

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**  
**INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM DINÂMICA DOS OCEANOS E DA TERRA**

**PAULA BRAVO DE ALMEIDA ALVARES**

**Avaliação dos efeitos de ondas de calor na preferência alimentar do  
ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816) e em sua dieta de  
macroalgas**

**NITERÓI**

**2021**

**PAULA BRAVO DE ALMEIDA ALVARES**

**Avaliação dos efeitos de ondas de calor na preferência alimentar do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816) e em sua dieta de macroalgas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e Terra, da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Dinâmica dos Oceanos e da Terra

Orientador: Prof. Dr. Bernardo A. P. da Gama

**NITERÓI  
2021**

Ficha catalográfica automática - SDC/BIG  
Gerada com informações fornecidas pelo autor

A473a    Alvares, Paula Bravo de Almeida  
          Avaliação dos efeitos de ondas de calor na preferência alimentar do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816) e em sua dieta de macroalgas. / Paula Bravo de Almeida Alvares ; Bernardo Antonio Perez Da Gama, orientador. Niterói, 2021.  
          77 f. : il.

          Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2021.

          DOI: <http://dx.doi.org/10.22409/PPGDOT.2021.m.13662623790>

          1. Biologia Marinha. 2. Ecologia Marinha. 3. Echinoidea. 4. Estresse térmico. 5. Produção intelectual. I. Da Gama, Bernardo Antonio Perez, orientador. II. Universidade Federal Fluminense. Instituto de Geociências. III. Título.

          CDD -

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

## **Agradecimentos**

Agradeço inicialmente ao meu orientador, Dr. Bernardo Antonio Perez da Gama pelo apoio fundamental e incondicional na execução do presente trabalho. A experiência de desenvolver este projeto foi sem dúvidas a mais gratificante de toda a minha vida e sou imensamente grata pelo conhecimento adquirido e pela oportunidade de conhecer pessoas e lugares maravilhosos. Sem seu suporte, nada disto seria possível.

Também gostaria de agradecer o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por garantir a viabilidade do trabalho. O projeto desenvolvido fez parte do programa de pesquisa internacional GAME (Global Approach by Modular Experiments), gerenciado pelo GEOMAR - Helmholtz Center for Ocean Research Kiel que também forneceu suporte técnico e financeiro, além de uma incrível bagagem de conhecimento e experiências pela qual sou profundamente grata. Os experimentos foram realizados em cooperação com o Aquário Marinho do Rio de Janeiro, que forneceu toda a estrutura física e suporte técnico para que o experimento ocorresse da melhor forma possível. Agradeço particularmente ao Rafael, que nos acolheu e ofereceu suporte nos momentos em que as coisas saíam do controle.

Destaco o apoio imprescindível de todos os alunos de Iniciação Científica da disciplina de Biologia Marinha, que foram fundamentais durante as coletas e se revezaram dia e noite para que conseguíssemos alimentar e manter todos os ouriços e algas vivos e saudáveis. O trabalho prático foi realizado em conjunto com Konstanze Bergunder, minha parceira do programa GAME e grande amiga. Só tenho a agradecer pela parceria nesse ano que foi tão intenso e por todos os momentos bons que dividimos e que vou levar para a vida.

## Resumo

Os efeitos das mudanças climáticas podem ser observados através de seus impactos na estrutura dos ecossistemas e em seus serviços naturais e socioeconômicos. Os eventos de ondas de calor marinha são exemplos desses impactos, onde o aumento da temperatura da água afeta a distribuição dos organismos, sua interação com o ambiente e suas taxas metabólicas. A influência da temperatura nas interações tróficas entre herbívoros e produtores primários foi amplamente documentada, evidenciando a diferença destes impactos em cada organismo. Este estudo avaliou o comportamento alimentar do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* e sua suscetibilidade a um evento de onda de calor marinha. Um estudo piloto foi capaz de determinar a influência da temperatura ambiente nas taxas de consumo dos organismos e identificar a faixa de temperatura de 24-32 °C como uma simulação de onda de calor adequada. O aumento da temperatura foi seguido por um aumento significativo nas taxas de consumo, e a realização de uma fase de jejum não mostrou influência no comportamento alimentar de *L. variegatus*. Em um estudo da palatabilidade de algas, fragmentos de talos vivos foram utilizados como alimento e a preferência alimentar por *Ulva* sp. foi identificada, seguido por *Sargassum vulgare* e *Osmundaria obtusiloba*, respectivamente. No estudo principal, as taxas de consumo de *L. variegatus* para as diferentes espécies de algas foram determinadas em diferentes cenários de aquecimento. Algas e os ouriços-do-mar foram aclimatados a diferentes níveis de temperatura simulando ondas de aquecimento marinhas e posteriormente combinados em três diferentes cenários para inferir sobre os impactos do aquecimento em cada organismo. O aumento da mortalidade de *O. obtusiloba* e *Ulva* sp., assim como a disseminação de parasitas em *Sargassum vulgare* nas temperaturas mais altas sugerem mudanças metabólicas e diferentes níveis de tolerância térmica entre as espécies. As taxas de consumo de *L. variegatus* foram influenciadas pelo aumento da temperatura, assim como a mudança em sua preferência alimentar por *S. vulgare*. O resultado encontrado pode estar relacionado às respostas fisiológicas observadas nas estruturas morfológicas das algas e em seu teor de polifenóis, uma vez que *S. vulgare* apresentou redução de suas concentrações destes metabólitos quando expostos a estresse térmico agudo. A interação alterada entre herbívoros e produtores primários pode afetar a estrutura do ecossistema. Entretanto, estudos adicionais são necessários para compreender melhor as dimensões temporais destes impactos.

**Palavras-chave:** Ondas de calor; ouriços-do-mar; estresse térmico; herbivoria; macroalgas marinhas

## Abstract

The effects of climatic changes can be observed through their impact on ecosystems and the natural and socioeconomic services they provide. Marine heat waves are examples of these impacts, where the seawater temperature rise affects the distribution of organisms, their interaction with the environment and even their metabolic rates. The influence of temperature on trophic interactions between herbivores and primary producers has been widely reported, highlighting the difference in impacts on each species. This study assessed the feeding behavior of the sea urchin *Lytechinus variegatus* and its susceptibility to a marine heat wave. A pilot study determined the temperature range between 24-32°C as an appropriate heat wave simulation. The temperature increase was followed by a significant increase in consumption rates, and a fasting phase did not influence *L. variegatus* feeding behavior. In a study of seaweed palatability, live thalli pieces were offered and a preference for *Ulva* sp. was identified, followed by *Sargassum vulgare* and *Osmundaria obtusiloba*, respectively. In the main study consumption rates for the different seaweed species were determined in three different warming scenarios in order to infer on the warming impacts on each organism. The mortality increase in *O. obtusiloba*, as well as the parasite increase under the highest temperatures suggest metabolic changes and distinct thermal tolerance limits between species. The results may be related to the physiological responses observed through morphology structures of the seaweeds and their polyphenolic concentration, since *S. vulgare* exhibited a reduction in polyphenols in response to acute thermal stress. The shifted interaction between herbivores and primary producers may affect ecosystem structure. However, additional studies are needed to better understand the temporal dimension of these impacts.

**Keywords:** Heat waves, sea urchins, thermal stress, herbivory, marine macroalgae

## Lista de Ilustrações

<b>FIGURA 1.</b> OURIÇO-DO-MAR DA ESPÉCIE <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> NO INFRALITORAL DA PRAIA DE ITAIPU. FOTO DA AUTORA. ....	19
<b>FIGURA 2.</b> LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DA PRAIA DE ITAIPU E DA PRAIA RASA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (MODIFICADO DE PLOUGUERNÉ <i>ET AL.</i> , 2010).....	22
<b>FIGURA 3.</b> OURIÇO-DO-MAR DA ESPÉCIE <i>L. VARIEGATUS</i> CONTIDO EM AQUÁRIO DE VIDRO. FOTO DA AUTORA. ....	24
<b>FIGURA 4.</b> A: OURIÇOS-DO-MAR SEPARADOS INDIVIDUALMENTE EM CAIXAS DE PLÁSTICO DURANTE A ACLIMATAÇÃO ÀS CONDIÇÕES LABORATORIAIS. B: SISTEMA DE TANQUES DE AQUECIMENTO DO ESTUDO PILOTO 1 PARA O NÍVEL DE TEMPERATURA DE 24 °C. FOTOS DA AUTORA. ....	26
<b>FIGURA 5.</b> REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE ACLIMATAÇÃO EM LABORATÓRIO PARA ATINGIR DIFERENTES GRAUS DE AQUECIMENTO.....	27
<b>FIGURA 6 A:</b> ROCHAS SUBMERSAS RECOBERTAS POR MACROALGAS DO GÊNERO <i>ULVA</i> ENCONTRADAS NA PRAIA RASA. <b>B:</b> ROCHAS RECOBERTAS POR MACROALGAS DO GÊNERO <i>SARGASSUM</i> ENCONTRADAS NA PRAIA RASA. FOTOS DA AUTORA.....	29
<b>FIGURA 7.</b> DISPOSIÇÃO DOS TANQUES PARA O ESTUDO PILOTO 2. OS OURIÇOS-DO-MAR FORAM ALOCADOS NO NÍVEL SUPERIOR, AS ALGAS NO NÍVEL INTERMEDIÁRIO E O SISTEMA DE CIRCULAÇÃO COM SKIMMER NOS TANQUES INFERIORES. FOTO DA AUTORA. ....	31
<b>FIGURA 8. A:</b> EXEMPLO DO ARRANJO DOS RECIPIENTES INDIVIDUAIS CONTENDO OURIÇOS E ALGAS NAS BANDEJAS DO NÍVEL SUPERIOR DO SISTEMA DE CIRCULAÇÃO. <b>B:</b> DISPOSIÇÃO DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE ALGAS NA PARTE INFERIOR DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS. FOTOS DA AUTORA.....	35
<b>FIGURA 9.</b> TAXAS DE CONSUMO DE <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> DE ACORDO COM TEMPERATURA E REGIME ALIMENTAR. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA E TIPO DE ALIMENTAÇÃO. LV = <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> . MEDIANAS, INTERQUARTIS E A ÁREA NÃO-DISCREPANTE SÃO MOSTRADOS.....	41
<b>FIGURA 10.</b> TAXAS DE CONSUMO DE DIFERENTES ESPÉCIES DE ALGAS POR <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> . N = 10 POR ESPÉCIE OFERECIDA. SÃO MOSTRADAS MEDIANAS, INTERQUARTIS, ÁREAS NÃO-DISCREPANTES E OS RESULTADOS DO TESTE DE WILCOXON-MANN-WHITNEY-U. NS = NÃO SIGNIFICATIVO, * = SIGNIFICÂNCIA PARA A = 0,05, LV = <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> . ....	42
<b>FIGURA 11.</b> RELAÇÃO ENTRE O PESO SECO E ÚMIDO DE 25 INDIVÍDUOS DA ESPÉCIE <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> UTILIZADOS NO EXPERIMENTO PRINCIPAL. ....	43
<b>FIGURA 12. A:</b> ALTERAÇÃO MORFOLÓGICA SOB INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS ALGAS VERMELHAS DA ESPÉCIE <i>OSMUNDARIA OBTUSILOBA</i> A 24 °C (ESQUERDA) E A 32 °C (DIREITA). <b>B:</b> OCORRÊNCIA DE EPIBIONTES NAS ALGAS DA ESPÉCIE <i>SARGASSUM VULGARE</i> A 30 °C. ....	44
<b>FIGURA 13.</b> TAXAS DE CONSUMO DE <i>L. VARIEGATUS</i> NO TRATAMENTO 1. FORAM OFERECIDAS TRÊS ESPÉCIES DE ALGAS ACLIMATADAS A DIFERENTES TEMPERATURAS A OURIÇOS MANTIDOS A 24 °C. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA E ESPÉCIE DE ALGA. AS TAXAS DE CONSUMO SÃO MOSTRADAS COMO UMA PARCELA DO CONSUMO TOTAL ( <b>A</b> ) E MEDIANAS, INTERQUARTIS E A ÁREA NÃO DISCREPANTE ( <b>B</b> ). LV = <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> . ....	46

- FIGURA 14.** TAXAS DE CONSUMO DE *L. VARIEGATUS* NO CENÁRIO 2. APÓS A ACLIMATAÇÃO DOS OURIÇOS A DIFERENTES TEMPERATURAS, FORAM OFERECIDAS TRÊS DIFERENTES ESPÉCIES DE ALGAS, MANTIDAS A 24 °C. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA E TIPO DE ALGA. AS TAXAS DE CONSUMO SÃO MOSTRADAS COMO UMA PARCELA DO CONSUMO TOTAL (A) E MEDIANAS, INTERQUARTIS E A ÁREA NÃO DISCREPANTE (B). LV = *L. VARIEGATUS*. .....47
- FIGURA 15.** TAXAS DE CONSUMO DE *LYTECHINUS VARIEGATUS* NO CENÁRIO 3. OS OURIÇOS E AS ALGAS FORAM ACLIMATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA E TIPO DE ALGA. AS TAXAS DE CONSUMO SÃO MOSTRADAS COMO UMA PARCELA DO CONSUMO TOTAL (A) E MEDIANAS, INTERQUARTIS E A ÁREA NÃO DISCREPANTE (B). LV = *LYTECHINUS VARIEGATUS*. .....48
- FIGURA 16.** TAXAS DE CONSUMO TOTAL DE *LYTECHINUS VARIEGATUS* NA PRIMEIRA ABORDAGEM EXPERIMENTAL. OS OURIÇOS FORAM MANTIDOS A 24 °C, ENQUANTO AS ALGAS *SARGASSUM VULGARE*, *OSMUNDARIA OBTUSILOBA* E *ULVA* SP. FORAM ACLIMATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA. OS PONTOS DE DADOS COM FUNÇÃO DE SUAVIZAÇÃO SÃO MOSTRADOS. LV = *LYTECHINUS VARIEGATUS*. .....49
- FIGURA 17.** TAXAS DE CONSUMO TOTAL DE *L. VARIEGATUS* NA SEGUNDA ABORDAGEM EXPERIMENTAL. AS ALGAS *SARGASSUM VULGARE*, *OSMUNDARIA OBTUSILOBA* E *ULVA* SP. FORAM MANTIDAS A 24 °C, ENQUANTO OS OURIÇOS FORAM ACLIMATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA. OS PONTOS DE DADOS COM FUNÇÃO DE SUAVIZAÇÃO E OS RESULTADOS DOS TESTES POST-HOC (TESTE DE WILCOXON-MANN-WHITNEY-U) SÃO MOSTRADOS. LV = *LYTECHINUS VARIEGATUS*. \* = SIGNIFICATIVO, NS = NÃO SIGNIFICATIVO. ....50
- FIGURA 18.** TAXAS DE CONSUMO TOTAL DE *LYTECHINUS VARIEGATUS* NA TERCEIRA ABORDAGEM EXPERIMENTAL. OS OURIÇOS E AS ALGAS *OSMUNDARIA OBTUSILOBA*, *SARGASSUM VULGARE* E *ULVA* SP. FORAM ACLIMATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. N = 10 POR NÍVEL DE TEMPERATURA. OS PONTOS DE DADOS COM FUNÇÃO DE SUAVIZAÇÃO E OS RESULTADOS DOS TESTES POST-HOC (TESTE DE WILCOXON-MANN-WHITNEY-U) SÃO MOSTRADOS. LV = *LYTECHINUS VARIEGATUS*. \* = SIGNIFICATIVO, NS = NÃO SIGNIFICATIVO. ....51
- FIGURA 19.** CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNAS ENCONTRADAS NAS ALGAS EM TRÊS COMBINAÇÕES DE TRATAMENTO. A24-O24 = ALGAS A 24 °C E OURIÇOS A 24 °C, A30-O24 = ALGAS A 30 °C E OURIÇOS A 24 °C, A30-S30 = ALGAS A 30 °C E OURIÇOS A 30 °C. N = 10 POR ESPÉCIE PARA CADA TRATAMENTO. MEDIANAS, INTERQUARTIS E A ÁREA NÃO-DISCREPANTE SÃO MOSTRADOS. ....53
- FIGURA 20.** CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS ENCONTRADOS EM *S. VULGARE* APÓS DIFERENTES ABORDAGENS EXPERIMENTAIS. A24-Lv24 = ALGAS ACLIMATADAS E OURIÇOS-DO-MAR ACLIMATADOS A 24 °C; A24-Lv30 = ALGAS ACLIMATADAS A 24 °C E OURIÇOS-DO-MAR A 30 °C; A30-Lv24 = ALGAS ACLIMATADAS A 30 °C E OURIÇOS-DO-MAR A 24 °C, A30-Lv30 = ALGAS ACLIMATADAS A 30 °C E OURIÇOS-DO-MAR A 30 °C. N = 5 POR COMBINAÇÃO DE TEMPERATURA. MEDIANAS, INTERQUARTIS E A ÁREA NÃO-DISCREPANTE SÃO MOSTRADOS. MG = PESO SECO. ....54



## Lista de Tabelas

<b>TABELA 1.</b> REPRESENTAÇÃO DAS DIFERENTES COMBINAÇÕES DE TEMPERATURAS AS QUAIS OS OURIÇOS-DO-MAR E AS ALGAS FORAM SUBMETIDAS PARA SIMULAR OS CENÁRIOS 1 (AZUL), 2 (LARANJA) E 3 (AMARELO).....	33
<b>TABELA 2.</b> INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA PRIVAÇÃO ALIMENTAR NAS TAXAS DE CONSUMO DE <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> . RESULTADO DA ANOVA. GL = GRAUS DE LIBERDADE, SQ = SOMA DOS QUADRADOS, QM = QUADRADO MÉDIO, F = ESTATÍSTICA F. ....	41
<b>TABELA 3.</b> INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA COMPOSIÇÃO ALIMENTAR DE <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> NOS TRÊS CENÁRIOS DE TESTE REALIZADOS. OURIÇOS E ALGAS FORAM PREVIAMENTE EXPOSTOS A DIFERENTES COMBINAÇÕES DE TEMPERATURA. RESULTADOS ANOSIM. ....	44
<b>TABELA 4.</b> INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA TAXA DE CONSUMO TOTAL DE <i>L. VARIEGATUS</i> . OURIÇOS E/OU ALGAS FORAM PREVIAMENTE AJUSTADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. RESULTADOS DE UM MODELO ADITIVO GERAL COM A VARIÁVEL DE INFLUÊNCIAS (TEMPERATURA). NPAR = NÃO PARAMÉTRICO, GL = GRAUS DE LIBERDADE, F = ESTATÍSTICA F. ....	51
<b>TABELA 5.</b> INFLUÊNCIA DO TIPO E TEMPERATURA DAS ALGAS NAS CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNAS DAS ALGAS. RESULTADOS DO MODELO LINEAR GERAL USANDO UM TESTE DO QUI-QUADRADO. GL = GRAUS DE LIBERDADE .....	52
<b>TABELA 6.</b> INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA CONCENTRAÇÃO DE POLIFENÓIS DE <i>S. VULGARE</i> . RESULTADO DA ANOVA. ....	54
<b>TABELA 7.</b> INTERVALOS DE VALORES DOS PARÂMETROS QUE FORAM DETERMINADOS PARA VERIFICAR A QUALIDADE DA ÁGUA. ....	55

## Sumário

AGRADECIMENTOS .....	IV
RESUMO.....	VI
ABSTRACT .....	VII
LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	VIII
LISTA DE TABELAS .....	X
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 MUDANÇAS CLIMÁTICAS .....	13
1.2 MUDANÇAS CLIMÁTICAS E ORGANISMOS ECTOTÉRMICOS .....	16
1.3 <i>LYTECHINUS VARIEGATUS</i> .....	17
2. OBJETIVOS .....	20
2.1. OBJETIVO GERAL .....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
3. HIPÓTESES .....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	21
4.1 ÁREAS DE COLETA .....	21
4.2 ESCOLHA DE TEMPERATURAS.....	22
4.3 PILOTO 1 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO REGIME ALIMENTAR NA TAXA DE CONSUMO.....	23
4.3.1 <i>Amostragem</i> .....	23
4.3.2 <i>Manutenção em laboratório</i> .....	24
4.4 PILOTO 2: A ATRATIVIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE ALGAS.....	28
4.4.1 <i>Amostragem</i> .....	28
4.4.2 <i>Manutenção em laboratório</i> .....	30
4.5 INFLUÊNCIA DE ONDAS DE CALOR NA PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE <i>L. VARIEGATUS</i> .....	32
4.5.1 <i>Amostragem</i> .....	33
4.5.2 <i>Manutenção em laboratório</i> .....	33
4.6 ANÁLISES DAS ALGAS .....	36
4.6.1 ANÁLISE DE PROTEÍNAS .....	36
4.6.2 <i>Análise de polifenóis</i> .....	38
4.7 ANÁLISE DA QUALIDADE DA ÁGUA .....	39
4.8 ANÁLISES DOS DADOS .....	39

5. RESULTADOS.....	40
5.1 PILOTO 1 – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO REGIME ALIMENTAR NA TAXA DE CONSUMO.....	40
5.2 PILOTO 2 - A ATRATIVIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE ALGAS.....	42
5.3 INFLUÊNCIA DO AUMENTO DE TEMPERATURA NA PREFERÊNCIA ALIMENTAR .....	43
5.3.3 <i>Composição da dieta e preferência alimentar</i> .....	44
5.3.4 <i>Taxas de consumo total</i> .....	48
5.4 CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS .....	52
5.5 TEOR DE POLIFENÓIS.....	53
5.6 QUALIDADE DA ÁGUA .....	54
6. DISCUSSÃO .....	56
6.1 TAXAS DE CONSUMO .....	56
6.2 INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA TEMPERATURA NA PREFERÊNCIA ALIMENTAR .....	57
6.3 CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS .....	58
6.4 TEOR DE POLIFENÓIS.....	60
6.5 INTERAÇÕES ENTRE HERBÍVOROS E ALGAS EM FUNÇÃO DO ECOSISTEMA .....	61
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	62
8. REFERÊNCIAS .....	64

# 1. Introdução

## 1.1 Mudanças climáticas

O desenvolvimento das sociedades humanas sempre esteve intimamente relacionado à gestão dos componentes vivos e dos sistemas naturais encontrados na Terra (Pecl *et al.*, 2017). Os limites de distribuição geográfica destes componentes são dinâmicos e flutuam ao longo do tempo. Entretanto as mudanças climáticas estão impulsionando a redistribuição de espécies e já estão diretamente relacionadas à alteração da estrutura de comunidades e ecossistemas em muitas regiões do planeta, levando a extinções sem precedentes, perdas de biodiversidade, comunidades e habitats ao redor do mundo (Parmesan & Yohe, 2003; Rosenzweig *et al.*, 2008; Poloczanska *et al.*, 2013).

Eventos causados pelas mudanças climáticas moldam a estrutura dos sistemas biológicos terrestres e aquáticos, afetando suas funções biogeoquímicas e impactando serviços ecossistêmicos naturais e socioeconômicos (Frölicher & Laufkötter, 2018). Os efeitos das mudanças climáticas nos sistemas físicos incluem redução das geleiras, derretimento do *permafrost*, alteração da duração das estações e do regime de chuvas, erosão costeira e aumento da estratificação térmica de ambientes aquáticos (Rosenzweig *et al.*, 2008). No ambiente marinho, as respostas às mudanças climáticas incluem aumento do nível do mar, alterações das correntes de circulação oceânica, da produtividade, distribuição de nutrientes e do funcionamento dos ecossistemas, assim como da distribuição das espécies (Chen *et al.*, 2011, Smith *et al.*, 2011).

O aumento da emissão de gases do efeito estufa desde o início da Revolução Industrial é um exemplo dos impactos do desenvolvimento humano no ambiente e sua contribuição para as mudanças climáticas. A concentração de dióxido de carbono atmosférico ( $p\text{CO}_2$ ) influenciou diretamente o aumento das temperaturas globais, que ocorreu de forma lenta e com grandes flutuações até 1975, seguido por um aquecimento contínuo a uma taxa de aproximadamente  $0,2\text{ }^\circ\text{C}$  por década, que pode ser observado ao longo de uma ampla distribuição geográfica (Hansen *et al.*, 2006). A maior parte dessa energia adicional gerada no ambiente é absorvida pelos oceanos, levando ao aumento da temperatura superficial do mar em aproximadamente  $0,76\text{ }^\circ\text{C}$  no século passado, uma taxa de aquecimento inédita para os últimos mil anos (Leung *et al.*, 2017). O aumento nos níveis de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) atmosférico intensificou sua absorção pelos oceanos,

acarretando mudanças na química dos carbonatos da água do mar e levando à acidificação (Rosenzweig, 2008, Kroeker *et al.*, 2010).

A acidificação dos oceanos é um processo que ocorre gradativamente e tem profunda influência sobre as estruturas e funções dos ecossistemas marinhos. O CO<sub>2</sub> dissolvido interage com a água do mar e é convertido em ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), que então se dissocia em bicarbonatos (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) e íons de hidrogênio (H<sup>+</sup>), resultando em uma diminuição correspondente no pH oceânico e saturação de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) no ambiente (Orr *et al.*, 2005). Essas mudanças na química dos oceanos têm o potencial de impactar direta e indiretamente organismos, influenciando processos fisiológicos e alterando as taxas de calcificação. Um exemplo dos impactos em organismos calcificadores foi observado por Emerson *et al.* (2017), que documentaram a regeneração de espinhos em ouriços-do-mar da espécie *Lytechinus variegatus* e encontraram menor integridade estrutural, espessamento e força nos espinhos formados por indivíduos expostos a tratamentos com altas concentrações de CO<sub>2</sub>.

Outra possível consequência das mudanças climáticas é o surgimento de eventos naturais extremos. Jentsch *et al.* (2007) sugerem que serão esses eventos, e não as tendências climáticas de longo prazo, que levarão a mudanças mais significativas nas estruturas dos ecossistemas devido a seus efeitos instantâneos e catastróficos. Entre os eventos climáticos extremos observados no ambiente marinho, podemos citar as ondas de calor marinhas. Ondas de calor marinhas são definidas como períodos prolongados de temperaturas anormalmente altas da superfície do mar com duração de pelo menos cinco dias, podendo durar meses e atingir áreas de milhares de quilômetros quadrados (Hobday *et al.*, 2015, Hobday *et al.*, 2018). Esses eventos são caracterizados por um padrão no qual a água aquecida é movida para a costa por uma circulação oceânica incomum e as temperaturas elevadas podem ser observadas no ambiente terrestre de acordo com os ventos (Schlegel *et al.*, 2017). A ocorrência de ondas de calor marinhas depende da duração e intensidade de um evento térmico, e a frequência de tais eventos pode ser estimada por modelagem (Scannell *et al.*, 2016). A onda de calor mais longa e intensa já documentada ocorreu no mar da Tasmânia em 2015, com duração de 251 dias e causou grande mortalidade de moluscos, além de um surto de patógenos em áreas de maricultura (Oliver *et al.*, 2017). Observações e simulações de satélite mostraram que as ondas de calor marinhas ocorrem com frequência mais alta, duração prolongada e maior extensão sob a influência das mudanças climáticas globais (Schlegel *et al.*, 2017, Frölicher *et al.*,

2018). No período de 1925 a 2016, a ocorrência de ondas de calor aumentou em mais de 30% e a duração dos eventos em 17% (Oliver *et al.*, 2018). É de se esperar que esses fenômenos assumam proporções maiores no curso do aquecimento global dos oceanos e sejam intensificados por uma crescente influência antropogênica.

Respostas ecológicas a ondas de calor marinhas foram observadas em uma variedade de processos, escalas, táxons e regiões geográficas (Smale *et al.*, 2019). O aumento da exposição dos ecossistemas marinhos a temperaturas extremas pode levar à perda de habitats como bancos de algas (Thomson *et al.*, 2015), recifes de corais (Hughes *et al.*, 2019) e florestas de *kelp* (Wernberg *et al.*, 2016; Thomsen *et al.*, 2019). O aquecimento da água afeta não apenas a disponibilidade de recursos e alimentos, mas também o ciclo de nutrientes, o sequestro e armazenamento de carbono, a estabilidade do ecossistema e a estrutura do habitat (Wernberg *et al.*, 2012). Os impactos das ondas de calor na composição dos ecossistemas de ambientes temperados foram descritos por Wernberg *et al.* (2016), que observaram a reestruturação das espécies dominantes de recifes australianos impulsionada por décadas de aquecimento das águas, que forçaram a contração de extensas florestas de macroalgas e viram espécies temperadas substituídas por algas, invertebrados, corais e peixes característicos de águas tropicais e subtropicais, alterando fundamentalmente os principais processos ecológicos daquele ambiente.

Os impactos da variação temporal ou espacial na temperatura ambiente dependem de seus efeitos diretos sobre atributos individuais e populacionais das espécies mediados por mudanças na distribuição, abundância e comportamento de competidores, predadores, parasitas e mutualistas (Dunson & Travis, 1991; Davis *et al.*, 1998; Sanford, 1999; Hawkins *et al.*, 2009). O aumento da temperatura desencadeia fenômeno de tropicalização, caracterizado pelo deslocamento de espécies que habitam águas frias em direção aos polos e regiões de maior profundidade devido à contração de sua faixa de distribuição, enquanto espécies tolerantes a temperaturas elevadas encontram sua faixa de distribuição amplificada (Jentsch *et al.*, 2007; Poloczanska *et al.*, 2013; Lenoir & Svenning, 2015). As espécies com menor tolerância a temperaturas elevadas e baixa mobilidade são particularmente vulneráveis devido à sua capacidade limitada de escapar do estresse térmico, enquanto as ondas de calor favorecem a proliferação de espécies termotolerantes (Thomsen *et al.*, 2010; Wernberg, *et al.*, 2012, Bennet *et al.*, 2015 b). O aquecimento de longo prazo combinado com a frequência e a intensidade dos eventos de temperatura extrema podem levar à introdução definitiva de espécies não nativas em

novos ambientes e causar um desequilíbrio ecossistêmico sem precedentes (Coumou & Rahmstorf, 2012; Perkins *et al.*, 2018). A realização de projeções para estudar globalmente o comportamento futuro dos eventos climáticos extremos é de grande importância para compreender seus impactos ecológicos em um mundo em aquecimento, e estudar as respostas dos organismos marinhos ao estresse térmico pode fornecer uma visão inicial de como estes eventos afetarão de diferentes formas os táxons e sua sobrevivência (Lima & Wethey, 2012).

## **1.2 Mudanças climáticas e organismos ectotérmicos**

A temperatura do ambiente marinho determina o comportamento, a fisiologia e reprodução das espécies ectotérmicas, motivo pelo qual estas são mais suscetíveis à grandes variações deste parâmetro (Compton *et al.*, 2007, Tewksbury *et al.*, 2008). A habilidade dos organismos em resistir a essas variações ambientais é geograficamente distinta, visto que espécies que vivem em ambientes termicamente estáveis apresentam reduzida flexibilidade fisiológica para lidar com flutuações de temperatura (Stevens, 1989, Barnes *et al.*, 2010). Ambientes tropicais apresentam relativa estabilidade térmica sazonal ao longo do ano, o que pode indicar uma maior suscetibilidade dos organismos adaptados a estes ambientes quando expostos a eventos extremos de temperatura (McGregor & Nieuwolt, 1998, Donelson *et al.*, 2019). Regiões entremarés e de pouca profundidade são propensas a enormes flutuações térmicas no tempo e no espaço e, portanto, organismos ectotérmicos que habitam esses ecossistemas constituem modelos importantes para compreender os impactos das mudanças climáticas (Helmuth *et al.*, 2010; Rubal *et al.*, 2013). As respostas fisiológicas de tais espécies ao estresse ambiental revelam respostas adaptativas específicas e estratégias para lidar com eventos climáticos extremos (Helmuth & Hofmann, 2001; Somero, 2002). O estudo do impacto da variação térmica na performance dessas espécies é importante para entender suas respostas aos diferentes cenários de mudanças climáticas (Bozinovic & Pörtner, 2015)

Os efeitos indiretos do aumento da temperatura nas interações inter e intraespecíficas são, em muitos casos, de maior importância para o ecossistema do que os efeitos diretos das mudanças climáticas globais (Kordas *et al.* 2011). As dinâmicas das teias alimentares podem sofrer alterações com o aquecimento do ambiente devido às variações na composição das populações presentes e ao aumento da pressão predatória

ou de herbivoria no sistema (O'Connor *et al.*, 2009). Em costões rochosos no nordeste do Pacífico, o aumento das temperaturas forçou a distribuição da alga vermelha *Mazzaella parksii* para regiões mais baixas ao longo do gradiente vertical (Harley, 2003; Harley & Paine, 2009). Embora o limite superior da alga esteja diretamente relacionado à temperatura por meio da tolerância ambiental da espécie, o limite inferior é independente deste fator. O aumento do estresse térmico resultou no deslocamento da espécie e, conseqüentemente, maior sobreposição espacial entre a faixa vertical de distribuição potencial de *M. parksii* e de seus consumidores, o que levou à eliminação da alga em áreas expostas que não possuem refúgio espacial contra a herbivoria (Harley, 2003).

O aumento da temperatura ambiente também influencia as taxas metabólicas dos grupos taxonômicos de maneira diferente. Explorar esta influência pode levar a padrões gerais de como a estrutura da comunidade e sua abundância relativa de espécies varia com o aumento da temperatura (Gillooly *et al.*, 2001; López-Urrutia *et al.*, 2006). A Teoria Metabólica da Ecologia (Metabolic Theory of Ecology - MTE) relaciona a taxa metabólica dos organismos ao seu tamanho e temperatura corporal, indicando que alterações nestas taxas também podem acarretar em alterações estruturais das teias alimentares (Gillooly *et al.*, 2001). Para uma determinada base de recursos, o nível trófico mais alto no sistema é aquele que pode suportar uma população viável mínima com a energia disponível dos níveis tróficos mais baixos (Enquist *et al.*, 2003; Allen *et al.*, 2005). Com o aumento da temperatura e das taxas metabólicas das espécies envolvidas, ocorre uma crescente demanda por energia em cada nível trófico e, quando a transferência energética não é suficiente para suportar o tamanho populacional mínimo viável dos níveis de topo, aquelas espécies são perdidas (Müren *et al.*, 2005; López-Urrutia *et al.*, 2006). Petchey *et al.* (1999) demonstraram experimentalmente esta teoria ao utilizar mesocosmos para simular situações de aquecimento em sistemas planctônicos e observar que níveis tróficos superiores foram perdidos com o aumento da temperatura, aumentando de forma desproporcional a biomassa dos produtores e bacterívoros em uma cascata trófica termicamente desencadeada.

### **1.3 *Lytechinus variegatus***

Os ouriços-do-mar da espécie *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816) (Temnopleuroida - Toxopneustidae) têm ampla distribuição biogeográfica no Oceano



Atlântico, com faixa de ocorrência que vai do Brasil à Carolina do Norte, passando pelo Golfo do México (Brothers & McClintock, 2015) (Figura 1). A espécie é bentônica e habita o infralitoral, distribuindo-se de baías rasas parcialmente fechadas a substratos consolidados, bancos de mexilhões ou regiões de substrato não consolidado com grande concentração de conchas (Heck & Valentine, 1995). A espécie é frequentemente observada em associação a bancos de algas e pode ser encontrada em profundidades de até 20 m, sendo possivelmente intolerante a ambientes com grande turbidez ou excesso de material particulado em suspensão (Moore *et al.*, 1963; Hill & Lawrence, 2003; Cobb & Lawrence, 2005).

Os ouriços-do-mar desempenham um papel fundamental na estruturação e transformação das comunidades marinhas, servindo como alimento para uma grande variedade de espécies e influenciando a distribuição, abundância e diversidade de outros organismos devido à sua intensa atividade de forrageamento (Ogden *et al.*, 1973). Rose *et al.* (1999) observaram que o consumo de macroalgas por *L. variegatus* levou não apenas à redução significativa dos estoques de algas, mas também das populações de infauna como gastrópodes e mexilhões. Glynn *et al.* (1979) observaram que em recifes de corais onde não há predadores eficazes de ouriços devido à pressão de sobrepesca, o forrageamento destes pode limitar o estabelecimento e o crescimento do recife, que chega a apresentar espessura máxima de apenas 12 a 25% do volume de recifes semelhantes onde há predadores de ouriços-do-mar. O comportamento alimentar de *L. variegatus* é majoritariamente onívoro, consumindo grande variedade de algas, pequenos organismos e material em decomposição (Beddingfield & McClintock, 2000; Cobb & Lawrence, 2005). Em locais onde a espécie ocorre em associação ao mexilhão *Modiolus americanus*, foi observada a predação e consumo da concha, do corpo mole e de seus epibiontes (Valentine & Heck, 2000; Sklenar, 1994). Detritos e materiais orgânicos presentes no substrato também podem constituir componentes importantes da dieta, como foi observado por Montague *et al.* (1991), que demonstrou a preferência alimentar significativamente maior de *L. variegatus* por lâminas da grama marinha *Thalassia testudinum* em estado de decomposição e colonizadas por epibiontes em comparação a lâminas verdes. O valor nutricional é geralmente preferido em relação à qualidade na escolha de alimentos, entretanto organismos vágéis (móveis) podem suprir suas necessidades através de nutrição compensatória (Cruz-Rivera & Hay 2000a). Valentine & Heck (2001) descreveram o consumo de maior volume de algas não enriquecidas com

nitrogênio (menor valor nutricional) em comparação com algas enriquecidas, indicando que *L. variegatus* compensa a ingestão de alimentos com baixa qualidade ao ingerir maior quantidade. A pressão de forrageamento dos ouriços-do-mar sobre determinadas espécies pode, a longo prazo, alterar a estrutura do ecossistema.

A temperatura constitui um importante fator que influencia a distribuição e abundância de *L. variegatus*, tanto latitudinalmente quanto localmente, uma vez que a espécie é naturalmente exposta ao estresse térmico ambiente nos meses de temperatura mais elevadas por habitar regiões de baixa profundidade. Meyer & Birkeland (1974) observaram que a espécie sobrevive a temperaturas entre 11 e 35 °C e que vive perto do limite de sua tolerância térmica, registrando um evento de mortalidade em massa em Galeta Point, Panamá, como resultado de altas temperaturas (39,5 °C) e excesso de exposição. Fatores abióticos desempenham papel fundamental na regulação das populações de *L. variegatus*, uma vez que o aumento da temperatura, redução da salinidade ou variações na duração do dia causam redução das taxas de alimentação e crescimento, influenciando também a densidade populacional (Moore *et al.*, 1963).



**Figura 1.** Ouriço-do-mar da espécie *Lytechinus variegatus* no infralitoral da Praia de Itaipu. Foto da autora.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Investigar os efeitos do aquecimento nas taxas de consumo e na preferência alimentar do ouriço-do-mar da espécie *Lytechinus variegatus*.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Identificar as taxas de consumo de *L. variegatus* em diferentes níveis de aquecimento.
- Avaliar a influência da temperatura nas taxas de consumo de *L. variegatus*.
- Avaliar a influência do aumento de temperatura no comportamento de escolha e na preferência alimentar de *L. variegatus*.
- Investigar os efeitos da temperatura na composição alimentar.
- Identificar possíveis variações nas concentrações de proteínas e polifenóis nas algas expostas a diferentes níveis de aquecimento.
- Observar a relação entre a preferência alimentar de *L. variegatus* e a concentração de proteínas e polifenóis nas espécies de algas analisadas.
- Investigar se efeitos da temperatura sobre *L. variegatus* são acompanhados por alterações nas macroalgas

## 3. Hipóteses

- H01: O aumento de temperatura não possui influência sobre as taxas de consumo de *L. variegatus*.
- H1: O aumento de temperatura provoca estresse térmico em *L. variegatus*, alterando respostas fisiológicas e comportamentais como as taxas de consumo.
- H02: O aumento de temperatura não influencia a composição da dieta de *L. variegatus*.
- H2: O aumento de temperatura influencia a preferência alimentar de *L. variegatus*.
- H03: A preferência alimentar de *L. variegatus* não possui relação com as concentrações de proteínas e polifenóis presentes nas algas.
- H3: As concentrações de proteínas e polifenóis presentes nas diferentes espécies de algas influenciam diretamente a composição da dieta e a preferência de *L. variegatus*.

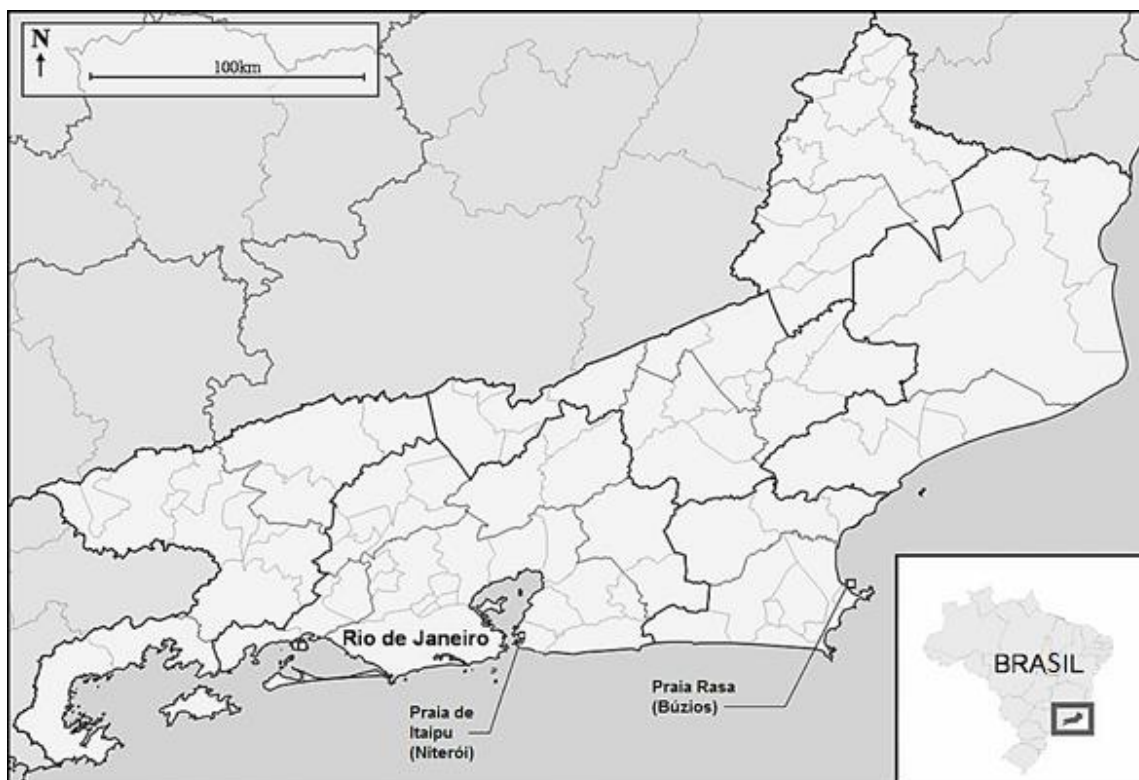
## 4. Materiais e métodos

### 4.1 Áreas de coleta

A enseada de Itaipu ( $22^{\circ}53'14''\text{S}$ ,  $43^{\circ}22'48''\text{W}$ ) está localizada na região costeira do município de Niterói, Rio de Janeiro, próximo à entrada da Baía de Guanabara (Figura 2). Sua linha de costa possui extensão de 4,5 km e formação semicircular no sentido Leste-Oeste, sendo dividida em sua porção mediana pelo canal da lagoa de Itaipu (Monteiro-Neto *et al.*, 2008). A praia de Itaipu está geograficamente localizada no extremo leste da enseada de Itaipu e é delimitada por um conjunto de três ilhas costeiras (Ilha da Menina, Ilha da Mãe e a Ilha do Pai) que formam uma enseada semiabrigada com ampla comunicação com o mar, recebendo o aporte de águas do complexo lagunar Itaipu-Piratininga e de massas d'água oceânicas, influenciando a sedimentação e a morfologia do fundo (Salvador & Silva, 2002). A enseada é classificada como um ecossistema de praia arenosa, altamente dinâmica e de grande biodiversidade (Coutinho *et al.*, 2015). O perfil da praia é, na sua maior parte, íngreme e reflexivo, com profundidades que variam de 3 a 28 m. Sua porção oeste apresenta maior circulação que a extremidade leste, onde há uma tendência ao acúmulo de sedimentos provenientes do canal de Itaipu devido às águas mais calmas. O regime de marés é semidiurno com amplitude de até 1,3 m e as ondas representam o principal agente modelador do perfil da praia, juntamente com as correntes de deriva litorânea e de retorno (Salvador & Silva, 2002) Devido às suas características intrínsecas, este ecossistema desempenha um papel fundamental na retenção da matéria orgânica e de poluentes oriundos dos efluentes da comunidade em seu entorno, além de constituir um habitat extremamente favorável à reprodução e crescimento de espécies marinhas ou estuarino-dependentes, sendo uma área de berçário e desova para muitas espécies de peixes, crustáceos e tartarugas (Veloso & Neves, 2009).

A Praia Rasa ( $22^{\circ}44'05''\text{S}$ ,  $41^{\circ}57'29''\text{W}$ ) está localizada no município de Armação dos Búzios, Rio de Janeiro (Figura 2). Sua face está voltada para sudoeste e possui leve inclinação do substrato. A amplitude vertical das marés varia de 0,50 a 1,50 m, em razão da pouca profundidade, a fraca agitação superficial provoca turbidez quase constante na água (Yoneshigue 1985). A Península de Búzios protege esta praia dos ventos que atingem a costa com frequência, tornando esta uma área relativamente abrigada (Fernandez, 1998). A Praia Rasa possui características morfodinâmicas de uma praia

dissipativa, apresentando um perfil suave com uma grande faixa de areia, sedimento bastante fino e compacto e uma zona de surfe bastante extensa (Wright et al., 1982; Masselink & Short, 1993). Podem ser observados imponentes paredões formados por sedimentos vermelhos na região, identificados como falésias marinhas inativas originadas da ação erosiva das ondas quando o nível do mar se encontrava pouco acima do nível atual (Morais, 2001).



**Figura 2.** Localização geográfica da Praia de Itaipu e da Praia Rasa no estado do Rio de Janeiro (modificado de Plouguerné *et al.*, 2010).

#### 4.2 Escolha de temperaturas

A temperatura média da água do mar na região da Praia de Itaipu é de 23 °C, variando entre 25 e 28 °C no fim de fevereiro e chegando a 20 °C em agosto. A Praia Rasa possui temperaturas similares, com valores máximos entre 25 e 28°C no fim de fevereiro e temperaturas mais baixas encontradas em setembro, variando entre 21 e 23 °C. Esses valores são resultado de um registro climático de 35 anos na costa do estado do Rio de Janeiro através de satélites oceanográficos (Surf Forecast, 2018). De acordo com dados do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) de 2018, é

previsto um aumento da temperatura da água do mar entre 0,6 e 1,5 °C para a região do Atlântico Sudoeste até o ano de 2100 (Masson-Delmotte *et al.*,2018). Com base nestes e em outros dados disponíveis na bibliografia, a temperatura inicial escolhida para aclimação dos organismos coletados foi de 24 °C por refletir a estimativa da temperatura para os meses de verão. Os eventos de ondas de calor foram simulados utilizando diferentes níveis de aquecimento com temperaturas de 26 °C, 28 °C, 30 °C e 32 °C, de modo a refletir a temperatura máxima encontrada nos meses de verão, a projeção de aquecimento decorrente de mudanças climáticas, bem como na tentativa de encontrar uma faixa de temperatura dentro da faixa das previsões que poderia eventualmente causar letalidade aos organismos.

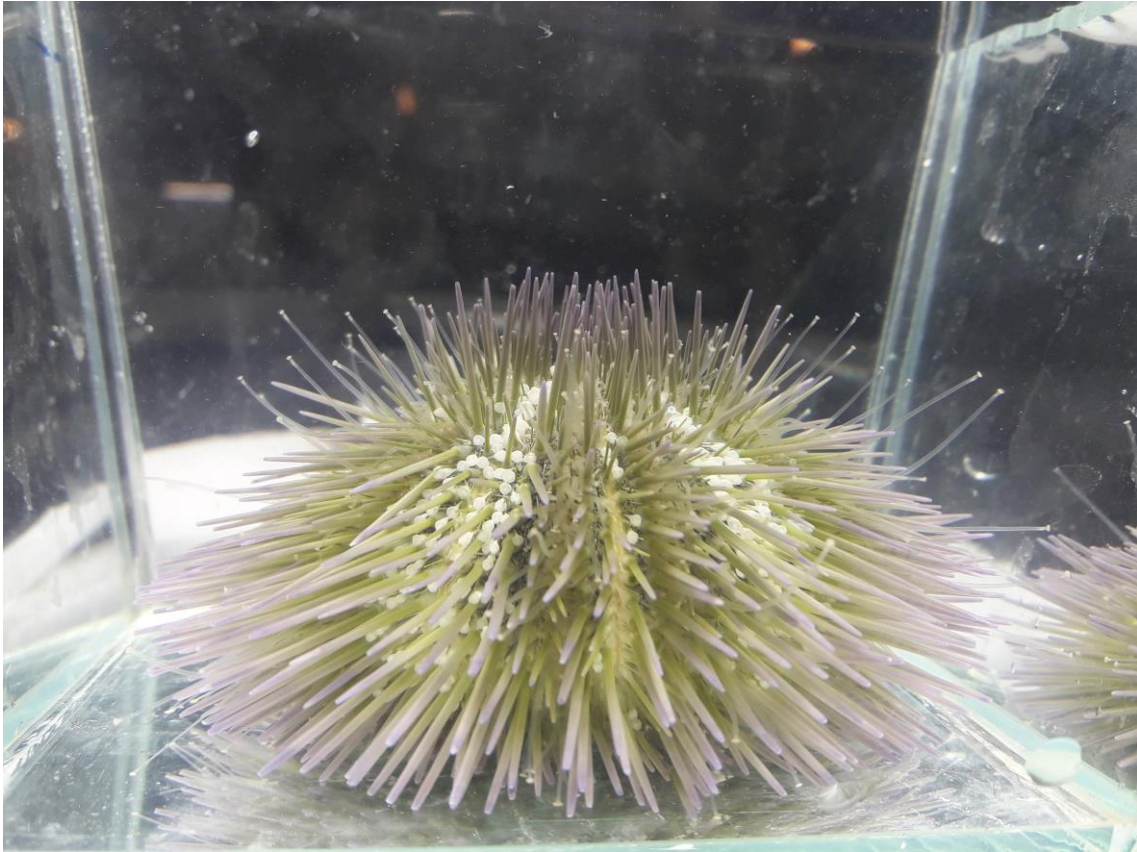
### **4.3 Piloto 1 - Influência da temperatura e do regime alimentar na taxa de consumo.**

O objetivo do primeiro estudo piloto foi identificar se os fatores temperatura e privação alimentar influenciam a taxa de consumo do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816).

#### **4.3.1 Amostragem**

Exemplares de *Lytechinus variegatus* foram coletados no infralitoral da praia de Itaipu em maio de 2018. As coletas foram realizadas próximo ao costão rochoso durante a baixamar através de mergulho livre, com profundidades variando entre 1 e 3 m. A temperatura da água no local era de 23°C e sua salinidade de 34. A amostragem foi realizada manualmente por diferentes mergulhadores e de forma aleatória. Os indivíduos capturados foram transferidos para caixas isotérmicas com água do mar, onde foram mantidos durante seu transporte até o tanque para aclimação (Figura 3).





**Figura 3.** Ouriço-do-mar da espécie *L. variegatus* contido em aquário de vidro. Foto da autora.

#### **4.3.2 Manutenção em laboratório**

Os ouriços-do-mar foram inicialmente mantidos na área de quarentena do AquaRio em um tanque com capacidade para 1000 L para aclimação às condições laboratoriais. Os indivíduos foram mantidos em recipientes de plástico perfurado com volume de 1,5 L e posicionados dentro do tanque maior, onde havia um “chiller” (Resfriador Tecu TK1000 1/4HP) para a manutenção da temperatura da água a 24 °C. Um “skimmer” ou desnatador (Oceantech - Eco 120) e um filtro de Perlon também foram instalados para garantir a qualidade da água. O suprimento de oxigênio era bombeado pelo sistema de ar comprimido do AquaRio através de mangueiras de silicone para aquarismo e, para impedir que os recipientes de plástico flutuassem, pedras de aquário foram colocadas sobre as tampas (Figura 4A). Os animais foram alimentados a cada 2 dias com pellets cúbicos de aproximadamente 6 g elaborados a partir de agar e algas verdes (Chlorophyta) do gênero *Ulva* desidratadas e em pó, utilizando proporções similares às encontradas nos

trabalhos de Kligner *et al.* (1986) e Fabbrocini *et al.* (2012). Para o preparo dos pellets, foram utilizadas algas recém coletadas e desidratadas ao ar livre por aproximadamente 48 horas. Após o processo de secagem, o material foi triturado em um processador de alimentos comum por 5 minutos e o pó resultante foi peneirado através de malha de nylon com 35 µm de poro para a obtenção de partículas menores. Foram acrescentados 25 g do pó resultante a um béquer contendo 100 ml de água e, em outro béquer, 9,5 g de ágar da marca MICROMED foram adicionados a 125 ml de água destilada. A mistura com ágar foi imediatamente agitada e aquecida no micro-ondas em potência média durante 30 segundos, sendo posteriormente agitada para que houvesse a dissolução do ágar. Este processo foi repetido por três vezes até que a mistura começasse a formar bolhas na parte superior. O ágar aquecido foi então rapidamente misturado com a solução contendo o pó de algas e posteriormente vertido em um molde de silicone para cubos de gelo. Após secagem de 15 minutos na geladeira, os pellets endureceram e puderam ser removidos. Este processo foi repetido até a produção de pellets suficientes para a alimentação dos ouriços-do-mar. Os pellets foram recobertos com papel alumínio e armazenados em laboratório por no máximo duas horas, até que todos os pellets fossem produzidos até a alimentação dos ouriços-do-mar. Os pellets permaneceram estáveis na água por vários dias.

Após um período de aclimação de sete dias, 100 ouriços-do-mar foram gradativamente transferidos em grupos de 20 para os sistemas de aquecimento correspondentes aos tratamentos com temperaturas de 26 °C, 28 °C, 30 °C e 32 °C. Foram montados cinco sistemas de aquecimento, cada um composto por três tanques com capacidade de 100 L interligados em dois níveis de altura. O tanque inferior acomodava um desnatador (skimmer) Oceantech - Eco 120, dois aquecedores (SCHEGO 300 W) e uma bomba (Sarlo Better - 2000 L/h) que fazia a circulação da água para os tanques superiores, onde foram alocados 10 indivíduos para cada tanque. A temperatura da água foi monitorada por um termômetro, um regulador de temperatura (HOBBY BiothermPro) ligado aos aquecedores com sensores em todos os tanques do sistema e *data loggers* (ONSET HOBO®, Pendant Temp) instalados dentro dos tanques (Figura 4B). Foram coletadas amostras de cada tanque regularmente para verificação da qualidade da água (nitritos, nitratos, amônia, fosfatos, pH, salinidade e oxigênio) no laboratório do AquaRio. Os tanques e recipientes individuais dos ouriços eram limpos diariamente e aproximadamente um terço da água do sistema era descartada e substituída por novo

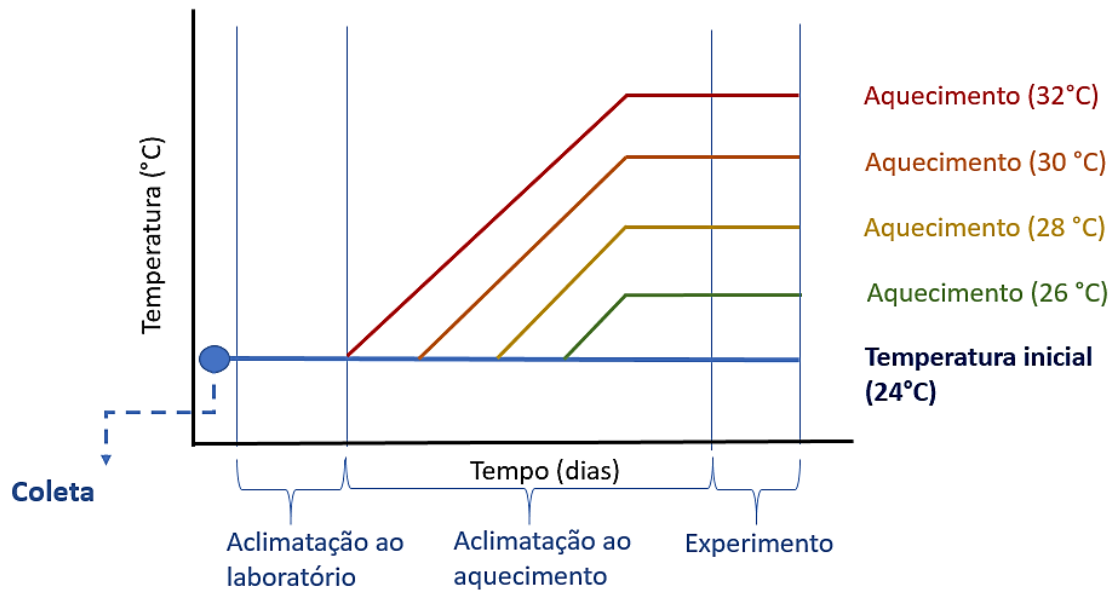


volume de água marinha (*i.e.*, troca parcial de água ou TPA). Os indivíduos foram alimentados a cada dois dias com pellets frescos de aproximadamente 6 g cada.



**Figura 4.** **A:** Ouriços-do-mar separados individualmente em caixas de plástico durante a aclimação às condições laboratoriais. **B:** Sistema de tanques de aquecimento do estudo piloto 1 para o nível de temperatura de 24 °C. Fotos da autora.

Para o processo de aclimação aos cenários de aquecimento, a temperatura dos sistemas foi aumentada em 1 °C por dia de modo que o grupo que deveria atingir 32 °C foi o primeiro a ser alocado. De acordo com este princípio, a temperatura da água do primeiro sistema foi aumentada de 24 °C para 25 °C no primeiro dia e de 25 °C para 26 °C no segundo dia, enquanto a temperatura do segundo sistema foi alterada de 24 °C para 25 °C ao mesmo tempo e assim sucessivamente até que todos os sistemas de aquecimento atingissem simultaneamente as temperaturas desejadas (Figura 5).



**Figura 5.** Representação esquemática do processo de aclimação em laboratório para atingir diferentes graus de aquecimento.

Os indivíduos foram previamente mantidos à temperatura-alvo respectiva por três dias até que os testes de alimentação fossem realizados. Havia 20 ouriços em cada sistema de aquecimento, dos quais 10 continuaram a ser alimentados regularmente e 10 não foram alimentados nos dois dias que precederam o início do experimento para avaliar os efeitos de um curto período de jejum e da temperatura nas taxas de consumo de *L. variegatus*.

O experimento foi iniciado no dia 06 de junho de 2018. Durante a manhã, cada indivíduo foi removido de sua caixa plástica, pesado com uma balança digital de 0,001 g de precisão e posteriormente recolocado em seu tanque. Um pellet de agar + *Ulva* também foi pesado na mesma balança de precisão e inserido na caixa de cada indivíduo, sendo removido após 17 h e pesado novamente. Três unidades de controle com peso conhecido foram mantidas em cada tanque sob as mesmas condições que as unidades utilizadas para alimentação a fim de registrar mudanças autogênicas no volume dos pellets independentes do consumo. O período de duração do experimento foi determinado de forma que o suprimento de alimento não estivesse abaixo de 50% do volume inicial, marca que foi alcançada após 17 h. Após o fim do experimento, os ouriços passaram por nova aclimação à temperatura ambiente e foram devolvidos ao seu habitat natural.

Para determinar a taxa de consumo, foi calculado o volume de alimento consumido por peso úmido do ouriço-do-mar por unidade de tempo. O valor médio de mudança

autogênica foi determinado para cada temperatura e incluído na fórmula para o cálculo da taxa de consumo.

$$Taxa\ de\ consumo = \frac{Pellet(i) * \left(\frac{Controle(f)}{Controle(i)}\right) - Pellet(f)}{Peso\ L.v * 17h} * 24h$$

Pellet (i) = peso úmido inicial do alimento (g)

Pellet (f) = peso úmido final do alimento (g)

Controle (i) = peso úmido inicial do pellet utilizado como controle (g)

Controle (f) = peso úmido final do pellet utilizado como controle (g)

Peso *L.v.* = Peso úmido do ouriço (g)

#### **4.4 Piloto 2: A atratividade de diferentes espécies de algas**

O objetivo do segundo estudo piloto foi determinar a atratividade de diferentes espécies de algas para *L. variegatus*, a fim de encontrar espécies adequadas para realizar o experimento simulando ondas de calor.

##### **4.4.1 Amostragem**

Três diferentes espécies de macroalgas pertencentes às três divisões, *Sargassum vulgare*, *Osmundaria obtusiloba* e *Ulva* sp. (Ochrophyta, Rhodophyta e Chlorophyta, respectivamente) foram coletadas no 13 de agosto de 2018 na Praia Rasa. As coletas foram realizadas em rochas submersas próximas à faixa de areia com o auxílio de uma espátula para facilitar a remoção sem danificar seu talo (Figura 6). A temperatura da água no local era de 21 °C e a salinidade da água era de 36. A iluminância na profundidade de 30 cm estava entre 1,5-13,2 uE, dependendo do grau de nebulosidade no momento. Os indivíduos foram separados por gênero e transferidos para caixas isotérmicas com água do mar, onde foram mantidos durante seu transporte até os tanques para aclimatação.





**Figura 6 A:** Rochas submersas recobertas por macroalgas do gênero *Ulva* encontradas na Praia Rasa. **B:** Rochas recobertas por macroalgas do gênero *Sargassum* encontradas na Praia Rasa. Fotos da autora.

Os ouriços-do-mar foram coletados em 20 de agosto de 2018 na Praia de Itaipu. Como no primeiro estudo, as coletas foram realizadas próximo ao costão durante a baixamar, com profundidades variando entre 1 e 3 m. A amostragem foi realizada manualmente por diferentes mergulhadores e de forma aleatória. A temperatura da água no local era de 22 °C e a salinidade de 34. Os indivíduos capturados foram transferidos para caixas isotérmicas com água do mar, onde foram mantidos durante seu transporte até o tanque para aclimação.

#### **4.4.2 Manutenção em laboratório**

Os ouriços-do-mar foram inicialmente mantidos na área de quarentena do AquaRio para aclimação às condições laboratoriais em um tanque com capacidade para 1000 L, onde havia um chiller (Resfriador Teco TK1000 1/4HP) para a manutenção da temperatura da água a 24 °C. Um skimmer (Oceantech - Eco 120) e um filtro de Perlon também foram instalados para garantir a qualidade da água. Os animais foram alimentados diariamente com um pellet de algas de aproximadamente 3 g. Com base nos resultados do primeiro estudo piloto, os animais não foram expostos a uma fase de fome. O suprimento de oxigênio era bombeado pelo sistema do AquaRio através de mangueiras de silicone para aquarismo e a limpeza dos tanques era realizada diariamente através da aspiração do fundo e substituição de aproximadamente um terço da água do sistema por novo volume de água marinha (TPA). Amostras foram coletadas regularmente para verificação da qualidade da água.

Foram montados cinco sistemas de circulação interligados em três níveis de altura. Os tanques inferiores, com capacidade para 100 L, acomodavam um skimmer (Oceantech - Eco 120) e uma bomba (Sarlo Better - 2000 L/h) que fazia a circulação da água para os tanques superiores. Os tanques intermediários possuíam capacidade para 70 L e foram equipados com um refletor cada (MBLED, luz branca 50W, 3750 lm) para receber as algas, que foram separadas por gênero e distribuídas entre os cinco sistemas. O refletor fornecia uma iluminação entre 1,5 - 10,1  $\mu$ E aferida pelo *data logger* (ONSET HOBO®, Pendant Temp) instalado no tanque. O fornecimento de luz pelo refletor foi definido para o período entre 6:00 e 18:00 h através de um temporizador. As algas foram mantidas à temperatura de 24 °C e amostras foram coletadas regularmente para verificar a qualidade



da água. A circulação e oxigenação da água no tanque eram realizadas pelo fluxo do sistema de bombeamento e pelo sistema de ar comprimido do AquaRio através de mangueiras de silicone para aquarismo. O nível superior de cada sistema era composto por 2 bandejas com capacidade para 50 L cada (Figura 7).



**Figura 7.** Disposição dos tanques para o estudo piloto 2. Os ouriços-do-mar foram alocados no nível superior, as algas no nível intermediário e o sistema de circulação com skimmer nos tanques inferiores. Foto da autora.

O experimento foi iniciado no dia 28 de agosto de 2018. Após um período de aclimação de sete dias, 30 exemplares de *L. variegatus* foram pesados utilizando uma balança digital de 0,001 g de precisão e individualizados em recipientes de plástico numerados e cilíndricos com volume de 2 L, contendo dois furos de aproximadamente 7 mm em suas tampas, um para a inserção da mangueira de ar comprimido e outro para equalizar a pressão. Os recipientes foram dispostos na parte superior de três sistemas de circulação, de forma que a água das bandejas não recobrisse suas tampas e servisse apenas para a manutenção da temperatura da água a 24 °C. Cada grupo de 10 ouriços recebeu 1 g de uma das espécies de alga utilizadas, sempre com volumes similares. O período de duração do experimento foi novamente definido de forma que o suprimento de alimento

não estivesse abaixo de 50% do volume inicial. Após 20:40 h, os fragmentos de algas foram resgatados de cada recipiente, agitados para remover o excesso de água e pesados novamente. Para registrar mudanças autogênicas em cada espécie de alga durante esse tempo, foram utilizadas três unidades de controle com peso conhecido para cada uma das espécies avaliadas sem a presença de *L. variegatus*.

Para determinar a taxa de consumo de cada espécie de alga, foi calculado peso do alimento consumido por peso úmido de *L. variegatus* por unidade de tempo. Não foram registradas variações de peso nos controles autogênicos, por isso estes não foram integrados à fórmula.

$$Taxa\ de\ consumo = \frac{Peso\ alga\ (i) - Peso\ alga\ (f)}{Peso\ L.v * 20,67h} * 24h$$

Peso alga (i) = peso úmido inicial da alga utilizada para alimentação (g)

Peso alga (f) = peso úmido final da alga utilizada para alimentação (g)

Peso *L.v.* = Peso úmido do ouriço (g)

#### **4.5 Influência de ondas de calor na preferência alimentar de *L. variegatus***

O objetivo deste experimento foi investigar a influência do aumento da temperatura na composição da dieta e preferência alimentar de *L. variegatus*. Três cenários foram simulados (Tabela 1). No cenário 1, apenas os ouriços-do-mar foram expostos a temperaturas elevadas, as algas foram mantidas à temperatura ambiente de 24 °C. No cenário 2, apenas as algas foram expostas a temperaturas elevadas, enquanto os ouriços-do-mar foram mantidos à temperatura ambiente de 24 °C. No cenário 3, os ouriços-do-mar e as algas foram expostos a temperaturas elevadas igualmente. Os diferentes cenários foram realizados para que fosse possível avaliar individualmente os efeitos do aquecimento no comportamento alimentar de *L. variegatus* em relação às mudanças ocorridas em seu metabolismo e no metabolismo das algas.

**Tabela 1.** Representação das diferentes combinações de temperaturas as quais os ouriços-do-mar e as algas foram submetidas para simular os cenários 1 (azul), 2 (laranja) e 3 (amarelo).

Algas	<i>L. variegatus</i>				
	24 °C	26 °C	28 °C	30 °C	32 °C
24 °C	X	X	X	X	X
26 °C	X	X			
28 °C	X		X		
30 °C	X			X	
32 °C	X				X

#### 4.5.1 Amostragem

Este estudo foi realizado em paralelo ao Piloto 2, portanto os ouriços-do-mar e as algas foram coletados conforme descrito anteriormente.

#### 4.5.2 Manutenção em laboratório

Os ouriços-do-mar foram inicialmente mantidos na área de quarentena do AquaRio para aclimação às condições laboratoriais em um tanque com capacidade para 1000 L, onde havia um chiller (Resfriador Teco TK1000 1/4HP) para a manutenção da temperatura da água a 24 °C. Um skimmer (Oceantech - Eco 120) e um filtro de Perlon. Os indivíduos foram mantidos em recipientes de plástico com volume de 2 L e posicionados dentro do tanque. O suprimento de oxigênio era bombeado pelo sistema do AquaRio através de mangueiras de silicone para aquarismo, e a limpeza dos tanques era realizada diariamente através da aspiração do fundo e substituição de aproximadamente um terço da água do sistema por novo volume de água marinha. Amostras foram coletadas regularmente para verificar a qualidade da água.

Após um período de aclimação de sete dias, 130 indivíduos foram gradativamente transferidos para cada um dos seis sistemas de aquecimento em grupos de 20.

Foram utilizados os mesmos sistemas de circulação interligados em três níveis de altura do Piloto 2, com a adição de dois aquecedores (SCHEGO 300 W) no tanque inferior



para os níveis de temperatura acima de 24 °C. A temperatura da água foi monitorada por um termômetro, um regulador de temperatura (HOBBY BiothermPro) ligado aos aquecedores com sensores em todos os tanques do sistema e *data loggers* (ONSET HOBO®, Pendant Temp) instalados dentro dos tanques. Foram coletadas amostras de cada tanque regularmente para verificar a qualidade da água. Os tanques e recipientes individuais dos ouriços eram limpos diariamente e aproximadamente um terço da água do sistema era descartada e substituída por novo volume de água marinha. Os animais foram alimentados diariamente com 0,5 g de cada espécie de alga aclimatada a sua temperatura.

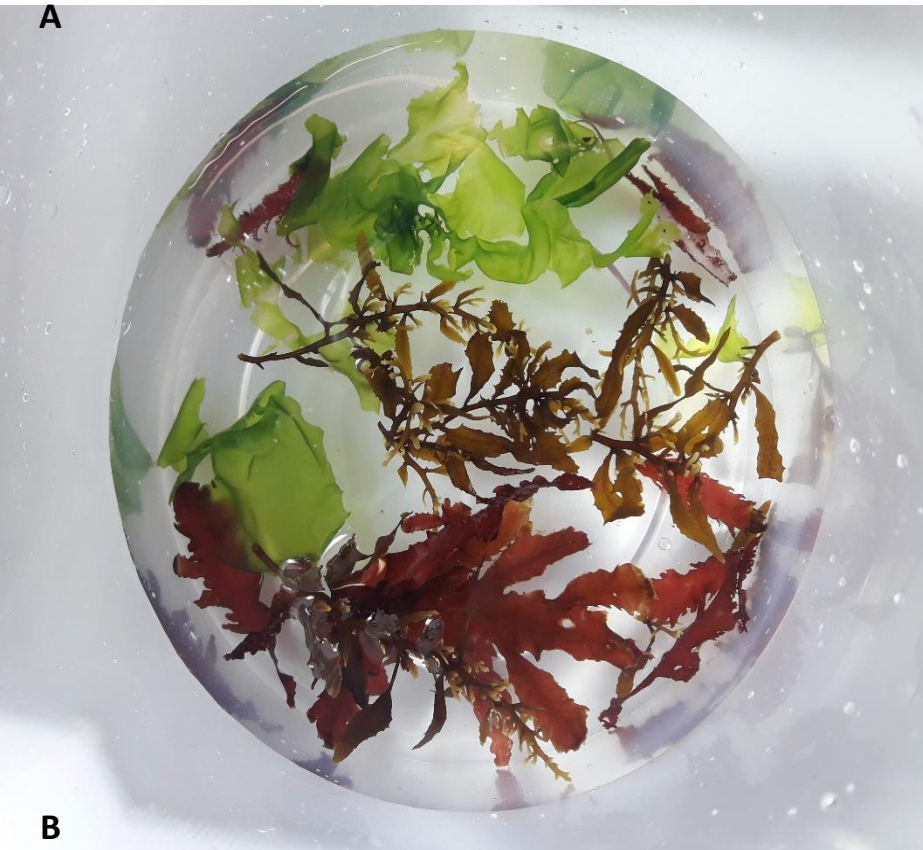
Para o processo de aclimação aos cenários de aquecimento, a temperatura dos sistemas foi aumentada em 1 °C por dia de modo que o grupo que deveria atingir 32 °C foi o primeiro a ser alocado. O aquecimento seguiu o mesmo princípio utilizado no Piloto 1 (Figura 5) de modo que todos os sistemas de aquecimento atingissem as temperaturas desejadas simultaneamente. As algas foram previamente pesadas e movidas para o sistema de circulação que atingiria sua temperatura-alvo junto ao seu respectivo grupo de ouriços, de modo que ambos sofressem exposição à temperatura pelo mesmo período de tempo. Com base nos resultados do primeiro estudo piloto, os animais não foram expostos à privação alimentar.

Os ouriços-do-mar e as algas foram mantidos em sua temperatura alvo por um período de 3 dias. Após esse intervalo, os ouriços foram pesados e redistribuídos entre os sistemas de acordo com os cenários a serem realizados, de modo que houvesse 10 réplicas para cada nível de temperatura do cenário experimental (Figura 8A). As algas foram pesadas e 2 g de cada espécie foram distribuídos de maneira uniforme na base do recipiente onde estava contido cada ouriço (Figura 8B). Cada tanque recebeu 3 réplicas de controles autogênicos para cada espécie de alga presente no estudo. O período de duração do experimento foi novamente definido de forma que o suprimento de alimento não estivesse abaixo de 50% do volume inicial para cada nível de temperatura. Os fragmentos de algas foram pesados novamente após o experimento e 25 ouriços-do-mar foram selecionados entre os diferentes tratamentos para passar por processo de remoção da matéria orgânica através da imersão em hipoclorito de sódio a 15% (Quimesp) durante 5 dias e posterior secagem a temperatura ambiente. Os indivíduos foram mantidos em recipientes individuais durante todo o processo para preservar seus espinhos e,

posteriormente, o material resultante foi pesado para determinar a razão entre o peso seco e o úmido dos ouriços.



**A**



**B**

**Figura 8.** **A:** Exemplo do arranjo dos recipientes individuais contendo ouriços e algas nas bandejas do nível superior do sistema de circulação. **B:** Disposição das diferentes espécies de algas na parte inferior das unidades experimentais. Fotos da autora.

A taxa de consumo para cada espécie de alga foi determinada através do cálculo do peso do alimento consumido por peso úmido de *L. variegatus* por unidade de tempo. Não foram registradas variações de peso nos controles autogênicos, por isso estes não foram integrados à fórmula.

$$\text{Taxa de consumo} = \frac{\text{Peso alga (i)} - \text{Peso alga (f)}}{\text{Peso L.v.} * T} * 24h$$

Peso alga (i) = peso úmido inicial da alga utilizada para alimentação (g)

Peso alga (f) = peso úmido final da alga utilizada para alimentação (g)

Peso L.v. = Peso úmido do ouriço (g)

T = Tempo de duração do experimento para cada nível de temperatura

#### **4.6 Análises das algas**

Ao fim do experimento, os fragmentos de alga restantes foram pesados e passaram por processo de secagem ao ar livre à sombra sobre toalhas de papel por um período de 10 dias. As algas foram separadas por espécie e por cenário com a combinação de temperaturas às quais foram expostas. As amostras foram levadas para o Laboratório de Ecologia Bentônica do instituto GEOMAR (Kiel, Alemanha), onde foram processadas por um triturador (Ika A10 Basic) até tornarem-se pó. O material foi então depositado em tubos Falcon com capacidade para 15 ml, identificado e armazenado para posterior realização das análises de proteínas e polifenóis.

##### **4.6.1 Análise de proteínas**

A análise de proteínas foi realizada com base na metodologia de Bradford (1976). Para a extração de proteínas foram utilizados 50 mg de algas em pó por amostra. Estes materiais foram pesados em tubos Eppendorf com capacidade para 1,5 ml cada, onde posteriormente foi adicionado 1 ml do buffer de extração. Esta solução consiste em 280 µl de beta-mercaptoetanol a 98% (Merck, 10 mM), 1,2 g de base TRIS (Roth, 50 mM) e KCl (Roth, 500 mM) e deve apresentar pH 9,5. Os Eppendorf foram incubados em uma

placa agitadora por 1h à temperatura de 4 °C e, posteriormente, centrifugados por 10 minutos a 14.000 rpm (Eppendorf, Centrifuge 5810R). Os sobrenadantes foram removidos com uma pipeta e transferidos para outros tubos Eppendorf com volume de 1,5 ml para então serem armazenados em freezer durante a noite.

Para quantificação de proteínas, foram adicionados 40 µl de reagente Bradford (Sigma) e 60 µl de água destilada a 100 µl do extrato da amostra em uma placa de titulação. Para cada amostra foram realizadas cinco réplicas, três controles contendo 100 µl do extrato e 100 µl de água destilada, três controles contendo 40 µl de reagente Bradford com 160 µl de água destilada e três controles contendo apenas 200 µl de água destilada. Além disso, foi preparada uma solução padrão com concentrações de proteínas conhecidas utilizando albumina (Roth, ~66.000 g/mol) para formular a curva padrão de concentração proteica. Foram realizadas soluções com concentrações de 10 mg /L, 20 mg /L, 30 mg /L, 40 mg /L e 50 mg /L, e uma série de diluições adicionais em cada uma dessas concentrações em proporções de 1:2, 1:10 e 1:100 devido a probabilidade de haver baixa concentração de proteínas nas amostras. Após o procedimento, a placa de titulação contendo as amostras foi depositada em um espectrofotômetro (HIDEX Plate CHAMELEON 425-106) e os valores de absorvância foram determinados utilizando um filtro com 610 nm de comprimento de onda.

Os resultados foram convertidos em concentrações de proteínas utilizando os valores obtidos nas soluções padrão. O valor de absorvância obtido nos controles foi subtraído dos valores obtidos para as amostras. A linha de regressão  $y = 0,00262x - 0,0515$  foi determinada para a curva padrão de proteínas. As concentrações de proteínas (µg proteínas/mg alga) foram, portanto, calculadas através da seguinte fórmula:

$$\text{Concentração proteica} = \frac{\text{Absorvância corrigida} - 0,0515}{0,0026 * \left(\frac{\text{Alga (i)}}{V}\right)}$$

Absorvância corrigida – valor obtido após leitura das amostras por espectrofotômetro e corrigido pelas unidades de controle

Alga (i) – volume inicial da alga em pó utilizada

V – volume de líquidos adicionados à amostra inicial

#### 4.6.2 Análise de polifenóis

A análise do teor de polifenóis foi baseada no método de Zhang *et al.* (2006). Para a extração dos polifenóis, foram adicionados 2 ml de uma solução de metanol (Roth) e água destilada na proporção de 1:1 e pH 2 a 50 mg do pó de *Sargassum vulgare* previamente obtido através do mesmo processo de trituração realizado para o protocolo de extração das proteínas. A solução foi incubada em tubo Falcon com capacidade para 15 ml por 1 h e posteriormente centrifugada por 10 minutos a 12000 rpm (centrífuga Eppendorf 5810R). O sobrenadante foi removido e armazenado em um tubo Eppendorf com capacidade de 5 ml, enquanto 2 ml de uma solução de acetona (Roth, 99,5%) e água destilada na proporção 7:1 e pH 7,3 foram adicionados ao sedimento restante. Após novo período de incubação de 1 h e centrifugação adicional por 10 minutos a 12000 rpm, o sobrenadante foi novamente removido e adicionado ao sobrenadante da primeira centrifugação. Para a quantificação dos polifenóis, 200 µl dos sobrenadantes coletados foram diluídos em 800 µl de água destilada e, desta nova solução, 20 µl foram transferidos para a placa de titulação, onde foram adicionados 100 µl de reagente Folin-Ciocalteu (Sigma) e 80 µl de solução de carbonato de sódio (Roth) a 7,5%. Para cada amostra foram realizadas cinco réplicas, três controles contendo apenas 20 mL do material de amostra extraído com 180 mL de água destilada, três controles contendo 20 µl de água destilada, 100 µl de reagente Folin-Ciocalteu e 80 µl de solução de carbonato de sódio e três controles contendo apenas 200 µl de água destilada. Foram preparadas soluções de floroglucinol (Roth) com concentrações de 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml e 10 µg/ml para formular a curva padrão da concentração de polifenóis. Após a adição dos reagentes, as placas de titulação foram recobertas por papel alumínio e mantidas em local escuro por 2 h. Após este período, a placa foi depositada em um espectrofotômetro (HIDEX Plate CHAMELEON 425-106) e os valores de absorvância das amostras foram determinados utilizando um filtro com 751 nm de comprimento de onda.

Os resultados foram convertidos em concentrações de polifenóis utilizando os valores obtidos nas soluções padrão. O valor de absorvância obtido nos controles foi subtraído dos valores obtidos para as amostras. A linha de regressão  $y=0,0042x - 0,0019$  foi determinada para a curva padrão de polifenóis. As concentrações de polifenóis (µg polifenóis/mg alga) foram, portanto, calculadas através da seguinte fórmula:

$$\text{Concentração de polifenóis} = \frac{\text{Absorbância corrigida} + 0,0019}{0,00042 * \left(\frac{\text{Alga (i)}}{V}\right)}$$

Absorbância corrigida – valor obtido após leitura das amostras por espectrofotômetro e corrigido pelas unidades de controle

Alga (i) – volume inicial da alga em pó utilizada

V – volume de líquidos adicionados à amostra inicial

#### 4.7 Análise da qualidade da água

A água dos tanques onde foram mantidos os exemplares de *L. variegatus* e as algas foi analisada a cada 2 dias para verificar as concentrações de amônia, nitratos, nitritos, fosfatos, pH, salinidade e oxigênio. O oxigênio dissolvido e a salinidade foram determinados *in situ* através de um medidor multiparâmetros (HiSeg, modelo KR86021) e de um refratômetro analógico (HiSeg REF10), respectivamente. Para as análises de nutrientes, foram coletadas amostras de água de cada tanque e testes com kits SERA foram realizados em laboratório. O pH também foi determinado em laboratório utilizando o medidor de bolso da HANNA (HI-98103).

#### 4.8 Análises dos dados

Os cálculos, análises estatísticas e representações gráficas dos resultados foram realizados com os programas R (versão 3.4.3), R-Studio (versão 1.1.423) e Microsoft Excel (versão 2010). Para os testes estatísticos, a distribuição normal dos dados ou dos resíduos foi verificada pelo teste Shapiro-Wilk's-W. O teste de Fligner-Killeen foi utilizado para verificar a homogeneidade das variâncias. Não houve homogeneidade simultânea das variâncias e distribuição normal para nenhum dos conjuntos de dados brutos. Portanto, uma análise de variância de dois fatores (ANOVA) com os fatores "Privação de alimento" com 2 níveis e "Temperatura" com 5 níveis foi escolhida para a análise do Piloto 1. O tamanho do efeito da temperatura como fator de influência foi determinado com eta quadrado ( $\eta^2$ ).

Para o Piloto 2, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para verificar se as taxas de consumo de *L. variegatus* diferem entre diferentes tipos de algas como alimento. Os testes de Wilcoxon-Mann-Whitney-U foram então realizados como comparações post-hoc para determinar entre quais espécies de algas as taxas de consumo diferiram significativamente.

Utilizando os dados do experimento principal, uma análise de similaridade (ANOSIM) foi realizada para a comparação da composição alimentar sem transformação dos dados. Para modelar a relação entre as taxas de consumo de diferentes temperaturas, os tipos de algas e as concentrações totais de proteínas nas algas, foi escolhido um GLM (Modelo Linear Geral) com uma distribuição gama para a variável dependente "Concentração de proteínas". Os desvios foram analisados pelo teste do qui-quadrado. Para investigar a influência da temperatura nas concentrações totais de polifenóis nas algas, foi realizada uma ANOVA. Um GAM (Modelo Aditivo Generalizado) foi escolhido para modelar a relação entre temperatura e consumo total. Os testes de Wilcoxon-Mann-Whitney-U foram então realizados como comparações post-hoc, a fim de determinar entre quais temperaturas as taxas gerais de consumo diferiam. O nível de significância de todos os testes estatísticos foi de 0,05.

## **5. Resultados**

### **5.1 Piloto 1 – Influência da temperatura e do regime alimentar na taxa de consumo**

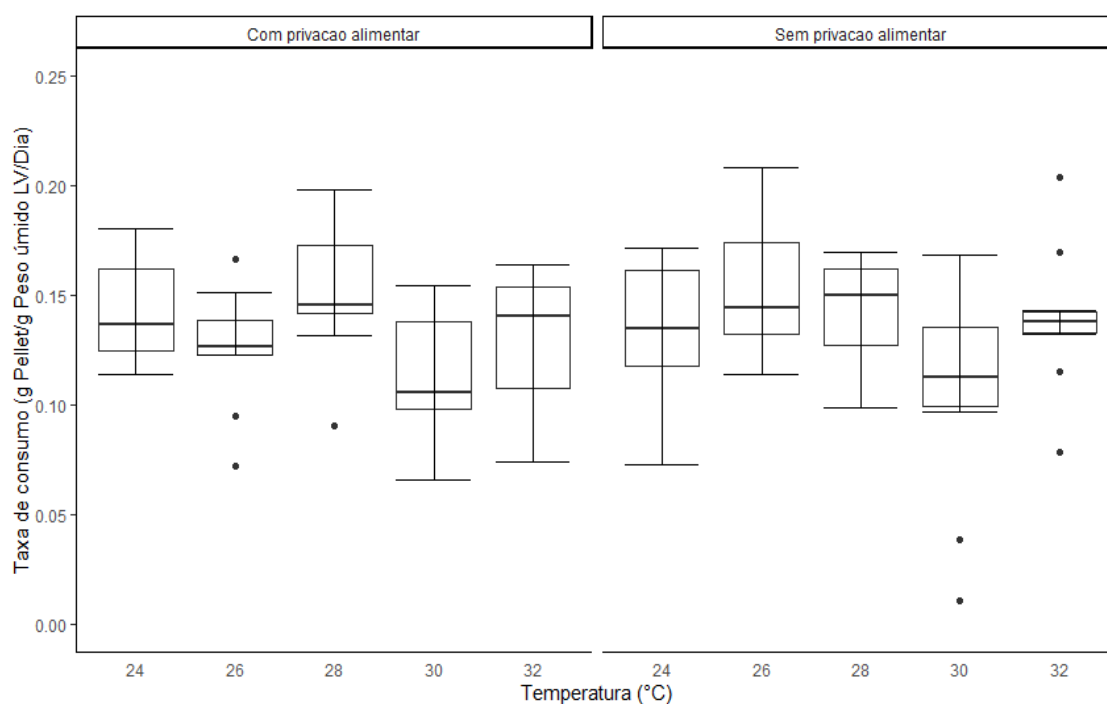
As taxas de consumo de *L. variegatus* que estavam em regime de privação alimentar por 48 h antes da avaliação foram similares às dos indivíduos alimentados durante todo o experimento. Para indivíduos que não estavam em regime de privação alimentar, as taxas de consumo aumentaram em paralelo à elevação da temperatura de 24°C para 26°C e posteriormente decresceram, encontrando seu menor valor na temperatura de 30°C com nova elevação a 32°C. A mudança de temperatura teve um efeito moderado nas taxas de consumo, com um valor de  $\eta^2$  de 0,14. O peso úmido dos indivíduos foi de  $62,9 \pm 22,5$  g (média  $\pm$  desvio padrão). Os pellets utilizados no controle para detectar alterações autógenas nos alimentos fornecidos sofreram acréscimo de  $0,36 \pm 0,25$  g (média  $\pm$  desvio

padrão) em seu peso. Os indivíduos dispuseram de aproximadamente 12,1 g de alimento, dos quais 5,24 g foram consumidos em média durante as 17 h do estudo.

A temperatura influenciou significativamente a taxa de consumo, entretanto o mesmo não foi observado para o tratamento com privação alimentar (Figura 9). A interação entre temperatura e privação alimentar também não foi significativa (Tabela 2).

**Tabela 2.** Influência da temperatura e da privação alimentar nas taxas de consumo de *Lytechinus variegatus*. Resultado da ANOVA. GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado Médio, F = Estatística *F*.

	GL	SQ	MQ	F	p
Temperatura	4	0,016	0,004	3,853	0,006
Privação alimentar	1	0,8e-4	0,8e-4	0,078	0,781
Interação entre fatores	4	0,006	0,001	1,384	0,246

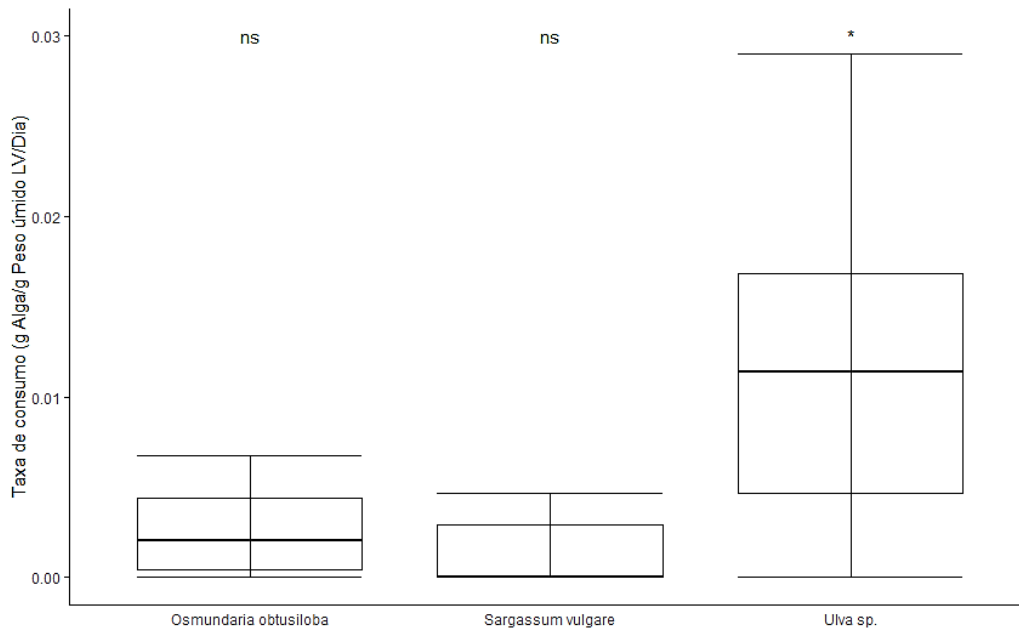


**Figura 9.** Taxas de consumo de *Lytechinus variegatus* de acordo com temperatura e regime alimentar. N = 10 por nível de temperatura e tipo de alimentação. LV = *Lytechinus variegatus*. Medianas, interquartis e a área não-discrepante são mostrados.



## 5.2 Piloto 2 - A atratividade de diferentes espécies de algas

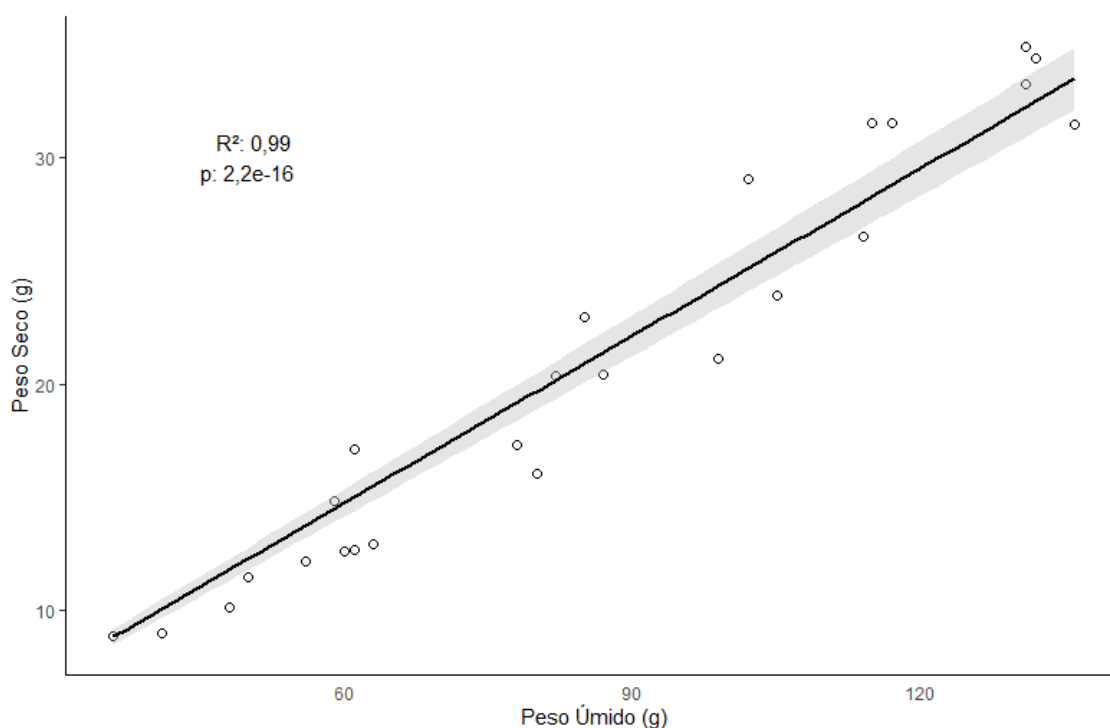
As algas da espécie *Ulva* sp. foram consumidas preferencialmente pelos ouriços, com uma taxa média de consumo de 0,011g/g Peso úmido LV/dia (Figura 10). As taxas médias de consumo de *Sargassum vulgare* e *Osmundaria obtusiloba* foram menores ou iguais a 0,002g/g Peso úmido LV/dia. A diferença de taxas de alimentação entre as algas foi estatisticamente significativa (teste de Kruskal-Wallis:  $p = 0,003$ ;  $df = 2$ ;  $X^2 = 11.632$ ). O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney-U mostrou, como teste post-hoc, que as taxas de consumo de *Ulva* sp. foram significativamente superiores às taxas de consumo de *O. obtusiloba* e *S. vulgare*. O peso úmido dos indivíduos variou entre 41 e 125g, com média de 77,3 g.



**Figura 10.** Taxas de consumo de diferentes espécies de algas por *Lytechinus variegatus*. N = 10 por espécie oferecida. São mostradas medianas, interquartis, áreas não-discrepantes e os resultados do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney-U. ns = não significativo, \* = significância para  $\alpha = 0,05$ , LV = *Lytechinus variegatus*.

### 5.3 Influência do aumento de temperatura na preferência alimentar

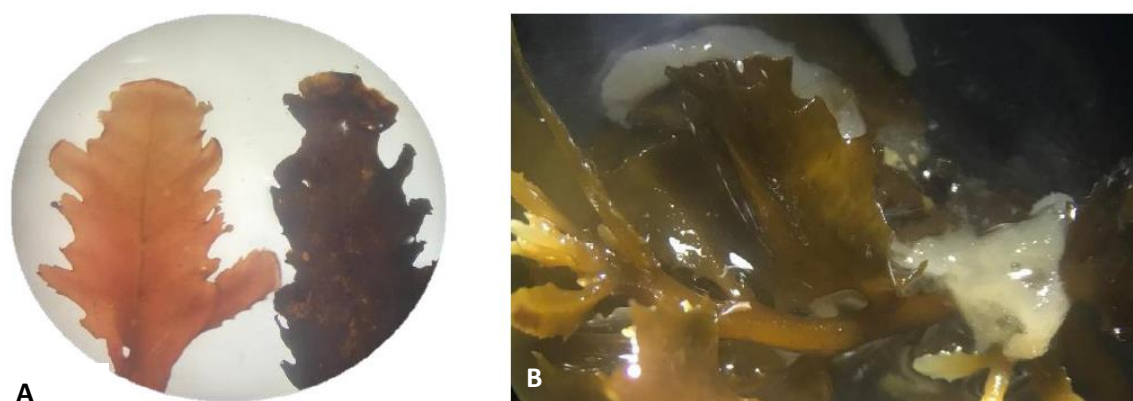
A relação entre o peso seco e úmido de 25 indivíduos da espécie *L. variegatus* foi obtida através da equação linear  $y = 0,245901.x$  ( $F = 2553,3$ ;  $p < 0,05$ ;  $R^2 = 0,99$ ), originária da origem (Figura 11), com a qual os pesos secos dos demais ouriços utilizados no experimento foram estimados. Foram observados quatro eventos de desova em diferentes tanques no período de manutenção em laboratório.



**Figura 11.** Relação entre o peso seco e úmido de 25 indivíduos da espécie *Lytechinus variegatus* utilizados no experimento principal.

As algas da espécie *O. obtusiloba* apresentaram alterações de cor no segundo dia após atingir a temperatura máxima de 32 °C. As bordas de suas lâminas assumiram uma cor preto acastanhado, que se intensificou nos dias posteriores (Figura 12.A). Devido a essa aparente morte de parte do talo, todo o estoque de *O. obtusiloba* mantido a 32 °C foi descartado, razão pela qual as abordagens experimentais correspondentes a esta temperatura não puderam ser realizadas. A mudança morfológica também foi isolada em alguns indivíduos aclimatados a 30 °C e, após 10 dias, uma leve descoloração foi encontrada em todos os indivíduos aclimatados a temperaturas acima de 28 °C. Nenhuma alteração de cor ou densidade foi observada nos indivíduos mantidos a 24 °C e 26 °C

durante todo o experimento. As algas da espécie *S. vulgare* apresentaram aumento da ocorrência de epibiontes em temperaturas acima de 30 °C (Figura 12.B). Com o tempo, esse crescimento tornou-se cada vez mais visível em diversos fragmentos de algas. Os indivíduos que apresentaram crescimento de outros organismos não foram utilizados no teste de alimentação.



**Figura 12.** A: Alteração morfológica sob influência da temperatura nas algas vermelhas da espécie *Osmundaria obtusiloba* a 24 °C (esquerda) e a 32 °C (direita). B: Ocorrência de epibiontes nas algas da espécie *Sargassum vulgare* a 30 °C.

### 5.3.3 Composição da dieta e preferência alimentar

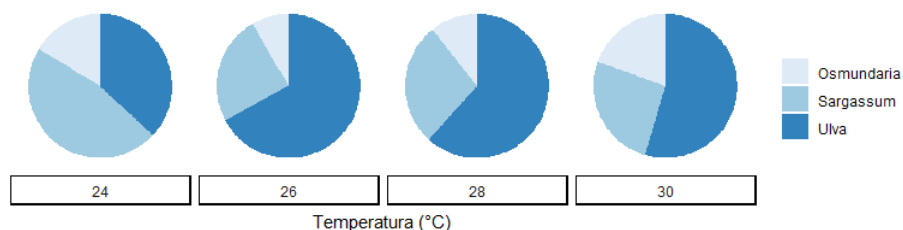
As taxas de consumo de *L. variegatus* baseadas nas três espécies de algas como suprimento alimentar não sofreram alteração quando apenas as algas foram aclimatadas a diferentes temperaturas. A composição alimentar, portanto, não diferiu entre as abordagens. No entanto, quando apenas os ouriços foram aclimatados a diferentes temperaturas, houve um efeito significativo. O tamanho do efeito R foi maior que 0,25 e, portanto, demonstra que a composição alimentar diferiu entre os indivíduos aclimatados, com certa sobreposição. Quando as algas e os ouriços-do-mar foram expostos a um aumento de temperatura, também houve uma diferença significativa na composição da dieta entre as diferentes abordagens experimentais (Tabela 3).

**Tabela 3.** Influência da temperatura na composição alimentar de *Lytechinus variegatus* nos três cenários de teste realizados. Ouriços e algas foram previamente expostos a diferentes combinações de temperatura. Resultados ANOSIM.

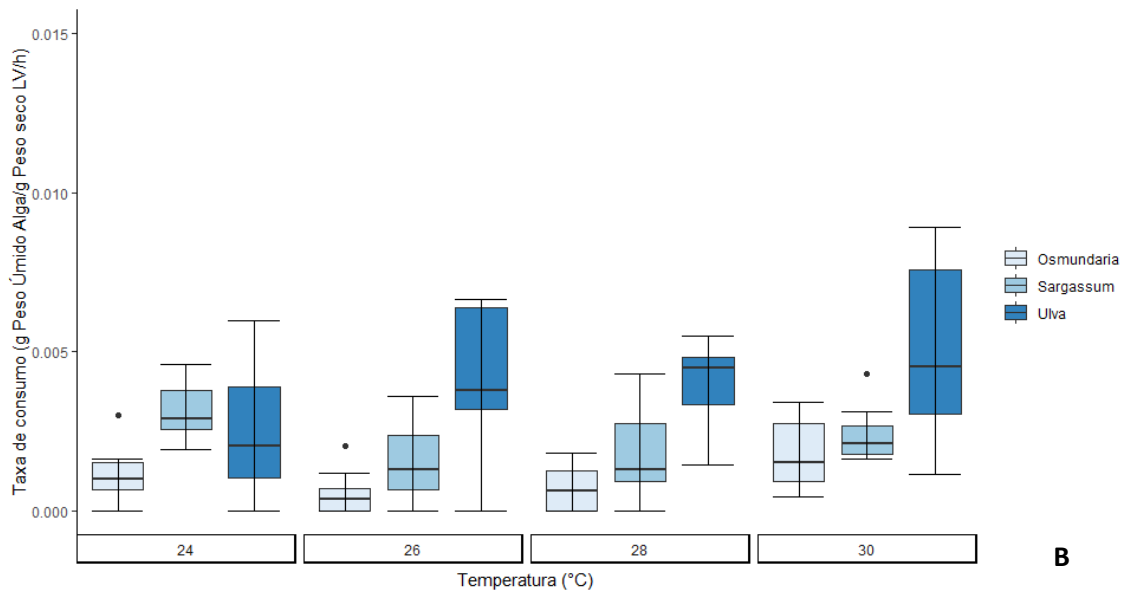
Tratamento	R	p
Algas aclimatadas	0,1542	0,005
Ouriços aclimatados	0,4227	0,001
Todos os organismos aclimatados	0,5097	0,001

Observando as taxas médias de consumo a 24 °C, ficou evidente que *S. vulgare* foi a espécie mais consumida, seguida por *Ulva* sp. e *O. obtusiloba*. (Figuras 13-15). Isso se aplica aos três cenários realizados, uma vez que os valores de 24 °C foram baseados no mesmo conjunto de dados. Com a elevação da temperatura, a preferência alimentar de *L. variegatus* foi alterada nos três cenários. Assim, com uma exceção, os experimentos mostraram a preferência alimentar por *Ulva* sp., seguida por *S. vulgare* e *O. obtusiloba* nas temperaturas de 26 °C, 28 °C e 30 °C (Figuras 13-15).

Quando apenas as algas foram aclimatadas a diferentes temperaturas, as taxas de consumo individuais máximas de 0,009 g Peso Úmido Alga/g Peso Seco LV/h foram alcançadas a uma temperatura de 30 °C (Figura 13.B). Em temperaturas acima de 24 °C, a espécie *Ulva* sp. foi responsável por mais da metade da composição alimentar, seguida por *S. vulgare* e *O. obtusiloba* (Figura 13.A).



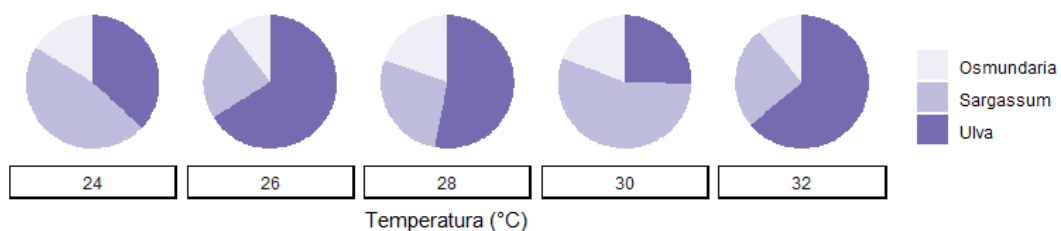
**A**



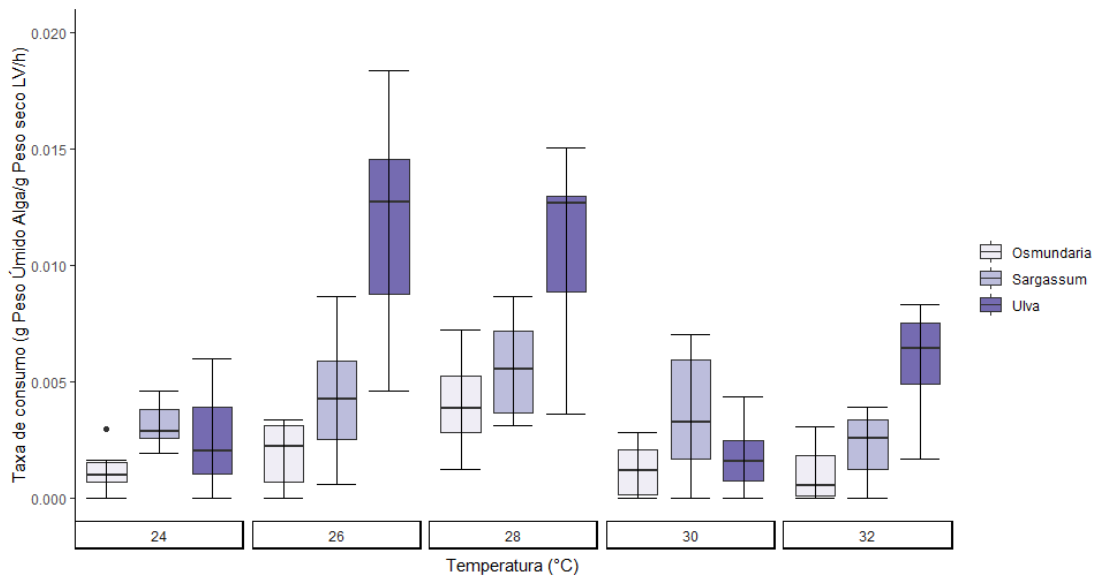
**Figura 13.** Taxas de consumo de *L. variegatus* no tratamento 1. Foram oferecidas três espécies de algas aclimatadas a diferentes temperaturas a ouriços mantidos a 24 °C. n = 10 por nível de temperatura e espécie de alga. As taxas de consumo são mostradas como uma parcela do consumo total (A) e medianas, interquartis e a área não discrepante (B). LV = *Lytechinus variegatus*.

Na segunda abordagem experimental, as algas foram mantidas a 24 °C e os ouriços foram adaptados a diferentes temperaturas. A exceção à preferência alimentar pela espécie de alga *Ulva* sp. ocorreu quando os organismos foram ajustados a 30 °C, onde *S. vulgare* representou a maior porção da dieta, seguido por *Ulva* sp. e *O. obtusiloba* (Figura 14.A).

Taxas de consumo de 0,01 g Peso Úmido Alga /g Peso Seco LV/h para *Ulva* sp. foram excedidas nas temperaturas de 26 °C e 28 °C (Figura 14.B). *S. vulgare* e *O. obtusiloba* também foram mais consumidos que na primeira abordagem, onde apenas as algas foram aclimatadas a temperaturas superiores a 24 °C.

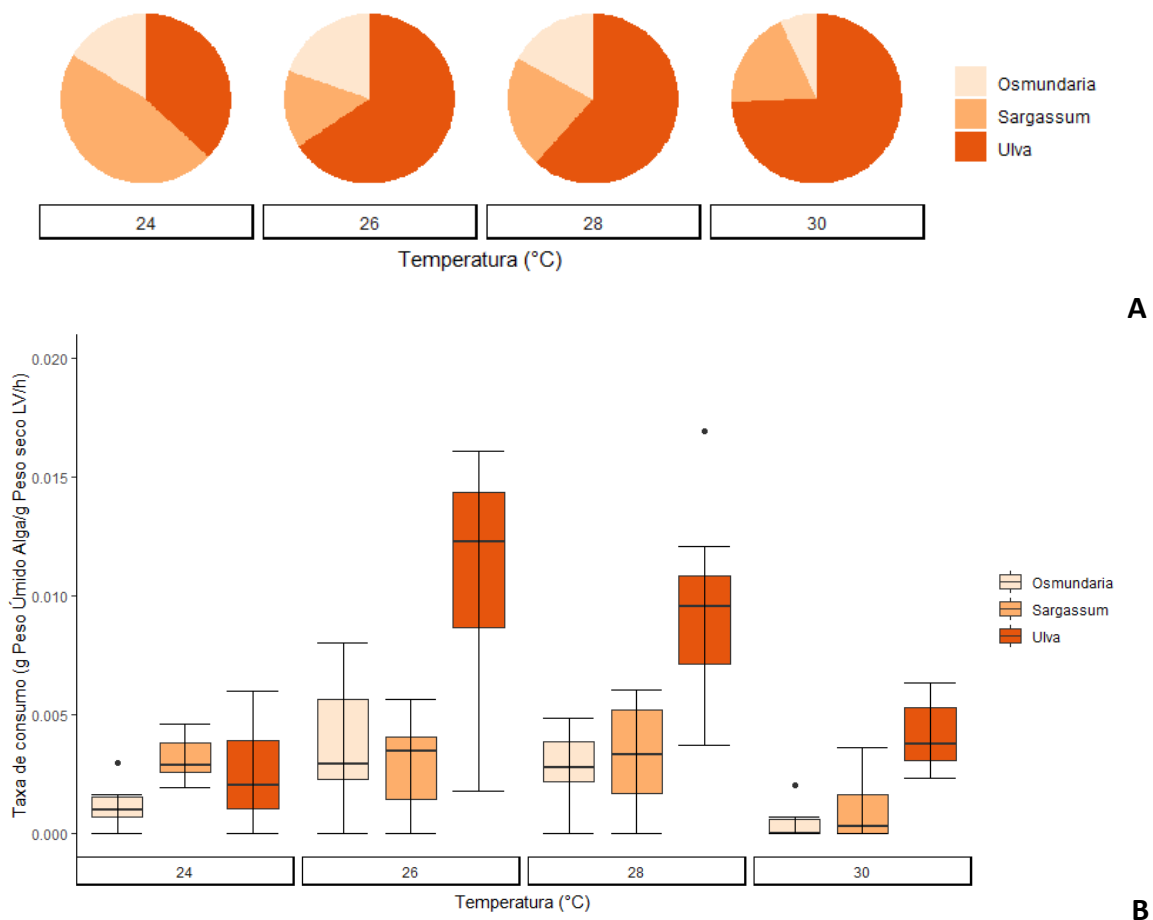


**A**



**Figura 14.** Taxas de consumo de *L. variegatus* no cenário 2. Após a aclimação dos ouriços a diferentes temperaturas, foram oferecidas três diferentes espécies de algas, mantidas a 24 °C. n = 10 por nível de temperatura e tipo de alga. As taxas de consumo são mostradas como uma parcela do consumo total (A) e medianas, interquartis e a área não discrepante (B). LV = *L. variegatus*.

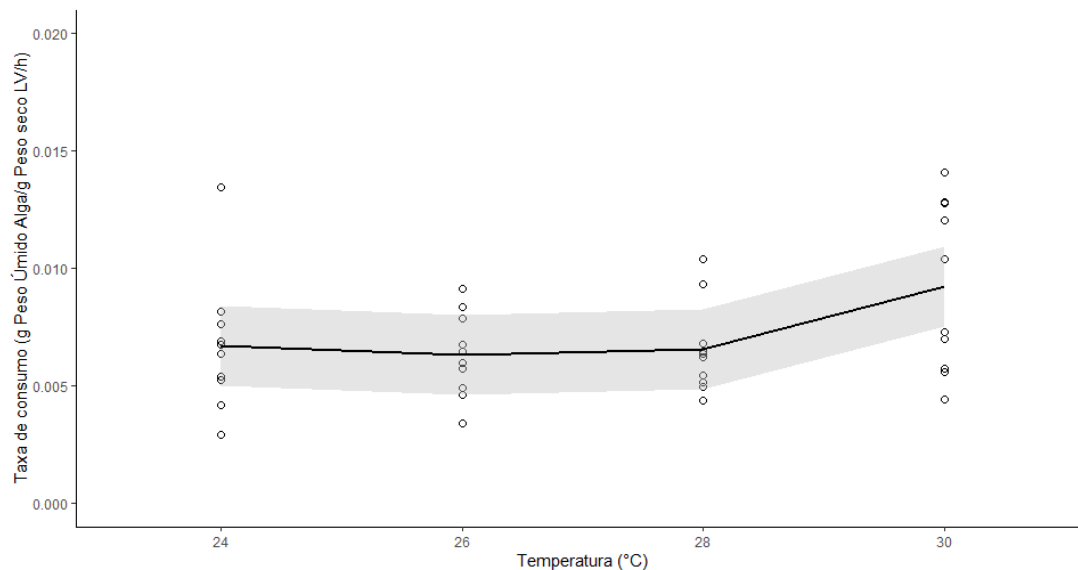
Na terceira abordagem experimental, a aclimação dos ouriços e das algas a diferentes temperaturas evidenciou o aumento do consumo de todas as espécies em comparação à primeira abordagem onde apenas os ouriços foram aclimatados (Figura 15B). Nas temperaturas acima de 24 °C, *Ulva* sp representou mais da metade dos fragmentos consumidos (Figura 19A), com taxas de consumo superiores a 0,01 g Peso Úmido Alga/g Peso Seco LV/h nas temperaturas de 26 °C e 28 °C (Figura 15B). As espécies *S. vulgare*. e *O. obtusiloba* representaram menos de um quarto do consumo em temperaturas mais elevadas (Figura 15.A). Na temperatura de 26 °C, foi observada a preferência pela alga *O. obtusiloba* em relação a *S. vulgare* na comparação com outras temperaturas (Figura 19A, B).



**Figura 15.** Taxas de consumo de *Lytechinus variegatus* no cenário 3. Os ouriços e as algas foram aclimatados a diferentes temperaturas. N = 10 por nível de temperatura e tipo de alga. As taxas de consumo são mostradas como uma parcela do consumo total (**A**) e medianas, interquartis e a área não discrepante (**B**). LV = *Lytechinus variegatus*.

### 5.3.4 Taxas de consumo total

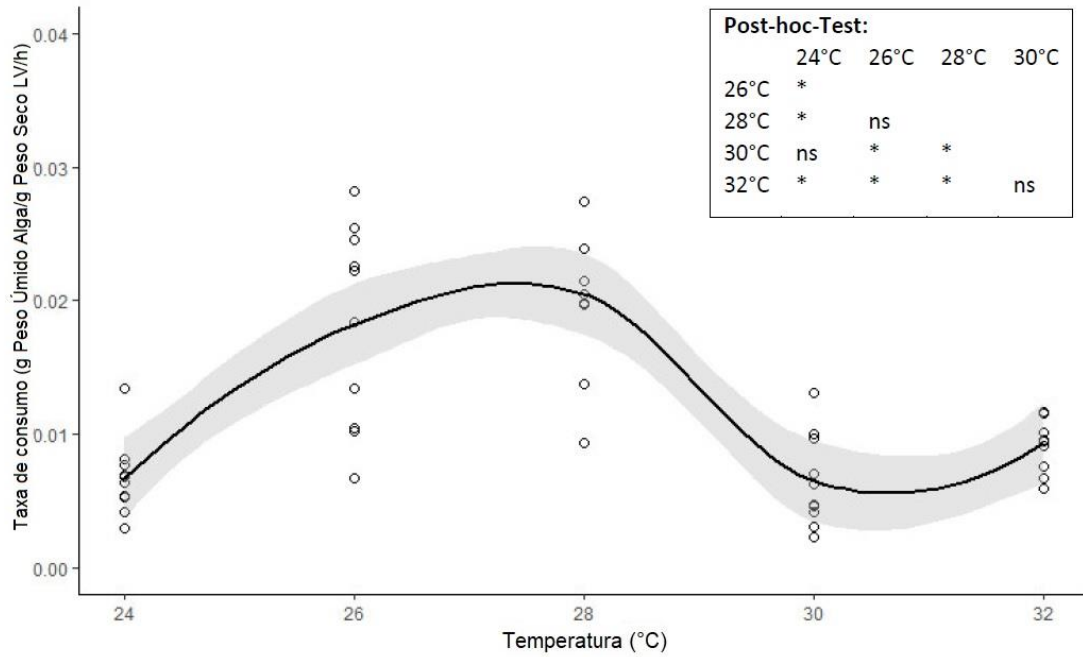
A taxa de consumo total de *L. variegatus* foi calculada através da adição das taxas de consumo das diferentes espécies de algas. Na primeira abordagem experimental, onde apenas as algas foram aclimatadas a diferentes temperaturas, as taxas de consumo total de *L. variegatus* não excederam 0,014 g Peso Úmido Alga/g Peso Seco LV/h. Os valores inicialmente mostraram uma tendência constante ao longo dos níveis de temperatura e aumentaram aos 30 °C (Figura 16), mas essa diferença não foi significativa.



**Figura 16.** Taxas de consumo total de *Lytechinus variegatus* na primeira abordagem experimental. Os ouriços foram mantidos a 24 °C, enquanto as algas *Sargassum vulgare*, *Osmundaria obtusiloba* e *Ulva* sp. foram aclimatados a diferentes temperaturas. N = 10 por nível de temperatura. Os pontos de dados com função de suavização são mostrados. LV = *Lytechinus variegatus*.

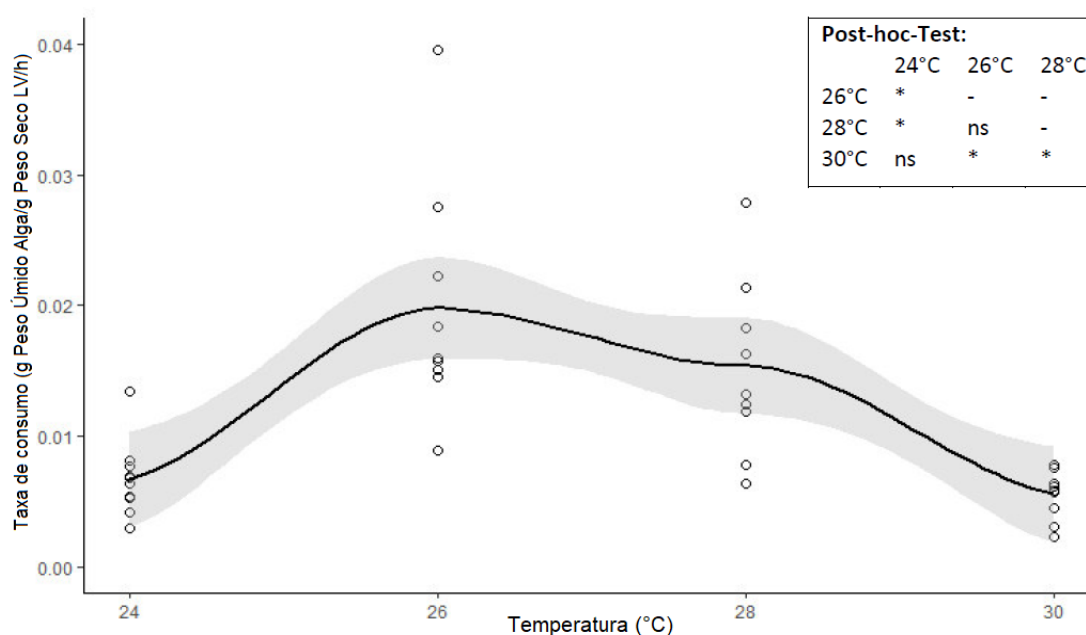
Na segunda abordagem, onde apenas os ouriços foram aclimatados a temperaturas mais altas, as taxas de consumo total nas faixas de temperatura média, ou seja, a 26 °C e 28 °C, foram significativamente diferentes da temperatura inicial de 24 °C e das temperaturas mais altas de 30 °C e 32 °C. As taxas de consumo total foram maiores na temperatura de 32 °C que a 30 °C, mas a diferença entre esses valores não foi significativa. Ao comparar as taxas de consumo total nas temperaturas de 24 °C e 30 °C, também não foi encontrada diferença significativa (Figura 17).





**Figura 17.** Taxas de consumo total de *L. variegatus* na segunda abordagem experimental. As algas *Sargassum vulgare*, *Osmundaria obtusiloba* e *Ulva* sp. foram mantidas a 24 °C, enquanto os ouriços foram aclimatados a diferentes temperaturas. n = 10 por nível de temperatura. Os pontos de dados com função de suavização e os resultados dos testes post-hoc (teste de Wilcoxon-Mann-Whitney-U) são mostrados. LV = *Lytechinus variegatus*. \* = significativo, ns = não significativo.

Quando os ouriços e as algas foram aclimatados a temperaturas mais altas, as taxas gerais de consumo não diferiram de forma significativa nas faixas de temperatura médias, ou seja, 26 °C e 28 °C. Valores significativamente mais altos foram encontrados na comparação entre a temperatura inicial de 24 °C e a temperatura máxima de 30 °C (Figura 18).



**Figura 18.** Taxas de consumo total de *Lytechinus variegatus* na terceira abordagem experimental. Os ouriços e as algas *Osmundaria obtusiloba*, *Sargassum vulgare* e *Ulva* sp. foram aclimatados a diferentes temperaturas. n = 10 por nível de temperatura. Os pontos de dados com função de suavização e os resultados dos testes post-hoc (teste de Wilcoxon-Mann-Whitney-U) são mostrados. LV = *Lytechinus variegatus*. \* = significativo, ns = não significativo.

Em duas das três abordagens experimentais, a temperatura teve um impacto significativo na taxa de consumo total de *L. variegatus*. Esses impactos foram observados quando apenas os ouriços foram aclimatados a diferentes temperaturas e quando houve a aclimação dos ouriços e das algas a temperaturas elevadas (Tabela 4).

**Tabela 4.** Influência da temperatura na taxa de consumo total de *L. variegatus*. Ouriços e/ou algas foram previamente ajustados a diferentes temperaturas. Resultados de um modelo aditivo geral com a variável de influências (temperatura). Npar = não paramétrico, GL = graus de liberdade, F = estatística F.

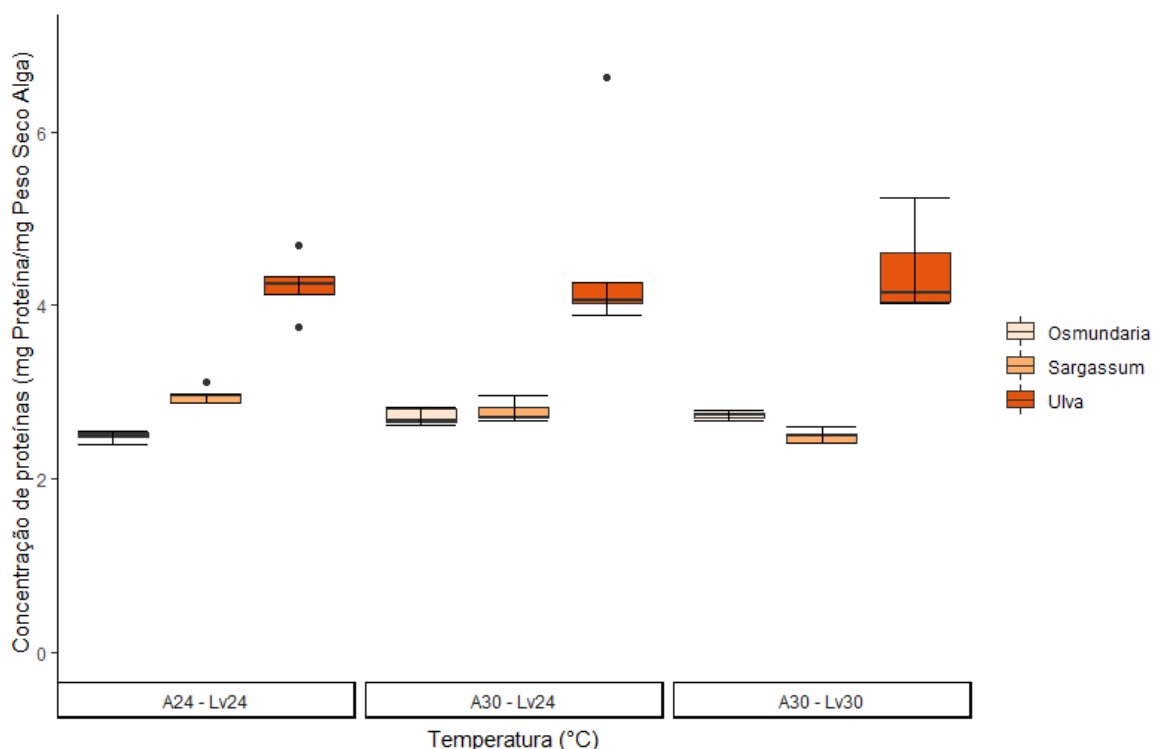
Tratamento	Npar GL	Npar F	p
Algas aclimatadas	2	1,471	0,245
Ouriços-do-mar aclimatados	3	19,574	2,88e <sup>-08</sup>
Todos os organismos aclimatados	2	23,235	3,791e <sup>-07</sup>

## 5.4 Concentração de Proteínas

A espécie *Ulva* sp. apresentou maior concentração de proteínas nas três abordagens experimentais realizadas, com conteúdo proteico acima de 4 µg proteínas/mg Peso Seco de Alga. As espécies *Sargassum vulgare* e *Osmundaria obtusiloba* apresentaram concentrações semelhantes entre os tratamentos, na faixa de 3 µg de proteína/mg Peso Seco de Alga (Figura 19). Um maior teor de proteínas foi encontrado em *S. vulgare* em comparação com *O. obtusiloba*, exceto na abordagem experimental em que as algas e os ouriços foram aclimatados a 30 °C (Figura 19). As diferenças interespecíficas demonstraram influência significativa na concentração de proteínas das espécies de algas analisadas, enquanto a temperatura e a interação entre temperatura e a espécie não demonstraram efeitos significativos (Tabela 5).

**Tabela 5.** Influência do tipo e temperatura das algas nas concentrações de proteínas das algas. Resultados do Modelo Linear Geral usando um teste do qui-quadrado. GL = Graus de Liberdade

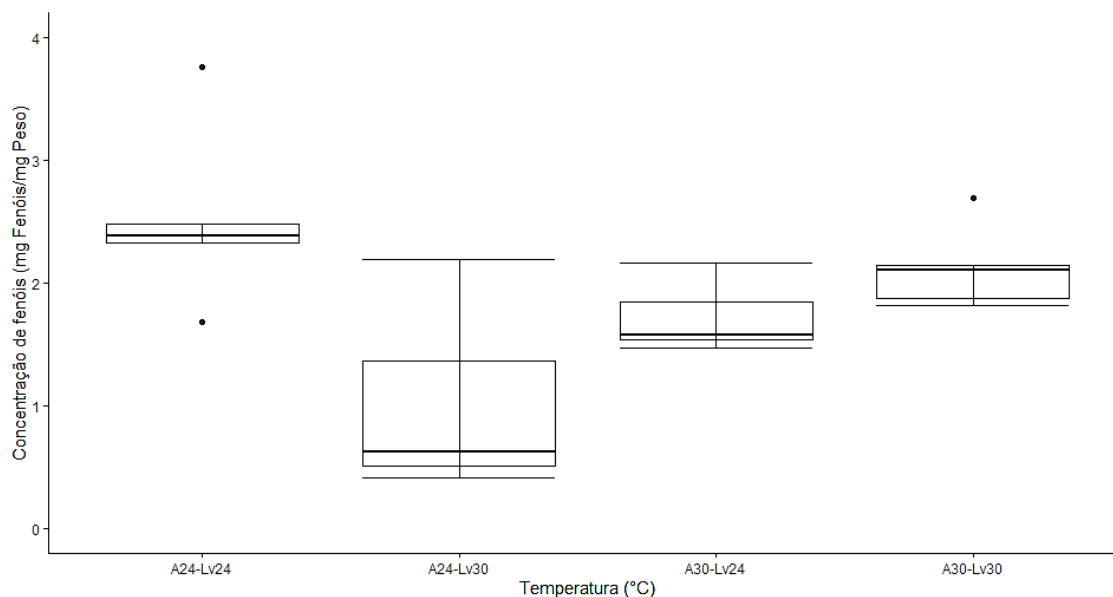
	GL	Desvio	Resid. df	Resid. Dev	p
Controle			44	2,973	
Espécies de algas	2	2,536	42	0,436	< 2e <sup>-16</sup>
Temperatura	2	0,015	40	0,421	0,465
Interação	4	0,102	36	0,319	0,038



**Figura 19.** Concentrações de proteínas encontradas nas algas em três combinações de tratamento. A24-O24 = algas a 24 °C e ouriços a 24 °C, A30-O24 = algas a 30 °C e ouriços a 24 °C, A30-S30 = algas a 30 °C e ouriços a 30 °C. n = 10 por espécie para cada tratamento. Medianas, interquartis e a área não-discrepante são mostrados.

## 5.5 Teor de Polifenóis

Apenas a alga parda *Sargassum vulgare* foi utilizada para a análise de polifenóis (algas vermelhas e verdes normalmente não produzem esta classe de substâncias). A menor concentração de polifenóis foi observada na abordagem experimental onde os ouriços-do-mar foram inicialmente aclimatados a 30 °C e as algas aclimatadas à temperatura inicial de 24 °C foram oferecidas como alimento, com uma mediana de 0,625 µg de fenóis/mg de Algas. O valor encontrado está significativamente abaixo das concentrações de polifenóis das outras três abordagens (Figura 20), indicando que a mudança brusca de temperatura influenciou significativamente as concentrações de polifenóis em *S. vulgare* (Tabela 6).



**Figura 20.** Teor de polifenóis encontrados em *S. vulgare* após diferentes abordagens experimentais. A24-Lv24 = algas aclimatadas e ouriços-do-mar aclimatados a 24 °C; A24-Lv30 = algas aclimatadas a 24 °C e ouriços-do-mar a 30 °C; A30-Lv24 = algas aclimatadas a 30 °C e ouriços-do-mar a 24 °C, A30-Lv30 = algas aclimatadas a 30 °C e ouriços-do-mar a 30 °C. n = 5 por combinação de temperatura. Medianas, interquartis e a área não-discrepante são mostrados. mg = peso seco.

**Tabela 6.** Influência da temperatura na concentração de polifenóis de *S. vulgare*. Resultado da ANOVA.

	df	SS	MS	F	p
Temperatura	3	6,183	2,061	6,129	0,006

## 5.6 Qualidade da água

O suprimento de oxigênio para a água estava presente em todos os controles com saturação acima de 82% (Tabela 8). A concentração de amônia na maioria dos controles foi de 0 mg/L. Em alguns casos, os valores de nitratos estavam acima das concentrações de nitritos e fosfatos, mas em geral uma concentração de nutrientes de 5 mg/l não foi excedida. A salinidade variou entre 33 e 36, flutuações possivelmente decorrentes das trocas parciais do volume de água e os valores de pH diferiram nas amostras individuais em um máximo de 1,1.

**Tabela 7.** Intervalos de valores dos parâmetros que foram determinados para verificar a qualidade da água.

	Amônia (mg/L)	Nitrito (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Fosfato (mg/L)	Salinidade	pH	Oxigênio Dissolvido (%)
<b>Piloto 1</b>							
Mínimo	0	0	0	0	33	7,8	82,7
Máximo	0,1	0,25	0,5	5	36	8,4	99,1
Média	0	0,1	2,5	0,5	34	8,1	93,8
<b>Piloto 2 e Estudo</b>							
<b>Principal</b>							
Mínimo	0	0	0	0	33	7,8	93,9
Máximo	0	0,3	5	0,5	36	8,9	100
Média	0	0	0	0,1	34	8,2	96,8

## 6. Discussão

### 6.1 Taxas de consumo

A Teoria Metabólica da Ecologia (Metabolic Theory of Ecology - MTE) descreve a importância das taxas metabólicas para a complexidade estrutural, espacial e temporalmente dinâmica dos sistemas, permitindo inferir sobre processos ecológicos em todos os níveis organizacionais (Brown *et al.* 2004). Estudos sugerem que a temperatura possui maior influência nas taxas de respiração heterotrófica que na produtividade autotrófica, portanto é esperado que o metabolismo dos herbívoros ectotérmicos aumente de maneira proporcional ao aquecimento do ambiente. (Brown *et al.* 2004, Mertens *et al.* 2015). Deste modo, o aquecimento futuro dos oceanos provavelmente levará a um aumento no controle “top-down” dos produtores primários marinhos devido ao aumento da pressão de forrageamento exercida por herbívoros para suprir sua maior demanda energética (Allen *et al.*, 2005; López Urrutia *et al.*, 2006; O’Connor, 2009; Yvon-Durocher *et al.*, 2010; Carr & Bruno, 2013).

Os limites de tolerância térmica de cada organismo também influenciam sua sobrevivência e seu comportamento, determinando o intervalo de temperatura ideal para que seus processos biológicos ocorram e os limites críticos que levam à mortalidade. (Angilletta *et al.* 2002; Pörtner & Farrell 2008). O aquecimento pode, portanto, melhorar o desempenho dos indivíduos ao aumentar suas taxas metabólicas, desde que sua influência esteja restrita aos limites de tolerância térmica do organismo. Stillman (2003) investigou a capacidade de aclimação de caranguejos do gênero *Petrolisthes* a diferentes níveis de temperatura e concluiu que os impactos das mudanças climáticas nos organismos dependem da proximidade em que estes se encontram de seus limites de tolerância térmica na natureza e de sua capacidade de adaptação ao aumento da temperatura. As variações nas taxas de consumo de *L. variegatus* analisadas no Piloto 1 corroboram com esta observação, visto que o aumento do consumo ocorreu de maneira paralela ao aumento da temperatura até o limite de 28°C, a partir de onde começam a declinar. A redução da taxa de consumo a 30 °C possivelmente evidencia a aproximação do limite da faixa de tolerância térmica da espécie e a queda no desempenho geral devido ao desequilíbrio entre respiração e circulação para suprir o aumento nas demandas energéticas (Pörtner, 2001).

Apesar da relativa estabilidade das regiões tropicais, ambientes de pouca profundidade e entremarés são propensos a enorme variabilidade térmica no tempo e no espaço (Helmuth & Hofmann, 2001). Os organismos ectotérmicos que habitam esses ecossistemas constituem modelos importantes para a compreensão dos impactos das mudanças climáticas, uma vez que estes estão sujeitos às amplas variações de temperatura em tais ambientes, que pode ocorrer em escalas curtas de tempo devido ao ciclo das marés e variações diurnas e noturnas, bem como escalas de tempo longas devido ao aumento gradual da temperatura superficial da água (Helmuth *et al.*, 2010; Lima & Wetthey, 2012, Rubal *et al.*, 2013). As respostas fisiológicas de tais espécies ao estresse térmico são únicas, revelando respostas adaptativas específicas e estratégias para lidar com as mudanças em curto e médio prazo (Helmuth & Hofmann, 2001; Somero, 2002). Devido a estas e outras características, o leve aumento na taxa de consumo observado à temperatura de 32°C pode ser interpretado como resposta da capacidade de adaptação da espécie ao estresse térmico, visto que os indivíduos foram expostos ao processo de aquecimento por mais tempo para alcançar sua temperatura final.

## **6.2 Influência do aumento da temperatura na preferência alimentar**

A seletividade alimentar de ouriços-do-mar provenientes de regiões tropicais é resultado da relação entre a disponibilidade do recurso, condições abióticas e sua facilidade de ingestão, evitando itens alimentares que possuam fortes defesas químicas ou estruturais contra a herbivoria (Larson *et al.*, 1980; Vadas *et al.*, 1982; McCarty & Sotka, 2013). Souza *et al.* (2008) analisaram a preferência alimentar de *L. variegatus* entre diferentes espécies de algas em seu estado natural e, entre outras espécies, encontrou predileção por *Ulva* sp., seguida por *Sargassum* sp. e *Osmundaria obtusiloba*, respectivamente. A ordem de preferência foi similar à observada neste estudo, e é possivelmente explicada pelas diferenças estruturais de cada espécie, uma vez que algas lisas e com lâminas foliáceas são preferidas por ouriços-do-mar, enquanto algas ramificadas e com lâminas coriáceas são menos atraentes (Littler *et al.*, 1983).

A herbivoria possui grande impacto na distribuição de algas e na composição da comunidade bentônica (Hay, 1984; Duffy & Hay 2000). As interações e a sincronidade das repostas de herbívoros e produtores a variações de fatores abióticos no ambiente são



de extrema relevância para a compreensão dos efeitos das mudanças climáticas nos ecossistemas (Ghedini *et al.* 2015). Mertens *et al.* (2015) constataram que as taxas de consumo do gastrópode *Turbo undulatus* atingiram valores máximos a temperaturas mais baixas que a observada para o pico de crescimento das algas que estes consomem, gerando uma assincronia que reflete as diferenças nas respostas fisiológicas desses organismos. Resultados similares foram encontrados no presente estudo, onde as algas permaneceram viáveis nos níveis de temperatura de 28 e 30 °C, após *L. variegatus* demonstrar declínio de suas taxas de consumo. Os impactos das respostas fisiológicas diferenciadas podem variar de acordo com o grau de aquecimento encontrado no ambiente, levando ao aumento do forrageamento por parte dos herbívoros e consequente redução da área de cobertura das algas ou ao crescimento excessivo destas quando as taxas de consumo são reduzidas, alterando a composição da comunidade.

A composição da dieta e as taxas de consumo de *L. variegatus* não sofreram alterações significativas quando apenas as algas foram expostas a diferentes níveis de aquecimento, evidenciando a preferência acentuada por *Ulva* sp. No entanto, nos tratamentos onde apenas os ouriços-do-mar foram aclimatados ou ambos foram expostos a temperaturas elevadas, foram observadas variações nas taxas de consumo e na composição alimentar, o que permite inferir sobre os impactos do aquecimento em sua dieta. Quando *L. variegatus* foi aclimatado à temperatura de 30 °C e posteriormente alimentado com algas que permaneceram à temperatura ambiente, a espécie *S. vulgare* foi preferencialmente consumida em contraste com a preferência por *Ulva* sp. observada em outros tratamentos. A mudança na preferência também foi observada quando algas e ouriços-do-mar foram aclimatados a diferentes níveis de temperatura, com a taxa de consumo de *O. obtusiloba* significativamente maior que a de *S. vulgare* para a temperatura de 26 °C. É possível observar que as ondas de calor podem alterar significativamente o comportamento de escolha alimentar de *L. variegatus* apenas se os indivíduos estiverem diretamente expostos ao aumento de temperatura.

### **6.3 Concentração de Proteínas**

Não houve diferença significativa no conteúdo proteico das algas expostas aos diferentes tipos de tratamento, portanto não foi possível determinar a influência da temperatura no teor proteico das espécies analisadas. O mesmo fato já foi previamente

observado em macroalgas da espécie *Desmarestia* spp., onde a aclimação a temperaturas previstas em cenários de aquecimento dos oceanos não resultou em alterações dos conteúdos lipídicos e proteicos das algas (Schram *et al.* 2017). Pode-se presumir que o aumento das temperaturas em um cenário de onda de calor marinha provavelmente não afetará, em curto prazo, o conteúdo proteico das algas analisadas.

Por outro lado, as concentrações proteicas variaram significativamente entre as espécies utilizadas no estudo. *Ulva* sp. apresentou maior concentração de proteínas nos tratamentos analisados, em contraste com *S. vulgare*. e *O. obtusiloba*, que apresentaram valores menores e muito semelhantes entre si. O conteúdo proteico pode justificar a preferência de *L. variegatus* por *Ulva* sp., uma vez que as taxas de consumo desta espécie foram superiores na maioria dos cenários analisados. As proteínas representam grande fonte de nitrogênio, mas são menos eficientes como fonte de energia que os carboidratos (Marsh & Watts, 2001). O excesso de proteínas pode ter um efeito negativo nas ovas dos ouriços-do-mar (Pearce *et al.*, 2002), enquanto a falta deste componente pode ser um fator limitante para seu crescimento (Taylor, 2006). As flutuações na disponibilidade de nutrientes e energia, portanto, são capazes de influenciar o desenvolvimento e reprodução de *L. variegatus* (Heflin *et al.* 2014a, b).

Segundo Machado *et al.* (2018), o comportamento associado à ingestão de determinado nutriente pode ser indicado por diferentes critérios, como a ingestão de alimentos que variam no conteúdo nutricional e a ingestão de um único tipo de alimento que supre todas as necessidades nutricionais. Apesar da importância do conteúdo proteico como recurso nutricional, os organismos marinhos precisam de outros nutrientes para um desenvolvimento ideal, o que explica por que a relação observada entre o conteúdo proteico e as preferências alimentares não são necessariamente uma característica geral observada na natureza. Um exemplo da variação desta ordem encontrada no presente estudo é a abordagem em que os ouriços-do-mar foram mantidos a 30 °C e alimentados com algas aclimatadas a 24 °C, onde a preferência por *S. vulgare* foi mais acentuada. A menor quantidade de *Ulva* sp. ingerida nessas condições em contraste com o volume de *S. vulgare* não pode ser justificada apenas pelo conteúdo proteico encontrado nas algas, sendo provavelmente relacionado a outros fatores. Angell *et al.* (2012) também encontraram resultados divergentes ao analisar a preferência alimentar do gastrópode *Haliotis asinina*, onde a presença de defesas químicas nas algas de maior teor proteico impediu que estas fossem preferencialmente consumidas.

#### 6.4 Teor de Polifenóis

As concentrações de polifenóis de *S. vulgare* variaram quando exemplares aclimatados à temperatura de 24 °C foram alocados para servir de alimentos a ouriços-do-mar que estavam aclimatados à temperatura de 30 °C. O conteúdo de polifenóis encontrado foi menor que o observado nas algas lentamente aclimatadas a 30 °C ou mantidas permanentemente em 24 °C, o que pode sugerir que o estresse térmico de curto prazo causa diminuição no teor de polifenóis dessas algas. Essa observação poderia explicar a preferência acetuada por *S. vulgare* nesta abordagem, em detrimento de *Ulva* sp. que apresentou maior concentração proteica. Gouvêa *et al.* (2017) observaram padrão similar na macroalga *Laurencia catarinenses*, onde a concentração de polifenóis foi reduzida pela metade após o aumento de temperatura de 20 °C para 28 °C no período de 4 h, simulando os efeitos de uma onda de calor. Phelps *et al.* (2017) também encontraram alteração na preferência de gastrópodes e anfípodes por *Laurencia brongniartii* devido à redução significativa de seu conteúdo fenólico como resultado dos tratamentos de aumento da temperatura. Cabe ressaltar que as algas expostas a altas temperaturas sofreram alterações visíveis, como a mortalidade acentuada de *O. obtusiloba* e a disseminação de epibiontes em *S. vulgare*. Esses eventos podem ser explicados pela redução das defesas químicas devido ao estresse térmico do tratamento. Guan *et al.* (2020) observou que as defesas químicas de *Zostera marina* variaram em diferentes cenários de aquecimento, aumentando sua susceptibilidade a bactérias. Apesar do impacto mais rápido, as ondas de calor marinhas apresentaram menor influência na capacidade de defesa de *Z. marina* em comparação com o aquecimento sazonal.

No estudo de Steele & Valentine (2012), foi observado que a concentração de polifenóis nas algas depende menos da pressão de forrageamento por *L. variegatus* que da época do ano e, portanto, da temperatura. O aumento da herbivoria estimulou o acúmulo de taninos, enquanto as concentrações de polifenóis foram diretamente relacionadas ao aquecimento lento que ocorre nos meses de verão e outono. Esta correlação permite inferir que os resultados encontrados no presente estudo provavelmente se aplicam a eventos de ondas de calor, onde ocorre rápido aumento da temperatura. A suposição de que *L. variegatus* prefere algas com baixa concentração de polifenóis, no entanto, é dependente de vários fatores e condições iniciais. Alterações nas defesas químicas das algas em resposta ao estresse térmico podem induzir a proliferação

de epibiontes. Segundo o estudo de Klumpp *et al.* (1993), ouriços-do-mar demonstram preferência por lâminas de algas que apresentam biofilme em detrimento das que não possuem nenhum tipo de organismo associado, possivelmente devido à maior oferta de energia. Os herbívoros marinhos também manifestam preferência alimentar acentuada por algas que produzem metabólitos secundários quando estas estão presentes em seu habitat, em detrimento de espécies com menos defesas químicas que não fazem parte de seu ambiente natural (Engelen *et al.*, 2011; McCarty & Sotka 2013).

## 6.5 Interações entre herbívoros e algas em função do ecossistema

Eventos climáticos extremos como ondas de calor marinhas são fatores-chave que podem influenciar a biodiversidade de um ecossistema ao aumentar a pressão de forrageamento de herbívoros marinhos (Wernberg *et al.* 2012, Zarco-Perello *et al.* 2017). Para compreender melhor a influência de longo prazo de uma onda de calor no sistema, outros fatores, como o crescimento e a multiplicação de organismos, bem como a respiração e a mobilidade dos ouriços-do-mar deveriam ser analisados. Outros estudos mostram que a dieta de *L. variegatus* é amplamente baseada no acaso (Cobb & Lawrence 2005), mas um alto consumo de algas flutuantes pode ser determinado. A ocorrência das algas no ambiente não foi testada como fator de influência nas escolhas alimentares dos ouriços-do-mar no presente estudo. As três espécies utilizadas ocorrem no ambiente natural de *L. variegatus*, mas *Ulva* sp. pode ser encontrada naturalmente em maior quantidade nas áreas próximas ao costão rochoso. Durante o experimento, todas as algas foram oferecidas aos ouriços-do-mar igualmente, portanto pode-se presumir que o estudo não reflete a disponibilidade natural de recursos no ecossistema em que *L. variegatus* foi coletado e poderia, portanto, desenvolver-se de forma diferente *in situ*. Além das características morfológicas das algas e sua composição química, a escolha do alimento também é determinada por sua disponibilidade e por mecanismos individuais dos herbívoros (Pagès *et al.* 2017). Portanto, as taxas de consumo e composição da dieta de *L. variegatus* podem ser vistas como alguns dos muitos fatores que influenciam a interação entre produtores e herbívoros no sistema.

Além da aptidão individual dos organismos, fatores abióticos do sistema também influenciam as populações de ouriços-do-mar. Foi demonstrado que a acidificação do

oceano não afeta seu desempenho fisiológico, mas pode afetar negativamente a estrutura de seus espinhos, a integridade de sua carapaça e seu sistema imunológico (Emerson *et al.* 2017). Adaptações ao estresse térmico, como aumento da síntese de proteínas ou diminuição do crescimento, só podem ser alcançadas dentro da faixa de tolerância de uma espécie. Em ouriços-do-mar, o aumento da temperatura causa maior mortalidade, redução do metabolismo a longo prazo e aumento da expressão de HSP70, proteína relacionada ao choque térmico (Harianto *et al.* 2018). Um metabolismo mais baixo nas temperaturas de 30 °C e 32 °C em comparação com as temperaturas de 26 °C e 28 °C foi observado no presente estudo ao compararmos o declínio das taxas de consumo. As ondas de calor, portanto, têm um efeito negativo no balanço energético dos herbívoros, e os mecanismos de reação a esse estresse diferem entre espécies de acordo com a proximidade dos limites de sua faixa de tolerância térmica (Marin-Guirao *et al.* 2017).

## 7. Considerações Finais

As taxas de consumo de *L. variegatus* aumentaram de maneira significativa em resposta ao aumento da temperatura, tendência que foi observada até o momento em que o limite de tolerância térmica foi atingido. A preferência alimentar dos ouriços-do-mar também foi influenciada pelo aumento de temperatura, indicando que sua dieta pode ser alterada em resposta a eventos de onda de calor marinhas. Essa mudança na composição da dieta está fortemente relacionada aos mecanismos de adaptação do herbívoro, uma vez que, quando apenas as algas foram aclimatadas a diferentes temperaturas, não houve mudança significativa. A alteração da preferência alimentar de *L. variegatus* pode ser explicada por variações na presença de metabólitos secundários nas algas e em seu teor proteico, embora a presença de epibiontes também seja um fator amplamente descrito na literatura para influenciar este comportamento. A mudança na interação entre algas e herbívoros desencadeada pelo aumento da temperatura pode ser relevante para a estrutura e funcionalidade dos ecossistemas bentônicos, levando ao aumento da pressão de forrageamento sobre determinadas espécies.

Diante da complexidade das interações encontradas, é possível ressaltar a importância da obtenção de dados sobre essas relações e da realização do monitoramento de ambientes vulneráveis, a fim de observar possíveis efeitos das mudanças climáticas *in*

*situ*. Estudos fisiológicos que investiguem os limites de tolerância térmica das espécies são imprescindíveis para determinar quais espécies vivem atualmente próximas de seus limites de tolerância térmica e os possíveis impactos do aquecimento dos oceanos em sua sobrevivência.

## 8. Referências

- Alcantara, L.B., Noro, T., 2005. Effects of macroalgal type and water temperature on macroalgal consumption rates of the abalone *Haliotis diversicolor* Reeve. *J. Shellfish Res.* 24(4), 1169–1177.
- Allen, J. A., Krauss, K. W., Ewel, K. C., Keeland, B. D., & Waguk, E. E. 2005. A tropical freshwater wetland: I. Structure, growth, and regeneration. *Wetlands Ecology and Management*, 13(6), 657-669.
- Angell, A.R., Pirozzi, I., de Nys, R., Paul N.A. 2012. Feeding preferences and the nutritional value of tropical algae for the abalone *Haliotis asinina*. *PLoS ONE* 7(6): e38857, 1-10.
- Angilletta Jr, M. J., Niewiarowski, P. H., & Navas, C. A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of thermal Biology*, 27(4), 249-268.
- Barnes, D. K., Peck, L. S., & Morley, S. A. 2010. Ecological relevance of laboratory determined temperature limits: colonization potential, biogeography and resilience of Antarctic invertebrates to environmental change. *Global Change Biology*, 16(11), 3164-3169.
- Beddingfield, S. D., & McClintock, J. B. 1998. Differential survivorship, reproduction, growth and nutrient allocation in the regular echinoid *Lytechinus variegatus* (Lamarck) fed natural diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 226(2), 195-215.
- Beddingfield, S. D., & McClintock, J. B. 2000. Demographic characteristics of *Lytechinus variegatus* (Echinoidea: Echinodermata) from three habitats in a North Florida Bay, Gulf of Mexico. *Marine Ecology*, 21(1), 17-40.
- Bennett, S., Wernberg, T., Harvey, E. S., Santana-Garcon, J., and Saunders, B. J. 2015 b. Tropical herbivores provide resilience to a climate-mediated phase shift on temperate Reefs. *Ecol. Lett.* 18, 714–723.
- Bozinovic, F., & Pörtner, H. O. 2015. Physiological ecology meets climate change. *Ecology and evolution*, 5(5), 1025-1030.

- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Brothers, C. J., & McClintock, J. B. 2015. The effects of climate-induced elevated seawater temperature on the covering behavior, righting response, and Aristotle's lantern reflex of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 467, 33-38.
- Brown, J.H., Gillooly, F., Allen, A.P., Savage, V.M., West, G.B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85(7), 1771–1789.
- Carr, L. A., & Bruno, J. F. 2013. Warming increases the top-down effects and metabolism of a subtidal herbivore. *PeerJ*, 1, e109.
- Chen, I. C., Hill, J. K., Ohlemuller, R., Roy, D. B. & Thomas, C. D. 2011. Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science* 333, 1024–1026
- Cobb, J., Lawrence, J.M., 2005. Diets and coexistence of the sea urchins *Lytechinus variegatus* and *Arbacia punctulata* (Echinodermata) along the central Florida gulf coast. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 295, 171–182.
- Compton, T. J., M. J. A. Rijkenberg, J. Drent, and T. Piersma. 2007. Thermal tolerance ranges and climate variability: a comparison between bivalves from differing climates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 352:200–211.
- Coumou, D. & Rahmstorf, S. 2012. A decade of weather extremes. *Nature Climate Change* 2, 491–496.
- Coutinho, M. C. L., de Mesquita, M. M. F., da Silva Braga, A. C., & Jou, R. M. 2015. Percepção ambiental de moradores e frequentadores da reserva extrativista marinha de Itaipu, município de Niterói. *Anais do Uso Público em Unidades de Conservação*, 3(7), 13-22.
- Cruz-Riveira, E., Hay, M.E., 2000a. Can quantity replace quality? Food choice, compensatory feeding, and fitness of marine mesograzers. *Ecology* 81(1), 201-219.
- Cruz-Rivera, E., Hay, M.E., 2000 a. The effects of diet mixing on consumer fitness: macroalgae, epiphytes, and animal matter as food for marine amphipods. *Oecologia* 123, 252-264.



- Davis, A.J., Jenkinson, L.S., Lawton, J.H., Shorrocks, B., Wood, S. 1998. Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature* 391, 783–786.
- Donelson, J. M., Sunday, J. M., Figueira, J. F., Gaitan-Espitia, J.-D., Hobday, A. J., Johnson, C. R. 2019. Plasticity, adaptation and range shifts: a model to describe their interactions in response to environmental change for marine ectotherms. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 374:20180186.
- Duffy, J. E., & Hay, M. E. 2000. Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecological monographs*, 70(2), 237-263.
- Dunson, W.A., Travis, J., 1991. The role of abiotic factors in community organization. *Am. Nat.* 138, 1067–1091.
- Emerson, C.E., Reinardy, H.C., Bates, N.R., Bodnar, A.G. 2017. Ocean acidification impacts spine integrity but not regenerative capacity of spines and tube feet in adult sea urchins. *R. Soc. Open Sci.* 4: 170140.
- Engelen, A.H., Henriques, N., Monteiro, C., Santos, R. 2011. Mesograzers prefer mostly native seaweeds over the invasive brown seaweed *Sargassum muticum*. *Hydrobiologia* 669,157–165.
- Enquist, B. J., Economo, E. P., Huxman, T. E., Allen, A. P., Ignace, D. D., & Gillooly, J. F. 2003. Scaling metabolism from organisms to ecosystems. *Nature*, 423(6940), 639-642.
- Fabbrocini, A., Volpe, M. G., Di Stasio, M., D'Adamo, R., Maurizio, D., Coccia, E., & Paolucci, M. 2012. Agar-based pellets as feed for sea urchins (*Paracentrotus lividus*): Rheological behaviour, digestive enzymes and gonad growth. *Aquaculture Research*, 43(3), 321-331.
- Fernandez, G. B. 1998. Caracterização Morfodinâmica do Prisma Praial sob Influência de Sedimentos Fluviais, no Embaiamento Rio das Ostras-Cabo Búzios, RJ (Doctoral dissertation, Dissertação de Mestrado) Instituto de Geociências. Programa de Pós Graduação em Geografia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro (RJ).
- Frölicher, T.L., Fischer, E.M., Gruber, N. 2018. Marine heatwaves under global warming. *Nature* 560, 360-364.

- Frölicher, T.L., Laufkötter, C. 2018. Emerging risks from marine heat waves. *Nat Commun.* 9: 650.
- Ghedini, G., Russell, B. D., & Connell, S. D. 2015. Trophic compensation reinforces resistance: herbivory absorbs the increasing effects of multiple disturbances. *Ecology Letters*, 18(2), 182-187.
- Gillooly, J. F., Brown, J. H., West, G. B., Savage, V. M., & Charnov, E. L. 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *science*, 293(5538), 2248-2251.
- Glynn, P. W., Wellington, G. M., & Birkeland, C. 1979. Coral reef growth in the Galapagos: limitation by sea urchins. *Science*, 203(4375), 47-49.
- Gouvêa, L.P., Schubert, N., Martins, C.D.L., Sissini, M., Ramlov, F., Rodrigues, E.R. de, Bastos, E.O., Freire, V.C., Maraschin, M., Simonassi, J.C., Varela, D.A., Franco, D., Cassano, V., Fonseca, A.L., Barufi J, B., Horta, P.A. 2017. Interactive effects of marine heatwaves and eutrophication on the ecophysiology of a widespread and ecologically important macroalga. *Limnol. Oceanogr.* 62, 2056-2075.
- Guan, C., Saha, M., & Weinberger, F. 2020. Simulated heatwaves lead to upregulated chemical defense of a marine foundation macrophyte against microbial colonizers. *Frontiers in Marine Science*, 7, Art-Nr.
- Hansen, J., Sato, M., Ruedy, R., Lo, K., Lea, D. W., & Medina-Elizade, M. 2006. Global temperature change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(39), 14288-14293.
- Hariato, J., Nguyen, H.D., Holmes, S.P., Byrne, M. 2018. The effect of warming on mortality, metabolic rate, heat-shock protein response and gonad growth in thermally acclimated sea urchins (*Heliocidaris erythrogramma*). *Mar. Biol.* 165, 96.
- Harley, C. D. 2003. Abiotic stress and herbivory interact to set range limits across a two-dimensional stress gradient. *Ecology*, 84(6), 1477-1488.

- Harley, C. D., & Paine, R. T. 2009. Contingencies and compounded rare perturbations dictate sudden distributional shifts during periods of gradual climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(27), 11172-11176.
- Hawkins, S.J., Sugden, H.E., Mieszkowska, N., Moore, P., Polczanska, E., Leaper, R., Herbert, R.J.H., Genner, M.J., Moschella, P.S., Thompson, R.C., Jenkins, S.R., Southward, A.J., Burrows, M.T. 2009. Consequences of climate driven biodiversity changes for ecosystem functioning of North European Rocky Shores. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 396, 245–259
- Hay, M.E., 1984. Patterns of fish and urchin grazing on caribbean coral reefs: Are previous results typical? *Ecology* 65(2), 446-454.
- Heck, K. L., & Valentine, J. F. 1995. Sea urchin herbivory: evidence for long-lasting effects in subtropical seagrass meadows. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 189(1-2), 205-217.
- Heflin, L.E., Gibbs, V.K., Powell, M.L, Makowsky, R., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L., Watts, S.A. 2012a. Effect of dietary protein and carbohydrate levels on weight gain and gonad production in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. *Aquaculture*. 358-359, 253-261. 50
- Heflin, L.E., Gibbs, V.K., Powell, M.L, Makowsky, R., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L. 2012b. Effect of diet quality on nutrient allocation to the test and Aristotle's lantern in the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816). *J. Shellfish. Res.* 31(3), 867-874.
- Helmuth, B.S.T. & Hofmann, G.E. 2001. Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biol. Bull.* 201, 374–384
- Helmuth, B., Broitman, B. R., Yamane, L., Gilman, S. E., Mach, K., Mislán, K. A. S., & Denny, M. W. 2010. Organismal climatology: analyzing environmental variability at scales relevant to physiological stress. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 995-1003.
- Hill, S. K., & Lawrence, J. M. 2003. Habitats and Characteristics of the Sea Urchins *Lytechinus variegatus* and *Arbacia punctulata* (Echinodermata) on the Florida Gulf-Coast Shelf. *Marine Ecology*, 24(1), 15-30.

- Hobday, A.J., Alexander, L.V., Perkins, S.E., Smale, D.A., Straub, S.C., Oliver, E.C.J., Benthuyssen, J., Burrows, M.T., Donat, M.G., Feng, M., Holbrook, N.J., Moore, P.J., Scannell, H.A., Gupta, A.S., Wernberg, T. 2015. A hierarchical approach to defining marine heatwaves. *Prog. Oceanogr.* 141, 227-238.
- Hobday, A.J., Oliver, E.C.J., Sen Gupta, A., Benthuyssen, J.A., Burrows, M.T., Donat, M.G., Holbrook, N.J., Moore, P.J., Thomsen, M.S., Wernberg, T., Smale, D.A., 2018. Categorizing and naming marine heatwaves. *Oceanography* 31(2), 162-173.
- Hughes, T. P., Kerry, J. T., Baird, A. H., Connolly, S. R., Chase, T. J., Dietzel, A., & Woods, R. M. 2019. Global warming impairs stock–recruitment dynamics of corals. *Nature*, 568 (7752), 387-390.
- Jentsch A, Kreyling J, Beierkuhnlein C. 2007 A new generation of climate-change experiments: events, not trends. *Front. Ecol. Environ.* 5, 365–374.
- Klinger, T.S., Hsieh, H.L., Pangallo, R.A., Chen, C.P., Lawrence, J.M., 1986. The effect of temperature on feeding, digestion, and absorption of *Lytechinus variegatus* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea). *Physiol. Zool.* 59(3).
- Klumpp, D. W., Salita-Espinosa, J. T., & Fortes, M. D. 1993. Feeding ecology and trophic role of sea urchins in a tropical seagrass community. *Aquatic Botany*, 45(2-3), 205-229.
- Kordas, R.L., Harley, C.D.G., Connor, M.I.O., 2011. The ecology in a warming world: The influence of temperature on interspecific interactions in marine systems. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 400, 218–226.
- Kroeker, K. J., Kordas, R. L., Crim, R. N., Singh, G. G. 2010. Meta- analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecol. Lett.* 2010, 13, 1419–1434
- Lamarck, J.B.M. de, 1816. *Histoire naturelle des animaux sans vertèbres*. Tome troisième. Paris: Deterville/ Verdière, 48. Lamouroux, J.V.F., 1813. Essai sur les genres de la famille des thalassiphytes non articulées. *Annales du Muséum d'Histoire Naturelle*, Paris 20: 21-47, 115-139, 267-293, pls 7-13.

- Larson, B. R., Vadas, R. L., & Keser, M. 1980. Feeding and nutritional ecology of the sea urchin *Strongylocentrotus drobachiensis* in Maine, USA. *Marine Biology*, 59(1), 49-62.
- Lenoir, J.; Svenning, J. C. 2015. Climate-related range shifts – a global multidimensional synthesis and new research directions. *Ecography*, 38,15–28.
- Leung, J.Y.S., Connell, S.D., Russell, B.D., 2017. Heatwaves diminish the survival of a subtidal gastropod through reduction in energy budget and depletion of energy reserves. *Sci. Rep.* 7: 17688.
- Lima, F. P. & Wethey, D. S. 2012. Three decades of high-resolution coastal sea surface temperatures reveal more than warming. *Nat. Commun.* 3,1–13.
- Littler, M. M., Taylor, P. R., & Littler, D. S. 1983. Algal resistance to herbivory on a Caribbean barrier reef. *Coral Reefs*, 2(2), 111-118.
- López-Urrutia, Á., San Martín, E., Harris, R. P., & Irigoien, X. 2006. Scaling the metabolic balance of the oceans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23), 8739-8744.
- Machado, G.B.O., Leite, F.P.P., Sotka, E.E., 2018. Nutrition of marine mesograzers: integrating feeding behavior, nutrient intake and performance of an herbivorous amphipod. *PeerJ*. 6: e5929. 51
- Marin-Guirao, L., Entrambasaguas, L., Dattolo, E., Ruiz, J.M., Procaccini, G. S. et al., 2017. Molecular mechanisms behind the physiological resistance to intense transient warming in an iconic marine plant. *Front. Plant Sci.* 8: 1142.
- Marsh, A.G., Watts, S.A., 2001. Energy metabolism and gonad development. *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology* 32, 27-42.
- Masselink, G. & Short, A. D., 1993. The effect of tide range on beach morphodynamics and morphology: a conceptual beach model. *Journal of Coastal Research*, 9: 785-800.
- Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pörtner, H. O., Roberts, D., Skea, J., Shukla, P. R. & Waterfield, T. 2018. Global warming of 1.5 C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of, 1, 1-9.

- McCarty, A. T., & Sotka, E. E. 2013. Geographic variation in feeding preference of a generalist herbivore: the importance of seaweed chemical defenses. *Oecologia*, 172(4), 1071-1083.
- McGregor, G. R., & Nieuwolt, S. 1998. Tropical climatology: an introduction to the climates of the low latitudes (No. Ed. 2). John Wiley & Sons Ltd.
- Mertens, N.L., Russell, B.D., Connell, S.D., 2015. Escaping herbivory: ocean warming as a refuge for primary producers where consumer metabolism and consumption cannot pursue. *Oecologia*. 179(4),1223-1229.
- Meyer, D.L. & Birkeland, C. 1974. Marine studies - Galeta Point. In: Environmental monitoring and baseline data compiled under the Smithsonian Institution Environmental Sciences Program, Rubinoff, R.W. (ed.), PP-129-253.
- Meyer, D.L. & Birkeland, C. 1974. Marine studies - Galeta Point. In: Environmental monitoring and baseline data compiled under the Smithsonian Institution Environmental Sciences Program, Rubinoff, R.W. (ed.), PP-129-253.
- Meyer, D.L. & Birkeland, C. 1974. Marine studies - Galeta Point. In: Environmental monitoring and baseline data compiled under the Smithsonian Institution Environmental Sciences Program, Rubinoff, R.W. (ed.), PP-129-253.
- Meyer, D.L. & Birkeland, C. 1974. Marine studies - Galeta Point. In: Environmental monitoring and baseline data compiled under the Smithsonian Institution Environmental Sciences Program, Rubinoff, R.W. (ed.), PP-129-253.
- Meyer, D.L. & Birkeland, C. 1974. Marine studies - Galeta Point. In: Environmental monitoring and baseline data compiled under the Smithsonian Institution Environmental Sciences Program, Rubinoff, R.W. (ed.), PP-129-253.
- Montague, J. R., Aguinaga, J. A., Ambrisco, K. L., Vassil, D. L., & Collazo, W. 1991. Laboratory measurement of ingestion rate for the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea). *Florida Scientist*, 129-134.

- Monteiro-Neto, C., Tubino, R. A., Moraes, L.E.S, Neto, J.P. de M., Esteves, G.V., Fortes, W.L., 2008. Associações de peixes na região costeira de Itaipu, Niterói, RJ. *Iheringia, Sér. Zool.* 98(1), 50-59.
- Moore, H.B., Jutare, T., Bauer, J.C., Jones, J.A. 1963. The biology of *Lytechinus variegatus*. *Bull. Mar. Sci.* 13(1), 23-53.
- Morais, R. M. O., 2001. Estudo Faciológico da Formação Barreiras na Região entre Marica e Barra de Itabapoana - Estado do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Geologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 178p
- Murren, C. J., Denning, W., & Pigliucci, M. 2005. Relationships between vegetative and life history traits and fitness in a novel field environment: impacts of herbivores. *Evolutionary Ecology*, 19(6), 583-601.
- O'Connor, M.I., Piehler, M.F., Leech, D.M., Anton, A., Bruno, J.F. 2009. Warming and resource availability shift food web structure and metabolism. *PLoS Biol.* 7(8): e1000178, 3–8.
- Ogden, J. C., Brown, R. A., & Salesky, N. 1973. Grazing by the echinoid *Diadema antillarum* Philippi: formation of halos around West Indian patch reefs. *Science*, 182(4113), 715-717.
- Oliver, E.C.J. et al., Donat, M.G., Burrows, M.T., Moore, P.J., Smale, D.A., Alexander, L.V., Benthuyssen, J.A., Feng, M., Gupta, A.S., Hobday, A.J., Holbrook, N.J., Perkins-Kirkpatrick, S.E., Scanell, H.A., Straub, S.C., Wernberg, T. 2018. Longer and more frequent marine heatwaves over the past century. *Nat. Commun.* 9: 1324.
- Oliver, E.C.J., Benthuyssen, J.A., Bindoff, N.L., Hobday, A.J., Holbrook, N.J., Mundy, C.N., Perkins-Kirkpatrick, S.E. 2017. The unprecedented 2015/16 Tasman Sea marine heatwave. *Nat. Commun.* 8:16101. 52
- Orr JC, Fabry VJ, Aumont O, Bopp L, Doney SC, et al. 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437:681–86
- Pagès, J.F., Smith, T.M., Tomas, F., Sanmartí, N., Boada, J., De Bari, H., Javier, R., Arthur, R., Alcoverro. et al., 2017. Contrasting effects of ocean warming on different components of plant-herbivore interactions. *Mar. Pollut. Bul.* 134, 55-65.

- Parmesan, C. & Yohe, G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421, 37–42.
- Pearce, C.M., Daggett, T.L., Robinson, S.M.C., 2002. Effect of protein source ratio and protein concentration in prepared diets on gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture* 214, 307-332.
- Pecl, G. T., Araújo, M. B., Bell, J. D., Blanchard, J., Bonebrake, T. C., Chen, I. C. & Williams, S. E. 2017. Biodiversity redistribution under climate change: Impacts on ecosystems and human well-being. *Science*, 355 (6332).
- Pereira, R.C., Yoneshigue-Valentin, Y., 1999. The role of polyphenols from the tropical brown alga *Sargassum furcatum* on the feeding by amphipod herbivores. *Botanica Marina* 42, 441-448.
- Perkins, S. E., Alexander, L. V., & Nairn, J. R. 2012. Increasing frequency, intensity and duration of observed global heatwaves and warm spells. *Geophysical Research Letters*, 39 (20).
- Perkins-Kirkpatrick, S.E., King, A.D., Cougnon, E.A., Grose, M.R., Oliver, E.C.J., Holbrook, N.J., Lewis, S.C., Pourasghar, F., 2018. The role of natural variability and anthropogenic climate change in the 2017/2018 Tasman Sea marine heatwave. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 100(1), S105-S110.
- Petchey, O. L., McPhearson, P. T., Casey, T. M., & Morin, P. J. 1999. Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature*, 402(6757), 69-72.
- Phelps, C.M., Boyce, M.C., Huggett, M.J., 2017. Future climate change scenarios differentially affect three abundant algal species in southwestern Australia. *Mar. Environ. Res.* 126, 69-80.
- Plouguerné, E., Ioannou, E., Georgantea, P., Vagias, C., Roussis, V., Hellio, C., ... & Stiger-Pouvreau, V. 2010. Anti-microfouling activity of lipidic metabolites from the invasive brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Marine Biotechnology*, 12(1), 52-61.



- Poloczanska, E. S., Brown, C. J., Sydeman, W. J., Kiessling, W., Schoeman, D. S., Moore, P. J. & Richardson, A. J. 2013. Global imprint of climate change on marine life. *Nature Climate Change*, 3(10), 919-925.
- Pörtner, H. 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 88(4), 137-146.
- Pörtner, H. O., & Farrell, A. P. 2008. Physiology and climate change. *Science*, 690-692.
- Prado, P., Carmichael, R.H., Watts, S.A., Cebrian, J., Heck Jr., K.L., 2012. Diet-dependent  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  fractionation among sea urchin *Lytechinus variegatus* tissues: Implications for food web models. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 462, 175–190.
- Rose, C.D., Sharp, W.C., Kenworthy, W.J., Hunt, J.H., Lyons, W.G., Prager, E.J., Valentine, J.F., Hall, M.O., Whitfield, P.E., Fourqurean, J.W. 1999. Overgrazing of a large seagrass bed by the sea urchin *Lytechinus variegatus* in Outer Florida Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 190, 211-222.
- Rosenzweig, C., Karoly, D., Vicarelli, M., Neofotis, P., Wu, Q., Casassa, G. & Imeson, A. 2008. Attributing physical and biological impacts to anthropogenic climate change. *Nature*, 453(7193), 353-357.
- Rubal, M., Veiga, P., Cacabelos, E., Moreira, J., & Sousa-Pinto, I. 2013. Increasing sea surface temperature and range shifts of intertidal gastropods along the Iberian Peninsula. *Journal of Sea Research*, 77, 1-10.
- Salvador, M.V.S., Silva, M. 2002. Morphology and sedimentology of the Itaipú Embayment - Niterói/RJ. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 74(1), 127-134.
- Sanford, E. 1999. Regulation of keystone predation by small changes in ocean temperature. *Science* 283, 2095–2097.
- Scannell, H.A., Pershing, A.J., Alexander, M.A., Thomas, A.C., Mills, K.E. 2016. Frequency of marine heatwaves in the North Atlantic and North Pacific since 1950. *Geophys. Res. Lett.* 43, 2069-2076.

- Schlegel, R.W., Oliver, E.C.J., Perkins-Kirkpatrick, S., Kruger, A., Smit, A.J. 2017. Predominant atmospheric and oceanic patterns during coastal marine heatwaves. *Front. Mar. Sci.* 4:323.
- Schram, J.B., Schoenrock, K.M., McClintock, J.B., Amsler, C.D., Angus, R.A. 2017. Ocean warming and acidification alter Antarctic macroalgal biochemical composition but not amphipod grazer feeding preferences. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 581, 45-56.
- Sklenar, S. A. (1994). Interactions between sea urchin grazers (*Lytechinus variegatus* and *Arbacia punctulata*) and mussels (*Modiolus americanus*): a mutualistic relationship? (Doctoral dissertation, University of South Alabama).
- Smale, D.A., Wernberg, T., Oliver, E.C.J., Thomsen, M., Harvey, B.P., Straub, S.C., Burrows, M.T., Alexander, L.V., Benthuisen, J.A., Donat, M.G., Feng, M., Hobday, A.J., Holbrook, N.J., Perkins-Kirkpatrick, S.E., Scannell, H.A., Gupta, A.S., Payne, B.L., Moore, P.J. 2019. Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services. *Nat. Clim. Chang.* 9, 306-312.
- Somero, G. N. (2002). Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living. *Integrative and comparative biology*, 42 (4), 780-789.
- Souza, C.F., Oliveira, A.S. de, Pereira, R.C. 2008. Feeding preference of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816) on seaweeds. *Braz. J. Oceanogr.* 56(3), 239–247.
- Steele, L., Valentine, J.F. 2012. Idiosyncratic responses of seagrass phenolic production following sea urchin grazing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 466, 81–92.
- Stevens, G. C. 1989. The latitudinal gradient in geographic range: how so many species coexist in the tropics. *American Naturalist* 133:240–246.
- Stillman, J. H. 2003. Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science*, 301(5629), 65-65.
- Taylor, R. B., & Brown, P. J. 2006. Herbivory in the gammarid amphipod *Aora typica*: relationships between consumption rates, performance and abundance across ten seaweed species. *Marine Biology*, 149(3), 455-463.

- Tewksbury, J. J., Huey, R. B., & Deutsch, C. A. 2008. Putting the heat on tropical animals. *Science - New York/Washington*, 320 (5881), 1296.
- Thomsen, J., Gutowska, M. A., Saphörster, J., Heinemann, A., Trübenbach, K., Fietzke, J., ... & Melzner, F. 2010. Calcifying invertebrates succeed in a naturally CO<sub>2</sub> - rich coastal habitat but are threatened by high levels of future acidification. *Biogeosciences*, 7(11), 3879-3891.
- Thomsen M. S., Mondardini, L., Gerrity, S., Tait, L., South, P., Lilley, S. 2019. Local extinction of bull kelp (*Durvillaea* spp.) due to a marine heatwave. *Front. Mar. Sci.* 5:84. doi: 10.3389/fmars.2019.00084
- Vadas, R.L., Fenchel, T., Ogden, J.C. 1982. Ecological studies on the sea urchin, *Lytechinus variegatus*, and the algal-seagrass communities of the Miskito Cays, Nicaragua. *Aquat. Bot.* 14, 109-125.
- Valentine, J.F., Heck Jr., K.L., Kirsch, K.D., Webb, D. 2000. Role of sea urchin *Lytechinus variegatus* grazing in regulating subtropical turtlegrass *Thalassia testudinum* meadows in the Florida Keys (USA). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 200, 213–228.
- Valentine, J. F., & Heck Jr, K. L. 2001. The role of leaf nitrogen content in determining turtlegrass (*Thalassia testudinum*) grazing by a generalized herbivore in the northeastern Gulf of Mexico. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 258(1), 65-86.
- Veloso, V.G. & Neves, G. 2009. Praias Arenosas. In *Biologia Marinha* (R. C. PEREIRA & A. S. GOMES eds). 2. ed. Editora Interciência, Rio de Janeiro, p.339-359.
- Wernberg, T., Smale, D.A., Tuya, F., Thomsen, M.S., Langlois, T.J., Bettignies, T. de, Bennett, S., Pousseaux, C.S. 2012. An extreme climatic event alters marine ecosystem structure in a global biodiversity hotspot. *Nat. Clim. Chang.* 3(1), 78-82.
- Wernberg, T., Bennett, S., Babcock, R.C., Bettignies, T. de, Cure, K., Depczynski, M., Dufois, F., Fromont, J., Fulton, C.J., Hovey, R.K., Harvey, E.S., Holmes, T.H., Kendrick, G.A., Radford, B., Santana-Garcon, Saunders, B.J., Smale, D.A., Thomsen, M.S., Tuckett, C.A., Tuya, F., Vanderkluft, M.A., Wilson, S. 2016. Climate-driven regime shift of a temperate marine ecosystem. *353(6295)*, 169-172.

- Wright, L. D., Guza, R. T. & Short, A. D., 1982. Dynamics of high energy dissipative surf zone. *Marine Geology*, 45: 41-62
- Yoneshigue, Y. (1985). Taxonomie et ecologie des algues marines dans la région de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Bresil). PhD Thesis, L'Universite d'Aix-Marseille II.
- Yvon-Durocher, G., Jones, J. I., Trimmer, M., Woodward, G., & Montoya, J. M. 2010. Warming alters the metabolic balance of ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1549), 2117-2126.
- Zarco-Perello, S., Wernberg, T., Langlois, T.J., Vanderklift, M.A. 2017. Tropicalization strengthens consumer pressure on habitat-forming seaweeds. *Sci. Rep.* 7: 820.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D.A., Barrow, C.J. 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *J. Appl. Phycol.* 18: 3–5, 445–450.