tróficos (NT) dos componentes da teia trófica bêntica da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP) estudados na primavera de 2013.	33
Tabela 3.1. Espécies identificadas, biomassa, assinaturas isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$), assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação na biomassa (I) dos organismos da macrofauna dos testemunhos experimentais (T4, T7 e T11 dias). DP = desvio padrão; Ni = número de indivíduos.	53
Tabela 4.1. Valores médios dos parâmetros químicos do sistema carbonato na água do mar utilizada nos tanques experimentais Controle e Tratamento.	75
Tabela 4.2. Densidade média (ind. $0,01\text{m}^{-2}$) das espécies da macrofauna bêntica encontradas nos testemunhos de sedimento do sistema controle por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). DP = desvio padrão.	79
Tabela 4.3. Densidade média (ind. $0,01\text{m}^{-2}$) das espécies da macrofauna bêntica encontradas nos testemunhos de sedimento do sistema tratamento acidificado por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). DP=desvio padrão.	80
Tabela 4.4. Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C}$), assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação na biomassa ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) da macrofauna bêntica nos testemunhos do sistema controle por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). Ni=número de indivíduos, DP=desvio padrão.	84
Tabela 4.5. Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C}$), assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação na biomassa ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) da macrofauna bêntica nos testemunhos do sistema tratamento por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). Ni=número de indivíduos, DP=desvio padrão.	85

Tabela 4.6. Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) dos ácidos graxos derivados de fosfolipídios específicos de bactérias (PLFAs) por profundidade do sedimento e para cada sistema analisado (controle e tratamento). DP=desvio padrão.87

Tabela 4.7. Incorporação total do traçador (I) em $\mu\text{g}^{13}\text{C}.\text{m}^{-2}$ na comunidade bacteriana dos sistemas controle e tratamento acidificado determinada através dos biomarcadores específicos (PLFAs, i-C14:0, i-C15:0, ai-C15:0, i-C17:0 e ai-C17:0).....87

Índice de Figuras

Figura 1. 1. Fluxos de carbono entre fontes, produtores primários e consumidores baseados nas razões isotópicas naturais de carbono (^{13}C). CID = carbono inorgânico dissolvido. Adaptado de Boschker & Middelburg (2002).....	10
Figura 1.2. Mapa da área de estudo mostrando o ponto de coleta na Ilha Anchieta utilizado para a coleta das amostras e realização dos experimentos.	12
Figura 2.1. Perfil vertical dos fitopigmentos analisados na coluna sedimentar no inverno e primavera de 2013 na Enseada das Palmas. Barras de erro indicam desvio padrão (n=3). .	25
Figura 2.2. Contribuição relativa dos principais grupos de ácidos graxos analisados no sedimento da Enseada das Palmas.	27
Figura 2.3. Perfil vertical das fontes de MO definidas a partir dos biomarcadores lipídicos no inverno e primavera de 2013 na Enseada das Palmas.	28
Figura 2.4. Valores médios (\pm desvio padrão) do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) dos componentes da trama trófica da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP) coletados no inverno e primavera de 2013. ...	34
Figura 3.1. Sistema de aquários utilizados nos experimentos: tanques experimentais de circulação na parte superior e sumps na parte inferior.	45
Figura 3.2. A) Sistema de aquários contendo os testemunhos com sedimento; B) Detalhe do tanque de circulação e sensores; C) Testemunhos de sedimento após a adição do fitodetrito marcado.	46
Figura 3.3. Perfis verticais com os valores de clorofila-a e feopigmentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$) do sedimento em cada testemunho e tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).	51
Figura 3.4. Perfis verticais com os valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do sedimento em cada testemunho e tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).	51
Figura 3.5. Distribuição vertical (ind. $0,01\text{ m}^2$) da abundância total da macrofauna nos testemunhos de sedimento do experimento (T4, T7 e T11 dias). As barras de erro representam o desvio padrão.	52
Figura 3.6. Assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$, ‰) dos principais grupos da macrofauna identificados nos testemunhos experimentais (T4, T7 e T11 dias) nas camadas de (a) superfície (0-4 cm) e (b) fundo (4-10 cm) do sedimento. Barras de erro representam o desvio padrão.	56
Figura 3.7. Incorporação média do traçador ^{13}C na biomassa dos organismos da macrofauna por profundidade do sedimento nos diferentes tempos experimentais (4, 7 e 11 dias). As barras de erro representam o desvio padrão.	58

Figura 3.8. Perfil vertical mostrando os de enriquecimento ($\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores bacterianos (iC14:0, iC15:0, aC15:0, iC17:0, aiC17:0) ao longo do tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).	59
Figura 3.9. Valores de enriquecimento ($\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores bacterianos individuais (iC14:0, iC15:0, aC15:0, iC17:0, aiC17:0) ao longo do tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).	59
Figura 3.10. Perfil vertical da incorporação total do traçador nos biomarcadores bacterianos (iC14:0, iC15:0, aC15:0, iC17:0, aiC17:0) ao longo do tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).	60
Figura 4.1. Variação do pH nos sistemas Controle e Tratamento durante os 11 dias de experimento. Os valores indicam medidas pontuais diárias na água dos sistemas.	74
Figura 4.2. Perfis verticais da concentração de clorofila-a e feopigmentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no sedimento dos sistemas Controle e Tratamento ao final dos 11 dias de experimento. Barras de erro representam o desvio padrão (n=3).....	76
Figura 4.3. Perfil vertical mostrando as razões isotópicas de carbono, ($\delta^{13}\text{C}$) do sedimento nos sistemas Controle e Tratamento ao final dos 11 dias de experimento.	77
Figura 4.4. Perfil vertical mostrando a porcentagem de carbono orgânico total (COT) do sedimento nos sistemas Controle e Tratamento ao final de 11 dias de experimento.....	77
Figura 4.5. Densidade média (ind.0,01m^{-2}) dos grupos da macrofauna bêntica encontrados nos testemunhos de sedimento dos sistemas controle e tratamento por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). Barras de erro representam o desvio padrão.	78
Figura 4.6. Enriquecimento em ^{13}C nos organismos da macrofauna bêntica identificados em ambos os sistemas (controle e tratamento acidificado) nas camadas superficiais (A) e de fundo (B).	83
Figura 4.7. Perfil vertical da assimilação bacteriana ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores específicos de bactéria, PLFAs, (i-C14:0, i-C15:0, ai-C15:0, i-C17:0 e ai-C17:0) nos sistemas controle e tratamento acidificado.	86
Figura 4.8. Incorporação (I, $\mu\text{g}^{13}\text{C.m}^{-2}$) na biomassa dos organismos da macrofauna bêntica identificados em ambos os sistemas (controle e tratamento acidificado) nas camadas superficiais (A) e de fundo (B).	90
Figura 4.9. Perfil vertical da incorporação total do traçador (I) em $\mu\text{g}^{13}\text{C.m}^{-2}$ na comunidade bacteriana dos sistemas controle e tratamento acidificado determinada através dos biomarcadores específicos (PLFAs, i-C14:0, i-C15:0, ai-C15:0, i-C17:0 e ai-C17:0). Barras de erro representam o desvio padrão (n=3).....	91

Resumo

O aumento da concentração do dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera vem causando o aquecimento global e a acidificação dos oceanos (AO), os quais cada vez mais são reconhecidos como importantes condutores de mudanças em sistemas biológicos. A AO tem o potencial de alterar de inúmeras maneiras a dinâmica biogeoquímica do carbono orgânico no oceano, levando a uma mudança na qualidade da matéria orgânica (MO) disponível para os organismos marinhos. Até agora, sabe-se muito pouco sobre como os sedimentos, os organismos que nele vivem e os processos que nele ocorrem vão reagir a mudanças na acidez da água do mar. Na costa brasileira, em especial, o estudo sobre os efeitos das mudanças climáticas nos processos bênticos ainda é incipiente. O presente estudo propôs uma investigação experimental com o intuito de seguir a incorporação do carbono orgânico e seu destino através da comunidade bêntica marinha após a chegada de alimento fresco, em condições atuais e de baixo pH. Nossos resultados indicaram que quando há chegada de MO fresca, a comunidade bêntica presente nos primeiros centímetros do sedimento responde de maneira rápida, incorporando esse material. Na biomassa bacteriana, após 2 dias de experimento, altos valores de incorporação ($7283,04 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) foram detectados. Entre os grupos da macrofauna, poliquetas apresentaram a maior incorporação do traçador e, em 4 dias de experimento, os principais agentes na incorporação do traçador foram *Prionospio steenstrupi* ($51291,9 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm), *Leodice rubra* ($20971,5 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm) e *Poecilochaetus perequensis* ($6171,8$ e $7263,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 0-4 e 4-10 cm, respectivamente), além do molusco bivalve *Eurytellina nitens* ($10600,4 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm). Quando submetidos a condições de AO, o poliqueta *Leitoscoloplos* sp. ($2,02 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o antozoário *Edwardsia* sp. ($0,16 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) se destacaram na incorporação do traçador em baixo pH (7,3). Em contrapartida, o molusco *Dosinia concentrica* ($2,77 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o poliqueta *Poecilochaetus perequenses* ($2,68 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) foram importantes agentes do processamento do carbono orgânico marcado nos primeiros centímetros do sedimento no controle (pH 8,1). Nas comunidades bacterianas, não houve diferenças de incorporação na biomassa entre o controle e o tratamento ($6298,7$ e $6562,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, respectivamente). Assim, nosso estudo mostrou que eventos episódicos de chegada de alimento fresco vindos de processos que intensificam a produção primária adjacente (i.e., intrusão da ACAS e ressuspensão de sedimentos) nessa região meso-oligotrófica parecem ser essenciais não somente para a manutenção e sobrevivência da comunidade bêntica, mas também para a ciclagem de carbono nesses ambientes relativamente pobres em alimentos. Além disso, em condições de mudanças climáticas, a incorporação e o fluxo do carbono orgânico de parte da macrofauna bêntica pode ser potencialmente afetada pela AO.

Palavras-chave: fluxo de carbono, isótopos estáveis, acidificação dos oceanos, teia trófica bêntica, sedimentos costeiros, Ubatuba.

Abstract

Increasing carbon dioxide (CO₂) concentration in the atmosphere is causing global warming and ocean acidification (OA) which are increasingly recognized as important drivers of changes in biological systems. The OA has the potential to change in various ways the biogeochemical dynamics of organic carbon in the ocean, leading to a change in the quality of the organic matter (OM) available to marine organisms. So far, very little is known about how the sediments, the organisms that live in it and the processes that occur in it will respond to changes in the acidity of seawater. In the Brazilian coast, in particular, the study on the effects of climate change on benthic processes is still incipient. The present study was an experimental investigation in order to follow the incorporation of organic carbon and its destination over the marine benthic community after the arrival of fresh food, in current conditions and low pH. Our results indicated that when there is arrival of fresh OM, benthic community present in the first few centimeters of sediment responds quickly incorporating this material. In bacterial biomass, after 2 days of experiment, high incorporation values (7283.04 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) were detected. Among the macrofaunal groups, polychaetes had the highest incorporation of the tracer, and after 4 days of experiment, the key players in the incorporation of the tracer were *Prionospio steenstrupi* (51291.9 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm), *Leodice rubra* (20971.5 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm) and *Poecilochaetus perequensis* (6171.8 and 7263.2 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 and 4-10 cm, respectively), besides the mollusk bivalve *Eurytellina nitens* (10600.4 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm). Under conditions of OA, the polychaete *Leitoscoloplos* sp. (2.02 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) and anthozoa *Edwardsia* sp. (0.16 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) stood out in the incorporation of the tracer at low pH (7.3). In contrast, the mollusk *Dosinia concentrica* (2.77 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) and the polychaete *Poecilochaetus perequenses* (2.68 $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) were important agents of processing organic carbon in the first centimeters of sediment in control (pH 8.1). Our results showed that episodic events of fresh food arrival, coming from processes that enhance the primary production (*i.e.*, intrusion of SACW and resuspension of sediment) in this meso-oligotrophic region, appears to be essential not only for the maintenance and survival of benthic community, but also to carbon cycling in these relatively food poor environments. Furthermore, in conditions of climate change, the incorporation and the flow of the organic carbon by part of benthic macrofaunal can be potentially affected by OA.

Keywords: carbon flux, stable isotopes, ocean acidification, benthic food web, coastal sediments, Ubatuba.

Capítulo 1

Introdução geral

1.1. Dinâmica do carbono orgânico em ambientes costeiros

No ambiente marinho, o material orgânico que é sintetizado na coluna d'água pela produção fotossintética (*i.e.*, fitoplanctônica) representa uma fração considerável da matéria orgânica particulada (MOP) que chega anualmente para as comunidades bênticas (Moodley *et al.*, 2000). Uma parcela dessa produção fitoplanctônica é reciclada na própria coluna d'água e outra é depositada no fundo na forma de fitodetritos. Parte da MOP depositada é então remineralizada, regenerando os nutrientes no sedimento e retornando-os para a coluna d'água através de fluxos difusivos (*e.g.*, Rowe *et al.*, 1975; 1977; Nixon *et al.*, 1980; Hopkinson, 1985; 1987). Uma pequena fração da MOP é enterrada por diversos mecanismos, entre os quais, a bioturbação por organismos do bentos é uma das mais importantes (Fornes *et al.*, 2001; Smith & Rabouille, 2002). Esse ciclo é fundamental no oceano, pois permite uma retroalimentação da comunidade fotossintetizante planctônica e bêntica, com nova síntese de material orgânico lábil para as comunidades marinhas.

Embora a quantidade de matéria orgânica em áreas costeiras seja relativamente abundante, a fração autóctone lábil é rapidamente consumida pelos organismos bênticos, enquanto que as frações mais refratárias, como o material de origem terrestre, acumulam-se e são remineralizadas mais lentamente por micro-organismos do sedimento. Essas regiões de baixa profundidade, alta intensidade de luz e temperatura apresentam condições favoráveis para o crescimento do microfitobentos, especialmente diatomáceas bênticas, as quais representam também uma importante fonte de matéria orgânica para os organismos do fundo marinho (Herman *et al.*, 2000; Tang & Kristensen, 2007; Quintana *et al.*, 2010; Braeckman *et al.*, 2012). Além disso, processos turbulentos e estresse causados por ondas ou correntes podem levar à ressuspensão do carbono orgânico e nutrientes, contribuindo significativamente para a produção da coluna de água. Esta, por sua vez, pode constituir uma importante fonte de alimento para organismos suspensívoros

(MacIntyre & Cullen, 1995; Middelburg *et al.*, 2000).

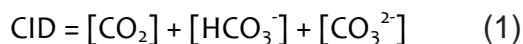
O fluxo de todo esse carbono orgânico exportado para o sedimento marinho, entretanto, não é constante no espaço e no tempo e pode chegar em pulsos episódicos (Deuser & Ross, 1980; Billet *et al.*, 1983; Sweetman & Witte, 2008). Uma vez depositado no sedimento marinho, uma variedade de organismos, desde bactérias até a megafauna, se alimenta e processa essa matéria orgânica com consequências significativas para os ciclos globais do carbono e de nutrientes (Sweetman & Witte, 2008; Gontikaki *et al.*, 2011). Portanto, o estudo dos processos que envolvem o consumo e a incorporação biológica do carbono proveniente do fitodetrito pelas comunidades bênticas é de grande importância para explorar as interações tróficas no sedimento marinho e auxiliar na compreensão das vias e do destino do carbono em ambientes marinhos.

1.2. Química do carbono na água do mar

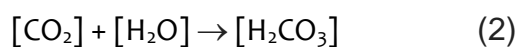
O oceano atua como o maior sumidouro do dióxido de carbono antropogênico (CO₂) e estima-se que um terço de todo o carbono emitido nos últimos 200 anos já tenha sido absorvido pelos oceanos ao redor do globo terrestre (Falkowski *et al.*, 2000; Sabine *et al.*, 2004.). A habilidade do oceano em absorver o CO₂ pode ser interpretada pela diferença da pressão parcial do gás (pCO₂) no ar e na superfície do oceano. Enquanto a distribuição do CO₂ atmosférico é relativamente homogênea devido a rápida circulação do ar, o pCO₂ na superfície do oceano varia grandemente no tempo e no espaço. Essa variação tem influência determinante na característica de uma região como fonte ou sumidouro de CO₂ e muita atenção tem sido dada a este tópico nos recentes estudos sobre mudanças climáticas (Takahashi *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2012).

O aumento das emissões do CO₂ desde a revolução industrial e a absorção desse carbono pelos oceanos tem causado rápidas mudanças na química da água do mar, reduzindo o pH e levando a um processo conhecido como Acidificação dos Oceanos (AO). O equilíbrio químico do carbono inorgânico dissolvido total (CID) no sistema carbonato é responsável por manter as condições do pH na água do mar. O CID é a soma das três

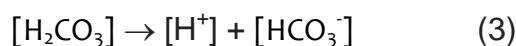
principais formas de carbono inorgânico no ambiente marinho (Equação 1): dióxido de carbono aquoso ($\text{CO}_2(\text{aq})$), íon bicarbonato (HCO_3^-) e íon carbonato (CO_3^{2-}) (Dickson, 2010).



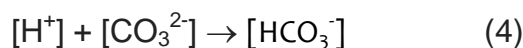
Quando o pH da água do mar equivale cerca de 8,2, a maior parte do carbono inorgânico está na forma de íon bicarbonato. No momento em que o CO_2 dissolve na água do oceano, o gás reage com as moléculas de água formando ácido carbônico (H_2CO_3) (Equação 2):



O ácido carbônico rapidamente se dissocia em íon bicarbonato e íons hidrogênio (Equação 3):



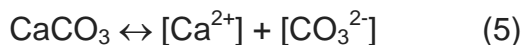
O íon hidrogênio pode, então, reagir com o íon carbonato e formar íon bicarbonato novamente (Equação 4):



O aumento do CO_2 na atmosfera e, conseqüentemente, o aumento da dissolução deste na água do mar, aumenta as concentrações de H_2CO_3 , HCO_3^- e H^+ , e diminui tanto as concentrações de CO_3^{2-} quanto à capacidade do oceano em manter as condições químicas da água do mar (sistema tampão). Como a escala de pH (potencial de hidrogênio) varia em relação ao logaritmo da concentração de íons H^+ , o aumento desses íons na água do mar resulta em decréscimo do pH e por isso o termo “acidificação dos oceanos”. Esse termo é utilizado apesar dos valores de pH previstos em cenários futuros ainda serem considerados quimicamente na escala de pH como “neutros” (*i.e.*, 7,7; 7,5 e 7,3; Orr *et al.*, 2005; Dickson, 2007; Gattuso & Hanson, 2011; IPCC, 2014).

A diminuição na concentração de CO_3^{2-} pode alterar a formação de minerais de carbonato e modificar a taxa de calcificação de conchas e outras

estruturas de diversos organismos marinhos. Além disso, o pH baixo estimula a dissolução do carbonato de cálcio (CaCO_3) (Equação 5) (Riebesell *et al.*, 2000; Orr *et al.*, 2005; Kleypas *et al.*, 2006; Jokiel *et al.*, 2008; Asnaghi *et al.*, 2014):



O pH médio da superfície dos oceanos já diminuiu em cerca de 0,1 unidade entre o período pré-industrialização e os anos 1990 e estima-se que o pH dos oceanos possa diminuir entre 0,3 e 0,4 unidades nos próximos 100 anos (Orr *et al.*, 2005; Findlay *et al.*, 2008; Gattuso & Hanson, 2011; IPCC, 2014). De acordo com Caldeira & Wickett (2003), os valores de pH podem cair até 0,7 unidades nos próximos dois séculos.

Ambientes costeiros, comparados ao oceano aberto, possuem uma maior variabilidade no pH da água do mar. Além da absorção do CO_2 atmosférico, a entrada de nutrientes e matéria orgânica em áreas de ressurgência, o aporte de rios e de material orgânico de origem terrestre são importantes processos que afetam o ciclo do carbono nestas regiões. Esses fatores podem levar a mudanças no pH de até 0,5 unidades em escalas temporais curtas (*i.e.*, horas a semanas) (Hofmann *et al.*, 2011).

Embora a química da água do mar e as mudanças causadas pelo aumento do CO_2 na atmosfera são relativamente bem compreendidas e podem ser previstas em estudos científicos, os efeitos biológicos da acidificação dos oceanos ainda são incertos. As respostas dos organismos marinhos à AO podem ser específicas para determinadas espécies, podendo afetar positivamente, negativamente ou ainda não ter impacto algum.

A maioria dos estudos foca em organismos que utilizam CaCO_3 em suas estruturas corpóreas por serem mais sensíveis às mudanças no sistema carbonato. Entretanto, grande parte dos organismos marinhos não possuem tais características e ainda existe pouca informação sobre os efeitos da AO nesses grupos. Além disso, não há muitos estudos sobre os potenciais efeitos da AO em nível ecossistêmico, ou seja, como os rápidos declínios de pH vão afetar os processos ecológicos marinhos (Fabry *et al.*, 2008; Harvey *et al.*, 2014). É esperado, por exemplo, mudanças na fixação do carbono pelos

organismos fotossintetizantes e conseqüente alteração na composição bioquímica de muitos produtores primários. Isso terá conseqüências diretas na qualidade do alimento para consumidores, causando prováveis modificações nas interações tróficas entre as espécies (Bellerby *et al.*, 2008; Engel *et al.*, 2008; Rossoll *et al.*, 2012).

1.3. A teia trófica bêntica

Comunidades do sedimento marinho desempenham um importante papel na ciclagem do carbono no oceano, além de determinarem o destino do carbono orgânico que escapa a degradação na coluna de água. Para melhor entender o ciclo global de carbono e possíveis mudanças em diferentes cenários de AO é necessário entender suas vias de destino no oceano. Além disso, o conhecimento das interações entre os componentes biológicos em teias alimentares é extremamente importante se queremos entender e prever a resposta de ecossistemas bênticos a mudanças globais (Soetaert & van Oevelen, 2009).

Organismos pertencentes à macro- e meiofauna são relativamente bem estudados, mas pouco se sabe a respeito de sua trofodinâmica e possíveis alterações que possam ser causadas por mudanças climáticas. Uma série de estudos demonstra que os animais bênticos influenciam a composição da matéria orgânica, alterando, por exemplo, limites óxicos/anóxicos, controlando processos biogeoquímicos de mineralização do carbono, causando o transporte de partículas no sedimento, influenciando direta ou indiretamente populações bacterianas e consumindo detritos orgânicos (Quintana *et al.*, 2010, Quintana *et al.*, 2015). Além disso, mudanças na qualidade e quantidade de detritos podem afetar profundamente a estrutura da teia trófica bêntica.

Os microrganismos marinhos, por sua vez, possuem uma faixa de pH ótimo que varia entre as espécies, e muitos processos são pH-dependentes. É bem conhecido, ainda, que o pH é um importante fator regulador da velocidade das reações enzimáticas intracelulares. Dessa forma, pequenos desvios no pH ótimo resultam em decréscimo das taxas enzimáticas dos micro-organismos

(Piontek *et al.*, 2010). Diante disso, a composição das comunidades bacterianas e a incorporação do carbono orgânico em comunidades bênticas podem ser afetadas como resultado das mudanças de pH nos oceanos.

Assim, a investigação da resposta de todos os compartimentos bênticos (comunidades bacterianas até metazoários) à chegada de material orgânico fresco e as alterações dessa trofodinâmica frente às mudanças climáticas tornam-se extremamente relevantes. Um estudo detalhado desses processos contribui não só para o entendimento da ciclagem do carbono e seu destino em sedimentos marinhos, mas também para previsões da estrutura bêntica em cenários futuros.

1.4. Isótopos estáveis em estudos ecológicos

Isótopos são variações de um mesmo elemento químico que compartilham o mesmo número de prótons, mas possuem diferente número de nêutrons em seus núcleos (Peterson & Fry, 1987). Quando o núcleo de um isótopo é estável e não emite radiação, ele é chamado de isótopo estável. Em geral, o isótopo mais leve, ou seja, aquele com menor número de nêutrons e conseqüentemente menor massa, é o mais abundante na natureza, perfazendo mais de 95% de todos os isótopos (Peterson & Fry, 1987). Apenas pequenas exceções (boro, lítio, bromo, prata e európio) têm abundância do isótopo pesado maior ou igual na natureza. Normalmente, os isótopos estáveis são quantificados em relação às suas razões isotópicas, dadas em notação delta (δ) e relacionadas à diferença em relação ao padrão, expressa em partes por mil (‰) e definida como:

$$\delta^H X = \left[\left(\frac{R_{Amostra}}{R_{Padrão}} - 1 \right) \right] * 1000$$

Onde: H indica o isótopo pesado, X é o elemento químico (C, H, N, O, S) e R é a razão do isótopo pesado em relação ao leve para X (e.g., $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, para carbono e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, para nitrogênio). O padrão internacional para carbono é o Vienna PeeDeeBelemnite ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ razão ≈ 0.0112372) e para nitrogênio é o ar (nitrogênio atmosférico, N_2) (Peterson & Fry, 1987).

Estudos tradicionais de teias tróficas marinhas usam os isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) para traçar fontes e fluxos de energia e matéria entre os organismos, baseados no princípio “você é o que você come” (Boschker & Middelburg, 2002; Figura 1. 1). Esse uso é possível graças ao fato de que a composição isotópica varia de forma previsível conforme o fluxo de um determinado elemento no ecossistema. Além disso, as taxas de reações dos isótopos leves e pesados podem ser diferentes nos processos biológicos e os produtos tendem a ser “empobrecidos” em isótopos pesados. Essa diferença na composição isotópica entre a fonte e o produto pode ser usada para traçar os elementos nos ecossistemas (Peterson & Fry, 1987).

Para ecossistemas bênticos marinhos, por exemplo, consumidores são, em geral, enriquecidos em $\delta^{15}\text{N}$ em relação ao seu alimento em aproximadamente 3-4‰, enquanto que para o $\delta^{13}\text{C}$, os consumidores geralmente têm valores isotópicos muito similares aos valores de sua fonte alimentar (<1‰). Assim, o isótopo estável de nitrogênio é útil para avaliar níveis tróficos enquanto que o carbono é utilizado como traçador de fontes de alimento (De Niro & Epstein, 1981; Kedra *et al.*, 2012; Middelburg, 2013). A principal vantagem no uso dos isótopos estáveis é que sua análise pode ser feita desde micro-organismos a animais maiores, ligando todos os caminhos da teia trófica (Middelburg, 2013).

No caso de micro-organismos, como as comunidades microbianas do sedimento, sua complexidade exige que a determinação isotópica seja feita em conjunto com a análise de biomarcadores (Middelburg *et al.*, 2000; Boschker & Middelburg, 2002; Middelburg 2013). Esses compostos podem ser muito úteis para determinar fontes de matéria orgânica para os micro-organismos, identificar grupos de bactérias e prover informações sobre biomassa (Boschker & Middelburg, 2002).

Uma variedade de compostos pode ser usada como biomarcadores em conjunto com isótopos estáveis, como ácidos graxos e ésteres lipídicos, dependendo do grupo de interesse (*e.g.*, fitoplâncton, bactéria e material terrestre) (Boschker & Middelburg, 2002). Lipídios de membranas celulares, como os ácidos graxos derivados de fosfolipídios (PLFA, do inglês

phospholipid-derived fatty acids), têm sido amplamente utilizados para estudos de grupos microbianos (Van Den Meersche *et al.*, 2004; Van Oevelen *et al.*, 2006; de Kluijver *et al.*, 2010) devido sua relativa facilidade de extração e identificação (Boschker & Middelburg, 2002; Kelly & Scheibling, 2012).

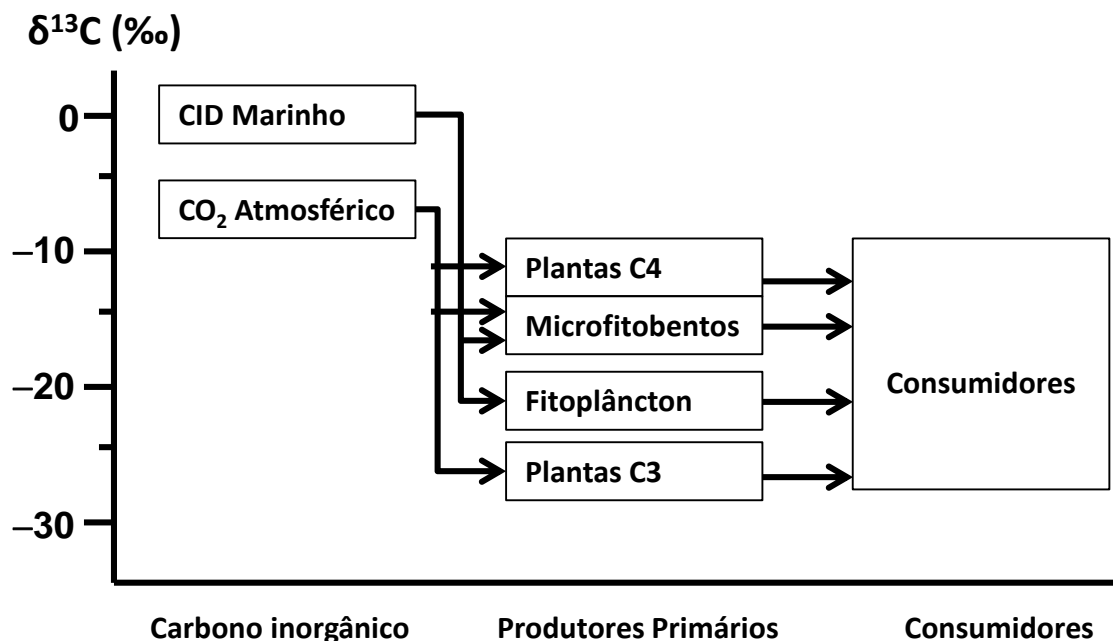


Figura 1. Fluxos de carbono entre fontes, produtores primários e consumidores baseados nas razões isotópicas naturais de carbono (^{13}C). CID = carbono inorgânico dissolvido. Adaptado de Boschker & Middelburg (2002).

Estudos recentes têm realizado experimentos para prover observações diretas da transferência do carbono orgânico fresco através de teias alimentares (Witte *et al.*, 2003; Aberle *et al.*, 2005; Moodley *et al.*, 2005; Aspetsberger *et al.*, 2007; Guilini *et al.*, 2011; Van Den Meersche *et al.*, 2011; Maria *et al.*, 2011). Estes experimentos envolvem a introdução de um pulso de alimento marcado com um isótopo estável (^{13}C ou ^{15}N) ao sedimento e a subsequente “perseguição” do traçador nos vários componentes da teia alimentar (do inglês *pulse chase*). Atualmente não é possível seguir o carbono orgânico naturalmente dentro da teia trófica, mas a adição de uma fonte externa desse elemento oferece a oportunidade de estudar a dinâmica da resposta bêntica. Além disso, pesquisas nesse sentido podem ser úteis para seguir as mudanças nesses ecossistemas em cenários de mudanças

climáticas, como a acidificação dos oceanos (AO). Diversos autores exploraram as técnicas de *pulse chase* com a finalidade de estudar o papel dos organismos bênticos na remineralização da MO e fluxos de carbono em ambientes costeiros e de mar profundo (Levin *et al.*, 1999; Moodley *et al.*, 2002; Witte *et al.*, 2003; Sweetman & Witte 2008; Guilini *et al.*, 2011).

O uso desta ferramenta ainda é novo no Brasil e usá-la para investigar o potencial impacto do CO₂ antropogênico nos fluxos de carbono em comunidades bênticas torna a metodologia original. Além disso, estudos sobre os efeitos das mudanças climáticas nos processos que ocorrem no sedimento marinho, importantes para as comunidades bênticas, ainda são incipientes na costa brasileira.

1.5. O sistema costeiro de Ubatuba

O litoral norte do Estado de São Paulo caracteriza-se pela presença de uma linha de costa bastante recortada e proximidade da Serra do Mar, o que origina uma configuração com várias enseadas e características de semi-confinamento. Essas características propiciam circulação restrita entre a região costeira e a plataforma adjacente (Mahiques, 1995). A Enseada das Palmas, na Ilha Anchieta (Ubatuba; 23° 31 805'S, 045° 03.743'W, Figura 1.2), foi escolhida para a amostragem e experimentos devido ao seu ambiente abrigado onde a composição da fauna e as características biogeoquímicas e granulométricas são favoráveis aos objetivos propostos.

A plataforma continental ao largo de Ubatuba (SP) é caracterizada pela presença de três massas de água que apresentam uma dinâmica dependente principalmente do vento (direção, intensidade e tempo de atuação sobre a superfície do oceano), das correntes e do relevo submarino: Água Central do Atlântico Sul (ACAS), Água Tropical (AT), e Água Costeira (AC). A ACAS é caracterizada por temperaturas maiores que 6°C e menores que 20°C e salinidades entre 34,6 e 36,0 (Silveira *et al.*, 2001). Origina-se na convergência subtropical e cobre o fundo da plataforma continental externa até aproximadamente 60 m de profundidade. O limite mais profundo para essa

massa d'água está em torno de 800 m (Pierre *et al.*, 1991), e o limite mais superficial está a 10 m no verão e a 70 m no inverno (Castro Filho *et al.*, 1987, Silveira *et al.*, 2001). A AC é resultado da mistura entre a água doce de origem continental com as águas de plataforma continental, sendo caracterizada por menores salinidades (32,2 – 35,4) e maiores temperaturas ($>20^{\circ}\text{C}$). A AT caracteriza-se por ser quente e salina ($>20^{\circ}\text{C}$ e $>36,4$) (Miranda, 1982; Campos *et al.*, 1996, 2000; Silveira *et al.*, 2001).

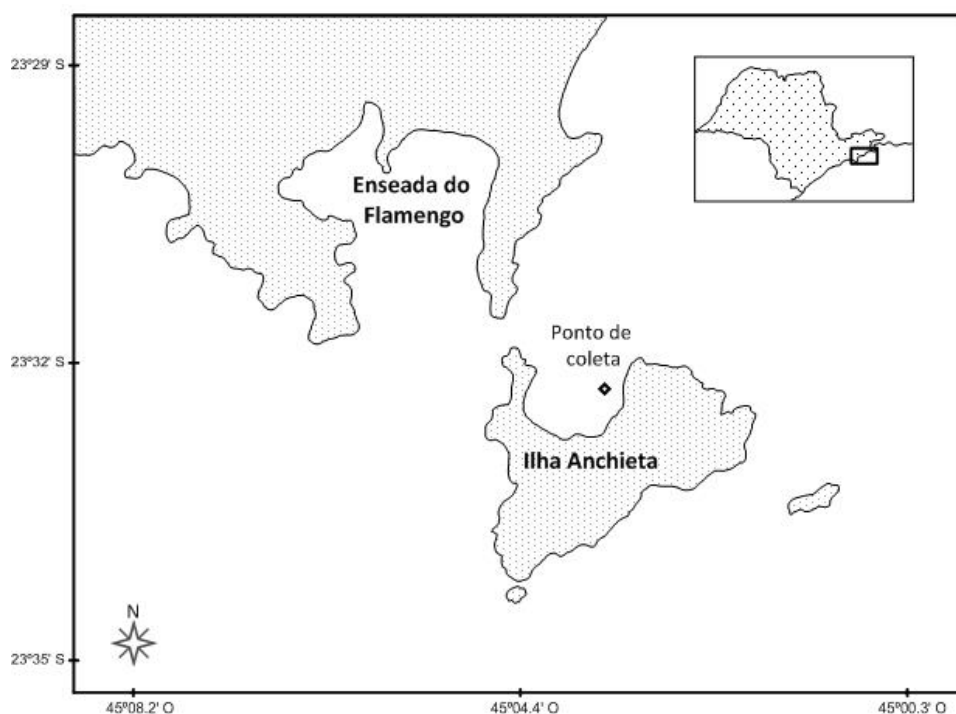


Figura 1.2. Mapa da área de estudo mostrando o ponto de coleta na Ilha Anchieta utilizado para a coleta das amostras e realização dos experimentos.

Durante os períodos de primavera-verão há predominância de ventos E-NE, que favorecem o transporte em superfície da AC em direção ao largo. Isto permite a entrada da ACAS junto ao fundo, chegando em subsuperfície até profundidades de 10 m e constituindo uma termoclina sazonal bem marcada (Castro-Filho *et al.*, 1987). No período de outono-inverno, ventos de SW fazem com que ocorra um empilhamento da AT em direção à costa e um recuo da ACAS em direção à plataforma externa (Castro-Filho *et al.*, 1987). Este padrão, em conjunto com esfriamento das águas superficiais e intensificação da mistura

devido aos fortes ventos, torna a coluna de água próxima à costa quase homogênea, havendo uma maior interação entre AC e AT (Castro-Filho *et al.*, 1987). No entanto, na região costeira e de plataforma interna de Ubatuba, a massa de água dominante é a AC (Castro-Filho *et al.*, 1987). A ausência de grandes rios na área de estudo limita o transporte de material continental oriundo de fragmentos da vegetação de Mata Atlântica local aos períodos chuvosos (Mahiques, 1995; Mahiques *et al.*, 1998).

A região é caracterizada por um regime de produtividade meso-oligotrófico, sendo a produtividade primária limitada pela escassez de nutrientes inorgânicos, em parte devido ao baixo aporte fluvial (Braga & Müller, 1998). O pH na região varia entre 7,95 a 8,11, sendo os menores valores encontrados nas porções mais costeiras (profundidades menores que 10 m), e não apresenta variações sazonais significativas (Teixeira, 1973). A regeneração de nutrientes prevalece durante todo o ano (Braga & Müller, 1998), enquanto que no verão, a intrusão em subsuperfície da ACAS, fria e rica em nutrientes, pode causar esporádicos aumentos na produção nova, com florescimentos de diatomáceas em áreas internas da plataforma continental (Castro-Filho *et al.*, 1987; Aidar *et al.*, 1993; Gaeta *et al.*, 1995, 1999).

No entanto, a produtividade primária local é dominada por fitoflagelados (Sassi & Kutner, 1992; Aidar *et al.*, 1993; Gaeta *et al.*, 1999), os quais representam a principal fonte de matéria orgânica para os sedimentos (Yoshinaga *et al.*, 1998). Em adição, a produção do microfitobentos também pode ter um importante papel na matéria orgânica sedimentar (Corbisier *et al.*, 1997; Quintana *et al.*, 2010). Durante o verão, o regime de chuvas pode levar a um transporte de macrófitas para o fundo marinho, representando uma entrada importante de material orgânico terrestre, já que a região não possui rios de grande porte (Mahiques, 1995; Mahiques *et al.*, 1998).

1.6. Objetivos

A presente pesquisa fez parte do projeto ACIDBENTHOS (Processo FAPESP 2010/20350-8), teve caráter experimental e visou entender a transferência da matéria orgânica fresca (fitodetrimento) na teia trófica bêntica

(incluindo metazoários e organismos procariontes) na Enseada das Palmas, Ubatuba (litoral norte do estado de São Paulo, Brasil). Adicionalmente, procurou avaliar se há algum efeito nos fluxos de carbono entre os compartimentos bênticos em cenários de acidificação dos oceanos. Portanto, os objetivos específicos foram:

1. Investigar, através das análises de isótopos estáveis e ácidos graxos derivados de fosfolipídios (PLFA), as principais fontes de matéria orgânica no sistema marinho costeiro de Ubatuba;
2. Avaliar os fluxos de carbono na teia trófica bêntica;
3. Entender a resposta dos organismos bênticos à chegada de um pulso de alimento fresco (fitodetrito) e sua assimilação ao longo do tempo em uma área com regime de produção primária meso-oligotrófica;
4. Avaliar a resposta dos compartimentos do bentos marinho a um pulso de alimento fresco em condições de acidificação dos oceanos.

Para tanto, testou-se as seguintes hipóteses:

1) O material orgânico proveniente do fitodetrito é a principal fonte de carbono para as comunidades bênticas da zona costeira de Ubatuba.

2) A AO altera a incorporação do carbono orgânico em comunidades bênticas (bactérias e macrofauna).

Capítulo 2

Fontes de matéria orgânica e estrutura trófica no sistema bêntico da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP)

Resumo

A qualidade e quantidade de matéria orgânica (MO) que chega ao fundo marinho em diferentes estações do ano podem afetar não só a estrutura da comunidade bêntica mas também suas estratégias alimentares e relações tróficas. Esse estudo utilizou biomarcadores lipídicos (ácidos graxos) e isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) para investigar as fontes de alimento e os caminhos tróficos do ecossistema bentônico da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP). Contribuições relativas de compostos atribuídos a fontes marinhas e relações com a matéria orgânica particulada (MOP, $-22,2 \pm 0,8\text{‰}$), sedimento superficial ($-21,5 \pm 0,4\text{‰}$) e outros produtores primários encontrados (*Halophila* sp., $-11,9 \pm 0,1\text{‰}$) parecem ser importantes fontes de alimento para os organismos da macrofauna na região. Assinaturas isotópicas de suspensívoros (principalmente moluscos bivalves) refletem a produção pelágica sobrejacente, enquanto que depositívoros (maioria dos organismos identificados) indicam resposta do retrabalhamento da MO sedimentar e da mistura outras fontes em sua dieta. Carnívoros não apresentaram uma relação clara de suas fontes de MO, provavelmente devido a ampla variedade de presas existentes no ambiente. Apesar da proximidade com a costa e a variedade de fontes de material orgânico terrestre (TERR) disponível, a MO autóctone (principalmente fitoplâncton) ainda é a principal fonte de alimento para a fauna bêntica da Enseada das Palmas.

2.1. Introdução

Ecossistemas costeiros podem ter múltiplas fontes de matéria orgânica (MO) que suportam a comunidade bêntica do sedimento. Muitas dessas são autóctones, oriundas da produção primária da coluna de água sobrejacente (*i.e.*, fitoplanctônica) ou, em regiões rasas, da própria superfície do sedimento (*i.e.*, microfítobentos, angiospermas marinhas, macroalgas) (Sun *et al.*, 1991; Yoshinaga *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2010). Outras fontes são alóctones, derivadas principalmente de ecossistemas terrestres próximos (*i.e.*, folhas de vegetais superiores, drenagem de rios, lagos, estuários e escoamento da chuva) (Harvey, 2006; Grall *et al.*, 2006).

A linha de costa bastante recortada do litoral norte do estado de São Paulo confere uma característica de semi-confinamento às suas inúmeras enseadas (Mahiques 1995). Estas possuem uma gama de fontes de alimento para as comunidades do sedimento, que variam ao longo do ano. Apesar da proximidade com a Mata Atlântica, as fontes de MO autóctones ainda são as mais importantes para os organismos bênticos (Matsuura & Wada, 1994, Yoshinaga *et al.*, 2008).

Nos ambientes rasos, a MO que chega da coluna de água e é depositada no fundo marinho constitui um importante fator de estabelecimento da estrutura trófica dos organismos e do acoplamento bento-pelágico local (Sumida *et al.*, 2005; Yoshinaga *et al.*, 2006; Kedra *et al.*, 2012). A estrutura das teias tróficas, além de descrever as conexões e fluxos de matéria e energia entre os organismos, também reflete biodiversidade, interações entre as espécies e estrutura ecossistêmica (Dunne *et al.*, 2002).

Em adição, uma variedade de processos bênticos são realizados com o intuito de decompor essa MO nova (*e.g.*, degradação biogeoquímica pelos micro-organismos; Henrichs, 1992). A ocorrência desses processos somada à complexidade e tamanho reduzido de alguns grupos de organismos bênticos, torna extremamente difícil descrever o fluxo de energia e a trama trófica através das metodologias tradicionais (*i.e.*, conteúdo estomacal, análise fecal, observação direta). Para sistemas com um grande número de organismos, o emprego dessas metodologias seria ainda mais complexo.

O uso de isótopos estáveis constitui uma alternativa valiosa e, em muitos casos, uma ferramenta melhor para estudos de fontes de MO e teias tróficas em sistemas marinhos (Peterson, 1999). Análises de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, em particular, têm sido muito utilizadas para este fim, uma vez que seus resultados permitem descrever seus hábitos alimentares e seus níveis tróficos, além de estimar a fonte de alimento para os organismos (Peterson *et al.*, 1995; Post, 2002; Corbisier *et al.*, 2006; Kedra *et al.*, 2012).

A razão isotópica do nitrogênio é um marcador de posição trófica, uma vez que os valores de $\delta^{15}\text{N}$ aumentam cerca de 3-4 ‰ da presa para o predador (Peterson & Fry, 1987; Post, 2002). Já a razão $\delta^{13}\text{C}$ tem um

enriquecimento <1‰ entre consumidores (Hobson & Welch, 1992) e é útil para traçar as fontes e elucidar os caminhos da MO nas teias tróficas, tema este de fundamental importância para o entendimento das funções ecossistêmicas.

Aliado as razões isotópicas $\delta^{13}\text{C}$, biomarcadores lipídicos também podem ser importantes traçadores de fontes e teias tróficas (Boschker & Middelburg, 2002; Budge *et al.*, 2006). Lipídios polares, como os ácidos graxos derivados de fosfolipídios (do inglês *phospholipid fatty acids*, PLFA), são importantes constituintes de membranas celulares e podem ser específicos para alguns grupos de organismos como bactérias e fitoplâncton, além de se decompor em poucos dias, tornando-os importantes biomarcadores de biomassa viva (Boschker & Middelburg, 2002; Boschker, 2004).

O objetivo desse estudo foi investigar as principais fontes de matéria orgânica no sistema bêntico da zona costeira de Ubatuba e as relações trofodinâmicas da comunidade bacteriana e dos organismos da macrofauna através do uso de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio somado aos biomarcadores lipídicos (PLFA).

2.2. Material e métodos

2.2.1. Área de estudo e coleta de amostras

A área de estudo foi explicada detalhadamente no Capítulo 1 (p. 11). As amostras para realização desse estudo foram coletadas em julho (inverno) e outubro (primavera) de 2013 na Enseada das Palmas, Ilha Anchieta (Ubatuba, São Paulo, 7 m de profundidade) a bordo do *B/Pq. Véliger II*. Previamente à amostragem, uma sonda CTD (CastAway-CTD®, Sontek) foi utilizada para estudo dos valores de salinidade e temperatura da água.

Amostras da coluna de água foram obtidas na superfície (1,0 m) e próximo ao fundo (6,0 m) com auxílio de uma garrafa de Nansen com capacidade de 1L (lançada em triplicata) para análises de oxigênio dissolvido.

O sedimento foi coletado para estudo da granulometria, carbono orgânico total, fitopigmentos, razões isotópicas do sedimento total e análise dos biomarcadores lipídicos (PLFA). A amostragem foi realizada com testemunhos

de acrílico com 9,4 cm de diâmetro interno e 20 cm de comprimento ($\sim 0.01 \text{ m}^2$) retirados do sedimento através de mergulho autônomo. Após coleta, o sedimento foi fatiado verticalmente em intervalos de 0-1, 2-3, 3-4, 4-6 e 6-10 cm.

Amostras da macrofauna foram coletadas com o uso de um pegador van Veen ($0,4 \text{ m}^2$), lançado 3 vezes seguidas para garantir biomassa e diversidade suficiente a fim de medir as razões isotópicas dos organismos. Em seguida, na base norte de pesquisa Clarimundo de Jesus do Instituto Oceanográfico da USP, os invertebrados foram lavados em peneira de $500 \mu\text{m}$, triados vivos e identificados até o menor nível taxonômico possível. Os invertebrados foram mantidos vivos em água do mar filtrada com constante aeração por um período mínimo de 8 horas e, posteriormente, limpos de resíduos com água destilada e congelados (-20°C) até análise isotópica. Quando possível, as amostras foram coletadas em triplicatas, entretanto, para alguns invertebrados da macrofauna somente uma amostra foi possível de obter. Nesses casos, vários indivíduos de uma mesma espécie foram combinados para ter amostras com quantidade suficiente para as análises isotópicas, devido ao pequeno tamanho dos espécimes capturados.

Amostras de zooplâncton foram coletadas, em triplicata, por arrasto vertical no mesmo ponto de coleta, com rede cônico-cilíndrica de plâncton de malha de $50 \mu\text{m}$, filtradas em filtro de fibra de vidro previamente calcinado (GF/F $0,7 \mu\text{m}$) e mantidas congeladas até análise.

A matéria orgânica particulada (MOP) foi obtida através da filtração da água do mar ($\sim 2\text{L}$) em filtro GF/F $0,7 \mu\text{m}$ coletada na superfície (1,0 m) e próximo ao fundo (6,0 m) com auxílio de uma garrafa de Nansen com capacidade de 1L, lançada três vezes consecutivas no mesmo ponto para conseguir volume suficiente

. Folhas de plantas vasculares (material orgânico terrestre, TERR) foram coletadas manualmente em terra nas regiões costeiras da enseada ou por mergulho autônomo (folhas depositadas no fundo marinho), lavadas com água destilada para retirar resíduos e incrustações e preservadas em congelador (-20°C) até a análise.

2.2.2. Análises em laboratório

Características da área de estudo

- Oxigênio Dissolvido (OD)

A concentração do oxigênio dissolvido da água foi determinada pelo método de titulação de Winkler (ver Grasshoff *et al.*, 1999) em até 2 horas após a preservação da amostra na base de pesquisa do IOUSP.

- Fitopigmentos do sedimento

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

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

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

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

Onde:

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

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

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

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

Peso da amostra e volume de H₂O em cm³.

- Granulometria

As análises granulométricas do sedimento foram realizadas pelo Laboratório de Sedimentologia do Instituto Oceanográfico da USP através do método de peneiramento e pipetagem descrito em Suguio (1973). As amostras de sedimento foram classificadas segundo Shepard (1954) e o diâmetro médio definido segundo Folk & Ward (1957).

Biomarcadores lipídicos

Os PLFAs foram analisados em parceria com pesquisadores do *Royal Netherlands Institute of Sea Research* (NIOZ), na Holanda. Além de traçar fontes de matéria orgânica no sistema, esses compostos foram utilizados para estimar as razões isotópicas de carbono na comunidade bacteriana através dos biomarcadores específicos identificados (iC₁₄, iC₁₅, aiC₁₅, iC₁₇ e aiC₁₇) (Boschker & Middelburg, 2002).

Os lipídios foram extraídos de aproximadamente 3,0 g de sedimento liofilizado com solução de clorofórmio/metanol (2:1 v/v) utilizando o método de extração de Bligh & Dyer (1959). Os PLFA foram então separados dos lipídios totais através do fracionamento em sílica gel (Merck Kieselgel 60) em diferentes classes por polaridade, usando eluições subsequentes com: clorofórmio (lipídios neutros), acetona (glicolipídios) e metanol (fosfolipídios). Em seguida, a fração contendo os PLFA foi derivatizada para obter ácidos graxos metil-ésteres (do inglês *fatty acids methyl esters*, FAMES).

As concentrações individuais dos ácidos graxos e as razões isotópicas foram determinadas utilizando um cromatógrafo gasoso HP G1530 acoplado a uma interface de combustão e ao detector de espectrometria de massas com

razão isotópica Thermo Delta (GC-c-IRMS). Uma coluna analítica (SGE BPX70, 50 m x 0,32 mm x 0,25 μ m) foi utilizada com hélio como gás carreador. A quantificação dos compostos foi feita comparando-se a área do pico a um padrão interno (C₁₉ FAME). Outros padrões (C₁₂ e C₁₆ FAME) foram também utilizados para a identificação dos ácidos graxos individuais.

A identificação dos ácidos graxos individuais, o cálculo dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e as concentrações de PLFA foram feitas utilizando o pacote Rlims do programa R (Soetaert *et al.*, 2011), uma ferramenta criada para converter cromatogramas em concentração de PLFA e valores isotópicos. A tabela com a identificação dos PLFA bem como suas concentrações encontram-se no apêndice (p.115).

Razões isotópicas

As razões isotópicas de carbono no sedimento foram determinadas numa alíquota submetida à remoção do CaCO₃ com solução de HCl 0,1M. Antes da acidificação, material para análise isotópica de nitrogênio foi retirado. Aproximadamente 10 mg de sedimento foram acondicionados em cápsulas de estanho (5 x 9 mm) e submetidos à análise elementar e isotópica.

As amostras de organismos da macrofauna congeladas foram liofilizadas e pulverizadas com almofariz e pistilo. Pequenos crustáceos, equinodermes, e briozoários foram tratados com HCl 0,25 M para remoção do carbono inorgânico de conchas e esqueletos. Esse elemento possui assinatura isotópica diferente do carbono orgânico de tecidos e poderia alterar o valor final da razão isotópica, não refletindo com precisão as relações tróficas entre os organismos. Conchas de moluscos grandes foram previamente removidas. Antes da acidificação, material para análise isotópica de nitrogênio foi retirado. Os espécimes pulverizados foram colocados em cápsulas de estanho previamente pesadas e analisados quanto à composição isotópica. Devido ao pequeno tamanho dos organismos da macrofauna coletados, lipídios não foram extraídos para evitar impactos negativos do processo nas análises de nitrogênio.

Os filtros congelados contendo amostras de MOP e zooplâncton, a angiosperma marinha *Halophila* sp. e as folhas de plantas vasculares terrestres em decomposição foram liofilizadas e pulverizadas com almofariz e pistilo. As amostras foram colocadas em cápsulas de estanho previamente pesadas e analisados quanto à composição isotópica.

As amostras de sedimento, organismos da macrofauna, MOP, zooplâncton, angiosperma marinha e folhas de vegetais superiores foram analisadas quanto às suas razões isotópicas no analisador elementar Costech Instruments Elemental Combustion System, acoplado ao detector de espectrometria de massas com razão isotópica Thermo Scientific Delta V Advantage Isotope Ratio MS (EA-IRMS) do Laboratório de Química Inorgânica Marinha (LaQIMar) do Instituto Oceanográfico da USP.

3.2.3. Tratamento de dados

As razões isotópicas são reportadas em notação delta (δ), expressas em partes por mil (‰), relativas ao padrão e calculadas de acordo com:

$$\delta X = \left[\left(\frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} \right) - 1 \right] * 1000$$

onde: $X = {}^{13}\text{C}$ ou ${}^{15}\text{N}$, e $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ ou ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$ (Peterson & Fry, 1987). O padrão para do carbono é o Vienna Pee Dee Belemnite (RVPDB = 0,01118) e do nitrogênio é o N_2 atmosférico.

Os níveis tróficos (NT) dos consumidores foram determinados em cada período de coleta usando a equação:

$$\text{NT} = [(\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor primário}}) / 3,4] + 2$$

Em nosso estudo, um fator de enriquecimento em $\delta^{15}\text{N}$ de 3,4 ‰ por NT foi utilizado, pois este é assumido como a média do fracionamento trófico do nitrogênio para consumidores aquáticos (Vander Zanden & Rasmussen, 2001 Post, 2002; Iken *et al.*, 2010). Os consumidores primários (suspensívoros) foram selecionados para os cálculos por refletirem maior tempo médio de assimilação que o fitoplâncton, que possui ciclo de vida mais curto.

2.3. Resultados

2.3.1. Características da área de estudo

A temperatura da água do mar foi de 20,5 °C para toda a coluna de água no inverno e variou entre 23,3°C (superfície) e 22,5°C (fundo) na primavera. Valores de salinidade foram próximos de 34 em julho e de 33 em outubro de 2013. Estes valores são indicativos da presença da massa de água costeira (AC) (Castro-Filho *et al.*, 1987).

Tabela 2.1. Localização, profundidade e características da coluna de água na Enseada das Palmas no inverno e primavera de 2013.

	Inverno (julho/2013)	Primavera (outubro/2013)
Latitude	23°31.805'S	23°31.805'S
Longitude	045°03.743'W	045°03.743'W
Profundidade (m)	7,0	7,0
<i>Água de superfície</i>		
Temperatura (°C, CTD)	20,5	23,2
Salinidade (CTD)	34,36	33,6
Oxigênio Dissolvido (mL.L ⁻¹)	5,78±0,43	5,35±0,17
pH	8,264±0,007	8,0
<i>Água de fundo</i>		
Temperatura (°C, CTD)	20,5	22,5
Salinidade (CTD)	34,42	33,6
Oxigênio Dissolvido (mL.L ⁻¹)	5,59±0,66	5,48±0,12
pH	8,226±0,025	8,00

No inverno, a principal fração de tamanho do sedimento foi areia (> 60%) em todos os perfis verticais. No entanto, as frações muito finas (silte e argila) também foram detectadas, com valores entre 10 e 18% para as camadas mais profunda e superior, respectivamente. O carbono orgânico total variou entre 0,51% (sedimento de superfície) e 0,43% (camada de 6-10 cm). O conteúdo de clorofila-a (chl-a) nos sedimentos variou entre 7,8 (0-1 cm) e 1,6 µg.g⁻¹ (6-10 cm; Figura 2.1), enquanto os feopigmentos variaram entre 77,8 µg.g⁻¹ na camada superficial e 14,2 µg.g⁻¹ na camada de fundo.

Tabela 2.2. Características sedimentares da Enseada das Palmas no inverno de 2013.

<i>Enseada das Palmas - Inverno (julho/2013)</i>					
<i>Sedimento</i>	0-1 cm	1-2 cm	2-4 cm	4-6 cm	6-10 cm
Tamanho médio do grão (μm)	4,57	3,73	3,72	3,76	3,33
Classificação (Shepard 1954)	Areia Siltica	Areia Siltica	Areia Siltica	Areia Argilosa	Areia
Carbono orgânico Total (%)	0,52	0,65	0,80	0,76	0,43
$\delta^{13}\text{C}$ total	-21,2	-21,4	-21,7	-19,5	-21,4
$\delta^{15}\text{N}$ total	3,6	2,4	3,6	3,2	3,8

Tabela 2.3. Características sedimentares da Enseada das Palmas na primavera de 2013.

<i>Enseada das Palmas - Primavera (outubro/2013)</i>					
<i>Sedimento</i>	0-1 cm	1-2 cm	2-4 cm	4-6 cm	6-10 cm
Tamanho médio do grão (μm)	4,48	4,1	4,11	4,27	4,25
Classificação (Shepard 1954)	Areia Siltica	Areia	Areia	Areia Siltica	Areia Siltica
Carbono orgânico Total (%)	0,44	0,52	0,50	0,44	0,53
$\delta^{13}\text{C}$ total	-21,84	-21,20	-22,80	-22,42	-21,69
$\delta^{15}\text{N}$ total	5,9	6,0	6,4	5,8	6,9

Na primavera, areia foi novamente a principal fração de tamanho do sedimento (> 70%) em todos os perfis verticais. No entanto, as frações muito finas (silte e argila) também foram detectadas, com valores entre 08 e 17% em subsuperfície. O carbono orgânico total variou entre 0,44% (0-1 cm) e 0,53% (camada de 6-10 cm). O conteúdo de clorofila-a (chl-a) nos sedimentos foi menor em relação ao inverno e variou entre 3,9 (0-1 cm) e 0,9 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (6-10 cm; Figura 2.1), enquanto feopigmentos variaram entre 27,3 e 11,4 $\mu\text{g.g}^{-1}$, no sedimento superficial e de fundo, respectivamente.

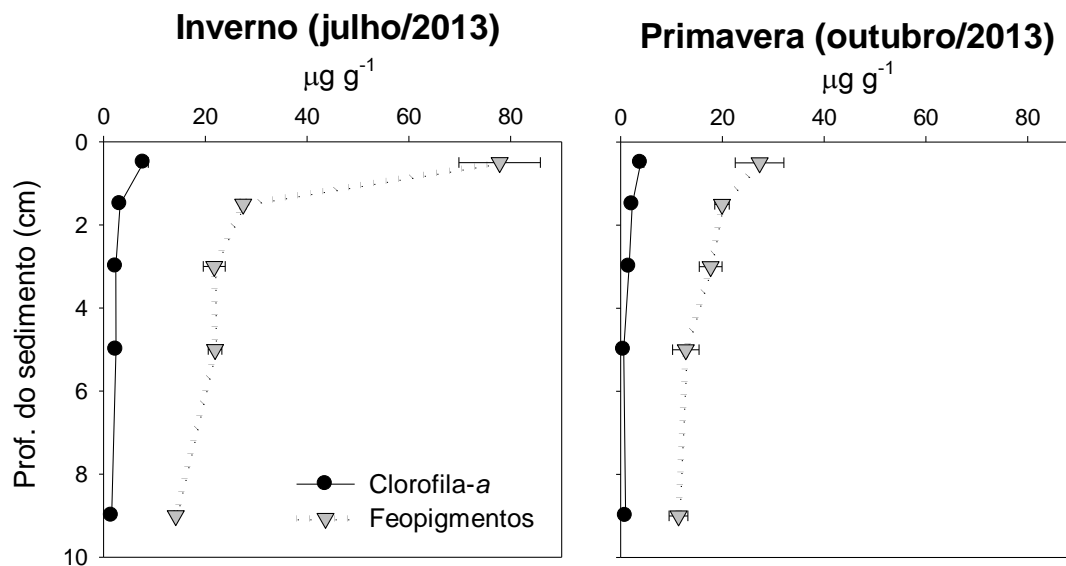


Figura 2.1. Perfil vertical dos fitopigmentos analisados na coluna sedimentar no inverno e primavera de 2013 na Enseada das Palmas. Barras de erro indicam desvio padrão (n=3).

2.3.2. Biomarcadores lipídicos

Contribuição relativa dos compostos

A distribuição dos ácidos graxos nos sedimentos da Enseada das Palmas apresentou compostos com números de carbono variando entre C₁₂ e C₂₄, com predominância típica de compostos com número par de carbonos, tanto nas amostras coletadas em julho de 2013 quanto em outubro desse mesmo ano.

No inverno, ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) foram predominantes em toda camada sedimentar com um pequeno aumento na camada de fundo (6-10 cm), seguidos pelos ácidos graxos ramificados (BRANCH), ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e ácidos graxos poli-insaturados (PUFA). Os ácidos graxos de cadeia longa (LCFA) apresentaram contribuições muito baixas (<1%), sendo representados apenas pelos C₂₃ e C₂₄ (Figura 2.2). As concentrações dos ácidos graxos individuais encontram-se no apêndice (p. 115).

Na primavera, SCFA foram ainda predominantes em toda camada sedimentar, com maior contribuição relativa na camada de fundo. MUFA foram mais abundantes na primavera em relação ao inverno enquanto PUFA

aumentaram e BRANCH diminuíram suas concentrações. LCFA novamente tiveram contribuições muito baixas (<1%), sendo representados apenas pelos C₂₃ e C₂₄ (Figura 2.2).

Entre os SCFA, o ácido palmítico (C₁₆) foi o mais abundante em toda a distribuição vertical de sedimento, representando quase 30% do total de ácidos graxos no inverno e cerca de 20% na primavera. Em seguida, as maiores concentrações encontradas foram de C₁₂, C₁₄ e C₁₈, com algumas variações nas contribuições entre as camadas sedimentares.

Contribuições substanciais de outros ácidos graxos como os MUFAs C_{16:1 ω 7}, e C_{18:1 ω 7} e C_{18:1 ω 9} foram encontradas em ambos os períodos analisados, com concentrações pouco maiores na primavera.

Os BRANCH *iso*-C₁₅, o *anteiso*-C₁₅, *iso*-C₁₇, o *anteiso*-C₁₇ e o 10-metil-C₁₆ tiveram as maiores concentrações em todo o perfil vertical de sedimento em ambos os períodos analisados. Outros ramificados, como o *iso*-C₁₃ e *anteiso*-C₁₃ tiveram abundância relativa baixa (<1,0% do total de ácidos graxos ramificados). As amostras de sedimento coletadas no inverno apresentaram contribuição média de BRANCH na coluna de sedimento maior (variando entre 27,8 e 14,6% na superfície e fundo do sedimento, respectivamente) quando comparada à primavera, com valores entre 8,2 e 5,3% na superfície e fundo da camada sedimentar.

Os principais compostos poli-insaturados encontrados foram o C_{20:4 ω 3} e o C_{20:5 ω 3}, representando juntos quase 100% do total de PUFA. Na primavera, as concentrações desses compostos foram maiores se comparadas ao inverno.

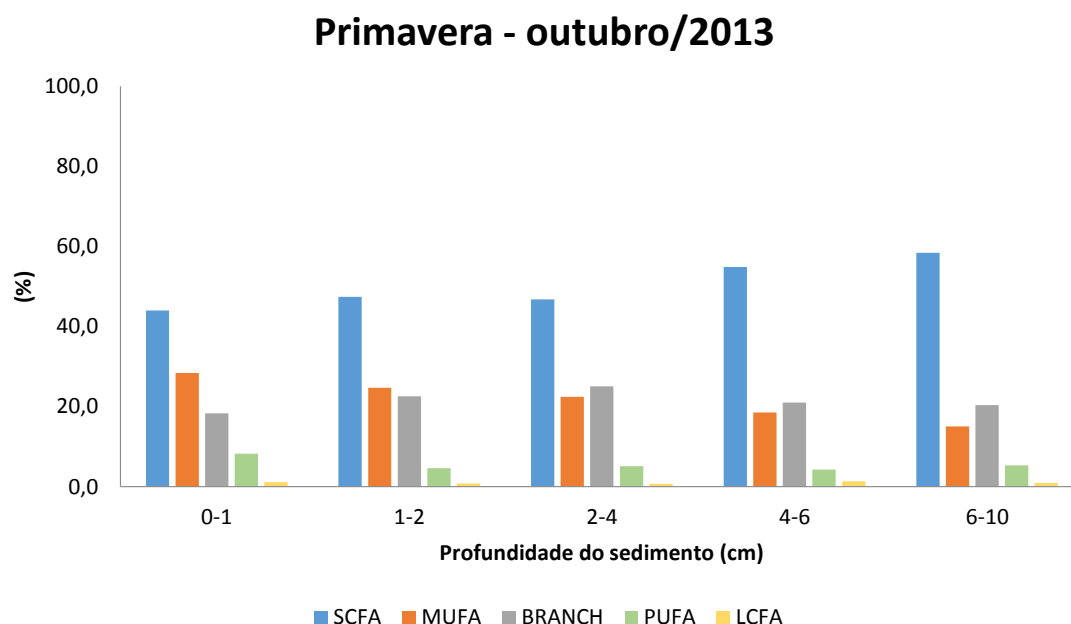
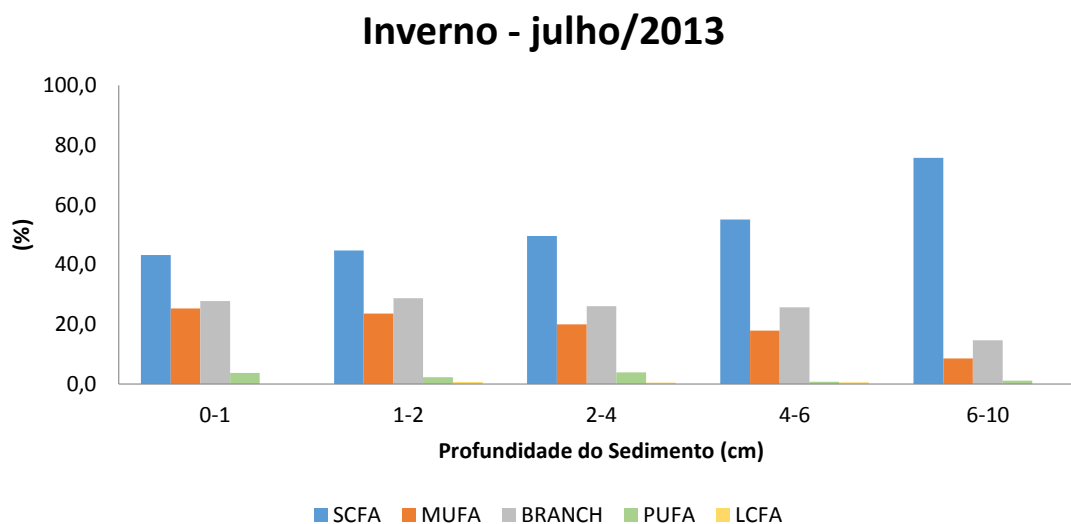


Figura 2.2. Contribuição relativa dos principais grupos de ácidos graxos analisados no sedimento da Enseada das Palmas. SCFA: ácidos graxos de cadeia curta, MUFA: ácidos graxos monoinsaturados, PUFA: ácidos graxos poli-insaturados, BRANCH: ácidos graxos ramificados e LCFA: ácidos graxos de cadeia curta.

Fontes de MO a partir dos biomarcadores específicos

A partir dos ácidos graxos identificados no sedimento da Enseada das Palmas nos meses de julho e outubro de 2013, foi possível distinguir 3

principais fontes de MO para o sistema: fitoplanctônica, bacteriana e de origem terrestre (Tabela 2.4)

As maiores concentrações encontradas foram daqueles ácidos graxos relacionados aos produtores primários (SCFA e PUFA, principalmente), seguido dos biomarcadores específicos de bactéria, principalmente na camada superficial do sedimento. Com o aumento da profundidade, as concentrações oriundas dessas fontes autóctones, em geral, diminuíram com o aumento da profundidade (Figura 2.3).

Compostos associados à origem terrestre tiveram concentrações menores em relação aos demais, sendo representados apenas por 2 compostos: C_{23} e C_{24} . Suas baixas concentrações mantiveram-se praticamente constantes ao longo da camada sedimentar (Figura 2.3).

Tabela 2.4. Associação típica dos biomarcadores identificados nesse estudo com suas possíveis fontes (Modificado de Canuel e Cloern, 1995). SCFA: ácidos graxos de cadeia curta (C_{20}), PUFAS: ácidos graxos poli-insaturados e LCFA: ácidos graxos de cadeia longa (>math>C_{20}</math>).

Fonte	Compostos
Bactéria	iC_{13} , iC_{14} , iC_{15} , aiC_{15} , iC_{16} , iC_{17} , aiC_{17} , 10-Me $C_{16:0}$, $C_{18:1\omega7}$, iC_{20}
Fitoplâncton	SCFA, $C_{16:1\omega7}$ e PUFAS ($C_{16:2\omega7}$, $C_{20:5\omega3}$, $C_{18:5\omega3}$ e $C_{22:6\omega3}$)
Terrígeno	LCFA (C_{23} e C_{24})

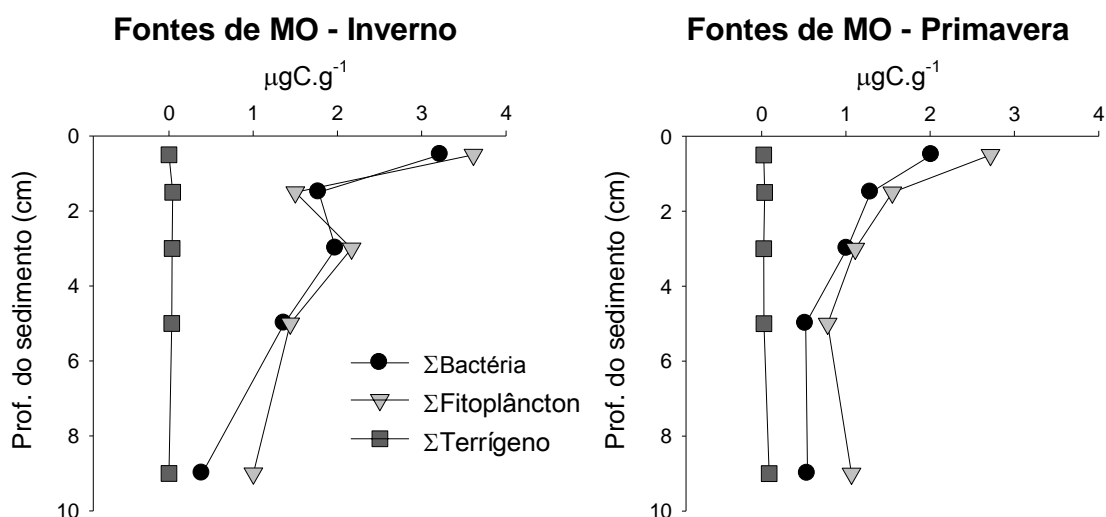


Figura 2.3. Perfil vertical das fontes de MO definidas a partir dos biomarcadores lipídicos no inverno e primavera de 2013 na Enseada das Palmas, Ubatuba-SP, Brasil.

2.3.3. Análises isotópicas

Produtores primários, zooplâncton e sedimento

Em julho de 2013, matéria orgânica particulada (MOP) teve razões isotópicas de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) entre -22,2 e -23,4‰ na superfície e fundo (7,0 m) da coluna de água, respectivamente. Em outubro, os valores foram -21,3‰ na superfície e -22,2‰ no fundo. A espécie de angiosperma marinha *Halophila* sp. foi encontrada no sedimento nesse período, apresentando $\delta^{13}\text{C}$ de $-11,9 \pm 0,1\%$. Folhas de plantas vasculares, coletadas somente na primavera, tiveram $\delta^{13}\text{C}$ de até $-30,4 \pm 1,8\%$.

O $\delta^{13}\text{C}$ da matéria orgânica do sedimento superficial na Enseada das Palmas foi de $-21,2 \pm 0,2\%$ em julho de 2013 e $-21,8 \pm 0,1 \%$ em outubro desse mesmo ano. As razões isotópicas de carbono na coluna sedimentar tiveram valores próximos entre as duas estações, cerca de -21,0‰. O $\delta^{15}\text{N}$ foi menor em julho, variando entre 2,4 e 3,8‰ e entre 5,8 e 6,9‰ em outubro de 2013 (Tabela 2.2 e Tabela 2.3).

As razões do isótopo estável de nitrogênio dos produtores primários na Ilha Anchieta variaram entre $2,0 \pm 0,2 \%$ (MOP, outubro/2013) e $3,1 \pm 0,3 \%$ (*Halophila* sp., julho/2013). A MOP teve valor de $4,0 \pm 0,1 \%$ (superfície) e $5,2 \pm 0,2 \%$ (fundo) em julho, enquanto que em outubro, variou de $4,3 \pm 1,3 \%$ na superfície e $4,9 \pm 1,4 \%$ no fundo da coluna de água. O $\delta^{15}\text{N}$ do sedimento foi de $3,6 \pm 0,2 \%$ e $5,9 \pm 0,7 \%$ em julho e outubro de 2013, respectivamente.

O zooplâncton, coletado apenas na primavera, teve razões isotópicas médias de $-21,0 \pm 0,6 \%$ para o carbono e $6,6 \pm 0,4\%$ para o nitrogênio.

Consumidores bênticos

Um total de 604 invertebrados foram analisados quanto às assinaturas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nos dois períodos de coleta, sendo 27 espécies presentes no inverno e 26, no verão.

No mês de julho, o $\delta^{13}\text{C}$ da macrofauna variou entre -25,1 e -14,3‰, sendo que o organismo mais enriquecido foi o poliqueta *Lumbrineris tetraura*. A espécie mais empobrecida em ^{13}C foi o molusco bivalve *Codakia costata* (-25,1‰). Entre os poliquetas, grupo mais abundante identificado, a média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ foi de $-17,2 \pm 1,1\text{‰}$, com o menor valor medido na espécie *Magelona variolamellata* (-18,6‰) (Tabela 2.5).

Suspensívoros, representados principalmente por moluscos bivalves e duas espécies de poliquetas (*Owenia* sp. e *Poecilochaetus perequensis*), apresentaram valores médios de $-18,7 \pm 3,0\text{‰}$. A maioria dos organismos, em ambos os períodos, foram depositívoros (e.g., poliquetas, sipúnculas, equinodermes e moluscos) e, no inverno, em média eles foram mais enriquecidos em ^{13}C ($-16,8 \pm 1,2\text{‰}$) em relação aos demais organismos da macrofauna. Carnívoros (antozoários, nemertinos e poliquetas) tiveram assinatura isotópica de carbono média de $-17,0 \pm 0,6\text{‰}$.

Ainda no inverno, a maioria dos suspensívoros e depositívoros ocupou o segundo nível trófico (NT), enquanto que alguns depositívoros e os carnívoros predadores ocuparam o terceiro nível (Tabela 2.5). A assinatura média de $\delta^{15}\text{N}$ dos carnívoros foi relativamente maior em relação aos demais tipos alimentares ($9,6 \pm 0,5\text{‰}$), seguidos pelos depositívoros de subsuperfície ($8,6 \pm 0,4 \text{‰}$), onívoros ($8,1 \pm 0,9 \text{‰}$), depositívoros de superfície ($7,9 \pm 1,0 \text{‰}$) e suspensívoros ($6,7 \pm 3,2 \text{‰}$).

Na primavera, as assinaturas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ na macrofauna variaram entre -22,2 e -11,9‰, sendo que o organismo mais enriquecido foi crustáceo *Saltipedis paulensis*, e mais empobrecido em ^{13}C foi o poliqueta *Owenia* sp. Entre os poliquetas, novamente o grupo mais abundante identificado, a média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ foi de $-17,8 \pm 2,3\text{‰}$ (Tabela 2.6).

Suspensívoros, representados principalmente por briozóários, moluscos bivalves e alguns poliquetas (*Magelona variolamellata*, *Magelona papillicornis*, *Owenia* sp. e *Poecilochaetus perequensis*), tiveram valores médios de $-18,0 \pm 3,1\text{‰}$. Depositívoros (e.g. poliquetas, sipúnculas, equinodermes) tiveram valores médios de ^{13}C ($-18,1 \pm 2,7\text{‰}$) similares aos suspensívoros. Carnívoros

(antozoários, nemertinos e poliquetas) tiveram assinatura isotópica de carbono média de $-16,8 \pm 1,8\text{‰}$.

Nessa estação, a posição dos níveis tróficos continuou a mesma do inverno, com suspensívoros e depositívoros no segundo nível trófico, enquanto que alguns depositívoros e os carnívoros ocuparam o terceiro nível (Tabela 2.6). A assinatura média de $\delta^{15}\text{N}$ dos carnívoros foi a maior entre as demais ($10,0 \pm 0,7\text{‰}$), seguidos pelos depositívoros de superfície ($8,8 \pm 1,7 \text{‰}$), depositívoros de subsuperfície ($8,3 \pm 1,2 \text{‰}$), onívoros ($8,1 \pm 1,4 \text{‰}$) e suspensívoros ($7,9 \pm 1,3 \text{‰}$).

Alguns organismos bênticos (*Edwardsia* sp., *Amphipholis squamata*, *Phlyctiderma semiaspera*, *Notomastus lobatos*, *Leodice rubra*, Pectinaridae e *Poecilochaetus perequensis*) mudaram sua $\delta^{15}\text{N}$ e nível trófico entre as duas estações de amostragem.

Tabela 2.5. $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) (média \pm desvio padrão) e níveis tróficos (NT) dos componentes da teia trófica bêntica da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP) estudados no inverno de 2013.

Componente	Inverno - julho/2013							
	Hábito Alimentar	Referência	Ni	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	DP	NT
Produtores Primários								
<i>MOP</i> (superfície)				-22,0		4,0	0,1	
<i>MOP</i> (fundo - 7.0 m)				-23,4		5,2	0,2	
<i>Halophila</i> sp. (angiosperma marinha)				-11,9	0,1	3,1	0,3	
Sedimento (0-1 cm)				-21,2	0,2	3,6	0,2	
Consumidores bênticos								
Anthozoa								
<i>Edwardsia</i> sp.	C	Brusca & Brusca 2002	61	-16,9	0,1	10,3	0,2	3,6
Comunidade bacteriana								
Echinodermata								
Ophiuroidea								
<i>Microphiopholis atra</i>	DSS	Amaral et al. 2009	11	-16,5		9,1		3,2
<i>Amphipholis squamata</i>	DSS	Amaral et al. 2009	1	-15,3		9,0		3,2
Mollusca								
Bivalvia								
<i>Codakia costata</i>	S	Arruda et al. 2003	3	-25,1		0,5		0,7
<i>Dosinia concentrica</i>	S	Souza et al. 2010	18	-19,8	0,4	7,2	0,1	2,7
<i>Eurytellina nitens</i>	S/DS	Arruda et al. 2003	16	-15,9	0,3			
<i>Tellina martinicensis</i>	S/DS	Arruda et al. 2003	5	-15,7		7,3	0,4	2,7
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>	S	Souza et al. 2010	3	-18,8		7,0		2,6
Scaphopoda								
	D	Brusca & Brusca 2002	16	-15,1	1,3	9,0	0,2	3,2
Nemertea								
	C	Brusca & Brusca 2002	7	-16,4		9,7		3,4
Polychaeta								
Capitellidae								
<i>Notomastus lobatus</i>	DSS	Venturini et al. 2011	8	-16,4	0,0	8,3	0,1	3,0
Cirratulidae	DS	Fauchald & Jumars 1979	4	-17,7		8,1		2,9
Eunicidae								
<i>Leodice rubra</i>	C/H/D	Fauchald & Jumars 1979	5	-17,3	0,7	8,3	0,0	3,0
Lumbrineridae								
<i>Lumbrineris tetraura</i>	C/H/D	Fauchald & Jumars 1979	9	-14,3		7,4		2,7
Magelonidae								
<i>Magelona variolamellata</i>	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	15	-18,6	0,4	7,4	0,2	2,7
Maldanidae								
	DSS	Fauchald & Jumars 1979	19	-18,4		8,1		2,9
Orbiniidae								
	D	Fauchald & Jumars 1979	5	-17,8		8,1		2,9
Pectinariidae								
	DSS	Fauchald & Jumars 1979	8	-17,5	0,9	8,4	1,2	3,0
Polynoidae								
<i>Eunoe cf. papilosa</i>	C	Fauchald & Jumars 1979	8	-17,3	0,3	9,2	0,2	3,3
<i>Eunoe cf. serrata</i>	C	Fauchald & Jumars 1979	3	-17,1		9,6		3,4
Oweniidae								
<i>Owenia</i> sp.	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	1	-17,7		9,4		3,3
Sigalionidae								
<i>Fimbriosthenelais marianae</i>	C	Fauchald & Jumars 1979	2	-15,7		8,8		3,1
<i>Sthenolepis</i> sp.	C	Fauchald & Jumars 1979	3	-16,8		9,8		3,4
Poecilochaetidae								
<i>Poecilochaetus perequensis</i>	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	74	-18,5	0,7	8,9	0,0	3,2
Terebellidae								
	DS	Fauchald & Jumars 1979	2	-16,9		8,6		3,1
Sipuncula								
<i>Thysanocardia catharinae</i>	DS	Santos e Pires-Vanin 2004	53	-16,7	0,2	7,8	0,2	2,8
<i>Aspidosiphon</i> sp.	DS		3	-16,3		6,1		2,3

Abreviações dos hábitos alimentares referem-se à depositívoros (D), depositívoros de superfície (DS), depositívoros de sub-superfície (DSS), herbívoros (H), suspensívoros (S) e carnívoros (C). MPS = material particulado em suspensão (<62mm), DP = desvio padrão, Ni = número de indivíduos, NT = nível trófico.

Tabela 2.6. $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) (média \pm desvio padrão) e níveis tróficos (NT) dos componentes da teia trófica bêntica da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP) estudados na primavera de 2013.

Componente	Primavera - outubro/2013							
	Hábito Alimentar	Referência	Ni	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	DP	NT
Produtores Primários								
<i>MOP (superfície)</i>				-22,2	0,3	4,3	1,3	
<i>MOP (fundo - 7,0 m)</i>				-21,3	0,3	4,9	1,4	
Material terrestre (TERR)				-30,4	1,8	2,0	0,2	
Sedimento (0-1 cm)								
				-21,8	0,1	5,9	0,7	
Consumidores pelágicos								
Zooplâncton				-21,0	0,6	6,6	0,4	
Consumidores bênticos								
Anthozoa								
<i>Edwardsiasp.</i>	C	Brusca & Brusca 2002	7	-15,5	7,1	9,5	1,2	2,8
Bryozoa								
<i>Discoporella umbellata</i>	S	Brusca & Brusca 2002	30	-16,7	0,3	7,0	0,5	2,1
Comunidade bacteriana								
				-20,7	1,1			
Crustacea								
<i>Alpheus floridanus</i>	D	Palomar et al., 2004	1	-19,1		8,0		2,4
<i>Ampelisca paria</i>	S/DS	Parker 1984; Nyssen et al. 2002	3	-22,1				
<i>Saltipedis paulensis</i>	D	Sieg, 1988; Drum 2004, 2005	5	-22,2				
Echinodermata								
Ophiuroidea								
<i>Microphiopholis atra</i>	DSS	Amaral et al. 2009	2	-21,3				
<i>Amphipholis squamata</i>	DSS	Amaral et al. 2009	5	-19,6	3,9	8,5	1,1	2,5
Echinoidea	H/S/D	Brusca & Brusca 2002	3	-16,2		8,3		2,5
Holothuroidea	S/D	Brusca & Brusca 2002	5	-18,0	0,2	8,7	0,6	2,6
Mollusca								
Bivalvia								
<i>Dosinia concentrica</i>	S	Souza et al. 2010	1	-20,9		6,9		2,1
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>	S	Souza et al. 2010	3	-20,3		6,3		1,9
Nematoda								
	D	Corbisier et al. 2004	100	-19,1		12,0		3,6
Nemertea								
	C	Brusca & Brusca 2002	2	-18,1	0,4	10,5	0,7	3,1
Polychaeta								
Capitellidae								
<i>Notomastus lobatus</i>	DSS	Venturini et al. 2011	1	-16,7		9,7		2,9
Cirratulidae	DS	Fauchald & Jumars 1979	1	-20,6		8,5		2,6
Eunicidae								
<i>Leodice rubra</i>	C/H/D	Fauchald & Jumars 1979	1	-17,4		6,2		1,9
Magelonidae								
<i>Magelona variolamellata</i>	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	1	-18,7		8,8		2,6
<i>Magelona papillicornis</i>	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	1	-19,9		8,2		2,5
Maldanidae	DSS	Fauchald & Jumars 1979	3	-19,7	0,7	6,7	0,9	2,0
Nereididae								
<i>Gymnonereis crosslandi</i>	C/D	Dean et al., 2001	1	-18,0		11,4		3,4
Paraonidae	C/D	Fauchald & Jumars 1979	2	-18,4		7,8		2,3
Pectinariidae	DSS	Fauchald & Jumars 1979	2	-17,6	0,7	8,2	0,1	2,5
Oweniidae								
<i>Oweniasp</i>	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	4	-11,9	0,0	10,0	0,1	3,0
Poecilochaetidae								
<i>Poecilochaetus perequensis</i>	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	52	-18,2		8,1		2,4
Spionidae	S/DS	Fauchald & Jumars 1979	2	-16,0		6,7		2,0
Sipuncula								
<i>Thysanocardia catharinae</i>	DS	Santos e Pires-Vanin 2004	3	-18,9	0,1	7,7	0,4	2,3

Abreviações dos hábitos alimentares referem-se à depositivos (D), depositivos de superfície (DS), depositivos de sub-superfície (DSS), herbívoros (H), suspensivos (S) e carnívoros (C). MPS = material particulado em suspensão (<62mm), DP = desvio padrão, Ni = número de indivíduos, NT = nível trófico.

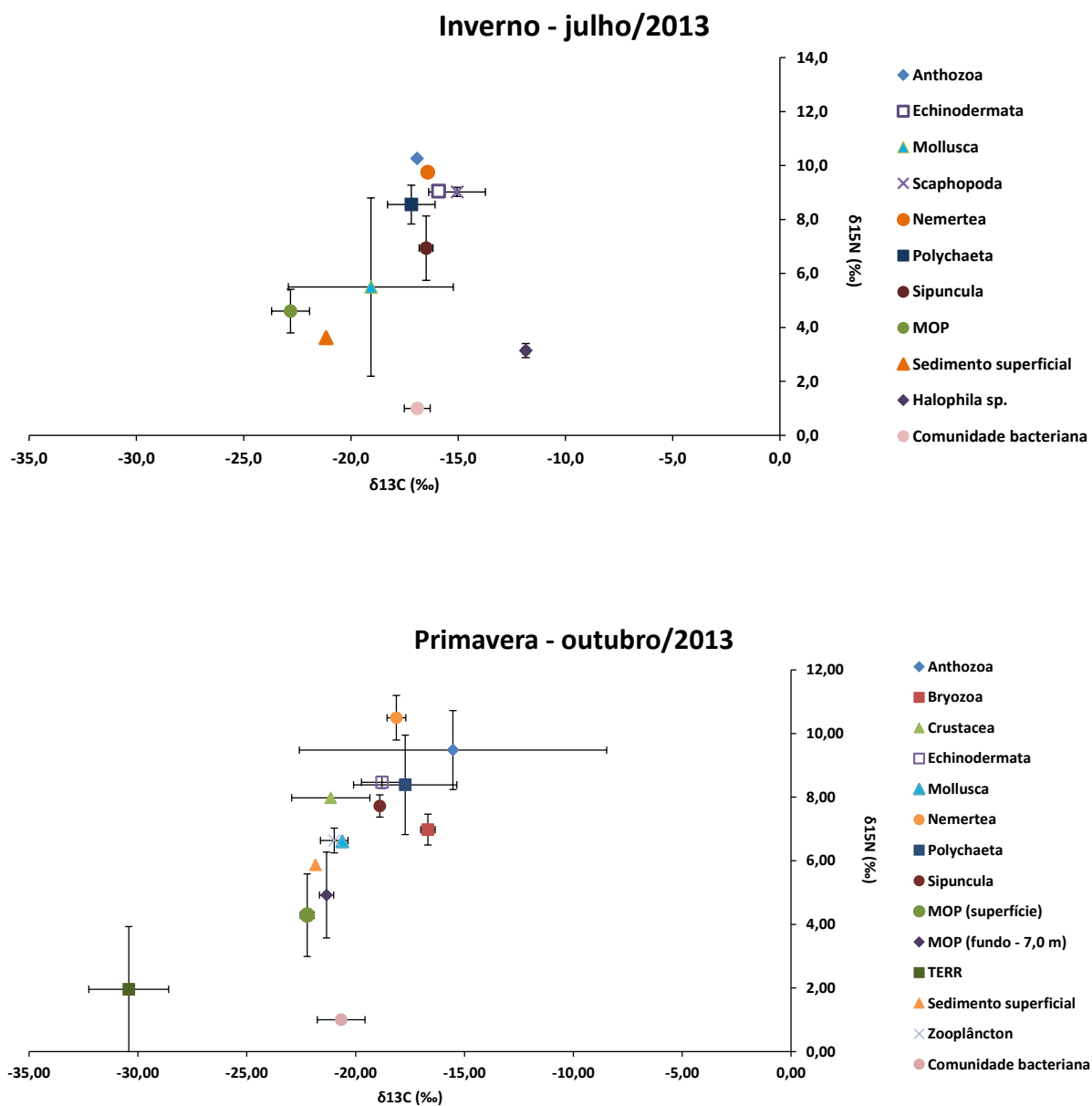


Figura 2.4. Valores médios (\pm desvio padrão) do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) dos componentes da trama trófica da Enseada das Palmas (Ubatuba/SP) coletados no inverno e primavera de 2013.

2.4. Discussão

Fontes de MO para o sistema bêntico

Condições ambientais físicas (e.g., profundidade, ação de ondas, eventos de ressurgência) e a frequência da produção primária são importantes fatores que afetam as relações tróficas e a estrutura de teias, especialmente em ecossistemas costeiros e comunidades de ambientes rasos (Barry & Dayton, 1991).

Nos ambientes meso-oligotróficos, como a zona costeira de Ubatuba, a entrada de alimento novo, principalmente no inverno, pode ser limitada e episódica, fazendo com que domine organismos comedores de depósitos e onívoros, se alimentando de múltiplas fontes de alimento além do fitoplâncton, como aquelas vindas de produções *in situ* no sedimento (e.g., microfitobentos, angiospermas marinhas), detritos e material orgânico acumulado no sedimento e ainda aqueles mais refratários, como o material orgânico terrestre (TERR).

Foi visto, a partir dos biomarcadores lipídicos, que a MO fresca autóctone derivada da própria produção primária da coluna de água sobrejacente e a MO retrabalhada, também autóctone e derivada da comunidade bacteriana, são as principais fontes de carbono para o sedimento da Enseada das Palmas, nas duas estações analisadas. No inverno, entretanto, maiores contribuições relativas de BRANCH sugerem a importância das fontes bacterianas, enquanto que na primavera PUFA em maiores concentrações refletem o aumento da produção primária local.

Além disso, as concentrações de ácidos graxos somadas aos valores de fitopigmentos indicaram que as fontes de maior qualidade concentram-se, principalmente, nos primeiros centímetros da coluna sedimentar, diminuindo suas concentrações com a profundidade do sedimento. Compostos saturados e mais difíceis de serem degradados (SCFA) aumentaram suas concentrações no fundo da camada sedimentar devido ao acúmulo desses compostos e como resultado da degradação dos compostos insaturados.

Alguns estudos apontam para o fato de que lipídios associados às fontes marinhas (autóctones) tendem a ser processados mais rapidamente do que aqueles de origem terrestre em sedimentos marinhos, refletindo o grau de

degradação desses compostos (Volkman *et al.*, 1987, Gogou & Stephanou, 2004). Dados anteriores no litoral norte de São Paulo (Yoshinaga *et al.*, 2008, Pereira, 2008, Venturini *et al.*, 2011) já apontaram a importância dessas fontes marinhas na região.

O microfítobentos, micro- e macroalgas, angiospermas marinhas e matéria orgânica de origem terrestre, podem ser também fontes de carbono contribuindo para a estrutura trófica de Ubatuba (Yoshinaga *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2010, Corbisier *et al.*, 2006). Embora a região da Enseada das Palmas não tenha rios que desaguam trazendo MO, a área de coleta é rasa e muito próxima à costa.

Em nosso estudo, entretanto, biomarcadores lipídicos que indicam a presença de matéria orgânica de origem terrestre (TERR) apresentaram as mais baixas concentrações ao longo da camada sedimentar. Além disso, valores mais enriquecidos dos organismos em relação ao valor muito empobrecido da TERR (-30,4 ‰) não indicam consumo desse material. Devido ao alto conteúdo de celulose presente na maioria das plantas vasculares, a maioria das espécies marinhas possui pouca habilidade para digerir e assimilar a TERR (Schell, 1983). Portanto, os organismos acabam optando por outras fontes de maior qualidade. Matsuura & Wada (1994) e Corbisier *et al.* (2006) também não encontraram evidências da entrada da TERR na teia trófica bêntica em Ubatuba.

Relações tróficas

O zooplâncton apresentou razões isotópicas de carbono (-21‰) que refletem o consumo da MOP, com um enriquecimento de ~1‰. Já para a fauna, em geral, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados sugerem teias tróficas baseadas na produção primária fitoplanctônica, principalmente na primavera. Valores mais enriquecidos no inverno sugerem consumo de fontes alternativas como as angiospermas marinhas presente em maior quantidade na superfície do sedimento nesse período (observadas durante a coleta por mergulho autônomo).

Suspensívoros (principalmente moluscos bivalves) apresentaram assinaturas isotópicas de carbono que provavelmente também refletem a produção pelágica sobrejacente. Por serem organismos que filtram partículas da coluna de água, possuem conexão direta com os pulsos de produção primária no ambiente (fitodetritos), fato este corroborado através dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ que sugerem a MOP como fonte alimentar para esses organismos com um enriquecimento de cerca de 4,0‰ no inverno e 1,0 a 6,0‰ na primavera. *Dosinia concentrica* e *Phlyctiderma semiaspera* apresentaram, na primavera, uma relação muito próxima com a MOP e o zooplâncton.

Em geral, o enriquecimento sugerido para o $\delta^{13}\text{C}$ é de ~1‰. Matsuura & Wada (1994) encontraram valores similares de enriquecimento de moluscos bivalves suspensívoros (~4,2‰) em relação a sua dieta ao largo de Ubatuba, resultados esses que corroboram com nosso estudo. Por outro lado, Corbisier *et al.* (2006) encontrou valores menores de enriquecimento na Enseada do Flamengo (~1,3‰), próximos ao sugerido pela literatura (Peterson & Fry, 1987).

Depositívoros, grande maioria dos organismos identificados, tiveram valores mais enriquecidos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em relação aos suspensívoros, porém com ampla variação de valores nas duas estações. Esses resultados refletem o retrabalhamento da matéria orgânica presente no sedimento e a mistura de outras fontes de MO em sua dieta, além das oriundas da coluna de água. Assim como para os suspensívoros, o enriquecimento em relação à dieta depositívora foi, em geral, maior do que o estimado (~1‰; Peterson & Fry, 1987), principalmente no inverno.

Carnívoros predadores, que ocuparam principalmente o terceiro nível trófico em ambas as estações, como o antozoário *Edwardsia* sp. e alguns poliquetas (famílias Polynoidae e Sigalionidae) apresentaram valores isotópicos enriquecidos, porém, sem relação clara de suas fontes de MO, provavelmente devido à ampla variedade de presas existentes no ambiente.

As espécies bênticas identificadas cobrem um amplo espectro de hábitos alimentares devido as suas diferentes estratégias e adaptações. Nosso estudo identificou 3,6 níveis tróficos na comunidade bêntica da Enseada das

Palmas, tanto no inverno quanto no verão de 2013. Produtores primários, analisados através da MOP, tiveram valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 4,0 e 5,2‰ no inverno e 4,3 e 4,9‰ na primavera. A menor posição trófica dos consumidores é relatada nos suspensívoros, enquanto que a maior nos carnívoros.

Houve ainda presença de diversos consumidores com mais de um hábito alimentar, conforme verificado na literatura, que poderia ser resultado da variabilidade sazonal da quantidade da MO, fazendo com que os organismos sejam capazes de modificar sua dieta de acordo com a disponibilidade e condições ambientais (Kedra *et al.*, 2012). Adicionalmente, apesar do número total de níveis tróficos não modificar entre as duas estações do ano, alguns organismos mudaram suas posições entre elas (*e.g.*, *Leodice rubra*, *Poecilochaetus perequensis*). Essas mudanças poderiam resultar em um comprimento menor de teia trófica em condições mais extremas de disponibilidade e qualidade de MO (Kedra *et al.*, 2012).

O conhecimento de todas essas informações é de fundamental importância, não só para o uso sustentável dos ecossistemas costeiros, mas também para fornecer bases para entender e prever alterações frente às mudanças globais, como o aquecimento e a acidificação dos oceanos, além de propor planos de manejo e conservação.

Capítulo 3

Tempo de resposta da comunidade bêntica frente à chegada de fitodetritos no sistema costeiro meso-oligotrófico de Ubatuba

Resumo

Experimentos de *pulse-chase* foram conduzidos utilizando a microalga *Tetraselmis* sp. (Prasinophyceae) marcada com o isótopo de carbono ^{13}C em testemunhos contendo sedimento intacto da Enseada nas Palmas, na Ilha Anchieta (Ubatuba), litoral norte do estado de São Paulo, Brasil. O objetivo principal foi entender a resposta da comunidade bêntica a esse pulso de alimento e o consumo dessa matéria orgânica fresca ao longo do tempo (2, 4, 7 e 11 dias) em uma área costeira caracterizada pelo regime meso-oligotrófico. Praticamente todos os grupos identificados, bem como os biomarcadores bacterianos mostraram enriquecimento relativo ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação do traçador. Na biomassa bacteriana, após 2 dias de experimento, altos valores de incorporação ($7283,04 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) foram detectados na camada superficial do sedimento (0-1 cm). Ao longo do tempo experimental, a incorporação bacteriana decresceu para $7041,30$ e $5612,25 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 4 e 7 dias, respectivamente, e no dia 11 atingiu o menor valor $4478,93 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$. Entre os grupos da macrofauna, poliquetas apresentaram o maior $\Delta\delta^{13}\text{C}$ e incorporação do traçador durante todos os tempos experimentais. Novamente, organismos presentes na camada superficial foram os mais importantes, ocorrendo rápido enriquecimento em 94,7% da macrofauna após 4 dias de experimento. Nesse período, os principais agentes na incorporação do traçador foram os poliquetas *Prionospio steenstrupi* ($51291,9 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm), *Leodice rubra* ($20971,5 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm) e *Poecilochaetus perequensis* ($6171,8$ e $7263,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 0-4 e 4-10 cm, respectivamente) e o molusco bivalve *Eurytellina nitens* ($10600,4 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm). Após 7 dias de experimento, a incorporação do traçador foi menor entre os grupos, porém, no dia 11 a incorporação média na macrofauna atingiu seu máximo. Esse estudo mostrou que a comunidade bêntica que vive nesse ambiente meso-oligotrófico de Ubatuba tem um importante papel no consumo da matéria orgânica nova derivada do fitoplâncton. Esses resultados sugerem que processos como a intrusão da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) na primavera-verão, que estimula a produção primária, e a ressuspensão do sedimento durante o outono-inverno, que também traz pulsos de alimento para as comunidades bênticas, são provavelmente essenciais não só para a manutenção e sobrevivência da comunidade bêntica mas também para a função ecossistêmica e a ciclagem do carbono nesses ambientes relativamente pobres em alimento.

3.1. Introdução

O afundamento de material orgânico particulado em ecossistemas costeiros é um importante fator estruturador de comunidades do fundo marinho (Sumida *et al.*, 2005). A quantidade e qualidade da matéria orgânica (MO) que chega ao sedimento influenciam não somente a estrutura da fauna, mas também suas interações tróficas. Uma vez depositada, uma grande variedade de organismos se alimentam dessa MO fresca afetando os processos bênticos essenciais, como fluxos de energia, metabolismo e taxas de degradação da MO (Sweetman & Witte, 2008; Quintana *et al.*, 2010). A entrada de MO nos sedimentos depende principalmente da produção primária na zona eufótica sobrejacente, sendo que os organismos bênticos locais incorporam entre 25 e 50% desse material orgânico fresco em áreas costeiras rasas (Suess 1980; Sumida *et al.*, 2005). O restante pode ser consumido na coluna de água, enterrado ou exportado e depositado em outros locais (Herman *et al.*, 2000; Sumida *et al.*, 2005). Além disso, a produção fitoplanctônica varia sazonalmente e, como consequência, a exportação de MO para o sistema bêntico pode ser restrita a eventos episódicos (Sumida *et al.*, 2005; Sweetman & Witte, 2008).

Organismos móveis podem ser atraídos pela MO depositada e a fauna bêntica tem um papel importante no processamento da MO através do consumo e incorporação em sua biomassa e da redistribuição e mistura vertical na coluna de sedimento (Aberle & Witte, 2003; Guilini *et al.*, 2011). Esses processos são chave na diagênese recente da MO que chega ao fundo marinho e no ciclo global do carbono (Witte *et al.*, 2003; Sweetman & Witte, 2008). Grupos de organismos bênticos (*e.g.*, bactéria, meio- e macrofauna) podem ter uma resposta rápida na assimilação do fitodetrito que chega ao fundo marinho (Levin *et al.*, 1999; Moodley *et al.*, 2002). Levin *et al.* (1999) observaram que o fitodetrito marcado foi assimilado entre horas e dias pelas espécies de metazoários da macrofauna e protozoários na costa da Carolina do Norte (EUA). A magnitude e velocidade de resposta dos organismos varia com a quantidade e qualidade da MO depositada, sendo que depósitos de matéria orgânica lábil podem estimular altas densidades e biomassa de organismos bênticos (Moodley *et al.*, 2005; Buhning *et al.*, 2006; Quintana *et al.*,

2010). Além disso, a estrutura trófica da comunidade também pode ser um fator fundamental na velocidade de resposta e a competição pode ocorrer entre os organismos (Gontikaki *et al.*, 2011; Quintana *et al.*, 2010). Experimentos com traçadores em mar profundo revelaram alta assimilação do fitodetrito fresco em famílias de poliquetas (Cirratulidae, Paraonidae, Ampharetidae e Lumbrineridae) encontradas nos primeiros dois centímetros da coluna sedimentar, sendo a maioria depositívoros e herbívoros (Sweetman & Witte, 2008; Gontikaki *et al.*, 2011). Ao mesmo tempo, a resposta nem sempre é evidente e estudos recentes em sedimentos subtropicais da zona entremarés, que mostraram que o traçador de ^{13}C foi transferido em apenas 12 horas para bactérias e somente pequenas frações foram transferidas para os metazoários nesse período (Oakes *et al.*, 2014).

A zona costeira de Ubatuba tem um regime entre meso- e oligotrófico (Sassi & Kutner, 1982; Gaeta *et al.*, 1995, 1999), e é dirigida principalmente pela intrusão sazonal da massa de água ACAS (Água Central do Atlântico Sul) e pela passagem de frentes frias que revolvem o sedimento das áreas rasas (Castro Filho *et al.*, 1987, Mahiques *et al.*, 1998). Comparado a sistemas temperados (*e.g.*, Heip *et al.* 1992; Reiss *et al.* 2010), a fauna bêntica de Ubatuba é mais diversa e menor em termos de biomassa (Pires-Vanin, 1993; Rocha *et al.*, 2003; Santos & Pires-Vanin, 2004). O alimento é tipicamente provido por fitodetritos (Yoshinaga *et al.*, 2006, 2008) e microfitobentos, sendo este último mais importante em locais com profundidades menores que 10 metros (Quintana *et al.*, 2010). Apesar do conteúdo relativamente baixo de MO lábil nos sedimentos, pulsos sazonais de alimento fresco ocorrem na primavera/verão com a intrusão da ACAS e no outono/inverno com a ressuspensão de nutrientes do sedimento pelas frentes frias, ambos injetando nutrientes novos na zona eufótica. Quintana *et al.* (2014) observaram que aumentos no número de indivíduos da macrofauna podem ocorrer no outono/inverno, demonstrando que a macrofauna é capaz de responder rapidamente aos eventos episódicos e que pequenos pulsos de alimento podem ser essenciais para sua sobrevivência.

A ecologia trófica de Ubatuba é conhecida através de alguns estudos realizados com análises tradicionais de conteúdos estomacais e isótopos

estáveis (IE) (Pires, 1992; Pires-Vanin, 1993; Matsuura & Wada, 1994; Petti *et al.*, 1996; Petti *et al.*, 1997; Santos & Pires-Vanin, 2004; Corbisier *et al.*, 2006). IE têm se mostrado uma ferramenta poderosa para elucidar e traçar fontes de alimento para animais marinhos, pois a assinatura isotópica de um heterótrofo é o resultado das diferentes assinaturas que compõem o alimento durante o seu processamento (Peterson & Fry, 1987; Herman *et al.*, 2000; Boschker & Middelburg, 2002; Pape *et al.*, 2013). Isótopos estáveis podem também ser aplicados como marcadores em estudos experimentais, simulando pulsos de MO fresca (fitodetrito marcado com ^{13}C) no sedimento marinho (*i.e.*, experimentos de *pulse-chase*). Isto permite a quantificação da contribuição de um compartimento biológico específico, grupo taxonômico ou espécie no processamento da MO e pode fornecer informação valiosa sobre a resposta bêntica, remineralização e interações tróficas (Boschker & Middelburg, 2002; Maria *et al.*, 2011).

O objetivo desse estudo foi investigar a resposta da comunidade bêntica a um pulso de alimento em um sistema meso-oligotrófico usando experimentos de *pulse-chase*. A chegada de fitodetrito no fundo marinho foi simulada através da injeção de material algal marcado com ^{13}C e sua assimilação foi investigada após 2 (bactérias), 4, 7 e 11 dias.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Área de estudo e coleta de amostras

A área de estudo foi explicada detalhadamente no Capítulo 1 (p. 11). Resumidamente, amostras para realização desse experimento foram coletadas em julho de 2013 na Enseada das Palmas, Ilha Anchieta (Ubatuba, São Paulo, 7 m de profundidade) a bordo do barco de pesquisa B/Pq. Véliger II. Testemunhos de acrílico com 9,4 cm de diâmetro interno e 20 cm de comprimento (0.01 m^2) contendo sedimento intacto foram coletados através de mergulho autônomo. Após a coleta, os testemunhos foram cuidadosamente transferidos para a base norte de pesquisa do Instituto Oceanográfico da USP.

3.2.2. Detalhamento do desenho experimental

Preparo do fitodetrimento com o traçador de ^{13}C

O processo fotossintético no meio marinho ocorre via ciclo C3, ou seja, durante a fixação, o carbono inorgânico assimilado pela alga é transformado em um composto orgânico de três carbonos via enzima RuBisCO (Ribulose Bifosfato Carboxilase/Oxigenase). A maioria das plantas terrestres possui esse tipo de ciclo fotossintético e os valores típicos de $\delta^{13}\text{C}$ são entre -32 a -22‰, com média de -27‰. No meio marinho, o fitoplâncton possui, em geral, valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -30 e -18‰, mas tipicamente próximos de -22‰ (Coleman & Fry, 1991).

Essas diferenças entre plantas do mesmo ciclo devem-se principalmente ao ambiente diferenciado. No meio marinho, as algas também utilizam o bicarbonato como fonte de carbono para a fotossíntese, o qual é substancialmente mais enriquecido em ^{13}C do que o CO_2 atmosférico. Além disso, fatores abióticos como salinidade, temperatura e disponibilidade de CO_2 na água do mar podem influenciar os valores de ^{13}C (Coleman & Fry, 1991).

Espécies fitoplanctônicas marinhas, portanto, utilizam carbono inorgânico dissolvido (CID) da água do mar. Em locais onde o pH da água do mar varia entre 8,0 e 8,3, o CID é constituído praticamente de íons HCO_3^- , enquanto que o CO_2 dissolvido corresponde a menos de 1% desse total, devido ao equilíbrio com o CO_2 atmosférico (Skirrow, 1975 apud Nimer *et al.*, 1997). Durante o processo fotossintético, os íons bicarbonato são convertidos em CO_2 pela enzima Anidrase Carbônica (AC), a qual não é encontrada em todas as microalgas, mas está presente em fitoflagelados como os do gênero *Tetraselmis* (Rigobello-Mansini *et al.*, 2003). Algumas espécies marinhas, entretanto, consomem exclusivamente CO_2 , sendo o tipo de composto utilizado espécie-dependente. Outras espécies podem, inclusive, se adaptar rapidamente a mudanças nas concentrações desses compostos dissolvidos, assimilando um ou outro (Nimer *et al.*, 1997). Para a assimilação do fitodetrimento fresco pela biota e o destino dessa matéria orgânica, isótopos estáveis de

carbono (^{13}C) são traçadores relativamente fáceis de serem aplicados e analisados.

Com esse objetivo, a microalga *Tetraselmis* sp., cedida pelo Banco de Micro-organismos Marinhos do IOUSP, foi cultivada em meio de cultura f/2 com adição de íons bicarbonato marcados com o isótopo estável de carbono (^{13}C), com período claro:escuro de 12:12 h e temperatura constante de 20°C (Guillard & Ryther, 1962; Guillard, 1975). Em um frasco de cultivo adicionou-se 5 mL por litro de cultura da solução de bicarbonato de sódio enriquecido com o isótopo estável de carbono 13 ($\text{NaH}^{13}\text{CO}_2$; 99% 336mg/100ml água MILIQ; Guilini *et al.*, 2011).

Considerando que a biomassa de organismos planctônicos é uma função das condições do meio de cultura como tipo de meio (f/2) ou nutrientes adicionados, pH, temperatura, luz e CID, a adição de íons bicarbonato contribuíram para um pequeno aumento do pH do meio de cultura e na concentração do CID, resultando em diferenças no crescimento das algas. Apesar dessas diferenças, observou-se um crescimento em densidades requeridas para a utilização das células nos experimentos.

Após 15 dias, período em que as microalgas ainda estão em fase exponencial de crescimento, os cultivos foram interrompidos e as algas separadas via centrifugação. O conteúdo foi então congelado, liofilizado e armazenado ao abrigo da luz até análise e utilização nos experimentos.

Experimentos em laboratório

Os experimentos em laboratório foram conduzidos na câmara fria do do Laboratório Integrado de Processos Oceanográficos (LIPO) durante 11 dias consecutivos. Para tanto, os testemunhos coletados contendo o sedimento intacto foram colocados em um sistema de aquários capaz de controlar os parâmetros da água do mar (pH, temperatura, oxigênio dissolvido).

O sistema é formado por 4 tanques: 3 tanques de circulação de 60L, onde são colocados os testemunhos com sedimento do experimento e um tanque principal de 100L chamado *sump*, onde é realizado o controle de

qualidade da água. Além disso, é equipado com um *skimmer* (fracionador de proteínas) para a retirada de compostos indesejáveis na água do sistema (*i.e.*, compostos orgânicos nitrogenados); bombas de circulação; sensores de nível da coluna de água; aquecedores e resfriadores para controlar a temperatura (Figura 3.1.).



Figura 3.1. Sistema de aquários utilizados nos experimentos: tanques experimentais de circulação na parte superior e sumps na parte inferior.

Em cada tanque de circulação foram colocados 3 testemunhos de sedimento, mantidos a temperatura constante (22°, temperatura próxima a da área de estudo no momento da coleta) e para aclimatação por 24 horas. Após esse período, em cada testemunho foram injetados 0,5 g da microalga *Tetraselmis* sp. marcada com o isótopo de carbono (^{13}C) (Figura 3.2). As microalgas liofilizadas foram reidratadas com água do mar filtrada (GF/F 0,7 μm) e distribuídas homogeneamente na superfície do sedimento. Em seguida, os testemunhos foram fechados com uma tampa para permitir o assentamento da alga e evitar perda de material marcado nos tanques.

Duas horas após a injeção do traçador e a confirmação visual do assentamento do fitodetrito, a tampa foi removida e os testemunhos foram mantidos pelos tempos de 2, 4, 7 e 11 dias no escuro a 22°C.

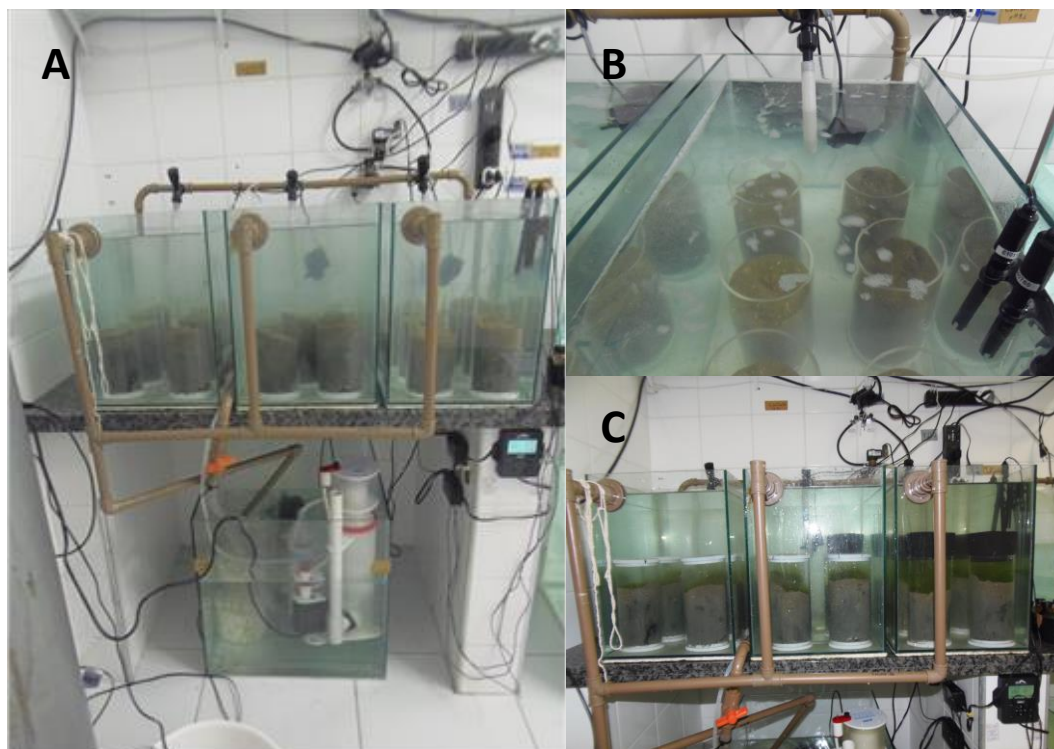


Figura 3. 2. A) Sistema de aquários contendo os testemunhos com sedimento; B) Detalhe do tanque de circulação e sensores; C) Testemunhos de sedimento após a adição do fitodetrito marcado.

No final de cada período de tempo experimental, seis testemunhos foram aleatoriamente retirados dos tanques e sacrificados. Três desses testemunhos foram imediatamente fatiados em duas frações verticais 0-4 e 4-10 cm para amostragem da fauna bêntica. As amostras de sedimento para a macrofauna foram peneiradas (500 μm) e o sedimento peneirado foi mantido em cubas com água do mar filtrada sob constante aeração para manter a biota viva e garantir limpeza de seus tratamentos digestórios.

Os demais testemunhos foram fatiados em cinco intervalos verticais de 0-1, 1-2, 2-4, 4-6 e 6-10 cm, cada fatia foi homogeneizada e amostras para bactéria (biomarcadores) e características do sedimento (fitopigmentos, carbono orgânico total, razões isotópicas) foram retiradas. O restante desse sedimento foi agrupado nas fatias correspondentes as fatias da fauna (0-4 e 4-10 cm) e submetidos aos mesmos procedimentos descritos acima. No período de 2 dias apenas amostras para a comunidade bacteriana foram coletadas. Isso se deu devido a resultados de experimentos-piloto que demonstraram que

em 2 dias apenas pequenas frações do traçador foram encontradas nos organismos da macrofauna.

3.2.3. Análises em laboratório

Características sedimentares

- Fitopigmentos do sedimento

As concentrações da clorofila-a e feopigmentos da coluna sedimentar foram quantificadas pelo método espectrofotométrico através da extração com acetona 100% (Plante-Cuny, 1978). Detalhes da metodologia são descritos no capítulo 2 (p. 19).

- Razões isotópicas de carbono

As razões isotópicas de carbono foram determinadas no sedimento e na macrofauna bêntica seguindo as mesmas metodologias descritas no capítulo 2 (p. 25). Resumidamente, as amostras liofilizadas foram tratadas com HCl (0,1 M – sedimento e 0,25 M – fauna) para remoção do CaCO_3 , secas novamente, pesadas em cápsulas de estanho (5 x 9 mm) e submetidos à análise elementar e isotópica no analisador elementar Costec Instruments Elemental Combustion System acoplado ao detector de espectrometria de massas com razão isotópica Thermo Scientific Delta V Advantage Isotope Ratio MS (EA-IRMS) no Laboratório de Química Inorgânica Marinha (LaQIMar) no Instituto Oceanográfico da USP.

Novamente, nem todas as espécies da macrofauna coletadas nos testemunhos foram possíveis de analisar isoladamente devido ao reduzido tamanho dos organismos. Nestes casos, espécimes de uma mesma espécie foram analisados em conjunto para garantir massa suficiente para detecção no equipamento para as análises isotópicas. Organismos maiores (e.g., bivalves, alguns poliquetas, nemertinos e sipúnculas) foram analisados individualmente. As razões isotópicas, bem como a assimilação relativa, foram calculadas de acordo com os métodos apresentados no Capítulo 2, página 21.

Comunidade bacteriana

Os ácidos graxos derivados de fosfolipídios específicos de bactérias (do inglês *phospholipid fatty acids*, PLFA) foram analisados em parceria com pesquisadores do *Royal Netherlands Institute of Sea Research* (NIOZ), na Holanda, e utilizados para estimar a incorporação do traçador na biomassa bacteriana (Boschker & Middelburg, 2002) segundo a metodologia descrita no capítulo 2 (p. 20). Resumidamente, os lipídios foram extraídos utilizando o método de extração de Bligh & Dyer (1959), fracionados em sílica gel (Merck Kieselgel 60) em diferentes classes por polaridade, derivatizados para obter ácidos graxos metil-ésteres (FAMES) e determinados utilizando um cromatógrafo gasoso HP G1530 acoplado a uma interface de combustão e ao detector de espectrometria de massas com razão isotópica Thermo Delta (GC-c-IRMS). A quantificação dos compostos foi feita comparando-se a área do pico a um padrão interno (C₁₉ FAME). Outros padrões (C₁₂ e C₁₆ FAME) foram também utilizados para a identificação dos ácidos graxos individuais.

Cinco PLFAs específicos (i-C14:0, i-C15:0, ai-C15:0, i-C17:0 e ai-C17:0) foram identificados e utilizados para quantificar a incorporação nas bactérias heterotróficas presentes no sedimento (Kaneda, 1991, Boschker & Middelburg, 2002).

3.2.4. Tratamento de dados

As razões isotópicas são reportadas em notação delta (δ), expressas em partes por mil (‰), relativas ao padrão do carbono (Vienna Pee Dee Belemnite; RVPDB = 0,01118) e calculados de acordo com:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\left(\frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} \right) - 1 \right] * 1000$$

O consumo do traçador ¹³C é refletido como o excesso em relação ao controle amostral (dados contidos no Capítulo 2) e expresso em termos de assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$, Middelburg *et al.*, 2000; Moodley *et al.*, 2002; Witte *et al.*, 2003) que indica o enriquecimento em ¹³C da amostra em relação às

quantidades naturais medidas (dados no Capítulo 2) e o consumo relativo da matéria orgânica (MO) marcada pela comunidade bêntica:

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_{\text{amostra}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{controle}}$$

$\Delta\delta^{13}\text{C}$ foi calculado em relação ao controle entre as espécies de cada grupo taxonômico. Nos casos em que as espécies não estavam presentes nas amostras do controle, o $\Delta\delta^{13}\text{C}$ foi calculado em relação ao seu grupo trófico baseado na literatura e/ou nas razões isotópicas naturais de organismos fortemente relacionados (e.g., mesmo gênero ou mesma família).

A assimilação total de ^{13}C , também chamada de incorporação (I , que indica o carbono total derivado do traçador (^{13}C) que foi efetivamente incorporado na biota), foi calculada como produto do excesso de ^{13}C (E) e biomassa da macrofauna. E é a diferença entre as frações da amostra e do controle, de acordo com:

$$E = F_{\text{amostra}} - F_{\text{controle}}$$

$$\text{Onde: } F = \frac{^{13}\text{C}}{(^{13}\text{C} + ^{12}\text{C})} = \frac{R}{(R+1)}, \text{ e } R = (\delta^{13}\text{C}/1000 + 1) \times R_{\text{VPDB}}$$

A identificação dos ácidos graxos individuais, o cálculo dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e as concentrações de PLFA foram feitas utilizando o pacote do programa R chamado Rlims (Soetaert *et al.*, 2011), uma ferramenta criada para converter cromatogramas em concentração de PLFA e valores isotópicos.

A incorporação (I) do ^{13}C na comunidade bacteriana é também o produto do excesso de ^{13}C (E) e da biomassa do consumidor, neste caso, das concentrações dos biomarcadores específicos de bactéria (Moodley *et al.*, 2005).

$$I_{\text{PLFA}} = E_{\text{PLFA}} \times \text{PLFA}_{\text{concentração}}$$

Entretanto, a incorporação total na biomassa bacteriana é calculada com base na incorporação de ^{13}C em todos os biomarcadores específicos de bactérias presentes nas amostras (Boscker & Middelburg, 2002; Moodley *et al.*, 2000):

$$I_{\text{bact}} = \sum I_{\text{PLFA}_{\text{bact}}} / (a \times b)$$

Onde a é a concentração padrão média de PLFA em bactérias (0,056 g C PLFA/g C biomassa) e b representa a fração de PLFA bacteriano considerada em nossas amostras (0,32; calculado através da porcentagem de iC_{14} , iC_{15} , aiC_{15} , iC_{17} e aiC_{17} segundo Boscker & Middelburg, 2002).

Valores de porosidade do sedimento foram utilizados para converter g PLFA/g de sedimento seco para biomassa bacteriana por m^2 . A captação de carbono derivado de algas para as bactérias foi calculada como o quociente entre a incorporação total (I) e a abundância fracionária de ^{13}C nas algas (0,25).

3.3. Resultados

Características sedimentares

As amostras coletadas nos testemunhos experimentais apresentaram os maiores valores de clorofila- a e feopigmentos na camada superficial de sedimento (0-1 cm) em todos os períodos de incubação. Além disso, os perfis verticais desses parâmetros também foram similares, com diminuição da concentração com a profundidade (Figura 3.3). As razões isotópicas de carbono foram enriquecidas na superfície do sedimento e empobrecidas em subsuperfície, com valores próximos a -20‰. Uma exceção, mostrando enriquecimento em ^{13}C , foi observada no tempo T4 na camada entre 2-4 cm (Figura 3.4).

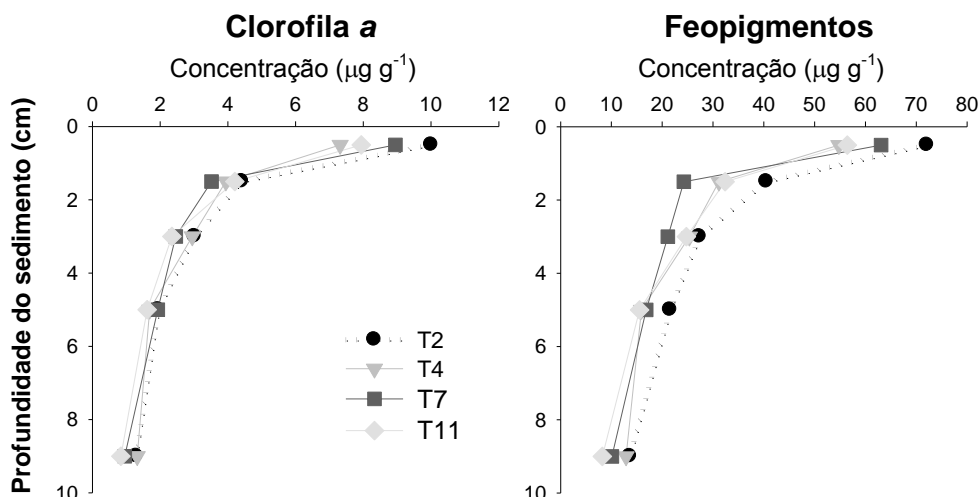


Figura 3.3. Perfis verticais com os valores de clorofila-a e feopigmentos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) do sedimento em cada testemunho e tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).

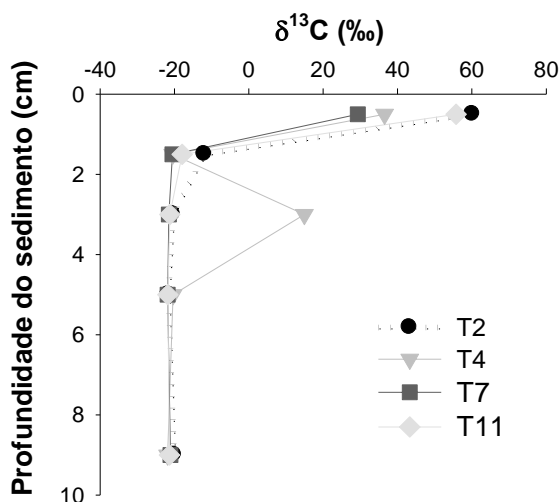


Figura 3.4. Perfis verticais com os valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do sedimento em cada testemunho e tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).

Macrofauna

Foram encontrados, no total, 596 indivíduos da macrofauna nos testemunhos de sedimento intactos do experimento. As espécies bem como a biomassa por profundidade de sedimento são mostradas na Tabela 3.1. Diferenças na composição das espécies foram encontradas entre os testemunhos, mas, em geral, os grupos com maior ocorrência foram identificados em todas as amostras. Poliquetas foram os organismos mais

importantes, compreendendo 48% (T4), 53% (T7) e 63% (T11) do total de organismos. A espécie mais abundante de poliqueta encontrada foi *Poecilochaetus perequensis*. A abundância da macrofauna decresceu ao longo dos dias de experimento e a maioria dos organismos foi encontrada na camada mais superficial (0-4 cm) em todos os testemunhos (T4, T7 e T11) (Tabela 3.1).

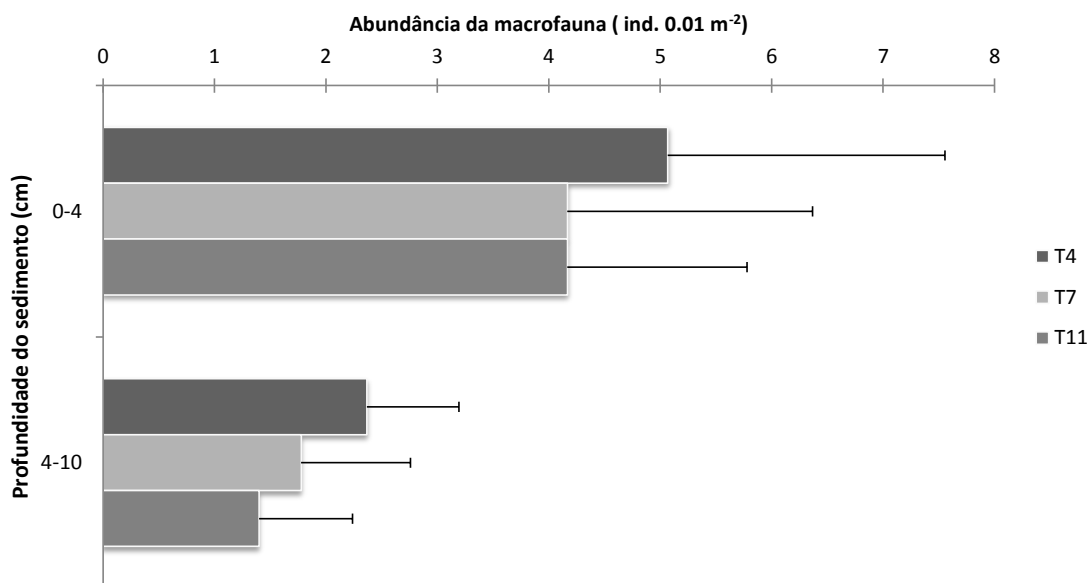


Figura 3.5. Distribuição vertical (ind. 0,01 m²) da abundância total da macrofauna nos testemunhos de sedimento do experimento (T4, T7 e T11 dias). As barras de erro representam o desvio padrão.

Tabela 3.1. Espécies identificadas, biomassa, assinaturas isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$), assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação na biomassa (I) dos organismos da macrofauna dos testemunhos experimentais (T4, T7 e T11 dias). DP = desvio padrão; Ni = número de indivíduos.

Taxon	T4							T7							T11							
	Ni	Biomassa (mgC.m ⁻²)	Prof. Sedimento (cm)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	I (μC.m ⁻²)	Ni	Biomassa (mgC.m ⁻²)	Prof. Sedimento (cm)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	I (μC.m ⁻²)	Ni	Biomassa (mgC.m ⁻²)	Prof. Sedimento (cm)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	I (μC.m ⁻²)	
Anthozoa																						
<i>Edwardsia</i> sp.	12	9,6	0-4	-3,4	3,1	13,5	129,5	13	17,2	0-4	11,9	6,4	28,8	497,3	9	48,3	0-4	13,6			30,5	1473,213
	1	88,3	4-10	-6,4		10,5	930,6	2	9,7	4-10	-1,6		15,3	149,3	-	-	-	-			-	-
Echinodermata																						
Ophiuroidea																						
<i>Microphiopholis atra</i>	2	46,3	0-4	-6,3	-	10,2	471,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mollusca																						
Bivalvia																						
<i>Dosinia concentrica</i>	1	46,1	0-4	21,9	-	41,7	1924,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eurytellina nitens</i>	3	39,2	0-4	254,7	-	270,5	10600,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tellinidae</i>	2	33,3	0-4	101,1	-	116,8	3894,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tellina martinicensis</i>	1	48,7	0-4	21,2	-	36,8	1795,7	2	53,7	0-4	216,7	103,4	232,3	12481,3	1	45,7	0-4	169,5	-	185,1	8453,899	
	-	-	-	-	-	-	-	1	46,0	4-10	194,1	-	209,7	9645,0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	36,1	0-4	-19,1	-	-0,3	-9,16234	
	1	54,8	4-10	-18,7	-	0,2	8,3	1	46,2	4-10	9,1	11,3	28,0	1292,7	1	49,8	4-10	19,9	0,8	38,7	1926,822	
	-	-	-	-	-	-	-	1	88,5	0-4	-5,0	-	11,4	1011,4	1	39,3	0-4	-17,0	-	-0,6	-23,0938	
Nemertea	2	64,7	4-10	-16,1	-	0,3	18,4	1	119,7	4-10	-15,3	-	1,1	136,5	-	-	-	-	-	-	-	-
Polychaeta																						
Capitellidae	-	-	-	-	-	-	-	2	-	4-10	-4,0	-	12,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Notomastus lobatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	30,0	0-4	29,2	-	45,5	1364,2	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mediomastus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	2	158,3	0-4	33,9	-	50,2	7946,1	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	85,5	4-10	-13,1	0,9	3,2	275,7	-	-	-	-	-	-	-	3	72,8	4-10	-2,9	-	13,5	980,4554	
Cirratulidae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	60,1	0-4	415,4	-	433,1	26031,23	
	-	-	-	-	-	-	-	1	115,4	4-10	-14,3	-	3,3	382,0	2	132,6	4-10	-15,7	-	2,0	259,1602	
Eunicidae																						
<i>Leodice rubra</i>	5	50,3	0-4	400,0	-	417,3	20971,5	1	47,8	0-4	431,6	-	448,9	21439,7	2	80,3	0-4	338,5	40,7	355,8	28557,87	
	-	-	-	-	-	-	-	1	40,7	4-10	387,2	-	404,5	16454,0	-	-	-	-	-	-	-	-
Lumbrineridae	9	59,7	0-4	74,1	8,8	88,4	5280,4	2	53,7	0-4	84,1	-	98,4	5284,5	3	108,4	0-4	156,4	65,8	170,8	18517,71	
Magelonidae																						
<i>Magelona variolamellata</i>	1	31,7	0-4	4,1	-	22,7	720,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Magelona papillicornis</i>	15	62,5	0-4	56,7	20,3	75,3	4703,5	14	68,8	0-4	31,4	5,7	50,0	3440,5	21	42,1	0-4	45,9	47,3	64,4	2712,176	
	3	63,4	4-10	-14,9	-	3,7	231,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Magelona posterelongata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	44,5	4-10	83,5	-	102,1	4543,107	

Assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) do traçador nos organismos da macrofauna

A maioria dos grupos da macrofauna identificados nesse experimento apresentou $\Delta\delta^{13}\text{C}$ e I em todos os tempos experimentais. Poliquetas apresentaram os maiores valores de assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) durante todo o experimento (T4, T7 e T11). Algumas espécies de moluscos também foram enriquecidas, como os bivalves *Eurytellina nitens* e *Tellina martinicensis*. Anthozoa, Nemertea e Ophiuroidea apresentaram apenas uma assimilação discreta do traçador.

A macrofauna presente nas camadas superficiais do sedimento apresentou valores de assinatura isotópica de carbono entre -11,5 e 477,0‰ (T4), -17,8 e 431‰ (T7) e -19,1 e 433,5‰ (T11). As maiores razões isotópicas foram detectadas em poliquetas, enquanto que o bivalve *Phlyctiderma semiaspera* e os nemertinos foram os mais empobrecidos em ^{13}C em relação aos demais organismos. Poliquetas foram também os mais enriquecidos nas camadas mais profundas do sedimento. Entretanto, nestas camadas, as assinaturas $\delta^{13}\text{C}$ foram as mais empobrecidas em relação às demais, com os menores valores de assimilação relativa, variando entre -18,7 e 196,9‰ (T4), 0,2 e 404,5‰ (T7) e -15,7 e 157,0‰ (T11). Após 7 dias de experimento (T7), um único valor de poliqueta da espécie *Leodice rubra* foi maior que os demais (404,5‰). As demais assinaturas isotópicas foram menores que 230‰.

Aproximadamente 95% dos organismos da macrofauna identificados nesse estudo assimilou o traçador em 4 dias de experimento. Entretanto, grandes variações foram encontradas entre os grupos. A assimilação de ^{13}C foi especialmente alta em duas espécies de poliquetas *Prionospio steenstrupi* ($\Delta\delta^{13}\text{C} = 495,5‰$) e *Leodice rubra* (417,3‰). O molusco bivalve *Eurytellina nitens* também mostrou alto valor de assimilação (270,5‰). Ao contrário dos demais poliquetas, o sigalionídeo *Sthenolepis* sp. apresentou assimilação relativa muito baixa e valores empobrecidos em ^{13}C (-11,5‰, $\Delta\delta^{13}\text{C}$ 5,4‰).

Na camada mais profunda do sedimento, entre 4 e 10 cm, apenas 37,5% dos organismos apresentaram evidências de assimilação do fitodetrito. O poliqueta *Poecilochaetus perequensis* e o sipúncula *Thysanocardia catharinae*

apresentaram assimilação relativa de 215,4 e 75,0‰ nesta camada, respectivamente (Figura 3.6.)

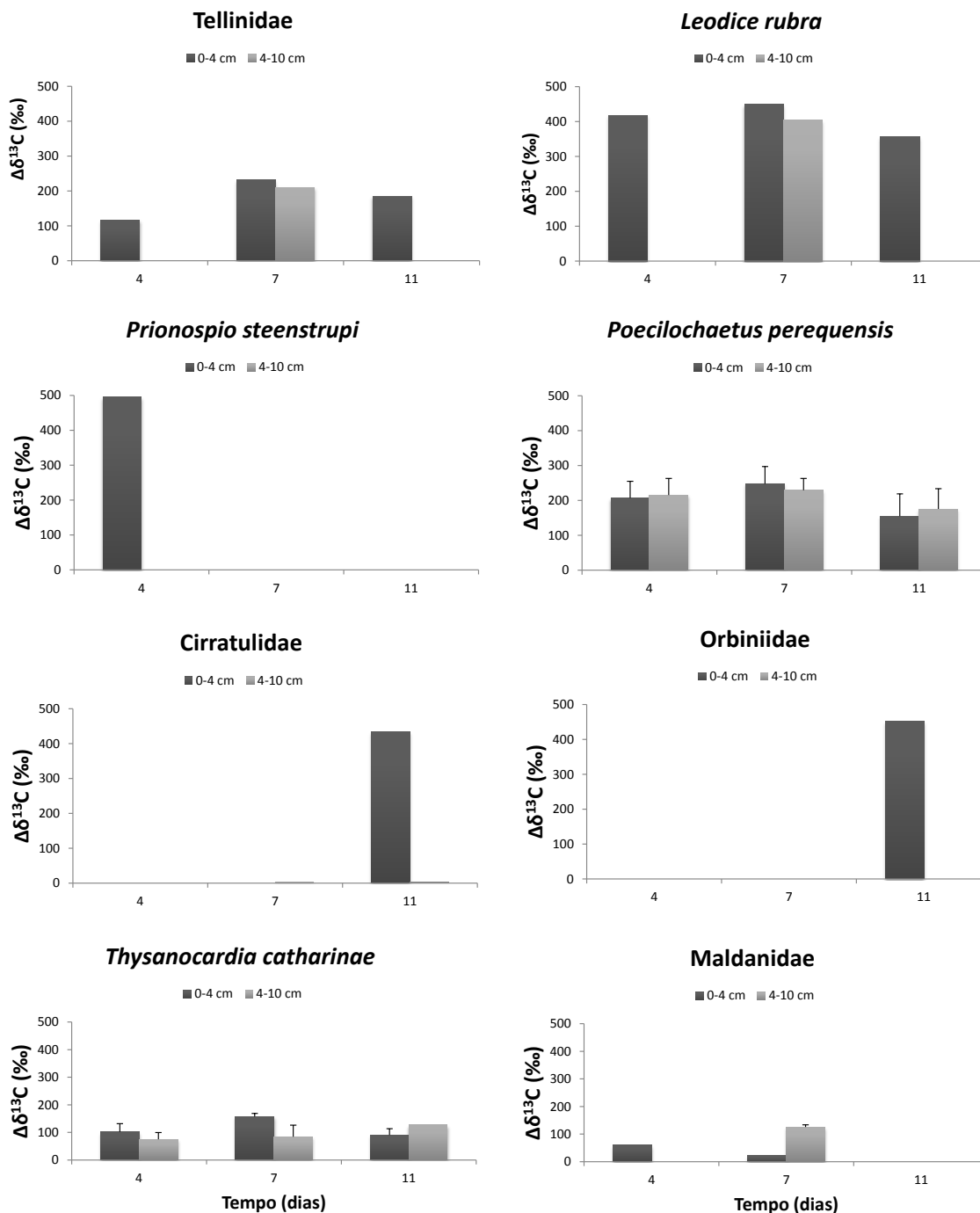


Figura 3.6. Assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$, ‰) dos principais grupos da macrofauna identificados nos testemunhos experimentais (T4, T7 e T11 dias) nas camadas de (a) superfície (0-4 cm) e (b) fundo (4-10 cm) do sedimento. Barras de erro representam o desvio padrão.

Incorporação (I) do traçador na comunidade da macrofauna

A incorporação na biomassa dos organismos foi maior na camada superficial do sedimento em todos os tempos experimentais, sendo significativamente maior nos poliquetas. Todos os resultados de I encontram-se compilados nas Tabelas 3.1 e 3.2.

Após 4 dias de experimento, as principais espécies com altos valores de I foram os poliquetas *Prionospio steenstrupi* ($51291,9 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm), *Leodice rubra* ($20971,5 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm) e *Poecilochaetus perequensis* ($6171,8$ e $7263,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 0-4 e 4-10 cm, respectivamente), e o molusco bivalve *Eurytellina nitens* ($10600,4 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, 0-4 cm).

A incorporação do traçador pela fauna na camada superficial foi menor após 7 dias de experimento. Poliquetas apresentaram novamente a maior resposta, especialmente a espécie *Leodice rubra* ($21439,7$ e $16454,0 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 0-4 e 4-10 cm, respectivamente). A espécie *Prionospio steenstrupi* não foi identificada nos testemunhos do T7, mas a espécie *Poecilochaetus perequensis* foi a segunda espécie de poliqueta mais importante em termos de incorporação ($9385,6$ e $8740,3 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 0-4 e 4-10 cm, respectivamente). O bivalve *Tellina martinicensis* ($12481,3 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$), o poliqueta *Mediomastus* sp. ($7946,1 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o sipúncula *Thysanocardia catharinae* ($5030,4 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) também foram importantes no consumo da matéria orgânica marcada.

Em 11 dias de experimento, a incorporação média entre os grupos da macrofauna foi maior (Figura 3.5.). Poliquetas e sipúnculas foram os principais grupos identificados nos testemunhos e houve baixa abundância de moluscos bivalves. Na camada superficial, a incorporação foi maior para: *Leodice rubra* ($285579 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$), família Cirratulidae ($26031,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$), Orbiniidae ($24813,8 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$), Lumbrineridae ($18517,7 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e *Poecilochaetus perequensis* ($5762,5$ e $7180,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, em 0-4 e 4-10 cm, respectivamente). O bivalve *Tellina martinicensis* ($8453,9 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) também teve papel importante na incorporação do traçador.

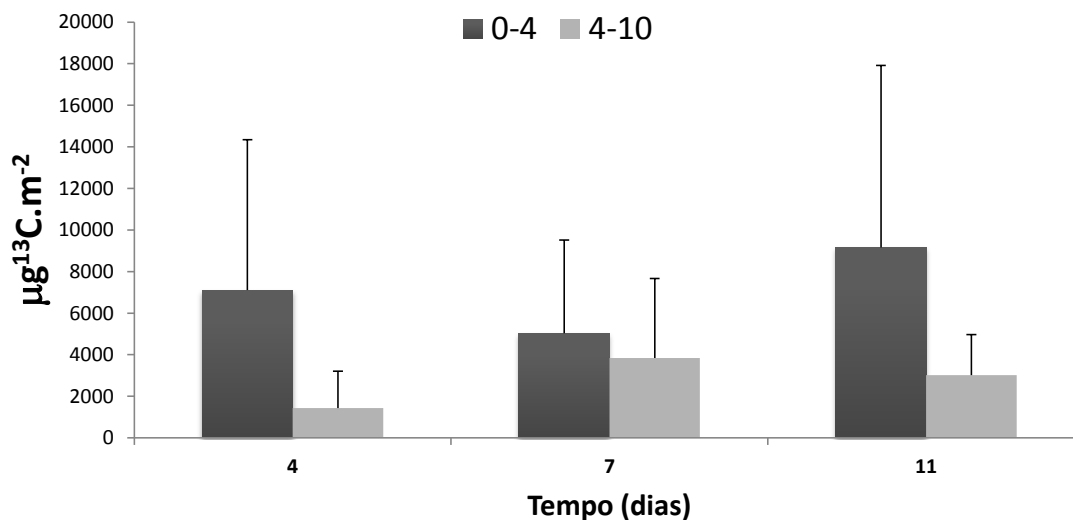


Figura 3.7. Incorporação média do traçador ^{13}C na biomassa dos organismos da macrofauna por profundidade do sedimento nos diferentes tempos experimentais (4, 7 e 11 dias). As barras de erro representam o desvio padrão.

Assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores lipídicos bacterianos

O enriquecimento em ^{13}C foi rápido e evidente em todos os ácidos graxos bacterianos identificados nas amostras de sedimento. Após dois dias de experimento (T2) já foi possível detectar os altos valores de $\delta^{13}\text{C}$. A superfície do sedimento apresentou os maiores valores de enriquecimento ($\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores bacterianos, com valor máximo de 220,91‰ (T2, 0-1 cm). O enriquecimento, em geral, diminuiu com o aumento da profundidade do sedimento, diminuiu nos dias 4 e 7 e teve um pequeno aumento no 11º dia de experimento assim como nas amostras de macrofauna (Figura 3.8).

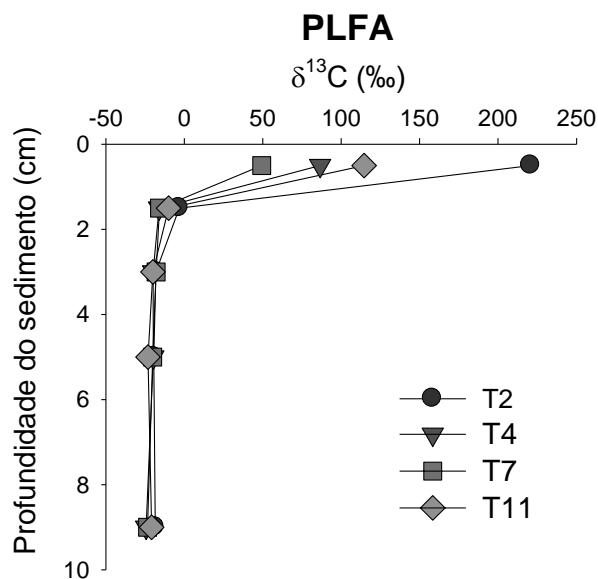


Figura 3.8. Perfil vertical mostrando os de enriquecimento ($\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores bacterianos (iC14:0, iC15:0, aC15:0, iC17:0, aiC17:0) ao longo do tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).

Em relação aos biomarcadores específicos individuais, o aiC_{17:0} foi o ácido graxo que apresentou os maiores valores de enriquecimento durante todo o período experimental (Figura 3.9).

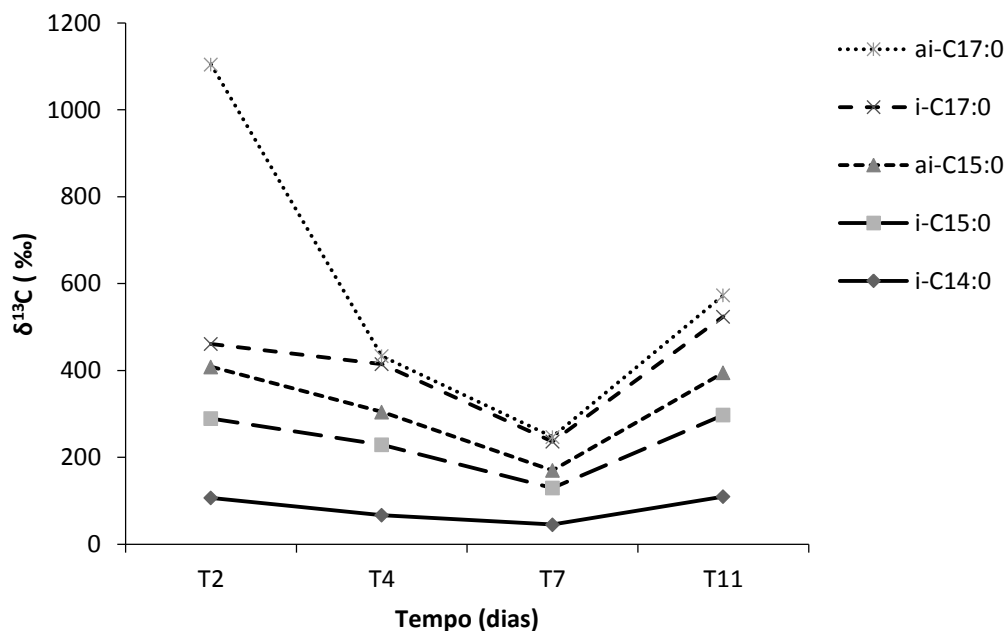


Figura 3.9. Valores de enriquecimento ($\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores bacterianos individuais (iC14:0, iC15:0, aC15:0, iC17:0, aiC17:0) ao longo do tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).

Incorporação do traçador na comunidade bacteriana

A incorporação do fitodetrito marcado, assim como o enriquecimento, foi claramente detectada na biomassa bacteriana após dois dias de experimento (T2), com os maiores valores de incorporação ($7283,04 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) ocorrendo na camada superficial do sedimento (0-1 cm). Após 4 e 7 dias, a incorporação bacteriana decresceu para $7041,30$ e $5612,25 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, respectivamente, e no dia 11 atingiu o menor valor $4478,93 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$. Também houve diminuição na incorporação nos biomarcadores específicos com o aumento da profundidade do sedimento (Figura 3.10).

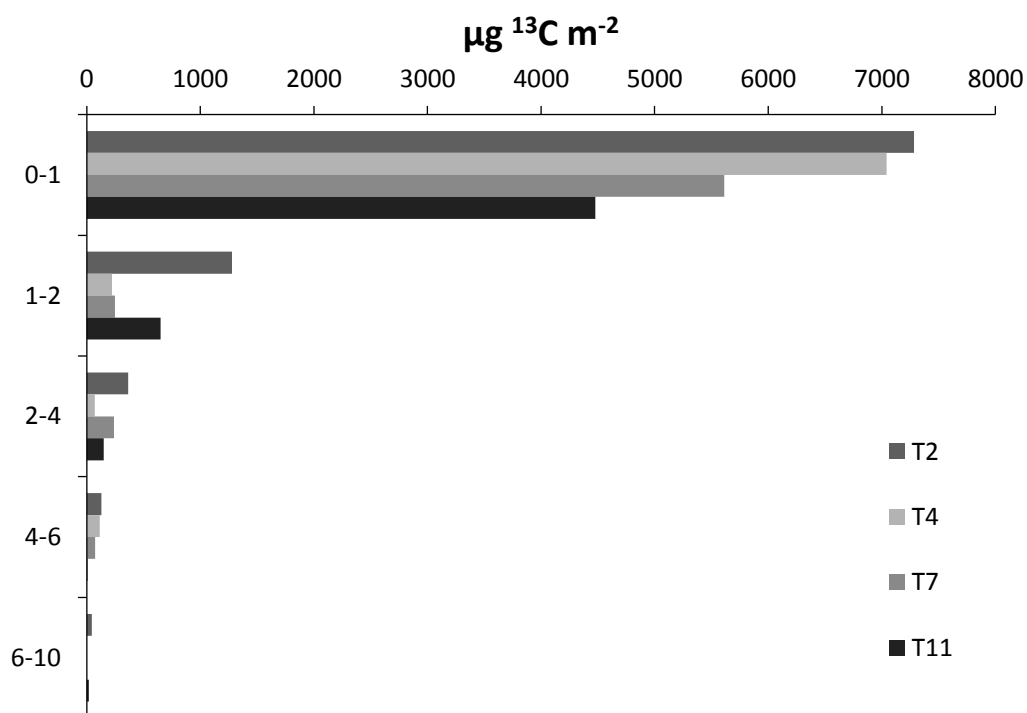


Figura 3.10. Perfil vertical da incorporação total do traçador nos biomarcadores bacterianos (iC14:0, iC15:0, aC15:0, iC17:0, aiC17:0) ao longo do tempo experimental (T2, T4, T7 e T11 dias).

3.4. Discussão

Os processos diagenéticos que ocorrem na interface água-sedimento marinho são quimicamente bem estudados (Hedges & Keil, 1995; Lehmann *et al.*, 2002; Pratihary *et al.*, 2009; Beck & Brumsack, 2012). Contudo, a compreensão da resposta dos organismos bênticos e sua função frente a deposição de MO é mais complexa. Vários estudos têm sido realizados sobre a resposta dos compartimentos bênticos (bactérias, meio-, macro- e megafauna) frente à chegada de material orgânico fresco. Entretanto, a maioria dos estudos foca em ambientes temperados e/ou regiões de mar profundo (Middelburg *et al.*, 2000; Witte *et al.*, 2003; Aberle & Witte, 2003; Bühring *et al.*, 2006; Van Oevelen *et al.*, 2006; Sumida *et al.*, 2008, 2015; Sweetman & Witte, 2008; Franco *et al.*, 2008; Pozzato *et al.*, 2013).

O regime de produção primária meso-oligotrófico prevalece em Ubatuba durante a maior parte do ano (Gaeta *et al.*, 1995, 1999; Castro-Filho, 1987) e é conhecido como um importante fator determinante na abundância da comunidade bêntica (Quintana *et al.*, 2010; Moraes *et al.*, 2014). Estudos prévios na costa sudeste brasileira sugerem que a estrutura vertical e a função do sistema bêntico são primariamente reguladas pelo conteúdo de MO fresca no sedimento (Sumida *et al.*, 2005; Yoshinaga *et al.*, 2006; Quintana *et al.*, 2010). Ao contrário de regiões temperadas, com sazonalidade marcada (Reiss & Kröncke, 2005), Ubatuba mostra picos de produção primária intermitentes durante a primavera/verão como resultado da presença em subsuperfície da massa de água ACAS, fria e rica em nutrientes (Sassi & Kutner, 1982; Gaeta *et al.*, 1995, 1999; Castro-Filho *et al.*, 1987). Além disso, em ambientes rasos (*i.e.*, < 20 m de profundidade), sedimentos de fundo também podem influenciar na produção primária da coluna de água sobrejacente provendo nutrientes através da ação de ondas e ressuspensão, principalmente com a passagem de frentes frias no outono/inverno (Jørgensen, 1996; Moraes, 2012). Esses processos disponibilizam pulsos de alimento fresco para os organismos do bentos e podem resultar em diferenças na composição e estrutura trófica da fauna durante o ano (Santos & Pires-Vanin, 2004; Quintana *et al.*, 2010).

A comunidade bêntica analisada nesse estudo mostrou, através do traçador de ^{13}C , rápida incorporação do fitodetrimento, consumindo a MO lábil marcada na superfície do sedimento. No caso dos organismos da macrofauna, após 4 dias de experimento quase 95% das espécies encontradas mostraram sinais de alimentação do fitodetrimento marcado. Para as bactérias, a incorporação foi evidente nos biomarcadores específicos após dois dias de experimento mostrando a importância desse compartimento na degradação da MO.

Como esperado, a incorporação do traçador nas camadas superficiais do sedimento foi muito maior do que nas camadas de fundo, entretanto a resposta não foi limitada aos primeiros centímetros da coluna sedimentar. A incorporação também foi detectada em subsuperfície, principalmente no dia 2 na comunidade bacteriana, mostrando que os organismos nas camadas de fundo também são passíveis de ter acesso rápido a chegada de alimento fresco. Espécies da macrofauna presentes no sedimento podem induzir o transporte de partículas e solutos para as camadas mais profundas dependendo do seu comportamento e/ou modo de alimentação, disponibilizando alimento fresco para as comunidades microbianas em subsuperfície (François *et al.*, 2001; Quintana *et al.*, 2010).

Sumida *et al.* (2005) mostrou que a produção primária fitoplanctônica é refletida nos sedimentos de Ubatuba pelo aumento da biomassa microbiana e conteúdo de matéria orgânica lábil, formando um importante acoplamento bento-pelágico. Além disso, experimentos prévios em Ubatuba mostraram um rápido aumento na densidade e metabolismo na comunidade microbiana com adição de microalgas (Moraes *et al.*, 2014). A chegada de frentes frias e eventos de ressuspensão dos sedimentos também podem estimular mudanças na estrutura e composição da comunidade microbiana (Moraes 2012).

Nossos resultados, combinados com os estudos prévios, mostram a importância dos eventos episódicos de chegada de alimento fresco para a comunidade bêntica do litoral raso de Ubatuba. Assimilação rápida, de poucas horas a dias, também foi observada em regiões de mar profundo com condições oligotróficas, onde os organismos dependem quase exclusivamente de pulsos de alimento vindos da coluna de água sobrejacente

(Witte *et al.*, 2003; Aberle & Witte, 2003; Bühring *et al.*, 2006; Sweetman & Witte, 2008; Hunter *et al.*, 2011).

Nossos resultados sugerem que, apesar de tratar-se de uma área rasa, próximo ao ambiente terrestre e com presença de outras fontes de MO (e.g. microfitobentos, angiospermas marinhas, folhas de vegetais superiores; dados no Capítulo 2) (Burone *et al.*, 2003; Quintana *et al.*, 2010), a chegada de material lábil de origem marinha fitoplanctônica é de extrema importância para a comunidade bêntica de Ubatuba. As assinaturas isotópicas naturais de bivalves suspensívoros (identificadas no Capítulo 2), por exemplo, refletem a produção pelágica sobrejacente. Além disso, a maior parte da MO vinda do continente, de origem terrestre é mais refratária (Yoshinaga *et al.*, 2008) e, portanto, mais difícil de ser degradada pelo bentos.

A assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e a incorporação na biomassa pela maioria dos organismos da macrofauna bêntica sugerem uma comunidade composta principalmente de detritívoros. A resposta rápida em sedimentos de superfície foi principalmente relacionada aos depositívoros de superfície durante todo o experimento. Esses organismos são chave na ciclagem do carbono e provavelmente competem com bactérias pela MO. Algumas espécies de poliquetas podem ser classificadas em mais de um grupo trófico, como *Leodice rubra* e os lumbrinerídeos, e podem ser consideradas como onívoras (Fauchald & Jumars, 1979). Essas espécies são também importantes consumidores de superfície e importantes recicladores de MO devido à sua flexibilidade em seus hábitos alimentares. Além disso, os altos valores de assimilação do traçador demonstram a importância da MO fresca para a infauna e podem facilitar a seleção de hábitos alimentares de organismos e a preferência por MO mais lábil.

A resposta mais tardia na incorporação de ^{13}C pelos organismos que vivem nas camadas mais profundas do sedimento (até 10 cm) era esperada uma vez que se leva mais tempo para o material marcado chegar às camadas inferiores do sedimento. Em áreas oligotróficas de mar profundo, é hipotetizado que processos de bioturbação resultam no enterramento do alimento nas camadas mais profundas do sedimento para evitar competição entre os

organismos (Sweetman & Witte, 2008). Entretanto, embora organismos maiores tenham papel fundamental na bioturbação e enterramento de partículas, esses processos não foram claramente detectados em nossos dados químicos do sedimento, sendo que apenas bactérias e poliquetas depositívoros da família Maldanidae mostraram alta incorporação do traçador em subsuperfície. O enriquecimento desses organismos pode ser resultado de uma série de processos biológicos e/ou físicos que incluem difusão de partículas, bioturbação, cascata passiva de partículas em tubos e buracos de organismos, entre outros (ver Kristensen *et al.*, 2012) que possibilita a chegada do fitodetrito em subsuperfície. Como explicado anteriormente, algumas espécies da macrofauna podem induzir o transporte de partículas e solutos dependendo de seu comportamento e/ou hábito alimentar (François *et al.*, 2001; Quintana *et al.*, 2010).

Ainda nas camadas mais profundas, os poliquetas depositívoros *Leodice rubra* e *Poecilochaetus perequensis* (espécies também classificadas em mais de um grupo trófico) e o sipúncula *Thysanocardia catharinae* apresentaram incorporação do traçador. Apesar de esses organismos terem sido encontrados em subsuperfície, essas espécies são normalmente classificadas como depositívoros de superfície (Fauchald & Jumars, 1979) e podem assimilar tanto o material fresco depositado quanto a MO existente no sedimento. A assimilação do traçador nessas espécies pode ser resultado de seus movimentos verticais no sedimento, levando os organismos a se alimentar na superfície, mas viver dentro de tubos ou enterrados no sedimento.

As informações sobre a resposta da comunidade bêntica frente à chegada de pulsos de alimento têm crescido nas últimas décadas. Entretanto, ainda há pouca informação sobre a ciclagem do carbono em sedimentos de áreas tropicais. Nossos resultados mostraram que há uma resposta rápida da comunidade bêntica de Ubatuba, com alta assimilação relativa de carbono orgânico. Bactérias, depositívoros de superfície, suspensívoros e onívoros são os principais organismos que se alimentam do fitodetrito fresco que chega ao sedimento. Nossos dados são comparáveis aos estudos de regiões oligotróficas de mar profundo (Gontikaki *et al.*, 2011), onde há uma rápida reação dos organismos na chegada de material orgânico lábil.

Os resultados sugerem ainda que bactérias e pequenos organismos bênticos, principalmente poliquetas, têm um papel crucial na degradação da MO lábil em Ubatuba. Os eventos episódicos de chegada de alimento fresco vindos de processos que intensificam a produção primária adjacente (*i.e.*, intrusão da ACAS e ressuspensão de sedimentos) nessa região meso-oligotrófica parece ser essencial não somente para a estrutura, manutenção e sobrevivência da comunidade bêntica, mas também para a função ecossistêmica e a ciclagem de carbono nesses ambientes relativamente pobres em alimentos.

Capítulo 4

Fluxo de matéria orgânica em comunidades bênticas da zona costeira de Ubatuba frente a condições de acidificação dos oceanos

Resumo

Com os potenciais efeitos da acidificação dos oceanos (AO), devido à elevação da $p\text{CO}_2$, pouco se sabe sobre os impactos indiretos nas interações tróficas e fluxo de carbono nas comunidades bênticas do sedimento marinho. Nós investigamos experimentalmente, pela primeira vez no Brasil, através da técnica de *pulse-chase* com isótopos estáveis de carbono (^{13}C), a transferência do carbono orgânico, oriundo da produção primária, para níveis tróficos superiores do sedimento marinho, expostos a altas concentrações de CO_2 . Na comparação entre os sistemas (controle, pH 8,1 x tratamento, pH 7,3), houve diferença entre os valores de incorporação das espécies que apareceram em comum nas amostras de sedimento: o molusco *Dosinia concêntrica* ($2,77 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o poliqueta *Poecilochaetus perequenses* ($2,68 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) foram importantes agentes do processamento do carbono orgânico marcado nos primeiros centímetros do sedimento no controle. Em contrapartida, o poliqueta *Leitoscoloplos* sp. ($2,02 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o antozoário *Edwardsia* sp. ($0,16 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) se destacaram na incorporação do traçador em baixo pH. Nas comunidades bacterianas, apesar das variações individuais no enriquecimento relativo dos PLFAs, não houve diferenças de incorporação na biomassa entre o controle e o tratamento ($6298,7$ e $6562,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, respectivamente). O presente trabalho sugere que a incorporação e o fluxo do carbono orgânico de parte da macrofauna bêntica pode ser potencialmente afetada pela AO.

4.1. Introdução

Nos últimos anos diversos estudos têm mostrado que o aumento da concentração do dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera tem causado o aquecimento global e a acidificação dos oceanos (AO) (Royal Society, 2005; Caldeira & Wickett, 2005; Orr *et al.*, 2005). Dados mostram que, antes da revolução industrial, as concentrações de CO_2 atmosférico variavam entre 180 e 300 ppmv (Siegenthaler *et al.*, 2005). Atualmente, como resultado das atividades antropogênicas, a concentração média de CO_2 atmosférico no planeta é de 380 ppmv, com uma taxa crescente de $\sim 0,5\%$ ao ano (Forster *et al.*, 2007).

Aproximadamente um terço de todo o CO₂ antropogênico produzido nos últimos 200 anos já foi absorvido pelos oceanos (Falkowski *et al.*, 2000; Sabine *et al.*, 2004), que atuam como o maior sumidouro desse gás e possuem papel chave na regulação do fluxo de carbono na terra (Le Quéré *et al.*, 2014). A absorção de CO₂ e as consequentes mudanças que ocorrem na química da água do mar (*i.e.*, deslocamentos no equilíbrio químico do sistema carbonato e diminuição do pH) podem afetar os sistemas biológicos de diferentes maneiras, resultando em alterações na biodiversidade, interações tróficas e outros processos ecossistêmicos (Kleypas *et al.*, 2006; Maugendre *et al.*, 2015).

Níveis elevados de CO₂ podem, por exemplo, aumentar as taxas de produção primária nos oceanos, resultando em maior consumo de carbono em relação a outros nutrientes, com alterações na produção e composição da matéria orgânica (Riebesell *et al.*, 2007; Maugendre *et al.*, 2014). Experimentos laboratoriais em mesocosmo sugerem que certas espécies fitoplanctônicas, submetidas a altas concentrações de CO₂, produzem matéria orgânica com altas razões C/N (ver Berelson *et al.*, 2007). Essas alterações podem levar à degradação da qualidade da matéria orgânica consumida pelo zooplâncton e pelas comunidades bacterianas (Doney *et al.*, 2009) e, em última instância, pelos organismos bênticos. A elevada pressão parcial do CO₂ (pCO₂) na água do mar pode ainda afetar as taxas de calcificação dos organismos via diminuição do ponto de saturação do carbonato de cálcio (CaCO₃) no sistema.

A maioria das pesquisas atuais sobre as consequências da acidificação dos oceanos tem se limitado a organismos que dependem da disponibilidade de íons carbonato na água para formação de seus esqueletos e conchas, como corais (Kleypas *et al.*, 2006), cocolitoforídeos (Riebesell *et al.*, 2000), foraminíferos (Bijma *et al.*, 1999), algas coralináceas (Jokiel *et al.*, 2008), equinodermes (Shirayama & Thorton, 2005) e moluscos (Orr *et al.*, 2005). Entretanto, muitos organismos importantes não dependem de estruturas de carbonato de cálcio e, apesar do crescente número de experimentos, há ainda pouca informação disponível desses táxons e em sua relação em nível ecológico.

Sabe-se muito pouco especialmente sobre como os sedimentos, os organismos que nele vivem e os processos que nele ocorrem reagirão às mudanças na acidez da água do mar. À luz das ameaças potenciais da acidificação do oceano global, é extremamente importante que tais impactos sejam determinados (Widdicombe & Needham, 2007). Além disso, há poucos estudos sobre as potenciais consequências em nível ecossistêmico, ou seja, como os rápidos declínios no pH afetarão os processos ecológicos marinhos, dado o aumento na concentração de CO₂ nos oceanos previsto para os próximos 100 anos (Fabry *et al.*, 2008). A escala de mudanças “toleráveis” de pH, ou seja, sem nenhum detrimento substancial nos organismos, ainda é incerta e desconhecida para muitos processos biológicos (Riebesell, 2004; Raven *et al.*, 2005). Contudo, sabe-se que uma grande variedade de processos ecossistêmicos e espécies são vulneráveis a mudanças no pH.

Para elucidar essas questões, o efeito da acidificação dos oceanos na trofodinâmica bêntica foi investigado baseado em um experimento em microcosmo de *pulse-chase*, conduzido em comunidades intactas do litoral norte do estado de São Paulo. Este capítulo reporta os resultados do primeiro estudo brasileiro que une técnicas de marcação isotópica de carbono com simulação das condições futuras previstas de AO.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Área de estudo e coleta de amostras

A área de estudo foi explicada detalhadamente no Capítulo 1 (p. 11). Seguindo os mesmos procedimentos do experimento descrito no Capítulo 3, as amostras para realização desse estudo foram coletadas em outubro de 2013 na Enseada das Palmas, Ilha Anchieta (Ubatuba, São Paulo, 7 m de profundidade) a bordo do *B/Pq. Véliger II*. Testemunhos de acrílico com 9,4 cm de diâmetro interno e 20 cm de comprimento (0.01 m²) contendo sedimento intacto foram coletados através de mergulho autônomo. Após a coleta, os testemunhos foram cuidadosamente transferidos para a Base Norte Clarimundo de Jesus do Instituto Oceanográfico da USP e colocadas no sistema experimental.

4.2.2. Detalhamento do desenho experimental

Sistema de acidificação da água do mar

Os experimentos em laboratório foram conduzidos na câmara fria do Laboratório Integrado de Processos Oceanográficos (LIPO) na base de pesquisa em Ubatuba do Instituto Oceanográfico da USP. Para tanto, testemunhos contendo sedimento intacto foram colocados em dois sistemas de aquários capazes de controlar o pH da água do mar. Detalhes do sistema experimental são encontrados no Capítulo 3 (p. 44-46).

A acidificação da água do mar ocorreu através de um sistema de borbulhamento de CO₂ na água, contida nos tanques chamados *sumps*. O gás foi alimentado por um cilindro de CO₂ controlado por uma válvula solenoide e monitorado por um controlador com sensores de pH, temperatura e potencial redox. Aumentos no pH da água levavam ao funcionamento da válvula solenoide, injetando gás CO₂ na água do mar do tanque principal até a estabilização do pH no valor desejado. Esse tanque alimentava os tanques de circulação com a água acidificada. Amostras de água do sistema e leituras dos sensores foram realizadas diariamente para garantir a qualidade da água do sistema. O sistema de borbulhamento de CO₂ foi escolhido por ser o processo mais similar aquele que ocorre no ambiente natural, modificando o equilíbrio do sistema carbonato, baixando o pH mas mantendo a alcalinidade.

Após 24 horas de aclimação, os parâmetros da coluna de água foram medidos (salinidade, oxigênio dissolvido, pH, temperatura e alcalinidade) para controle do sistema e o pH foi baixado lentamente. Neste estudo, o experimento foi realizado em dois sistemas de aquários independentes: um sistema denominado *Controle* e o outro, *Tratamento*. Foram colocados três testemunhos por tanque, totalizando nove para cada sistema. No sistema *Controle* foi mantido o valor de pH normalmente encontrado na área de estudo (8,1), enquanto que no sistema *Tratamento*, o valor de pH foi baixado para 7,3 (ver Orr *et al.*, 2005; IPCC 2007).

Após a completa estabilização do sistema *Tratamento* no pH desejado, os testemunhos foram equipados com uma tampa e o início do experimento de *pulse-chase* deu-se da mesma maneira do experimento descrito no Capítulo 3 (p. 44-46): em cada testemunho foram injetados 0,5 g da microalga *Tetraselmis* sp. marcada com o isótopo de carbono (^{13}C), hidratada em água do mar filtrada (GF/F 0,7 μm) e distribuída homoganeamente na superfície do sedimento.

Duas horas após a injeção do traçador e a confirmação visual do assentamento do fitodetrimento, a tampa foi removida e os testemunhos foram mantidos por 11 dias, no escuro e com temperatura constante. Diariamente, amostras de água do mar dos tanques experimentais foram retiradas para controle de qualidade e para computar dados de salinidade, pH, $p\text{CO}_2$, alcalinidade e oxigênio.

Ao final do experimento, os testemunhos foram retirados dos tanques, sacrificados e o sedimento foi fatiado em cinco frações verticais de 0-1, 1-2, 2-4, 4-6 e 6-10 cm. Cada fatia foi homogeneizada e amostras para comunidade bacteriana (ácidos graxos derivados de fosfolipídios específicos de bactérias, PLFA) e características do sedimento (fitopigmentos e razões isotópicas) foram retiradas.

O restante desse sedimento foi agrupado nas fatias de 0-4 e 4-10 cm e peneiradas (500 μm). O sedimento peneirado contendo a fauna benthica foi mantido em cubas com água do mar filtrada, sob constante aeração, para manter os organismos da macrofauna vivos até a triagem e limpeza de seus tratos digestórios.

4.2.3. Análises em laboratório

4.2.3.1. Características da água do mar

Para garantir a qualidade da água do sistema, durante todo o período de exposição, foi realizado o monitoramento dos seguintes parâmetros: temperatura (T), pH, alcalinidade total (AT) e oxigênio dissolvido (OD).

- Oxigênio Dissolvido (OD)

A concentração do oxigênio dissolvido da água foi determinada pelo método de titulação de Winkler (ver Grasshoff *et al.*, 1999) em até 2 horas após a preservação da amostra na base de pesquisa do IOUSP.

- Salinidade

A salinidade da água do mar foi medida com um Refratômetro de salinidade portátil (0 a 100 ppt, RF20) com compensação automática de temperatura (10 a 30°).

- Alcalinidade Total da água do mar (AT)

A AT foi analisada pelo método de titulação potenciométrica com ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹. O ácido titulante foi preparado com a adição de cloreto de sódio até atingir a salinidade da água do mar da área de estudo. Esse procedimento é necessário para que a solução titulante tenha o mesmo valor de força iônica da água do mar e, assim, manter os coeficientes de atividade aproximadamente constantes durante a titulação. O progresso da titulação foi realizado no laboratório LIPO e monitorado utilizando-se o titulador automático Titrino (848) da Metrohm®.

A alcalinidade total foi determinada pelas medidas de volume de titulante e da força eletromotriz (E) obtidas durante a titulação. Para o cálculo, utiliza-se o método de Gran simples, que permite a linearização dos dados para a determinação do ponto de equivalência da titulação (ver Dickson *et al.*, 2007).

- Parâmetros do sistema carbonato

Os valores de pH e AT medidos na água do mar dos tanques, através de sensores específicos (pH) e titulação potenciométrica (AT) foram utilizados para calcular os demais parâmetros do sistema carbonato através do pacote do programa R, Seacarb, versão 3.0. (Lavigne & Gattuso, 2011), utilizando as

constantes de Lueker *et al.* (2000), Dickson & Riley (1979) e Dickson (1990).

Os parâmetros calculados foram:

- $p\text{CO}_2$: pressão parcial do CO_2 ;
- $[\text{CO}_2]$: concentração do CO_2 ;
- $[\text{HCO}_3^-]$: concentração de íons bicarbonato;
- $[\text{CO}_3^{2-}]$: concentração de íons carbonato;
- CID: carbono orgânico dissolvido.

4.2.3.2. *Características sedimentares*

As amostras de todas as camadas sedimentares foram analisadas quanto à clorofila-a, feopigmentos, carbono orgânico total e razões isotópicas do carbono, segundo os métodos já descritos no Capítulo 2 (p. 19).

4.2.3.3. *Comunidade da macrofauna*

Os organismos da macrofauna foram triados *in vivo*, identificados o até o menor nível taxonômico possível. Posteriormente, foram analisados quanto a sua composição isotópica conforme metodologia descrita no Capítulo 2 (p. 21).

4.2.3.4. *Comunidade bacteriana*

Os ácidos graxos derivados de fosfolipídios específicos de bactérias (do inglês phospholipid fatty acids, PLFA) foram analisados em parceria com pesquisadores do *Royal Netherlands Institute of Sea Research* (NIOZ), na Holanda, conforme metodologia descrita no Capítulo 2 (p. 20). Cinco PLFAs específicos (i-C_{14:0}, i-C_{15:0}, ai-C_{15:0}, i-C_{17:0} e ai-C_{17:0}) foram identificados e utilizados para quantificar a incorporação nas bactérias heterotróficas presentes no sedimento (Kaneda, 1991, Boschker & Middelburg, 2002).

4.2.4. Tratamento de dados

Os dados isotópicos de carbono são reportados em notação delta (δ) relativos ao padrão Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) e calculados de acordo com a metodologia descrita previamente no Capítulo 2 (p. 22).

O consumo do traçador, que foi adicionado como fitodetrito enriquecido em ^{13}C , também é calculado conforme descrito anteriormente (Capítulo 3, p. 48) e é expresso como:

- Assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$): que indica o enriquecimento em ^{13}C da amostra em relação às quantidades naturais medidas (dados no Capítulo 2) e o consumo relativo da matéria orgânica (MO) marcada pela comunidade bêntica;

- Incorporação (I): que indica o carbono total derivado do traçador (^{13}C) que foi efetivamente incorporado na biota.

4.3. Resultados

4.3.1. Parâmetros da coluna de água e monitoramento do sistema

Em geral, os valores dos parâmetros de qualidade da água dos sistemas (T, pH, AT e OD) foram muito semelhantes entre os dois sistemas, controle e tratamento acidificado. O OD variou entre $6,29 \pm 0,51$ e $6,37 \pm 0,39$ ml.l^{-1} na água do sistema controle e entre $6,02 \pm 0,75$ e $6,29 \pm 0,35$ ml.l^{-1} na água do sistema tratamento. A temperatura manteve-se próxima dos 25°C , enquanto que a salinidade média foi de 35,0 no sistema controle e 35,2 no tratamento acidificado.

Conforme desejado, o pH e a AT mantiveram-se constantes durante os 11 dias de experimento, com pequenas variações diárias que eram automaticamente corrigidas pelo sistema. O pH controle (definido como 8,1; valor igual ao medido na área de estudo) variou entre 7,91 e 8,19, enquanto que o pH do tratamento (definido 7,3) manteve-se, com menor variação, entre 7,27 e 7,31. (Figura 4.1 e Tabela 4.1). Já a AT, variou entre 2575,0 e 2597,3 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ na água do controle e 2591,6 e 2595,4 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ no sistema acidificado (tratamento).

Em relação aos demais parâmetros da química da água do mar (parâmetros do sistema carbonato), com exceção dos resultados de concentração de íons carbonato, que variaram entre 191,6 e 312,8 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ (controle) e 49,6 e 54,7 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ (tratamento acidificado), todos os demais parâmetros tiveram maiores valores no tratamento acidificado. A pCO_2 variou entre 293,1e 636,9 μatm no sistema controle e 2999,2 e 3301,0 μatm no tratamento acidificado. Os valores dos demais parâmetros podem ser observados na Tabela 5.1.

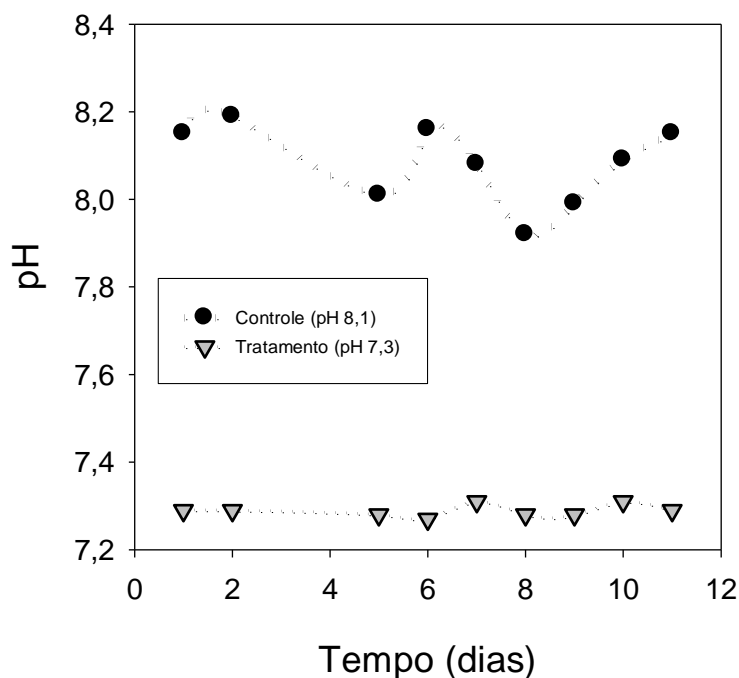


Figura 4.1. Variação do pH nos sistemas Controle e Tratamento durante os 11 dias de experimento. Os valores indicam medidas pontuais diárias na água dos sistemas.

Tabela 4.1. Valores médios dos parâmetros químicos do sistema carbonato na água do mar utilizada nos tanques experimentais Controle e Tratamento.

	Tempo (dias)	T (°C)	S	pH	AT ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)	[CO ₂] (μatm)	pCO ₂ (μatm)	[HCO ₃ ⁻] ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)	[CO ₃ ²⁻] ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)	CID ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)
Controle	1	25,0	34,0	8,2	2597,3	9,6	337,0	1909,5	285,0	2204,1
	2	24,9	36,0	8,2	2593,5	8,3	293,1	1832,4	312,8	2153,5
	5	24,8	35,0	8,0	2595,3	14,1	497,3	2049,8	225,5	2289,4
	6	24,9	35,0	8,2	2595,4	9,2	323,7	1883,7	293,8	2186,6
	7	24,7	35,0	8,1	2575,0	11,6	405,0	1963,0	252,4	2226,9
	8	25,0	35,0	8,0	2595,4	18,0	636,9	2132,2	191,6	2341,8
	9	25,0	35,0	8,0	2595,3	14,9	525,6	2067,4	218,2	2300,6
	10	24,9	35,0	8,1	2595,4	11,2	396,6	1964,2	260,7	2236,2
	11	24,9	35,0	8,2	2595,3	9,5	333,4	1896,2	288,6	2194,2
Tratamento	1	25,0	35,0	7,3	2595,4	8,9	3148,1	2469,7	52,1	2610,9
	2	24,9	37,0	7,3	2591,6	87,7	3119,1	2460,6	54,0	2602,2
	5	25,0	35,0	7,3	2595,4	91,3	3224,6	2472,6	51,0	2614,8
	6	24,8	35,0	7,3	2595,4	93,8	3301,0	2475,9	49,6	2619,3
	7	25,0	35,0	7,3	2595,4	84,9	2999,2	2464,2	54,4	2603,5
	8	24,8	35,0	7,3	2595,4	91,7	3221,9	2473,4	50,6	2615,7
	9	25,0	35,0	7,3	2595,4	91,3	3224,2	2472,7	50,9	2614,9
	10	25,2	35,0	7,3	2595,4	84,6	3001,2	2463,5	54,7	2602,8
	11	25,1	35,0	7,3	2595,4	88,9	3149,0	2469,4	52,3	2610,6

4.3.2. Características sedimentares

Os valores de clorofila-*a* nos sedimentos dos sistemas controle e tratamento variaram entre 0,71 e 4,05 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e 1,22 e 4,69 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Os maiores teores de clorofila-*a* foram sempre encontrados na camada superficial (0-1 cm). A concentração de feopigmentos seguiu a mesma tendência da clorofila-*a*, variando entre 9,65 e 32,14 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ no sistema controle e 10,36 e 43,64 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ no sistema tratamento (Figura 4.2).

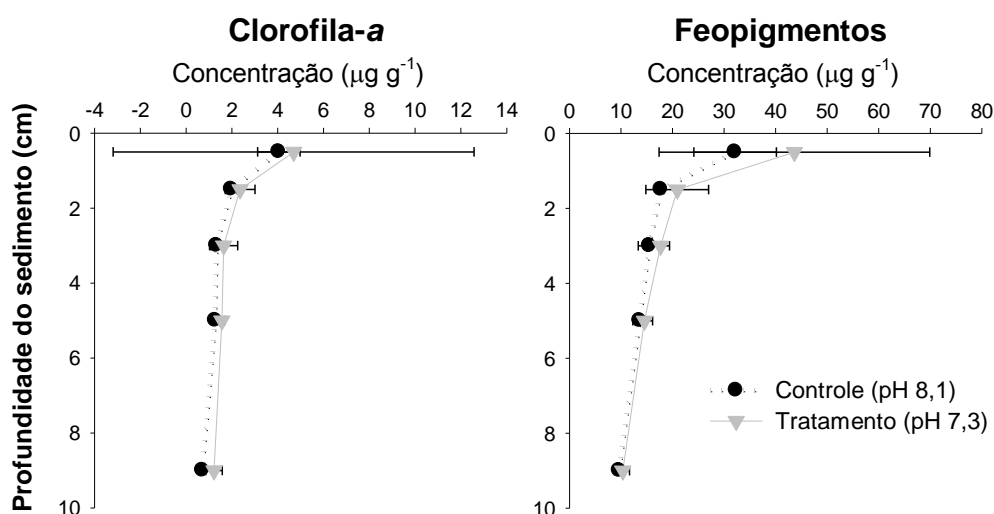


Figura 4.2. Perfis verticais da concentração de clorofila-*a* e feopigmentos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) no sedimento dos sistemas Controle e Tratamento ao final dos 11 dias de experimento. Barras de erro representam o desvio padrão ($n=3$).

As razões isotópicas de carbono apresentaram-se enriquecidas na superfície do sedimento e empobrecidas em subsuperfície, diminuindo o valor de δ com o aumento da profundidade do sedimento. Na camada superficial, os valores foram próximos a 100‰, enquanto que na camada mais profunda, os valores foram próximos de -20‰ (Figura 4.3).

O carbono orgânico total (COT) variou entre 0,11 (6-10 cm) e 1,27 % (4-6 cm) no sistema controle e entre 0,10 (6-10 cm) e 0,43 % (4-6 cm) no sistema tratamento. Em ambos os sistemas houve um valor máximo de COT na penúltima camada de sedimento (4-6 cm), sendo que no controle, esse valor foi relativamente maior (Figura 4.4).

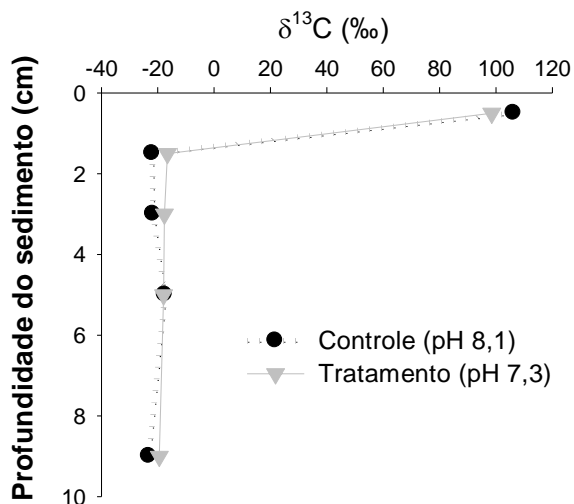


Figura 4.3. Perfil vertical mostrando as razões isotópicas de carbono, ($\delta^{13}\text{C}$) do sedimento nos sistemas Controle e Tratamento ao final dos 11 dias de experimento.

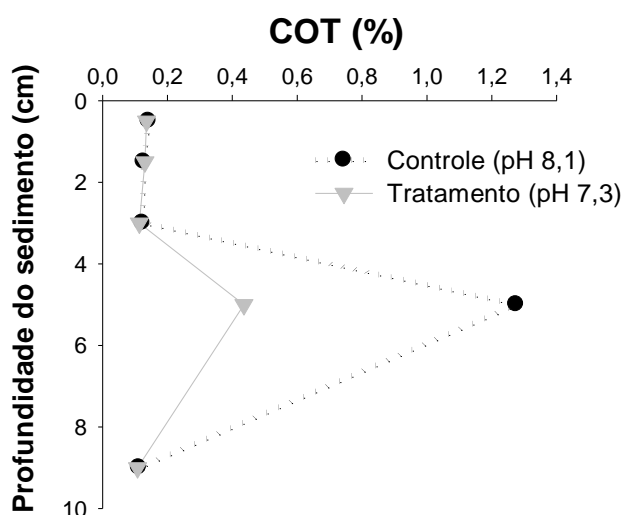


Figura 4.4. Perfil vertical mostrando a porcentagem de carbono orgânico total (COT) do sedimento nos sistemas Controle e Tratamento ao final de 11 dias de experimento.

4.3.3. Macrofauna

Foram triados, no total, 258 indivíduos da macrofauna nos 18 testemunhos de sedimento intactos do experimento, sendo 132 organismos no sistema controle e 126 no sistema tratamento. No controle, as maiores densidades de organismos foram encontradas na camada de fundo enquanto que, no tratamento, a macrofauna foi mais abundante na camada superficial.

Diferenças na composição das espécies foram encontradas entre os testemunhos mas, em geral, o grupo com maior ocorrência (poliquetas) foi identificado em todas as amostras. Poliquetas foram os organismos mais importantes em densidade e abundância, compreendendo 22 espécies e 18 famílias. A espécie mais abundante de poliqueta foi *Poecilochaetus perequensis*, tanto nos testemunhos do controle quando no tratamento.

Nos testemunhos do controle, poliquetas corresponderam a 69% do total de organismos, seguidos de nemertinos (10%), equinodermes (10%), moluscos (8%) e outros (3%, antozoários, briozoários e crustáceos). Já no sedimento do tratamento acidificado, poliquetas também corresponderam a 69% do total de organismos, mas os demais grupos apresentaram contribuições diferentes: moluscos 9%, seguidos de crustáceos (7%), equinodermes (4%), briozoários (4%), antozoários (3%) e outros (2%, sipúnculas e oligoquetas).

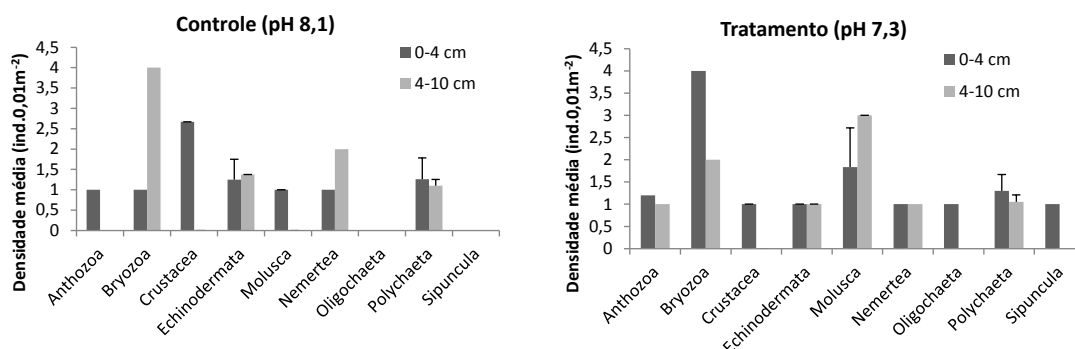


Figura 4.5. Densidade média (ind.0,01m⁻²) dos grupos da macrofauna bêntica encontrados nos testemunhos de sedimento dos sistemas controle e tratamento por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). Barras de erro representam o desvio padrão.

Tabela 4.2. Densidade média (ind. 0,01m⁻²) das espécies da macrofauna bêntica encontradas nos testemunhos de sedimento do sistema controle por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). DP = desvio padrão.

Densidade média (ind. 0,01 m ⁻²) - Controle (pH 8,1)									
Táxon	0-4 cm	DP	4-10 cm	DP	Táxon	0-4 cm	DP	4-10 cm	DP
Anthozoa					Polychaeta (cont.)				
<i>Edwardsia</i> sp.	1,0				Cirratulidae			1,0	
Bryozoa					Flaberrigeridae				
<i>Discoporella umbellata</i>	1,0		4,0		Lumbrineridae				
Crustacea					Magelonidae				
<i>Alpheus floridanus</i>			1,0		<i>Magelona papillicomis</i>	2,0		1,3	0,6
<i>Calozodion bacescui</i>	2,7	2,8			<i>Magelona variolamelata</i>	1,0			
<i>Saltipedis paulensis</i>					Maldanidae	1,0			
<i>Ampelisca paria</i>					Nereididae				
<i>Ampelisciphotis podophthalma</i>					<i>Neanthes bruaca</i>			1,0	
Echinodermata					Orbiniidae				
Echinoidea	1,0				<i>Leitoscoloplos</i> sp.	1,0			
Ophiuroidea					<i>Scoloplos</i> sp.	1,5	0,7	1,0	
<i>Microphiopholis atra</i>	2,0		1,4	0,7	Oweniidae				
<i>Amphiopholis squamata</i>	1,0				<i>Owenia</i> sp.				
Holothuroidea	1,0				Paraonidae				
Molusca					Pectinoridae				
Bivalvia					<i>Pectinaria</i> sp.	1,0			
<i>Dosinia concentrica</i>	1,0				Poecilochaetidae				
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>					<i>Poecilochaetus perequenses</i>	2,6	0,6	1,3	1,1
<i>Corbula</i> sp.					Pilargidae				
Gastropoda	1,0				<i>Sigambra</i> sp.			1,0	
Scaphopoda					Spionidae				
Nemertea	1,0		2,0		<i>Polydora</i> sp.				
Oligochaeta					<i>Laonice</i> sp.	1,0			
Tubificidae	1,0				Sabelidae	1,0			
Polychaeta					Sigalionidae				
Ampharetidae					<i>Fimbriosthenelais marianae</i>				
<i>Isolda</i> sp.	1,0				Tricobranquidae				
Capitellidae					Sipuncula				
<i>Capitela capitata</i>	1,0				<i>Thysanocardia catharinae</i>				
<i>Dasybranchus</i> sp.			1,0						

4.3.4. Assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) do traçador na comunidade bêntica

4.3.4.1. Macrofauna

Alguns organismos triados e identificados não puderam ter suas razões isotópicas determinadas devido ao tamanho reduzido, já que a massa mínima necessária para detecção no equipamento utilizado foi de ca. 0,3 mg. Além das espécies com massa mínima, optou-se por analisar aquelas mais abundantes e as que estiveram presentes no controle e no tratamento para efeito de comparação.

O enriquecimento em ^{13}C , expresso em termos de assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$), foi identificado em praticamente todos os grupos da macrofauna analisados, tanto no sistema controle quanto no tratamento acidificado. Exceção a isso, ou com valor de enriquecimento muito baixo ($\Delta\delta^{13}\text{C} < 0\text{‰}$), foram: o poliqueta *Scoloplos* sp. (-26,3‰) no controle e Echinoidea (-1,0‰) e Nemertea (-1,7‰) no tratamento.

Em geral, tanto no sistema controle quanto no tratamento, o enriquecimento deu-se com maior intensidade nos organismos presentes na camada mais superficial do sedimento (0-4 cm), embora, também tenham sido encontrados na camada de 4-10 cm, principalmente entre os poliquetas (Tabela 4.4 e Tabela 4.5).

No controle, observou-se diferenças entre os grupos, e o molusco bivalve *Dosinia concentrica* (1796,9‰, 0-4cm) juntamente com o poliqueta da família Paraonidae (3148,9‰, 0-4cm) apresentaram enriquecimento maior em relação às demais espécies identificadas. Outras espécies que apresentaram importante assimilação relativa nas amostras do controle foram os poliquetas *Leitoscoloplos* sp. (612,0‰, 0-4cm) e *Pectinaria* sp., (566,5‰, 0-4cm) e o ofiuoide *Amphiopholis squamata* (499,3‰, 0-4cm) (Tabela 4.4.).

No sistema tratamento, os maiores enriquecimentos foram identificados no poliqueta *Polydora* sp., (3213,1‰, 0-4cm) seguido pelo crustáceo *Saltipedis paulensis* (2023,9‰, 0-4cm) e pelo sipúncula *Thysanocardia catharinae* (1280,3‰, 0-4cm) (Tabela 4.5.). Outras espécies importantes nesse sistema foram os poliquetas *Leitoscoloplos* sp. (886,0‰, 0-4 cm), *Owenia* sp. (579,7‰,

0-4cm), *Poecilochaetus perequenses* (427,8‰ e 550,6‰, para 0-4 e 4-10, respectivamente) e família Lumbrineridae (536,3‰, 0-4cm).

Um número reduzido de espécies foi identificado em ambos os sistemas. Comparativamente, o bivalve *Dosinia concentrica* apresentou enriquecimento muito maior no controle na camada superficial da coluna sedimentar. Poliquetas da família Lumbrineridae também apresentaram $\Delta\delta^{13}\text{C}$ relativamente maior, enquanto que o antozoário *Edwardsia* sp. e os poliquetas *Leitoscoloplos* sp. e *Poecilochaetus perequenses* tiveram maior enriquecimento no tratamento acidificado (Figura 4.6 A).

Na camada de fundo, o *Poecilochaetus perequenses* também apresentou maior enriquecimento no sistema com baixo pH (tratamento), juntamente com o poliqueta *Neanthes bruaca*. O ofiuoide *Microphiopholis atra* apresentou enriquecimento muito similar nos dois sistemas, enquanto que o grupo Nemertea e os poliquetas *Magelona papillicornis* e *Sigambra* sp. tiveram maior assimilação relativa no controle (Figura 4.6 B).

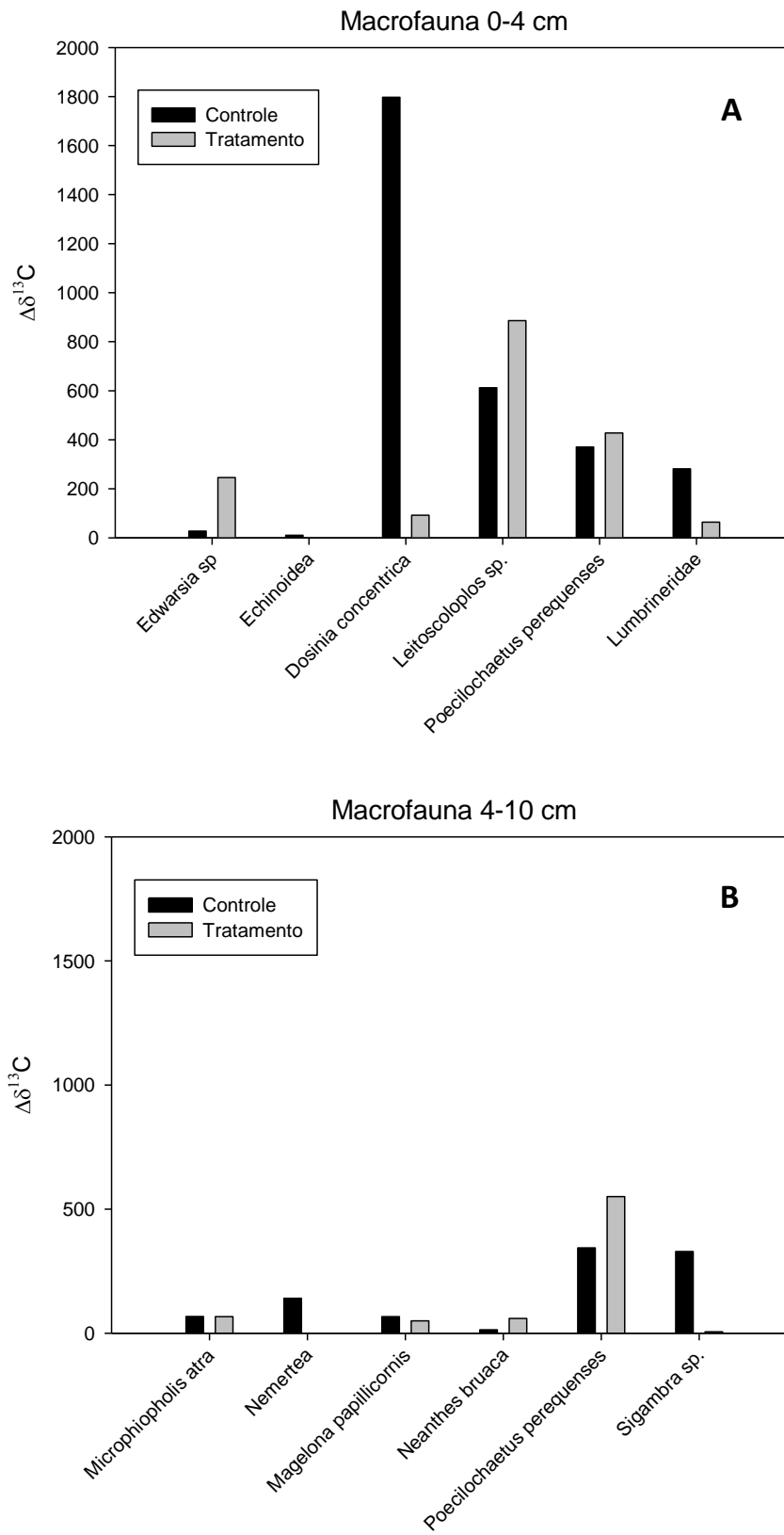


Figura 4.6. Enriquecimento em ¹³C nos organismos da macrofauna bêntica identificados em ambos os sistemas (controle e tratamento acidificado) nas camadas superficiais (A) e de fundo (B).

Tabela 4.4. Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C}$), assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação na biomassa ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) da macrofauna bêntica nos testemunhos do sistema controle por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). Ni=número de indivíduos, DP=desvio padrão.

Táxon	Controle (pH 8,1)					
	Ni	Prof. Sedimento (cm)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	I ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$)
Anthozoa						
<i>Edwardsia</i> sp.	1	0-4	11,7		27,2	0,013
Echinodermata						
Echinoidea	1	0-4	4,3		10,5	0,001
Ophiuroidea						
<i>Microphiopholis atra</i>	1	0-4	228,5		249,8	0,120
	1	4-10	45,8		67,2	0,014
<i>Amphiopholis squamata</i>	1	0-4	489,7		499,3	0,472
Molusca						
Bivalvia						
<i>Dosinia concentrica</i>	1	0-4	1776,0		1796,9	2,773
<i>Phlyctiderma semiaspera</i>	2	0-4	87,6		107,9	0,128
Nemertea	1	0-4	43,4	86,8	61,5	0,101
	2	4-10	122,7		140,8	0,131
Polychaeta						
Orbiniidae						
<i>Leitoscoloplos</i> sp.	1	0-4	594,2	697,5	612,0	0,003
<i>Scoloplos</i> sp.	1	4-10	-8,5		-26,3	0,003
Magelonidae						
<i>Magelona papillicornis</i>	2	0-4	29,6		48,3	0,094
	1	4-10	48,0		66,6	0,018
<i>Magelona variolamelata</i>	1	0-4	200,3		218,9	0,199
Nereididae						
<i>Neanthes bruaca</i>	1	4-10	-4,0		14,0	0,006
Pectinaridae						
<i>Pectinaria</i> sp.	1	0-4	548,8		566,5	0,119
Poecilochaetidae						
<i>Poecilochaetus perequenses</i>	2	0-4	351,9	2,2	370,4	2,680
	1	4-10	325,4	173,8	343,9	0,136
Pilargidae						
<i>Sigambra</i> sp.	1	4-10	312,1		329,4	0,004
Lumbrineridae	3	0-4	267,3	33,0	281,6	0,248
Paraonidae	1	0-4	3128,3		3148,9	0,161

Tabela 4.5. Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C}$), assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação na biomassa ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) da macrofauna bêntica nos testemunhos do sistema tratamento por profundidade do sedimento (0-4 e 4-10 cm). Ni=número de indivíduos, DP=desvio padrão.

Táxon	Tratamento (pH 7,3)					
	Ni	Prof. Sedimento (cm)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	I ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$)
Anthozoa						
<i>Edwardsia</i> sp.	1	0-4	230,4	54,6	245,9	0,162
Bryozoa						
<i>Discoporella umbellata</i>	2	4-10	1,0		1,6	0,000
Crustacea						
<i>Alpheus floridanus</i>		0-4	323,3		342,3	0,577
<i>Calozodion bacescui</i>	1	0-4	161,5	21,9	183,7	1,434
<i>Saltipedis paulensis</i>	1	0-4	2001,7		2023,9	4,265
Echinodermata						
Echinoidea	1	0-4	-7,3		-1,0	0,000
Ophiuroidea						
<i>Microphiopholis atra</i>	1	4-10	45,8		67,2	0,085
Molusca						
Bivalvia						
<i>Dosinia concentrica</i>	4	0-4	71,5		92,4	0,078
Nemertea	1	4-10	-19,8		-1,7	0,001
Polychaeta						
Orbiniidae						
<i>Leitoscoloplos</i> sp.	1	0-4	868,2		886,0	2,023
Magelonidae						
<i>Magelona papillicornis</i>	1	4-10	30,0		49,9	0,202
Nereididae						
<i>Neanthes bruaca</i>	1	4-10	41,8	83,0	59,8	0,038
Oweniidae						
<i>Owenia</i> sp.	2	0-4	567,8		579,7	0,023
Poecilochaetidae						
<i>Poecilochaetus perequenses</i>	1	0-4	409,3		427,8	0,168
	2	4-10	532,1	291,6	550,6	0,131
Spionidae						
<i>Polydora</i> sp.	1	0-4	3197,1		3213,1	5,944
Pilargidae						
<i>Sigambra</i> sp.	1	4-10	-11,4		5,9	0,005
Sabelidae	1	0-4	-4,3		11,7	0,006
Maldanidae	1	0-4	-16,8		2,8	0,001
	1	4-10	-4,8		14,8	0,005
Lumbrineridae	2	0-4	49,6		63,9	0,158
	1	4-10	522,0		536,3	2,284
Sipuncula						
<i>Thysanocardia catharinae</i>	1	0-4	1261,4		1280,3	1,073

4.3.4.2. Comunidade bacteriana

Os valores de $\Delta\delta^{13}\text{C}$ nos ácidos graxos derivados de fosfolipídios (PLFAs), os quais são biomarcadores específicos de bactéria, indicaram enriquecimento pela assimilação de compostos derivados das microalgas marcadas pela comunidade bacteriana, tanto nas amostras do sistema controle quanto do tratamento acidificado (Tabela 4.6). O maior enriquecimento ocorreu na camada superficial do sedimento, decrescendo com o aumento da profundidade os dois sistemas (Figura 4.7).

Entre os biomarcadores individuais, o i-C_{17:0} foi aquele que apresentou maior enriquecimento nos dois sistemas, enquanto que seu isômero, o PLFA ai-C_{17:0}, teve menor enriquecimento. Apesar da assimilação ser similar em ambos os sistemas (*i.e.*, maior na camada superficial), o enriquecimento em ¹³C do tratamento foi maior nessa camada, variando entre 239,1 e 545,9‰. Já o controle variou entre 99,3 e 174,9‰ nos primeiros centímetros do sedimento (Tabela 4.6).

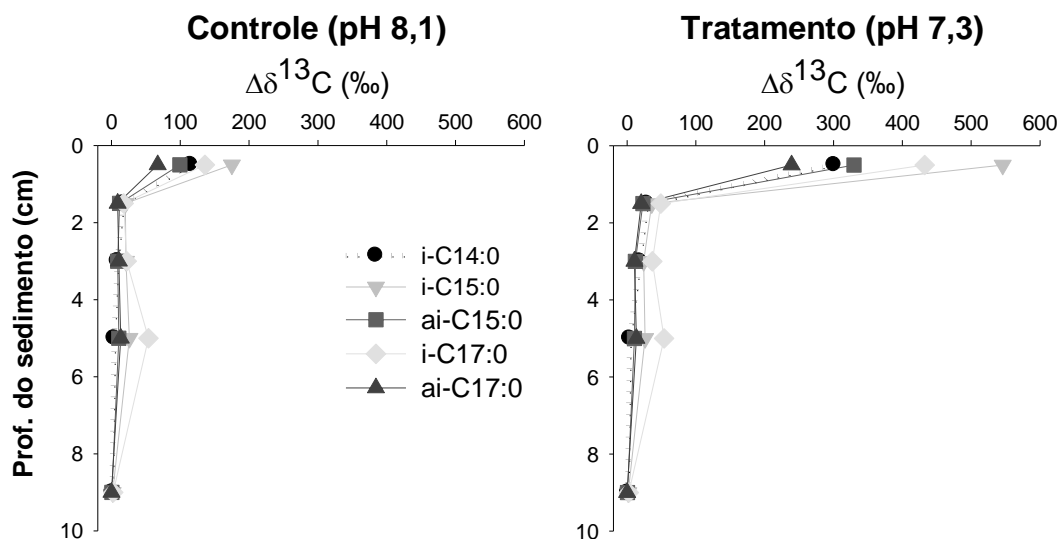


Figura 4.7. Perfil vertical da assimilação bacteriana ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) nos biomarcadores específicos de bactéria, PLFAs, (i-C_{14:0}, i-C_{15:0}, ai-C_{15:0}, i-C_{17:0} e ai-C_{17:0}) nos sistemas controle e tratamento acidificado.

Tabela 4.6. Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e assimilação relativa ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) dos ácidos graxos derivados de fosfolipídios específicos de bactérias (PLFAs) por profundidade do sedimento e para cada sistema analisado (controle e tratamento). DP=desvio padrão.

Sistema	Prof. do sedimento (cm)	i-C14:0			i-C15:0			ai-C15:0			i-C17:0			ai-C17:0		
		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	DP	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Controle (pH 8,1)	0-1	96,0	112,5	115,4	154,3	188,0	174,9	78,9	102,4	99,3	115,5	135,8	135,7	46,4	69,8	67,1
	1-2	-3,7	18,6	16,7	-1,1	25,8	20,2	-8,7	13,8	11,8	-5,6	20,7	17,6	-13,2	10,3	8,8
	2-4	-11,8	8,1	8,7	-0,4	26,6	21,1	-12,1	11,6	9,0	-2,2	32,0	22,0	-11,2	16,4	10,7
	4-6	-17,9	108,7	4,0	4,1	177,8	26,0	-10,8	107,3	10,5	29,1	138,4	53,8	-8,7	76,5	13,6
	6-10	-18,9	1,9	1,0	-20,1	1,8	1,7	-21,6	0,6	0,5	-22,9	1,5	2,7	-23,4	2,5	-0,3
Tratamento (pH 7,3)	0-1	281,5	14,9	300,9	525,2	32,6	545,9	309,5	36,2	329,9	412,4	25,6	432,6	218,3	11,4	239,1
	1-2	8,5	16,7	28,9	14,5	15,3	35,7	2,5	13,8	22,9	25,9	29,3	49,1	-1,6	11,0	20,4
	2-4	-2,1	6,3	18,4	2,6	7,0	24,0	-8,9	2,6	12,2	12,3	25,2	36,6	-11,3	6,3	10,6
	4-6	-17,9		4,0	4,1		26,0	-10,8		10,5	29,1		53,8	-8,7		13,6
	6-10	-18,9	1,9	1,0	-20,1	1,8	1,7	-21,6	0,6	0,5	-22,9	1,5	2,7	-23,4	2,5	-0,3

Tabela 4.7. Incorporação total do traçador (I) em $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$ na comunidade bacteriana dos sistemas controle e tratamento acidificado determinada através dos biomarcadores específicos (PLFAs, i-C_{14:0}, i-C_{15:0}, ai-C_{15:0}, i-C_{17:0} e ai-C_{17:0}).

Prof. do sedimento (cm)	Controle (pH 8,1)		Tratamento (pH 7,3)	
	I ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$)	DP	I ($\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$)	DP
0-1	6298,7	7219,1	6562,2	2392,6
1-2	1122,7	1601,0	682,1	113,4
2-4	1115,5	1435,2	759,3	227,9
4-6	1571,9	2793,7	740,9	141,8
6-10	147,9	129,4	1105,8	2767,0

4.3.5. Incorporação da MO marcada pela biota

4.3.5.1. Macrofauna

Na superfície do sedimento do sistema controle, os principais agentes da macrofauna no processamento da MO foram o molusco bivalve *Dosinia concentrica* ($2,77 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o poliqueta *Poecilochaetus perequenses* ($2,68 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$). O ofiuoide *Amphiopholis squamata* ($0,47 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e os poliquetas *Magelona variolamelata* ($0,19 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e famílias Lumbrineridae ($0,25 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e Paraonidae ($0,16 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) também foram importantes nessa camada.

Com o aumento da profundidade do sedimento no controle, a densidade de organismos encontrada foi menor e o poliqueta *Poecilochaetus perequenses* ($0,13 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o grupo Nemertea ($0,13 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) foram os metazoários que apresentaram os maiores valores de incorporação em suas biomassas. A incorporação média calculada para comparação entre os grupos da macrofauna no controle mostra que os moluscos tiveram resultados, seguidos de poliquetas e equinodermes.

Em relação à fauna encontrada no sistema tratamento, o poliqueta *Polydora* sp. ($5,94 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$), seguido pelos crustáceos *Saltipedis paulensis* ($4,26 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e *Calozodion bacescui* ($1,43 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$), o poliqueta *Leitoscoloplos* sp. ($2,02 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e o sipúncula *Thysanocardia catharinae* ($1,07 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) apresentaram as maiores incorporações do traçador em sua biomassa na camada superficial do sedimento.

Em 4-10 cm, os poliquetas da família Lumbrineridae ($2,28 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) e a espécie *Poecilochaetus perequenses* ($0,13 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) foram os mais importantes (Tabela 4.5). A incorporação média do traçador entre os grupos do tratamento mostrou que os crustáceos foram os mais importantes na camada superficial, seguidos pelos poliquetas em toda a coluna sedimentar (até 10 cm).

Na comparação entre os sistemas (controle x tratamento), houve diferença entre os valores de incorporação das espécies que apareceram em comum nas amostras de sedimento. Na camada superficial, o molusco *Dosinia concentrica* e o poliqueta *Poecilochaetus perequenses* apresentaram

incorporação muito maior no sistema controle, seguidos pelos poliquetas da família Lumbrineridae. Em contrapartida, o antozoário *Edwardsia* sp. e o poliqueta *Leitoscoloplos* sp. apresentaram incorporação maior no sistema tratamento (Figura 4.8 A).

Entre os organismos encontrados mais ao fundo (4-10 cm), a diferença na incorporação também foi detectada, sendo que o grupo Nemertea apresentou valores de *I* muito maior no controle, enquanto que o ofiuroide *Microphiopholis atra*, e os poliquetas *Magelona papillicornis* e *Neanthes bruaca* foram mais importantes no tratamento acidificado. Ainda nesta camada, o poliqueta *Poecilochaetus perequenses* apresentou valores de incorporação em sua biomassa muito similares nos dois sistemas (Figura 4.8 B).

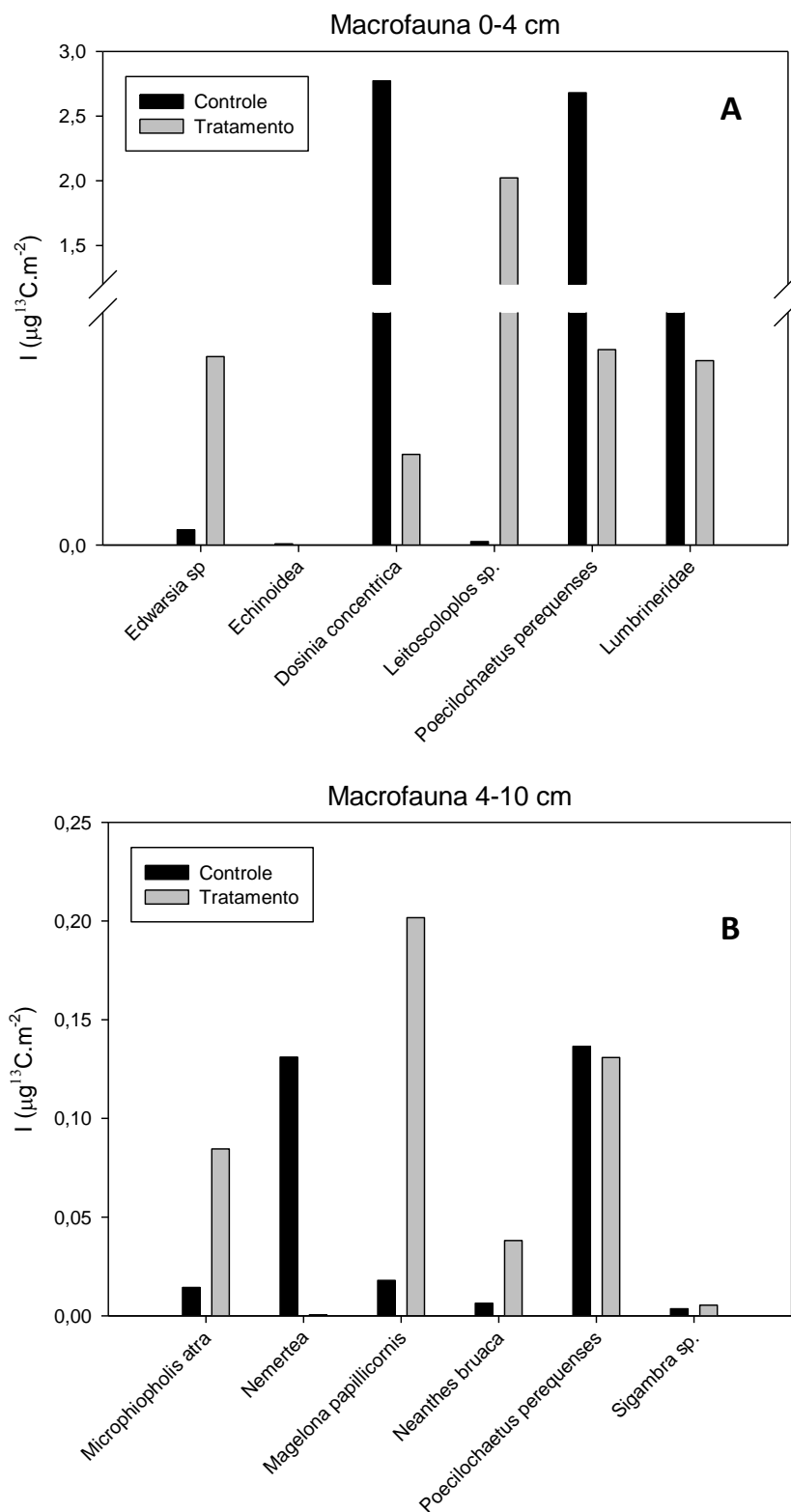


Figura 4.8. Incorporação (I , $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$) na biomassa dos organismos da macrofauna bêntica identificados em ambos os sistemas (controle e tratamento acidificado) nas camadas superficiais (A) e de fundo (B).

4.3.5.2. Comunidade bacteriana

Assim como a assimilação relativa, a incorporação do fitodetrito marcado com ^{13}C na biomassa bacteriana foi constatada através dos biomarcadores específicos, PLFAs. A incorporação total (*i.e.*, soma de todos os biomarcadores) foi maior na camada superficial do sedimento e diminuiu com o aumento da profundidade do sedimento. Ao contrário do enriquecimento, a incorporação na superfície do sedimento apresentou valores muito similares entre os sistemas controle e acidificado ($6298,7$ e $6562,2 \mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$, respectivamente), não havendo diferenças entre os tratamentos.

As amostras do controle apresentaram valores relativamente maiores de incorporação na biomassa bacteriana ao longo das camadas 1-2, 2-4 e 4-6 cm. No sistema tratamento, a incorporação foi maior nas bactérias da camada superficial, entretanto, na camada mais profunda (6-10 cm) esse valor foi maior quando comparado ao sistema controle (Figura 4.9, Tabela 4.7).

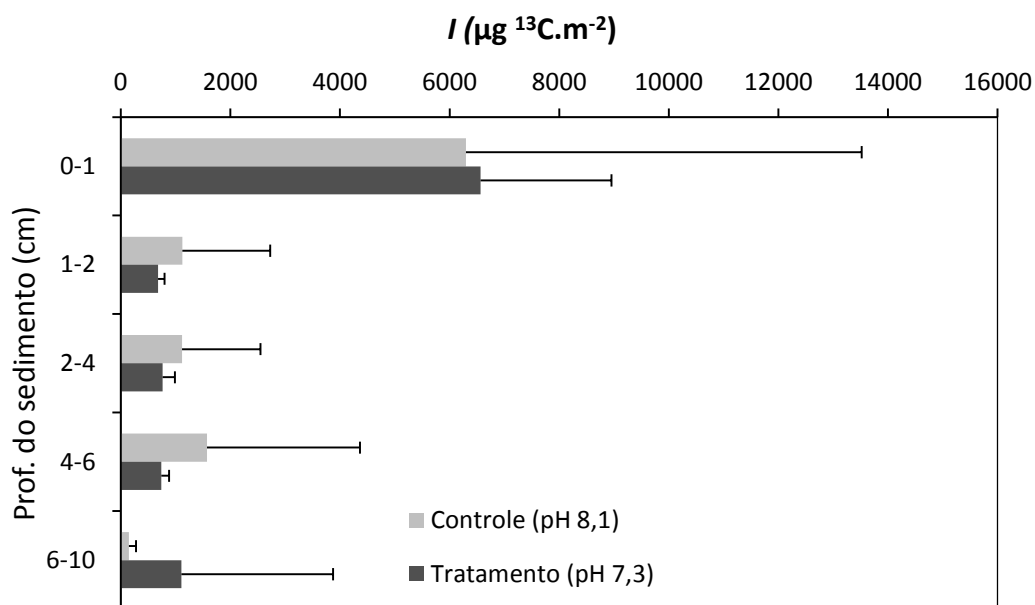


Figura 4.9. Perfil vertical da incorporação total do traçador (I) em $\mu\text{g}^{13}\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$ na comunidade bacteriana dos sistemas controle e tratamento acidificado determinada através dos biomarcadores específicos (PLFAs, $i\text{-C}_{14:0}$, $i\text{-C}_{15:0}$, $ai\text{-C}_{15:0}$, $i\text{-C}_{17:0}$ e $ai\text{-C}_{17:0}$). Barras de erro representam o desvio padrão ($n=3$).

4.4. Discussão

4.4.1. Parâmetros químicos da coluna de água

Durante os experimentos, a T, salinidade, OD, pH, AT e demais componentes do sistema carbonato mantiveram-se praticamente constantes, com poucas flutuações ao longo de 11 dias. Isso denota a eficácia do sistema de controle e de acidificação instalado, que garantiu as condições desejadas de exposição. As pequenas variações de pH detectadas devem-se principalmente aos processos de fotossíntese e respiração. Desse modo, concluímos que o processo da acidificação não afetou os parâmetros de qualidade da água dos tanques.

A AT também variou pouco nos tratamentos, ficando com valores próximos aos encontrados em outros locais do globo (Dickson, 2011). Esse parâmetro é normalmente estável nos oceanos e, ao contrário do pH, sofre pouca influência dos processos de dissolução do CO₂ na água do mar e demais processos biológicos naturais, como a fotossíntese, respiração e degradação da MO (Redfield *et al.*, 1963; Goyet & Brewer, 1993)

4.4.2. Parâmetros da coluna sedimentar

Os resultados clorofila-*a*, feopigmentos e razões isotópicas de carbono foram muito semelhantes entre os dois sistemas e serviram como um indicativo do enriquecimento em MO nova resultante da adição da microalga *Tetraselmis* sp. no experimento. Valores muito similares de fitopigmentos podem, ainda, indicar que a acidificação do sistema tratamento não afetou a labilidade da matéria orgânica presente, mesmo após 11 dias de experimento. O COT, também muito semelhante em valores para ambos os sistemas, teve um pico na camada de 4-6 cm, com acúmulo de MO nessa região, provavelmente pelo efeito da movimentação da macrofauna em subsuperfície. Além disso, os teores de MO em camadas em subsuperfície sugere que houve pouco enterramento do material inserido nos sistemas durante o tempo experimental.

4.4.3. Efeitos da AO no fluxo de carbono nas comunidades

Nosso estudo focou em avançar no entendimento dos efeitos do baixo pH, predito para os próximos séculos nos oceanos, na trofodinâmica bêntica através da relação dos organismos com a chegada da MO fresca. Tal input é de extrema importância para o bentos da zona costeira meso-oligotrófica de Ubatuba. Além disso, este é primeiro o estudo, unindo experimentos de com o traçador isotópico de carbono (^{13}C , *pulse-chase*) e mudanças climáticas, focado em comunidades intactas do sedimento de uma zona costeira tropical.

O entendimento atual sobre os impactos da acidificação dos oceanos (AO) em organismos marinhos concentra-se ainda, quase que exclusivamente, sobre respostas em espécies isoladas, principalmente aquelas que dependem do carbonato de cálcio para construção de suas conchas e esqueletos (Kleypas *et al.*, 2006; Riebesell *et al.*, 2000; Orr *et al.*, 2005). Os impactos indiretos em funções ecossistêmicas, como a trofodinâmica entre os organismos e a transferência de carbono, ainda são pouco conhecidos.

Rossol *et al.* (2012), por exemplo, mostraram que a elevação da concentração de CO_2 altera significativamente a composição biogeoquímica dos produtores primários afetando, conseqüentemente, sua qualidade nutricional para os consumidores. Outros estudos, realizados em locais onde o pH da água do mar já é naturalmente mais baixo, como fontes hidrotermais, detectaram simplificações nas estruturas tróficas comparadas a ambientes com o pH próximo aos valores médios dos oceanos (8,2; Kroeker *et al.*, 2011).

Nosso estudo mostrou que houve enriquecimento ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) e incorporação (*I*) da matéria orgânica marcada (fitodetrito), tanto nas comunidades do controle, com condições naturais de pH (8,1), quanto naquelas submetidas à acidificação (pH 7,3). O fluxo e a transferência do carbono marcado foram, portanto, evidentes na comunidade bacteriana e na macrofauna bêntica, apesar da baixa biomassa de metazoários analisada.

4.4.3.1. Macrofauna

Os resultados de incorporação, que representam o efetivo processamento do fitodetrito marcado, apresentaram diferenças quando submetidos ao pH mais baixo. Essas diferenças foram marcantes entre alguns grupos e, naqueles identificados nos dois sistemas. O molusco bivalve *Dosinia concentrica* e os poliquetas *Poecilochaetus perequenses* e família Lumbrineridae foram importantes agentes do processamento do carbono orgânico marcado nos primeiros centímetros do sedimento do sistema controle, enquanto que, na superfície do tratamento acidificado, o antozoário *Edwardsia* sp. e o poliqueta *Leitoscoloplos* sp. se destacaram na incorporação do traçador.

Suspensívoros, como o bivalve *Dosinia concentrica* (Souza *et al.*, 2010), são um dos principais organismos que se alimentam do fitodetrito fresco que chega ao sedimento, refletindo, em condições naturais, a produção primária da coluna de água. No controle, essa espécie ingeriu quantidades significativas do carbono marcado, o que não foi observado com a acidificação da água do mar. Por tratar-se de um organismo calcificador, é possível que com a diminuição do pH, haja um gasto extra de energia para evitar a dissolução de suas conchas, afetando as demais funções fisiológicas (Melzner *et al.*, 2011). Gazeau *et al.* (2007) sugeriram que moluscos adultos podem também ser sensíveis às mudanças na química da água do mar. Os lumbrinerídeos, considerados onívoros, e o *Poecilochaetus perequensis*, espécie classificada normalmente como depositívoro de superfície (Fauchald & Jumars, 1979), são também importantes consumidores de superfície e recicladores de MO e parecem ser sensíveis aos níveis elevados de pCO₂.

O organismo predador *Edwardsia* sp. (Souza *et al.*, 2010) e o depositívoro não seletivo *Leitoscoloplos* sp. (Fauchald & Jumars, 1979) parecem reagir positivamente às mudanças no pH, apresentando altos valores de incorporação nessas condições. Hale *et al.* (2011) também demonstrou que alguns organismos podem ter efeitos positivos frente à AO e às mudanças de temperatura, por estarem ancorados em um forte controle ecológico.

Com o aumento da profundidade do sedimento, os valores de incorporação na macrofauna foram menores, possivelmente como resultado do pouco enterramento da MO marcada, constatado através das análises isotópicas e de COT no sedimento. A resposta das espécies encontradas em ambos os sistemas também foi diferenciada, sendo que o grupo Nemertea, classificado como predador, foi mais eficiente na incorporação do carbono no controle, enquanto que depositívoros como os poliquetas *Magelona papillicornis* e *Neanthes bruca* e o ofiuroide *Microphiopholis atra* tiveram incorporação maior no sistema com baixo pH. Em 4-10 cm, a incorporação do *Poecilochaetus perequensis* parece não ser afetada pela diminuição do pH da coluna de água.

Apesar do pH nos sedimentos marinhos, em geral, diminuir com o aumento da profundidade, já foi observado que muitos animais da infauna mantêm o pH de seus buracos e tocas com valores igual ou próximo àqueles da coluna de água sobrejacente. Além disso, as atividades de bioturbação dos organismos promovem a infiltração e percolação da água, proveniente da coluna acima, nos interstícios do sedimento (Widdicombe *et al.*, 2011).

As diferenças entre os táxons, tanto na superfície quanto no fundo do sedimento, podem estar relacionadas, além dos hábitos alimentares, com adaptações e características fisiológicas e morfológicas das espécies, além das complexas interações interespecíficas (e.g., competição) nas comunidades. Os efeitos comuns da AO parecem estar relacionados à vulnerabilidade de alguns grupos em relação a outros e, como foi visto, os organismos poderiam reagir, tanto positiva quanto negativamente, à diminuição do pH na água do mar (Hale *et al.*, 2011).

Além disso, organismos que vivem em zonas costeiras rasas já estão sujeitos a diversas variações diárias de diversos parâmetros ambientais (e.g., temperatura, disponibilidade de nutrientes, pH) e podem se adaptar a essas mudanças. Já foi registrado que o pH em sistemas costeiros pode variar entre 7.4 – 9.2 (Middelboe & Hansen, 2007) devido a interação da água do mar com os habitat costeiros. Teixeira (1973) registrou valores de pH na região de

Ubatuba que variaram entre 7,95 a 8,11, sendo os menores valores encontrados nas porções mais costeiras (profundidades menores que 10 m). Isso significa que os efeitos biológicos e ecológicos resultantes da diminuição do pH e aumentos da concentração de CO₂ nos oceanos vão variar regionalmente e organismos que habitam regiões com altas flutuações podem ter alta resiliência à AO.

4.4.3.2. Comunidade bacteriana

Baseado na dinâmica do nosso carbono orgânico marcado e dos biomarcadores específicos de bactéria, nós também observamos uma transferência da MO fresca derivada do fitodetrimento para as comunidades bacterianas, seja em condições naturais, seja em baixo pH. Nossos resultados de incorporação nos PLFAs, suportam o fato de que as bactérias heterotróficas contribuintes muito importantes para a reciclagem da MO no sedimento de Ubatuba. Fato este já investigado através de outras abordagens por estudos prévios (Sumida *et al.*, 2005; Quintana *et al.*, 2009; Moraes *et al.*, 2014).

Apesar das diferenças nos resultados de enriquecimento entre os PLFAs individuais, a incorporação na biomassa bacteriana não apresentou diferenças entre o controle e o tratamento. Estudos prévios mostraram que a resposta das bactérias heterotróficas às mudanças nas concentrações de CO₂ está mais ligada à dinâmica do fitoplâncton do que ao próprio efeito do pH ou CO₂ (Grossart *et al.*, 2006), e portanto, que o aumento da biomassa dessa comunidade, em elevados níveis de pCO₂, pode ser um efeito direto do aumento da biomassa do fitoplâncton nessas mesmas condições (Kluijver *et al.*, 2010).

Capítulo 5

Considerações finais e respostas às hipóteses

- Apesar da proximidade com a costa e a variedade de fontes de material orgânico terrestre disponível, a MO autóctone (principalmente fitoplâncton) é a principal fonte de alimento para a macrofauna bêntica da Enseada das Palmas.
- Assinaturas isotópicas de suspensívoros (principalmente moluscos bivalves) refletem a produção pelágica sobrejacente, enquanto que depositívoros (maioria dos organismos identificados) indicam resposta do retrabalhamento da MO sedimentar e da mistura outras fontes em sua dieta. Carnívoros não apresentaram uma relação clara de suas fontes de MO, provavelmente devido a ampla variedade de presas existentes no ambiente.
- O rápido enriquecimento pelo material orgânico marcado (fitodetrito) constatado através dos experimentos de pulse-chase mostrou que a comunidade bêntica que vive no ambiente meso-oligotrófico de Ubatuba tem um importante papel no consumo da matéria orgânica nova derivada do fitoplâncton.
- Processos como a intrusão da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) na primavera-verão, que estimula a produção primária, e a ressuspensão do sedimento durante o outono-inverno, que também traz pulsos de alimento para as comunidades bênticas, são provavelmente essenciais não só para a manutenção e sobrevivência da comunidade bêntica mas também para a função ecossistêmica e a ciclagem do carbono nesses ambientes meso-oligotróficos.
- Quando submetidos a mudanças extremas, como o baixo pH 7,3, diferentes espécies da macrofauna bêntica têm resposta distinta, positiva ou negativamente, na incorporação do fitodetrito marcado.

A presente pesquisa baseou-se em duas hipóteses:

1) O material orgânico proveniente do fitodetrimento é a principal fonte de carbono para as comunidades bênticas da zona costeira.

Nossos resultados de biomarcadores lipídicos e razões isotópicas naturais mostraram que a MO autóctone proveniente da produção primária subjacente é a principal fonte de alimento para o sedimento de Ubatuba. Adicionalmente, o rápido e alto enriquecimento e incorporação do fitodetrimento traçado na biomassa dos organismos é um indicativo da importância dessa fonte para a manutenção e sobrevivência da comunidade bêntica.

2) A AO altera a incorporação do carbono orgânico em comunidades bênticas (bactérias e macrofauna).

Diferenças nos valores de incorporação do traçador na biomassa das espécies que apareceram em comum nas amostras de sedimento dos sistemas controle (pH 8,1) e tratamento (pH 7,3) indicam que o fluxo do carbono orgânico em parte da macrofauna bêntica pode ser potencialmente afetada pela AO. Nas comunidades bacterianas, entretanto, apesar das variações individuais no enriquecimento relativo dos PLFAs, não houve diferenças na incorporação na biomassa entre os tratamentos.

Referências bibliográficas

- Aberle N., Hillebrand H., Grey J. & Wiltshire K. H. 2005. Selectivity and competitive interactions between two benthic invertebrate grazers (*Asellus aquaticus* and *Potamopyrgus antipodarum*): an experimental study using ^{13}C - and ^{15}N -labelled diatoms. *Freshwater Biology*. 50, 369–379.
- Aberle, N. & Witte, U. 2003. Deep-sea macrofauna exposed to a simulated sedimentation event in the abyssal NE Atlantic: in situ pulse-chase experiments using ^{13}C -labelled phytodetritus. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 251: 37–47.
- Aidar, E., Gaeta, S.A., Giancesella-Galvão, S., Kutner, M.B.B. & Teixeira, C. 1993. Ecossistema costeiro subtropical: nutrientes dissolvidos, fitoplâncton e clorofila a e suas relações com as condições oceanográficas na região de Ubatuba, SP. *Publ. Esp. Inst. Oceanogr.* 10:9-43.
- Alves, Betina G.R., Arthur Zigiatti Güth, Márcia Caruso Bicego, Salvador Airon Gaeta, *et al.* 2014. “Benthic community structure and organic matter variation in response to oceanographic events on the Brazilian SE inner shelf.” *Continental Shelf Research* 85: 106–116.
- Amaral, A.C.Z., Borges, M. & Steiner, T.M. 2009. Manual de Identificação dos Invertebrados Marinhos da Região Sudeste-Sul do Brasil. São Paulo (SP): Editora da USP, v. 2.
- Andersen, F.Ø. & Kristensen, E. 1992. The importance of benthic macrofauna in decomposition of microalgae in a coastal marine sediment. *Limnol Oceanogr* 37:1392-1403
- Aprile, F. & Siqueira, G.W. 2012. Seasonal and spatial variations of dissolved carbon and nitrogen in the Santos estuarine system, Southeastern Brazil. *Journal of Oceanography and Marine Science* 3(1): 8-18. doi: 10.5897/JOMS11.023
- Arruda, E.P., Domaneschi, O. & Amaral, A.C.Z. 2003. Mollusc feeding guilds on sandy beaches in São Paulo state, Brazil. *Mar. Biol.* 143: 691–701.
- Asnaghi V., Mangialajo L., Gattuso J. P., Francour P., Privitera D., Chiantore M. 2014 Effects of ocean acidification and diet on thickness and carbonate elemental composition of the test of juvenile sea urchins. *Marine Environmental Research* 93:78-84.
- Aspetsberger, F., Zabel, M., Ferdelman, T., Struck, U., Mackensen, A., Ahke, A. & Witte, U. 2007. Instantaneous benthic response to

- different organic matter quality: In situ experiments in the Benguela Upwelling System. *Marine Biology Research*, 3: 5, 342—356
- Bauer, J.E., W.-J. Cai, P.A. Raymond, T.S. Bianchi, C.S. Hopkinson and P. Regnier. 2013. The changing carbon cycle of the coastal ocean. *Nature* 504: 61-70. Coastal Regions Cover
- Beck, M. & Brumsack, H.-J. 2002. Biogeochemical cycles in sediment and water column of the Wadden Sea: The example Spiekeroog Island in a regional context. *Ocean and Coastal Management*. 68:102–113.
- Bellerby, R. G. J. and others 2008. Marine ecosystem community carbon and nutrient uptake stoichiometry under varying ocean acidification during the PeECE III experiment. *Biogeosciences* 5: 1517-1527.
- Berelson, W.M.; Balch, W.M.; Najjar, R.; Feely, R.A.; Sabine, C., Lee, K. 2007. Relating estimates of CaCO₃ production, export and dissolution in the water column to measurements of CaCO₃ rain in to sediment traps and dissolution on the sea floor: a revised global carbonate budget. *Glob. Biogeochem. Cycles* 21: 1-15.
- Bijma, J.; Spero, H.J. & Lea, D.W. 1999. Reassessing foraminiferal stable isotope geochemistry: impact of the ocean carbonate system (experimental results). In: Fisher, G. & Wefer, G. (eds). *Use of Proxies in Paleoceanography: Examples from the South Atlantic*. Springer Verlag, pp. 489-512.
- Bligh E G & Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917, 1959.
- Boon AR, Duineveld GCA. 1996. Phytopigments and fatty acids as molecular markers of near-bottom particulate organic matter in the North Sea. *J Sea Res* 35:279-29
- Boschker, H. T. S. 2004. Linking microbial community structure and functioning: stable isotope (¹³C) labeling in combination with PLFA analysis, p. 1673-1688. In G. A. Kowalchuk, F. J. de Bruijn, I. M. Head, A. D. Akkermans and J. D. van Elsas (ed.), *Molecular microbiology and ecology manual II*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Boschker, HTS & Middelburg, JJ. 2002. Stable isotopes and biomarkers in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 1334:1-12.
- Braeckman U., Provoost P., Sabbe K., Soetaert K., Middelburg J.J., Vincx M., Vanaverbeke J. 2012. Temporal dynamics in the diet of two marine polychaetes as inferred from fatty acid biomarkers. *Journal of Sea Research* 68: 6–19

- Braga, E.S. & Müller, T.J. 1998. Observation of regeneration of nitrate, phosphate and silicate during upwelling of Ubatuba, Brazil, 23°S. *Cont. Shelf Res.* 18: 915-922.
- Brusca, R. C. & Brusca, G. J. 2002. *Invertebrates*. Sinauer Associates Sunderland, MA. 936p.
- Bühning, S.I., Lampadariou, N., Moodley, L., Tselepides, A. & Witte, U. 2006. Benthic microbial and whole-community responses to different amounts of ¹³C-enriched algae: In situ experiments in the deep Cretan Sea (Eastern Mediterranean). *Limnol. Oceanogr.* 51(1): 157–165.
- Burdige, D.J. 2006. *Geochemistry of marine sediments*. Princeton University Press, 609p.
- Burone, L., Muniz, P., Pires-Vanin, A.M. & Rodrigues M. 2003. Spatial distribution of organic matter in the surface sediments of Ubatuba Bay (Southeastern-Brazil). *An Acad Bras Cienc* 75: 77-90.
- Caldeira, K., Wickett, M.E. 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425: 365.
- Caldeira, K., Wickett, M.E. 2005. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *Journ. Geophys. Res.* 110: 1-12.
- Canuel E.A., Martens C.S. 1996. Reactivity of recently deposited organic matter: degradation of lipid compounds near the sediment-water interface. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60, 1793–1806.
- Castro-Filho, B.M., Miranda, L.B. & Miyao, S.Y. 1987. Condições hidrográficas na plataforma continental ao largo de Ubatuba: variações sazonais e em média escala. *Bolm.Inst. Oceanogr.* 35: 135-151.
- Corbisier, T. N. *et al.* 2004. Trophic relationships in the nearshore zone of Martel Inlet (King George Island, Antarctica): $\delta^{13}\text{C}$ stable isotope analysis. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, v. 27, p. 75-82.
- Corbisier, T. N., Soares, L. H. S., Petti, M. A. V., Muto, E. Y., Silva, M. H. C., McClelland, J. & Valiela, I. 2006. Use of isotopic signatures to assess the food web in a tropical shallow marine ecosystem of Southeastern Brazil. *Aquatic Ecology* 1: 1-10.
- Dale, A.W. & Prego, R. 2002. Physico-biogeochemical controls on benthic-pelagic coupling of nutrient fluxes and recycling in a coastal upwelling system. *Mar. ecol. Progr. Ser.* 235: 15-18.

- Danovaro, R., Dinet, A., Duineveld, G., & Tselepides, A. 1999. Benthic response to a particulate fluxes in different trophic environments: a comparison between the Gulf of Lions-Catalan Sea (western-Mediterranean) and the Cretan Sea (eastern-Mediterranean). *Prog. Oceanogr.* 44:287–312.
- de Kluijver, A., J. Yu, M. Houtekamer, J. J. Middelburg, and Z. Liu. 2012. Cyanobacteria as a carbon source for zooplankton in eutrophic Lake Taihu, China, measured by ^{13}C labeling and fatty acid biomarkers. *Limnol. Oceanogr.* 57: 1245-1254.
- de Kluijver, A., Soetaert, K., Schulz, K. G., Riebesell, U., Bellerby, R. G. J. and Middelburg, J. J.: Phytoplankton-bacteria coupling under elevated CO_2 levels: a stable isotope labelling study, *Biogeosciences*, 7, 3783–3797, doi:10.5194/bg-7-3783-2010, 2010.
- Deniro, M. J., and Epstein, S. 1981. Influence of Diet on the Distribution of Nitrogen Isotopes in Animals, *Geochim. Cosmochim. Ac.*, 45, 341–351, doi:10.1016/00167037(81)90244-1.
- Dickson A. G. and Riley J. P., 1979 The estimation of acid dissociation constants in seawater media from potentiometric titrations with strong base. I. The ionic product of water. *Marine Chemistry* 7, 89-99.
- Dickson, A.G. 1993. The measurement of sea water pH. *Marine Chemistry* 44: 131--142.
- Dickson, A.G., 1990. Thermodynamics of the dissociation of boric acid in synthetic seawater from 273.15 to 318.15 K. *Deep-Sea Research* 37:755–766.
- Dickson, AG. 2010. The carbon dioxide system in seawater: equilibrium chemistry and measurements. Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting. (Riebesell U, Fabry VJ, Hansson L, Gattuso JP, Eds.):17-40., Luxembourg: Publications Office of the European Union
- Doney, S.C.; Fabry, V.J.; Feely, R.A. & Kleypas, J.A. 2009. Ocean acidification: The other CO_2 problem. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 1: 69-92.
- Drumm, D.T. 2004. Comparative morphology of the mouthparts, chelipeds and foregut of two kalliapseudid tanaidaceans (Crustacea: Apseudomorpha). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences in Philadelphia* 154:137–147.
- Drumm, D.T. 2005. Comparison of feeding mechanisms, respiration, and cleaning behavior in two kalliapseuidids, *Kalliapseudes macsweenyi* and *Psammokalliapseudes granulosus* (Peracarida: Tanaidacea). *Journal of Crustacean Biology* 25: 203–211.

- Dunne, J.A., Williams, R.J., Martinez, N.D., 2002. Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecology Letters* 5, 558e567.
- Engel, A., Schulz, K.G., Riebesell, U., Bellerby, R., Delille, B., Schartau, M., 2008. Effects of CO₂ on particle size distribution and phytoplankton abundance during a mesocosm bloom experiment (PeECE II). *Biogeosciences* 5, 509–521.
- Fabry, V.J.; Seibel, B.A.; Feely, R.A. & Orr, J.C. 2008. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES J. Mar. Sci.* 65: 414-432.
- Falkowski, P. 2000. Integrated understanding of the global carbon cycle- A test of our knowledge. *Science* 290:291-296.
- Fauchald, K. & Jumars, P.A. 1979. The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 17:193–284
- Findlay, H.S., Kendall, M.A., Spicer, J.I., Turley, c. & widdicombe, S. 2008. A novel microcosm system for investigating the impacts of elevated carbon dioxide and temperature on intertidal organisms. *Aquatic Biology* 3, 51–62.
- Forster, P., V. Ramaswamy, P. Artaxo, T. Berntsen, R. Betts, D.W. Fahey, J. Haywood, J. Lean, D.C. Lowe, G. Myhre, J. Nganga, R. Prinn, G. Raga, M. Schulz and R. Van Dorland, 2007: Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M.Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Franco, M., Soetaert, K., Costa, M., Vincx, M., & Vanaverbeke, J. 2008. Uptake of phytodetritus by meiobenthos using ¹³C labelled diatoms and *Phaeocystis* in two contrasting sediments from the North Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 362(1), 1–8. doi:10.1016/j.jembe.2008.04.010
- Gaeta, S.A., Abe, D.S., Metzler, P.M. & Teixeira, C. 1995. Photosynthetic parameters of coastal marine phytoplankton, from the Ubatuba region, Brazil. *Publ. Esp. Inst. Oceanogr.* 11: 163-169.
- Gaeta, S.A., Ribeiro, S.M.S., Metzler, P.M., Francos, M.S. & Abe, 1999. D.S. Environmental forcing on phytoplankton biomass and primary productivity of the coastal ecosystem in Ubatuba region, southern Brazil. *Rev. Bras. Oceanogr.* 47:11-27.

- Gattuso, J.P. *et al.* 1998. Seawater carbonate chemistry and calcification rate of colonies of *Stylophora pistillata*, 1998. doi:10.1594/PANGAEA.761768
- Gattuso, J.P., Hansson, L., 2011. *Ocean Acidification*. Oxford University Press, Oxford. ISBN: 978-0-19-959108-4. 326 pp
- Gogou, A. and Stephanou, E. G.: Marine organic geochemistry of the Eastern Mediterranean: 2. Polar biomarkers in Cretan Sea surficial sediments, *Mar. Chem.*, 85, 1–25, 2004.
- Gontikaki, E., Mayor, D. J., Narayanaswamy, B. E., & Witte, U. 2011. Feeding strategies of deep sea sub-Arctic macrofauna of the Faroe-Shetland Channel: Combining natural stable isotopes and enrichment techniques, *Deep Sea. Res. Pt I*, 58:160–172.
- Goyet, C. & Brewer, P. 1993. Biogeochemical properties of the oceanic carbon cycle. In: Willebrand J. & Anderson, D.L.T. (Eds.). *Modeling Oceanic Carbon Interaction*. NATO ASI Series, Springer Verlag, vol. I: 271–297.
- Grall, J., Le Loc'h, F., Guyonnet, B., Riera, P. 2006. Community structure and food web based on stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) analyses of a North Eastern Atlantic maërl bed. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 338: 1–15.
- Grasshoff, K.; Erhardt, M. & Kremling, K. 1999. *Methods of Seawater Analysis*. 2nd ed. Verlag Chemie, Weinheim, 423 p.
- Grossart, H. P., M. Allgaier, U. Passow, and U. Riebesell. 2006. Testing the effect of CO₂ concentration on the dynamics of marine heterotrophic bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.* 51: 1-11.
- Guilini, K., Soltwedel, T., van Oevelen D., Vanreusel, A. 2011. Deep-Sea Nematodes Actively Colonise Sediments, Irrespective of the Presence of a Pulse of Organic Matter: Results from an In-Situ Experiment. *PLoS ONE* 6(4): e18912. doi:10.1371/journal.pone.0018912
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates in "Culture of Marine Invertebrate Animals." (eds: Smith W.L. & Chanley M.H.) Plenum Press, New York, USA. pp 26-60.
- Hale, R., Calosi, P., McNeill, L., Mieszkowska, N. & Widdicombe S. 2011. Predicted levels of future ocean acidification and temperature rise could alter community structure and biodiversity in marine benthic communities. *Oikos* 120: 661–674.
- Harvey, B.P., Al Janabi, B., Broszeit, S., Kumar, A., Simpson, R.K.E., Aranguren-Gassis, M., Bailey, A., Green, L., Gsottbauer, C.M., Hall, E.F., Lechler, M., Mancuso, F.P., Pereira, C.O., Ricevuto, E., Schram, J.B., Stapp,

- L.S., Stenberg, S., and Santa Rosa, L.T. 2014. Evolution of marine organisms under climate change at different levels of biological organisation, *Water*, Special Issue "Impact of Ocean Acidification on Marine Organisms - Unifying Principles and New Paradigms", 6 (11), 3545-3574. doi:10.3390/w6113545
- Hedges, J. I., & Keil, R. G., 1995, Sedimentary organic matter preservation: an assessment and speculative synthesis: *Marine Chemistry*, v. 49, p. 81–115.
- Hedges, J.I., Keil, R.G., Benner, R., 1997. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Organic Geochemistry* 27, 195–212.
- Heip, C., Vincx, M., Vranken, G. 1985. The ecology of marine nematodes. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 23: 399-489. Hendelberg
- Henrichs, S.M., 1992. Early diagenesis of organic matter in marine sediments: progress and perplexity. *Mar. Chem.* 39, 119–149.
- Herman, P.M.J., Middelburg, J.J., Widdows, J., Lucas, C.H., Heip, C.H.R., 2000. Stable isotopes as trophic tracers, combining field sampling and manipulative labelling of food resources for macrobenthos. *Marine Ecology Progress Series* 204, 79–92.
- Hobson, K.A., Welch, H.E., 1992. Determination of trophic relationships within a high Arctic marine food web using d13C and d15N analysis. *Marine Ecology Progress Series* 84, 9e18.
- Hofmann, G.E., J.E. Smith, K.S Johnson, U. Send, L.A. Levin, F. Micheli, A. Paytan, N.N. Price, B. Peterson, Y. Takeshita, P.G. Matson, E.D. Crook, K.J. Kroeker, M.C. Gambi, E.B. Rivest, C.A. Frieder, P.C. Yu, and T.R. Martz, 2011: High-frequency dynamics of ocean pH: a multi-ecosystem comparison. *PLoS ONE*, 6(12), e28983, doi:10.1371/journal.pone.0028983.
- Hopkinson, C.S. 1985. Shallow-water benthic and pelagic metabolism: evidence of heterotrophy in the near shore Georgia Bight. *Mar. Biol.* 87: 19–32.
- Hopkinson, C.S. 1987. Nutrient regeneration in shallow-water sediments of the estuarine plume region of the nearshore Georgia Bight, USA. *Mar. Biol.* 94: 127–142.
- Hunter, W. R., Levin, L. A., Kitazato, H. & Witte, U.. 2011. Macrobenthic assemblage structure and organismal stoichiometry control faunal processing of particulate organic carbon and nitrogen in oxygen minimum zone sediments. *Biogeosciences Discuss.* 8:10725–10760.

- Iken, K., Bluhm, B., Dunton, K., 2010. Benthic food-web structure under differing water mass properties in the southern Chukchi Sea. *Deep Sea Research Part II* 57, 71e85.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), *Climate Change 2001. The Scientific Basis*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 2001.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. 2007.
- Jokiel, K. S. Rodgers, I. B., Kuffner, A. J. Andersson, E. F. Cox, Mackenzie, F. T. 2008. Ocean acidification and calcifying reef organisms: a mesocosm investigation. *Coral Reefs* 27: 473–483
- Kaneda, T., 1991. Iso and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiological Reviews* 55, 288-302.
- Kędra M, Kuliński K, Walkusz W, Legeżyńska J, 2012, The shallow benthic food web structure in the high Arctic does not follow seasonal changes in the surrounding environment, *Estuarine Coastal Shelf Science*, 114:183-191
- Kelly JR & Scheibling RE. 2012. Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. *Mar Ecol Prog Ser* 446:1-22
- Kleypas, J.A.; Feely, R.A.; Fabry, V.J.; Langdon, C.; Sabine, C.L. & Robbins, L.L. 2006. Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: a guide for future research. Report of a workshop sponsored by NSF, NOAA and the U.S. Geological Survey. Saint Petersburg, Florida. 88 p.
- Kristensen, E., Penha-Lopes, G., Delefosse, M., Valdemarsen, T., Quintana, C.O., Banta, G.T. 2012. What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. *Mar Ecol Prog Ser* 446:285-302
- Lavigne H., Epitalon, J.-M. & Gattuso J.-P., 2011. seacarb: seawater carbonate chemistry with R. R package version 3.0. <http://CRAN.R-project.org/package=seacarb>
- Le Quéré, C., Peters, G. P., Andres, R. J., Andrew, R. M., Boden, T. A., Ciais, P., Friedlingstein, P., Houghton, R. A., Marland, G., Moriarty, R., Sitch, S., Tans, P., Arneeth, A., Arvanitis, A., Bakker, D. C. E., Bopp, L., Canadell, J. G., Chini, L. P., Doney, S. C., Harper, A., Harris, I., House, J. I., Jain, A. K., Jones, S. D., Kato, E., Keeling, R. F., Klein Goldewijk, K., Körtzinger, A., Koven, C., Lefèvre, N., Maignan, F., Omar, A., Ono, T., Park, G.-H., Pfeil, B., Poulter, B., Raupach, M. R., Regnier, P., Rödenbeck, C., Saito, S., Schwinger, J., Segschneider, J., Stocker, B. D., Takahashi, T., Tilbrook, B.,

- van Heuven, S., Viovy, N., Wanninkhof, R., Wiltshire, A., and Zaehle, S.: Global carbon budget 2013, *Earth Syst. Sci. Data*, 6, 235–263, doi:10.5194/essd-6-235-2014, 2014.
- Lee, C., S. Wakeham, and C. Arnosti. 2004. Particulate organic matter in the sea: The composition conundrum. *Ambio* 33: 565-575.
- Lehmann, M. F., Bernasconi, S. M., Barbieri, A., & McKenzie, J. A. 2002. Preservation of organic matter and alteration of its carbon and nitrogen isotope composition during simulated and in situ early sedimentary diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 66 (20), 3573– 3584.
- Levin, L.A., Blair, N.E., Martin, C.M., DeMaster, D.J., Plaia, G., Thomas, C.J. 1999 Macrofaunal processing of phytodetritus at two sites on the Carolina margin: in situ experiments using ¹³C-labelled diatoms. *Mar Ecol Prog Ser* 182:37–54
- Lu, Z., Gan, J. & Dai, M. 2011. Modeling seasonal and diurnal pCO₂ variations in the northern South China Sea. 2011., *J. Mar. Syst.*, in press. doi:10.1016/j.jmarsys.2011.10.003
- Lueker T. J., Dickson A. G., and Keeling C. D., 2000 Ocean pCO₂ calculated from dissolved inorganic carbon, alkalinity, and equations for K₁ and K₂: validation based on laboratory measurements of CO₂ in gas and seawater at equilibrium. *Marine Chemistry* 70 105-119.
- Mahiques, M. M. 1995. Sedimentary dynamics of the bays of Ubatuba, State of São Paulo. *Boletim do Instituto Oceanográfico, São Paulo* 43: 111-122.
- Mahiques, M. M.; Tessler, M. G., Furtado, V.V. 1998. Characterization of energy gradient in enclosed Bays of Ubatuba region, South-eastern Brazil. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 47: 431-446.
- Maria, Tatiana F.; De Troch, Marleen ; Vanaverbeke, Jan ; Esteves, André M. ; Vanreusel, Ann . 2011. Use of benthic vs planktonic organic matter by sandy-beach organisms: A food tracing experiment with ¹³C labelled diatoms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 407, p. 309-314.
- Matsuura Y. & Wada E. 1994. Carbon and nitrogen stable isotope ratios in marine organic matters of the coastal ecosystem in Ubatuba, southern Brazil. *Ciência Cult.* 46: 142– 146.
- Maugendre, L Gattuso, J.-P, Poulton, A. J., Dellisanti, W, Gaubert, M. *et al.*, 2015. No detectable effect of ocean acidification on plankton metabolism in the NW oligotrophic Mediterranean Sea: results from two mesocosm studies.

- Estuarine, Coastal and Shelf Science, Elsevier, pp.1-43.
<10.1016/j.ecss.2015.03.009>
- Maugendre, L., Gattuso, J.-P., Louis, J., De Kluijver, A., Marro, S., Soetaert, K. and Gazeau, F. 2014. Effect of ocean warming and acidification on a plankton community in the NW Mediterranean Sea. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*.
- Melzner F, Stange P, Trübenbach K, *et al.* 2011. Food supply and seawater pCO₂ impact calcification and internal shell dissolution in the blue mussel *Mytilus edulis*. *PLoS ONE*. 6:e24223.
- Middelboe A-L, Hansen PJ. 2007. High pH in shallow-water macroalgal habitats. *Marine Ecology Progress Series* 338: 107-117
- Middelburg JJ, Barranguet C, Boschker HTS, Herman PMJ, Moens T, Heip CHR. 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: an in situ ¹³C-labelling study. *Limnology and Oceanography* 45:1224_34.
- Middelburg, J. J. 2013. Stable isotopes dissect food webs from top to the bottom. *Biogeosciences Discussions*, Vol. 10 Issue 9, p14923-14952. 30p.
- Moodley, L., Middelburg, J.J., Soetaert, K., Boschker, H.T.S., Herman, P.M.J., Heip, C.H.R. 2005. Similar rapid response to phytodetritus deposition in shallow and deep-sea sediments. *Journal of Marine Research*, 63, 457–469.
- Moodley, L., Middelburg, J.J., Boschker, H.T.S., Duineveld, G.C.A., Pel, R., Herman, P.M.J., 2002. Bacteria and Foraminifera: key players in a short-term deep-sea benthic response to phytodetritus. *Marine Ecology Progress Series* 236:23-9.
- Moraes, P. C. De, Franco, D. C., Pellizari, V. H., & Sumida, P. Y. G. 2014. Effect of plankton-derived organic matter on the microbial community of coastal marine sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 461, 257–266. doi:10.1016/j.jembe.2014.08.017
- Nimer, N.A., Iglesias-Rodriguez, M.D. & Merret, M.J. 1997. Bicarbonate utilization by marine phytoplankton species. *J. Phycol.* 33:625-631.
- Nixon, S.W.; Kelley, J.R.; Furnas, B.N.; Oviatt, C.A. & Hale, S.S. 1980. Phosphorus regeneration and the metabolism of coastal marine bottom communities. In: *Marine Benthic Dynamics*, University of South Carolina Press, Columbia, pp. 219–242.
- Orr, J.C., Fabry, V.J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S.C., Feely, R.A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R.M., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R.G.,

- Plattner, G.K., Rodgers, K.B., Sabine, C.L., Sarmiento, J.L., Schlitzer, R., Slater, R.D., Totterdell, I.J., Weirig, M.F., Yamanaka, Y., Yool, A., 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437: 681–686.
- Palomar, N.E., Juinio-Meñez, M.A. & Karplus, I. 2004. Feeding habits of the burrowing shrimp *Alpheus macellarius*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 84, pp 1199-1202. doi:10.1017/S0025315404010641h.
- Pape, E., van Oevelen, D., Moodley, L., Soetaert, K., & Vanreusel, A. 2013. Nematode feeding strategies and the fate of dissolved organic matter carbon in different deep-sea sedimentary environments. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 80, 94–110. doi:10.1016/j.dsr.2013.05.018
- Pascal, Pierre-Yves; Fleeger, JW; Galvez, Fernando; Carman, Kevin R 2010. The toxicological interaction between ocean acidity and metals in coastal meiobenthic copepods. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2201-2208
- Passow, U. 2004. Switching perspectives: Do mineral fluxes determine particulate organic carbon fluxes or vice versa? *Geochem. Geophys. Geosyst.* 5: Q04002.
- Pereira, C.O. 2009. Origem e destino do carbono orgânico no sublitoral de Ubatuba-SP: uma abordagem molecular. Trabalho de conclusão de curso, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 55p.
- Peterson, B. J., & B. Fry. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:293-320.
- Petti M.A.V. 1997. Papel dos crustáceos braquiúros na rede trófica da plataforma interna de Ubatuba, São Paulo (Brasil). *Nerítica* 11: 123–137.
- Petti, M. A. V; Nonato, E. F. & Paiva, P. C. 1996. Trophic relationships between polychaetes and brachyuran crabs on the southeastern Brazilian coast. *Rev. bras. oceanogr.*, 44(1):61-67.
- Pires, A. M. S. 1992. Structure and dynamics of the benthic megafauna from the continental shelf offshore of Ubatuba, southeastern Brazil. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 86(1):63-76.
- Pires-Vanin AMS. 1993. A macrofauna benthica da plataforma continental ao largo de Ubatuba, Sao Paulo, Brasil. *Publicação esp Inst oceanogr S Paulo* 10: 137-158.
- Plante-Cuny, M.R. 1978. Pigments photosynthétiques et production primaire des fonds meubles néritiques d'une région tropicale (Nosy-Bé, Madagascar). *Trav. Doc. ORSTOM* 96: 1-359.

- Post, D. M. 2002. Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. *Ecology*, 83: 703–718. doi:10.1890/0012-9658(2002)083
- Pozzato, L., van Oevelen, D., Moodley, L., Soetaert, K. & Middelburg, J.J. (2013). Carbon processing at the deep-sea floor of the Arabian Sea oxygen minimum zone: A tracer approach. *Journal of Sea Research*, 78, (pp. 45-58) (14 p.).
- Pozzato, L., van Oevelen, D., Moodley, L., Soetaert, K. & Middelburg, J.J. (2013). Sink or link? The bacterial role in benthic carbon cycling in the Arabian Sea's oxygen minimum zone. *Biogeosciences*, 10, (pp. 6879-6891) (13 p.).
- Pratihary, A. K., Naqvi, S. W. A., Naik, H., Thorat, B. R., Narvenkar, G., Manjunatha, B. R., & Rao, V. P. 2009. Benthic fluxes in a tropical Estuary and their role in the ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85(3), 387–398. doi:10.1016/j.ecss.2009.08.012
- Quintana, C. O., de Moraes, P. C., Yoshinaga, M. Y., Wakeham, S. G., & Sumida, P. Y. G. 2014. Microbial biomass response to different quantities and sources of organic matter in Brazilian coastal sediments. *Marine Ecology*, n/a–n/a. doi:10.1111/maec.12182
- Quintana, C. O., Yoshinaga, M. Y., & Sumida, P. Y. G. 2010. Benthic responses to organic matter variation in a subtropical coastal area off SE Brazil. *Marine Ecology*, 1–16. doi:10.1111/j.1439-0485.2010.00362.x
- Raven, J. *et al.* 2005. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide (The Royal Society, Policy Document, London, UK, 51p.
- Redfield, A. C., B. H. Ketchum, & F. A. Richards. 1963. The influence of organisms on the composition of seawater, p. 26–77. In M. N. Hill [ed.], *The sea*, v. 2. Interscience.
- Reiss, H., & Kröncke, I. 2005. Seasonal variability of infaunal community structures in three areas of the North Sea under different environmental conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 65(1-2), 253–274. doi:10.1016/j.ecss.2005.06.008
- Reiss, H., Degraer, S., Duineveld, G. C. A., Kröncke, I., Aldridge, J., Craeymeersch, J., Eggleton, J. D., Hillewaert, H., Lavaleye, M. S. S., Moll, A., Pohlmann, T., Rachor, E., Robertson, M., vanden Berghe, E., van Hoey, G., & Rees, H. L. 2010. Spatial patterns of infauna, epifauna, and demersal fish communities in the North Sea. – *ICES Journal of Marine Science*, 67: 278–293.

- Riebesell, U. 2004. Effects of CO₂ enrichment on marine phytoplankton. *Journal of Oceanography* 60: 719-729.
- Riebesell, U.; Zondervan, I.; Rost, B.; Tortell, P.D.; Zeebe, R.F. & Morel, F.M.M. 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature* 407: 364-367.
- Riebesell, U; Schulz, KG; Bellerby, RG; Botros, M; Fritsche, P; Meyerhöfer, M; Neill C; Nondal, G; Oschlies, A; Wohlers, J; Zöllner, E. 2007. Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature*. Nov 22;450(7169):545-8.
- Rocha, G. R. a., Rossi-Wongtschowski, C. L. D. B., Pires-Vanin, A. M. S., & Jarre-Teichmann, A. 2003. Seasonal budgets of organic matter in the Ubatuba shelf system, SE Brazil. I. Planktonic and benthic components. *Oceanologica Acta*, 26(5-6), 487–495. doi:10.1016/S0399-1784(03)00043-4
- Rossoll, D., Bermúdez, R., Hauss, H., Schulz, K. G., Riebesell, U., Sommer, U., and Winder, M.: Ocean acidification-induced food quality deterioration constrains trophic transfer, *PLoS ONE*, 7, E34737, doi:10.31371/journal.pone.0034737, 2012.
- Rowe, G. T., Clifford, C., Smith, K. (1977). Nutrient regeneration in sediments off Cap Blanc, Spanish Sahara. *Deep Sea Res.* 24: 57-63
- Rowe, G.T.; Clifford, C.H.; Smith, K.L., Jr. & Hamilton, P.L. (1975) Benthic nutrient regeneration and its coupling to primary productivity in coastal waters. *Nature* 255: 215–217.
- Sabine, C. L., Feely, R. A., Gruber, N., Key, R. M., Lee, K., Bullister, J. L., *et al.* 2004. The oceanic sink for CO₂. *Science* 305: 367–371.
- Santos, M.F.L. & Pires-vanin, A. M. S. 2004. Structure and dynamics of the macrobenthic communities of Ubatuba bay, southeastern Brazilian coast, *Brazilian Journal of Oceanography*, 52(1):59-73.
- Sassi, R. & Kutner, M.B.B. 1982. Variação sazonal do fitoplâncton da região do Saco da Ribeira, Ubatuba, Brasil. *Bolm. Inst. Oceanogr.* 31: 29-42.
- Shepard, F.P., 1954, Nomenclature based on sand-silt-clay ratios: *Journal of Sedimentary Petrology*, v. 24, p. 151-158.
- Shirayama, Y. & Thorton, H. 2005. Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *J. Geophys. Res.* 110: C09S08.
- Sieg, J. (1988). *Microdajus* (Crustacea: Tantulocarida) parasitic on an Antarctic tanaidacean, and a range extension of *M. langi* Greve. *Journal of Natural History*. 22: 1495–1505.

- Siegenthaler, Urs; Stocker, Thomas F; Monnin, Eric; Lüthi, Dieter; Schwander, Jakob; Stauffer, Bernhard; Raynaud, Dominique; Barnola, Jean-Marc; Fischer, Hubertus; Masson-Delmotte, Valerie; Jouzel, Jean. 2005. Stable carbon cycle - Climate relationship during the Late Pleistocene. *Science*, 310(5752), 1313-1317, doi:10.1126/science.1120130
- Soetaert, K., and P. M. J. Herman. 2009. A practical guide to ecological modeling: using R as a simulation platform. Springer Verlag
- Soetaert, K., and D. van Oevelen. 2009. Modeling food web interactions in benthic deep-sea ecosystems: A practical guide. *Oceanography* 22(1):128–143.
- Souza, R. C. C. L. De, Trindade, D. C., Decco, J. De, Lima, T. a., & Silva, E. P. 2010. Archaeozoology of marine mollusks from Sambaqui da Tarioba, Rio das Ostras, Rio de Janeiro, Brazil. *Zoologia*, 27(3), 363–371. doi:10.1590/S1984-46702010000300007
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis, Fish. Res. Board Can. Bull., Canada, 2nd ed.
- Suess E. 1980. Particulate organic carbon flux in the oceans— surface productivity and oxygen utilization. *Nature* 288: 260–263
- Suguo, K. 1973. Introdução à sedimentologia. Edgard Blücher, São Paulo. 317 p.
- Sumida, P.Y., Yoshinaga, M.Y., Ciotti, A.M. & Gaeta, S.A. 2005. Benthic response to upwelling events off the SE Brazilian coast. *Marine Ecology Progress Series*, 291, 35–42. doi:10.3354/meps291035
- Sumida, P.Y.G., Bernardino, A.F., Stedall, V.P., Glover, A.G. & Smith, C.R. 2008. Temporal changes in benthic megafaunal abundance and composition across the West Antarctic Peninsula shelf: results from video surveys. *Deep-Sea Research II* 55: 2465-2477.
- Sumida, P.Y.G.; Smith, C.R.; Bernardino, A.F.; Polito, P.S. & Vieira, D.R. 2014. Seasonal dynamics of megafauna on the deep West Antarctic Peninsula shelf in response to variable phytodetrital influx. *Royal Society Open Science* 1: 140294.
- Sun, M.Y., Aller, R.C., Lee, C., 1991. Early diagenesis of chlorophyll-a in Long Island Sound sediments: A measure of carbon flux and particle reworking. *Journal of Marine Research*, pp. 379- 401
- Sweetman, A. & Witte, U. 2008. Response of an abyssal macrofaunal community to a phytodetrital pulse. *Marine Ecology Progress Series* 355: 73-84.

- Takahashi, T., Sutherland, S.C., Wanninkhof, R., Sweeney, C., Feely, R.A., Chipman, D.W., Hales, B., Friederich, G., Chavez, F., Sabine, C., Watson, A., Bakker, D.C.E., Schuster, U., Metzl, N., Yoshikawa-Inoue, H., Ishii, M., Midorikawa, T., Nojiri, Y., Kortzinger, A., Steinhoff, T., Hoppema, M., Olafsson, J., Arnarson, T.S., Tilbrook, B., Johannessen, T., Olsen, A., Bellerby, R., Wong, C.S., Delille, B., Bates, N.R., de Baar, H.J.W., 2009. Climatological mean and decadal change in surface ocean pCO₂, and net sea–air CO₂ flux over the global oceans. *Deep-Sea Research Part II* 56 (8–10), 554–577.
- Tang M, Kristensen E (2007) Impact of microphytobenthos and macrofauna on temporal variation of benthic metabolism in shallow coastal sediments. *J Exp Mar Biol Ecol* 349:99–112
- Teixeira, C. 1973. Preliminary studies of primary production in the Ubatuba region (Lat. 23°30'S - Long. 45°06'W), Brazil. *Bolm. Inst. Oceanogr.* 22: 49-58.
- The Royal Society 2005 Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. London, UK: The Royal Society. (Policy Document 12/05).
- Van Den Meersche, K., J. J. Middelburg, K. Soetaert, P. Van Rijswijk, H. T. S. Boschker, and C. H. R. Heip. 2004. Carbon-nitrogen coupling and algal-bacterial interactions during an experimental bloom: Modeling a ¹³C tracer experiment. *Limnol. Oceanogr.* 49: 862-878.
- Van den Meersche, K., Soetaert, K. & Middelburg, J. 2011. Plankton dynamics in an estuarine plume: a mesocosm ¹³C and ¹⁵N tracer study. *Marine Ecology Progress Series* 429, pp29-43
- Van Oevelen, D., Bergmann, M., Soetaert, K., Bauerfeind, E., Hasemann, C., Budaeva, N. E. 2011. Carbon flows in the benthic food web at the deep-sea observatory. *Deep-Sea Research Part I*, 58(2011), 1069–1083. doi:10.1016/j.dsr.2011.08.002
- Van Oevelen, D., Soetaert, K., Middelburg, J. J., Herman, P. M. J., Moodley, L., Hamels, I., ... Heip, C. H. R. 2006. Carbon flows through a benthic food web: Integrating biomass, isotope and tracer data. *Journal of Marine Research*, 64(3), 453–482. doi:10.1357/002224006778189581
- Vander Zanden, M. Jake, and Joseph B. Rasmussen. 2001. Variation in δ¹⁵N and δ¹³C trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnol. Oceanogr.* 46: 2061-2066.
- Venturini, N., Pires-Vanin, A. M. S., Salhi, M., Bessonart, M., & Muniz, P. 2011. Polychaete response to fresh food supply at organically enriched coastal

- sites: Repercussion on bioturbation potential and trophic structure. *Journal of Marine Systems*, 88(4), 526–541. doi:10.1016/j.jmarsys.2011.07.002
- Volkman, J. K., Farrington, J. W., and Gagosian, R. B., 1987. Marine and terrigenous lipids in coastal sediments from the Peru upwelling region at 15°S: sterols and triterpene alcohols. *Org. Geochem.*, 11:463-477.
- Widdicombe, S. & Needham, H.R. 2007. Impact of CO₂-induced sea water acidification on the burrowing activity of *Nereis virens* and sediment nutrient flux. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 341: 111-122.
- Widdicombe, S., Spicer, J.I. & Kitidis, V. 2011. Effects of ocean acidification on sediment fauna. In: Gattuso J-P & Hansson L (Eds.), *Ocean Acidification*, Oxford University Press. pp. 176-191.
- Witte, U., Wenzhöfer, F., Sommer, S., Boetius, A., Heinz, P., Aberle, N., Sand, M., Cremer, A., Abraham, W.-R., Jørgensen, B.B. & Pfannkuche, O. 2003. In situ experimental evidence of the fate of a phytodetritus pulse at the abyssal sea floor. *Nature*, 424(6950), 763–6. doi:10.1038/nature01799
- Yoshinaga, M.Y., Quintana, C.O. & Sumida, P.Y.G.. 2006. *Journal of Coastal Research*, Special Issue No. 39. Proceedings of the 8th International Coastal Symposium (ICS 2004), Vol. II pp. 1098-1101
- Yoshinaga, M.Y., Sumida, P.Y.G., & Wakeham, S.G. 2008. Lipid biomarkers in surface sediments from an unusual coastal upwelling area from the SW Atlantic Ocean. *Organic Geochemistry*, 39(10), 1385–1399. doi:10.1016/j.orggeochem.2008.07.006

Apêndice

1. Tabela com os dados brutos das concentrações ($\mu\text{gC.g}^{-1}$ de sedimento seco) de todos os PLFA encontrados no sedimento da Enseada das Palmas em julho e outubro de 2013 calculados no pacote Rlims do programa R (Soetaert *et al.*, 2011). SCFA: ácidos graxos de cadeia curta (<C20), PUFAS: ácidos graxos poli-insaturados, BRANCH: ácidos graxos ramificados e LCFA: ácidos graxos de cadeia longa (>C20).

PLFA ($\mu\text{gC.g}^{-1}$ sed seco)	Inverno - julho/2013					Primavera - outubro/2013				
	0-1 cm	1-2 cm	2-4 cm	4-6 cm	6-10 cm	0-1 cm	1-2 cm	2-4 cm	4-6 cm	6-10 cm
C12:0	1,08	0,29	1,00	0,66	0,87	0,91	0,70	0,48	0,49	0,76
i-C13:0										
C13:0			0,04		0,03	0,07	0,07	0,09	0,04	0,06
i-C14:0		0,05	0,05	0,04		0,06	0,04	0,03	0,01	0,02
C14:0	0,51	0,21	0,20	0,14	0,03	0,36	0,16	0,11	0,05	0,05
i-C15:0	0,60	0,33	0,35	0,26	0,08	0,35	0,24	0,18	0,09	0,09
ai-C15:0	0,45	0,28	0,33	0,25	0,07	0,27	0,22	0,19	0,10	0,11
C15:0	0,19	0,13	0,13	0,10		0,10	0,07	0,06	0,03	0,03
i-C16:0	0,20	0,12	0,13	0,09	0,03	0,11	0,09	0,07	0,04	0,04
C16:0	2,92	1,42	1,39	1,00	0,22	1,77	0,85	0,62	0,33	0,27
C16:1 ω 7t		0,04	0,05	0,04		0,02	0,03	0,02		0,01
10-MeC16:0	0,46	0,27	0,32	0,23	0,08	0,23	0,19	0,15	0,08	0,08
C16:1 ω 7c	1,57	0,65	0,54	0,40	0,07	0,94	0,40	0,25	0,11	0,10
i-C17:0	0,33	0,15	0,15	0,10	0,03	0,19	0,11	0,08	0,04	0,04
ai-C17:0		0,07	0,09	0,06	0,02	0,07	0,05	0,05	0,03	0,03
C16:2 ω 7		0,02	0,05			0,06	0,03	0,02		0,01
C17:0		0,09	0,11	0,06		0,08	0,05	0,05	0,03	0,02
C16:2 ω 4						0,06				
10-MeC17:0		0,01				0,07		0,04		
C17:1 ω 7c		0,03	0,08			0,04	0,04	0,04	0,02	0,02
C16:3 ω 4			0,04				0,03	0,02		
i-C18:0		0,02				0,06	0,02	0,01		
C16:3 ω 3										
C16:4 ω 3										
C18:0	0,36	0,22	0,21	0,13	0,04	0,23	0,13	0,11	0,08	0,05
C18:1 ω 9t		0,01				0,04	0,02	0,01		
10-MeC18:0		0,07	0,09	0,06		0,04	0,04	0,04	0,02	0,02
C18:1 ω 9c	0,52	0,29	0,30	0,22	0,05	0,27	0,18	0,15	0,07	0,06
C18:1 ω 7c	1,19	0,50	0,52	0,34	0,09	0,70	0,35	0,25	0,13	0,12
C18:2 ω 6t						0,02				
C18:2 ω 6c		0,02	0,08		0,03	0,05	0,03	0,04	0,02	0,04
C18:3 ω 6			0,08			0,05	0,04	0,03	0,02	0,02
i-C20:0			0,04			0,05		0,02		0,02
C18:3 ω 3						0,02				
C20:0		0,04	0,05	0,03		0,05	0,03	0,03	0,03	0,02
C18:4 ω 3						0,04				
C20:1 ω 9c		0,01				0,03		0,01		
C18:5 ω 3		0,02								
C20:2 ω 9						0,03				0,02
C21:0		0,01						0,02		
C20:3 ω 6										
C18:5(n-3,6,9,12,16)									0,02	0,01
C20:4 ω 3	0,22	0,10	0,06	0,04		0,20	0,06	0,04	0,03	0,02
C20:3 ω 3								0,02		
C22:0		0,03				0,02	0,03	0,02		0,02
C22:1 ω 9		0,07	0,04			0,28	0,06	0,03	0,02	0,01
C20:5 ω 3	0,26									
C22:2 ω 6						0,02	0,02			
C23:0										
C24:0		0,04	0,04	0,03		0,02	0,03	0,02	0,03	0,09
C24:1 ω 9c										
C22:5 ω 3						0,02				
C22:6 ω 3		0,01				0,10				
Total	10,86	5,64	6,54	4,30	1,73	8,11	4,43	3,40	1,97	2,26