



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

ANA PAULA FERREIRA

COMUNIDADE DE MACROALGAS E SUA FAUNA ASSOCIADA EM UM CENÁRIO
DE MUDANÇAS NO CLIMA: EFEITOS SOBRE A DIVERSIDADE,
COMPORTAMENTO E FISIOLOGIA

CAMPINAS

2021

ANA PAULA FERREIRA

**COMUNIDADE DE MACROALGAS E SUA FAUNA ASSOCIADA EM UM
CENÁRIO DE MUDANÇAS NO CLIMA: EFEITOS SOBRE A DIVERSIDADE,
COMPORTAMENTO E FISIOLOGIA**

*Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para a
obtenção do Título de Doutora em Ecologia.*

Orientador: FOSCA PEDINI PEREIRA LEITE

Co-Orientador: GLAUCO BARRETO DE OLIVEIRA MACHADO

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA
ALUNA ANA PAULA FERREIRA E ORIENTADA
PELA FOSCA PEDINI PEREIRA LEITE

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

F413c Ferreira, Ana Paula, 1991-
Comunidade de macroalgas e sua fauna associada em um cenário de mudanças no clima : efeitos sobre a diversidade, comportamento e fisiologia / Ana Paula Ferreira. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Fosca Pedini Pereira Leite.
Coorientador: Glauco Barreto de Oliveira Machado.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Aquecimento global. 2. Mudanças climáticas. 3. Acidificação dos oceanos. 4. Crustáceo. 5. *Sargassum*. I. Leite, Fosca Pedini Pereira, 1947-. II. Machado, Glauco Barreto de Oliveira, 1988-. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Macroalgal community and associated fauna in a climate change scenario : effects on diversity, behavior and physiology

Palavras-chave em inglês:

Global warming
Climatic changes
Ocean acidification
Crustacea
Sargassum

Área de concentração: Ecologia

Titulação: Doutora em Ecologia

Banca examinadora:

Fosca Pedini Pereira Leite [Orientador]
Gustavo Muniz Dias
Hélio Herminio Checon
Antonia Cecilia Zacagnini Amaral
Mariana Cabral de Oliveira

Data de defesa: 05-03-2021

Programa de Pós-Graduação: Ecologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <http://orcid.org/0000-0001-6035-4546>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/7895390965694499>

Campinas, 05/03/2021

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.(a) Dr.(a). Fosca Pedini Pereira Leite

Prof.(a). Dr.(a) Antonia Cecilia Zacagnini Amaral

Dr(a). Mariana Cabral de Oliveira

Dr. Gustavo Muniz Dias

Dr. Hélio Herminio Checon

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Pós-graduação em Ecologia do Instituto de Biologia

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todas as mulheres
que me inspiram a acreditar que era possível,
em especial a minha querida mãe, Lúcia.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Fosca Pedini Pereira Leite por ter me acolhido no seu laboratório e ter me acompanhado nessa jornada ao longo de todos esses anos. Sou muito grata por tudo que aprendi ao seu lado e que foram fundamentais para minha vida profissional

Ao meu coorientador Dr. Glauco Barreto de Oliveira Machado pelo apoio e incentivos constantes durante toda essa jornada. Obrigada por sempre ter acreditado em mim e me convencido a acreditar também. Seu exemplo através da ética e dedicação foram as inspirações que moldaram minha formação

Aos professores Gustavo Muniz Dias e Gustavo Quevedo Romero, membros do Comitê de Acompanhamento de tese, pelas sugestões e discussões durante os quatro anos do doutorado, que permitiram o amadurecimento desse trabalho

Aos professores e avaliadores desse trabalho (pré-banca e banca): Dra. Tânia Marcia Costa, Dr. Hélio Hermínio Checon, Dr. Marcel Okamoto Tanaka, Dra. Cecilia Amaral, Dr. Gustavo Dias, Dra. Mariana Cabral de Oliveira, pelas valiosas críticas e sugestões, que contribuíram para o seu aperfeiçoamento

Ao laboratório de Interações entre Comunidades Marinhas (Licomar-Unicamp), no qual desenvolvi minha tese. Aos colegas pela convivência, conversas e aprendizados. Agradeço principalmente ao Bruno, Marília, Mariana, Mariana F, Silvana, Paula e Suelen pelo auxílio nos trabalhos de campo e laboratório.

À professora Dra. Tânia Marcia Costa por ter me recebido no Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal (Labecom-Unesp), no qual desenvolvi parte dos experimentos dessa tese. Agradeço o carinho, acolhimento e os aprendizados. Agradeço também aos membros do laboratório que se tornaram amigos queridos. Principalmente ao Alexandre, Dalila, Fernando, Juan e Leonardo pela ajuda no laboratório.

À professora Dra. Alessandra da Silva Augusto por ter me recebido no Laboratório de Aquicultura Sustentável (LAS – Unesp) e permitido o uso da infraestrutura para realizar parte das análises desse projeto. Agradeço aos membros do laboratório, principalmente a Andressa e a Julia por toda ajuda nas análises químicas

À professora Dra. Fungyi Chow, por ter me recebido no laboratório de Algas Marinhas (LAM-Usp), no qual desenvolvi um dos capítulos dessa tese. Agradeço por toda paciência, disponibilidade e dedicação que foram fundamentais para meu aprendizado. Agradeço ao

acolhimento no laboratório pelos colegas, que se tornaram amigos queridos. Principalmente a Mariana, Luz Karime e Lara pela ajuda nas análises. Aos técnicos Vivian e Rosário pelo auxílio com os materiais e equipamentos

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia por todo o conhecimento adquirido e aos colegas pela convivência e aprendizados

Aos professores José Roberto Trigo, Antonia Cecilia Z. Amaral, Rafael Oliveira e Martin Pareja por disponibilizarem a infraestrutura dos seus laboratórios para a realização de partes desse projeto

Ao laboratório multi-usuários do departamento de Biologia Animal e a bióloga Giovanna Garcia Fagundes pela dedicação e eficiência no auxílio imediato em todos os processos burocráticos, o que permitiu o desenvolvimento dos meus experimentos

A professora Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro pela doação de uma cultura estoque de organismos usados em um experimento

Ao Fernando pela disponibilidade do barco e ajuda na coleta dos dados em campo

A comunidade de moradores da Praia da Fortaleza, que disponibilizaram um ponto de apoio para a realização dos trabalhos de campo

Ao Instituto Oceanográfico da USP (IO-USP) pela infraestrutura oferecida, que foi essencial para a realização deste trabalho

À Suelen Mendes Cruz, pela ajuda dedicada no processamento das amostras, que não seriam possíveis sem você. Agradeço o carinho, amizade e companhia em todos os momentos dentro e fora do laboratório. O caminho foi mais leve com você

Ao Bruno Rodrigues pela amizade, carinho, ajuda e inúmeras discussões que enriqueceram muito esse trabalho

Ao Juan Pardo por toda ajuda nos experimentos, pelas conversas, discussões e apoio que foram fundamentais para o desenvolvimento desse projeto

Aos meus amados Edson Vieira, Marília Bueno e Pedro Peres, por toda parceria, carinho, cuidado e por tudo que eu sempre aprendo ao lado de vocês. Obrigada por mostrarem que eu não estava sozinha, serem meus grandes exemplos e fazerem minha vida mais colorida

Ao querido Endel, por ter chegado no meio dessa jornada, já compartilhando de todas as minhas alegrias e frustrações. Seu apoio e incentivo foram importantes para chegar ao final dessa caminhada

As queridas, Gabi Berro e Renata Morelli, por todo apoio, carinho e por serem um abrigo seguro de felicidade e amor. Agradecimento especial para a Re por ter me acolhido na sua casa em São Paulo e pelos ótimos momentos juntas

Ao meu querido e companheiro, Tiago Pires, por estar sempre ao meu lado, me apoiando, cuidando e tornando minha vida mais feliz

Ao meu querido amigo Glauco, por todas as nossas viagens, conversas, discussões, apoio e por estar incondicionalmente ao meu lado. Sua companhia nessa caminhada foi o que tornou tudo mais leve e fez o sonho ser possível. Você é meu exemplo e minha inspiração e eu acredito que me tornei uma pessoa e uma profissional melhor depois de você

À minha família, pelo carinho e apoio em todos os meus projetos de vida, incluindo essa jornada. Em especial a minha mãe Lúcia, que sempre foi minha inspiração, pelo seu amor infinito que me fortaleceu para persistir em todos os meus sonhos

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) que foi minha casa nos últimos 10 anos. Assim como a Universidade Estadual Paulista (UNESP) e a Universidade de São Paulo (USP) que me receberam para realizar parte desse doutorado. Minha profunda gratidão a essas instituições e a todos os alunos, funcionários e professores que lutam para manter essas universidades públicas e de qualidade, formando um reduto seguro para o desenvolvimento da ciência e da educação nesse país.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

O incremento das concentrações de CO₂ atmosférico nos últimos séculos vem ocasionando mudanças no clima global, como o aquecimento e a acidificação dos oceanos. Essas mudanças afetam diretamente as espécies e as interações ecológicas que elas participam, uma vez que a temperatura e o pH são parâmetros importantes na homeostase dos organismos. Nesse estudo, investiguei como as mudanças no clima afetam as comunidades de macroalgas e a fauna associada, bem como a interação ecológica entre esses organismos. Especificamente, perguntei (1) Como a variação temporal da temperatura afeta a biomassa das macroalgas hospedeiras e suas epífitas, bem como as comunidades da fauna associada? (2) A distribuição de peracáridos (ou seja, anfípodes e isópodes) no gradiente vertical do costão rochoso está relacionada com a tolerância térmica desses organismos? (3) Como o aquecimento e a acidificação afetam a fisiologia e o comportamento de duas espécies de anfípodes? (4) Como a temperatura afeta a composição química da macroalga hospedeira e influencia (direta e indiretamente) o comportamento alimentar de duas espécies de anfípodes herbívoros? (5) A perda de espécies hospedeiras de macroalgas afeta a comunidade de anfípodes? A variação da temperatura da água do mar e a associação da fauna com três macroalgas hospedeiras foram avaliadas mensalmente durante um ano. A temperatura não influenciou a biomassa das macroalgas hospedeiras nem de suas epífitas, mas afetou a abundância de alguns grupos da fauna associada, bem como a composição dos anfípodes. A distribuição vertical de cinco espécies de peracáridos foi avaliada durante o verão em três costões rochosos do litoral de São Paulo, assim como suas tolerâncias térmicas por meio de experimentos em laboratório. No geral, espécies restritas a regiões superiores do costão foram mais tolerantes ao aumento da temperatura, enquanto as espécies do infralitoral foram menos tolerantes. Por meio de experimentos laboratoriais simulando cenários futuros de aquecimento e acidificação oceânica, foram avaliados os efeitos das mudanças no clima sobre o comportamento alimentar e na fisiologia de duas espécies de anfípodes. Demonstrei que a combinação desses estressores ambientais gerou efeitos sinérgicos que reduziram a taxa de alimentação, taxa de respiração e razão O/N, enquanto aumentou a taxa de excreção de amônia em *Cymadusa filosa*. Além disso, o aquecimento afetou a composição química das macroalgas e reduziu as taxas de alimentação dos anfípodes *Cymadusa filosa* e *Sunamphitoe pelagica*, tanto por vias diretas (via alterações metabólicas) como indiretas (via alterações na qualidade alimentar das macroalgas), enfraquecendo o controle top-down na relação herbívoro-macroalga. Por fim, experimentos em campo mostraram que a perda da diversidade de macroalgas hospedeiras leva a uma redução da abundância e riqueza, bem como alterações na composição da comunidade dos anfípodes. Esses resultados mostraram que

mudanças nos fatores abióticos (e.g., temperatura e pH) podem alterar a composição química das macroalgas hospedeiras e impactar o comportamento, fisiologia, aptidão, abundância, riqueza, diversidade e distribuição da fauna associada, especialmente pequenas espécies herbívoras.

ABSTRACT

The increase in atmospheric CO₂ concentrations in recent centuries has caused changes in the global climate, such as oceanic warming and acidification. These changes affect the species and their ecological interactions, because temperature and pH are important parameters in the homeostasis of organisms. Host macroalgae have a crucial role in marine environments by providing habitat and/or food for an abundant and diverse associated fauna. In this study, I investigated how climate changes affect host macroalgae, its associated fauna, and their ecological interactions. Specifically, I asked (1) How does the temporal variation of temperature affect the biomass of host macroalgae and its epiphytes, as well as their associated fauna? (2) Is the distribution of small peracarid crustaceans (i.e. amphipods and isopods) along the vertical gradient of rocky shores related to the thermal tolerance of these organisms? (3) How do warming and acidification affect the physiology and behavior of two amphipods? (4) How does temperature affect the chemical composition of macroalgal host and influence (direct and indirectly) the feeding behavior of two herbivorous amphipods? (5) Does the loss of macroalgal host species affect the amphipod community? The variation in sea water temperature and the association of fauna with three host macroalgae were evaluated monthly during one year. The temperature did not influence the biomass of macroalgal hosts neither of their epiphytes, but it affected the abundance of associated fauna and amphipod assemblage. The vertical distribution of five species of peracarid was evaluated during summer at three rocky shores, while their thermal tolerance was evaluated from laboratory experiments. Overall, species restricted to the upper levels of rocky shores were more tolerant to warming, while species from the subtidal zone were less tolerant. From laboratory experiments simulating future scenarios of warming and acidification of the oceans, the effects of climate change on the feeding behavior and physiology of two species of amphipods were evaluated. I demonstrated that combined environmental stressors caused synergistic effects that reduced the feeding rate, respiration rate and O/N ratio, and increased the ammonia excretion of *Cymadusa filosa*. Furthermore, warming affected the chemical composition of macroalgae as well as decreased the feeding rate of *Cymadusa filosa* and *Sunamphitoe pelagica* both directly (via metabolic changes) and indirectly (via changes in the macroalgal food quality), weakening the top-down control in the macroalga-herbivore interaction. Finally, field experiments have shown that the loss of macroalgal host species reduce abundance, richness and composition of amphipod assemblages. These results showed that changes in abiotic factors (e.g. temperature and pH) may alter the chemical composition of host macroalgae and impact the behavior, physiology, fitness, abundance, richness, diversity and distribution of associated fauna, especially small herbivorous species.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
------------------------	----

CAPÍTULO 1: Variação temporal da temperatura da água do mar, das macroalgas e da fauna associada no infralitoral de um costão rochoso

Introdução	19
Material e Métodos	22
Resultados	26
Discussão	37
Referências	44

CAPÍTULO 2: Tolerância térmica e distribuição espacial de peracáridos em costões rochosos

Introdução	59
Material e Métodos	61
Resultados	68
Discussão	75
Referências	80
Material Suplementar	90

CAPÍTULO 3: O aquecimento e a acidificação oceânica afetam de maneira distinta o comportamento alimentar e a fisiologia de anfípodas herbívoros

Introdução	92
Material e Métodos	95
Resultados	100
Discussão	105
Conclusão	110
Referências	111
Material Suplementar	125

CAPÍTULO 4: O aquecimento oceânico altera a composição química da macroalga *Sargassum filipendula* reduzindo a taxa alimentar de anfípodas herbívoros ... 128

Introdução	128
Material e Métodos	130
Resultados	135
Discussão	142
Conclusão	149
Referências	150
Material Suplementar	165

CAPÍTULO 5: A perda da diversidade de macroalgas hospedeiras reduz a densidade e a riqueza da comunidade de anfípodas associados 166

Introdução	166
Material e Métodos	168
Resultados	172
Discussão	179
Referências	184

CONSIDERAÇÕES FINAIS 194

REFERÊNCIAS196

ANEXOS 208

Declaração da Comissão de Bioética/ Biossegurança 208

Declaração de direitos autorais 209

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos séculos, observamos um aporte acentuado das concentrações de CO₂ na atmosfera, principalmente após a mudança da matriz energética com o advento da revolução industrial e o uso de combustíveis fósseis (Pires et al. 2011). Desde então, já houve um incremento de mais de 40% desse gás na atmosfera (Le Quere et al. 2012, Gao et al. 2020), o que provocou uma série de mudanças ambientais, como o aumento da temperatura atmosférica (IPCC 2013). A temperatura é um dos parâmetros ambientais mais importante na homeostase dos organismos (Angilletta et al. 2002, Angilletta 2009). Por isso, o aquecimento pode gerar diversos impactos severos sobre a fauna e a flora do planeta (Harley et al. 2006, Nolan et al. 2018, Gao et al. 2020). Essas mudanças também podem gerar grandes impactos no ambiente marinho, sendo esperado o aumento da temperatura da água do mar (Fischetti 2013, IPCC 2013), principalmente nas regiões rasas de clima tropical (IPCC 2013). Além desse aumento constante, é esperada a ocorrência de ondas de calor com maior frequência e intensidade (Frölicher et al. 2018, Oliver et al. 2019). Esse evento climático extremo leva ao aumento rápido e acentuado da temperatura da água do mar, ocasionando efeitos severos sobre o ambiente marinho, como o branqueamento dos corais (Hoegh-Guldberg et al. 2007, Pandolfi et al. 2011) e a hipóxia do oceano (Pörtner & Knust 2007). O aquecimento oceânico, por sua vez, acelera o processo de degelo das calotas polares, levando ao aumento do nível do mar (Church & White 2006). Ainda, parte do excesso de CO₂ atmosférico é incorporado pela água, que ao reagir, libera ácido carbônico, reduzindo o pH da região (Caldeira & Wickett 2003, Gooding et al. 2009). Isso modifica o metabolismo ácido-base dos organismos, podendo levar a hipercapnia fisiológica (Pörtner et al. 2004, Fabry et al. 2008, Widdicome & Spicer 2008, Widdicome et al. 2009).

Todas essas mudanças ambientais podem causar efeitos de pequenas a grandes escalas ecológicas. Os organismos apresentam um estado de ótimo fisiológico que maximiza sua aptidão (Somero 2010) e desvios nesse ótimo, seja por meio de mudanças no ótimo térmico ou no equilíbrio ácido-base podem afetar diretamente o funcionamento dos mesmos (Hopkin et al. 2006, Bible et al. 2020). Para vegetais marinhos, em um cenário de mudanças do clima, desvios nesse ótimo causam estresse oxidativo (Stengel et al. 2011), mudança na composição química dos tecidos (Staehr & Wernberg 2009, Patarra et al. 2011, Bui et al. 2018) e alterações nas taxas fotossintéticas (Ji et al. 2016). Essas mudanças nas funções fisiológicas podem alterar o crescimento (Li et al. 2013, Endo et al. 2013, Bui et al. 2018), as taxas fotossintéticas (Ji et al. 2016) e a fenologia (Walther et al. 2002, Khalil et al. 2020) dos vegetais. Para a fauna, modificações em fatores ambientais podem levar a mudanças na síntese proteica (Axenov-Gibranov et al. 2016), na formação de conchas e carapaças (Kroeker

et al. 2010, Appelhans et al. 2014, Raybaud et al. 2017) e alterações em processos vitais como a respiração (Aarset & Aunaas 1990a, Small et al. 2010), excreção (Gomes et al. 2013, 2014) e alimentação (O'Connor 2009, Arnold et al. 2012, Appelhans et al. 2014). Por sua vez, tais mudanças fisiológicas podem alterar o comportamento (Balloo & Appadoo 2017), crescimento (Chen et al. 1995, Egilsdottir et al. 2009, Appelhans et al. 2014), reprodução (Sampaio et al. 2017, Ledet et al. 2018) e a sobrevivência tanto de larvas como de adultos (Basallote et al. 2012, Harvey et al. 2013). Ainda, mudanças nas taxas de sobrevivência em determinado local, podem levar a redução populacional ou até extinção local (Wernberg et al. 2011, Khalil et al. 2020), levando a perda da diversidade (Pimm et al. 1995). Alterações na área de distribuição, em decorrências dessas mudanças, já foram observadas para muitos produtores primários marinhos (Cheung et al. 2009, Martínez et al. 2018, de la Hoz et al. 2019). Importante ressaltar que devido a especificidades metabólicas de cada organismo, podemos encontrar diferentes respostas frente aos mesmos estressores ambientais dependendo da espécie (Kroeker et al. 2010), área de ocorrência (Cottin et al. 2012, Foucreau et al. 2014), sexo (Sornom et al. 2010) e estágio ontogenético (Tsoi et al. 2005, Byrne 2011).

As mudanças no clima também podem atuar em níveis organizacionais maiores, afetando as comunidades marinhas. A perda de espécies formadoras de hábitat como gramas marinhas, macroalgas e recifes de corais, em decorrência dessas mudanças climáticas, pode afetar diretamente a abundância, riqueza e diversidade das comunidades associadas que dependem desse sistema (Lilley & Schiel 2006, Wikstron & Kautsky 2007, Vázquez-Luis et al. 2008, Orr et al. 2014, Almagro-Pastor et al. 2015, Morales -Nunez & Chigbu 2017). A fauna também pode ser influenciada pela redução da complexidade do substrato (Chemello & Milazzo 2002, Hauser et al. 2006), o que ocorre quando essas espécies formadoras de hábitat são substituídas por bancos de *turfs* (algas filamentosas) que não formam dossel (Mertens et al. 2015). Ainda, as mudanças na composição química das macroalgas em decorrência das alterações do clima podem alterar a alimentação dos herbívoros (Poore et al. 2013), afetando o controle *top-down* exercido por esses consumidores e, conseqüentemente, influenciando a comunidade das macroalgas (O'Connor 2009; Eklof et al. 2012, Carr & Bruno 2013, Sampaio et al. 2017). Por fim, as mudanças no clima podem ter efeitos sobre os ecossistemas (Harvey et al. 2006) e todas as relações ecológicas envolvidas, como alterações na produtividade (Lotze & Worm 2002, Bakun & Weeks 2004, Harley et al. 2006), no fluxo energético e nas cadeias alimentares (Petchey et al. 1999, Katrina et al. 2012). Essas mudanças ecossistêmicas no ambiente marinho podem trazer conseqüências para a população humana, como alterações nos serviços ecossistêmicos. Esses serviços podem ser entendidos como os bens e serviços que a população humana obtém a partir dos ecossistemas, podendo ter diversas classificações (Millennium Ecosystem Assessment,

2005). Entre elas, vale destacar os serviços de provisão, principalmente para a alimentação, como pesca, moluscos, crustáceos e macroalgas. Essa última também tem papel importante na indústria farmacêutica e de cosméticos. As macroalgas também têm um papel importante nos serviços de regulação, uma vez que atuam na produção primária do sistema, além de um papel fundamental no sequestro de carbono (Cardinale et al. 2012). Os serviços culturais também merecem destaque, no qual esse sistema marinho tem papel fundamental para o turismo. Nesse sentido, entender os efeitos das mudanças no clima é fundamental para compreender os efeitos de tais mudanças para a sociedade.

Macrófitas marinhas e sua fauna associada são componentes abundantes no sistema marinho costeiro. Macrófitas representam sumidouros naturais de gás carbônico no sistema costeiro, apresentando papel importante como mitigador das mudanças no clima (Gouvêa et al. 2020). As macrófitas formadoras de dossel atuam como facilitadoras no ambiente marinho (Bertness 1989, Bruno et al. 2003), disponibilizando novos habitats para serem colonizados ou amenizando as condições ambientais estressantes. A facilitação é uma interação positiva na qual um organismo contribui para o estabelecimento de outros, ao fornecer novos habitats ou amenizar as condições desfavoráveis do habitat já existente (Bertness 1989, Bertness & Shumway 1993). A estrutura física das macroalgas pode reduzir os efeitos da temperatura, salinidade, dessecação e hidrodinamismo (Hicks 1980, Bertness et al. 1999, Parker et al. 2001, Lilley & Schiel 2006, Eklöf et al. 2011). A arquitetura das macroalgas tem um papel fundamental na fauna que ela abriga (Gee & Warwick 1994, Bueno et al. 2016, Bueno et al. 2017), sendo que habitats mais complexos são capazes de comportar maior abundância e diversidade da fauna (Hacker & Steneck 1990, Chemello & Milazzo 2002, Hauser et al. 2006). Além disso, macroalgas são um local importante de relações ecológicas, como as relações de consumo. Bancos de macroalgas fornecem alimentos para os herbívoros através de seus próprios tecidos (Duffy & Hay 1990, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b). Detritívoros e carnívoros também são beneficiados indiretamente via acúmulo de recursos alimentares que ficam disponíveis na estrutura tridimensional dos bancos de macroalgas (Zimmerman et al. 1979, Walker & Woelkerling 1988, Guerra-Garcia et al. 2014). Macroalgas também funcionam como abrigo para fauna contra predação (Borg et al. 1997, Machado et al. 2019a). Por sua vez, a fauna associada é bastante diversa, englobando táxons muito variados como os crustáceos (Moreira & Pires-Vanin 1977, Tanaka & Leite 2003, Jacobucci et al. 2009, Morales-Núñez & Chigbu 2017), moluscos (Montouchet 1972, Amler et al. 2015), poliquetas (Van Hoey et al. 2004, Monroy-Velazquez et al. 2019) e até vertebrados, como peixes (Ornellas & Coutinho 1998, Cacabelos et al. 2010).

Os crustáceos peracáridos compõem um dos grupos mais abundantes da fauna associada (Tanaka & Leite 2003, Amsler et al. 2012, Gabr et al. 2020), apresentando uma

grande diversidade de hábitos alimentares e formas de vida (Jacobucci & Leite 2006, Guerra-García et al. 2014, Machado et al. 2019b) e desempenhando um papel importante como elo trófico entre produtores e consumidores (Fernandez-Gonzalez & Sanchez-Jerez 2014). Nesse sentido, macroalgas e sua fauna são ótimos modelos para compreendermos os efeitos das mudanças no clima sobre o ambiente marinho. Ao estudar essa relação é possível englobar pelo menos dois níveis tróficos diferentes (e.g. produtores e consumidores primários), além de relações ecológicas como facilitação e herbivoria. Isso permite entender os efeitos das mudanças no clima a nível dos indivíduos de macroalgas e da fauna associada (principalmente dos anfípodes), assim como a níveis populacionais. Tais mudanças climáticas também podem influenciar no processo de facilitação (perda do hábitat) (Gorman et al. 2019) e na fonte de alimento (mudança na qualidade nutricional das macroalgas) (Sampaio et al. 2017), o que nos permite investigar as consequências para a fauna associada, especialmente para os pequenos herbívoros. Por fim, essas mudanças também permitem prever possíveis efeitos a níveis ecossistêmicos, como alterações na produtividade (Worm et al. 1999, 2000) e alterações no fluxo energético marinho.

A proposta desse estudo foi investigar os efeitos das mudanças no clima sobre as macroalgas, a fauna associada e as relações ecológicas entre elas. No capítulo 1, descrevi como flutuações da temperatura no clima atual, ao longo de um ano, afetam as comunidades de macroalgas e os principais grupos da macrofauna associada, com enfoque na relação com os anfípodes. No capítulo 2, investiguei o padrão de distribuição de cinco espécies de peracáridos ao longo de um gradiente vertical do costão rochoso: os anfípodes *Hyale niger*, *Cymadusa filosa*, *Sunamphitoe pelagica*, *Parhyale hawaiiensis* e o isópode *Paracerceis sculpta*. Também analisei a tolerância térmica dessas espécies em experimentos em laboratório para verificar se a temperatura pode ser um preditor da distribuição desses organismos em campo. No capítulo 3, abordei os efeitos diretos do aumento da temperatura e da acidificação da água do mar sobre o comportamento e a fisiologia de *Hyale niger* e *Cymadusa filosa*. Nesse estudo, por meio de experimentos em laboratório, testei como alterações na temperatura e no pH afetam a taxa alimentar, respiração e a excreção de amônia dos dois anfípodes. No capítulo 4, investiguei como o aumento da temperatura pode afetar a interação trófica entre macroalgas e anfípodes. Nesse estudo, analisei os efeitos da temperatura no conteúdo nutricional e nos compostos de defesa da macroalga *Sargassum filipendula*. Também analisei os efeitos diretos e indiretos do aquecimento sobre a taxa de alimentação dos anfípodes *Sunamphitoe pelagica* e *Cymadusa filosa*. No capítulo 5, investiguei como a perda da diversidade do hábitat proporcionado pelas macroalgas, em consequência das mudanças no clima, pode afetar a comunidade de anfípodes. Nesse

estudo, manipulei a diversidade de macroalgas hospedeiras em campo e verifiquei como a densidade, riqueza e diversidade dos anfípodes associados respondem a essa mudança.

CAPÍTULO 1: VARIAÇÃO TEMPORAL DA TEMPERATURA DA ÁGUA DO MAR, DAS MACROALGAS E DA FAUNA ASSOCIADA NO INFRALITORAL DE UM COSTÃO ROCHOSO

INTRODUÇÃO

Macroalgas são importantes estruturadores de comunidades marinhas, apresentando papel fundamental na produtividade primária (Gao & McKinley 1994) e atuando como facilitadoras nesse sistema (Bertness 1989). Como organismos facilitadores, macroalgas favorecem o estabelecimento de outros produtores primários (e.g. epífitas) (Cacabelos et al. 2010), assim como de uma fauna associada diversa (Arrivillaga & Baltz 1999, Bruno & Bertness 2001, Christie et al. 2009, Lemieux & Cusson 2014). A presença de macroalgas pode amenizar condições ambientais desfavoráveis para a fauna, como o estresse térmico, a dessecação e o hidrodinamismo (Hicks 1980, Bertness et al. 1999, Lilley & Schiel 2006, Eklöf et al. 2011), além de oferecer abrigo contra predadores (Nelson 1979, Borg et al. 1997, Machado et al. 2019a). Espécies distintas de macroalgas podem diferir quanto à qualidade do habitat oferecida para a fauna associada (Holmlund et al. 1990, Borg et al. 1997, Machado et al. 2019a,b). Essa variação é em parte consequência da grande diversidade de morfologias que as macroalgas hospedeiras apresentam, ocorrendo desde formas filamentosas, folhosas, até morfologias bem ramificadas e bastante complexas (Széchy & Paula 1998, Hansen et al. 2011, Machado et al. 2019b). A arquitetura das macroalgas tem um papel fundamental na fauna que ela abriga (Gee & Warwick 1994, Bueno et al. 2016, Bueno et al. 2017), sendo que habitats mais complexos são capazes de comportar maior abundância e diversidade da fauna (Hacker & Steneck 1990, Chemello & Milazzo 2002, Hauser et al. 2006). Ainda, macroalgas epífitas também contribuem para o aumento da complexidade do habitat (Hall & Bell 1988, Dawes et al. 2000), favorecendo o acúmulo de sedimento (Walker & Woelkerling 1988) e a abundância da fauna (Jacobucci et al. 2009, Cacabelos et al. 2010).

A fauna associada a macroalgas é abundante e diversa, sendo composta por numerosas espécies de invertebrados (Leite & Turra 2003, Parker et al. 2001, Eklöf et al. 2005) e até vertebrados, como peixes (Rozas & Odum, 1988, Ornellas & Coutinho 1998, Cacabelos et al. 2010). Dentre os invertebrados, os grupos mais abundantes são moluscos (Amles et al. 2015), crustáceos (Leite & Turra 2003, Morales-Núñez & Chigbu 2017) e poliquetas (Paresque 2008, Van Hoey et al. 2004, Monroy-Velazquez et al. 2019). Crustáceos peracáridos como anfípodes são muito abundantes (Tanaka & Leite 2003, Amsler et al. 2012, Gabr et al. 2020), apresentando grande diversidade de espécies (Jacobucci & Leite 2006, Leite et al. 2007), hábitos de vida e alimentares (Guerra-García et al. 2014, Machado et al.

2019b). Anfípodes desempenham um papel ecológico na estruturação de comunidades marinhas, pois atuam como elo trófico entre produtores primários e consumidores de níveis superiores, como peixes (Beare & Moore 1996, Fernandez-Gonzalez & Sanchez-Jerez 2014). Anfípodes utilizam a macroalga primariamente como hábitat, se abrindo no interior dos seus ramos e folíolos e, no caso dos tubícolas, usando como substrato para construção de tubos (Lowry & Myers 2013, Serejo & Siqueira 2018). No entanto, macroalgas também têm um papel fundamental na alimentação dos anfípodes. Os herbívoros se alimentam dos tecidos das macroalgas (Duffy & Hay, 1990, Jacobucci & Leite 2006, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b), detritívoros consomem partículas associadas ao sedimento retido entre seus ramos (Zimmerman et al. 1979, Jacobucci et al. 2009) e a complexidade do ambiente favorece o encontro de presas para os carnívoros que ocorrem nas macroalgas (Guerra-Garcia et al. 2014). Ainda, epífitas também servem de alimento para alguns herbívoros, complementando a dieta dos mesmos (Marx & Herrnkind 1985, Machado et al. 2017). Aqui, de maneira semelhante ao hábitat, diferentes espécies de macroalgas apresentam atributos distintos enquanto alimento para a fauna. A composição química das macroalgas, representada pelo seu valor nutricional e seus compostos de defesa, influencia na palatabilidade dos tecidos (Duffy & Hay 1994, Poore et al. 2013). Nesse sentido, a identidade das macroalgas hospedeiras é um importante fator no estabelecimento da fauna associada, pois diferentes espécies de hospedeiros podem oferecer diferentes recursos, comportando faunas distintas (Hansen et al. 2011, Veiga et al. 2014, Gabr et al. 2020). Essa relação é ainda mais importante para os anfípodes herbívoros, que utilizam a macroalga como habitat e fonte de alimento (Machado et al. 2019b).

Essa complexa relação entre macroalga hospedeira e fauna associada nem sempre é estável ao longo do tempo, pois a disponibilidade de recursos, como a biomassa das macroalgas e suas epífitas, varia ao longo do ano (Leite & Turra 2003, Szechy et al. 2006, Jacobucci et al. 2009, Gabr et al. 2020). Além disso, as assembleias de anfípodes também são dinâmicas temporalmente, apresentando maiores abundâncias nos meses mais quentes do ano (Mogias & Kevrekidis 2005, Guerra-García et al. 2011) e variações na riqueza (Jacobucci et al. 2009, Zaabar et al. 2015), diversidade (Jacobucci et al. 2009) e composição (Monroy-Velazquez et al. 2019). Essas variações podem ser consequência do ciclo biológico natural dessas espécies, mas também resultado de alterações de fatores abióticos como salinidade, luminosidade e temperatura. A temperatura é uma variável importante para os organismos, pois atua diretamente nos processos metabólicos (Angilletta 2009). Os organismos apresentam ótimos térmicos característicos de suas espécies, e a variação da temperatura pode afastar ou aproximar os organismos desse ótimo (Hopkin et al. 2006, Bible et al. 2020). Ao se aproximar, podemos observar aumento da aptidão dos organismos, porém

ao exceder esse limite, é possível que ocorra estresse e redução da aptidão desses indivíduos (Somero 2010).

Mudanças na temperatura podem afetar as macroalgas, os anfípodes e a interação entre ambos os componentes. A temperatura pode ter efeito direto sobre o metabolismo dos anfípodes, afetando a sobrevivência (Sampaio et al. 2017, Ledet et al. 2018) e o crescimento (Egilsdottir et al. 2009) desses animais. No entanto, algumas espécies são tolerantes ao aumento da temperatura da água do mar (Tsoi et al. 2005, Hauton et al. 2009, Campbell et al. 2020). Nesse caso, fica nítida a importância da avaliação a nível específico, pois o ótimo térmico é característico de cada espécie, o que ocasiona respostas diferentes em cada uma (Dong et al. 2008), e por consequência, pode levar a mudanças distintas a nível da comunidade (e.g. variações na riqueza, diversidade e composição). Da mesma forma, a temperatura também apresenta um efeito direto sobre a fisiologia das macroalgas, afetando a sua taxa fotossintética (Campbell et al. 2020), seu crescimento (Li et al. 2013, Koch et al. 2013) e o valor nutricional dos seus tecidos (Staeher & Wernberg 2009). A perda da biomassa de macroalgas afeta diretamente a abundância e composição da fauna associada (Wikstron & Kautsky 2007, Lilley & Schiel 2006, Vázquez-Luis et al. 2008, Orr et al. 2014, Morales - Nunez & Chigbu 2017), pois a disponibilidade de habitat é fator limitante na ocorrência desses organismos (Jacobucci et al. 2009). Os efeitos da variação da temperatura em ambientes temperados são conhecidos (Hoelzle et al. 2003, Lydersen et al. 2004, Conand et al. 2007), inclusive com monitoramentos ao longo prazo (Conand et al. 2007). No entanto, para as regiões tropicais e subtropicais, essas relações ainda não são bem compreendidas (Gorman et al. 2019). Em clima subtropical, observamos variações naturais da temperatura atmosférica ao longo do ano, com duas estações bem marcadas de quente e frio (Mendonça & Danni-Oliveira 2007). Por isso, também é esperado que a temperatura da água do mar apresente uma variação ao longo do ano. Porém, ainda faltam estudos que acompanhem constantemente a variação da temperatura da água do mar e a resposta das comunidades marinhas a esse fator abiótico. Estudos assim são importantes, principalmente no cenário de mudanças no clima que estamos inseridos (IPCC 2013), pois conhecer os efeitos da temperatura no cenário climático atual é uma ferramenta para prever como essas comunidades podem responder em cenários futuros.

No presente estudo, nós investigamos como a temperatura superficial da água do mar varia temporalmente e como as macroalgas e a fauna associada respondem a essa variação. Especificamente, nós perguntamos (1) Como a temperatura superficial da água do mar varia ao longo de um ano no cenário climático atual? (2) Como a variação da biomassa das macroalgas, das epífitas e a abundância da fauna associada está relacionada à variação da

temperatura da água? (3) Como riqueza, diversidade e composição da comunidade de anfípodes respondem à variação da temperatura? Nós esperávamos encontrar variação da temperatura da água do mar ao longo das estações do ano, característica de climas subtropicais. Além disso, também esperávamos encontrar uma relação positiva entre a temperatura e a biomassa de macroalgas, assim como para a abundância da fauna associada, uma vez que maiores temperaturas, dentro dos limites de tolerância térmica, podem favorecer o crescimento e a reprodução dos organismos. Para a comunidade de anfípodes, nós também esperávamos maior riqueza e diversidade da comunidade nos meses mais quentes, assim como diferenças na composição da comunidade entre os meses mais quentes e mais frios, uma vez que essas comunidades são dinâmicas ao longo do ano, conforme mostrado em estudos prévios.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As amostragens foram realizadas na Praia da Fortaleza (23°31'53,6"S; 45°09'40,9"W), Ubatuba, litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil (Figura 1). Essa praia apresenta hidrodinamismo moderado (Szechy & Paula 2000) e grande diversidade de macroalgas (Jacobucci et al. 2009, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019a). A macroalga *Sargassum filipendula* C. Agardh ocorre na forma de extensos bancos, dominando a região do infralitoral (Széchy & Paula 2000). Ainda, outras macroalgas como *Padina gymnospora* (Kützing) e *Dichotomaria marginata* (J. Ellis & Solander) Lamarck também ocorrem em grande abundância na região (Machado et al. 2019a). Além das macroalgas, a região do infralitoral também apresenta uma grande diversidade de epífitas, como *Canistrocarpus cerviconis* (Kützing) De Paula & De Clerck, 2006 e *Hypnea pseudomusciformis* (Wulfen) J.V.Lamouroux,

1813 que ocorrem associadas com macroalgas hospedeiras em abundância (Machado et al. 2017).



Figura 1- Litoral do Estado de São Paulo, com destaque para a Praia da Fortaleza, local onde foi realizado o presente estudo.

Variação temporal da temperatura da água superficial do mar

A temperatura da água superficial do mar foi monitorada na Praia da Fortaleza durante um ano (fevereiro/2018 a janeiro/2019), utilizando um dispositivo *ibutton* (HOBO®, ONSET, MX2201, precisão de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) que aferia esse parâmetro a cada 10 minutos. O dispositivo foi mantido dentro de uma estrutura cilíndrica feita de tela plástica (malha de 1 cm), fixada na corda de uma boia de sinalização marítima a cerca de 2 m de profundidade (em situação de maré baixa) e 30 m distante da areia. Mensalmente, os dados eram coletados via bluetooth pelo software HOBOMobile, e era feita a limpeza e manutenção do dispositivo e da estrutura na qual ele ficava preso, a fim de garantir o bom funcionamento do mesmo. A limpeza consistia na retirada de todos os organismos incrustantes que cresciam sobre o dispositivo e a estrutura que ele estava fixado. A partir dos dados de temperatura obtidos, foram calculadas médias

diárias de temperaturas. Essas médias diárias foram usadas como réplicas temporais na análise da variação da temperatura ao longo dos meses. Já a amplitude térmica foi estimada a partir da diferença entre as temperaturas máxima e mínima de cada dia. Valores diários de amplitude térmica foram usados como réplicas na comparação ao longo dos meses.

Variação temporal da biomassa de macroalgas e da fauna associada

Para verificar a variação da biomassa de macroalgas e da fauna associada, foram realizadas amostragens mensais durante um ano (fevereiro/2018 a janeiro/2019), na Praia da Fortaleza. Foram amostradas 3 frondes de cada uma das macroalgas mais representativas da região (*Padina gymnospora*, *Dichotomaria marginata* e *Sargassum filipendula*), totalizando 9 amostras/mês, durante a maré baixa diurna. As macroalgas foram amostradas por meio de mergulho livre, envolvidas em sacos de tecido (0,2 mm de malha) para evitar a perda da fauna e transportadas em caixas térmicas para o laboratório, no qual foram mantidas congeladas (-20°C) até análise. As amostras foram lavadas cuidadosamente em água doce por 5 vezes, separando a fauna do substrato. As macroalgas foram separadas de suas epífitas e o peso úmido de ambas foi obtido em uma balança analítica (precisão de 0,001g). Para remover o excesso de água das amostras antes da pesagem, as macroalgas foram rotacionadas por 10 vezes dentro de uma centrífuga manual (saladeira). A fauna foi conservada em álcool 70% e posteriormente contabilizada e separada em grandes grupos (i.e., classes e ordens). Os anfípodes foram identificados em nível específico. Indivíduos com o corpo deteriorado foram considerados como “Não identificados”. A riqueza dos anfípodes foi considerada como o número de táxons e a diversidade foi estimada a partir do índice de Shannon (H') para cada amostra.

Análise dos dados

Para verificar se a temperatura da água do mar e a amplitude térmica variaram temporalmente, foram realizadas análises *Generalized Linear Model* (GLM) de um fator (fixo, 12 níveis: meses do ano), usando a distribuição Gamma (mais ajustada aos dados). Para avaliar se a biomassa das macroalgas variou ao longo do ano foram realizadas análises GLM de um fator (fixo, 12 níveis: meses do ano) para cada espécie de macroalga. Para verificar se a biomassa das macroalgas hospedeiras e suas epífitas foram influenciadas pela temperatura superficial da água do mar, foram realizadas regressões lineares entre a biomassa das macroalgas e a temperatura média dos 30 dias que antecederam a coleta. O uso da temperatura dos últimos 30 dias que antecederam a coleta foi considerado mais adequado do que valores mensais, uma vez que as coletas foram realizadas em dias diferentes em cada mês. Para as epífitas, foi calculado a biomassa total por macroalga hospedeira, não havendo

separação por espécies. Antes das análises, a normalidade e homocedasticidade de variâncias foram avaliadas pelos gráficos de dispersão de resíduos. Todos os dados atenderam aos pressupostos.

A abundância da fauna foi avaliada separadamente para cada grupo com GLM usando a distribuição binomial negativa (dados de contagem, com alta dispersão). A identidade da macroalga foi usada como fator (fixo, 3 níveis), a temperatura e a biomassa de epífitas como variáveis contínuas e o peso úmido das macroalgas (transformado em log) como variável *offset* (Zuur et al. 2009). Os grupos da fauna analisados foram Amphipoda, Isopoda, Gastropoda, Decapoda e “Polychaeta” (atualmente classificados como Annelida), pois eram os mais representativos, compondo mais do que 90% da fauna (ver seção de Resultados). A riqueza e a diversidade da comunidade de anfípodes também foram comparadas usando GLM e o mesmo desenho para abundância da fauna. Para riqueza foi utilizada a distribuição de Poisson (dados de contagem, sem alta dispersão), e para diversidade foi utilizada a distribuição Gamma. Todas as análises foram realizadas primeiramente com o modelo total e, quando a interação entre o fator “identidade da macroalga” e uma das variáveis contínuas (“temperatura” ou “epífitas”) não foi significativa, tal termo foi retirado do modelo e a análise foi realizada novamente com o modelo reduzido (Zuur et al. 2009). Posteriormente, os modelos total e reduzido foram comparados por Análises de Desvios. Quando não foi encontrada diferenças significativas entre os modelos, foi utilizado o modelo reduzido para a análise. Quando encontrado efeito da interação entre o fator “identidade da alga” e alguma variável contínua, foi realizado um GLM entre a variável resposta e a variável contínua para cada nível do fator “Identidade da alga” para melhor entender a direção desse efeito. Para todas as análises, quando encontrado o efeito de algum fator, testes de Tukey foram realizados para compreender as diferenças entre os níveis do fator. Todas as análises univariadas foram realizadas utilizando o software R 3.4.2 (R Core Team 2017).

A composição da comunidade de anfípodes foi avaliada por meio de Análises Permutacionais de Co-Variância (Permancova) do tipo III (Anderson, 2001) com desenho semelhante ao das análises univariadas, porém usamos dados de densidade (abundância de indivíduos dividido pelo peso úmido da alga). Os dados de densidade foram transformados em $\log(x+1)$ e a matriz de similaridade foi construída a partir da distância de Bray-Curtis. O teste *Permdisp* foi realizado utilizando a matriz de similaridade para verificar a existência de homogeneidade das dispersões (*Permdisp*, $p=0,2264$). As análises foram realizadas com 9999 permutações e sempre que encontradas diferenças entre os níveis do fator, comparações par-a-par foram realizadas. Para verificar quais as espécies de anfípodes que mais contribuíram para as diferenças observadas, foi realizado um teste de *Simper*. Nesse

caso, foram consideradas as espécies que contribuíram com mais de 10% para as diferenças observadas entre grupos. As análises multivariadas foram realizadas no software Primer/Permanova versão 6.0.

Para compreender respostas individuais das diferentes espécies de anfípodes com a variação da temperatura, foram realizadas regressões lineares entre a temperatura (variável preditora) e a densidade de cada uma das espécies mais representativas (variável resposta): *Sunamphitoe pelagica* (Milne Edwards, 1830), *Hyale niger* (Haswell, 1879), *Aora spinicornis* Afonso, 1976, *Ampithoe ramondi* Audouin, 1826, *Hourstonius wakabarae* Leite & Siqueira, 2013, *Stenothoe* sp., *Cymadusa filosa*, *Ampithoe marcuzzi*, *Batea catharinensis*, *Erichthonius brasiliensis* (Dana, 1853) (ver seção de Resultados). Antes de realizar a análise, homocedasticidade de variâncias e normalidade foram avaliadas pelos gráficos de dispersão de resíduos. Quando necessário, os dados foram transformados em $\log(x + 1)$ para atingir os pressupostos.

RESULTADOS

Variação temporal da temperatura da água superficial do mar

As maiores temperaturas foram encontradas entre novembro e abril, e as menores entre maio e agosto (GLM, Tabela 1, Figura 2). A maior amplitude térmica foi observada nos meses mais quentes (outubro a fevereiro), com máximas passando os 30°C. Ainda, nos meses mais frios (abril a agosto) a temperatura foi mais estável, apresentando menor amplitude térmica (GLM, Tabela 1, Figura 3).

Tabela 1- Análises de Desvios para GLM com distribuição gamma para a variação temporal da temperatura e da amplitude térmica ao longo de um ano na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de variação	g.l.	Desvio	g.l. Resíduo	Resíduos do desvio	F	p
<i>Temperatura</i>						
NULL			362	4,15		
Mês	11	3,58	351	0,57	203,75	<0,001
<i>Amplitude</i>						
NULL			362	198,1		

Mês 11 80,00 351 118,1 17,90 <0,001

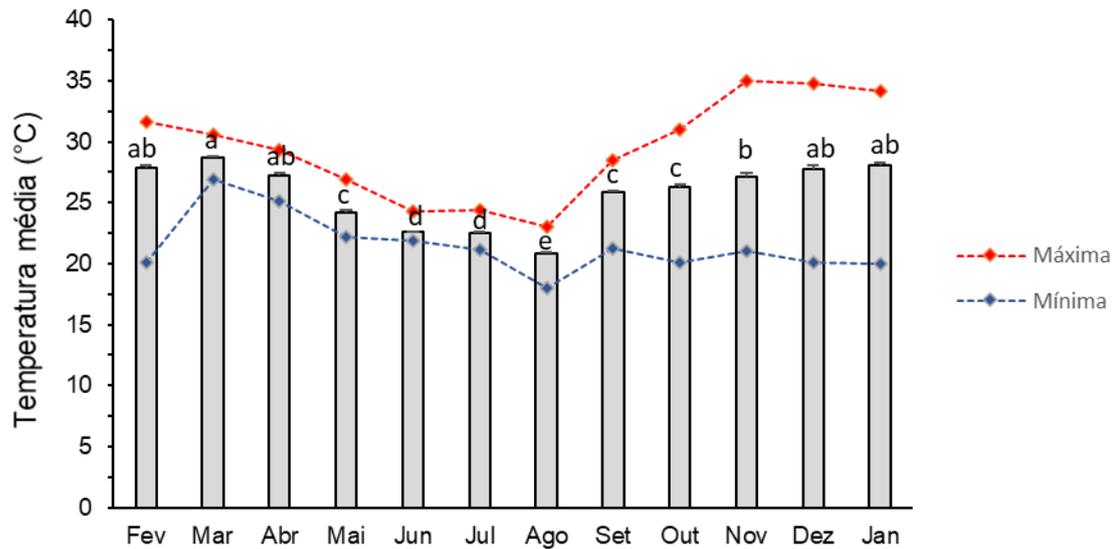


Figura 2- Variação temporal da temperatura (°C) (média \pm erro padrão) da água do mar na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Letras diferentes entre barras representam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Linhas vermelha e azul representam os valores máximos e mínimos de temperatura para cada mês, respectivamente.

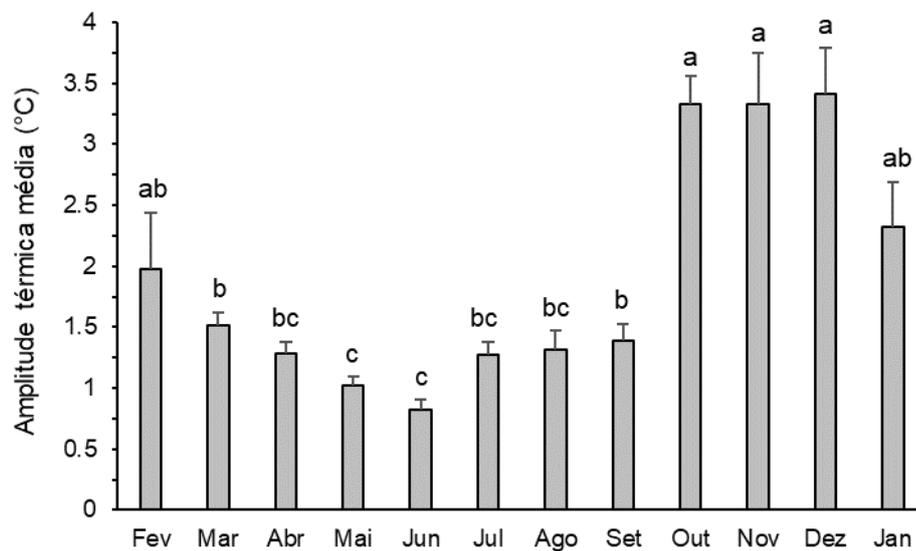


Figura 3- Variação temporal da amplitude térmica (°C) (média \pm erro padrão) na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Letras diferentes entre barras representam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Variação temporal da biomassa de macroalgas e da fauna associada

A biomassa das macroalgas *P. gymnospora* e *D. marginata* variaram ao longo do ano, mas a de *S. filipendula* não (GLM, Tabela 2). No entanto, a temperatura não influenciou a biomassa das macroalgas *P. gymnospora* (Regressão linear, $F=0,2732$, $p=0,6126$, $R^2=0,0266$), *S. filipendula* (Regressão linear, $F=0,3557$, $p=0,5642$, R^2 ajustado= $0,0344$), *D. marginata* (Regressão linear, $F=0,4601$, $p=0,513$, R^2 ajustado= $0,0439$), nem de suas epífitas (Regressão Linear, epífitas de *P. gymnospora*: $F=0,1302$, $p=0,7257$, $R^2=0,01285$; epífitas de *S. filipendula*: $F=1,791$, $p=0,2104$, $R^2=0,1519$; epífitas de *D. marginata*: $F=1,216$, $p=0,2959$, $R^2=0,1085$).

Tabela 2- Análises de Desvios para GLM com distribuição gamma para a variação da biomassa das macroalgas *Padina gymnospora*, *Dichotomaria marginata* e *Sargassum filipendula* ao longo de um ano na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

Fonte de variação	g.l.	Desvio	g.l. Resíduo	Resíduos do desvio	F	p
<i>Padina</i>						
NULL			32	12,34		
Mês	10	8,11	22	4,23	4,79	0,0011
<i>Dichotomaria</i>						
NULL			32	9,66		
Mês	10	5,44	22	4,23	3,28	0,0097
<i>Sargassum</i>						
NULL			32	5,36		
Mês	10	1,34	22	4,02	0,81	0,6191

Com relação a fauna associada, foram encontrados um total de 21.699 indivíduos, divididos em 13 táxons (Tabela 3). A fauna foi mais abundante em *S. filipendula* (12.686), seguido por *D. marginata* (5.668) e *P. gymnospora* (3.345). Os grupos mais representativos da fauna foram: Amphipoda, Isopoda, Gastropoda, Decapoda e Polychaeta, representando mais de 90% da fauna total.

Tabela 3- Abundância dos táxons da fauna associados a *Dichotomaria marginata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum filipendula* na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP.

Grupo	<i>D. marginata</i>	<i>P. gymnospora</i>	<i>S. filipendula</i>	Total
-------	---------------------	----------------------	-----------------------	-------

Actinopterygii	0	3	4	7
Amphipoda	2743	1412	6576	10731
Anthozoa	0	2	3	5
Bivalvia	207	93	430	730
Decapoda	112	96	587	795
Gastropoda	853	774	2288	3915
Holothuroidea	0	0	1	1
Isopoda	1271	780	2204	4255
Ophiuroidea	14	15	17	46
Polychaeta	255	117	359	731
Polyplacophora	1	1	4	6
Pycnogonida	8	9	82	99
Tanaidacea	204	43	131	378

A identidade das macroalgas influenciou apenas a abundância de decápodes (GLM, Tabela 4), sendo que em *S. filipendula* a abundância foi cerca de seis e cinco vezes maior do que em *P. gymnospora* e *D. marginata*, respectivamente (Figura 5B). Já as epífitas apresentaram um efeito positivo na abundância de gastrópodes, poliquetas e isópodes (GLM, Tabela 4, Figura 4B, Figura 6A, Figura 6B, respectivamente). A temperatura influenciou positivamente a abundância de gastrópodes e decápodes (GLM, Tabela 4, Figura 4A e 5A, respectivamente).

Tabela 4- Análises de Desvios para a abundância dos principais grupos da fauna associada e a riqueza e a diversidade de anfípodes com relação a identidade da macroalga, epífitas e a temperatura da água na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de Variação	gl	Desvio	gl Resíduo	Resíduos do desvio	p
<i>Gastropoda</i>					
Null			101	220,13	
Identidade da macroalga	2	3,772	97	111,50	0,1517
Temperatura	1	83,914	100	136,22	<0,001
Epífita	1	20,948	99	115,27	<0,001
<i>Decapoda</i>					
Null			101	187,47	

Identidade da macroalga	2	41,395	99	146,08	<0,001
Temperatura	1	36,506	98	109,57	<0,001
Epífita	1	0,000	97	109,57	0,9902
<i>Isopoda</i>					
Null			101	125,55	
Identidade da macroalga	2	4,825	99	120,73	0,0896
Temperatura	1	0,108	98	120,62	0,7427
Epífita	1	8,111	97	112,51	0,0044
<i>Polychaeta</i>					
Null			101	124,20	
Identidade da macroalga	2	2,593	99	121,60	0,2734
Temperatura	1	0,307	98	121,30	0,5793
Epífita	1	5,406	97	115,90	0,0201
<i>Amphipoda</i>					
Null			101	143,09	
Identidade da macroalga (ID)	2	16,659	99	126,44	0,0002
Temperatura	1	1,906	98	124,53	0,1673
Epífita	1	0,809	97	123,72	0,3683
ID x Temperatura	2	8,757	95	114,96	0,0125
<i>Riqueza (Amphipoda)</i>					
Null			101	115,22	
Identidade da macroalga	2	16,575	99	98,65	0,0002
Temperatura	1	0,930	98	97,72	0,3394
Epífita	1	6,847	97	90,87	0,0089
ID x Temperatura	2	5,797	95	85,07	0,0551
<i>Diversidade (Amphipoda)</i>					
Null			101	16,86	
Identidade da macroalga	2	7,178	99	9,68	<0,0001
Temperatura	1	0,028	98	9,65	0,5756

Epífita

1

0,065

97

9,58

0,3965

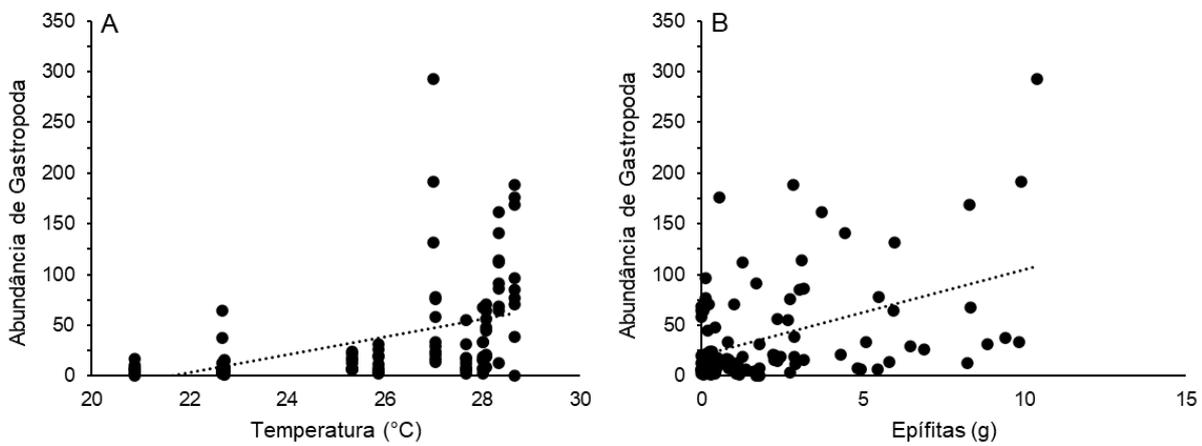


Figura 4- Relação entre a abundância de Gastropoda e (A) temperatura(°C) e (B) biomassa de epífitas(g) na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP.

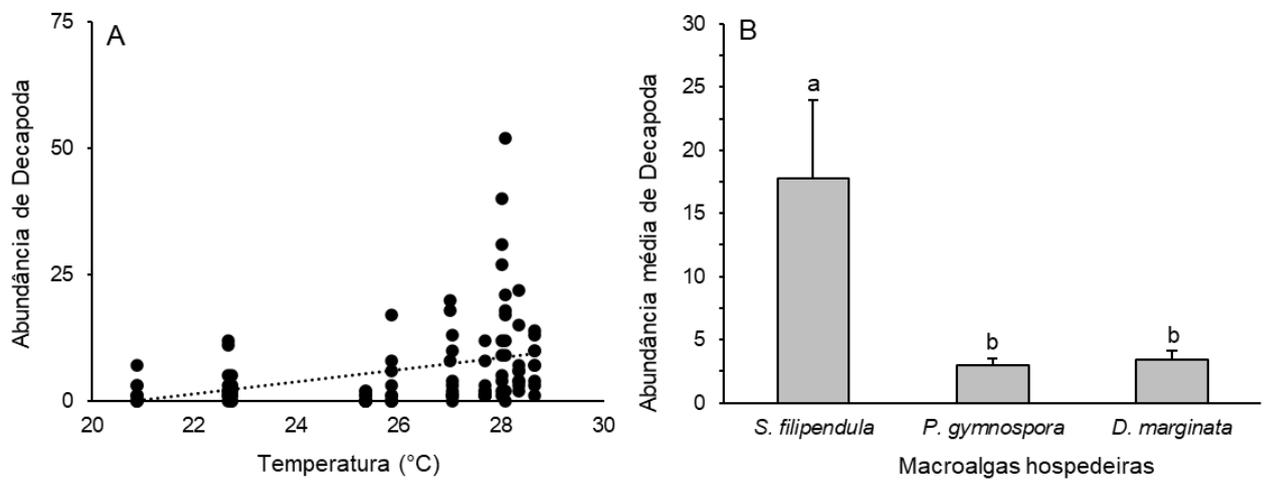


Figura 5- Abundância de Decapoda em relação a (A) temperatura (°C) e (B) macroalgas hospedeiras (média \pm erro padrão) na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Em B, letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

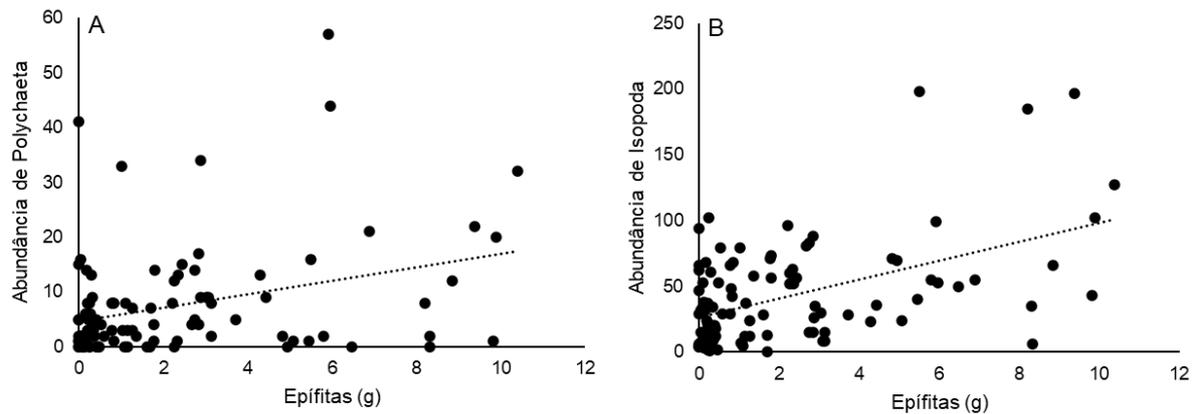


Figura 6- Relação entre a biomassa de epífitas e as abundâncias de (A) Polychaeta e (B) Isopoda associados a macroalgas hospedeiras na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP.

Com relação aos anfípodos, foram encontrados um total de 9.836 anfípodos ao longo do ano, nas três diferentes macroalgas, divididos em 32 espécies. A abundância foi maior em *S. filipendula* (5.920), seguido por *D. marginata* (2.626) e *P. gymnospora* (1.290). As espécies mais abundantes foram *Hourstonius wakabarae*, *Stenothoe* sp. e *Hyale niger*, representando cerca de 55% da fauna de anfípodos (Tabela 5).

Tabela 5- Abundância total das espécies de anfípodos associadas a *Dichotomaria marginata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum filipendula* na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP.

Espécie	<i>D. marginata</i>	<i>P. gymnospora</i>	<i>S. filipendula</i>
Amphilochoidae			
<i>Hourstonius wakabarae</i> Leite & Siqueira, 2013	234	65	2.087
Ampithoidae			
<i>Ampithoe divisura</i> Shoemaker, 1933	13	12	2
<i>Ampithoe marcuzzi</i> Ruffo, 1954	255	47	55
<i>Ampithoe ramondi</i> Audouin, 1826	500	96	89
<i>Cymadusa filosa</i> Savigny, 1816	140	115	38
<i>Sunamphitoe pelagica</i> (Milne Edwards, 1830)	51	345	453
Aoridae			
<i>Aora spinicornis</i> Afonso, 1976	421	229	337
Bateidae			
<i>Batea catharinensis</i> Müller, 1865	49	79	184
Caprellidae			

<i>Caprella danilevskii</i> Czerniavski, 1868	12	1	39
<i>Caprella equilibra</i> Say, 1818	2	0	8
<i>Caprella penantis</i> Leach, 1814	1	0	2
<i>Caprella scaura</i> Templeton, 1836	7	4	5
<i>Paracaprella pusilla</i> Mayer, 1890	1	0	0
<i>Pseudaeginella montoucheti</i> (Quitete, 1971)	7	1	0
Corophiidae			
<i>Laticorophium baconi</i> (Shoemaker, 1934)	1	0	0
<i>Monocorophium acherusicum</i> (Costa, 1851)	29	5	47
Hyalidae			
<i>Hyale macrodactyla</i> (Stebbing, 1899)	9	0	6
<i>Hyale niger</i> (Haswell, 1879)	417	127	963
Ischyroceridae			
<i>Ericthonius brasiliensis</i> (Dana, 1853)	101	30	61
<i>Jassa slatteryi</i> Conlan, 1990	1	6	1
Leucothoidae			
<i>Leucothoe</i> sp,	6	4	11
Lysianassidae			
<i>Lysianassa temimino</i> Senna & Souza Filho, 2010	8	14	10
Maeridae			
<i>Elasmopus longipropodus</i> Senna & Souza-Filho, 2011	9	0	10
<i>Elasmopus pecteniscrus</i> (Spence Bate, 1862)	44	9	17
<i>Elasmopus souzafilhoi</i> Senna, 2011	3	0	3
<i>Elasmopus</i> sp.	7	1	25
<i>Quadrimaera</i> sp.	2	0	0
Photidae			
<i>Photis longicaudata</i> (Space Bate & Westwood, 1863)	5	2	3
<i>Photis sarae</i> Souza-Filho & Serejo, 2010	1	0	1
Podoceridae			
<i>Podocerus fissipes</i> Serejo, 1995	1	7	0
Stenothoidae			
<i>Stenothoe</i> sp.	210	47	1.315
Não identificado	79	43	148

A abundância de anfípodos foi influenciada pela interação entre a identidade da macroalga e a temperatura (GLM, Tabela 4). Para *D. marginata* foi observado um efeito positivo da temperatura na abundância de anfípodos (GLM, inclinação = 0,1198, $z=2,314$, $p=0,0207$, Figura 7A). Já para *P. gymnospora* foi observado um efeito negativo da temperatura (GLM, inclinação = -0,1183, $z= -2,211$, $p= 0,0270$, Figura 7B). Não foi observado efeito da temperatura na abundância de anfípodos em *S. filipendula* (GLM, inclinação = -0,0197, $z= -0,352$, $p=0,7246$).

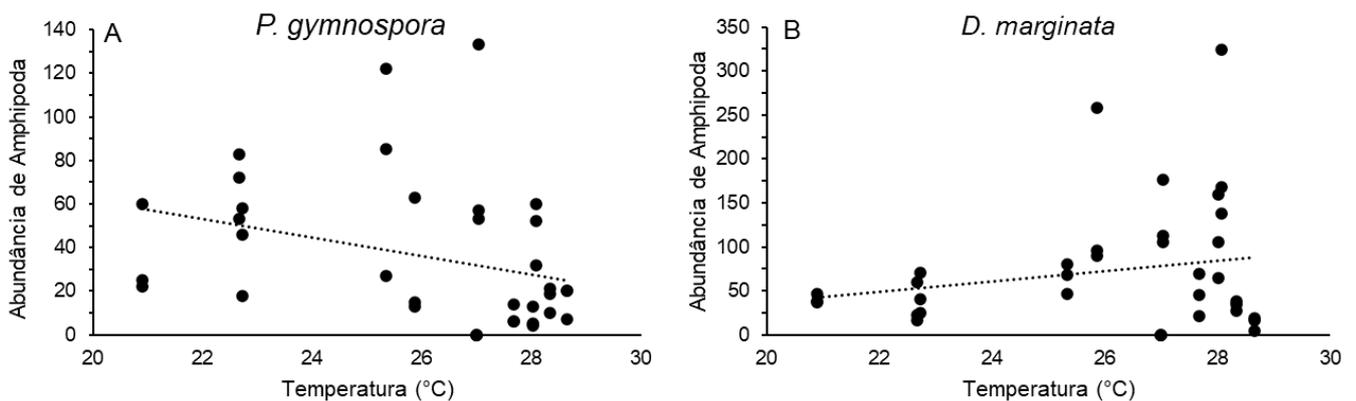


Figura 7- Relação entre a temperatura da água e a abundância de Amphipoda associados às macroalgas hospedeiras *Padina gymnospora* (A) e *Dichotomaria marginata* (B), na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP.

A riqueza de anfípodos foi influenciada pela identidade das macroalgas, sendo maior em *S. filipendula* do que em *D. marginata* e *P. gymnospora* (GLM, Tabela 4, Figura 8A). As epífitas também influenciaram positivamente a riqueza de anfípodos (GLM, Tabela 4, Figura 8B). Já a diversidade dos anfípodos foi influenciada apenas pelo fator identidade da macroalga (GLM, Tabela 4). A macroalga *D. marginata* suportou maior diversidade de anfípodos, seguido por *P. gymnospora* e *S. filipendula* (Figura 9).

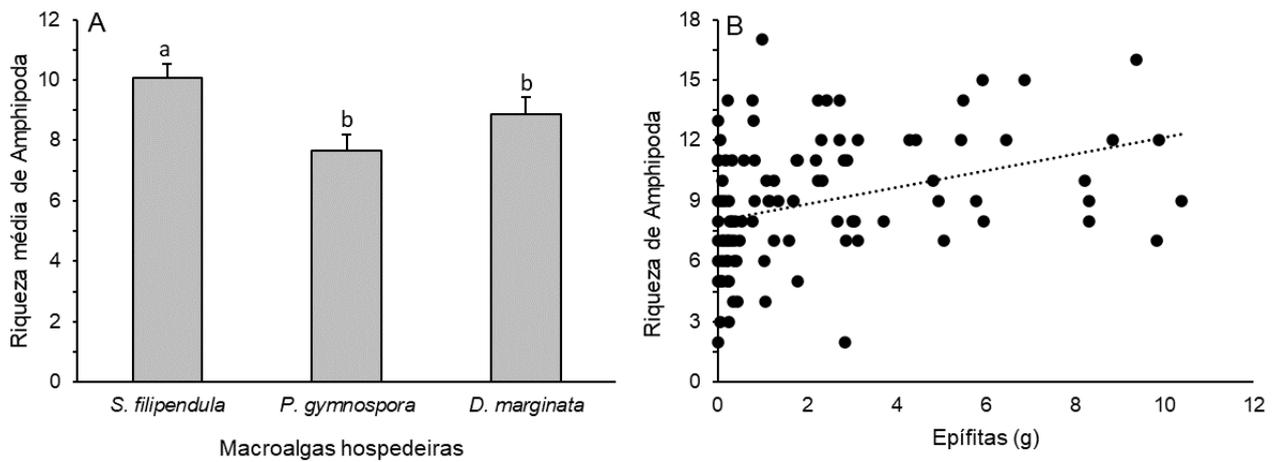


Figura 8- (A) Riqueza média de Amphipoda (média \pm erro padrão) nas diferentes macroalgas hospedeiras e (B) Riqueza de Amphipoda em relação a biomassa de epífitas na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Em A, letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

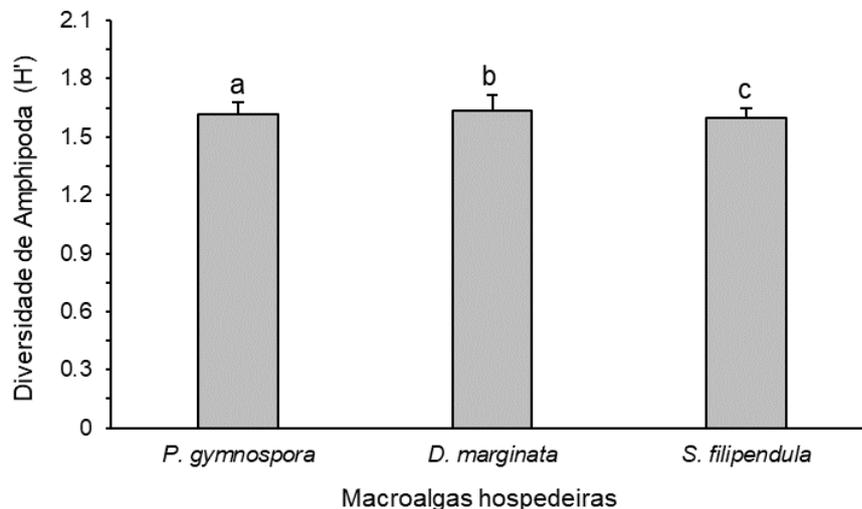


Figura 9- Diversidade (H') de Amphipoda (média \pm erro padrão) associados a macroalgas hospedeiras na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

A composição da comunidade de anfípodes foi influenciada pela variável contínua “epífitas” e pela interação entre a identidade da macroalga hospedeira e a temperatura (Permancova, Tabela 6). A temperatura influenciou a composição dos anfípodes, mas esse efeito variou dependendo da identidade da macroalga hospedeira. A composição de anfípodes diferiu entre todas as macroalgas (*P. gymnospora* x *S. filipendula* $p = 0,0001$; *P. gymnospora* x *D. marginata* $p = 0,0002$; *D. marginata* x *S. filipendula* $p = 0,0001$) e as espécies que mais contribuíram para as diferenças encontradas entre as macroalgas foram *Sunamphitoe pelagica*, *Hyale niger*, *Aora spinicornis*, *Stenothoe* sp., *Ampithoe ramondi* e *Hourstonius wakabarae* (Simper, Tabela 7). *Sunamphitoe pelagica* e *A. spinicornis* foram mais

abundantes em *P. gymnospora* do que nas outras macroalgas. Já *H. niger* e *A. ramondi* foram mais abundantes em *D. marginata*, enquanto *Stenothoe* sp. e *H. wakabarae*, em *S. filipendula*.

Tabela 6 - Permancova para a composição dos Amphipoda com relação a identidade da macroalga, epífitas e a temperatura da água do mar na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Os dados foram transformados em $\log(x+1)$. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de variação	g.l.	QM	Pseudo-F	p
Epífitas (Ep)	1	15222	8,5404	0,0001
Temperatura (Temp)	1	12622	7,0817	0,0001
Identidade da macroalga (Macroalga)	2	14628	8,2071	0,0001
Ep x Temp	1	1731,3	0,9714	0,4692
Ep x Macroalga	2	1834	1,0290	0,4213
Temp x Macroalga	2	3470,9	1,9474	0,0101
Temp x Ep x Macroalga	2	2061,6	1,1567	0,2889
Resíduos	88	1782,3		

Tabela 7- Resultado do Simper indicando as espécies que mais contribuíram (em %) para as dissimilaridades na composição dos Amphipoda entre as macroalgas hospedeiras na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP. Para cada comparação, a macroalga no qual a espécie foi mais abundante está indicado entre parênteses. Pad= *Padina gymnospora*, Dic= *Dichotomaria marginata*, Sar= *Sargassum filipendula*.

Pad vs. Dic	%	Pad vs. Sar	%	Dic vs. Sar	%
<i>S. pelagica</i> (Pad)	14,55	<i>H. wakabarae</i> (Sar)	16,06	<i>H. wakabarae</i> (Sar)	15,94
<i>H. niger</i> (Dic)	12,51	<i>H. niger</i> (Sar)	13,22	<i>H. niger</i> (Dic)	14,89
<i>A. spinicornis</i> (Pad)	11,58	<i>S. pelagica</i> (Pad)	13,06	<i>Stenothoe</i> sp. (Sar)	12,64
<i>A. ramondi</i> (Dic)	11,24	<i>A. ramondi</i> (Pad)	12,53	<i>A. ramondi</i> (Dic)	11,06

Quando avaliado o efeito da temperatura para cada espécie individualmente, foi observado que somente a densidade de *S. pelagica* foi afetada negativamente pela temperatura (Regressão Linear, $F = 44,38$, $p < 0,0001$, $R^2 = 0,8161$, Figura 9). As outras espécies de anfípode não foram influenciadas pela temperatura: *H. niger* (Regressão Linear,

F=1,745, $p=0,2159$, $R^2=0,1486$), *A. spinicornis* (Regressão Linear, F=0,0606, $p=0,8105$, $R^2=0,0060$), *A. ramondi* (Regressão Linear, F=0,1316, $p=0,7243$, $R^2=0,013$), *H. wakabarae* (Regressão Linear, F=0,3606, $p=0,5615$, $R^2=0,0348$), *Stenothoe* sp. (Regressão Linear, F=3,139, $p=0,1069$, $R^2=0,2389$), *C. filosa* (Regressão Linear, F=0,8119, $p=0,3888$, $R^2=0,0751$), *A. marcuzzi* (Regressão Linear, F=0,2114, $p=0,6555$, $R^2=0,00207$), *B. catharinensis* (Regressão Linear, F=0,3986, $p=0,542$, $R^2=0,0383$) e *E. brasiliensis* (Regressão Linear, F=2,161, $p=0,1723$, $R^2=0,1077$).

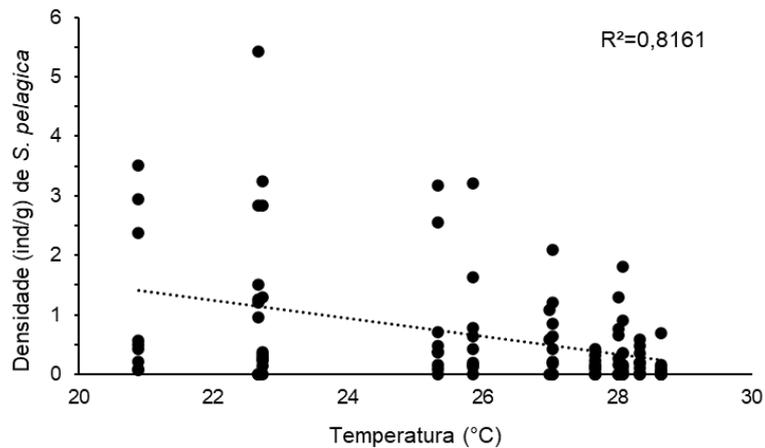


Figura 9- Relação entre a temperatura da água e a densidade de *Sunamphitoe pelagica* associado a macroalgas hospedeiras na Praia da Fortaleza, Ubatuba, SP.

DISCUSSÃO

A temperatura superficial da água do mar e a amplitude térmica variaram ao longo do ano, sendo que as maiores temperaturas e amplitudes térmicas foram registradas de outubro a fevereiro. Tal variação da temperatura não influenciou a biomassa das macroalgas hospedeiras e nem de suas epífitas. No entanto, essa variação influenciou de maneira distinta os grupos da fauna associada e as espécies mais abundantes de anfípodes. Isso mostra que, mesmo no cenário atual, a temperatura é uma variável abiótica importante para a fauna associada a macroalgas. A abundância da fauna associada, incluindo parâmetros da comunidade de anfípodes, também foi influenciada de maneira distinta pela identidade das macroalgas e biomassa de epífitas.

No presente estudo, os meses mais quentes do ano foram a metade final da primavera, verão e início do outono, assim como relatado em outro estudo na mesma região (Jacobucci et al. 2009). Esse período também coincidiu com os meses de maiores amplitudes térmicas. Durante os meses mais quentes do ano, a temperatura da água do mar é bastante elevada durante o dia, apresentando valores acima dos 30°C. Já no período noturno, ocorre um

resfriamento da água, o que ocasiona uma alta amplitude térmica. Nos meses de inverno, a temperatura também é maior durante o dia, mas não atinge valores tão elevados como no verão e não sofre grandes alterações no período noturno, típico de climas subtropicais que não apresentam invernos rigorosos (Mendonça & Danni-Oliveira 2007). Em outros locais de clima quente, como o mediterrâneo, também ocorrem picos de temperatura no verão e menores valores no outono e inverno (Urta et al. 2013b). No entanto, esse padrão de variação térmica pode se alterar com as mudanças previstas no clima. Projeções mostram verões e invernos mais quentes para regiões subtropicais do hemisfério sul, como na área de estudo (Marengo et al. 2010). Dessa forma, é esperado que a grande amplitude térmica que observamos apenas no verão, também seja observada no inverno futuramente.

Embora a temperatura varie ao longo do ano e a biomassa das macroalgas *P. gymnospora* e *D. marginata* também, a variação dessa biomassa de macroalgas e de suas epífitas não foram influenciadas por essa variável abiótica no cenário climático atual. Esse resultado está em desacordo com o esperado, uma vez que maiores temperaturas oceânicas tendem a afetar a fisiologia das macroalgas marinhas, influenciando sua taxa fotossintética, seu crescimento (Li et al. 2013, Koch et al. 2013), e por consequência, sua biomassa (Borja et al. 1986a, Niinemets 2001, Neto 2005). Ainda, esse resultado também difere de outros estudos que mostram uma acentuada variação da biomassa das macroalgas com a temperatura ao longo do ano, apresentando menores valores no inverno e maiores no final da primavera e no verão (Jacobucci et al. 2009; Guerra-García et al. 2011, Urta et al. 2013b, Mateo-Ramírez et al. 2018, Gabr et al. 2020). Apesar de outro trabalho mostrar que a biomassa de macroalgas varia ao longo do ano na área de estudo (Machado et al. 2019a), nossos resultados mostram que essa variação não está atrelada a temperatura da água do mar, como esperávamos. Portanto, outros fatores podem explicar a variação da biomassa das macroalgas na área de estudo. Dentre eles, a carga epifítica (Szechy & Paula 1997), ação de ondas (Edgar 1983), pressão de herbivoria (Verges et al. 2014, Franco et al. 2015) e impactos antrópicos (Gorman et al. 2019) são fatores conhecidos por modular a biomassa de algas. Na área de estudo, a carga de epífitas é abundante, principalmente pelas espécies *Canistrocarpus cervicornis* e *Hypnea musciformis* que ocorrem em elevada biomassa, recobrando as frondes das macroalgas hospedeiras (Jacobucci & Leite 2008, Machado et al. 2019a). A pressão de herbivoria também é intensa, representada pela presença de peixes, tartarugas e anfípodes herbívoros, como os da família Ampithoidae, encontrados nesse trabalho e por outros estudos (Jacobucci & Leite 2008, Jacobucci et al. 2009). Por fim, a área de estudo apresenta um hidrodinamismo moderado (Széchy & Paula 2000) e é influenciada pela pressão antrópica devido à presença constante de banhistas (obs. pessoal). Esses dois fatores podem contribuir para retirada da cobertura vegetal pelo impacto das ondas ou pelos

banhistas. Portanto, todos esses fatores podem estar controlando a biomassa de macroalgas na região. Com relação a biomassa das algas epífitas, nossos resultados também diferem do que esperávamos, pois não são influenciadas pela temperatura da água do mar. Isso também está em desacordo com outros estudos que apontam um padrão de distribuição semelhante ao das macroalgas hospedeiras, apresentando uma maior carga epifítica durante a estação mais quente do ano (Széchy & Paula 1997, Leite & Turra 2003, Jacobucci et al. 2009). Portanto, algas epífitas também devem ter sua biomassa regulada por outros fatores diferentes da temperatura, como os apontados para as macroalgas hospedeiras.

Apesar da ausência de relação entre temperatura e biomassa das macroalgas hospedeiras e suas epífitas, foi possível observar que tal fator abiótico explica em parte a variação temporal da fauna associada. Os grupos mais abundantes encontrados na fauna associada foram os crustáceos peracáridos, gastrópodes, decápodes e poliquetas, assim como relatado em outros trabalhos (Taylor & Cole 1994, Leite & Turra 2003, Van Hoey et al. 2004, Amles et al. 2015, Mateo-Ramirez et al. 2018). Esses grupos apresentaram respostas diferentes para a identidade das macroalgas hospedeiras, biomassa de epífitas e temperatura, mostrando que grupos distintos podem apresentar diferentes respostas frente às mesmas variáveis ambientais. A identidade da macroalga hospedeira afetou somente a abundância dos decápodes, sendo que as maiores abundâncias foram encontradas em *S. filipendula* e as menores em *D. marginata* e *P. gymnospora*. Mateo-Ramirez et al. (2018) mostraram que as abundâncias das espécies de decápodes também são influenciadas pela identidade da macroalga hospedeira e a pressão de predação por peixes é um dos moduladores dessa preferência pelo hábitat. O uso da macroalga como refúgio contra a predação pode explicar nossos resultados, já que a área de estudo possui vários predadores visualmente orientados (Pereira & Jacobucci 2008), e as macroalgas variam quanto ao grau de proteção oferecido a fauna associada (Machado et al. 2019b). A complexidade estrutural das macroalgas afeta diretamente a fauna associada (Taylor & Cole 1994, Chemello & Milazzo 2002), portanto era esperado encontrar o efeito da identidade da macroalga hospedeira sobre os outros grupos da fauna também. Nesse caso, outros fatores podem contribuir para os resultados encontrados, como a presença de epífitas.

A biomassa das epífitas influenciou positivamente a abundância de gastrópodes, poliquetas e isópodes. Na área de estudo, epífitas são diversas e abundantes (Jacobucci & Leite 2006, Jacobucci et al. 2009, Machado et al. 2019a) e sua presença pode ser a explicação para não existir efeito das macroalgas hospedeiras sobre diversos grupos da fauna, já que elas são capazes de aumentar a complexidade do hábitat e contribuir para o acúmulo de sedimento (Walker & Woelkerling 1988, Hall & Bell 1988, Dawes et al. 2000). Assembleias de gastrópodes associadas a macroalgas são dominadas por espécies detritívoras e

consumidoras de perifiton (Goffas et al. 2011). Nesse caso, a disponibilidade de microalgas e detritos retidos é muito importante para ocorrência dos gastrópodes (Gibbons 1988), sendo que tal acúmulo de alimento é favorecido pela presença de epífitas (Urrea et al. 2013b). Esse acúmulo de sedimento também favorece a abundância de poliquetas, como encontrado nesse trabalho e em outros estudos anteriores (Fresi et al. 1984, Giangrande 1988, Frascchetti et al. 2002). Além do acúmulo de sedimento, a própria epífita pode servir como fonte de alimento para a fauna. Nesse sentido, é conhecido o efeito positivo sobre a abundância dos isópodes (Anderson et al. 1998), uma vez que epífitas servem como fonte de alimento para esse grupo (Bostrom & Mattila 2009) e, em alguns casos, sendo mais consumidas do que as macroalgas hospedeiras (Anderson et al. 1998).

A temperatura influenciou positivamente a abundância de gastrópodes e decápodes. Esse resultado era esperado, uma vez que a abundância de decápodes varia sazonalmente em macrófitas marinhas, sendo as menores abundâncias encontradas no inverno e os picos populacionais no final da primavera e durante o verão (Bauer 1985, Briones-Fourzán et al. 2020). A relação positiva entre a temperatura e a abundância de gastrópodes também foi observada em outros trabalhos (Rueda & Salas 2003, Ba-Akdah et al. 2016), que apontaram picos populacionais nos meses mais quentes do ano (Urrea et al. 2013b). Os decápodes apresentam desenvolvimento indireto e as larvas possuem um papel muito importante na dispersão (Epifanio & Garvine 2001). As fases larvais toleram uma faixa de temperatura bem menor que os adultos (Sastry 1983, Charmantier 1998) e temperaturas abaixo do ótimo térmico impedem que algumas larvas completem o ciclo de desenvolvimento, morrendo ainda no estágio de zoea (Luppi et al. 2003). Portanto, temperaturas maiores garantem maior sobrevivência e favorecem o desenvolvimento larval (Ismael et al. 1997, Luppi et al. 2003). A maioria dos gastrópodes marinhos também apresentam desenvolvimento indireto e embora os eventos de recrutamento sejam característicos para cada espécie (Urrea et al. 2013b, López de la Rosa et al. 2006), a maior emissão de ovos coincide com períodos de maior disponibilidade de recursos (i.e. habitat e alimento), o que favorece a sobrevivência das larvas (Rueda & Salas 2008). Para os gastrópodes, esse período ocorre no verão (Urrea et al. 2013a), pois as maiores temperaturas da água do mar favorecem a maior biomassa de macroalgas e epífitas (Borja et al. 1986b, Suárez et al. 2005, Rueda & Salas 2008) e o maior acúmulo de sedimentos e disponibilidade de alimento (Suárez et al. 2005). No entanto, a ausência de efeito da temperatura sobre os outros grupos difere do esperado. Uma vez que a temperatura atua sobre os processos metabólicos dos organismos, afetando-os diretamente (Angilletta 2009), esperávamos encontrar algum efeito sobre os outros grupos. No entanto, vale ressaltar que outros fatores ambientais como pluviosidade, incidência de UV, quantidade de oxigênio

dissolvido, também podem estar atuando sobre a fauna e seus efeitos podem ser mais significativos do que a temperatura.

A abundância de anfípodes foi influenciada pela interação entre a identidade das macroalgas e a temperatura. Em *S. filipendula* não foi possível observar uma relação direta com a temperatura, já em *P. gymnospora* foi observado um efeito negativo da temperatura na abundância de anfípodes e em *D. marginata* observamos um efeito positivo da temperatura. Machado et al. (2019a) não encontraram efeito da identidade da macroalga hospedeira na abundância dos anfípodes para a área de estudo. No entanto, os autores não testaram um possível efeito combinado com a temperatura, como realizado nesse estudo. O efeito positivo da temperatura sobre *D. marginata* era esperado, uma vez que anfípodes são mais abundantes nos meses mais quentes do ano (Jacobucci et al. 2009, Guerra-García et al. 2011), nos quais a biomassa de macroalgas também é maior (Guerra-García et al. 2011). No entanto, o efeito negativo da temperatura sobre a abundância de anfípodes em *P. gymnospora* difere do esperado. Apesar de não ter sido observado um efeito da temperatura sobre a biomassa das macroalgas, a temperatura pode afetar outras variáveis nas macroalgas, principalmente fisiológicas (Teoh et al. 2010). Respostas fisiológicas são dependentes de características de cada espécie, portanto podem variar de uma macroalga para outra. O aumento da temperatura reduz o valor nutricional dos tecidos das macroalgas (Staeher & Wernberg 2009), além de aumentar a concentração de metabólitos secundários (Sudatti et al. 2011). Essas mudanças na palatabilidade da macroalga afetam diretamente a alimentação de anfípodes herbívoros (Poore et al. 2013), podendo reduzir a sua abundância na macroalga hospedeira. As principais espécies de anfípodes herbívoros (*Cymadusa filosa*, *Sunamphitoe pelagica*, *Amphitoe marcuzzi*, *Ampithoe ramondi*, *Hyale niger* e *Batea catharinensis*) (Guerra-García et al. 2014, Steele & Valentine 2015), ocorreram em maiores abundâncias em *S. filipendula* ou *D. marginata* do que em *P. gymnospora*, reforçando que a temperatura pode estar comprometendo o papel nutricional dessa macroalga, o que explica o efeito negativo da temperatura na abundância dos anfípodes nesse hospedeiro.

A identidade das macroalgas influenciou a riqueza e a diversidade da comunidade de anfípodes, sendo que a biomassa de epífitas também teve um papel importante na riqueza. Características intrínsecas das macroalgas, como morfologia e composição química, podem influenciar diretamente a fauna associada e, dessa forma, contribuir para as diferenças entre macroalgas quanto à riqueza e diversidade da fauna que elas abrigam. Macroalgas mais complexas são capazes de comportar maior riqueza e diversidade de algas (Hauser et al. 2006, Bueno et al. 2017), pois oferecem maior diversidade de recursos, como hábitat e alimento (Christie et al. 2009, Machado et al. 2017). Além desses importantes recursos, macroalgas também desempenham um papel importante como refúgio contra a predação

(Zamzow et al. 2010). Essa interação pode estruturar as comunidades de anfípodes (Nelson 1979), que são importantes itens alimentares na dieta de peixes carnívoros (Munõz & Ojeda 1997). Nesse estudo, as macroalgas hospedeiras apresentam características morfológicas distintas. *Padina gymnospora* apresenta folíolos grandes em formato de lâminas que se sobrepõem, enquanto *S. filipendula* apresenta um talo central com várias ramificações e folíolos finos e *D. marginata* apresenta várias ramificações com folíolos achatados e divisões dicotômicas. Devido a essas diferenças morfológicas entre as espécies de macroalgas estudadas, é esperado diferenças quanto a qualidade do hábitat e distintos graus de proteção contra predação oferecida à fauna associada (Zamzow et al. 2010, Vazquez-Luís et al 2010, Machado et al. 2019b). Da mesma forma, as diferentes macroalgas podem apresentar composições químicas diferentes (Duffy & Hay 1994), o que pode variar a sua palatabilidade (Sudatti et al. 2011, Poore et al. 2013) e o oferecimento de recursos alimentares para fauna. Nesse sentido, também é conhecido o efeito positivo das epífitas sobre a comunidade de anfípodes (Jacobucci et al. 2009, Machado et al. 2019a), uma vez que elas aumentam a complexidade do habitat, facilitam o acúmulo de sedimento na alga hospedeira e servem como fonte de alimento, favorecendo espécies detritívoras e herbívoras (Walker & Woekerling 1988, Jacobucci et al. 2009, Machado et al 2019a), como destacado anteriormente.

Sargassum filipendula foi a macroalga que comportou maior riqueza de anfípodes. Esse gênero é reconhecido por abrigar uma grande abundância e riqueza da fauna de anfípodes (Leite et al. 2000, Leite et al 2007a, Jacobucci et al. 2009), além de servir de alimento para os herbívoros (Jacobucci et al. 2009, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b) e proteção contra predadores (Holmlund et al. 1990). Por outro lado, a menor diversidade (índice de shannon) de anfípodes também foi maior observada em *S. filipendula* e a maior em *D. marginata*. No entanto, a magnitude do efeito da diferença na diversidade entre as macroalgas é bem pequeno e pode ser consequência da abundância das espécies que elas abrigam, já que a variação desse atributo da comunidade é condicionada pela presença das espécies mais dominantes (Mogias & Kevrekidis 2005, Jacobucci et al. 2009). Na área de estudo, as espécies *Houstonius wakabarae*, *Sunamphitoe pelagica*, *Hyale niger* e *Stenothoe* sp. são muito abundantes na fauna associada e apresentaram uma alta dominância em *S. filipendula*, contribuindo para a menor diversidade nessa macroalga. Já *P. gymnospora* e *D. marginata* apresentaram menor riqueza de espécies, mas também menor dominância das espécies que ocorreram, resultando em uma diversidade maior.

A composição foi diferente entre todas as macroalgas analisadas, reforçando que características intrínsecas das macroalgas, como morfologia (Széchy & Paula 1998, Hauser et al. 2006) e conteúdo nutricional (Duffy & Hay 1994, Poore et al. 2013), são atributos que influenciam a composição da fauna. Da mesma forma, a presença de epífitas aumenta a

disponibilidade de recursos (Dawes et al. 2000, Machado et al. 2017), o que também pode influenciar na composição da fauna. As espécies que mais contribuíram para as diferenças encontradas entre as macroalgas foram *Sunamphitoe pelagica*, *Hyale niger*, *Aora spinicornis*, *Stenothoe* sp., *Ampithoe ramondi*, *Hourstonius wakabarae*. Essas espécies são comuns nessa região, sendo dominantes em macroalgas distintas (Jacobucci et al. 2009, Bueno & Leite 2019, Machado et al. 2019a). Variações na temperatura são importantes para a ocorrência de determinadas espécies de anfípodes (Mogias & Kevrekidis 2005, Nevis et al. 2009, Zaabar et al. 2015), principalmente em locais mais quentes (Hughes et al. 2017). Nesse trabalho, dentre as espécies mais abundantes, somente *S. pelagica* foi afetada negativamente pela temperatura. Essa espécie é sensível ao aumento da temperatura, mostrando altas taxas de mortalidade e alterações metabólicas (ver Capítulos 2 e 4). Respostas distintas entre espécies de anfípodes frente ao mesmo estressor ambiental também foram relatadas em outros estudos, que apontaram algumas espécies bem mais tolerantes do que outras (Tsoi et al. 2005, Dallas & Ketley 2011, Campbell et al. 2020). Essa resposta diferencial das espécies em relação ao aquecimento, pode favorecer a abundância de algumas, em detrimento da redução da abundância de outras. Portanto, além da redução na riqueza de espécies, o aumento populacional das espécies tolerantes ao aquecimento pode levar a homogeneização da biota (McKinney & Lockwood, 1999). A homogeneização da biota é caracterizada pela perda da diversidade que leva a uma maior similaridade entre as comunidades (Olden & Rooney, 2006). Essa similaridade pode ser taxonômica, genética ou funcional, sendo a primeira uma das mais comuns (Petsch 2016). Sabemos que alguns fatores podem contribuir para a homogeneização da biota, como a extinção local de espécies ou invasão de espécies superiormente competitivas (Lockwood & McKinney 2001). Recentemente, as mudanças no clima têm se mostrado uma força importante para essa homogeneização, sendo que esse padrão já foi demonstrado em ambientes terrestres (Savage & Vellend 2015, Zwiener et al. 2017) e de água doce (Petsch 2016), podendo ocorrer também nos ambientes marinhos.

Nosso trabalho traz uma série de dados sobre a temperatura da água do mar ao longo de um ano no litoral norte de São Paulo. Apesar do contexto de mudanças no clima que estamos inseridos, ainda são poucos trabalhos que fornecem dados sobre monitoramento constante de parâmetros ambientais, principalmente em climas subtropicais. Conhecer os efeitos da variação natural da temperatura sobre as comunidades marinhas no clima atual é uma forma de prever as consequências das mudanças no clima. A divulgação desses dados é fundamental para compreender como essa variável abiótica atua no clima atual e conseguir projetar as consequências para um cenário climático futuro. Nossos resultados mostram como a variação da temperatura atua sobre o sistema de macroalgas e fauna associada. Aqui, é importante ressaltar que a ausência de efeito significativo da temperatura sobre a biomassa

de macroalgas e epífitas é uma observação válida para variações na temperatura apenas no clima atual. No entanto, respostas frente a estressores ambientais, como a temperatura, são obtidas somente quando valores ultrapassam o ótimo térmico daquela espécie (Somero 2010). Nesse trabalho, a temperatura está dentro do cenário climático atual e, portanto, a ausência de resposta direta da maioria das espécies à temperatura pode ser consequência de uma variação térmica natural pequena. Porém, projeções sobre o clima mostram que temperaturas elevadas em cenários climáticos futuros poderão afetar a biomassa e distribuição das macroalgas (Komatsu et al. 2014; Yesson et al. 2015; de la Hoz et al. 2019). Nossos resultados também mostraram que a temperatura afeta positivamente a abundância dos principais grupos da fauna associada, além de afetar a abundância e composição da comunidade de anfípodes. Ysebaert & Herman (2002) apontam que analisar variáveis ambientais por um longo período e a partir disso calcular médias, é mais importante e oferece resultados mais robustos para prever efeitos ambientais do que os valores pontuais obtidos durante as amostragens. Por isso, nem sempre é possível observar relações entre a abundância de uma espécie e a temperatura do ambiente, mesmo usando a média dos 30 dias que antecederam a amostragem. No entanto, nós conseguimos observar efeitos no nível da comunidade que são perceptíveis após período prolongado de influência da temperatura. Portanto, em cenários futuros, com o aumento previsto da temperatura da água superficial do mar (IPCC 2013), esses impactos podem ser mais severos. Por consequência, podemos ter o aumento da abundância de alguns grupos, com a perda da diversidade da fauna, causando uma reestruturação das comunidades marinhas, tornando-as mais homogêneas.

REFERÊNCIAS

Amsler, M O; Huang, Y M; Engl, W; McClintock, J B, Amsler, C D. 2015. Abundance and diversity of gastropods associated with dominant subtidal macroalgae from the western Antarctic Peninsula. *Polar Biology* 38: 1171–1181.

Amsler, D C; McClintock, B J; Baker, J B. 2012. Amphipods exclude filamentous macroalgae from the Western Antarctic Peninsula benthos: experimental evidence. *Polar Biology* 35: 171–177.

Anderson, B C; Smit, A J; Bolton, J J. 1998. Differential grazing effects by isopods on *Gracilaria gracilis* and epiphytic *Ceramium diaphanum* in suspended raft culture. *Aquaculture* 169: 99–109.

Anderson, M J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26: 32-46.

Angilletta, M J. 2009. *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press, Oxford, pp. 306.

Arrivillaga, A; Baltz, D M. 1999. Comparison of fishes and macroinvertebrates on seagrass and bare-sand sites on Guatemala's Atlantic Coast. *Bulletin of Marine Science* 65: 301–319.

Ba-akdah, M A; Satheesh, A; Al-sofyani, A A. 2016. Habitat preference and seasonal variability of epifaunal assemblages associated with macroalgal beds on the Central Red Sea coast, Saudi Arabia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96: 1457–1467.

Bauer, R T. 1985. Diel and seasonal variation in species composition and abundance of caridean shrimps (Crustacea, Decapoda) from seagrass meadows on the north coast of Puerto Rico. *Bulletin of Marine Science* 36: 150-162.

Beare, D J; Moore, P G. 1996. The distribution, growth and reproduction of *Pontocrates arenarius* and *P. altamarinus* (Crustacea: Amphipoda) at Millport, Scotland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 76: 931–950.

Bertness, M D. 1989. Intraspecific competition and facilitation in northern acorn barnacles. *Ecology* 70: 257–268.

Bertness, M D; Leonard, G H; Levine, J M; Schmidt, P R; Ingraham, A O. 1999. Testing the relative contribution of positive and negative interactions in rocky intertidal communities. *Ecology* 80: 2711–2726.

Bible, J M; Evans, T G; Sanford, E. 2020. Differences in induced thermotolerance among populations of *Olympia oysters*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 239: 110563.

Borg, A.; Pihl, L; Wennhage, H. 1997. Habitat choice by juvenile cod (*Gadus morhua* L.) on soft bottoms with different vegetation types. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 51: 197–212.

Borja, Á. 1986a. Annual variation in abundance of *Rissoa parva* (da Costa, 1779), *Barleeia unifasciata* (Montagu, 1803) y *Bittium reticulatum* (da Costa, 1778) (Molusca: Gastropoda) on the macroalgae *Halopteris scoparia* L. Sauv. Iberus 6: 215–227.

Borja, Á. 1986b. La alimentación y distribución del espacio en tres moluscos gasterópodos: *Rissoa parva* (da Costa), *Barleeia unifasciata* (Montagu) y *Bittium reticulatum* (da Costa). Cahiers de Biologie Marine 27: 69–75.

Bostrom, C; Mattila, J. 2009. The relative importance of food and shelter for seagrass-associated invertebrates: a latitudinal comparison of habitat choice by isopod grazers. Oecologia 120: 162-170.

Briones-Fourzán, P; Monroy-Velázquez, L V; Estrada-Olivo, J; Lozano-Álvarez, E. 2020. Diversity of Seagrass-Associated Decapod Crustaceans in a Tropical Reef Lagoon Prior to Large Environmental Changes: A Baseline Study. Diversity 12: 205.

Bruno, J F; Bertness, M D. 2001. Habitat modification and facilitation in benthic marine communities. In: M D Bertness (ed). Marine community ecology. Sinauer Associates Inc, Sunderland, Massachusetts, USA. pp. 201–218.

Bueno, M; Leite, F P P. 2019. Age and life style affect macroalgae colonization by amphipods in shallow marine environments. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 514–515: 59–66.

Bueno, M; Dena-Silva, S A; Flores, A A V; Leite, F P P. 2016. Effects of wave exposure on the abundance and composition of amphipod and tanaidacean assemblages inhabiting intertidal coralline macroalgae. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 96: 761–767.

Bueno, M; Dias, G M; Leite, F P P. 2017. The importance of shore height and host identity for amphipod assemblages. Marine Biology Research, DOI: 10.1080/17451000.2017.1306650.

Cacabelos, E; Olabarria, C; Incera, M; Troncoso, J S. 2010. Effects of habitat structure and tidal height on epifaunal assemblages associated with macroalgae. Estuarine, Coastal and Shelf Science 89: 43e52.

Campbell, H; Ledet, J; Poore, A; Harianto, J; Byrne, M. 2020. Resilience of the amphipod *Hyale niger* and its macroalgal host *Sargassum linearifolium* to heatwave conditions. *Marine Biology* 167: 72.

Charmantier, G. 1998. Ontogeny of osmoregulation in crustaceans: a review. *Invertebrate Reproduction and Development* 33: 177–190.

Chemello, R; Milazzo, M. 2002. Effect of macroalgal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. *Marine Biology* 140: 981-990.

Christie, H; Norderhaug, K M; Fredriksen, S. 2009. Macrophytes as habitat for fauna. *Marine Ecology Progress Series* 396: 221-233.

Conand, F; Marsas, F; Tessier, E; Conand C. 2007. A ten-year period of daily sea surface temperature at a coastal station in Reunion Island, Indian Ocean (July 1993 – April 2004): Patterns of Variability and Biological Responses. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science* 6: 1–16.

Dallas, H F; Ketley, Z A. 2011. Upper thermal limits of aquatic macroinvertebrates: comparing critical thermal maxima with 96-LT50 values. *Journal of Thermal Biology* 36: 322–327.

Dawes, C J; Teasdale, B W; Friedlander, M. 2000. Cell wall structure of the agarophytes *Gracilaria tikvahiae* and *G. cornea* (Rhodophyta) and penetration by the epiphyte *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology* 12: 567–575.

de la Hoz, C F; Ramos, E; Puente, A; Juanes, J A. 2019. Climate change induced range shifts in seaweeds distributions in Europe. *Marine Environmental Research* 148: 1–11.

Dong, Y; Miller, L P; Sanders, J G; Somero, G N. 2008. Heat-shock protein 70 (Hsp 70) expression in four limpets of the genus *Lottia*: interspecific constitute and inducible synthesis correlates with *in situ* exposure to heat stress. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 215: 173–181.

Duffy, J E; Hay, M E. 1990. Seaweed adaptations to herbivory. *BioScience*, 40: 368-375.

Duffy, J E; Hay, M E. 1994. Herbivory resistance to seaweed chemical defense: The roles of mobility and predation risk. *Ecology* 75:1304-1319.

Edgar, G. J. 1983. The ecology of southeast Tasmanian phytal animal communities. II. Seasonal change in plant and animal populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 70: 159-179.

Egilsdottir, H; Spicer, J I; Rundle, S D. 2009. The effect of CO₂ acidified sea water and reduced salinity on aspects of the embryonic development of the amphipod *Echinogammarus marinus* (Leach). *Marine Pollution Bulletin* 58: 1187–1191.

Eklöf, J S; de la Torre Castro, M; Adelsköld, L; Jiddawi, N S; Kautsky, N. 2005. Differences in macrofaunal and seagrass assemblages in seagrass beds with and without seaweed farms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 63: 385–396.

Eklöf, J S; van der Heide, T; Donadi, S; van der Zee, E M; O'hara, R; Eriksson, B K. 2011. Habitat-mediated facilitation and counteracting ecosystem engineering interactively influence ecosystem responses to disturbance. *PLoS ONE* 6: e23229.

Epifanio, C E; Garvine, R W. 2001. Larval transport on the Atlantic continental shelf of North America: a review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52: 51–77.

Fernandez-Gonzalez J; Sanchez-Jerez P. 2014. First occurrence of *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Crustacea: Amphipoda) on off-coast fish farm cages in the Mediterranean Sea. *Helgoland Marine Research* 68: 187–191.

Franco, J; Wernberg, T; Bertocci, I; Duarte, P; Jacinto, D; Vasco-Rodrigues, N; Tuya, F. 2015. Herbivory drives kelp recruits into 'hiding' in a warm ocean climate. *Marine Ecology Progress Series* 536: 1e9.

Fraschetti, S; Giangrande, A; Terlizzi, A; Miglietta, M P; Tommasa, D L; Boero, F. 2002. Spatio-temporal variation of hydroids and polychaetes associated with *Cystoseira amentacea* (Fucales: Phaeophyceae). *Marine Biology* 140: 949–957.

Fresi, E; Colognola, R; Gambi, M C; Giangrande, A; Scardi, M. 1984. Ricerche sui popolamenti bentonici di substrato duro del Porto di Ischia. *Infralitorale fotofilo: Policheti (II)*. *Cahiers de Biologie Marine* 25: 33-47.

Gabr, M K; Ziena, A F; Hellal, A M. 2020. Abundance and diversity of amphipod species associated with macro-macroalgae at Ras-Mohamed, Aqaba Gulf, Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* 24: 1-15.

Gao, K; McKinley, K. R. 1994. Use of macroalgae for marine biomass production and CO₂ remediation: a review. *Journal of Applied Phycology* 6: 45-60.

Gee, J M; Warwick, R M. 1994. Metazoan community structure in relation to the fractal dimensions of marine macroalgae. *Marine Ecology Progress Series* 103: 141-150.

Giangrande, A. 1988. Polychaete zonation and its relation to macroalgal distribution down a vertical cliff in The Western Mediterranean (Italy): A Structural Analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 120: 263-276.

Gibbons, M J. 1988. The impact of sediment accumulations, relative habitat complexity and elevation on rocky shore meiofauna. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 122: 225–241.

Gofas, S; Moreno, D; Salas, C. 2011. *Moluscos marinos de Andalucía. Volume I* (pp. 342) and *Vol. II* (pp. 798). Málaga: Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico. Universidad de Málaga.

Gorman, D; Horta, P; Flores, A A V; Turra, A ; Berchez, F A S et al. 2019. Decadal losses of canopy-forming macroalgae along the warm temperate coastline of Brazil. *Global Change Biology* 26: 1446-1457.

Guerra-García, J M; Baeza-Rojano, E; Cabezas, M P; García-Gómez, J C. 2011. Vertical distribution and seasonality of peracarid crustaceans associated with intertidal macroalgae. *Journal of Sea Research* 65: 256–264.

Guerra-García, J M.; Figueroa, J M T; Navarro-Barranco, C; Ros, M; Sánchez-Moyano, J E; Moreira, J. 2014. Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *Journal of Sea Research* 85: 508–517.

Hacker, S D; Steneck, R S. 1990. Habitat architecture and abundance and body-size-dependent habitat selection of a phytal amphipod. *Ecology* 71: 2269-2285.

Hall, M. O; Bell, S. S. 1988. Response of motile epifauna to complexity of epiphytic macroalgae on seagrass blades. *Journal of Marine Research* 46: 613-630.

Hansen, J P; Wikström, S A; Axemar, H; Kautsky, L. 2011. Distribution differences and active habitat choices of invertebrates between macrophytes of different morphological complexity. *Aquatic Ecology* 45: 11–22.

Hauser, A; Attrill, M J; Cotton, P A. 2006. Effects of habitat complexity on the diversity and abundance of macrofauna colonising artificial kelp holdfasts. *Marine Ecology Progress Series* 325: 93–100.

Hauton, C; Tyrrell, T; Williams, J. 2009. The subtle effects of sea water acidification on the amphipod *Gammarus locusta*. *Biogeosciences* 6: 1479–1489.

Hicks, G R F. 1980. Structure of phytal harpacticoid copepod assemblages and the influence of habitat complexity and turbidity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 44: 157-192.

Hoelzle, M; Haeberli, W; Stocker-Mittaz, C. 2003. Miniature ground temperature data logger measurements 2000–2002 in the Murtèl-Corvatsch area, Eastern Swiss Alps. *Permafrost, Phillips, Springman & Arenson*, 419-424.

Holmlund, M B; Peterson, C H; Hay, M E. 1990. Does algal morphology affect amphipod susceptibility to fish predation? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 139: 65–83.

Hopkin, R S; Qari, S; Bowler, K; Hyde, D; Cuculescu, M. 2006. Seasonal thermal tolerance in marine Crustacea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 331: 74–81.

Hughes, T; Kerry, J; Álvarez-Noriega, M; Álvarez-Romero, J G; Anderson, K D; Baird, A H. et al. 2017. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature* 543: 373–377.

IPCC, 2013. Summary for Policymakers. In: T F Stocker; D Qin; G-K Plattner; M; S K Allen; J Boschung; A Nauels; Y Xia; V Bex; P M Midgley (eds). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Ismael, D; Anger, K; Moreira, G S. 1997. Influence of temperature on larval survival, development, and respiration in *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Decapoda). *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 51: 463-475.

Jacobucci, G B; Leite, F P P. 2006. Biologia populacional das espécies de Ampithoidae (Amphipoda, Crustacea) associadas a *Sargassum filipendula* C. Agarth, na Praia da Fortaleza, Ubatuba, São Paulo. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 1207-1216.

Jacobucci, G B; Leite, F P P. 2008. Effect of temporal variation and size of herbivorous amphipods on consumption levels of *Sargassum filipendula* (Phaeophyta, Fucales) and their main epiphyte, *Hypnea musciformis*. *Neotropical Biology and Conservation* 3: 78-85.

Jacobucci, G B; Tanaka, M O; Leite, F P P. 2009. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquatic Ecology*. 43: 1031-1040.

Koch, M; Bowes, G; Ross, C; Zhang, X-H. 2013. Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biology* 19: 103–132.

Komatsu, T; Fukuda, M; Mikami, A; Mizuno, S; Kantachumpoo. 2014. Possible change in distribution of seaweed, *Sargassum horneri*, in northeast Asia under A2 scenario of global warming and consequent effect on some fish. *Marine Pollution Bulletin* 85: 317–324.

Ledet, J; Byrne, M; Poore, A G B. 2018. Temperature effects on a marine herbivore depend strongly on diet across multiple generations. *Oecologia* 187: 483–494.

Leite, F P P; Güth, A Z, 2003. Variações morfológicas dos estágios pós-marsupiais de *Sunamphitoe pelagica* Milne-Edwards (Crustacea, Amphipoda, Gammaridea, Ampithoidae) da fauna de *Sargassum cymosum* C. Agardh. *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 65-73.

Leite, F P P; Tanaka, M O; Gebara, R S. 2007. Structural variation in the brown macroalga *Sargassum cymosum* and its effects on associated amphipod assemblages. *Brazilian Journal of Biology* 67: 215-21.

Lemieux, J; Cusson, M. 2014. Effects of habitat-forming species richness, evenness, identity, and abundance on benthic intertidal community establishment and productivity. *Plos ONE* 9: e102961.

Li, M H; Cherubini, P; Dobbertin, M; Arend, M; Xiao, W F; Rigling, A. 2013. Responses of leaf nitrogen and mobile carbohydrates in different *Quercus* species provenances to moderate climate changes. *Plant Biology* 15: 177-184.

Lilley, S A; Schiel, D R. 2006. Community effects following the deletion of a habitat-forming macroalga from rocky marine shores. *Oecologia* 148: 672–681.

Lockwood JL, McKinney ML, eds. 2001. *Biotic Homogenization*. New York: Kluwer.

Lopez De La Rosa, I; Rodriguez, A; Garcia Raso, J E. 2006. Seasonal variation and structure of a decapod (Crustacea) assemblage living in a *Caulerpa prolifera* meadow in Cádiz Bay (SW Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 66: 624–633.

Lowry, J K; Myers, A A. 2013. A Phylogeny and Classification of the Senticaudata subord. nov. (Crustacea: Amphipoda). *Zootaxa* 3610: 001–080.

Luppi, T A; Spivak, E D; Bas, C C. 2003. The effects of temperature and salinity on larval development of *Armases rubripes* Rathbun, 1897 (Brachyura, Grapsoidea, Sesamidae), and the southern limit of its geographical distribution. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 58: 575–585.

Lydersen, C; Nost, O A; Kovacs, K M; Fedak, M A. 2004. Temperature data from Norwegian and Russian waters of the northern Barents Sea collected by free-living ringed seals. *Journal of Marine Systems* 46: 99–108.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Bueno, M; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2019a. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. *Hydrobiologia* 836: 65-81.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Leite, F P P. 2019b. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzer. *Marine Biology* 166:55.

Machado, G B O; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2017. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host macroalga-epiphyte system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486: 328-335.

Marengo, J A; Ambrizzi, T; da Rocha, R P; Alves, L M; Cuandra, S V; Valverde, M C. 2010. Future change of climate in South America in the late twenty-first century:

intercomparison of scenarios from three regional climate models. *Climate Dynamics* 35:1073–1097.

Marx, J; Herrnkind, W. 1985. Factors regulating microhabitat use by young juvenile spiny lobster, *Panulirus argus*: food and shelter. *Journal of Crustacean Biology* 5: 650-657.

Mateo-Ramírez, A; Urra, J; Rueda, J L; Marina, P; García Raso, J E. 2018. Decapod assemblages associated with shallow macroalgal communities in the northwestern Alboran Sea: Microhabitat use and temporal variability. *Journal of Sea Research*. doi:10.1016/j.seares.2018.02.009.

McKinney ML, Lockwood JL. 1999. Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 450–53.

Mendonça, F; Danni-Oliveira, I M. 2007. Brasil: Aspectos termoplúviométricos e tipos climáticos. In: *Climatologia: noções básicas e climas no Brasil*. Editora Oficina de Textos; 1ª edição, pp. 208.

Mogias, A; Kevrekidis, T. 2005. Macrozoobenthic community structure in a poikilohaline Mediterranean lagoon (Laki Lagoon, northern Aegean). *Helgoland Marine Research* 59: 167–176.

Monroy-Velázquez, L V; Rodríguez-Martínez, R E; van Tussenbroek, B I; Aguiar, T; Solís-Weiss, V; Briones-Fourzán, P. 2019. Motile macrofauna associated with pelagic *Sargassum* in a Mexican reef lagoon. *Journal of Environmental Management* 252: 109650.

Morales-Nunez, A; Chigbu, P. 2017. Abundance, distribution, and species composition of amphipods associated with macroalgae from shallow waters of the Maryland Coastal Bays, USA. *Marine Biodiversity*. DOI 10.1007/s12526-017-0779-z.

Muñoz, A A; Ojeda, F P. 1997. Feeding guild structure of a rocky intertidal fish assemblage in central Chile. *Environmental Biology of Fishes* 49: 471–479.

Nelson, W G. 1979. Experimental studies of selective predation on amphipods: consequences for amphipod distribution and abundance. *Journal of Experimental Marine Biology* 38: 225-245.

Neto, A I. 2005. Observations on the biology and ecology of selected macroalgae from the littoral of São Miguel (Azores). *Botanica Marina* 43: 483–498.

Nevis, A B; Martinelli, M; Carvalho, A S S; Nahum, V J I. 2009. Abundance and spatial temporal distribution of the family Portunidae (Crustacea, Decapoda) in the Curuça estuary on the northern coast of Brazil. *Brazilian Journal of Aquatic Science Technology* 13: 71–79.

Niinemets, Ü. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82: 453-469.

Olden, J D; Rooney, T P. 2006. On defining and quantifying biotic homogenization. *Global Ecology and Biogeography* 15: 113–120

Ornellas, A B; Coutinho, R. 1998. Spatial and temporal patterns of distribution and abundance of a tropical fish assemblage in a seasonal *Sargassum* bed, Cabo Frio Island, Brazil. *Journal of Fish Biology* 53: 198-208.

Orr, K K; Wilding, T A; Horstmeyer, L; Weigl, S; Heymans, J J. 2014. Detached macroalgae: its importance to in shore sandy beach fauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 150: 125–135.

Paresque, K. 2008. Influência das características do hábitat na comunidade macrobentônica associada a diferentes fitais no entre-marés da Ilha do Boi, Vitória, Espírito Santo. Dissertação de Mestrado, na Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 47p.

Parker, J D; Duffy, J E; Orth, R J. 2001. Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 224: 55-67.

Pereira, P H C; Jacobucci, G. B. 2008. Dieta e comportamento alimentar de *Malacoctenus delalandii*. *Biota Neotropica* 8: 141–149.

Petsch, D C. 2016. Causes and consequences of biotic homogenization in freshwater ecosystems. *International Review of Hydrobiology* 101: 113–122.

Poore, A G B; Graba-Landry, A; Favret, M; Brennand, H S; Byrne, M; Dworjanyn, S A. 2013. Direct and indirect effects of ocean acidification and warming on a marine plant–herbivore interaction. *Oecologia* 173: 1113-1124.

R Core Team 2017. R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Rozas, L. P; Odum, W E. 1988. Occupation of submerged aquatic vegetation by fishes: testing the roles of food and refuge. *Oecologia* 77: 101–106.

Rueda, J L; Salas, C. 2003. Seasonal variation of a molluscan assemblage living in a *Caulerpa prolifera* meadow within the inner Bay of Cádiz (SW Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 57: 909–918.

Rueda, J L; Salas, C. 2008. Molluscs associated with a subtidal *Zostera marina* L. bed in southern Spain: linking seasonal changes of fauna and environmental variables. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 79: 157–167.

Sampaio, E; Rodil, I F; Vaz-Pinto, F; Fernandez, A; Arenas, F. 2017. Interaction strength between different grazers and macroalgae mediated by ocean acidification over warming gradients. *Marine Environmental Research* 125: 25e33.

Sastry, A. 1983. Ecological aspects of reproduction. In D. E. Bliss (Ed.), *The biology of Crustacea, In Environmental adaptations*, Academic Press, New York, Vol. 8, pp. 179–270.

Savage, J; Vellend, M. 2015. Elevational shifts, biotic homogenization and time lags in vegetation change during 40 years of climate warming. *Ecography* 38: 546-555

Serejo, C S; Siqueira, S G L. 2018. Catalogue of the Order Amphipoda from Brazil (Crustacea, Peracarida): Suborders Amphilochidea, Senticaudata and Order Ingolfiellida *Zootaxa* 4431: 01–139.

Somero, G N. 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine ‘winners’ and ‘losers’. *Journal of Experimental Biology* 213: 912–920.

Staehr, P A; Wernberg, T. 2009. Physiological responses of *Ecklonia radiata* (Laminariales) to a latitudinal gradient in ocean temperature. *Journal of Phycology* 45: 91–99.

Steele, L; Valentine, J F. 2015. Seagrass deterrence to mesograzers herbivory: evidence from mesocosm experiments and feeding preference trials. *Marine Ecology Progress Series* 524: 83–94.

Suárez, M P; Alvarez, C; Molist, P; San Juan, F. 2005. Particular aspects of gonadal cycle and seasonal distribution of gametogenic stages of *Mytilus galloprovincialis* cultured in the Estuary of Vigo. *Journal of Shellfish Research* 24: 531–540.

Sudatti, D B; Fujii, M T; Rodrigues, S. V; Turra, A; Pereira, R C. 2011. Effects of abiotic factors on growth and chemical defenses in cultivated clones of *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Ceramiales, Rhodophyta). *Marine Biology* 158: 1439–1446.

Széchy, M T M; Paula, E J. 1997. Macroalgas epífitas em *Sargassum* (Phaeophyta—Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Leandra* 12: 1–10.

Széchy, M T M; Paula, E J. 1998. Tipos Morfológicos em populações de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Leandra* 12: 1-10.

Széchy, M T M; Gallilez, M; Marconi, M I. 2006. Quantitative variables applied to phenological studies of *Sargassum vulgare* C. Agardh (Phaeophyta-Fucales) from Ilha Grande Bay, State of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 27-37.

Széchy, M T M; Paula, E J. 2000. Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 121-132.

Tanaka, M O; Leite F P P. 2003. Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293: 1-22.

Taylor, R B; Cole, R G. 1994. Mobile epifauna on subtidal brown seaweeds in northeastern New Zealand. *Marine Ecology Progress Series* 115: 271–282.

Teoh, M; Chu, W; Phang, S. 2010. Effect of temperature change on physiology and biochemistry of macroalgae: A review. *Malaysian Journal of Science* 29: 82-97.

Tsoi, K H; Chiu, K M; Chu, K H. 2005. Effects of temperature and salinity on survival and growth of the amphipod *Hyale crassicornis* (Gammaridea, Hyalidae). *Journal of Natural History* 39: 325–336.

Urrea, J; Mateo Ramírez, Á; Marina, P; Salas, C; Gofas, S; Rueda, J L. 2013a. Highly diverse molluscan assemblages of *Posidonia oceanica* meadows in northwestern Alboran Sea: seasonal dynamics and environmental drivers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 117: 136–147.

Urrea, J; Rueda, J L; Mateo Ramírez, A; Marina, P; Tirado, C; Salas, C; Gofas, S. 2013b. Seasonal variation of molluscan assemblages in different strata of photophilous macroalgae in the Alboran Sea (western Mediterranean). *Journal of Sea Research* 83: 83–93.

Van Hoey, G; Degraer, S; Vincx, M. 2004. Macrobenthic community structure of soft-bottom sediments at the Belgian Continental Shelf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 59: 599-613.

Vazquez-Luis, M; Sanchez-Jerez, P; Bayle-Sempere, J T. 2008. Changes in amphipod (Crustacea) assemblages associated with shallow-water macroalgal habitats invaded by *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* in the western Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research* 65: 416–426.

Vázquez-Luis, M; Sanchez-Jerez, P; Bayle-Sempere, J T. 2010. Effects of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* on prey availability: an experimental approach to predation of amphipods by *Thalassoma pavo* (Labridae). *Hydrobiologia* 654: 147–154.

Veiga, P; Rubal, M; Sousa-Pinto, I. 2014. Structural complexity of macroalgae influences epifaunal assemblages associated with native and invasive species. *Marine Environmental Research* 101: 115e123.

Walker, D I; Woelkerling, W J. 1988. Quantitative study of sediment contribution by epiphytic coralline red macroalgae in seagrass meadows in Shark Bay, Western Australia. *Marine Ecology Progress Series* 43: 71-77.

Wikstrom, S A; Kautsky, L. 2007. Structure and diversity of invertebrate communities in the presence and absence of canopy-forming *Fucus vesiculosus* in the Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72: 168e176.

Yesson, C; Bush, L E; Davies, A J; Maggs, C A; Brodie, J. 2015. Large brown seaweeds of the British Isles: Evidence of changes in abundance over four decades. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 155: 167e175.

Ysebaert, T; Herman, P M J. 2002. Spatial and temporal variation in benthic macrofauna and relationships with environmental variables in an estuarine, intertidal soft-sediment environment. *Marine Ecology Progress Series* 244: 105–124.

Zaabar, W; Zakhama-Sraieb, R; Charfi-Cheikhouha, F; Achouri, M S. 2015. Abundance and diversity of amphipods (Crustacea: Peracarida) on shallow macroalgae and seagrass in lagoonal ecosystem of the Mediterranean Tunisian coast. *Zoological Studies* 54: 38.

Zamzow, J P; Amsler, C D; McClintock, J B; Baker, B J. 2010. Habitat choice and predator avoidance by Antarctic amphipods: the roles of macroalgal chemistry and morphology. *Marine Ecology Progress Series* 400: 155-163.

Zimmerman, R; Gibson, R; Harrington, J. 1979. Herbivory and detritivory among gammaridean amphipods from a Florida seagrass community. *Marine Biology* 54: 41–47.

Zuur, A F, Ieno, E N, Walker, N J, Sveliev, A A, Smith, G M. 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, New York, pp 1-574.

Zwiener, V P; Lira-Noriega, A; Grady, C; Padial, A A; Vitule, J R S. 2018. Climate change as a driver of biotic homogenization of woody plants in the Atlantic Forest. *Global Ecology and Biogeography* 27: 298-309

CAPÍTULO 2: TOLERÂNCIA TÉRMICA E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE PERACÁRIDOS EM COSTÕES ROCHOSOS

INTRODUÇÃO

A área de distribuição dos organismos caracteriza o seu hábitat e pode ser determinada por um complexo conjunto de fatores que envolvem interações bióticas entre os organismos, história evolutiva e características abióticas do ambiente (Brown et al. 1996, Holdt 2003, Parmesan et al. 2005, Sunday et al. 2012). A temperatura é um parâmetro abiótico importante que determina a distribuição dos organismos, principalmente os ectotérmicos (Pörtner & Knust 2007, Bozinovic et al. 2011, Terblanche et al. 2011, Pörtner et al. 2017). A temperatura atua diretamente sobre o metabolismo dos organismos (Angilletta et al. 2002, Zi-Ming et al. 2013), podendo alterar desde sua performance (Cano & Nicieza 2006) até funções fisiológicas vitais, como a respiração (Portner 2001). Cada espécie possui um ótimo térmico característico (Somero 2010) e o distanciamento desse ótimo pode comprometer o funcionamento do organismo. Isso impede que as espécies ocorram em regiões que apresentem temperaturas fora da janela térmica de sua tolerância (Deutsch et al. 2008; Miller et al. 2009, Sunday et al. 2011). A variação da temperatura do hábitat que os organismos estão inseridos e a sua sobrevivência podem indicar a habilidade daquela espécie em tolerar o estresse térmico (Tomanek & Helmuth 2002, Timofeyev et al. 2009, Sunday et al. 2014). Nesse sentido, organismos que vivem em ambientes com condições abióticas que variam constantemente (diária ou sazonalmente) devem apresentar maior termotolerância que as espécies que habitam ambientes mais estáveis (Huey et al. 2012) ou desenvolver estratégias comportamentais que minimizem os efeitos da temperatura, como a construção de abrigos ou tocas (Masunari 2006).

Costões rochosos apresentam grande variação de temperatura em uma área bastante reduzida. Portanto, são ambientes adequados para compreender as relações entre a distribuição e a tolerância térmica dos organismos (Helmuth et al. 2006). Essa variação também ocorre ao longo do dia devido à variação das marés. Além disso, esse substrato é fundamental no ambiente marinho, uma vez que oferece espaço para fixação de uma grande diversidade de organismos (Lam et al. 2009). Costões rochosos são ambientes muito heterogêneos (Stephenson & Stephenson 1949) e, portanto, os organismos ocorrem em maiores abundâncias nas zonas que apresentam características que maximizem suas chances de sobreviver e se reproduzir (Satyam & Thiruchitrambalam 2018). A zona do infralitoral apresenta condições abióticas de temperatura, salinidade e pH mais estáveis (Branch 2001). Nas regiões acima do infralitoral, o tempo de exposição ao ar se torna maior e, conseqüentemente, os parâmetros abióticos como a temperatura também variam em maior

magnitude. Nesse sentido, a região do mesolitoral é sujeita a constantes variações ambientais, uma vez que é submetida ao regime de marés, alternando entre submersão e exposição ao ar (Branch 2001, Satyam & Thiruchitrambalam 2018). Portanto, os organismos que residem nessa faixa precisam tolerar grande variação ambiental, como mudanças no nível da água, temperatura, salinidade e dessecação. A região do supralitoral não está sujeita às variações diretas da maré, recebendo apenas borrifos das ondas, por isso, os fatores abióticos como a temperatura e a dessecação atuam com maior intensidade (Branch 2001).

Macroalgas atuam como espécies facilitadoras nas comunidades de costões rochosos (Valdivia et al. 2011), amenizando as condições ambientais, como altas temperaturas. Esse papel é especialmente importante em regiões do mesolitoral, no qual a temperatura é mais acentuada (Bertness et al. 1999; Lilley & Schiel 2006). A presença de substratos biológicos, como as macroalgas, ao longo do costão rochoso, permite que uma diversidade de outros organismos como cracas e mexilhões ocorra nessas diferentes regiões (Arrivillaga & Baltz 1999, Bruno & Bertness 2001, Eklöf et al. 2005, Christie et al. 2009), além de uma fauna associada diversa (Lippert et al. 2001, Tanaka & Leite 2003, Fredriksen et al. 2005). Dentre essa fauna associada, os crustáceos peracáridos, como anfípodes e isópodes, são organismos muito abundantes nos costões rochosos (Tanaka & Leite 2003, Jacobucci et al. 2009 Amsler et al. 2012, Gabr et al. 2020), principalmente associados as macroalgas (Jacobucci et al. 2009, Bueno et al. 2016), apresentando grande diversidade de espécies (Jacobucci & Leite 2006, Leite et al. 2007). Os peracáridos são um grupo que se distribui de maneira distinta ao longo do gradiente vertical do costão rochoso. Por exemplo, anfípodes da família Talitridae, como *Chelorchestia darwini* e *Platorchestia monodi*, são típicos da região do supralitoral, não ocorrendo em regiões inferiores. Já as espécies *Lysianassa nasuta* e *Lysianassa brasiliensis* da família Lysianassidae, ocorrem somente em regiões do infralitoral (Serejo & Siqueira 2018).

A temperatura afeta de maneira distinta os peracáridos, podendo alterar a sobrevivência (Xue et al. 2013, Sampaio et al. 2017, Ledet et al. 2018), crescimento (Egilsdottir et al. 2009) e o comportamento desses animais (Ledet et al. 2018). Além disso, a temperatura também afeta diretamente o metabolismo dos anfípodes, modificando os processos metabólicos (Axenov-Gibranov et al. 2016), mecanismos anti-oxidativos (Bedulina et al. 2010), consumo de oxigênio (Aarset & Aaunas 1990) e excreção de amônia (Gomes et al. 2014). A temperatura do hábitat é um importante preditor para a taxa de excreção de amônia em anfípodes (Ikeda 2013). Em temperaturas elevadas, é observado o aumento do comportamento natatório dos anfípodes (Lindstrom & Fortelius 2001), o que leva ao aumento do seu metabolismo, ocasionando maior excreção de amônia. Taxas elevadas de excreção podem refletir um estado de estresse fisiológico desses organismos (Aarset & Aunaas 1990).

No entanto, dentre os peracáridos, algumas espécies podem ser bem mais tolerantes a variações de temperatura do que outras (Tsoi et al. 2005, Hauton et al. 2009, Campbell et al. 2020a,b) e isso pode limitar a distribuição desses organismos (Mogias & Kevrekidis 2005, Nevis et al. 2009). Em pequenas escalas, observamos diferenças na tolerância térmica entre peracáridos que habitam o infralitoral e aqueles do supralitoral (Ballo & Appadoo 2017, Bedulina et al. 2010). Em escalas maiores, foi observado que regiões mais quentes apresentam espécies ou populações mais tolerantes termicamente do que regiões mais frias (Morrit & Ingolfsson 2000, Cottin et al. 2012, Foucreau et al. 2014, Baldanzi et al. 2015).

Uma vez que a temperatura afeta diretamente a sobrevivência e a fisiologia dos organismos, entender a amplitude térmica de tolerância é fundamental para compreender o padrão de distribuição das espécies (Hochachka & Somero 2002, Tepolt & Somero 2014), especialmente no contexto de mudanças do clima que estamos inseridos, no qual é previsto o aumento da temperatura oceânica e do nível do mar (Church & White 2006, IPCC 2013). Esse aumento da temperatura pode modificar o padrão de distribuição dos organismos, principalmente nas regiões tropicais, na qual os organismos já estão mais próximos dos seus limites térmicos (Stillman 2003, Vinagre et al. 2016, Vinagre et al. 2018). Além disso, o aumento do nível do mar leva a redução do espaço disponível em algumas zonas dos costões rochosos (Kaplanis et al. 2020). Por isso, conhecer a tolerância térmica das espécies é uma forma de prever a distribuição dos organismos nos cenários climáticos futuros. Diante disso, nós investigamos se espécies de peracáridos que habitam alturas distintas do costão rochoso apresentam diferentes tolerâncias térmicas. Especificamente, nós perguntamos como a temperatura afeta a sobrevivência e o a fisiologia dessas espécies. Nós esperávamos que as espécies do infralitoral fossem mais suscetíveis ao aumento da temperatura do que as espécies de regiões superiores, pois estas já convivem diariamente com temperatura maiores.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e organismos

Para investigar a tolerância térmica dos peracáridos, foram realizadas amostragens em campo para confirmar a área de distribuição das diferentes espécies e experimentos laboratoriais para testar a sobrevivência desses organismos em diferentes temperaturas.

As amostragens para investigar a distribuição dos indivíduos em campo e executar os experimentos de laboratório foram realizadas em Ubatuba, nas Praias da Enseada (23°29'52"S; 45°04'58,7"W) e Itaguá (23°27'04,3"S; 45°02'43,6"W), e em São Sebastião, na

Praia das Cigarras ($23^{\circ}43'55,4''S$; $45^{\circ}23'54''W$). Macroalgas utilizadas para alimentar os peracáridos nas culturas e durante os experimentos foram coletadas na Praia da Fortaleza ($23^{\circ}31'53,6''S$; $45^{\circ}09'40,9''W$), em Ubatuba por questões logísticas de amostragem. Ambos os municípios estão localizados no litoral norte do Estado de São Paulo (Figura 1). A Praia da Enseada e de Itaguá são consideradas abrigadas (Bueno & Flores 2010), compostas por costões rochosos fragmentados, recobertos por macroalgas (Bueno et al. 2017). A Praia da Cigarras e da Fortaleza apresenta costões moderadamente expostos com inclinação intermediária, também recobertos por macroalgas (Széchy & Paula 2000), apresentando grande diversidade na região do infralitoral (Széchy & Paula 2000, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b).

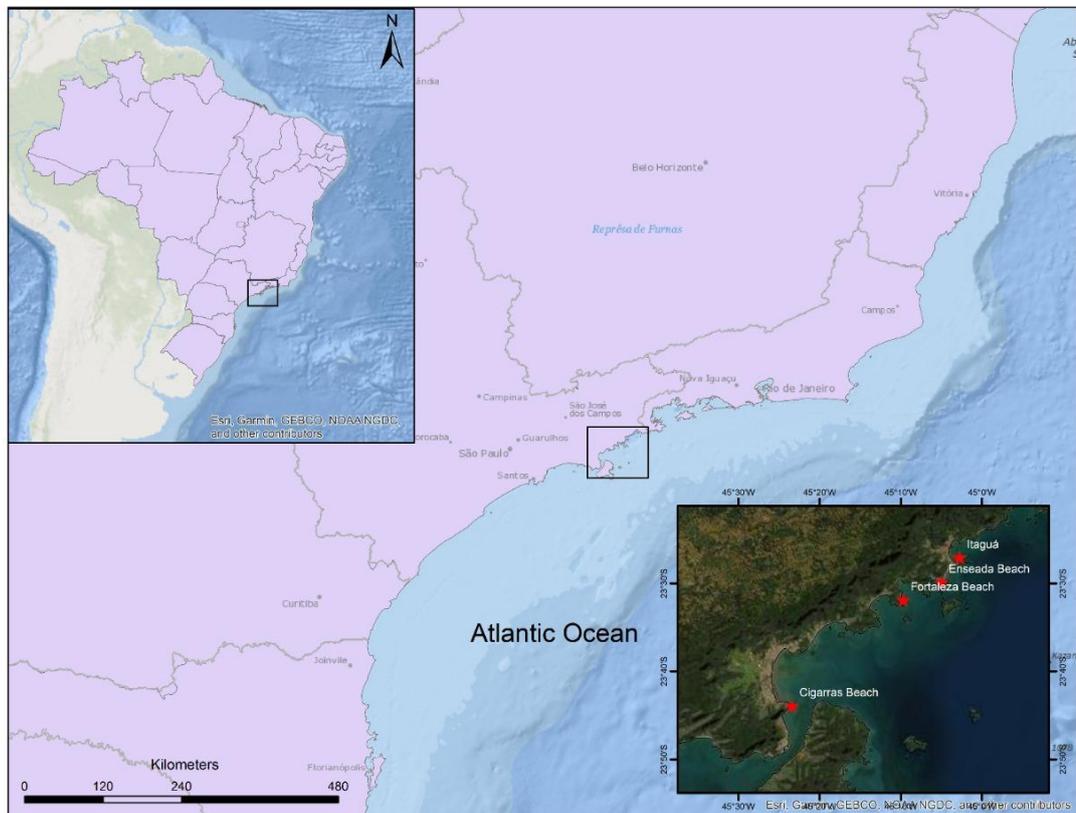


Figura 1- Litoral norte do Estado de São Paulo, com destaque para as Praias das Cigarras, Enseada, Itaguá e Fortaleza, nas quais foi realizado o presente estudo.

As seguintes espécies de peracáridos foram usadas como modelo no presente estudo: os anfípodes *Cymadusa filosa* Savigny, 1816, *Hyale niger* (Haswell, 1879), *Parhyale hawaiiensis* (Dana 1953) e *Sunamphitoe pelagica* (Milne Edwards, 1830), e o isópode *Paracerceis sculpta* (Holmes, 1904). *Cymadusa filosa* e *S. pelagica* são anfípodes tubícolas da família Ampithoidae (Barnard & Karaman 1991, Appadoo & Myers 2003) que se alimentam

de macroalgas (Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b). Estudos prévios relataram a ocorrência de *S. pelagica* associado a macroalgas na região do infralitoral (Jacobucci et al. 2009, Machado et al. 2017, Bueno et al. 2017), já *C. filosa* ocorreria desde o infralitoral até a região do mesolitoral (Jacobucci et al. 2009, Bueno et al. 2016, Machado et al. 2019b). *Parhyale hawaiiensis* e *H. niger* são anfípodes de vida livre, da família Hyalidae e abundantes em macroalgas (Garcia et al. 2016, Bueno et al. 2016, Machado et al. 2019a). *Hyalé niger* tem ocorrência registrada do infralitoral até o mesolitoral inferior (Bueno et al. 2016, Bueno et al. 2017, Serejo & Siqueira 2018), enquanto *P. hawaiiensis* ocorre na região do mesolitoral até regiões superiores (LeCroy 2007, Serejo & Siqueira 2018). *Paracerceis sculpta* é um isópode herbívoro que vive associado a diversos substratos biológicos, sua ocorrência já foi relatada em associação com cracas no mesolitoral (Loyola e Silva et al. 1999) e com macroalgas e briozoários no infralitoral (Ariyama & Otani 2004, Manchini et al. 2018). A escolha dos organismos modelo foi baseada na sua abundância e distribuição em campo e na facilidade de criação em laboratório.

Distribuição espacial

Para validar o padrão de distribuição diferencial dos organismos modelo do presente estudo, conforme indicado na literatura (LeCroy 2007, Garcia et al. 2016, Bueno et al. 2016, Serejo & Siqueira 2018, Machado et al. 2019a), foram realizadas coletas de macroalgas ao longo do gradiente vertical (i.e. do infralitoral até o mesolitoral superior) de três costões rochosos durante o verão de 2018. Em cada local de coleta (Praias da Enseada, Praia de Itaguá e Praia das Cigarras), a amostragem no costão rochoso foi realizada do infralitoral (cerca de 2m de profundidade) até o limite superior de ocorrência das macroalgas, sendo estabelecidas 3 regiões: infralitoral, mesolitoral inferior e mesolitoral superior. Foram realizadas duas amostragens durante o verão de 2018 (janeiro e fevereiro). Em cada amostragem, foram coletadas cinco amostras de macroalga por região do costão rochoso em cada praia (n=10 por região em cada praia). Foram amostradas as macroalgas mais representativas para cada altura, visando encontrar o padrão de distribuição mais robusto para as espécies de peracáridos de interesse. As amostras foram envolvidas em sacos de tecido (malha 0,2 mm) antes de serem destacadas do substrato, para evitar a perda da fauna. Na região do mesolitoral, também foi utilizada uma espátula para facilitar a retirada da macroalga e não haver perda dos peracáridos localizados no sedimento retido. As espécies de macroalgas *Sargassum* spp, *Dichotomaria marginata*, *Padina gymnospora* e *Caulerpa racemosa* foram amostradas no infralitoral. No mesolitoral inferior, foram amostradas as espécies *Ulva lactuca*, *Asparagopsis taxiformis*, *Centroceras clavulatum*, *Acanthophora* sp,

Amphiroa beauvoisii e *Jania crassa*. Já as espécies *Bostrychia* spp e *Cladophora* sp foram amostradas no mesolitoral superior.

Após as amostragens, as macroalgas foram transportadas em caixas térmicas para o laboratório, onde foram lavadas cuidadosamente por 5 vezes para completa remoção da fauna. Amostras que continham macroalgas muito ramificadas ou filamentosas não foram lavadas, e a fauna foi separada das macroalgas diretamente no estereomicroscópio para evitar perda dos indivíduos. A fauna foi fixada, separada em espécies e a abundância de *Cymadusa filosa*, *Hyale niger*, *Parhyale hawaiiensis*, *Paracerceis sculpta* e *Sunamphitoe pelagica* foi contabilizada. O peso úmido das macroalgas foi estimado em uma balança analítica (precisão 0,001) após remover o excesso de água em uma centrífuga manual (saladeira).

A distribuição das espécies entre as alturas do costão rochoso foi avaliada por *Generalized Linear Models* (GLM) usando a distribuição binomial negativa, com dois fatores: praia (fixo, 3 níveis: Itaguá, Enseada e Cigarras) e altura (fixo, 3 níveis: infralitoral, mesolitoral inferior, mesolitoral superior) e o peso úmido das macroalgas (transformado em log) como variável *offset*. A escolha da distribuição foi baseada na natureza (dados de contagem) e na dispersão dos dados (Zuur et al. 2009). A interpretação do efeito de cada fator foi feita por meio de Análise de Desvios. Quando encontrado efeito de algum fator, o teste Tukey foi realizado *a posteriori* para melhor compreender as diferenças entre os níveis de tal variável.

Tolerância térmica

Coleta e manutenção de organismos

Para os experimentos em laboratório, os peracáridos foram coletados em frondes de macroalgas das Praias da Fortaleza, Cigarras, Enseada e Itaguá, separados das macroalgas ainda em campo e transportados em potes plásticos, dentro de caixas térmicas com gelo para o laboratório. A amostragem nessas praias foi realizada pela elevada abundância das espécies de interesse associada a macroalgas. Os indivíduos foram mantidos em aquários de cultura, separados por espécie, com 20 litros de água do mar filtrada e aeração constante. Os aquários de cultura foram mantidos em salas com temperatura constante de 22°C e fotoperíodo de 12h de claro e 12h de escuro. Todas as espécies receberam alimentação constante de acordo com sua demanda alimentar (*ad libitum*) e dieta (Guerra-García et al. 2014, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b). *Hyale niger* e *C. filosa* foram alimentadas com as macroalgas *Sargassum filipendula*, *Dichotomaria marginata* e *Padina gymnospora*. Já *S. pelagica* foi alimentado apenas com *Sargassum filipendula*, enquanto *P. sculpta* foi

alimentado com *Dichotomaria marginata*. Todas as macroalgas utilizadas na alimentação dos peracáridos foram coletadas na Praia da Fortaleza. Ainda, *Parhyale hawaiiensis* recebeu uma dieta industrializada em pastilhas (Sera®) a base de Spirulina. A escolha da alimentação foi baseada na ocorrência desses organismos em campo, experimentos de alimentação prévios e protocolos de métodos de criação em laboratório (Machado et al. 2017, Artal et al. 2018, Machado et al. 2019b).

A cada 10 dias, todos os anfípodes das culturas eram transferidos para aquários higienizados e com água limpa, para manter a qualidade da cultura e evitar a contaminação por patógenos. Todos os indivíduos utilizados nos experimentos foram obtidos das culturas de laboratório. Após a coleta e transporte dos indivíduos para as condições laboratoriais, os peracáridos ficaram nos aquários de criação por tempo suficiente para que aclimassem, se alimentassem e se reproduzissem. Todos os indivíduos usados no experimento nasceram dentro dos aquários de cultura, nas condições controle do laboratório. Isso garantiu que nossos resultados refletissem respostas fisiológicas de tolerância para cada espécie e não aclimatação para as condições que se encontravam no campo. Somente adultos foram utilizados nos experimentos, sendo que fêmeas com ovos desenvolvidos ou filhotes no marsúpio, não participaram dos experimentos, pois a condição reprodutiva poderia alterar os resultados. Nenhum indivíduo foi utilizado mais de uma vez nos experimentos.

Experimentos

Para avaliar a tolerância térmica das cinco espécies modelo, foram realizados experimentos em laboratório, analisando a sobrevivência e a taxa de excreção de amônia. Foi utilizado um n=32 para os anfípodes e n=20 para o isópode. Para o experimento de sobrevivência, foram testados quatro tratamentos térmicos: 27°C, 30°C, 33°C e 36°C. A temperatura de 27°C representa a temperatura média da água do mar no infralitoral, nos meses mais quentes do ano (Ver capítulo 1 para mais detalhes). As outras temperaturas foram escolhidas baseadas no aumento previsto de +3°C (IPCC, 2013) e aumentos seriados considerando a temperatura mais elevada da região do mesolitoral. Somente as espécies *P. hawaiiensis* e *C. filosa* participaram do tratamento de 36°C, pois foram as únicas que sobreviveram aos outros experimentos com as temperaturas menores (Figura 2). Antes do início do experimento, a água do mar foi aquecida até a temperatura desejada com o uso de termostatos. Os peracáridos foram retirados da cultura e individualizados em béqueres com 100 mL de água do mar filtrada e alimentados com a mesma dieta que recebiam na cultura.

Os béqueres foram mantidos dentro de uma câmara BOD (Lucadema®) na temperatura dos seus respectivos tratamentos, por 96h, com fotoperíodo de 12h de claro e

12h de escuro. Para controlar o aumento da salinidade pela evaporação da água, foi adicionado um volume muito pequeno de água destilada diariamente, em cada béquer. A iluminação foi realizada com 4 lâmpadas frias (OSRAM®) de led “luz do dia”, 40w (cerca de 120 μmol de fótons/ $\text{m}^2\cdot\text{s}$), 5200K. Foi garantido que todas as espécies tivessem réplicas em todas as prateleiras da BOD. A cada 12h foi verificada a sobrevivência de cada indivíduo através do batimento dos pleópodos. Nesse mesmo intervalo de tempo foi realizada a troca total do alimento para garantir a qualidade do mesmo em todas as temperaturas. Para garantir que a temperatura do experimento foi mantida constante, um dispositivo *ibutton* (HOBO®, ONSET, MX2201, precisão de $\pm 0,5^\circ\text{C}$) foi colocado no interior da BOD, realizando medidas constantes da temperatura, a cada 10 minutos (Tabela 1- Material Suplementar). Para comparar a sobrevivência dos peracáridos entre as diferentes temperaturas, foi realizado um *log-rank test* utilizando o pacote *survival* no R (4.0.2) (Therneau & Grambsch 2000, Therneau 2020) para cada espécie. Posteriormente, a mesma análise com comparações par-a-par foi realizada para melhor compreender as diferenças encontradas (Fox 2001).

Para avaliar o estado fisiológico dos organismos nas diferentes temperaturas, foi realizado um experimento para quantificar a excreção de amônia. Anfípodes adultos ($n=12$) das cinco espécies de interesse foram individualizados em béqueres com 100 mL de água do mar filtrada. Os béqueres foram colocados em câmaras germinadoras BOD (Lucadema ®) com a temperatura de cada tratamento durante 24h. Os animais não foram alimentados durante o experimento para garantir que toda a amônia fosse consequência da excreção dos anfípodes. Para garantir que a temperatura do experimento foi mantida constante, realizamos o mesmo procedimento de medidas com o dispositivo *ibutton* utilizado no experimento de tolerância térmica (Tabela 1- Material Suplementar). Para *H. niger* e *S. pelagica*, foram utilizados apenas os tratamentos de 27°C e 30°C (Figura 2), pois essas espécies não sobrevivem por 24h em temperatura acima de 30°C , conforme observado no experimento de tolerância térmica (Ver Resultados). Para estimar a concentração inicial de amônia na água do mar, béqueres com água e sem a presença de anfípodes ($n=3$ por tratamento) foram utilizados como controle. Como a quantidade de amônia não varia muito na água do mar, foi utilizado um controle com menos réplicas, por questões logísticas e financeiras. Após 24h, os anfípodes foram retirados do béquer, sacrificados por congelamento, secos em estufa por 4h a 70°C e seu peso seco foi obtido em balança analítica (precisão 0,00001g). O tempo de secagem foi estimado após não ser mais verificada variação na biomassa dos animais.

Após a retirada dos peracáridos, a água do béquer foi coletada e a quantidade de amônia foi estimada a partir do método colorimétrico de Koroleff (1970). Fragmentos de muda, fezes ou tubos foram removidos previamente com pipeta e pincel, para garantir que a água utilizada na análise estivesse limpa. As amostras foram divididas em triplicadas e foram

adicionados os reagentes específicos para as análises. Após a adição dos reagentes, a reação ocorreu por 2h, em temperatura ambiente, ao abrigo da luz e posteriormente a absorbância foi lida em um espectrofotômetro (Hach ®) com comprimento de onda único de 630 nm. Água mili-Q foi utilizada como branco para calibrar o equipamento antes das leituras. Alguns tratamentos apresentavam alta concentração de amônia e foram diluídos antes da realização das análises. Em 27°C, não houve diluição para nenhuma espécie. Em 30°C, para *S. pelagica* e *P. hawaiiensis* foi realizada uma diluição 7:3 (amostra/mili-Q), e para *C. filosa*, uma diluição de 8:2. Em 33°C, usamos a diluição 4:6 para *P. hawaiiensis*, 2:8 para *C. filosa* e 7:3 para *P. sculpta*. Já em 36°C, usamos 4:6 para *P. hawaiiensis* e 1:9 em *C. filosa*. As diluições foram determinadas a partir de testes a priori com algumas amostras e foram consideradas para a realização das análises posteriormente. Para estimar as concentrações de amônia, foram construídas curvas padrão a partir de solução estoque de amônia com concentrações conhecidas (1µM, 5µM, 10µM, 20µM, 25µM). Devido ao elevado número de amostras e o volume de reagente necessário, foram construídas 3 curvas padrão (curva 1: $y=0,0365+0,0543x$, $R^2=0,9968$; curva 2: $y=0,0377x+0,0422$, $R^2=0,9976$; curva 3: $y=0,0324x+0,0307$, $R^2=0,9906$) e os valores de concentração foram obtidos a partir das absorbâncias de cada amostra, utilizando a equação da reta de cada curva obtida. A taxa de amônia foi obtida a partir da média das triplicatas, subtraídas do valor controle (sem anfípode), levando em consideração o tempo do experimento, corrigindo pela diluição utilizada e o peso seco do anfípode de cada réplica. Réplicas nas quais os peracáridos morreram durante o experimento foram desconsideradas. O número final de réplicas para cada tratamento está indicado nas legendas das suas respectivas figuras (Ver Resultados).

Para verificar se a temperatura influenciou a taxa de excreção de amônia entre as espécies, foram realizados GLM usando a distribuição gamma, com 1 fator: temperatura (fixo, 2 a 4 níveis, dependendo da espécie). Quando foi encontrada diferença entre os tratamentos, o teste Tukey foi realizado *a posteriori* para melhor compreender as diferenças entre os níveis do fator. Todas as análises foram realizadas utilizando o R 4.0.2 (R Core Team 2020).

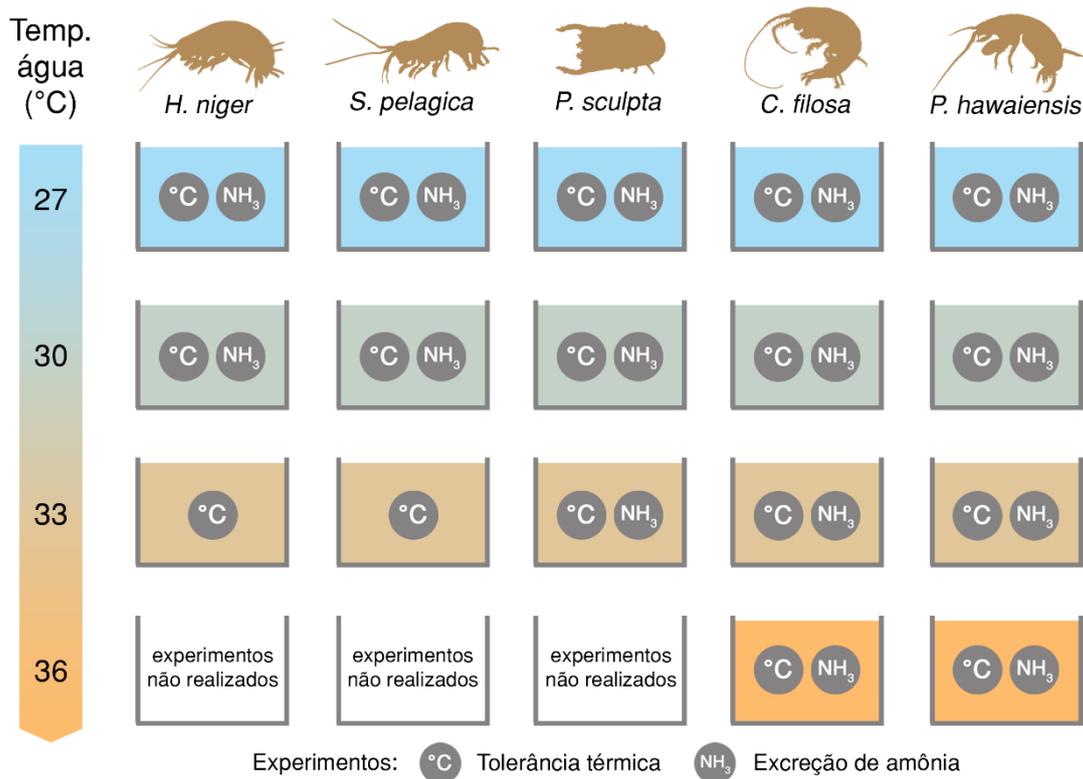


Figura 2- Resumo dos experimentos de tolerância térmica e excreção de amônia ilustrando quais espécies de peracáridos participaram de cada tratamento térmico.

RESULTADOS

A área de distribuição variou entre as espécies de peracáridos. Para *S. pelagica*, a abundância foi influenciada apenas pela altura do costão, sendo cerca de cem vezes maior no infralitoral do que no mesolitoral inferior. Foi observado apenas a ocorrência de um indivíduo no mesolitoral superior (GLM, Tabela 1, Figura 3A). A abundância de *C. filosa* também foi influenciada apenas pela altura do costão, sendo cerca de 10 vezes maior no infralitoral do que no mesolitoral inferior. Não foi encontrado nenhum indivíduo de *C. filosa* no mesolitoral superior (GLM, Tabela 1, Figura 3B). A abundância de *P. sculpta* foi influenciada pela altura do costão e pela praia. A abundância no infralitoral foi maior que no mesolitoral inferior, não sendo observada a presença de nenhum indivíduo no mesolitoral superior (GLM, Tabela 1, Figura 3C). Apesar do efeito significativo do fator praia, não foi possível detectar diferenças entre elas no teste *a posteriori*. A abundância de *P. hawaiiensis* também foi influenciada pela altura do costão e pela praia (GLM, Tabela 1). No entanto, diferente das outras espécies, *P. hawaiiensis* não apresentou nenhum indivíduo no infralitoral e a abundância no mesolitoral inferior foi cerca de três vezes maior que o mesolitoral superior (Figura 3D). Além disso, a praia da Enseada apresentou uma abundância quase seis vezes

maior do que a praia de Itaguá (Figura 3E). A abundância de *H. niger* foi influenciada pela interação da altura com a praia (GLM, Tabela 1). A abundância foi maior no infralitoral do que no mesolitoral inferior na Praia da Enseada e na praia das Cigarras. Somente na Praia de Itaguá foi observada a presença dessa espécie no mesolitoral superior (apenas 1 indivíduo). Nessa praia, a abundância no mesolitoral inferior foi maior do que no infralitoral e no mesolitoral superior (Figura 3F).

Tabela 1- Análises de desvios para GLM com distribuição binomial negativa para a abundância de peracáridos nas praias da Enseada, Cigarras e Itaguá nas diferentes alturas (infralitoral, mesolitoral inferior, mesolitoral superior) do costão rochoso. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de Variação	gl	Desvio	gl Resíduo	Resíduos do desvio	p
<i>Cymadusa filosa</i>					
Null			89	133,86	
Praia	2	1,42	87	132,44	0,4902
Altura	2	74,74	85	57,70	<0,0001
Praia x Altura	4	2,87	81	54,83	0,5794
<i>Hyale niger</i>					
Null			89	496,94	
Praia	2	183,21	87	313,72	<0,0001
Altura	2	205,01	85	108,71	<0,0001
Praia x Altura	4	36,93	81	71,78	<0,0001
<i>Sunamphitoe pelagica</i>					
Null			89	101,08	
Praia	2	0,04	87	101,04	0,9815
Altura	2	60,61	85	40,43	<0,0001
Praia x Altura	4	4,83	81	35,61	0,3057
<i>Paracerceis sculpta</i>					
Null			89	66,29	
Praia	2	17,90	87	48,39	0,0001
Altura	2	25,73	85	22,66	<0,0001

Praia x Altura	4	0,94	81	21,72	0,9183
----------------	---	------	----	-------	--------

Parhyale hawaiiensis

Null			89	225,72	
Praia	2	20,37	87	205,36	<0,0001
Altura	2	133,26	85	72,10	<0,0001
Praia x Altura	4	1,34	81	70,76	0,8547

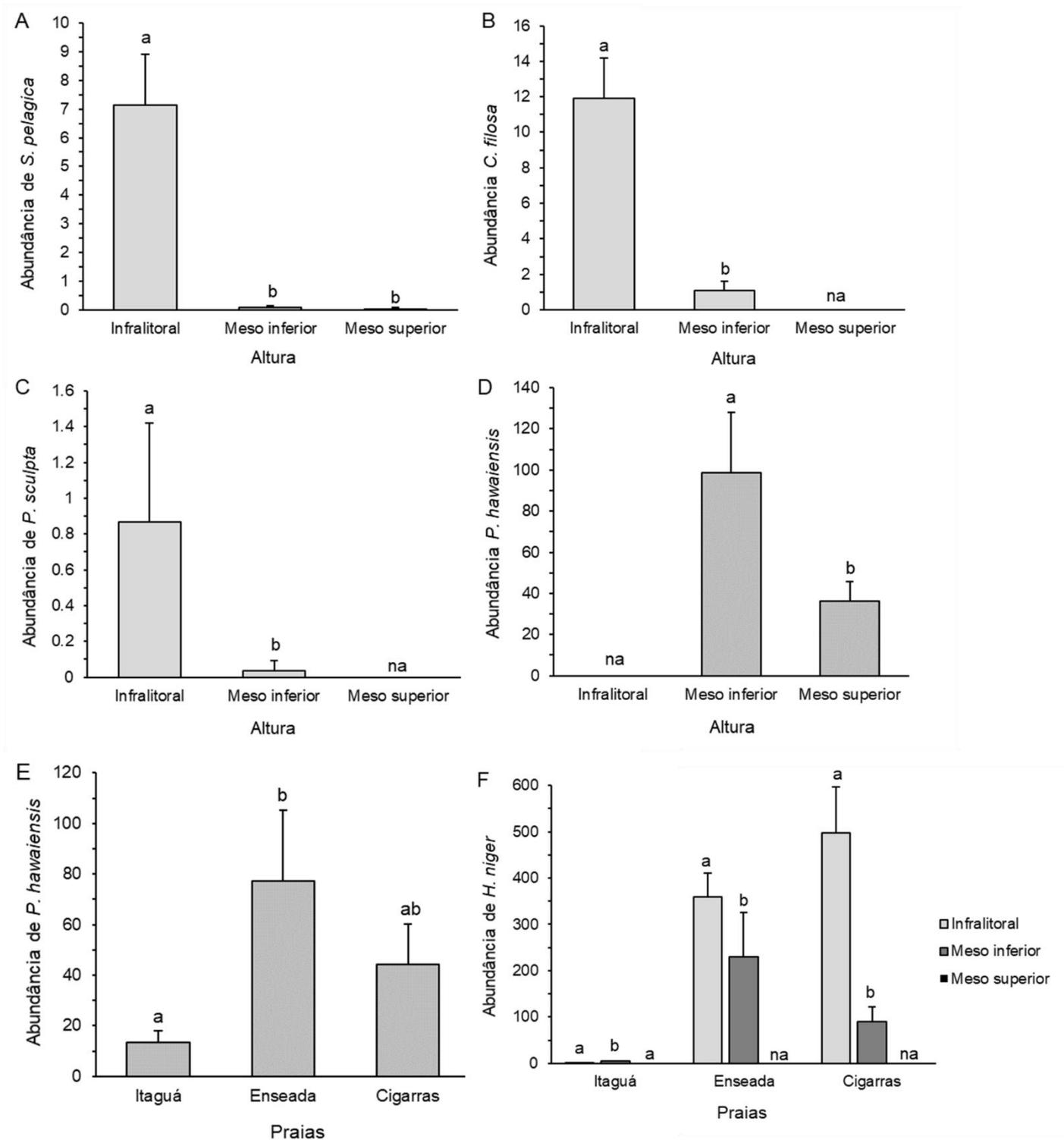


Figura 3- Abundância média (\pm erro padrão) de (A) *Sunamphitoe pelagica*, (B) *Cymadusa filosa* (C) *Paracerceis sculpta*, (D) *Parhyale hawaiiensis* e (F) *Hyale niger* nas praias de Itaguá, Enseada e Cigarras, nas diferentes alturas (infralitoral, mesolitoral inferior, mesolitoral superior). na= não foi registrada ocorrência. Letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

A temperatura afetou a sobrevivência e a excreção de amônia de maneira distinta para cada espécie de peracárido analisada. A sobrevivência do anfípode *S. pelagica* foi maior em 27°C, seguido por 30°C e 33°C (LOG-RANK TEST, gl=2, $X^2=86,4$, $p<0,0001$, Figura 4A), padrão semelhante foi observado para o anfípode *H. niger*, que apresentou maior sobrevivência em 27°C, seguido por 30°C e menor em 33°C (LOG-RANK TEST, gl=2, $X^2=123$, $p<0,0001$, Figura 5C). Já para o isópode *P. sculpta*, a temperatura não afetou a sua sobrevivência (log-rank test, gl=2, $X^2=5,3$, $p=0,07$, Figura 4C). Já os anfípodas *C. filosa* e *P. hawaiiensis* apresentaram uma tolerância térmica bem maior, apresentando uma redução da sobrevivência apenas em 36°C (*C. filosa*: LOG-RANK TEST, gl=3, $X^2=115$, $p<0,0001$, Figura 5a; *P. hawaiiensis*: LOG-RANK TEST, gl=3, $X^2=128$, $p<0,0001$, Figura 5E). Com relação a excreção de amônia, foi observado que o aumento da temperatura levou ao aumento da taxa de excreção em *S. pelagica* e *C. filosa*. No entanto, não foi observado aumento da excreção de amônia para as espécies *P. sculpta* (GLM, Tabela 2, Figura 4D), *H. niger* (GLM, Tabela 2, Figura 5D) e *P. hawaiiensis* (GLM, Tabela 2, Figura 5F). Um resumo dos principais resultados para cada espécie é apresentado na figura 6.

Tabela 2- Análises de desvios para GLM com distribuição gamma para a excreção de amônia dos peracáridos em diferentes temperaturas. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

Fonte de Variação	gl	Desvio	gl Resíduo	Resíduos do desvio	F	p
<i>Cymadusa filosa</i>						
Null			43	45,30		
Temperatura	3	21,988	40	23,31	7,4728	0,0004
<i>Hyale niger</i>						
Null			22	27,87		
Temperatura	1	3,358	21	24,51	4,0611	0,0569
<i>Sunamphitoe pelagica</i>						
Null			21	10,92		
Temperatura	1	3,308	20	7,61	8,4584	0,0087
<i>Paracerceis sculpta</i>						
Null			34	25,34		
Temperatura	2	7,559	32	17,79	5,157	<0,0011
<i>Parhyale hawaiiensis</i>						
Null			46	27,03		
Temperatura	3	3,364	43	23,66	1,5071	0,2263

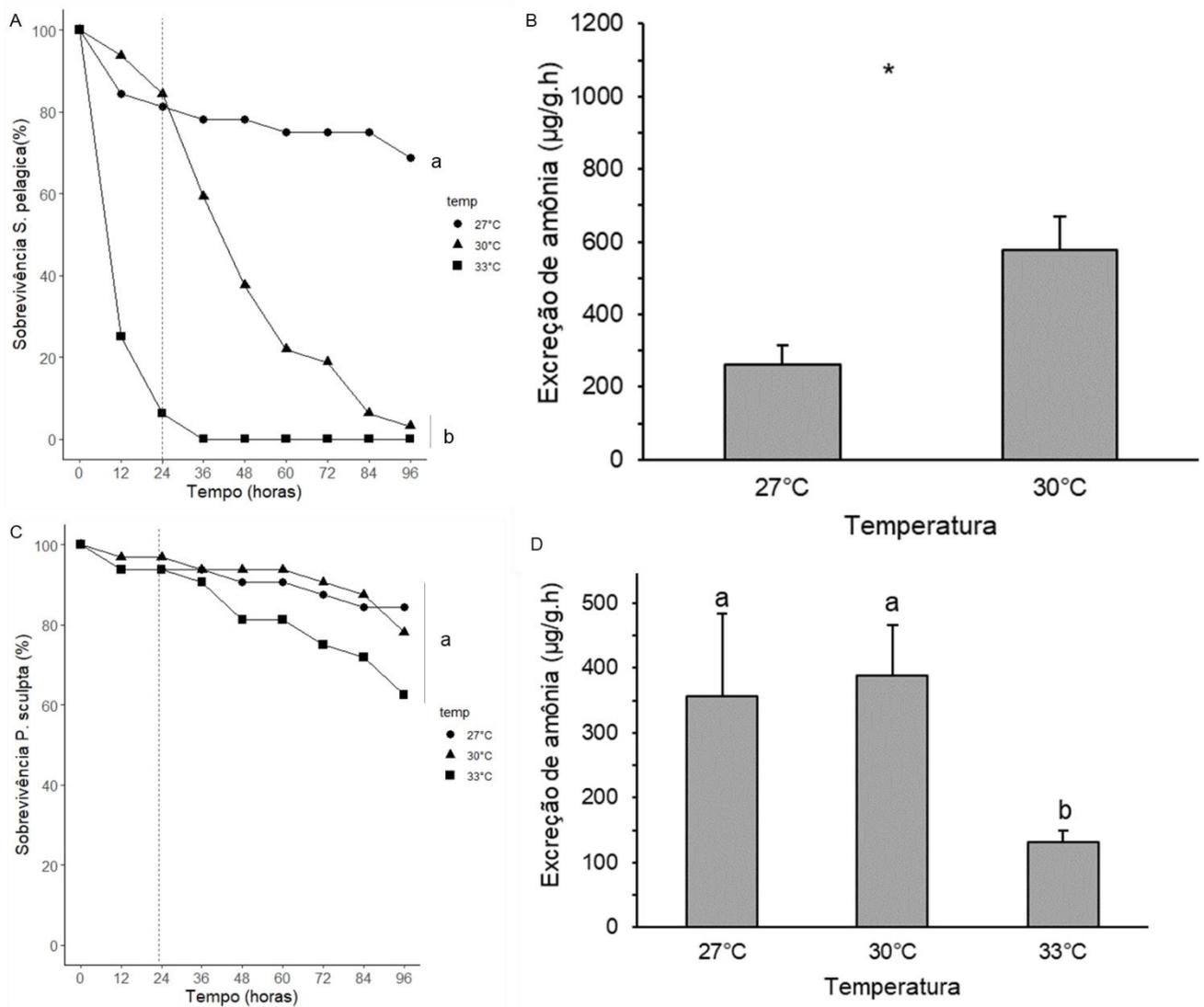


Figura 4- (A) Sobrevivência (%) (n=32) e (B) excreção de amônia (n=11) para *S. pelagica*. (C) Sobrevivência (%) (n=20) e (D) excreção de amônia (n=12, exceto 30°C, quando n=11) para *P. sculpta*. Em A,C: Letras diferentes indicam diferença na sobrevivência (Log-rank test, $p < 0,05$). Linha pontilhada em 24h indica o tempo equivalente ao experimento de excreção de amônia. Em B,D: letras diferentes entre barras, indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). * = indica diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o erro padrão.

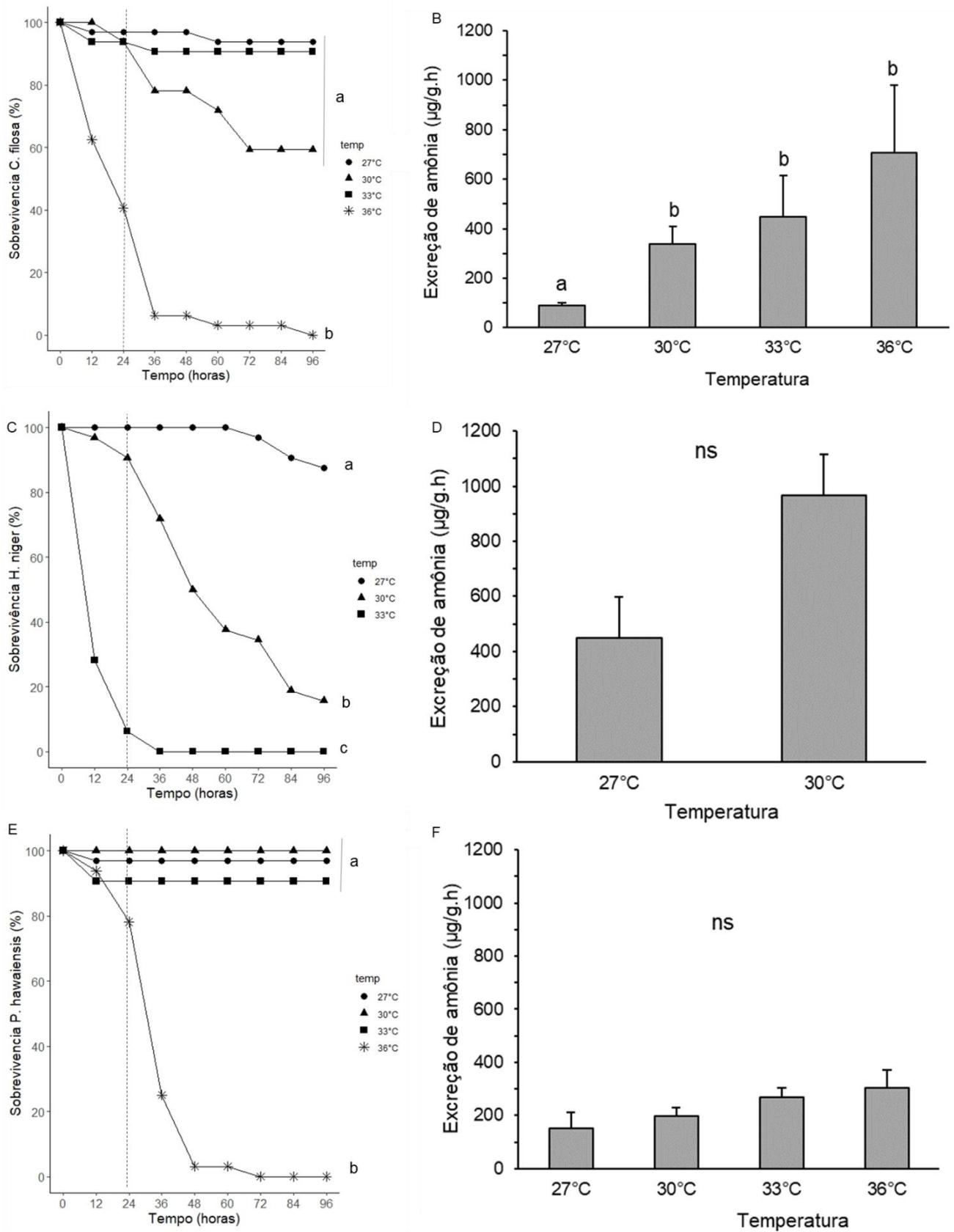


Figura 5- (A) Sobrevivência (%) (n=32) e (B) excreção de amônia (n=11, exceto 27°C, quando n=12) para *C. filosa*. (C) Sobrevivência (%) (n=32) e (D) excreção de amônia (n=12 para 27°C e n=11 para

30°C) para *H. niger*. (E) Sobrevivência (%) (n=32) e (F) excreção de amônia (n=12, exceto 36°C quando n=11) para *P. hawaiiensis*. Em A, C, E: temperaturas com letras diferentes indicam diferença na sobrevivência (Log rank-teste, $p < 0,05$). Linha pontilhada em 24h indica o tempo equivalente ao experimento de excreção de amônia. Em B, D, F: letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Ns= ausência de diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o erro padrão.

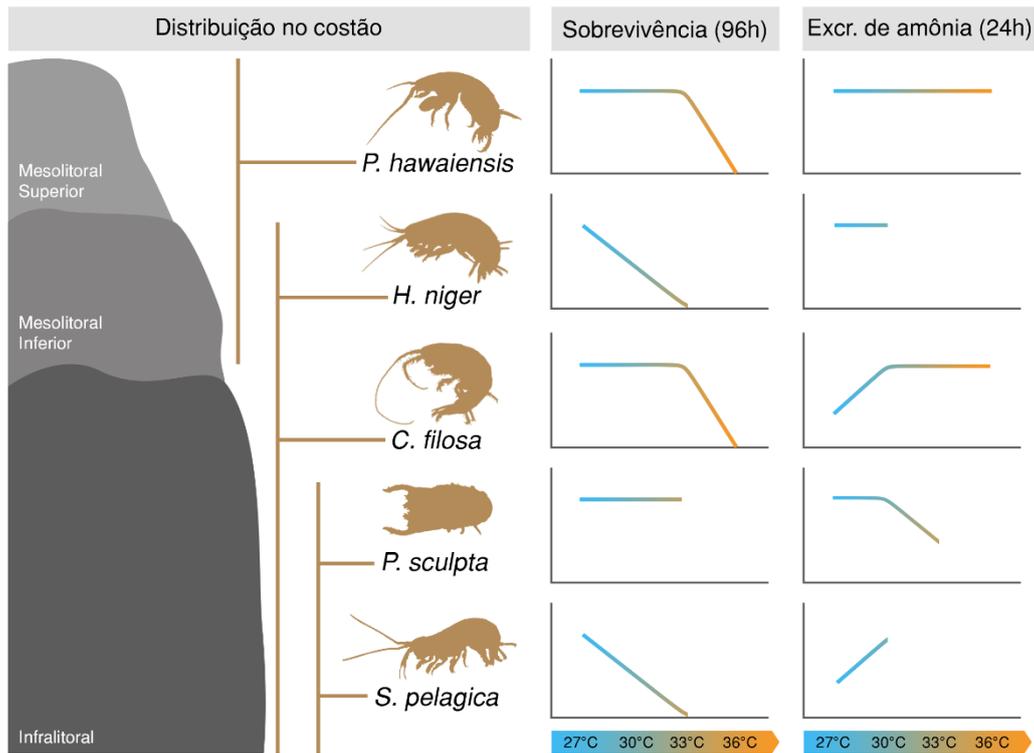


Figura 6- Ilustração com um resumo dos principais resultados encontrados para as espécies *Parhyale hawaiiensis*, *Hyale niger*, *Cymadusa filosa*, *Paracerceis sculpta*, *Sunamphitoe pelagica* nos experimentos de tolerância térmica e excreção de amônia.

DISCUSSÃO

A distribuição das espécies de peracáridos diferiu entre as alturas do costão rochoso, sendo tal padrão constante entre as praias e, portanto, indicando a existência de fatores que modulam essa distribuição. As espécies apresentaram diferentes tolerâncias térmicas ao aumento da temperatura. De maneira geral, o aumento da temperatura levou ao aumento do ritmo metabólico dos animais, sendo observadas maiores taxas de excreção de amônia. A espécie *P. hawaiiensis* ocorreu somente nas regiões mais altas do costão rochoso e apresentou grande tolerância térmica. Enquanto a espécie *S. pelagica*, teve sua distribuição praticamente limitada ao infralitoral e apresentou baixa tolerância térmica a pequenos

aumentos de temperatura. Nossos resultados indicam que a temperatura pode ser um dos fatores determinantes para a distribuição dos peracáridos nos costões rochosos.

Conforme era esperado, a distribuição das espécies de peracáridos variou entre as diferentes alturas do costão rochoso, mostrando padrão semelhante ao encontrado em outros estudos (LeCroy 2007, Garcia et al. 2016, Bueno et al. 2016, Serejo & Siqueira 2018, Machado et al. 2019a). Algumas espécies apresentam distribuição mais ampla entre as diferentes alturas, enquanto outras foram restritas a uma única faixa. Nesse trabalho, verificamos que distribuição de *S. pelagica* é praticamente restrita a região do infralitoral (abundância cerca de cem vezes maior no infra) e sua sobrevivência é afetada negativamente pelo aumento da temperatura. A maior sobrevivência foi observada em 27°C, que também é a temperatura média da água do mar, nos meses mais quentes do ano, na área de estudo (Ver Capítulo 1). Com um pequeno aumento de temperatura (+3°C) já foi possível observar uma redução na sobrevivência dessa espécie. Além disso, também observamos o aumento da excreção de amônia em apenas 24h, mostrando o estresse fisiológico ao qual a espécie estava submetida. Na temperatura de 33°C, a letalidade chegou a cerca de 70% em apenas 12h. Os efeitos observados na sobrevivência e fisiologia de *S. pelagica*, mostra que essa espécie está muito próxima do seu limite térmico na área estudada. Esse cenário é bastante preocupante, uma vez que é esperado que ocorra o aumento da temperatura da água do mar (IPCC 2013), o que pode afetar a distribuição dessa espécie. A baixa tolerância térmica encontrada para *S. pelagica* reforça resultados prévios encontrados para esse gênero (Ledet et al. 2018). A espécie *Sunamphitoe parmerong* também apresentou redução da sobrevivência em temperaturas acima de 27°C (Ledet et al. 2018) e mortalidade praticamente instantânea na temperatura de 33°C (Campbell et al. 2020b). Outra espécie que apresentou a distribuição restrita a faixa do infralitoral, nesse estudo, foi *P. sculpta*. No entanto, para esse isópode, o padrão de tolerância térmica foi bem diferente. A sobrevivência não foi afetada pelo aumento da temperatura e a taxa de excreção de amônia não variou entre as menores temperaturas, sofrendo uma redução em 33°C. Esses resultados mostram que apesar das duas espécies apresentarem distribuição restrita a mesma região (infralitoral), a tolerância térmica é diferente entre elas. No entanto, é importante ressaltar que embora na região estudada a distribuição de *P. sculpta* é restrita ao infralitoral, outros trabalhos relataram a ocorrência dessa espécie em regiões superiores (Loyola e Silva et al. 1999). Nossos resultados indicam que essa espécie poderia ocorrer em regiões com temperaturas mais altas, uma vez que apresentou grande tolerância térmica. Nesse caso, outros fatores podem estar limitando a ocorrência dessa espécie em regiões superiores na área de estudo. A competição pode ser uma explicação para o resultado encontrado, uma vez que outras espécies de isópodes ocorrem em grande abundância nas regiões mais altas do costão na área de estudo (Pires 1981).

Os anfípodes *H. niger* e *C. filosa* apresentaram uma distribuição mais ampla, ocorrendo do infralitoral até o mesolitoral inferior. No entanto, *C. filosa* é mais abundante na região do infralitoral do que no mesolitoral inferior. Para *H. niger* essa distribuição também foi observada por outros trabalhos realizados na região (Bueno et al. 2016, Bueno et al. 2017). O aumento da temperatura levou a uma redução da sobrevivência de *H. niger*, sendo mais acentuada em 33°C. Em 30°C, a sobrevivência se manteve elevada (cerca de 90%) nas primeiras 24h, reduzindo consideravelmente nas horas seguintes. Isso pode explicar a razão pela qual não foi observada diferença na excreção de amônia durante o experimento com *H. niger*. Quando a temperatura aumenta, alguns animais conseguem lidar com essas mudanças por pequenos períodos de tempo, sem modificar o seu estado fisiológico. Mas quando o estresse é mantido por períodos prolongados, o metabolismo pode ser afetado, causando a morte dos organismos (Richard et al. 2015), como foi observado no nosso estudo. Após 24h de exposição a uma temperatura maior, a sobrevivência de *H. niger* reduziu consideravelmente. Já na temperatura de 33°C, é possível observar uma redução de quase 90% da sobrevivência em apenas 24h, mostrando que essa temperatura já é bem próxima do limite tolerado pela espécie. O mesmo padrão de tolerância foi observado para essa espécie na baía de Chowder na Austrália (Campbell et al. 2020a). Já para o anfípode *C. filosa*, a tolerância térmica observada foi bem maior. A sobrevivência dessa espécie só foi afetada no tratamento de 36°C e somente em 36h foi possível observar uma mortalidade de cerca de 90%. Balloo & Appadoo (2017) reportaram resultado semelhante para a tolerância térmica dessa espécie nas populações das Ilhas Maurício. No entanto, o tempo experimental desse estudo foi maior que o nosso, e a partir de 6 dias de experimento, eles também observaram uma alta mortalidade na temperatura de 33°C. Com relação a excreção de amônia, podemos observar um aumento a partir da temperatura de 30°C, mostrando um aumento do estado metabólico em resposta ao aumento de temperatura, como observado para outros anfípodes (Gomes et al. 2013, Gomes et al. 2014). Nossos resultados mostram que *C. filosa* é uma espécie bastante tolerante, provavelmente com potencial para colonizar áreas superiores do costão rochoso. A ausência de indivíduos nessas regiões indica que a distribuição dessa espécie pode ser limitada por outras variáveis, como a disponibilidade de alimento. *Cymadusa filosa* é um anfípode herbívoro que se alimenta de macroalgas abundantes no infralitoral, como *Dichotomaria marginata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum filipendula*, que não ocorrem nas regiões superiores (Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b). Além disso, regiões superiores são dominadas por macroalgas do gênero *Bostrychia*, que apresentam grandes quantidades de metabólitos secundários, como fenólicos e hexanos (Oliveira 2009), que funcionam como defesa anti-herbivoria (Sudatti et al. 2011), o que pode inibir o uso dessas macroalgas como alimento por *C. filosa*. Nesse sentido, a tolerância térmica permitiria a ocorrência dessa espécie em regiões superiores, mas a ausência de alimento adequado pode

ter limitado a colonização dessa região. Espécies típicas de regiões superiores geralmente possuem hábito alimentar detritívoro ou decompositor (Velooso et al. 2012; Wildish 2017), não sendo dependentes das macroalgas para alimentação, somente para o abrigo, o que reforça nossa hipótese sobre a alimentação.

O anfípode *P. hawaiiensis* também apresentou uma distribuição mais ampla, ocorrendo em todo o mesolitoral, sendo a única espécie encontrada nas regiões superiores. A tolerância térmica da espécie foi bem elevada, apresentando redução na sobrevivência somente na temperatura de 36°C, sendo que uma mortalidade de 90% só foi observada após 48 horas de exposição. Além disso, não foi observado variação na excreção de amônia em nenhuma temperatura, indicando que o aumento de temperatura não afetou a fisiologia da espécie, diferente do encontrado para *C. filosa*. Essa elevada tolerância térmica também foi encontrada para outras espécies que habitam regiões superiores do costão rochoso, inclusive para as espécies *Platorchestia cf platensis* (Ballo & Appadoo 2017) e *Orchestia gammarellus* (Morritt & Ingolfsson 2000) que também pertencem a superfamília Talitroidea, assim como *P. hawaiiensis* (Serejo & Siqueira 2018). As espécies do supralitoral apresentam maior atividade enzimática de anti-oxidantes, mostrando uma adaptação evolutiva para maior tolerância ao aumento da temperatura do que as espécies do infralitoral (Bedulina et al. 2010). *Hyale niger* e *P. hawaiiensis* são espécies filogeneticamente próximas, com algumas características semelhantes, que poderiam permitir que ocupassem o mesmo nicho. No entanto, apresentam diferentes tolerâncias térmicas e ocorrem em alturas distintas, o que reduz a competição interespecífica, aumentando a aptidão de cada uma no seu habitat (Axenov-Gibranov et al. 2016). Apesar de *P. hawaiiensis* apresentar uma tolerância térmica elevada, o que favorece sua sobrevivência nos cenários de aquecimento previsto, as mudanças no clima podem afetá-la de outra maneira. O aumento previsto no nível do mar pode levar a uma redução do espaço disponível no supralitoral (Kaplanis et al. 2020), caso o costão rochoso não tenha altura suficiente para expansão dessa região. Nesse caso, como *P. hawaiiensis* não ocorre na região do infralitoral, a área disponível para colonização dessa espécie pode reduzir significativamente.

Nossos resultados reforçam que espécies que ocorrem em locais mais quentes e que sofrem maiores variações ambientais, como regiões superiores do costão rochoso, são mais tolerantes que as espécies do infralitoral, no qual as condições são mais estáveis (Bedulina et al. 2010, Nguyen et al. 2011, Ballo & Appadoo 2017). No entanto, é necessário cautela ao fazer extrapolações sobre a tolerância térmica dos peracáridos. Nossos resultados mostram que espécies que habitam a mesma região (isto é *S. pelagica* e *P. sculpta*) podem apresentar tolerâncias bem distintas. Ainda, a proximidade filogenética também pode não ser um bom parâmetro para extrapolações. Para *S. pelagica*, observamos tolerâncias bem semelhantes

com seu co-gênero *S. parmerong* (Ledet et al. 2018, Campbell et al. 2020b), mas não com a espécie *C. filosa*, também pertencente à família Ampithoidae. Da mesma forma, para a família Hyalidae, a espécie *H. niger* se mostrou bem menos tolerante do que *P. hawaiiensis*, pertencentes a família Hyalidae (Serejo & Siqueira 2018). Ainda, nossos resultados mostram a importância de combinar mais de uma variável resposta para compreender melhor como as mudanças na temperatura afetam as diferentes espécies. A sobrevivência de *P. hawaiiensis* e *C. filosa* são bastante semelhantes nas mesmas temperaturas. Porém, a taxa de excreção de amônia foi alterada somente para a segunda espécie, indicando um efeito da temperatura sobre o estado fisiológico. Ao optar por apenas uma variável resposta, como a sobrevivência, podemos perder informações sobre o estado fisiológico dos organismos, encontrando um resultado incompleto.

Concluimos que o aumento de temperatura previsto para as águas oceânicas (IPCC 2013) pode afetar a sobrevivência, a fisiologia e a distribuição dos peracáridos. É esperado que espécies que ocorrem em habitats com temperaturas mais próximas de seus limites térmicos sejam mais afetadas do que espécies que estão mais distantes destes (Baldanzi et al. 2015). Nossos resultados mostram que a espécie *S. pelagica* já está próxima do seu limite térmico na área de estudo. Portanto, com o aumento previsto de 3 a 4°C (Houghton et al. 2001, Gattuso et al. 2015), a temperatura local pode passar os 30°C, comprometendo a sobrevivência dessa espécie, o que pode gerar uma redução populacional ou até extinção local, como esperado para outras espécies de anfípodes (Guerra et al. 2014, Foucreau et al. 2014). Embora as espécies de regiões superiores apresentem maior tolerância térmica, elas também podem ser afetadas pelo aumento da temperatura. Como já relatado em outros trabalhos (Cottin et al. 2012), após um limite de temperatura, que foi de 36°C para nosso estudo, até as espécies mais tolerantes morreram. Além disso, as mudanças esperadas no nível do mar também podem afetar diretamente essas regiões, uma vez que levam ao alargamento da zona do infralitoral e ao estreitamento da região média e superior do mesolitoral (Kaplanis et al. 2020). Nesse sentido, podemos esperar mudanças na distribuição dos organismos na comunidade de costões rochosos. No entanto, é importante ressaltar que nossos resultados refletem experimentos com aumentos rápidos da temperatura. Mas, as mudanças no clima são um processo contínuo ao longo do tempo e os peracáridos possuem um tempo de geração relativamente curto (cerca de 30 dias). Portanto, é necessário avaliar se ao longo desse tempo, com as múltiplas gerações, os peracáridos serão capazes de se adaptarem às mudanças no clima.

REFERÊNCIAS

- Aarset, A V; Aunaas, T. 1990. Influence of environmental salinity on oxygen consumption and excretion of the arctic under-ice amphipod *Onisimus glacialis*. *Marine Biology* 107: 9-15.
- Amsler, D C; McClintock, B J; Baker, J B. 2012. Amphipods exclude filamentous macroalgae from the Western Antarctic Peninsula benthos: experimental evidence. *Polar Biology* 35: 171–177.
- Angilletta Jr, M J; Niewiarowski, P H; Navas, C A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 27: 249-268.
- Appadoo, C; Myers, A A. 2003. Observations on the tube-building behavior of the marine amphipod *Cymadusa filosa* Savigny (Crustacea: Ampithoidae). *Journal of Natural History* 37: 2151–2164.
- Ariyama, H; Otani, M 2004. *Paracerceis sculpta* (Crustacea: Isopoda: Sphaeromatidae), a newly introduced species into Osaka Bay, central Japan. *Benthos Research* 59: 53-59.
- Arrivillaga, A; Baltz, D M. 1999. Comparison of fishes and macroinvertebrates on seagrass and bare-sand sites on Guatemala's Atlantic Coast. *Bulletin of Marine Science* 65: 301–319.
- Artal, M C; dos Santos, A; Henry, T B; Umbuzeiro, G A. 2018. Development of an acute toxicity test with the tropical marine amphipode *Parhyale hawaiiensis*. *Ecotoxicology* 27: 103-108.
- Axenov-Gribanov, D; Bedulina, D; Shatilina, Z; Jakob, L; Vereshchagina, K; Lubyaga, Y et al. 2016. Thermal preference ranges correlate with stable signals of universal stress markers in Lake Baikal endemic and holarctic amphipods. *PLoS ONE* 11(10): e0164226.
- Baldanzi, S; Weidberg, N F; Fusi, M; Cannicci, S; McQuaid, C D; Porri, F. 2015. Contrasting environments shape thermal physiology across the spatial range of the sandhopper *Talorchestia capensis*. *Oecologia* 179: 1067–1078.

Baloo, N; Appadoo, C. 2017. Effect of acidified seawater and high temperature on the survival and behaviour of supralittoral and sublittoral amphipods (Crustacea). *WIO Journal of Marine Science* 16: 1-11.

Barnard, J L; Karaman, G S. 1991. The Families and Genera of Marine Gammaridean Amphipoda (Except Marine Gammaroids). *Records of the Australian Museum, Supplement 13 (Part 1)*: 1-418.

Bedulina, D S; Zimmer, M; Timofeyev, M A. 2010. Sub-littoral and supra-littoral amphipods respond differently to acute thermal stress. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part. B* 155: 413-418.

Bertness, M D; Leonard, G H; Levine, J M; Schmidt, P R; Ingraham, A O. 1999. Testing the relative contribution of positive and negative interactions in rocky intertidal communities. *Ecology*, 80: 2711–2726.

Best, R J; Stachowicz, J J. 2014. Phenotypic and phylogenetic evidence for the role of food and habitat in the assembly of communities of marine amphipods. *Ecology* 95: 775–786.

Bozinovic, F; Calosi, P; Spicer, J I. 2011. Physiological correlates of geographic range in animals. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 42:155–179.

Branch, G M. 2001. Rocky Shores. In: *Encyclopedia of Ocean Sciences*. Elsevier Ltd, volume 4, pp. 2427-2734.

Brown, J H; Stevens, G C; Kaufman, D M. 1996. The geographic range: Size, shape, boundaries and internal structure. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 27: 597-623.

Bruno, J F; Bertness, M D. 2001. Habitat modification and facilitation in benthic marine communities. In: M D Bertness, S D Gaines; H M E (eds). *Marine community ecology* Sunderland, Massachusetts, USA: Sinauer Associates, INC. pp. 201–218.

Bueno, M; Dena-Silva, S A; Flores, A A V; Leite, F P P. 2016. Effects of wave exposure on the abundance and composition of amphipod and tanaidacean assemblages inhabiting intertidal coralline macroalgae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96: 761–767.

Bueno, M; Dias, G M; Leite, F P P. 2017. The importance of shore height and host identity for amphipod assemblages, *Marine Biology Research*, DOI: 10.1080/17451000.2017.1306650.

Bueno, M; Flores, A A V. 2010. Tidal-amplitude rhythms of larval release: variable departure from presumed optimal timing among populations of the mottled shore crab. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 90: 859–65.

Campbell, H; Ledet, J; Poore, A G B; Byrne, M. 2020b. Thermal tolerance in the amphipod *Sunamphitoe parmerong* from a global warming hotspot, acclimatory carryover effects within generation, *Marine Environmental Research*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105048>.

Campbell, H; Ledet, J; Poore, A; Harianto, J; Byrne, M. 2020A. Resilience of the amphipod *Hyale niger* and its macroalgal host *Sargassum linearifolium* to heatwave condition. *Marine Biology* 167: 72.

Cano, J M; Nicieza, G. 2006. Temperature, metabolic rate, and constraints on locomotor performance in ectotherm vertebrates. *Functional Ecology* 20: 464-470.

Christie, H; Norderhaug, K M; Fredriksen, S. 2009. Macrophytes as habitat for fauna. *Marine Ecology Progress Series* 396: 221-233.

Church, J A, White, N J. 2006. A 20th century acceleration in global sea-level rise. *Geophysical Research Letters* 33: 94–97.

Cottin, D; Roussel, D; Foucreau, N; Hervant, F; Piscart, C. 2012. Disentangling the effects of local and regional factors on the thermal tolerance of freshwater crustaceans. *Naturwissenschaften* 99: 259–264.

Deutsch, C A; Tewksbury, J J; Huey, R B; Sheldon, K S; Ghalambor, C K; Haak, D C; Martin, P R. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America* 105: 6668–6672.

Egilsdottir, H; Spicer, J I; Rundle, S D. 2009. The effect of CO₂ acidified sea water and reduced salinity on aspects of the embryonic development of the amphipod *Echinogammarus marinus* (Leach). *Marine Pollution Bulletin* 58: 1187–1191.

Eklöf, J S; de la Torre Castro, M; Adelsköld, L; Jiddawi, N S; Kautsky, N. 2005. Differences in macrofaunal and seagrass assemblages in seagrass beds with and without seaweed farms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 63: 385–396.

Foucreau, N; Cottin, D; Piscart, C; Hervant, F. 2014. Physiological and metabolic responses to rising temperature in *Gammarus pulex* (Crustacea) populations living under continental or Mediterranean climates. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 168: 69–75.

Fox, G A. 2001. Failure-time analysis: studying times to events and rates at which events occur. In: S M Scheiner; J Gurevitch (eds). *Design and Analysis of Ecological Experiments*. Oxford University Press, Inc., New York, pp. 235-266.

Fredriksen, S; Christir, H; Saethre, B A. 2005. Species richness in macroalgae and macrofauna assemblages on *Fucus serratus* L. (Phaeophyceae) and *Zoostera marina* L. (Angiospermae) in Skagerrak, Norway. *Marine Biology Research* 1: 2-19.

Gabr, M K; Ziena, A F; Hellal, A M. 2020. Abundance and diversity of amphipod species associated with macro-macroalgae at Ras-Mohamed, Aqaba Gulf, Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* 24: 1-15.

Garcia, A B; Bueno, M; Leite F P P. 2016. The Bostrychietum community of pneumatophores in Araçá Bay: an analysis of the diversity of macrofauna. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96: 1617–1624.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S, dos Santos, T C A, Machado, A S D; Ngan, P V. 2013. Metabolic rates of the Antartic amphipod *Gondogeneia antarctica* at diferente temperatures and salinities. *Brazilian Journal of Oceanography* 61: 243-249.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S; dos Santos, T C A; Hasue, F M; Ngan, P V. 2014. Oxigen consumption and ammonia excretion of the Antartic amphipod *Bovallia gigantea* Pfeffer, 1888, at diferente temperatures and salinities. *Brazilian Journal of Oceanography* 62: 315-321.

Guerra, A; Leite, N; Marques, C J; Ford, A T; Martins, I. 2014. Predicting the variation in *Echinogammarus marinus* at its southernmost limits under global warming scenarios: Can the sex-ratio make a difference? *Science of the Total Environment* 3: 1022-1029.

Guerra-García, J M.; Figueroa, J M T; Navarro-Barranco, C; Ros, M; Sánchez-Moyano, J E; Moreira, J. 2014. Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *Journal of Sea Research* 85: 508–517.

Gunderson, A R; Stillman, J H. 2015. Plasticity in thermal tolerance has limited potential to buffer ectotherms from global warming. *Proceedings of the Royal Society B* 282 (1808): 20150401.

Hauton, C; Tyrrell, T; Williams, J. 2009. The subtle effects of sea water acidification on the amphipod *Gammarus locusta*. *Biogeosciences* 6: 1479–1489.

Helmuth, B; Mieszowska, N; Moore, P; Hawkins, S T. 2006. Living on the edge of two changing worlds: Forecasting the responses of rocky intertidal ecosystems to climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 37: 373–404.

Hochachka, P W; Somero, G N. 2002. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. New York, NY, Oxford University Press, pp. 480.

Holdt, R D. 2003. On the evolutionary ecology of species' ranges. *Evolutionary Ecology Research* 5: 159–178.

Houghton, J T; Ding, Y; Griggs, D J; Noguer, M; Van der Linder, P J; Dai, X; Maskell, K; Johnson, C A. 2001. *Climate Change 2001: The Scientific Basis*. Cambridge University Press, pp. 525-542.

Huey, R B; Kearney, M R; Krockenberger, A; Holtum, J A M; Jess, M; Williams, S E. 2012. Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 367: 1665–1679.

Ikeda, T. 2013. Metabolism and chemical composition of marine pelagic amphipods: synthesis toward a global bathymetric model. *Journal of Oceanography* 69: 339–355.

IPCC, 2013. Summary for Policymakers. In: T F Stocker; D Qin; G-K Plattner; M; S K Allen; J Boschung; A Nauels; Y Xia; V Bex; P M Midgley (eds). *Climate Change 2013: the Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Jacobucci, G B; Leite, F P P. 2006. Biologia populacional das espécies de Amphipoda (Amphipoda, Crustacea) associadas a *Sargassum filipendula* C. Agarth, na Praia da Fortaleza, Ubatuba, São Paulo. *Revista Brasileira de Zoologia* 23:1207-1216.

Jacobucci, G B; Tanaka, M O; Leite, F P P. 2009. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquatic Ecology*. 43: 1031-1040.

Kaplanis, N J; Edwards, C B; Eynaud, Y; Smith, J E. 2020. Future sea-level rise drives rocky intertidal habitat loss and benthic community change. *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.9186.

Koroleff, F. 1970. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *ICES Interlab Rep* 3: 19-22.

Lam, N W Y; Huang, R; Chan, B K K. 2009. Variations in intertidal assemblages and zonation patterns between vertical artificial seawalls and natural rocky shores: A case study from Victoria Harbour, Hong Kong. *Zoological Studies* 48: 184-195.

LeCroy, S E. 2007. An Illustrated Identification Guide to the Nearshore Marine and Estuarine Gammaridean Amphipoda of Florida Volume 4: Families Anamixidae, Eusiridae, Hyalellidae, Hyalidae, Iphimediidae, Ischyroceridae, Lysianassidae, Megaluropidae and Melphidippidae. Florida Department of Environmental Protection, Tallahassee, Florida, pp. 111.

Ledet, J; Byrne, M; Poore, A G B. 2018. Temperature effects on a marine herbivore depend strongly on diet across multiple generations. *Oecologia* 187: 483–494.

Leite, F P P; Tanaka, M O; Gebara, R S. 2007. Structural variation in the brown macroalga *Sargassum cymosum* and its effects on associated amphipod assemblages. *Brazilian Journal of Biology* 67: 215-21.

Lilley, S A; Schiel, D R. 2006. Community effects following the deletion of a habitat-forming macroalga from rocky marine shores. *Oecologia* 148: 672–681.

Lindstrom, M; Fortelius, W. 2001. Swimming behaviour in *Monoporeia affinis* (Crustacea: Amphipoda) — dependence on temperature and population density. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 256: 73–83.

Lippert, H; Iken, K; Rachor, E; Wiencke, C. 2001. Macrofauna associated with macroalgae in the Kongsfjord (Spitsbergen). *Polar Biology* 24: 512-522.

Loyola e Silva, J; Masunari, S; Dubiaski-Silva, J. 1999. Redescrção de *Paracerceis sculpta* (Holmes, 1904) (Crustacea, Isopoda, Sphaeromatidae) e nova ocorrência em Bombinhas, Santa Catarina, Brasil. *Acta Biologica Paranaense* 28: 109–124.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Bueno, M; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2019a. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. *Hydrobiologia* 836: 65-81.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Leite, F P P. 2019b. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzer. *Marine Biology* 166: 55.

Machado, G B O; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2017. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host macroalga-epiphyte system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486: 328-335.

Masunari, S. 2006. Distribuição e abundância dos carundância dos caranguejos anguejos *Uca* Leach (Crustacea, ustacea, Decapoda, Ocypodidae) na Baía de Guar Ocypodidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 901-914

Marchini, A; Costa, A. C; Ferrario, J; Micael, J. 2018. The global invader *Paracerceis sculpta* (Isopoda: Sphaeromatidae) has extended its range to the Azores Archipelago. *Marine Biodiversity* 48: 1001–1007.

Miller, L P; Harley, C D G; Denny, M W. 2009. The role of temperature and dessication stress inlimiting the local-scale distribution of the ow llimpet *Lottia gigantea*. *Functional Ecology* 23: 756–767.

Mogias, A; Kevrekidis, T. 2005. Macrozoobenthic community structure in a poikilohaline Mediterranean lagoon (Laki Lagoon, northern Aegean). *Helgoland Marine Research* 59: 167–176.

Morrit, D; Ingolfsson, A I. 2000. Upper thermal tolerances of the beachflea *Orchestia gammarellus* (Pallas) (Crustacea: Amphipoda: Talitridae) associated with hot springs in Iceland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 255: 215–227.

Nevis, A B; Martinelli, M; Carvalho, A S S; Nahum, V J I. 2009. Abundance and spatial temporal distribution of the family Portunidae (Crustacea, Decapoda) in the Curuçá estuary on the northern coast of Brazil. *Brazilian Journal of Aquatic Science Technology* 13: 71–79.

Nguyen, K D T; Morley, S A; Lai, C-H; Clark, M S; Tan, K S; Bates, A E; Peck, L S. 2011. Upper temperature limits of tropical marine ectotherms: Global warming implications. *PLoS ONE* 6(12): e29340. doi:10.1371/journal.pone.0029340.

Oliveira, A L L. 2009. Avaliação química e biológica de espécimens de *Bostrychia radicans* (Rhodomelaceae)- Dissertação de mestrado-Universidade Estadual de São Paulo.

Parmesan, C; Gonzalez, S G L; Kaufman, D M; Kingsolver, J; Peterson, A T; Sagarin, R. 2005. Empirical perspectives on species borders: from traditional biogeography to global change. *Oikos* 108: 58- 75.

Pires, A M S. 1981. Ecological study on litoral and infralittoral isopods from Ubatuba, Brazil. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 30: 27-40.

Pörtner, H O; Bock, C; Mark, F C. 2017. Oxygen and capacity-limited thermal tolerance: bridging ecology and physiology. *Journal of Experimental Biology* 220: 2685-2696.

Pörtner, H O; Knust, R. 2007. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science* 315: 95-97.

Portner, H. 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften* 88: 137-146.

R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

Richard, R G; Davidson, A T; Meynecke, J; Beattie, K; Hernaman, V; Lynam, T; Putten, I E. 2015. Effects and mitigations of ocean acidification on wild and aquaculture scallop and prawn fisheries in Queensland, Australia. *Fisheries research* 161: 42-56.

Sampaio, E; Rodil, I F; Vaz-Pinto, F; Fernández, A; Arenas, F. 2017. Interaction strength between different grazers and macroalgae mediated by ocean acidification over warming gradients, *Marine Environmental Research*, doi: 0.1016/j.marenvres.2017.01.001.

Satyam, K; Thiruchitrabalam, G. 2018. Habitat ecology and diversity of rocky shore fauna. In: C Sivaperuman; A Velmutugan; A K Singh; I Jaisankar (eds). Biodiversity and Climate Change Adaptation in Tropical Islands. Academic Press. pp. 187-215.

Serejo, C S; Siqueira, S G L. 2018. Catalogue of the Order Amphipoda from Brazil (Crustacea, Peracarida): Suborders Amphilochidea, Senticaudata and Order Ingolfiellida Zootaxa 4431: 001–139.

Somero, G N. 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers'. Journal of Experimental Biology 213: 912–920.

Stephenson, T A; Stephenson, A. 1949. The universal features of zonation between tide-marks on rocky coasts. Journal of Ecology 37: 289–305.

Stillman, J H. 2003. Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. Science 301: 65–65.

Stillman, J H. 2019. Heat waves, the new normal: summertime temperature extremes will impact animals, ecosystems, and human communities. Physiology 34: 86–100.

Sudatti, D B; Fujii, M T; Rodrigues, S. V.; Turra, A; Pereira, R C. 2011. Effects of abiotic factors on growth and chemical defenses in cultivated clones of *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Ceramiales, Rhodophyta). Marine Biology 158:1439–1446.

Sunday, J M; Bates, A E; Dulvy, N K. 2011. Global analysis of thermal tolerance and latitude in ectotherms. Proceedings of the Royal Society B 278: 1823-1830.

Sunday, J M; Bates, A E; Dulvy, N K. 2012. Thermal tolerance and the global redistribution of animals. Nature Climate Change DOI:10.1038/NCLIMATE1539.

Sunday, J M; Bates, A E; Kearney, M R, Colwell, R K; Dulvy, N K; Longino, J T; Huey, R B. 2014. Thermal-safety margins and the necessity of thermoregulatory behavior across latitude and elevation. Proceedings of the National Academic of Science of United States of America 111: 5610-5615.

Széchy, M T M; Paula, E J. 2000. Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. Revista. Brasileira de Botânica 23:121-132.

Tanaka, M O; Leite F P P. 2003 Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293: 1-22.

Tepolt, C K; Somero, G N. 2014. Master of all trades: thermal acclimation and adaptation of cardiac function in a broadly distributed marine invasive species, the European green crab, *Carcinus maenas*. *The Journal of Experimental Biology* 217: 1129-1138.

Terblanche, J S; Hoffman, A A; Mitchell, K A; Rako, L; le Roux, P C; Chown, L S. 2011. Ecologically relevant measures of tolerance to potentially lethal temperatures. *Journal of Experimental Biology* 214: 3713-3725.

Therneau, T M; Grambsch, P M. 2000. *Modeling Survival Data: Extending the Cox Model*. Springer, New York. ISBN 0-387-98784-3.

Therneau, T. 2020. A Package for Survival Analysis in R. R package version 3.2-3, disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.

Timofeyev, M A; Shatilina, Z M; Protopopova, M V; Bedulina, D S; Pavlichenko, V V; Kolesnichenko, A V; Steinberg, C E W. 2009. Thermal stress defense in fresh water amphipods from contrasting habitats with emphasis on small heat shock proteins(sHSPs). *Journal of Thermal Biology* 34: 281–285.

Tomanek, L; Helmuth, B. 2002. Physiological ecology of rocky intertidal organisms: a synergy of concepts. *Integrative and Comparative Biology* 42: 771–775.

Tsoi, K H; Chiu, K M; Chu, K H. 2005. Effects of temperature and salinity on survival and growth of the amphipod *Hyale crassicornis* (Gammaridea, Hyalidae). *Journal of Natural History* 39: 325–336.

Valdivia, N; Scrosati, R A; Molis, M; Knox, A S. 2011. Variation in community structure across vertical intertidal stress gradients: how does it compare with horizontal variation at different scales?. *PLoS ONE*. 6(8): e24062.

Veloso, V G; Sallorenzo, I A; Barros, W K; de Souza, G N. 2012. Analysis of feeding behaviour and food consumption rate of *Atlantorchestoidea brasiliensis* (Crustacea: Talitridae). *Ciencias Marinas* 38: 653-664.

Vinagre, C; Leal, I; Mendonça, V; Madeira, D; Narciso, L; Diniz, M S; Flores, A A V. 2016. Vulnerability to climate warming and acclimation capacity of tropical and temperate coastal organisms. *Ecological Indicators* 62: 317-327.

Vinagre, C; Mendonca, V; Cereja, R; Abreu-Afonso, F; Dias, M; Mizrahi, D; Flores, A A V. 2018. Ecological traps in shallow coastal waters—potential effect of heatwaves in tropical and temperate organisms. *PLoS ONE* 13: e0192700

Wildish, D J; 2017. Evolutionary ecology of driftwood talitrids: a review. *Zoosystematics and Evolution* 93: 353-361.

Xue, S; Fang, J; Zhang, J; Jiang, Z; Mao, Y; Zhao, F. 2013. Effects of temperature and salinity on the development of the amphipod crustacean *Eogammarus sinensis*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 31: 1010–1017.

Zi-Ming, L; Gui-Zhong, W; Li-Sheng, W; Zhao-Shu, Z; Xue-Lei, C. 2013. Seasonal change in mitochondrial function and metabolic enzyme activity of different populations of the mud crab, *Scylla paramamosain*, from China. *Aquaculture* 376-379: 68-75.

Zuur, A F, Ieno, E N, Walker, N J, Sveliev, A A, Smith, G M. 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, New York, pp 1-574.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1- Valores de temperatura média (\pm erro padrão) aferidos pelo *ibutton* para os diferentes tratamentos de temperatura do experimento de tolerância térmica e de excreção de amônia.

Tratamentos	Temperatura aferida
Exp. Tolerância térmica	
27°C	27,15 \pm 0.032
30°C	30,2 \pm 0.021
33°C	33,20 \pm 0.016
36°C	36,09 \pm 0.037
Exp. Excreção de amônia	
27°C	27,1 \pm 0.012

30°C	$30,1 \pm 0.043$
33°C	$33,07 \pm 0,016$
36°C	$36,2 \pm 0.013$

CAPÍTULO 3: O AQUECIMENTO E A ACIDIFICAÇÃO OCEÂNICA AFETAM DE MANEIRA DISTINTA O COMPORTAMENTO ALIMENTAR E A FISIOLOGIA DE ANFÍPODES HERBÍVOROS

INTRODUÇÃO

As concentrações de CO₂ na atmosfera aumentaram significativamente desde os períodos pré-industriais (Benson & Surles 2006). Esse aumento tem por consequência o aquecimento atmosférico e do ambiente marinho, sendo já observado o aumento de 1°C nos oceanos (Fischetti 2013). Além do aumento da temperatura, a grande quantidade de gás carbônico na atmosfera também é absorvida pela água do mar. Ao reagir com a mesma, o CO₂ se dissocia formando ácido carbônico, reduzindo o pH marinho (Caldeira & Wickett 2003, Wang et al. 2014) e diminuindo a disponibilidade dos carbonatos oceânicos (Orr et al. 2005). Projeções indicam o aumento de 3°C a 4°C nas águas superficiais marinhas (Houghton et al. 2001, IPCC 2013, Gattuso et al. 2015) e uma redução de 0,3 a 0,4 unidades de pH até o final desse século (Caldeira & Wickett 2003, IPCC 2013). Além dessas variações, também é esperado o aumento da frequência de eventos extremos que podem alterar abruptamente esses parâmetros ambientais (IPCC 2013), como as ondas de calor marinhas (Collins et al. 2013). Os efeitos isolados da temperatura e do pH vem sendo contemplados em vários estudos recentes, contribuindo substancialmente para o conhecimento dos efeitos das mudanças no clima sobre o ambiente marinho (Basallote et al. 2012, Xue et al. 2013, Ledet et al. 2018, Campbell et al. 2020, Inagaki et al. 2020, De Grande et al. 2021). O aumento da temperatura provocou o branqueamento de corais (Hoegh-Guldberg et al. 2007), hipóxia do oceano (Pörtner & Knust 2007), alterações na cadeia alimentar (Petchey et al. 1999) e mudanças na fenologia dos organismos (Walther et al. 2002). Já a acidificação foi responsável por grande mortalidade de organismos marinhos, tanto adultos como fases larvais (Basallote et al. 2012) e uma redução na riqueza e diversidade da fauna (Almagro-Pastor et al. 2015). A acidificação também compromete diretamente o esqueleto dos organismos calcáreos, uma vez que diminui a disponibilidade de íons carbonato, afetando a formação das conchas de moluscos, recifes de corais e carapaças de equinodermos (Kroeker et al. 2010).

No entanto, estressores ambientais podem interagir entre si, apresentando efeitos sinérgicos (Crain et al. 2008) e poucos trabalhos abordam o efeito dessa interação (Byrne 2011, Poore et al. 2016, Gao et al. 2020). Por exemplo, o aumento da temperatura pode compensar os efeitos negativos da acidificação oceânica no desenvolvimento e assentamento larval de ouriços (García et al. 2015). De maneira semelhante, a acidificação também pode compensar os efeitos negativos da temperatura nos parâmetros reprodutivos e na eclosão de larvas de outras espécies de ouriços (Gianguzza et al. 2014). Em contraste, ao combinar

estressores ambientais, também podemos observar um efeito aditivo dos mesmos, gerando maior impacto nos organismos do que quando os estressores atuam separadamente (Crain et al. 2008, Harvey et al. 2013). Nesse caso, ainda existem muitas dúvidas sobre os efeitos que os estressores combinados podem produzir. Estudos mostram que a combinação de estressores podem gerar efeitos distintos quando comparamos estados larvais com adultos, assim como organismos autótrofos e heterótrofos (Crain et al. 2008). A combinação dos estressores produz um efeito positivo sobre a fotossíntese, porém um efeito negativo sobre a calcificação e reprodução nos heterótrofos (Harvey et al. 2013). Uma vez que os ambientes marinhos são muito dinâmicos e sujeitos a múltiplos estressores ambientais, que atuam em diferentes escalas (Beaugrand et al. 2003, Sutherland et al. 2006, Halpern et al. 2007), entender como eles atuam de maneira combinada é essencial para melhor compreender as mudanças no clima em um cenário mais realístico.

A temperatura e o pH são duas variáveis muito importantes na fisiologia dos organismos. A temperatura é responsável por catalisar vários processos metabólicos (Angilletta et al. 2002, Angilletta & Angilletta 2009) e alterações no ótimo térmico podem promover desequilíbrios no metabolismo dos animais (Somero 2010). Já a acidificação leva ao desequilíbrio no metabolismo ácido-base (Widdicombe et al. 2009), podendo causar hipercapnia fisiológica (Pörtner et al. 2004, Fabry et al. 2008, Widdicombe & Spicer 2008). Elevadas concentrações de CO₂ na água do mar, circulam através das brânquias aumentando a presença de íons H⁺, o que afeta o sistema de tampões (Fitzer et al. 2014). Isso altera o pH dentro e fora da célula, afetando os tecidos dos organismos (Parker et al. 2013). Nesse sentido, os crustáceos parecem ser menos afetados com a redução do pH do que outros grupos marinhos, como equinodermos e moluscos, uma vez que possuem um eficiente mecanismo de controle ácido-base (Kroeker et al. 2010; Liu et al. 2015). No entanto, mesmo para esse grupo, mudanças no consumo de oxigênio (Small et al. 2010), respostas imunes (Hernroth et al. 2012), crescimento (Long et al. 2013) e desenvolvimento larval (Arnold et al. 2009) já foram observadas em decorrência da acidificação. Também já foram observadas mudanças na sobrevivência (Brown & Bert 1993) e no crescimento dos crustáceos (Chen et al. 1995) em decorrência do aumento da temperatura.

Dentre os crustáceos, os anfípodes apresentam elevada abundância e diversidade no ambiente marinho (Tanaka & Leite 2003, Amsler et al. 2012, Gabr et al. 2020), servindo de alimento para níveis tróficos superiores (Fernandez-Gonzalez & Sanchez-Jerez 2014) e sendo importantes elos para o fluxo energético marinho. Anfípodes ocorrem com frequência em associação com bancos de macroalgas marinhas (Leite & Turra 2003), utilizando-as como hábitat (Lowry & Myers 2013, Serejo & Siqueira 2018) e, no caso de espécies herbívoras, também como fonte de alimento (Duffy & Hay 1990, Machado et al. 2017, Machado et al.

2019b). Em geral, o aumento da temperatura afeta a sobrevivência (Neuparth et al. 2002, Xue et al. 2013, Ledet et al. 2018, Cardoso et al. 2018, Campbell et al. 2020), abundância e riqueza de anfípodes (Hale et al. 2011), enquanto a acidificação pode alterar o crescimento (Egilsdottir et al. 2009) e a reprodução (Poore et al. 2013). Ainda, mudanças nas condições climáticas podem gerar um desequilíbrio na homeostase dos organismos (Sokolova et al. 2012), alterando variáveis comportamentais e fisiológicas (Guerra et al. 2014, Balloo & Appadoo 2017), como a construção de tubos, cuidado parental e taxa alimentar dos anfípodes (Shyamasundari 1973, Balloo & Appadoo 2017, Ledet et al. 2018). Estressores ambientais também podem afetar a fisiologia dos anfípodes, alterando a duração do período de intermuda (Tsoi et al. 2005), processos metabólicos no nível celular (Axenov-Gibranov et al. 2016), consumo de oxigênio (Aarset & Aunaas 1990a), excreção de amônia (Gomes et al. 2014) e variação na razão atômica oxigênio/nitrogênio (Gomes et al. 2013). Nesse caso, as taxas metabólicas são parâmetros importantes para avaliar o estado de homeostase dos organismos, sendo que a taxa respiratória e a excreção de amônia são muito utilizadas para compreender a resposta do estado fisiológico em anfípodes (Aarset & Aunaas 1990a, Gomes et al. 2013, Gomes et al. 2014) e outros crustáceos (Thomas et al. 2000, Zoutendyk 2010). Apesar dos efeitos conhecidos das mudanças no clima em alguns anfípodes, respostas distintas frente aos mesmos estressores ambientais já foram observadas. Características intrínsecas dos organismos como tamanho corporal, sexo e estágio ontogenético podem alterar a tolerância a variação da temperatura dentro da mesma espécie (Bedulina et al. 2010, Byrne 2011, Guerra et al. 2014). Por exemplo, fêmeas parecem ser mais sensíveis do que os machos (Sornom et al. 2010), assim como jovens são mais sensíveis que adultos (Tsoi et al. 2005). Ainda, a tolerância térmica dos anfípodes podem variar entre as espécies (Passarelli et al. 2017), sendo algumas espécies mais tolerantes (Campbell et al. 2020) e outras muito sensíveis (Ledet et al. 2018).

Uma vez que as respostas frente aos estressores ambientais podem ser tão variáveis entre as espécies, e até entre os indivíduos, avaliar os efeitos combinados de estressores sobre diferentes espécies, é uma forma de representar a complexidade do ambiente marinho costeiro, e assim melhor compreender as consequências que as mudanças no clima podem gerar nesse sistema tão diverso. Nesse estudo, nós avaliamos o efeito combinado do aquecimento e da acidificação oceânica sobre o comportamento alimentar e a fisiologia de duas espécies de anfípodes herbívoros. Especificamente, nós perguntamos: (1) Quais os efeitos do aumento da temperatura e da redução do pH da água do mar sobre a taxa alimentar, taxa de respiração e excreção de amônia dos anfípodes *Hyale niger* e *Cymadusa filosa*? (2) Esses efeitos são mais acentuados quando o aquecimento é combinado com a acidificação (cenário sinérgico)? Nós esperávamos um aumento da taxa alimentar, taxa respiratória e da excreção de amônia dos anfípodes nos cenários de aumento de temperatura e redução do

pH. Essas alterações seriam resultado do estresse gerado pela modificação do estado de homeostase dos organismos (alteração do ótimo térmico / ótimo ácido-base fisiológico). Também esperávamos mudanças mais acentuadas no cenário que apresentava uma combinação dos estressores ambientais, evidenciando um sinergismo entre eles. Ainda, esperávamos que *H. niger* tivesse uma tolerância térmica maior a essas variações que *C. filosa* baseado nos resultados dos seus congêneres que se mostraram bem tolerantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e manutenção de organismos

As espécies utilizadas nos experimentos foram os mesoherbívoros *Cymadusa filosa* Savigny, 1816 e *Hyale niger* (Haswell, 1879), por serem muito abundantes na área de estudo, associadas com bancos de macroalgas. *Cymadusa filosa* é uma espécie da família Ampithoidae que constrói tubos para se abrigar (Barnard & Karaman 1991, Appadoo & Myers 2003). Essa espécie se alimenta de uma variedade de macroalgas como as do gênero *Sargassum*, *Padina* e *Dichotomaria* (Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b). A espécie ocorre em águas rasas, desde o infralitoral até a região do mesolitoral (Jacobucci et al. 2009, Bueno et al. 2016, Machado et al. 2019b), sendo comumente encontrada em macroalgas, recifes de coral e bancos de rodolitos. No Brasil, a espécie tem uma ampla distribuição, ocorrendo desde Pernambuco até Santa Catarina (Serejo & Siqueira 2018). *Hyale niger* pertence à família Hyalidae e tem o hábito de vida livre. A espécie é muito abundante em uma grande variedade de macroalgas como *Sargassum*, *Padina*, *Dichotomaria*, *Corallina* sp., *Jania* sp., (Bueno et al. 2016, Machado et al. 2019a). No Brasil, são muito abundantes no estado do Rio de Janeiro e de São Paulo, ocorrendo da região mais inferior do entre marés até o infralitoral (Bueno et al. 2016, Bueno et al. 2017, Serejo & Siqueira 2018).

Anfípodes foram coletados na Praia da Fortaleza (23°32'S, 45°10'W), município de Ubatuba, litoral norte de São Paulo (ver Capítulo 1 para detalhes sobre área de estudo). As espécies foram coletadas, por meio de mergulho livre, nas macroalgas mais abundantes da região: *Sargassum filipendula*, *Padina gymonospora* e *Dichotomaria marginata* (ver capítulo 1). Os anfípodes foram separados das macroalgas ainda em campo, armazenados em potes plásticos com água do mar, separados por espécie e transportados em caixas térmicas para o laboratório. Os anfípodes foram mantidos em aquários de cultura (20 L) com água do mar filtrada, aeração constante e salinidade controlada (35). A cada 10 dias, os anfípodes foram transferidos para aquários com água do mar limpa para evitar a contaminação por patógenos e manter a qualidade da cultura. A sala de cultura foi mantida sob fotoperíodo de 12h de claro

e 12h de escuro, e temperatura de 22°C. Os anfípodes foram alimentados abundantemente com frondes de *Sargassum filipendula* também amostradas na praia da Fortaleza. Antes de serem usadas como alimento, as frondes foram lavadas cuidadosamente para remover toda a fauna e as epífitas, e mantidas em aquários (60 L) com água do mar e aeração constante, nas mesmas condições ambientais que os anfípodes. Todos os anfípodes usados nos experimentos (machos e fêmeas adultas) foram obtidos das culturas de laboratório e estavam há pelo menos uma geração nessas condições. Fêmeas com filhotes ou ovos desenvolvidos no marsúpio não foram utilizados para evitar influência dessas variáveis nos resultados. Nenhum anfípode foi utilizado mais de uma vez nos experimentos. Réplicas nas quais os anfípodes morreram durante o experimento foram desconsideradas. O número final de réplicas para cada tratamento está indicado nas legendas das suas respectivas figuras.

Condições experimentais

Todos os experimentos propostos foram realizados utilizando o mesmo desenho experimental para as condições climáticas, com os seguintes tratamentos: cenário atual (temperatura 27°C e pH 7,8), cenário de aumento de temperatura (temperatura 30°C e pH 7,8), cenário de redução de pH (temperatura 27°C e pH 7,5), cenário sinérgico de aumento de temperatura e redução do pH (temperatura 30°C e pH 7,5). Os cenários de aumento de temperatura (+3°C) e redução de pH (-0,3 unidade) foram estipulados com base nos modelos previstos pelo IPCC (2013) para o cenário mais pessimista (RCP 8,5). Os valores de temperatura e pH do cenário atual foram obtidos na Praia da Fortaleza. O pH foi aferido por três vezes no ano de 2018 e apresentou o valor constante de 7,8. A temperatura da água do mar foi aferida por um dispositivo *iButton* (HOBO®, ONSET, MX2201, precisão de $\pm 0,5^\circ\text{C}$) a cada 10 minutos durante um ano (ver Capítulo 1 para detalhes). A temperatura de 27°C corresponde a uma aproximação da média de temperatura obtida durante as estações mais quentes do ano (primavera e verão: 22 de setembro até 20 de março).

Dentro dos aquários de cada tratamento, a salinidade foi mantida constante (35), a temperatura foi controlada com o uso de termostatos (Hopar®, aquecedor com termostato para aquário, H-606/SH-608 25W) e o pH com o uso de infusores de CO₂ (manual, regulador padrão e ajustes finos de válvulas solenóides). Foram realizadas verificações periódicas (8 vezes/dia) desses três parâmetros durante todos os experimentos. A temperatura foi aferida com um termômetro digital de alta precisão (Incoterm®, P400, precisão 0,01°C), o pH com um phmetro (Gehaka ®- PG 1400, eletrodo 2A09EBI, precisão $\pm 0,01$, Escala pH NBS (Watson et al. 2017), e a salinidade com um refratômetro de salinidade (Leica ®, precisão: 0,5%). O pHmetro foi calibrado antes de todas as medições, utilizando os tampões 7.1 e 4.01 do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST), conforme o protocolo do fabricante

(Gehaka). Quando necessário, a frequência de injeção de bolhas de CO₂ foi ajustada para controlar o pH. Um pequeno volume de água destilada foi utilizado para manter a salinidade no valor desejado.

Os aquários experimentais continham vários potes plásticos de 100 mL fixados na parte inferior do aquário com velcro, o que mantinham eles submersos durante todo o experimento. A parte de cima dos potes foi coberta com tecido de voil de malha 0,2 mm e fechados com tampas plásticas. A parte central das tampas foram cortadas, permitindo a troca da água do béquer com o aquário através do tecido de voil (Figura S1- Material Suplementar). Esse procedimento permitiu que cada anfípode ficasse individualizado dentro do seu béquer, mas nas condições de temperatura e pH propostas para cada tratamento. Antes do início e ao final do experimento, foram coletadas amostras de água para medir a alcalinidade total (AT), usando um titulador automático (T50, Mettler Toledo), de acordo com os padrões de Dickson et al. (2007). Para informar as condições químicas da água utilizada nos experimentos, a partir dos dados de temperatura, pH (escala NBS), salinidade e alcalinidade total foi calculada a pressão de CO₂ (pCO₂), aragonita e calcita usando o CO2SYS (Robbins et al., 2010). Foram utilizadas as constantes de dissociação de carbonato K1 e K2 de Mehrbach et al. (1973), adaptadas por Dickson & Millero (1987), KSO₄ de Dickson (1990) e boro total de Lee et al. (2010) (Para resultados, consulte Tabela S1- Material Suplementar).

Efeitos comportamentais

Para verificar se as mudanças no clima afetam o comportamento alimentar dos anfípodes herbívoros, foram realizados experimentos para avaliar o consumo de macroalgas para cada espécie. Cada aquário experimental correspondia a um tratamento dos cenários propostos de temperatura e pH (cenário atual, aumento de temperatura, aumento de pH, cenário sinérgico). Anfípodes adultos (n=20 para cada espécie em cada tratamento) foram retirados da cultura e imediatamente transferidos para os aquários experimentais, ficando individualizados nos béqueres com 80 mL de água do mar filtrada nas condições de temperatura e pH propostas para cada tratamento. Ao todo foram utilizados oito aquários, sendo dois para cada cenário proposto. As macroalgas utilizadas no experimento foram coletadas na Praia da Fortaleza e lavadas sucessivamente até a completa retirada da fauna e dos epibiontes. Anfípodes (machos e fêmeas) de tamanho semelhante foram utilizados para evitar diferenças que pudessem alterar a taxa de consumo (ver resultados). Os anfípodes foram alimentados com folíolos de *Sargassum filipendula* (0,080-0,110 g de peso úmido) por 60h. Para controlar alterações naturais na biomassa das macroalgas que não são decorrentes da herbivoria (e.g. respiração, fotossíntese), folíolos de macroalgas (n=20) foram mantidos nas condições de cada tratamento, mas sem anfípodes (controle). O peso úmido inicial e final

dos folíolos utilizados para alimentar os anfípodes foram aferidos em uma balança analítica (precisão de 0,0001g). O peso úmido foi obtido após os folíolos repousarem por 10 segundos no papel absorvente. O peso inicial das macroalgas que alimentaram os anfípodes foram corrigidos pela equação: $H0' = H0 * Cf / C0$, onde $H0$ é o peso inicial da macroalga sujeita ao consumo por anfípode, $C0$ é peso inicial da macroalga no controle e Cf , o peso final da macroalga no controle (Cronin & Hay 1996). O consumo de cada anfípode foi considerado como a diferença entre o peso inicial corrigido e o peso final, após 60h de consumo. Para confirmar que o tamanho dos anfípodes não variou entre os tratamentos, após o final do experimento, os anfípodes foram sacrificados e o tamanho (comprimento da inserção das antenas até o final do télson) foi medido por meio da análise de imagens digitais utilizando o software AxioVision (Versão 4.8.2/2010).

Efeitos fisiológicos

Para verificar como a temperatura e o pH podem afetar a fisiologia dos anfípodes, foram realizados dois experimentos para cada espécie, avaliando a taxa respiratória e a excreção de amônia como *proxy* para a fisiologia dos anfípodes. Os anfípodes utilizados nesses experimentos foram retirados do aquário de cultura e individualizados de maneira semelhante ao experimento comportamental e colocados previamente, durante 24h, em aquários com água do mar nas condições experimentais dos seus respectivos tratamentos. Após 24h, os anfípodes (n=10 para cada espécie e tratamento) foram individualizados em tubos falcon com 50mL de água do mar filtrada, nas mesmas condições climáticas. As condições de temperatura e pH da água do mar foram ajustadas antes do início do experimento. Durante todo o experimento, os tubos falcon ficaram mergulhados em aquários com termostatos que garantiram a temperatura adequada para cada tratamento. Experimentos pilotos mostraram que o pH se mantinha estável dentro dos tubos fechados durante o período do experimento. Após 30 minutos dentro dos tubos, a quantidade inicial de oxigênio dissolvida foi aferida com um oxímetro (YSI®, modelo 5100, probe de medida: YSI, modelo 5010) e em seguida, os tubos foram fechados para evitar a troca de oxigênio com o meio externo. O período de 30 minutos foi utilizado para que os anfípodes aclimassem e voltassem ao metabolismo basal após a mudança dos aquários para os tubos falcon. Esse tempo foi estimado previamente, quando analisamos o período necessário para que os anfípodes reduzissem o batimento acelerado dos pleópodes e retornassem ao estado de repouso característico para esses organismos. A quantidade de oxigênio dissolvida foi aferida novamente para *C. filosa* e *H. niger* após 2,5 e 4 horas, respectivamente. O tempo entre a medida inicial e final do oxigênio foi estimado a partir de experimentos pilotos que

determinaram o tempo necessário para se verificar a variação na taxa respiratória para cada espécie. Para controlar a variação natural do oxigênio que não estava atrelado ao consumo pelos anfípodes, tubos falcon com água do mar nas mesmas condições climáticas (n=3 por tratamento), mas sem a presença de anfípodes, foram utilizados como controle. A variação na quantidade de oxigênio dissolvida no tubo falcon foi testada previamente e era insignificante, por isso foi usado um controle com menor número de réplicas. Após o fim do experimento, a temperatura e o pH de todos os tubos foram aferidos e não foi verificada alteração em nenhum dos parâmetros (Tabela S2- Material Suplementar). A taxa respirométrica de cada indivíduo foi estimada a partir da equação $RR = \frac{(C_o - C_f) \times V}{\Delta t} \times f \times 1000 \times (\text{peso seco})^{-1}$, (Winddows & Johnson 1988), na qual C_o = valor inicial de O_2 , C_f = valor final de O_2 , V = volume da câmara respirométrica, Δt = tempo do experimento, f = variação da concentração de O_2 no controle. Para estimar a variação no controle (f), foi utilizada a seguinte equação: $f = (C_o - C_f) \times V / \Delta t$. Após o fim do experimento, os anfípodes foram sacrificados e secos em estufa por 4h a 70°C. Em seguida, o peso seco foi aferido utilizando uma balança analítica (precisão 0,00001g). O período na estufa foi determinado após não se detectar variação no peso dos anfípodes.

Após a retirada dos anfípodes dos tubos falcon, a água restante foi coletada para quantificar a amônia excretada. Somente água limpa foi utilizada na quantificação e, portanto, fezes, restos de muda ou tubos foram removidos previamente com o uso de uma pipeta e um pincel. O teor de amônia foi estimado a partir do método colorimétrico de Koroleff (1970). As amostras foram divididas em triplicatas (10 mL cada) e foram adicionados os reagentes específicos para análise. Para *C. filosa*, as amostras foram diluídas na proporção de 5:5 (amostra/mili-Q) pois estavam muito concentradas. Para *H. niger* não houve a necessidade de diluição. Após a adição dos reagentes, as amostras foram armazenadas ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 2h e posteriormente a absorbância foi lida em um espectrofotômetro (Hach ®) com comprimento de onda único de 630 nm. Antes de iniciar as leituras, água mili-Q foi utilizada como branco. Amostras de amônia com diferentes concentrações conhecidas (1µM, 5µM, 10µM, 20µM, 25µM) foram utilizadas para a construção da curva padrão ($y = 0.0371x + 0.0362$, $R^2 = 0,9839$). A partir da equação da reta obtida, os valores de concentração de amônia nas amostras foram calculados usando os dados de absorbância medidos no espectrofotômetro, corrigindo para a diluição realizada, para o controle e o peso do anfípode usado naquela réplica.

A partir da taxa respirométrica e da excreção da amônia, foi calculada a razão atômica (Oxigênio/Nitrogênio). Esse índice permite identificar qual recurso energético (proteína, carboidrato, lipídeo) é utilizado no processo de catabolismo do organismo (Mayzaud &

Conover 1988). Valores menores que 8 indicam um metabolismo dependente de proteína; valores entre 8 e 24 indicam dependência de diferentes proporções de proteínas e lipídios (em casos de inanição) ou carboidratos; valores acima de 24 indicam um metabolismo dependente de lipídeo (Mayzaud & Conover 1988).

Análise dos dados

Para verificar se houve variação no consumo de macroalgas, taxa de respiração, excreção de amônia e razão O/N entre os tratamentos, foram realizadas *Generalized Linear Model* (GLM) usando a distribuição gaussiana para *H. niger* e a distribuição gamma para *C. filosa*. Para os dados se adequarem ao uso da distribuição gaussiana, eles foram transformados em $\log(x+1)$. Como o tamanho dos anfípodes poderia influenciar a quantidade de alga consumida, ele foi comparado entre os tratamentos, para cada espécie, por Análise de Variância (Anova), usando o mesmo desenho das análises dos experimentos. Quando foi encontrado diferença entre os tratamentos, testes a posteriori de Tukey foram realizados para melhor compreender as diferenças entre os níveis do fator. Todas as análises foram realizadas utilizando o R 3.4.2 (R Core Team 2017).

RESULTADOS

O tamanho dos anfípodes usados nos experimentos de consumo alimentar não variou entre os tratamentos (Anova, Tabela 1). Os adultos de *H. niger* utilizados nos experimentos tinham tamanho entre 5,29 e 8,03 mm e de *C. filosa* entre 10,58 e 19,78 mm. Em geral, *C. filosa* foi menos tolerante a maior temperatura e menor pH do que *H. niger*. O consumo de macroalgas por *H. niger* não variou entre os tratamentos (GLM, Tabela 2, Figura 1A), mas para *C. filosa* foi observado um efeito da interação entre a temperatura e o pH na alimentação (GLM, Tabela 3, Figura 1B). Foi observada uma redução de cerca de três vezes no consumo alimentar no cenário sinérgico (30°C e pH 7,5) e cerca de quatro vezes no cenário de aumento de temperatura (30°C e pH 7,8), quando comparados com o cenário atual (27°C e pH 7,8). Na mesma temperatura, o consumo não variou entre os diferentes valores de pH. Da mesma forma, quando observamos o pH 7,5 não existe diferença no consumo de macroalgas entre as diferentes temperaturas. No entanto, no pH 7,8, observamos que o consumo foi menor na temperatura de 30°C do que na de 27°C.

Com relação a fisiologia, verificamos que *H. niger* não apresentou mudanças na taxa respiratória, nem na excreção de amônia (GLM, Tabela 2, Figura 2A e 2B). No entanto, para *C. filosa* foram observadas alterações nesses dois parâmetros, sendo ambos influenciados

pela temperatura, mas não pelo pH. A taxa respiratória de *C. filosa* foi cerca de 1,5 vezes maior na temperatura de 27°C do que em 30°C. Por sua vez, a excreção de *C. filosa* foi duas vezes maior na temperatura de 30°C quando comparada com 27°C (GLM, Tabela 3, Figura 3A e 3B). Ainda, a razão O/N também não variou entre as diferentes temperaturas para *H. niger* (GLM, Tabela 2, Figura 4A). Para *C. filosa*, foi observado um efeito da interação entre a temperatura e o pH. Foi possível observar uma redução dessa razão na temperatura de 30°C com o pH de 7,8, quando comparado com os outros tratamentos (GLM, Tabela 3, Figura 4B). Apesar das diferenças entre as espécies quanto à variação da razão O/N entre os tratamentos, essa razão foi menor que 7 para ambas, indicando um metabolismo baseado na degradação de proteínas (Mayzaud & Conover 1988). Um resumo dos resultados dos experimentos (consumo de algas, taxa de respiração, excreção de amônia) para *C. filosa* e *H. niger*, nas diferentes temperaturas e valores de pH, está disponível na Tabela 4.

Tabela 1- Anova para a variação de tamanho dos anfípodes *Hyale niger* e *Cymadusa filosa* utilizados no experimento comportamental.

Fonte de Variação	gl	QM	F	p
<i>H. niger</i>				
Temperatura	1	0,4896	1,408	0,2392
pH	1	0,5350	1,538	0,2188
Temperatura x pH	1	1,2928	3,716	0,0577
Resíduo	74	0,3479		
<i>C. filosa</i>				
Temperatura	1	1,984	0,607	0,4382
pH	1	27,005	8,267	0,0524
Temperatura x pH	1	8,699	2,663	0,1069
Resíduo	76	3,267		

Tabela 2- Análises de desvios para GLM para o consumo de algas, taxa respiratória, excreção de amônia e razão O/N dos anfípodes herbívoros *Hyale niger* e *Cymadusa filosa* com relação a temperatura e pH. A distribuição utilizada na análise, para cada espécie, está indicada entre parênteses. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de Variação	gl	Desvio	gl Resíduo	Resíduos do desvio	F	p
<i>Hyale niger (gaussiana)</i>						

Consumo alimentar

Null			77	10,92		
Temperatura	1	$2,85 \times 10^{-3}$	76	10,92	0,02	0,8870
pH	1	0,55	75	10,37	3,96	0,0515
Temperatura x pH	1	$2,45 \times 10^{-3}$	74	10,37	0,02	0,8951

Taxa respiratória

Null			39	9,73		
Temperatura	1	0,10	38	9,62	0,41	0,5259
pH	1	0,35	37	9,28	1,35	0,2524
Temperatura x pH	1	0,08	36	9,19	0,32	0,5745

Excreção de amônia

Null			39	14,66		
Temperatura	1	0,41	38	14,25	1,08	0,3062
pH	1	0,42	37	13,83	1,09	0,3040
Temperatura x pH	1	0,04	36	13,79	0,10	0,7481

Razão O/N

Null			39	20,41		
Temperatura	1	0,19	38	20,22	0,37	0,5483
pH	1	1,23	37	18,99	2,35	0,1342
Temperatura x pH	1	1,17	36	18,83	0,32	0,5759

*Cymadusa filosa (gamma)**Consumo alimentar*

Null			79	83,50		
Temperatura	1	19,13	78	64,37	34,87	<0,0001
pH	1	0,02	77	64,35	0,04	0,1152
Temperatura x pH	1	3,44	76	60,91	6,28	0,0081

Taxa respiratória

Null			39	9,516		
Temperatura	1	1,93	38	7,590	10,39	0,0027
pH	1	0,67	37	6,923	3,60	0,0658
Temperatura x pH	1	0,17	36	6,753	0,917	0,3447
<i>Excreção de amônia</i>						
Null			38	18,29		
Temperatura	1	4,6357	37	13,66	13,41	<0,0008
pH	1	1,2422	36	12,42	3,593	0,0663
Temperatura x pH	1	0,6224	35	11,79	1,800	0,1883
<i>Razão O/N</i>						
Null			38	30,41		
Temperatura	1	5,7166	37	24,70	10,891	0,0022
pH	1	4,5667	36	20,13	8,700	0,0056
Temperatura x pH	1	2,7123	35	17,42	5,167	0,0293

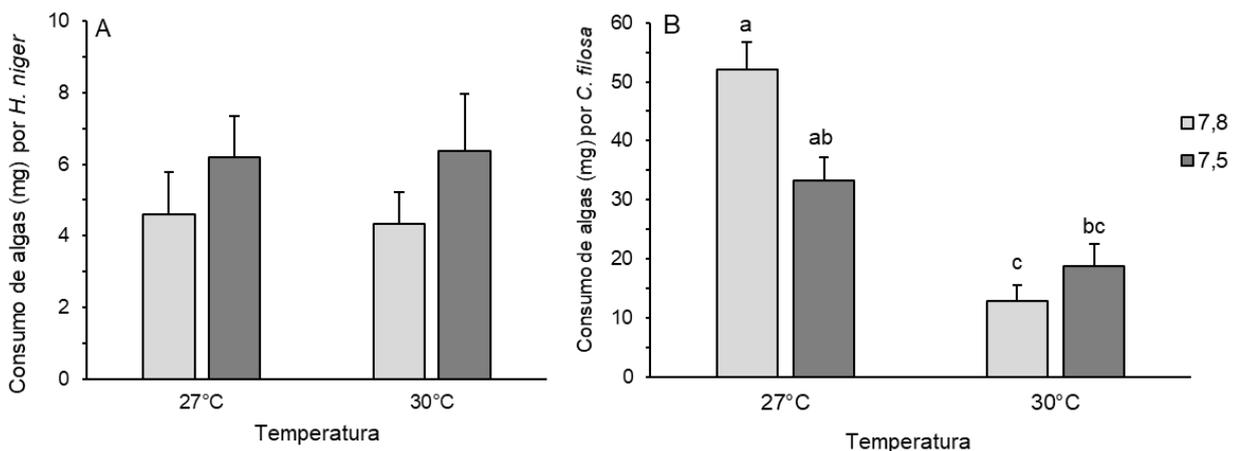


Figura 1- Consumo (em mg) de *Sargassum filipendula* (média \pm erro padrão) por *Hyale niger* (A) e *Cymadusa filosa* (B) em diferentes temperaturas e valores de pH. N=20, exceto temperatura=30°C e pH 7,8, em que N=19 para as duas espécies. Letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, p<0,05).

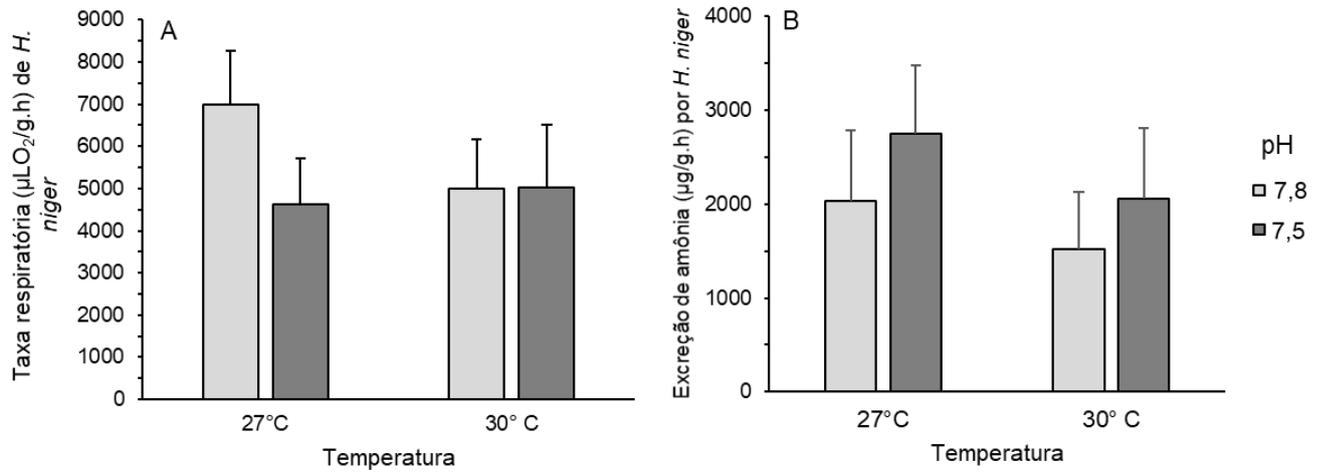


Figura 2- (A) Taxa respiratória (média \pm erro padrão) e (B) taxa de excreção de amônia (média \pm erro padrão) por *Hyale niger* em diferentes temperaturas e valores de pH. N=10.

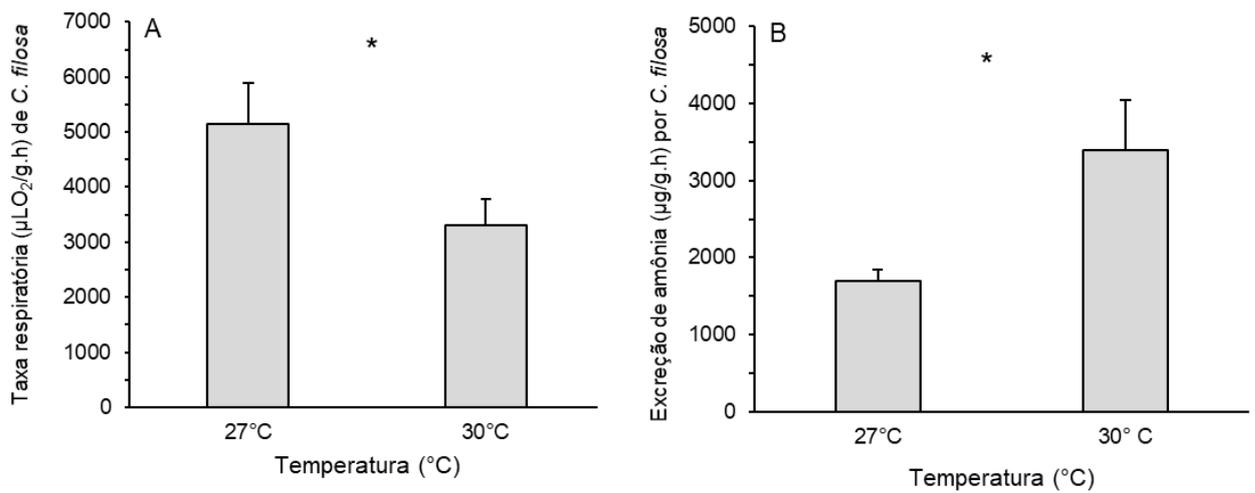


Figura 3- (A) Taxa respiratória (média \pm erro padrão) e (B) taxa de excreção de amônia (média \pm erro padrão) para *Cymadusa filosa* em diferentes temperaturas. N=20 por tratamento, exceto em 30°C para excreção de amônia, no qual N=19. * indica diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

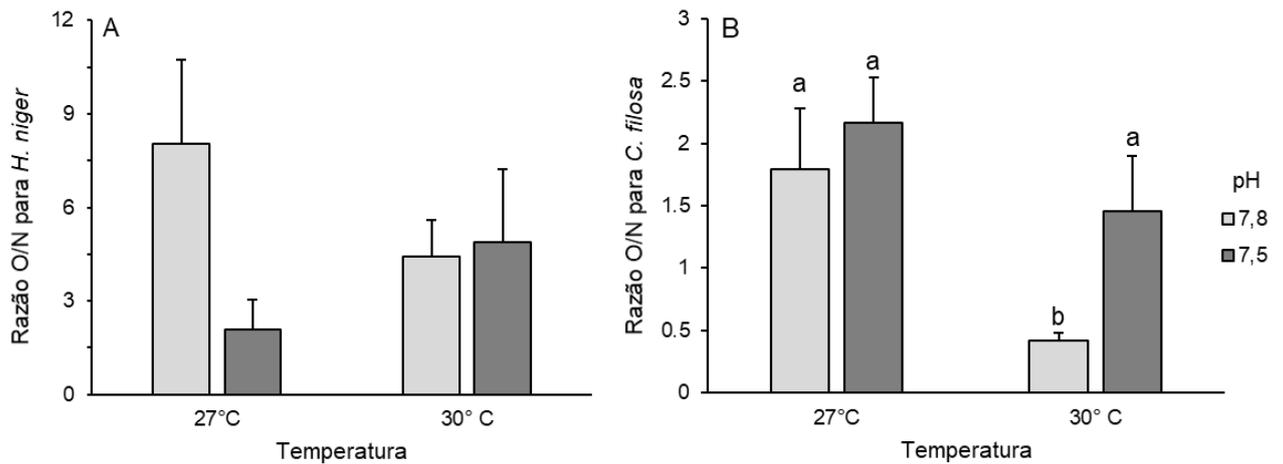


Figura 4- Razão O/N (média \pm erro padrão) em diferentes temperaturas e pH para *Hyale niger* (A) e *Cymadusa filosa* (B). N=10 por tratamento, exceto temperatura=30°C e pH 7,8, em que N=9 para *Cymadusa filosa*. Letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 4- Resumo dos efeitos do aquecimento e acidificação da água do mar no consumo de algas, taxa de respiração e excreção de amônia para os anfípodes *Cymadusa filosa* e *Hyale niger*. *: Não representa mudança no substrato metabólico.

Variáveis respostas	Espécies			
	<i>Hyale niger</i>		<i>Cymadusa filosa</i>	
	Aumento de temperatura	Redução de pH	Aumento de temperatura	Redução de pH
<i>Consumo macroalgas</i>	Sem efeito	Sem efeito	Diminui (pH 7,8)/ Sem efeito (pH 7,5)	Sem efeito
<i>Taxa de respiração</i>	Sem efeito	Sem efeito	Diminui	Sem efeito
<i>Excreção de amônia</i>	Sem efeito	Sem efeito	Aumenta	Sem efeito
<i>Razão O/N</i>	Sem efeito	Sem efeito	Diminui (pH 7,8)*/ Sem efeito (PH 7,5)	Sem efeito(27°C)/ Aumenta (30°C)

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram a importância de avaliar mais de um estressor ambiental de maneira combinada, uma vez que efeitos sinérgicos foram fundamentais para as respostas encontradas. Ainda, as espécies de anfípodes apresentaram respostas diferentes frente aos mesmos estressores ambientais. O aumento da temperatura e a acidificação oceânica são

responsáveis por alterações no comportamento e na fisiologia de *C. filosa*, mas não em *H. niger*. Esses resultados mostram a necessidade de ampliar os estudos sobre os efeitos das mudanças no clima, combinando múltiplos estressores e em uma maior diversidade de espécies.

Efeitos comportamentais

A temperatura e o pH atuam conjuntamente afetando as taxas de consumo do anfípode *C. filosa*. O consumo de macroalgas foi menor nos cenários que apresentavam temperatura de 30°C, quando comparados com o cenário atual. Ainda, quando a temperatura elevada era combinada com pH 7,8, foi observada uma redução no consumo, o que não ocorreu para o cenário com pH 7,5. Esses resultados indicam um efeito claro de sinergismo entre os estressores ambientais, no qual a acidificação parece amenizar o efeito da temperatura, causando uma redução menos acentuada no consumo das macroalgas no cenário sinérgico, quando comparamos com o cenário controle. Efeitos do sinergismo sobre o consumo alimentar de anfípodes também foram observados em outros trabalhos. Poore et al. (2013), ao criarem macroalgas em diferentes cenários climáticos e alimentarem anfípodes nessas mesmas condições, observaram um efeito sinérgico entre a temperatura e o pH para *Sunamphitoe parmerong* (antigo *Peramphithoe parmerong*). Quando as macroalgas foram cultivadas em temperatura ambiente, a taxa alimentar de *S. parmerong* não diferia entre tratamentos com diferentes valores de pH. No entanto, quando as macroalgas tinham sido cultivadas em temperaturas mais altas, o consumo foi maior quando o anfípode estava nos cenários acidificados do que em pH ambiente, semelhante ao encontrado no nosso estudo. Sampaio et al. (2017) também encontraram efeitos do sinergismo para o anfípode *Melita palmata*. No entanto, ao invés da redução do consumo como observado em nosso trabalho, o efeito apresentou uma direção contrária. Em pH ambiente, foi observado um aumento do consumo das macroalgas em função do aumento da temperatura, enquanto em cenários acidificados, não foi encontrado efeito da temperatura no consumo (Sampaio et al. 2017). Esses resultados mostram que os efeitos sinérgicos de múltiplos estressores ambientais podem apresentar respostas muito distintas. Por isso, aumentar o número de trabalhos que avaliam essa combinação de fatores é fundamental para melhor compreendermos os efeitos das mudanças no clima.

Para *H. niger*, não foi observado nenhum efeito sinérgico e nem dos estressores isolados sobre o consumo das macroalgas. Nossas observações reforçam resultados prévios, que mostraram *H. niger* como uma espécie bastante tolerante ao aquecimento (Campbell et al. 2020), e *C. filosa* sujeita a mudanças comportamentais, como redução na construção de

tubos (Balloo & Apaddoo 2017). Os efeitos do aumento de temperatura sobre o comportamento alimentar observados para *C. filosa* nesse trabalho também já foram relatados para outras espécies da família Ampithoidae, como em *Ampithoe longimana* (Sotka & Giddens 2009). Variações nas respostas de diferentes anfípodes quanto a estressores ambientais já foram relatadas para outros parâmetros, como a sobrevivência (Ledet et al. 2018, Campbell et al. 2020). Cada espécie apresenta um ótimo fisiológico característico e alterações em parâmetros como a temperatura podem trazer esses animais para mais próximo ou mais distante desse ótimo (Bible et al. 2020), afetando diretamente os seus processos metabólicos (Angilletta 2009) e comportamentais (Balloo & Apaddoo 2017). Tais resultados alertam para o cuidado ao fazer generalizações sobre o grupo frente às mudanças no clima.

Mesoherbívoros são reguladores da biomassa das assembleias de macrófitas marinhas (Poore et al. 2012) e alterações nos parâmetros ambientais podem modificar essa regulação. Nossos resultados mostram que o aumento da temperatura e a redução do pH podem alterar a força da interação herbívoro-planta para *C. filosa*, assim como observado para outras espécies (Lindroth 2012, Poore et al. 2013). Pela teoria metabólica, era esperado que as taxas de consumo alimentar fossem maiores com o aumento da temperatura (O'Connor 2009), por consequência do metabolismo mais acelerado. O aumento do consumo fortaleceria o controle *top-down* pelos herbívoros em relação às macroalgas (O'Connor 2009, Eklöf et al. 2012), como observado em outros trabalhos (Ledet et al. 2018). Esse efeito é bastante provável no nosso sistema de estudo, no qual os anfípodes tem maior preferência alimentar pelas macroalgas hospedeiras do que por epífitas (Machado et al. 2017). No entanto, no presente estudo, observamos uma redução do consumo em temperaturas mais altas, o que pode favorecer a biomassa de macroalgas e reforçar o controle *bottom-up*. Ainda, é importante ressaltar que essas mudanças na comunidade fital com o aumento da temperatura são dependentes da espécie analisada, uma vez que os mesoherbívoros respondem de maneira distinta.

Efeitos fisiológicos

A temperatura e o pH não alteraram as respostas fisiológicas para *H. niger*, já para *C. filosa* foi observada alterações em decorrência desses estressores ambientais. Uma vez que o ótimo fisiológico, definido como um conjunto de parâmetros que permitem o perfeito funcionamento do metabolismo (Somero 2010), varia entre as espécies, elas podem responder de maneira distinta, como observado no presente estudo. Diferenças entre espécies quanto a taxa respiratória e a excreção de amônia frente aos mesmos estressores ambientais também já foram relatadas em outros trabalhos (Yamada & Ikeda 2003). Para *C.*

filosa, foram observados a redução da taxa respiratória e o aumento da excreção de amônia com o aumento da temperatura. Em geral, o aumento da temperatura leva a um aumento do metabolismo, sendo observado o aumento das taxas respiratórias e excreção de amônia (Chen & Nan 1993, Ikeda 2013, Barbieri 2015). O aumento da temperatura gera um estresse metabólico em anfípodes, levando ao catabolismo de aminoácidos e maior excreção de amônia (Aarset & Aunaas 1990a, Gomes et al 2013), como observado em nosso estudo e em outros com crustáceos (Chen & Nan 1993, Chen & Lai 1993, Chen & Kou 1996). No entanto, com relação a taxa respiratória, a maioria dos trabalhos realizados com anfípodes mostra um aumento da taxa respiratória com o incremento da temperatura (Aarset & Aunaas 1990B, Gomes et al. 2013, Ikeda 2013, Gomes et al. 2014). Esse resultado difere dos nossos dados que mostram uma redução da taxa respiratória com o aumento da temperatura de 27°C para 30°C. No entanto, todos os trabalhos que encontraram aumento da taxa respiratória se concentraram em espécies de climas polares, com a temperatura variando de 0 a 10°C (Rakusa-Suszczewski & Klekowski 1973, Rakusa-Suszczewski 1982, Aarset & Aunaas 1990B). A maior riqueza e diversidade de anfípodes ocorre em regiões frias com maiores latitudes (Brandt 2005; Copilaș-Ciocianu et al. 2019), pois esse grupo apresenta baixa tolerância a hipóxia e águas quentes apresentam menores quantidade de oxigênio dissolvido (Vaquer-Sunyer & Duarte 2008; Wiklund & Sundelin, 2001; Wu & Or 2005). Além disso, o tamanho corporal é importante na captação de oxigênio pelas brânquias, sendo que anfípodes menores tem relativa área superficial branquial maior (Moore & Taylor 1984). O aumento da temperatura da água leva a uma redução do oxigênio dissolvido, e nesse caso, os organismos menores serão menos afetados com o aumento da temperatura (Pörtner & Knust 2007, Storch et al. 2014). Após atingir uma temperatura elevada, a taxa respiratória diminui com o aumento do tamanho corporal, logo, anfípodes menores têm maior capacidade fisiológica para lidar com o aquecimento (Jakob et al. 2016). Em concordância com essa ideia, *C. filosa* apresenta um tamanho corporal maior que *H. niger* e teve sua taxa respiratória afetada, enquanto não foram observadas mudanças na fisiologia da outra espécie.

Para outros crustáceos, já foi observado que a taxa respiratória aumenta com a temperatura (Gonzalez et al. 2010; Maazouzi et al. 2011) até um valor máximo, em seguida, a taxa metabólica diminui quando o animal está quase morrendo (Frederich & Pörtner 2000, Portner 2001, Powell & Watts 2006). A lagosta *Jasus edwardsii* apresenta um ótimo térmico entre 18-20°C (Booth & Kittaka 1994) e foi observado um aumento no consumo de oxigênio até 22°C. No entanto, quando a temperatura chega a 24°C, o consumo de oxigênio declina, mas a excreção de amônia continua aumentando, indicando o estresse fisiológico que o animal estava submetido e a aproximação do limite térmico suportado pela espécie (Thomas et al. 2000). Resultados semelhantes também foram observados para outras espécies de

lagostas (Chittleborough 1975, Zainal et al. 1992) e a persistência do cenário climático levou a morte dos animais (Zoutendyk 2010). Esses resultados podem explicar os que encontramos para *C. filosa*. Na temperatura de 30°C temos um declínio na taxa respiratória e aumento da taxa de excreção de amônia, o que demonstra o estresse e comprometimento do estado fisiológico dessa espécie de anfípode. Em geral, os crustáceos têm uma elevada capacidade regulatória do consumo de oxigênio, sendo chamados de oxigênio reguladores (McMahon 2001) e muitas espécies se mostram insensíveis a variações térmicas dentro do limite de seus habitats (McWhinnie 1964, Percy 1975, Einarson 1993). No entanto, a taxa respiratória pode ser limitada tanto pelas altas como pelas baixas temperaturas (Pörtner 2010). Cada espécie apresenta uma faixa térmica de desempenho aeróbico, chamada de limite Pejus. Nessa faixa, o PO₂ é ideal para o transporte pelo fluido corporal, que no caso dos crustáceos é a hemolinfa, sendo encontrados altos níveis de oxigênio (Frederich & Pörtner, 2000). Quando o limite pejus é excedido por temperaturas de extremo frio ou calor, ocorre uma redução na PO₂ e na capacidade de cardio-circulação do oxigênio, reduzindo a ventilação (Mark et al. 2002, Lannig et al. 2004). Isso gera uma redução da disponibilidade de oxigênio para as mitocôndrias (hipoxemia), que passam a realizar respiração anaeróbica (Pörtner et al. 2006). Quando a capacidade ventilatória é comprometida, o metabolismo fisiológico é alterado, como observado para o anfípode *Dikerogammarus villosus*, que ao exceder o seu ótimo térmico aumenta o batimento dos seus pleópodos e o consumo do oxigênio (Bruijsl et al. 2001). Se o aumento da temperatura for mantido, o estado de estresse continuará alto e não haverá retorno ao estado de homeostase, culminando na morte dos indivíduos (Jakob et al. 2016). Nesse sentido, uma maior aproximação em relação ao limite pejus provoca alterações na fisiologia dos anfípodas. Nossos experimentos foram realizados com temperaturas muito mais elevadas, e provavelmente perto do ótimo térmico das espécies (Stillman 2003, Vinagre et al. 2016). Portanto, o aquecimento simulado no experimento deve ter aproximado *C. filosa* do seu limite pejus, o que pode explicar o resultado encontrado. Essa hipótese é suportada pelo fato de que espécies tropicais estão mais próximas do seu limite térmico do que as espécies de regiões mais frias (Stillman 2003, Vinagre et al. 2016, Vinagre et al. 2018). De fato, 27°C já é a temperatura média dos meses mais quentes do ano para a região de ocorrência desses animais (Ver capítulo 1), portanto um pequeno aquecimento já deve ser capaz de exceder os limites fisiológicos suportados por essa espécie.

A razão O:N não variou para *H. niger* mas apresentou uma redução para *C. filosa* com o aumento temperatura no cenário de pH ambiente. Aqui, novamente, fica claro o efeito sinérgico do pH com a temperatura, agora atuando sobre a fisiologia dos anfípodas. Em cenários acidificados, quando a temperatura aumenta, não ocorre redução da razão O/N. Já no cenário de pH atual, quando a temperatura aumenta, é observado a redução dessa razão.

Esse resultado difere de outros estudos com anfípodes que mostram o aumento da razão O/N com o aumento da temperatura (Aarset & Aunaas 1990b, Gomes et al. 2013). Essa diferença em relação ao nosso resultado provavelmente ocorreu em decorrência da queda do consumo de oxigênio que encontramos. Embora ocorra essa redução na razão O/N, isso não altera o metabolismo dos anfípodes em estudo. Para as duas espécies, a razão O/N ficou abaixo de 8, indicando um metabolismo completamente dependente da oxidação de proteínas, independente da temperatura e do pH. Outros trabalhos mostram que anfípodes apresentam um metabolismo dependente de proteínas, mas que o aumento da temperatura leva a uma mudança no metabolismo, tornando-o mais dependente do catabolismo de proteínas e lipídeos (Aarset & Aunaas 1990B, Gomes et al. 2013, Gomes et al. 2014). No entanto, esses trabalhos são em regiões polares, com águas mais frias e oxigenadas. Anfípodes de água mais quentes e menos oxigenadas, que habitam o entre-marés, usam a depressão metabólica como forma de tolerância para lidar com extremos de temperatura (Portner & Farrel 2008). Isso pode explicar a razão de encontrarmos mudanças no substrato energético de espécies polares, mas não observarmos esse efeito em *Cymadusa filosa* habitando uma região subtropical. Este trabalho traz importantes informações sobre como espécies tropicais e subtropicais respondem às mudanças no clima, o que ainda é uma grande lacuna do conhecimento. Esse aumento até os 30°C parece atingir o limite pejus para *C. filosa*, demonstrando um comprometimento das funções vitais como a taxa respiratória e a alimentação. Nesse sentido, a temperatura é uma variável ambiental capaz de controlar a distribuição dos animais ectotérmicos (Chown 2001), pois temperaturas acima dos ótimos térmicos podem comprometer a abundância e a sobrevivência dos animais (Pörtner & Knust 2007). Como *C. filosa* parece estar no limite do seu ótimo térmico para a região de estudo, o aumento previsto para a temperatura nos cenários de mudanças no clima provavelmente comprometerá ou até impedirá a sobrevivência e ocorrência dessa espécie na região.

CONCLUSÃO

As mudanças previstas no clima projetam cenários de aquecimento e acidificação da água do mar. Avaliar o efeito sinérgico combinado de diferentes estressores ambientais é fundamental para representar um cenário climático futuro realístico e compreender os efeitos sobre o ambiente marinho. Nossos resultados mostram que variações nos parâmetros ambientais do habitat dos anfípodes podem comprometer a homeostase desses organismos, alterando seu comportamento alimentar e fisiologia. Ainda, essa resposta pode ser muito variável entre as espécies. Dentre as consequências possíveis, alterações na força de interação herbívoro-macroalgas e mudanças fisiológicas foram descritas experimentalmente nesse trabalho. Regiões mais quentes, como climas tropicais e subtropicais, podem ser

severamente afetadas pelas mudanças no clima, uma vez que já apresentam temperaturas elevadas, mais perto do limite térmico dos organismos do que em climas mais frios (Vinagre et al. 2016). As variações observadas na fisiologia e no comportamento alimentar, em nível específico, podem culminar em consequências maiores, causando desequilíbrios no fluxo energético marinho e mudanças na distribuição das espécies.

REFERÊNCIAS

Aarset, A V; Aunaas, T. 1990a. Influence of environmental salinity on oxygen consumption and excretion of the arctic under-ice amphipod *Onisimus glacialis*. *Marine Biology* 107: 9-15.

Aarset, A V; Aunaas, T. 1990b. Metabolic responses of the sympagic amphipods *Gammarus* and *Onisimus glacialis* to acute temperature variations. *Marine Biology* 107: 433-438.

Almagro-Pastor, V; Conradi, M; DelValls, T A; Riba, I. 2015. Alterations in the macrobenthic fauna from Guadarranque River (Southern Spain) associated with sediment–seawater acidification deriving from CO₂ leakage. *Marine Pollution Bulletin* 96: 65–75.

Amsler, D C; McClintock, B J; Baker, J B. 2012. Amphipods exclude filamentous macroalgae from the Western Antarctic Peninsula benthos: experimental evidence. *Polar Biology* 35: 171–177.

Angilletta Jr, M J. 2009. *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press. pp. 302.

Angilletta Jr, M J; Huey, R B; Frazier, M R. 2009. Thermodynamic effects on organismal performance: is hotter better? *Physiological and Biochemical Zoology* 83: 197-206.

Angilletta Jr, M J; Niewiarowski, P H; Navas, C A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 27: 249-268.

Appadoo, C; Myers, A A. 2003. Observations on the tube-building behavior of the marine amphipod *Cyadusa filosa* Savigny (Crustacea: Ampithoidae). *Journal of Natural History* 37: 2151–2164.

Arnold, K E; Findlay, H S; Spicer, J I; Daniels, C L; Boothroyd, D. 2009. Effect of CO₂-related acidification on aspects of the larval development of the European lobster, *Homarus gammarus* (L.). *Biogeosciences*. 6: 1747–1754.

Arnold, T; Mealey, C; Leahey H; Miller, A W; Hall-Spencer, J M; et al. 2012. Ocean acidification and the loss of phenolic substances in marine plants. *PLoS ONE* 7(4): e35107.

Axenov-Gribanov, D; Bedulina, D; Shatilina, Z; Jakob, L; Vereshchagina, K; Lubyaga, Y et al. 2016. Thermal preference ranges correlate with stable signals of universal stress markers in Lake Baikal endemic and Holarctic Amphipods. *PLoS ONE* 11(10): e0164226.

Baloo, N; Appadoo, C. 2017. Effect of acidified seawater and high temperature on the survival and behaviour of supralittoral and sublittoral amphipods (Crustacea). *WIO Journal of Marine Science* 16: 1-11.

Barbieri, E; Medeiros, A M Z; Henriques, M B. 2016. Oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) in culture: temperature effects. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 49: 19-25.

Barnard, J L; Karaman, G S. 1991. The Families and Genera of Marine Gammaridean Amphipoda (Except Marine Gammaroids). *Records of the Australian Museum, Supplement 13 (Part 1)*: 1-418.

Basallote, M D; Rodriguez-Romero, A; Blasco, J; Del Valls, A; Riba, I. 2012. Lethal effects on different marine organisms, associated with sediment–seawater acidification deriving from CO₂ leakage. *Environment Science and Pollution Research* 19: 2550–2560.

Beaugrand, G; Brander, K; Lindley, A A; Souissi, S; Reid, P C. 2003. Plankton effect on cod recruitment in the North Sea. *Nature* 426: 661–664.

Bedulina, D S; Zimmer, M; Timofeyev, M A. 2010. Sub-littoral and supra-littoral amphipods espond differently to acute thermal stress. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part. B* 155: 413-418.

Benson, S M; Surles, T L. 2006. Carbon dioxide capture and storage: an overview with emphasis on capture and storage in deep geological formations. *Proceedings of the IEEE* 94 10: 1795–1805.

Bible, J M; Evans, T G; Sanford, E. 2020. Differences in induced thermotolerance among populations of *Olympia oysters*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 239: 110563.

Booth, J D; Kittaka, J. 1994. Growout of juvenile spiny lobsters. In: B F Phillips; J Kittaka (eds), *Spiny Lobster Management*. Blackwell Scientific Fishing News Book, pp. 424–445.

Brandt, A. 2005. Evolution of antarctic biodiversity in the context of the past: the importance of the Southern Ocean deep sea. *Antarctic Science* 17: 509–521.

Brown, S D; Bert, T M. 1993. The effects of temperature and salinity on moulting and survival of *Menippe adina* and *M. mercenaria* (Crustacea, Decapoda) post settlement juveniles. *Marine Ecology Progress Series* 99: 41–49.

Bruijl, M C M; Kelleherl, B; van der Veldel, G; bij de Vaate, A. 2001 Oxygen consumption, temperature and salinity tolerance of the invasive amphipod *Dikerogammarus villosus*: indicators of further dispersal via ballast water transport. *Archiv fur Hydrobiologie* 152: 633-646.

Bueno, M; Dena-Silva, S A; Flores, A A V; Leite, F P P. 2016. Effects of wave exposure on the abundance and composition of amphipod and tanaidacean assemblages inhabiting intertidal coralline macroalgae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96: 761–767.

Bueno, M; Dias, G M; Leite, F P P. 2017. The importance of shore height and host identity for amphipod assemblages, *Marine Biology Research*, DOI: 10.1080/17451000.2017.1306650.

Byrne, M. 2011. Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 49: 1–42.

Caldeira, K; Wickett, M E. 2003. Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425: 365–365.

Campbell, H; Ledet, J; Poore, A; Harianto, J; Byrne, M. 2020. Resilience of the amphipod *Hyale niger* and its macroalgal host *Sargassum linearifolium* to heatwave conditions. *Marine Biology* 167: 72.

Cardoso, P G; Loganimoce, E M; Neuparth, T; Rocha, M J; Rocha, E; Arenas, F. 2018. Interactive effects of increased temperature, pCO₂ and the synthetic progestin levonorgestrel on the fitness and breeding of the amphipod *Gammarus locusta*. *Environmental Pollution* 236: 937–947.

Chen, J C; Lai, S H. 1993. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 165: 161-1.

Chen, J C; Lin, M N; Ting, Y Y; Lin, J N. 1995. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperature levels. *Comparative Biochemistry and Physiology* 110A: 253–258.

Chen, J C; Nan, F H. 1993. Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. *Journal of Crustacean Biology* 13: 706-712.

Chen, J; Kou, T. 1996. Effects of temperature on oxygen consumption and nitrogenous excretion of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 145: 295–303.

Chittleborough, R G. 1975. Environmental factors affecting growth and survival of juvenile western rock lobsters *Panulirus longipes* Milne-Edwards. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 26: 177–196.

Chown, S L. 2001. Physiological variation in insects: hierarchical levels and implications. *Journal of Insect Physiology* 47: 649–660.

Collins, M R; Knutti, J; Arblaster, J L; Dufresne, T; Fichet, P; Friedlstein, X et al. 2013. Long-term climate change: projections, commitments and irreversibility. In: T F Stocker; D Qin; G K Plattner; M Tignor; S K Allen; J Boschung; A Nauels; et al. (eds). *Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge University Press, Cambridge.

Copilaş-Ciocianu, D; Sidorov, D A; Gontcharov, A A. 2019. Adrift across tectonic plates: molecular phylogenetics supports the ancient Laurasian origin of old limnic crangonyctid amphipods. *Organisms Diversity and Evolution* 19: 191–207.

Copilaş-Ciocianu, D; Borko, Š; Fišer, C. 2020. The late blooming amphipods: Global change promoted post-Jurassic ecological radiation despite Palaeozoic origin. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 143: 106664.

Crain, C M; Kroeker, K; Halpern, B S. 2008. Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters* 11: 1304–1315.

Cronin, G; Hay, M E. 1996. Within-plant variation in seaweed palatability and chemical defenses: optimal defense theory versus the growth-differentiation balance hypothesis. *Oecologia* 105: 361-368.

De Grande, F R; Granado, P; Costa, T M. 2021. Size-at-age or structure shift: Which hypothesis explains smaller body size of the fiddler crab *Leptuca uruguayensis* in northern populations?. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 254: 107358.

Dickson, A G; Sabine, C L; Christian, J R. 2007. Guide to Best Practices for Ocean CO₂ Measurements. PICES Special Publication 3, 191 pp.

Dickson, A G. 1990. Standard potential of the reaction: $\text{AgCl(s)} + \frac{1}{2} \text{H}_2(\text{g}) + \frac{1}{4} \text{Ag(s)} + \text{HCl(aq)}$, and the standard acidity constant of the ion HSO_4^- in synthetic seawater from 273.15 to 318.15 K. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 22: 113–127.

Dickson, A G; Millero, F J. 1987. A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep Sea Research* 34: 1733–1743.

Duffy, J E; Hay, M E. 1990. Seaweed adaptations to herbivory. *BioScience*, 40: 368-375.

Egilsdottir, H; Spicer, J I; Rundle, S D. 2009. The effect of CO₂ acidified sea water and reduced salinity on aspects of the embryonic development of the amphipod *Echinogammarus marinus* (Leach). *Marine Pollution Bulletin* 58: 1187–1191.

Einarson S. 1993. Effects of temperature, seawater osmolality and season on oxygen consumption and osmoregulation of the amphipod *Gammarus oceanicus*. *Marine Biology* 117: 599–606.

Eklöf, J S; Alsterberg, C; Havenhand, J N; Sundbäck, K; Wood, H L; Gamfeldt, L. 2012. Experimental climate change weakens the insurance effect of biodiversity. *Ecology Letters* 15: 864–872.

Fabry, V J; Seibel, B A; Feely, R A; Orr, J C. 2008. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science* 65: 414–432.

Fernandez-Gonzalez J; Sanchez-Jerez P. 2014. First occurrence of *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Crustacea: Amphipoda) on off-coast fish farm cages in the Mediterranean Sea. *Helgoland Marine Research* 68: 187–191.

Fischetti, M. 2013. Deep heat threatens marine life. *Scientific American* 308: 92.

Fitzer, S C; Phoenix, V R; Cusack, M; Kamenos, N. 2014. Ocean acidification impacts mussel control on biomineralisation. *International Journal of Scientific Reports* 4: 6218.

Frederich, M; Pörtner, H O. 2000. Oxygen limitation of thermal tolerance defined by cardiac and ventilatory performance in the spider crab *Maja squinado*. *American Journal of Physiology* 279: 1531-1538.

Gabr, M K; Ziena, A F; Hellal, A M. 2020. Abundance and diversity of amphipod species associated with macro-macroalgae at Ras-Mohamed, Aqaba Gulf, Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* 24: 1-15.

Gao, K; Gao, G; Wang, Y; Dupont, S. 2020. Impacts of ocean acidification under multiple stressors on typical organisms and ecological processes. *Marine Life Science & Technology*. <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00048-w>.

García, E; Clemente, S; Hernández, J C. 2015. Ocean warming ameliorates the negative effects of ocean acidification on *Paracentrotus lividus* larval development and settlement. *Marine Environment Research* 110: 61–68.

Gattuso, J P; Magnan, A; Billé, R; Cheung, W W; Howes, E L; Joos, F; Allemand, D; Bopp, L; Cooley, S R; Eakin, C M; Hoegh-Gulberg, O. 2015. Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios. *Science* 349: 11.

Gianguzza, P; Visconti, G; Gianguzza, F; Vizzini, S; Gianluca, S; Dupont, S. 2014. Temperature modulates the response of the thermophilous sea urchin *Arbacia lixula* early life stages to CO₂- driven acidification. *Marine Environment Research* 93: 70–77.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S, dos Santos, T C A, Hasue, F M; Ngan, P V. 2014. Oxygen consumption and ammonia excretion of the Antartic amphipod *Bovallia*

gigantea Pfeffer, 1888, at diferente temperatures and salinities. Brazilian Journal of Oceanography 62: 315-321.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S, dos Santos, T C A, Machado, A S D; Ngan, P V. 2013. Metabolic rates of the Antartic amphipod *Gondogeneia antarctica* at diferente temperatures and salinities. Brazilian Journal of Oceanography 61: 243-249.

Gonzalez, R A; Diaz, F; Licea, A; Re, A D; Sanchez, L N; Garcia-Esquivel, Z. 2010. Thermal preference, tolerance and oxygen consumption of adult white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to different acclimation temperatures. Journal of Thermal Biology 35: 218–224.

Guerra, A; Leite, N; Marques, C J; Ford, A T; Martins, I. 2014. Predicting the variation in *Echinogammarus marinus* at its southernmost limits under global warming scenarios: Can the sex-ratio make a difference? Science of the Total Environment 3: 1022-1029.

Hale, R; Calosi, P; Mcneill, L; Mieszkowska, N; Widdicombe, S. 2011. Predicted levels of future ocean acidification and temperature rise could alter community structure and biodiversity in marine benthic communities. Oikos 120: 661–674.

Halpern, B S; Selkoe, K A; Micheli, F; Kappel, C V. Evaluating and ranking the vulnerability of global marine ecosystems to anthropogenic threats. Conservation Biology 21: 1301–1315.

Harvey, B P; Dylan, G J; Moore, P. 2013. Meta-analysis reveals complex marine biological responses to the interactive effects of ocean acidification and warming. Ecology and Evolution 3: 1016–1030.

Hernroth B, Skold H, Wiklander K, Jutfelt F, Baden S. 2012. Simulated climate change causes imune suppression and protein damage in the crustacean *Nephrops norvegicus*. Fish and Shellfish Immunology 33: 1095–1101.

Hoegh-Guldberg, O; Mumby, P J; Hooten, A J; Steneck, R S; Greenfield, P; Gomez, E et al. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science 318: 1737–1742.

Houghton, J T; Ding, Y; Griggs, D J; Noguer, M; Van der Linder, P J; Dai, X; Maskell, K; Johnson, C A. 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Cambridge University Press, pp. 525-542.

Ikeda, T. 2013. Metabolism and chemical composition of marine pelagic amphipods: synthesis toward a global bathymetric model. *Journal of Oceanography* 69: 339–355.

Inagaki, K Y; Pennino, M G; Floeter, S R, Hay, M E; Longo, G O. 2020. Trophic interactions will expand geographically but be less intense as oceans warm. *Global Change Biology* 26: 6805-6812.

IPCC, 2013. Summary for Policymakers. In: T F Stocker; D Qin; G-K Plattner; M; S K Allen; J Boschung; A Nauels; Y Xia; V Bex; P M Midgley (eds). *Climate Change 2013: the Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Jacobucci, G B; Tanaka, M O; Leite, F P P. 2009. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquatic Ecology*. 43: 1031-1040.

Jakob, L; Axenov-Gribanov, D V; Gurkov, A N; Ginzburg, M; Bedulina, D S; Timofeyev, M A; Luckenbach, T; et al. 2016. Lake Baikal amphipods under climate change: thermal constraints and ecological consequences. *Ecosphere* 7: e01308.

Koroleff, F. 1970. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *ICES Interlab. Rep* 3: 19-22.

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. *Ecology Letters* 13: 1419–1434.

Lannig, G; Bock, C; Sartoris, F J; Pörtner, H O. 2004. Oxygen limitation of thermal tolerance in cod, *Gadus morhua* L. studied by non-invasive NMR techniques and on-line venous oxygen monitoring. *American Journal of Physiology* 287: 902-910.

Ledet, J; Byrne, M; Poore, A G B. 2018. Temperature effects on a marine herbivore depend strongly on diet across multiple generations. *Oecologia* 187: 483–494.

Leite, F P P; Turra, A. 2003. Temporal variation in *Sargassum* Biomass, *Hypnea* epiphytism and associated fauna. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46: 665- 671.

Lindroth, R L. 2012 Atmospheric change, plant secondary metabolites and ecological interactions. In: G R Iason; M Dicke; S E Hartley (eds). The ecology of plant secondary metabolites: from genes to global processes. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 120–153.

Liu, M; Liu, S; Hu, Y; Pan, L. 2015. Cloning and expression analysis of two carbonic anhydrase genes in white shrimp *Litopenaeus vannamei*, induced by pH and salinity stresses. *Aquaculture* 448: 391–400.

Long, W C; Swiney, K M; Harris, C; Page, H N; Foy, R J. 2013. Effects of ocean acidification on juvenile red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) and tanner crab (*Chionoecetes bairdi*) growth, condition, calcification, and survival. *PLoS ONE* 4: e60959.

Lowry, J K; Myers, A A. 2013. A phylogeny and classification of the senticaudata subord. nov. (Crustacea: Amphipoda). *Zootaxa* 3610: 1-80.

Maazouzi, C; Piscart, C; Legier, F; Hervant, F. 2011. Ecophysiological responses to temperature of the “killer shrimp” *Dikerogammarus villosus*: is the invader really stronger than the native *Gammarus pulex*? *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A* 159: 268–274.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Bueno, M; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2019a. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. *Hydrobiologia* 836: 65-81.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Leite, F P P. 2019b. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzer. *Marine Biology* 166:55.

Machado, G B O; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2017. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host macroalga-epiphyte system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486: 328-335.

Mark, F C; Bock, C; Pörtner, H O. 2002. Oxygen limited thermal tolerance in Antarctic fish investigated by magnetic resonance imaging (MRI) and spectroscopy (31P-MRS). *American Journal of Physiology* 283: 1254-1262.

Mayzaud, P; Conover, R J. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series* 45: 289-302.

McMahon, B R. 2001. Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. *Respiration Physiology* 128: 349–364.

McWhinnie, M. A. 1964. Temperature responses and tissue respiration in Antarctic crustaceans with particular reference to the krill *Euphausia superba*. *Antarctic Research Series* 1: 63-72.

Mehrbach, C; Culberson, C H; Hawley, J E; Pytkowicz, R M. 1973. Measurement of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnology and Oceanography* 18: 897–907.

Moore, P; Taylor, A. 1984. Gill area relationships in an ecological series of gammaridean amphipods (Crustacea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 74: 179–186.

Neuparth, T; Costa, F O; Costa, M H. 2002. Effects of temperature and salinity on life history of the marine amphipod *Gammarus locusta*. Implications for ecotoxicological testing. *Ecotoxicology* 11: 61–73.

O'Connor, M I. 2009. Warming strengthens an herbivore–plant interaction. *Ecology* 90: 388–398.

Orr, J C; Fabry, V J; Aumont, O; Bopp, L; Doney, S C; Feely, R A; et al. 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437: 681–686.

Parker, L M; Ross, P M; O'Connor, W A; Pörtner, H O; Elliot, S; Wright, J M. 2013. Predicting the response of molluscs to the impact of ocean acidification. *Biology* 2: 651–692.

Passarelli, M C; Riba, I; Cesar, A; Serrano-Bernando, F; DelValls, T A. 2017. Assessing the influence of ocean acidification to marine amphipods: A comparative study. *Science of the Total Environment* 595: 759–768.

Percy, J A. 1975. Ecological physiology of Arctic marine invertebrates. Temperature and salinity relationships of the amphipod *Onisimus affinis* H. J. Hansen. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 20: 99-117.

Petchey, O L; Mcphearson, P T; Casey, T M; Morin, P J. 1999. Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature* 402: 69–72.

Poore, A G B; Campbell, A H; Coleman, R A; Edgar, G J; Jormalainen, V; Reynolds, P L; et al. 2012. Global patterns in the impact of marine herbivores on benthic primary producers. *Ecology Letters* 15: 912-922.

Poore, A G B; Graba-Landry, A; Favret, M; Brennand, H S; Byrne, M; Dworjanyn, S A. 2013. Direct and indirect effects of ocean acidification and warming on a marine plant-herbivore interaction. *Oecologia* 173: 1113-1124.

Poore, A G B; Graham, S E; Byrne, M; Dworjanyn, S A. 2016. Effects of ocean warming and lowered pH on macroalgal growth and palatability to a grazing gastropod. *Marine Biology* 163: 99.

Portner, H O. 2010. Oxygen- and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climaterelated stressor effects in marine ecosystems. *Journal of Experimental Biology* 213: 881-893.

Pörtner, H O; Farrel, A P. 2008. Physiology and Climate Change. *Science* 322: 690-692.

Pörtner, H O; Knust, R. 2007. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science* 315: 95-97.

Pörtner, H O; Langenbuch, M; Reipschläger, A. 2004. Biological impact of elevated ocean CO₂ concentrations: lessons from animal physiology and Earth history. *Journal of Oceanography* 60: 705-718.

Pörtner, H O; Peck, L S; Hirse, T. 2006. Hyperoxia alleviates thermal stress in the Antarctic bivalve, *Laternula elliptica*: evidence for oxygen limited thermal tolerance. *Polar Biology* 29: 688-693.

Portner, H. 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften* 88: 137-146.

Powell, M L; Watts, S A. 2006. Effect of temperature acclimation on metabolism and hemocyanin binding affinities in two crayfish, *Procambarus clarkii* and *Procambarus zonangulus*. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part A* 144: 211-217.

R Core Team 2017. R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Rakusa-Suszczewski, S. 1982. The biology and metabolism of *Orchomene plebs* (Hurley 1965) (Amphipoda: Gammaridea) from McMurdo, Sound, Ross Sea, Antarctica. *Polar Biology* 1: 47- 54.

Rakusa-Suszczewski, S; Klekowski, R Z. 1973. Biology and respiration of the Antarctic amphipoda (*Paramoera walkeri* Stebbing) in the summer. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 20: 475-488.

Robbins, L L; Hansen, M E; Kleypas, J A; Meylan, S C. 2010. CO₂calc—A user-friendly seawater carbon calculator for Windows, Max OS X, and iOS (iPhone): U.S. Geological Survey Open-File Report 2010–1280, pp. 17.

Sampaio, E; Rodil, I F; Vaz-Pinto, F; Fernández, A; Arenas, F. 2017. Interaction strength between different grazers and macroalgae mediated by ocean acidification over warming gradients. *Marine Environmental Research* doi: 10.1016/j.marenvres.2017.01.001.

Serejo, C S; Siqueira, S G L. 2018. Catalogue of the Order Amphipoda from Brazil (Crustacea, Peracarida): Suborders Amphilochidea, Senticaudata and Order Ingolfiellida *Zootaxa* 4431: 001–139.

Shyamasundari, K. 1973. Studies on the tube-building amphipod *Corophium triaenonyx* Stebbing from Visakhapatnam Harbor: Effect of salinity and temperature. *The Biological Bulletin* 144: 503-510.

Small, D; Calosi, P; White, D; Spicer, J I; Widdicombe, S. 2010. Impact of medium-term exposure to CO₂ enriched seawater on the physiological functions of the velvet swimming crab *Necora puber*. *Aquatic Biology* 10: 11–21.

Sokolova, I M; Frederich, M; Bagwe, R; Lannig, G; Sukhotin, A A. 2012. Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Marine Environmental Research* 79: 1-15.

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

Sornom, P; Felten, V; Médoc, V; Sroda, S; Rousselle, P; Beisel, J N. 2010. Effect of gender on physiological and behavioural responses of *Gammarus roeseli* (Crustacea Amphipoda) to salinity and temperature. *Environmental pollution* 158: 1288–1295.

Sotka, E E; Giddens, A. 2009. Seawater temperature alters feeding discrimination by cold temperate but not subtropical individuals of an ectothermic herbivore. *Biology Bulletin* 216: 75-84.

Stillman, J H. 2003. Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science* 301: 65–65.

Storch, D; Menzel, L; Frickenhaus, S; Pörtner, H O. 2014. Climate sensitivity across marine domains of life: limits to evolutionary adaptation shape species interactions. *Global Change Biology* 20: 3059–3067.

Sutherland, W J; Armstrong-Brown, S; Armsworth, P R; Tom, B; Brickland, J; Campbell, C D et al. 2006. The identification of 100 ecological questions of high policy relevance in the UK. *Journal of Applied Ecology* 43: 617–627.

Tanaka, M O; Leite F P P. 2003 Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293: 1-22.

Thomas, C W; Crear, B J; Hart, P R. 2000. The effect of temperature on survival, growth, feeding and metabolic activity of the southern rock lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture* 185: 73–84

Tsoi, K H; Chiu, K M; Chu, K H. 2005. Effects of temperature and salinity on survival and growth of the amphipod *Hyale crassicornis* (Gammaridea, Hyalidae). *Journal of Natural History* 39: 325–336.

Vaquier-Sunyer, R; Duarte, C M. 2008. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of National Academy of Sciences* 105: 15452–15457.

Vinagre, C; Leal, I; Mendonça, V; Madeira, D; Narciso, L; Diniz, M S; Flores, A A V. 2016. Vulnerability to climate warming and acclimation capacity of tropical and temperate coastal organisms. *Ecological indicators* 62: 317-327.

Vinagre, C; Mendonca, V; Cereja, R; Abreu-Afonso, F; Dias, M; Mizrahi, D; Flores, A A V. 2018. Ecological traps in shallow coastal waters—potential effect of heatwaves in tropical and temperate organisms. *PLoS ONE* 13: e0192700.

Walther, G; Post, E; Convey, P; Menzel, A; Parmesan, C; Beebee, T J C; et al. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416: 389–395.

Wang, G Z; Jing, W P; Wang, S L; Xu, Y; Wang, Z Y; Zhang, Z L; Li, Q L; Dai, M H. 2014. Coastal acidification induced by tidal-driven submarine groundwater discharge in a coastal coral reef system. *Environmental Science & Technology* 48: 13069–13075.

Watson, S A; Fabricius, K E; Munday, P L. 2017. Quantifying pCO₂ in biological ocean acidification experiments: A comparison of four methods. *PLoS ONE* 12(9): e0185469.

Widdicombe, S; Dashfield, S L; McNeill, C L; Needham, H R; Beesley, A; McEvoy, A; Øxnevad, S; Clarke, K R; Berge, J A. 2009. Effects of CO₂ induced seawater acidification on infaunal diversity and sediment nutrient fluxes. *Marine Ecology Progress Series* 379: 59–75.

Widdicombe, S; Spicer, J I. 2008. Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366: 187–197.

Widdowson, J; Johnson, D. 1988. Physiological energetics of *Mytilus edulis*: scope for growth. *Marine Ecology Progress Series* 46: 113–121.

Wiklund, A K E; Sundelin, B. 2001. Impaired reproduction in the amphipods *Monoporeia affinis* and *Pontoporeia femorata* as a result of moderate hypoxia and increased temperature. *Marine Ecology Progress Series* 22: 131–141.

Wu, R S S; Or, Y Y. 2005. Bioenergetics, growth and reproduction of amphipods are affected by moderately low oxygen regimes. *Marine Ecology Progress Series* 297: 215–223.

Xue, S; Fang, J; Zhang, J; Jiang, Z; Mao, Y; Zhao, F. 2013. Effects of temperature and salinity on the development of the amphipod crustacean *Eogammarus sinensis*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 31: 1010–1017.

Yamada, Y; Ikeda, T. 2003 Metabolism and chemical composition of four pelagic amphipods in the Oyashio region, western subarctic Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 253: 233–241.

Zainal, K A Y; Taylor, A C; Atkinson, R J A. 1992. The effect of temperature and hypoxia on the respiratory physiology of the Squat lobster, *Munida rugosa* and *Munida sursi* (Anomura, Galatheidæ). *Comparative Biochemistry and Physiology* 101: 557-567.

Zoutendyk, P. 1989. Oxygen consumption by the Cape rock lobster *Jasus lalandii*, *South African Journal of Marine Science* 8: 219-230.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1- Valores médios (\pm erro padrão) aferidos (início e final do experimento de comportamento e fisiologia) para temperatura (T, °C), pH (pHNBS), salinidade (sal) e alcalinidade total (At, $\mu\text{mol.Kg}^{-1}$) e os parâmetros de pressão de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$, μatm), calcita (ΩCalc) e aragonita (ΩArag) calculados pelo CO2SYS.

Tratamentos	Parâmetros aferidos			Parâmetros calculados		
	T	pH (NBS)	At $\mu\text{mol.Kg}^{-1}$	$p\text{CO}_2$	ΩCalc	ΩArag
Comportamento						
<i>H. niger</i>						
Cenário atual	27 \pm 0	7,795 \pm 0,003	3,692 \pm 0,031	148,7 \pm 4,23	6,371 \pm 0	6,193 \pm 0
Aumento temperatura	30,05 \pm 0,05	7,802 \pm 0,002	3,688 \pm 0,034	146,8 \pm 6,29	6,374 \pm 2,47 $\times 10^{-5}$	6,199 \pm 6,19 $\times 10^{-5}$
Redução pH	26,97 \pm 0,03	7,503 \pm 0,002	3,711 \pm 0,022	135,7 \pm 4,82	6,370 \pm 2,02 $\times 10^{-5}$	6,199 \pm 5,47 $\times 10^{-5}$
Cenário sinérgico	30,03 \pm 0,03	7,508 \pm 0,005	3,688 \pm 0,034	146,8 \pm 6,29	6,376 \pm 2,47 $\times 10^{-5}$	6,199 \pm 6,19 $\times 10^{-5}$
<i>C. filosa</i>						
Cenário atual	27,05 \pm 0,03	7,80 \pm 0	3,763 \pm 0,021	142,9 \pm 5,05	6,371 \pm 2,35 $\times 10^{-5}$	6,193 \pm 6,35 $\times 10^{-5}$
Aumento temperatura	30,05 \pm 0,05	7,81 \pm 0,005	3,722 \pm 0,044	154,6 \pm 6,37	6,374 \pm 4,95 $\times 10^{-5}$	6,200 \pm 12 $\times 10^{-5}$
Redução pH	27 \pm 0	7,50 \pm 0,003	3,351 \pm 0,407	141,7 \pm 5,46	6,371 \pm 0	6,193 \pm 0
Cenário sinérgico	30,03 \pm 0,03	7,50 \pm 0,003	3,744 \pm 0,015	149,6 \pm 5,01	6,374 \pm 2,47 $\times 10^{-5}$	6,200 \pm 6,19 $\times 10^{-5}$
Fisiologia						
<i>H. niger</i>						
Cenário atual	27,03 \pm 0,03	7,79 \pm 0,003	3,745 \pm 0,028	141,0 \pm 5,49	6,371 \pm 2,35 $\times 10^{-5}$	6,193 \pm 6,35 $\times 10^{-5}$
Aumento temperatura	30 \pm 0	7,8 \pm 0	3,727 \pm 0,007	153,9 \pm 4,53	6,374 \pm 0	6,200 \pm 0
Redução pH	27,03 \pm 0,03	7,5 \pm 0	3,765 \pm 0,046	139,7 \pm 5,53	6,371 \pm 2,35 $\times 10^{-5}$	6,193 \pm 6,35 $\times 10^{-5}$
Cenário sinérgico	29,97 \pm 0,03	7,49 \pm 0,003	3,715 \pm 0,013	147,5 \pm 5,15	6,373 \pm 2,83 $\times 10^{-5}$	6,200 \pm 6,83 $\times 10^{-5}$
<i>C. filosa</i>						
Cenário atual	27 \pm 0,01	7,80 \pm 0,003	3,762 \pm 0,052	145,0 \pm 5,42	6,371 \pm 2,35 $\times 10^{-5}$	6,193 \pm 6,85,83 $\times 10^{-5}$

Aumento temperatura	30,02±0	7,80±0,001	3,731±0,047	152,6±5,56	6,373±2,83x10 ⁻⁵	6,200±6,83x10 ⁻⁵
Redução pH	27,02±0,01	7,50±0,001	3,738±0,023	138,5±5,43	6,371±2,35x10 ⁻⁵	6,194±6,37x10 ⁻⁵
Cenário sinérgico	30,05±0,03	7,49±0	3,723±0,021	143,2±5,31	6,373±2,83x10 ⁻⁵	6,199±6,80x10 ⁻⁵

Tabela S2- Valores de temperatura e pH para os tratamentos propostos no início e ao final do experimento de taxa respirométrica.

Tratamento	Temperatura inicial	pH inicial	Temperatura final	pH final
<i>Hyale niger</i>				
Cenário atual	27 ± 0,00 °C	7,80 ± 0,00	26,98 ± 0,02 °C	7,80 ± 6,76x10 ⁻³
Aumento de temperatura	30 ± 0,00 °C	7,80 ± 0,00	29,96 ± 0,03 °C	7,80 ± 6,85 x10 ⁻³
Redução de pH	27 ± 0,00 °C	7,50 ± 0,00	27,01 ± 0,02 °C	7,51 ± 4,58 x10 ⁻³
Cenário sinérgico	30 ± 0,00 °C	7,50 ± 0,00	30,00 ± 0,03 °C	7,51 ± 3,98 x10 ⁻³
<i>Cymadusa filosa</i>				
Cenário atual	27 ± 0,00 °C	7,80 ± 0,00	26,99 ± 0,03 °C	7,80 ± 3,83 x10 ⁻³
Aumento de temperatura	30 ± 0,00 °C	7,8 ± 0,00	30,03 ± 0,03 °C	7,80 ± 2,81 x10 ⁻³
Redução de pH	27 ± 0,00 °C	7,5 ± 0,00	27,01 ± 0,03 °C	7,50 ± 2,96 x10 ⁻³
Cenário sinérgico	30 ± 0,00 °C	7,50 ± 0,00	29,98 ± 0,03 °C	7,50 ± 4,51 x10 ⁻³

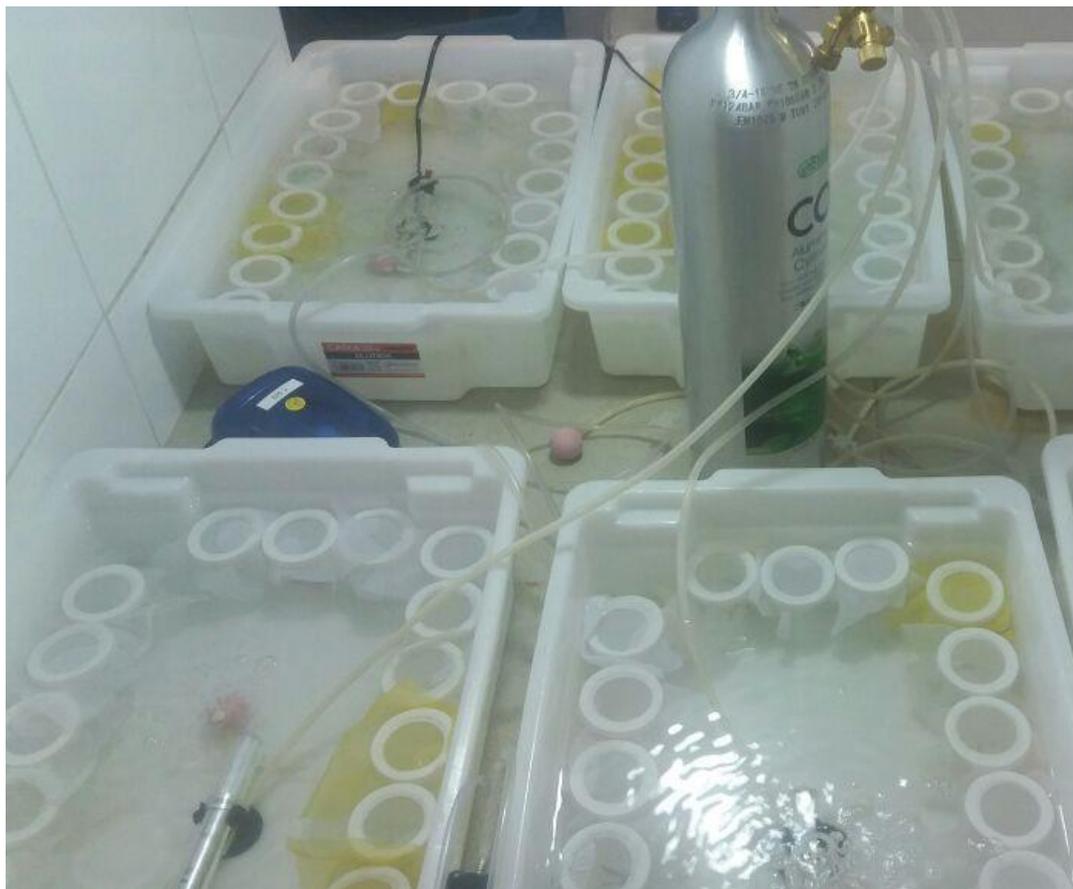


Figura S1- Experimento de consumo de macroalgas: béqueres submersos recobertos com tecido de voil que permitiam a troca entre cada réplica e o aquário experimental.

CAPÍTULO 4: O AQUECIMENTO OCEÂNICO ALTERA A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MACROALGA *Sargassum filipendula* REDUZINDO A TAXA ALIMENTAR DE ANFÍPODES HERBÍVOROS

INTRODUÇÃO

O cenário de mudanças no clima que estamos inseridos prevê uma série de alterações no ambiente marinho. O aumento da temperatura oceânica é uma das mudanças projetadas que podem trazer grandes consequências para esse sistema (IPCC 2013). As regiões de águas rasas serão as mais afetadas, sendo esperado um aumento de até 3°C (IPCC 2013). Além do aumento gradual e permanente da temperatura no oceano, também é esperado um aumento do número e da intensidade de ondas de calor nesse ambiente (Frölicher et al. 2018, Oliver et al. 2019). Esses eventos climáticos extremos são caracterizados por aumentos acentuados da temperatura da água do mar (Wenberg et al. 2012, Wenberg et al. 2016, Caputi et al. 2016, Hughes et al. 2017). Como a temperatura é um componente ambiental que atua diretamente sobre a fisiologia dos organismos (Angilletta et al. 2002, Angilletta & Angilletta 2009), é esperado que esse aquecimento tenha um efeito direto sobre o funcionamento da biota marinha. Compreender as mudanças no clima é uma missão bastante complexa, pois esses efeitos sobre as espécies podem implicar em alterações nas funções ecológicas que elas desempenham, como nas cascatas tróficas (Katrina et al. 2012), alterando relações entre consumidores e presas (Lindroth 2012, Poore et al. 2013).

Macroalgas e sua fauna associada representam um importante sistema no ambiente marinho. As macroalgas dominam do entre-marés até o infralitoral de muitos costões rochosos (Szechy et al. 2006) e atuam como espécies facilitadoras e formadoras de hábitat (Thompson et al. 1996, Stachowicz 2001, Lippert et al. 2001, Tanaka & Leite 2003, Fredriksen et al. 2005). Além disso, as macroalgas formadoras de dossel, como as macroalgas pardas do gênero *Sargassum*, possuem um papel fundamental no cenário de mudanças no clima ao sequestrar grande quantidade de carbono atmosférico para realização da fotossíntese (Krause-Jensen & Duarte 2016; Gouvêa et al. 2020). A fauna associada a essas macroalgas é bastante diversa (Egan et al. 2013), com destaque para os crustáceos anfípodes que são muito abundantes e diversos (Tanaka & Leite 2003, Amsler et al. 2012, Gabr et al. 2020). Anfípodes herbívoros utilizam as macroalgas como abrigo e alimento (Machado et al. 2019b). Esses mesoherbívoros são capazes de consumir grande quantidade de tecido das macroalgas (Ruesink 2000, Poore et al. 2009) e desempenham um importante papel no fluxo energético marinho, atuando como elo trófico entre as macroalgas e níveis superiores (Fernandez-Gonzalez & Sanchez-Jerez 2014).

A variação da temperatura pode causar alterações tanto nas macroalgas como nos herbívoros associados. A temperatura afeta a fisiologia das macroalgas, modificando seu crescimento (Endo et al. 2013, Bui et al. 2018), sazonalidade (Khalil et al. 2020), taxa de respiração e fotossíntese (Ji et al. 2016). Dessa forma, o aumento da temperatura oceânica pode modificar a distribuição espacial das macroalgas (Komatsu et al. 2014), podendo expandir ou retrair fortemente suas áreas de ocorrência (Van den Hoek et al. 1990, Cheung et al. 2009, Martínez et al. 2018, de la Hoz et al. 2019). Isso pode levar a uma redução da riqueza (Khalil et al. 2020) e até extinção local de algumas espécies (Wernberg et al. 2011). Além disso, o aumento da temperatura também pode afetar a composição química das macroalgas, alterando o valor nutricional dos seus tecidos (Reich et al. 2006, Staehr & Wernberg 2009). A temperatura altera a quantidade de proteínas, carboidratos, lipídeos, teor de cinzas e o peso seco dos vegetais (Zvereva & Kozlov 2006, Patarra et al. 2011, Rossoll et al. 2012, Bui et al. 2018). Ainda, a temperatura altera a razão carbono-nitrogênio, podendo reduzir o valor nutricional das macroalgas (Staehr & Wernberg 2009), uma vez que altas concentrações de nitrogênio apresentam um efeito positivo sobre a palatabilidade das macroalgas para herbívoros (Endo et al. 2015, Van Alstyne et al. 2009). Temperaturas elevadas também podem gerar estresse oxidativo em macroalgas (Stengel et al. 2011). Nesse caso, como um mecanismo anti-estresse para garantir a sua sobrevivência, as macroalgas podem produzir compostos antioxidantes (Rocha et al. 2007; Cofrades et al. 2010). Por exemplo, macroalgas pardas como do gênero *Sargassum* apresentam uma elevada quantidade de metabólitos secundários que atuam como antioxidantes, principalmente os fenólicos da classe dos florotaninos, ácidos fenólicos e flavonoides (Maschek & Baker 2008; Farvin & Jacobsen 2013, Blunt et al. 2014, Wang et al. 2014, Abirami & Kowsalya 2016). O aumento da concentração desses metabólitos secundários pode alterar a palatabilidade das macroalgas para os herbívoros (Sudatti et al. 2011), já que tais compostos também podem atuar como inibidores da herbivoria (Amsler & Fairhead 2005). Nesse sentido, o aumento da temperatura, além de afetar as macroalgas, pode também ter efeitos indiretos sobre o comportamento dos herbívoros via alterações da qualidade nutricional dos tecidos das macroalgas.

Além disso, a temperatura pode ter efeito direto sobre o metabolismo de pequenos herbívoros, como algumas espécies de anfípodes, mudando processos fisiológicos (e.g. excreção de amônia e respiração) (Aarset & Aunaas 1990a, Gomes et al. 2014) e o comportamento alimentar (Ledet et al. 2018). De acordo com a teoria metabólica, é esperado que o aumento da temperatura acelere o metabolismo, aumentando os processos vitais (O'Connor 2009, Angilletta et al. 2002), como a alimentação. Alguns trabalhos mostram que anfípodes aumentam sua taxa de alimentação em temperaturas mais altas (O'Connor 2009,

Poore et al. 2013). No entanto, esse aumento metabólico deve ocorrer até um limite térmico, sendo que após atingido esse valor, o organismo pode apresentar comprometimento das funções metabólicas e, conseqüentemente, até a morte (Angilletta et al. 2002; Pörtner e Farrell 2008). Tal efeito varia entre as espécies de anfípodes, sendo que algumas são bem mais tolerantes do que outras (Tsoi et al. 2005, Passarelli et al. 2017, Ledet et al. 2018, Campbell et al. 2020).

Uma vez que o aumento da temperatura pode ter efeitos diretos e indiretos sobre os herbívoros, tal estressor pode alterar a força e a direção da interação entre macroalgas e seus consumidores (Poore et al. 2013, Endo et al. 2015, Sampaio et al. 2017), como já observado em sistemas terrestres (Bale et al. 2002; Zvereva & Kozlov 2006). A taxa de herbivoria é um dos moduladores das assembleias de macroalgas, uma vez que afeta o crescimento, a sobrevivência e o sucesso reprodutivo das mesmas (Verges et al. 2014; Poore et al. 2012, Franco et al. 2015). Ainda, os anfípodes são mesoherbívoros que causam grande impacto na comunidade de macroalgas (Gutow et al. 2020), portanto, mudanças na taxa de alimentação desses organismos podem alterar o controle *top-down* desempenhado pelos herbívoros (O'Connor 2009; Eklof et al. 2012, Carr & Bruno 2013, Sampaio et al. 2017), alterando a produtividade primária e secundária desses sistemas. Nesse sentido, para obter um entendimento mais robusto sobre como as mudanças no clima atuarão sobre as interações tróficas no ambiente marinho, é necessário investigar de forma simultânea os efeitos de tais mudanças nas espécies que participam dessas interações.

O objetivo desse trabalho foi compreender os efeitos do aumento da temperatura sobre a qualidade da macroalga como alimento e o comportamento alimentar de anfípodes herbívoros. Especificamente, nós perguntamos (1) Quais os efeitos do aumento da temperatura da água do mar no valor nutricional e nos compostos de defesa da macroalga *Sargassum filipendula*? (2) Como o aquecimento oceânico afeta direta e indiretamente (via alteração nas macroalgas) o comportamento alimentar de anfípodes herbívoros? Nós esperávamos que o aumento da temperatura afetasse a concentração de carbono, nitrogênio, razão C/N, proteínas, carboidratos, lipídeos e peso seco sem cinzas e defesas químicas, uma vez que a temperatura pode atuar sobre a produção e/ou degradação desses compostos nas macroalgas. Para os mesoherbívoros, esperávamos que eles fossem afetados direta e indiretamente (via alterações nas macroalgas) pela temperatura, aumentando assim o seu consumo alimentar como decorrência do aumento do metabolismo e do conteúdo nutricional das algas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e manutenção de organismos

Para os experimentos, usamos a macroalga parda *Sargassum filipendula* C. Agardh, pertencente a ordem Fucales (Ochrophyta), dominante no infralitoral da região de estudo (Széchy & Paula 2000, Jacobucci et al. 2009). As espécies de anfípodes modelo foram os mesoherbívoros *Cymadusa filosa* Savigny, 1816 e *Sunamphitoe pelagica* (Milne Edwards, 1830). Ambas as espécies pertencem a família Ampithoidae, são tubícolas (Barnard & Karaman 1991, Appadoo & Myers 2003) e abundantes em macroalgas na área de estudo (Machado et al. 2017; Machado et al. 2019b, Bueno & Leite 2019). *Cymadusa filosa* se distribui por uma variedade de espécies de macroalgas, como *Sargassum filipendula*, *Dichotomaria marginata* e *Padina gymonospora*, enquanto *S. pelagica* apresenta uma distribuição mais restrita a macroalgas do gênero *Sargassum* (Jacobucci & Leite 2014, Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b).

Os anfípodes e macroalgas usados no experimento foram coletados na Praia da Fortaleza (23°32'S, 45°10'W), município de Ubatuba, litoral norte de São Paulo (ver Capítulo 1 para detalhes sobre a área de estudo). Os anfípodes e macroalgas foram coletados, por meio de mergulho livre e transportados em caixas térmicas com gelo para o laboratório. Antes do transporte, ainda em campo, os anfípodes foram separados, de acordo com a espécie, em potes plásticos com água do mar. No laboratório, os anfípodes foram mantidos em aquários de cultura (20 L). As macroalgas foram lavadas para retirada de toda fauna associada e suas epífitas e mantidas em aquários de 60 litros. Nos aquários de cultura dos anfípodes e das macroalgas foi utilizado água do mar filtrada, aeração constante e salinidade controlada (35). A sala de cultura foi mantida sob fotoperíodo de 12h de claro 12h de escuro e temperatura de 22°C. Os anfípodes foram alimentados constantemente com frondes de *Sargassum filipendula* também amostradas na praia da Fortaleza. A cada 10 dias, os anfípodes eram transferidos para novos aquários com água do mar limpa para evitar a contaminação por patógenos e manter a qualidade das culturas.

Efeito da temperatura nas macroalgas

Para compreender o efeito do aumento da temperatura e do tempo de exposição a esse estressor sobre a composição química das frondes de *Sargassum filipendula*, foi realizado um experimento com o cultivo de macroalgas em laboratório. A quantificação de Carbono (C), Nitrogênio (N), Razão C/N, Peso seco sem cinzas, Proteínas Solúveis, Carboidratos Totais, Lipídeos Totais e Fenólicos foram usados como *proxy* para estimar o conteúdo nutricional e os compostos de defesas das macroalgas. Porções apicais (n=5 por tratamento) de cerca de 8 cm foram colocadas nas temperaturas de 25°C (controle) ou 30°C

(cenário de aumento de temperatura) durante 4 ou 7 dias, totalizando 4 tratamentos (25°C e 4 dias, 25°C e 7 dias, 30°C e 4 dias, 30°C e 7 dias). A temperatura controle (25°C) é a média aproximada da temperatura de todos os meses do ano (média calculada a partir dos dados do ibutton-Ver capítulo 1). Além disso, nessa temperatura, não são observadas alterações na composição química para o gênero *Sargassum* (Urrea-Victoria 2018), mostrando ser um controle adequado. A temperatura de 30°C foi escolhida de acordo com o aumento previsto pelo IPCC (2013) de cerca de 3°C. A temperatura média na região, nos meses mais quentes do ano é de 27°C (Ver capítulo 1). Portanto, consideramos um aumento de 3°C a partir das médias dos meses mais quentes, para ser uma representação efetiva de aumento térmico para aquela região. As frondes das macroalgas utilizadas no experimento foram lavadas sucessivamente em água do mar até que toda a fauna e os epibiontes fossem cuidadosamente removidos. A macroalga foi mantida nos aquários de cultura com meio de cultura Von Stoch (concentração 50%) por 7 dias para aclimação, antes do início do experimento. Não foram utilizadas macroalgas com flutuadores e porções reprodutivas para garantir que toda energia fotossintética da planta fosse alocada para o crescimento. Toda água utilizada no experimento foi filtrada e esterilizada por micro-ondas previamente. Os aquários experimentais foram mantidos dentro de câmaras germinadoras BOD (Lucadema®) para manter a temperatura controlada na faixa desejada durante todo o experimento. O fotoperíodo dentro da BOD foi de 12h (escuro/claro). A iluminação foi realizada com 4 lâmpadas frias (OSRAM®) de led “luz do dia”, 40w (cerca de 120 μmol de fótons/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}$), 5200K (Faria & Plastino 2016, Nauer et al. 2019), para estimular o crescimento e a fotossíntese das macroalgas. Após o final do experimento, as frondes de macroalgas foram congeladas e posteriormente secas em estufa com circulação de ar, a 40°C. O fim da secagem ocorreu quando não havia mais variação da massa da macroalga (cerca de 48 horas). As macroalgas secas foram maceradas em cadinho de porcelana com nitrogênio líquido até formarem um pó.

Para verificar se algum composto químico das macroalgas foi liberado na água durante o experimento, amostras de água do mar foram retiradas após o final do experimento (4 e 7 dias) e foi realizado uma análise do espectro de absorção usando uma microplaca de 96 poços com volume total de 300 microlitros. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Epoch 2 - Biotek), analisando a absorbância de 200 a 760nm (UV-visível), com intervalo de 2nm, utilizando o software Gen 5 (versão 2.09). Para quantificar C, N e C/N, foram separadas 40 mg de massa seca de macroalga e encaminhadas para Central Analítica da Química da Universidade de São Paulo. A análise foi realizada com um Analisador elementar (Perkin Elmer® 2400 series ii), baseado no método Pregl-Dumas, no qual as amostras sofrem combustão em uma atmosfera de oxigênio puro, e os gases resultantes são quantificados em um detector TDC (detector de condutividade térmica). Para calcular o peso seco livre de

cinzas (*ash free dry mass*) foi utilizado 40 mg de amostra seca de macroalga. As amostras foram colocadas em forno mufla a 600°C por 4 horas. O peso seco livre de cinzas foi calculado pela diferença do peso inicial e o peso após a mufla. Para avaliar proteínas, carboidratos e fenólicos, foram feitas extrações do material seco em metanol e água. A extração metanólica foi realizada com 80 mg de substrato seco, durante 3 horas. Os extratos aquosos foram feitos a partir de 10 mg de substrato seco, durante 3 horas em água fria (25°C). Em seguida, foi realizada uma nova extração desse material durante 3h em água quente (70°C). Após cada extração, as amostras foram centrifugadas a 12000 rpm por 15 minutos, o sobrenadante foi retirado e o fundo descartado.

Para análise de fenólicos, foi aplicado o método colorimétrico de redução de Folin-Ciocalteu, adaptado de Pires et al. (2017), Singleton & Rossi (1965) e Waterman & Mole (1994). Após adição de Folin-Ciocalteu 2N (Sigma-Aldrich®) e carbonato de cálcio, as amostras foram incubadas por 30 minutos no escuro. Na sequência, as absorbâncias foram lidas no espectrofotômetro com comprimento de onda único (760nm). A concentração de fenólicos foi estimada a partir da construção de uma curva padrão ($y=0,0711x-0,05$; $R^2=0,9945$), utilizando concentrações seriadas (0, 5, 10, 15, 25, 30, 35, 40 µg/ml) de floroglucinol. Também foi realizado uma análise dos espectros de absorção dos extratos metanólicos, semelhante a análise da água do experimento, porém analisando apenas no espectro do ultravioleta (200-400nm). A quantificação de proteínas solúveis foi realizada pelo método de Bradford (1976) usando Bio-Rad. A concentração de proteínas foi calculada a partir da construção de curva padrão ($y= 0,0277x + 0,0405$; $R^2=0,9907$) utilizando albumina (BSA) em concentrações conhecidas (0, 2, 4, 8, 16, 32 µg/mL). Já a quantificação de carboidratos totais foi feita com fenol-ácido sulfúrico, de acordo com o método de Masuko et al. (2005). Após a adição de ácido sulfúrico concentrado, as amostras foram encubadas por 25 minutos no interior da capela. Em seguida, foi adicionado fenol e as amostras foram encubadas por mais 5 minutos a 90°C e, na sequência, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro com comprimento de onda único (490nm). A concentração de carboidratos foi estimada a partir da curva padrão ($y=0,0098x+0,0208$; $R^2=0,9914$) utilizando Fucose em concentrações conhecidas (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180, 195, 210, 240 µg/mL). Para a quantificação adequada das concentrações (µg.mL⁻¹) de proteínas, carboidratos e fenólicos, foi calculada a diferença entre as absorbâncias das amostras e do branco controle. O branco foi estimado para cada composto a partir da leitura da absorbância de poços que continham os mesmos reagentes utilizados para cada análise, mas sem adição das amostras (volume substituído por água miliQ). A quantidade dos compostos encontrada nos tecidos das macroalgas foi expressa como porcentagem, através do cálculo do equivalente desses

compostos em relação ao peso seco da macroalga utilizada no extrato e o volume total do poço.

Para lipídeos totais, foi utilizado 300 mg de massa seca extraídos em clorofórmio/metanol (proporção 2:1). Foram realizadas três extrações, sendo a primeira *overnight* e as duas últimas com 2h30 cada, seguindo protocolo adaptado de Santos et al. (2019). Após as extrações, os extratos foram colocados durante 10 minutos na ultracentrífuga a 12000 rpm. A fração sobrenadante com metanol foi descartada, e a fração clorofórmio e lipídeos foi colocada em estufa com circulação de ar, a 40°C, por 62h (quando não foi mais verificado alteração de massa). Após a secagem, as amostras foram pesadas em balança analítica (precisão: 0,0001g) e foi calculada a porcentagem de lipídeos em relação ao peso seco inicial das macroalgas. Todas as análises de conteúdo nutricional (exceto compostos elementares) e compostos de defesa foram realizados no Laboratório de Macroalgas Marinhas (LAM) da Universidade de São Paulo.

Para descrever a composição química da macroalga em condições naturais e após aclimação em laboratório, a partir das frondes coletadas para o experimento, algumas foram congeladas imediatamente após a coleta (n=5) (padrão de campo) e outras, após a aclimação no laboratório (n=5) (padrão pós aclimação). Para tais amostras, foram realizadas as mesmas análises químicas usadas para as frondes do experimento. Para descrição do padrão de campo e pós aclimação, ver Material Suplementar (Tabela S1).

Para verificar se a composição química das macroalgas variava entre os tratamentos, para cada composto (Carbono, Nitrogênio, Razão C/N, Peso seco sem cinzas, Proteínas Solúveis, Carboidratos Totais, Lipídeos Totais e Fenólicos) foram realizadas análises *Generalized Linear Model* (GLM) usando modelo quasi-binomial (dados de proporção), com dois fatores: temperatura (fixo, 2 níveis: 25 e 30°C) e tempo (fixo, 2 níveis: 4 e 7 dias).

Efeito da temperatura no comportamento de anfípodes

Para testar os efeitos diretos e indiretos (via mudança nos tecidos das macroalgas) das mudanças da temperatura sobre o comportamento alimentar dos anfípodes, foi realizado um experimento em laboratório avaliando o consumo alimentar em diferentes temperaturas. Anfípodes (n=20 por espécie e tratamento) foram individualizados em béqueres com água do mar filtrada e colocados em duas temperaturas (25°C e 30°C). Os folíolos de *Sargassum filipendula*, utilizados para alimentar os anfípodes, foram cultivados previamente nas temperaturas de 25°C e 30°C por 4 dias. O experimento apresentou 4 tratamentos: anfípodes em 25°C alimentados com macroalgas cultivadas também em 25°C, anfípodes em 25°C

alimentados com macroalgas cultivadas em 30°C, anfípodes em 30°C alimentados com macroalgas cultivadas em 25°C, anfípodes em 30°C alimentados com macroalgas cultivadas em 30°C. Somente anfípodes adultos, oriundos das culturas de laboratório, foram usados no experimento. Fêmeas com filhotes ou ovos desenvolvidos no marsúpio não foram utilizados pois essa variável poderia alterar a taxa de consumo das macroalgas.

O peso úmido dos folíolos foi obtido em balança analítica (precisão 0,0001 g) após eles repousaram por 10s em papel absorvente. Os folíolos utilizados no experimento tinham o peso úmido entre 90 e 110 mg. Para controlar possíveis alterações naturais na biomassa das macroalgas que não são decorrentes da herbivoria (e.g. respiração, fotossíntese), folíolos de macroalgas (n=20) foram mantidos nas condições de cada tratamento, mas sem anfípodes (controle). O peso inicial corrigido foi calculado pela equação: $H0' = H0 * Cf / C0$, onde $H0$ é o peso inicial da macroalga sujeita ao consumo por anfípode, $C0$ é peso inicial da macroalga no controle e Cf , o peso final da macroalga no controle (Cronin & Hay 1996). O consumo das macroalgas foi considerado como a diferença entre o peso inicial corrigido e o peso final (após 60h de consumo). Após o final do experimento, os anfípodes foram sacrificados e seu tamanho foi medido por meio de análises de imagens digitais utilizando o software AxioVision (Versão 4.8.2/2010). O tamanho de *S. pelagica* variou entre 5,68 e 17,47 mm e de *C. filosa* variou entre 10,57 e 20,56 mm. Réplicas nas quais os anfípodes morreram durante o experimento foram desconsideradas. O número final de réplicas para cada tratamento está indicado nas legendas das suas respectivas figuras.

Para verificar se a taxa de alimentação variou entre os tratamentos, foi realizado uma Análise de Covariância (ANCOVA), para cada espécie considerando: temperatura na qual o anfípode foi submetido (fator fixo, 2 níveis: 25°C e 30°C), temperatura de cultivo da macroalga (fator fixo, 2 níveis: 25°C e 30°C) e tamanho dos anfípodes (variável contínua). Os dados foram transformados em $\log(x+1)$ para atenderem aos pressupostos de normalidade e homocedasticidade da análise. Todas as análises desse trabalho foram realizadas utilizando o R 3.6.3 (R Core Team 2020).

RESULTADOS

Efeito da temperatura nas macroalgas

Foram observadas mudanças na coloração da água do aquário ao longo do experimento (tons amarelados), indicando a eliminação de compostos da macroalga. A leitura do espectro de absorção das amostras de água do mar do experimento indicou bandas de absorbância somente na faixa do ultravioleta (200-400nm), apresentando picos de

absorbância entre 210 e 240nm para todos os tratamentos. Picos nessa faixa de absorção indicam compostos fenólicos. No entanto, a absorbância nessa faixa, para a temperatura de 25°C, foi 4 vezes maior do que na temperatura de 30°C (Figura 1). Ainda, foi observado grande quantidade de folíolos soltos no aquário, principalmente no tratamento com 30°C, indicando degradação dos tecidos das macroalgas (Figura S1- Material Suplementar).

A concentração de nitrogênio e o peso seco sem cinzas (*ash free dry mass*) dos tecidos das macroalgas não variaram entre os diferentes tratamentos (GLM, Tabela 1). Já a quantidade de carbono e a razão carbono/nitrogênio variaram com a temperatura e o tempo de experimento (GLM, Tabela 1). A quantidade de carbono e a razão C/N foram maiores em 4 dias e em 25 °C. (Tabela 2). A quantidade de fenólicos variou com a temperatura e o tempo do experimento tanto para o extrato metanólico como para o aquoso (GLM, Tabela 1). As maiores concentrações foram observadas em 4 dias e em 30°C (Tabela 2). A análise do espectro de absorção (scan) dos fenólicos das amostras, indicou três bandas de absorção, sendo um pico elevado de absorção entre 210 e 240 (semelhante ao scan para as amostras de água do mar), um pequeno pico entre 260-275 e um pico grande também entre 370 e 400nm (Figura 2). Para proteínas solúveis, foi observado o efeito apenas da temperatura em ambos os extratos (GLM, Tabela 1), sendo que em 30°C a quantidade de proteína nos tecidos foi maior que em 25°C (Tabela 2). Os carboidratos foram influenciados pela interação do tempo com a temperatura (GLM, Tabela 1). Na temperatura de 30°C, a quantidade de carboidrato foi maior em 7 dias do que em 4 dias, para ambos os extratos. No entanto, na temperatura de 25°C, encontramos uma diferença entre os extratos analisados. Para o extrato metanólico, a quantidade de carboidrato foi maior em 7 dias do que em 4 dias e o padrão inverso foi observado para o extrato aquoso (Tabela 2). A concentração de lipídeos variou apenas ao longo do experimento (GLM, Tabela 1), sendo que em 4 dias a quantidade de lipídeos foi duas vezes maior do que em 7 dias (Tabela 2).

Tabela 1- Análises de desvios para GLM com distribuição quasi-binomial para carbono, nitrogênio, razão C/N, fenólico, proteína, carboidratos, lipídeos e peso seco sem cinzas para as macroalgas cultivadas nas temperaturas de 25°C e 30°C, durante 4 e 7 dias. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de Variação	g.l.	Desvio	g.l. Resíduo	Resíduos do desvio	p
<i>Carbono</i>					
Null			19	1,25x10 ⁻²	
Tempo	1	4,60x10 ⁻³	18	7,92x10 ⁻³	0,0002

Temperatura	1	$2,45 \times 10^{-3}$	17	$5,47 \times 10^{-3}$	0,0074
Tempo x Temperatura	1	$5,3 \times 10^{-6}$	16	$5,46 \times 10^{-3}$	0,9009

Nitrogênio

Null			19	$3,55 \times 10^{-3}$	
Tempo	1	$4,79 \times 10^{-4}$	18	$3,07 \times 10^{-3}$	0,0858
Temperatura	1	$4,79 \times 10^{-4}$	17	$2,59 \times 10^{-3}$	0,0858
Tempo x Temperatura	1	$5,08 \times 10^{-5}$	16	$2,54 \times 10^{-3}$	0,0758

C/N

Null			19	$4,95 \times 10^{-2}$	
Tempo	1	$1,28 \times 10^{-2}$	18	$3,66 \times 10^{-2}$	<0,0051
Temperatura	1	$9,81 \times 10^{-3}$	17	$2,67 \times 10^{-2}$	<0,0144
Tempo x Temperatura	1	$7,49 \times 10^{-2}$	16	$2,61 \times 10^{-2}$	0,4985

Fenólico (metanólico)

Null			19	$1,06 \times 10^{-1}$	
Tempo	1	$7,02 \times 10^{-2}$	18	$3,58 \times 10^{-2}$	<0,0001
Temperatura	1	$9,36 \times 10^{-3}$	17	$2,68 \times 10^{-2}$	0,0089
Tempo x Temperatura	1	$4,34 \times 10^{-3}$	16	$2,21 \times 10^{-2}$	0,0748

Fenólico (aquoso)

Null			19	$9,20 \times 10^{-4}$	
Tempo	1	$6,06 \times 10^{-4}$	18	$3,14 \times 10^{-4}$	<0,0001
Temperatura	1	$8,05 \times 10^{-5}$	17	$2,34 \times 10^{-4}$	<0,0095
Tempo x Temperatura	1	$4,02 \times 10^{-5}$	16	$1,94 \times 10^{-4}$	0,0667

Proteína (metanólico)

Null			19	$1,11 \times 10^{-2}$	
Tempo	1	$9,37 \times 10^{-4}$	18	$1,01 \times 10^{-2}$	0,1643
Temperatura	1	$2,10 \times 10^{-3}$	17	$8,09 \times 10^{-3}$	0,0372
Tempo x Temperatura	1	$5,06 \times 10^{-4}$	16	$7,58 \times 10^{-3}$	0,3066

Proteína (aquoso)

Null			19	$8,97 \times 10^{-3}$	
------	--	--	----	-----------------------	--

Tempo	1	$1,14 \times 10^{-4}$	18	$8,85 \times 10^{-3}$	0,5908
Temperatura	1	$2,05 \times 10^{-3}$	17	$6,79 \times 10^{-3}$	0,0222
Tempo x Temperatura	1	$3,48 \times 10^{-4}$	16	$6,45 \times 10^{-3}$	0,3466

Carboidrato (metanólico)

Null			19	$4,12 \times 10^{-1}$	
Tempo	1	$2,37 \times 10^{-1}$	18	$1,75 \times 10^{-1}$	<0,0001
Temperatura	1	$1,27 \times 10^{-1}$	17	$7,81 \times 10^{-2}$	<0,0001
Tempo x Temperatura	1	$1,87 \times 10^{-2}$	16	$2,94 \times 10^{-2}$	0,0016

Carboidrato (aquoso)

Null			19	$1,79 \times 10^{-1}$	
Tempo	1	$1,89 \times 10^{-2}$	18	$1,60 \times 10^{-1}$	0,0009
Temperatura	1	$8,45 \times 10^{-2}$	17	$7,51 \times 10^{-1}$	<0,0001
Tempo x Temperatura	1	$4,77 \times 10^{-2}$	16	$2,75 \times 10^{-1}$	<0,0001

Lipídeos Totais

Null			19	$4,32 \times 10^{-1}$	
Tempo	1	$1,11 \times 10^{-1}$	18	$3,21 \times 10^{-1}$	0,0175
Temperatura	1	$6,05 \times 10^{-3}$	17	$3,20 \times 10^{-1}$	0,8609
Tempo x Temperatura	1	$2,59 \times 10^{-3}$	16	$3,20 \times 10^{-1}$	0,9088

Peso seco sem cinzas

Null			19	$8,37 \times 10^{-1}$	
Tempo	1	$1,22 \times 10^{-2}$	18	$8,25 \times 10^{-1}$	0,5711
Temperatura	1	$2,96 \times 10^{-2}$	17	$7,96 \times 10^{-1}$	0,3771
Tempo x Temperatura	1	$1,19 \times 10^{-1}$	16	$6,77 \times 10^{-1}$	0,0767

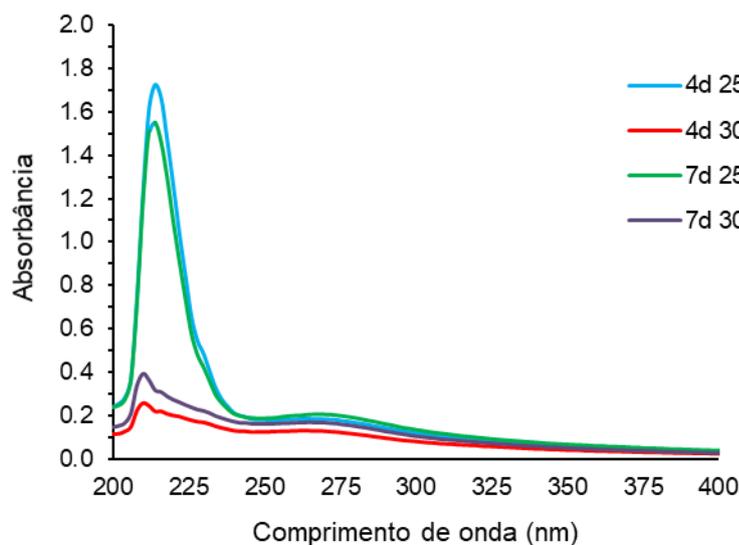


Figura 1- Análise do espectro de absorção (200-400nm) das amostras de água do mar dos aquários de cultivo das macroalgas nas temperaturas de 25 e 30°C durante 4 e 7 dias de experimento.

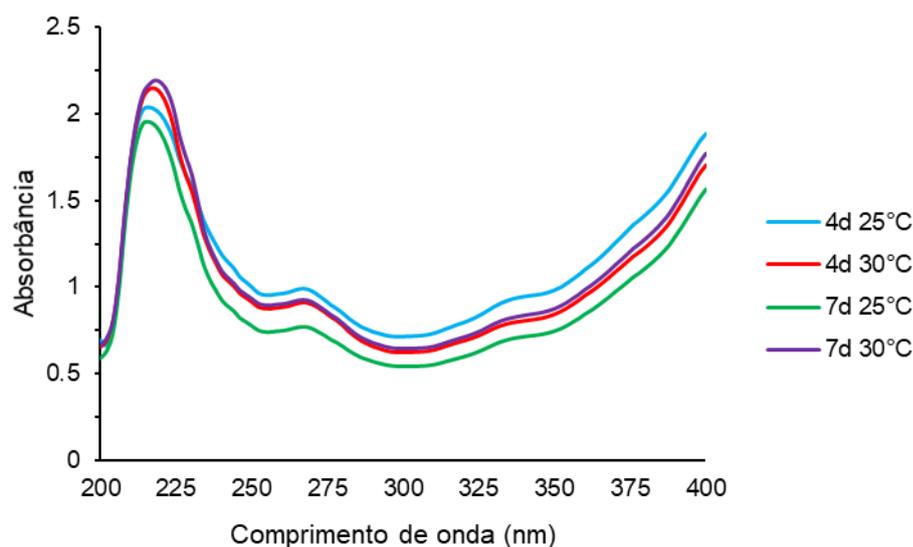


Figura 2- Análise do espectro de absorção (200-400nm) das amostras de macroalgas cultivadas nas temperaturas de 25 e 30°C durante 4 e 7 dias de experimento.

Tabela 2- Concentração (média \pm erro padrão) dos compostos carbono, nitrogênio, razão C/N, fenólicos, proteína, carboidratos, lipídeos e peso seco sem cinzas (em %) para os tecidos das macroalgas após aclimação em laboratório e nas macroalgas cultivadas nas temperaturas de 25°C e 30°C, durante 4 e 7 dias. Para fenólico, proteína e carboidrato, tipo de extração está indicado entre parênteses.

Composto analisado	25°C	30°C	25°C	30°C
	4 dias	4 dias	7 dias	7 dias
Carbono	27,14 ± 0,19	26,19 ± 0,12	25,83 ± 0,22	24,83 ± 0,64
Nitrogênio	1,64 ± 0,05	1,80 ± 0,06	1,80 ± 0,05	1,89 ± 0,12
C/N	16,69 ± 0,64	14,61 ± 0,64	14,38 ± 0,36	13,32 ± 0,92
Fenólico (metanólico)	16,28 ± 0,30	15,61 ± 0,69	13,01 ± 0,20	10,69 ± 0,78
Fenólico (aquoso)	7,07 ± 0,10	6,98 ± 0,09	5,53 ± 0,26	5,95 ± 0,27
Proteína (metanólico)	3,39 ± 0,25	3,96 ± 0,13	3,83 ± 0,22	4,05 ± 0,08
Proteína (aquoso)	1,57 ± 0,07	1,73 ± 0,15	1,14 ± 0,12	1,77 ± 0,10
Carboidrato (metanólico)	15,33 ± 0,25	23,77 ± 0,90	26,29 ± 1,33	31,42 ± 0,44
Carboidrato (aquoso)	15,56 ± 0,67	16,55 ± 0,66	13,97 ± 0,37	22,77 ± 1,03
Lipídeos Totais	5,43 ± 1,82	5,02 ± 0,25	2,40 ± 1,05	2,40 ± 1,02
Peso seco sem cinzas	19,55 ± 1,82	29,52 ± 3,89	28,32 ± 0,80	25,06 ± 6,23

Efeito da temperatura no comportamento de anfípodes

Os dois mesoherbívoros apresentaram respostas distintas frente ao aumento da temperatura. *Cymadusa filosa* teve seu consumo alimentar influenciado pela interação entre a temperatura do ambiente e a temperatura de cultivo das macroalgas (Ancova, Tabela 3). O consumo foi reduzido apenas quando *C. filosa* estava em 30°C e foi alimentada com macroalgas criadas nessa mesma temperatura (Figura 3). Já a alimentação do *S. pelagica* foi influenciada pela temperatura do ambiente e pela temperatura de cultivo da macroalga (Ancova, Tabela 3). Quando *S. pelagica* foi mantido em temperatura mais alta, ele aumentou seu consumo de algas em 50% (Figura 4a). Já quando a macroalga foi criada na maior temperatura, observamos uma redução do consumo de macroalga em cerca de 36% (Figura 4b). Para ambos os herbívoros, não foi observada influência do tamanho dos anfípodes na taxa de alimentação (Ancova, Tabela 3).

Tabela 3- Ancova para o consumo alimentar de *Cymadusa filosa* e *Sunamphitoe pelagica*, com relação a temperatura de exposição do anfípode durante a alimentação, temperatura de cultura das macroalgas e o tamanho dos anfípodes utilizados no experimento. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de Variação	gl	QM	F	p
-------------------	----	----	---	---

<i>Cymadusa filosa</i>				
Temperatura ambiente (Temp amb)	1	0,0024	3,762	0,0567
Temperatura macroalga (Temp macroalga)	1	0,0038	5,926	0,0176
Tamanho (Tam)	1	0,0008	1,300	0,2583
Temp amb x Tam	1	0,0001	0,229	0,6336
Temp macroalga x Tam	1	<0,0001	<0,0001	0,9988
Temp amb x Temp macroalga	1	0,0052	8,092	0,0059
Temp amb x Temp macroalga x Tam	1	0,0005	0,777	0,3814
Resíduo	66	0,0006		
<i>Sunamphitoe pelagica</i>				
Temperatura ambiente (Temp amb)	1	0,0008	7,451	0,0082
Temperatura macroalga (Temp macroalga)	1	0,0005	4,375	0,0403
Tamanho (Tam)	1	7,4x10 ⁻⁶	0,069	0,7941
Temp amb x Tam	1	0,0002	2,702	0,1050
Temp macroalga x Tam	1	2,8x10 ⁻⁵	0,263	0,6098
Temp amb x Temp macroalga	1	0,0002	1,838	0,1799
Temp amb x Temp macroalga x Tam	1	2,6x10 ⁻⁵	0,244	0,6233
Resíduo	65	0,0001		

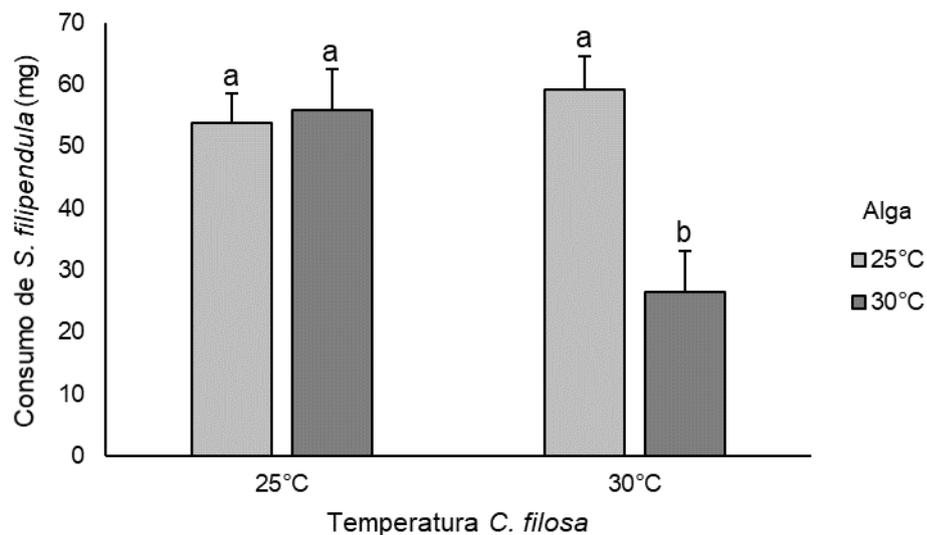


Figura 3- Consumo de *Sargassum filipendula* (em mg) por *Cymadusa filosa*. Letras diferentes entre barras indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Em 25°C, $n=19$, já em 30°C $n=18$ para macroalgas criadas em 25°C e $n=17$ para macroalgas criadas em 30°C.

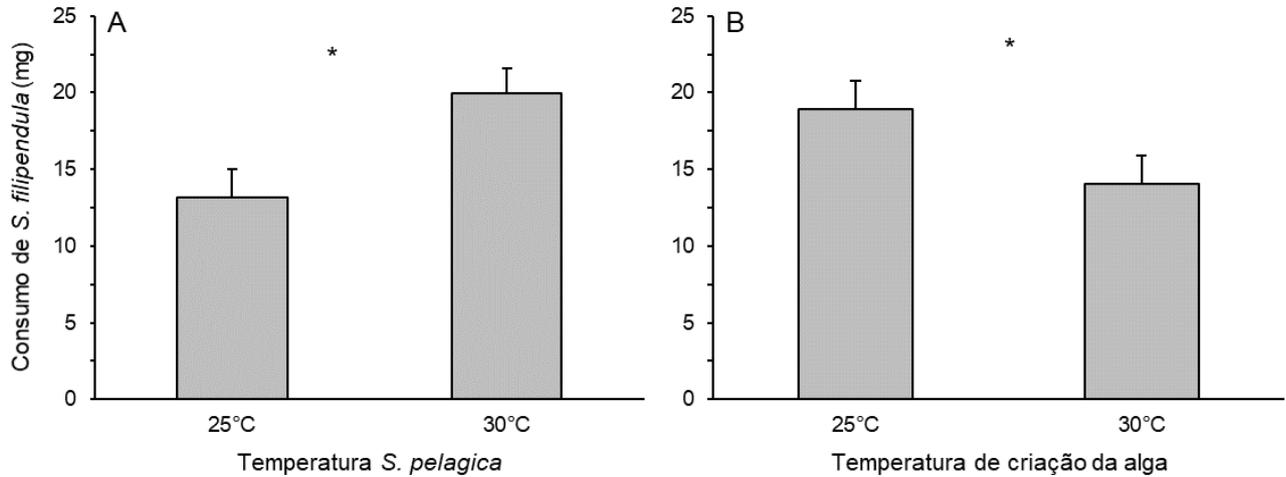


Figura 4- Consumo de *Sargassum filipendula* por *Sunamphitoe pelagica* em diferentes temperaturas (A) e com macroalgas criadas em diferentes temperaturas (B). * = indica diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Para gráfico (A), em 25°C $n=39$, em 30°C $n=34$. Para gráfico (B), em 25°C $n=35$, em 30°C $n=38$.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que a temperatura é um estressor ambiental que afeta a composição química da macroalga parda *Sargassum filipendula*. Esse efeito também é influenciado pelo tempo de exposição. Ainda, observamos que a temperatura afeta a taxa alimentar dos anfípodes. No entanto, efeitos distintos foram observados para *Sunamphitoe pelagica* e *Cymadusa filosa*. Esses resultados reforçam que as mudanças no clima podem alterar a força da interação entre herbívoros e macroalgas.

Efeito da temperatura nas macroalgas

A temperatura e o tempo de exposição afetaram o conteúdo nutricional da macroalga *S. filipendula*. Com relação aos compostos elementares, não foi observado variação na quantidade de nitrogênio dos tecidos entre os tratamentos. Já o carbono e a razão C/N reduziram com o aumento da temperatura e esse efeito foi maior nas macroalgas expostas por 7 dias. A ausência de efeito da temperatura sobre o nitrogênio também já foi observada para as espécies *Sargassum yezoense* (Endo et al. 2015) e *S. linearifolium* (Poore et al. 2013) e para as macroalgas vermelhas do gênero *Porphyra* (Kim et al. 2007). No entanto, o tempo de exposição ao estressor ambiental pode ser um fator importante nesse efeito, uma vez que

trabalhos com resultados semelhantes ao nosso também utilizaram tempos experimentais parecidos (8 a 10 dias). Já trabalhos com tempo experimental maior encontraram efeito da temperatura sobre a concentração de nitrogênio nos tecidos das macroalgas *S. linearifolium* e *S. podacanthum* (Bui et al. 2018). Dessa forma, a temperatura parece afetar primeiramente o conteúdo de carbono, sendo o conteúdo de nitrogênio afetado somente em exposições mais longas. No entanto, esses resultados diferem do observado para as macroalgas *Saccharina latíssima*, *Eklonia radiata* e *Eisenia arborea*, que apresentaram redução da quantidade de nitrogênio com o aumento da temperatura, independentemente do tempo experimental (Matson & Edwards 2007, Staehr & Wernberg 2009, Olischläger et al. 2014, Simonsen et al. 2015). Ainda, nossos resultados para carbono e razão C/N diferem de outros trabalhos que não encontraram efeito da temperatura sobre esses compostos para macroalgas (Hay et al. 2010, Poore et al. 2013, Simonson et al. 2017, Phelps et al. 2017). Efeitos semelhantes aos nossos só foram observados em cenários sinérgicos, no qual o aumento da temperatura foi combinado com a redução do pH (Phelps et al. 2017). Outros estudos observaram um resultado oposto ao nosso, sendo que o aumento da temperatura levou ao aumento da razão C/N para a macroalga vermelha *Laurencia brongniartii* (Phelps et al. 2017) e para o kelp *E. radiata* (Staehr & Wernberg 2009). A concentração de carbono, nitrogênio e a razão C/N são um *proxy* para a palatabilidade das macroalgas (Cruz-Riveira & Hay 2000; Hemmi & Jormalainen 2002). A concentração elevada de nitrogênio favorece a palatabilidade em macroalgas pardas (Nicotri 1980, Duffy & Hay 1991), enquanto o carbono tem um efeito contrário (Staehr & Wernberg 2009). Nesse sentido, a razão C/N mais baixa indica maior qualidade nutricional das macroalgas, já que o nitrogênio é um nutriente limitante para herbívoros (Van Alstyne et al. 2009). Embora não tenha sido observado aumento da concentração de nitrogênio, a redução do carbono e da razão C/N pode ser um indicativo que em temperaturas elevadas *S. filipendula* apresente um valor nutricional maior para os herbívoros.

O peso seco sem cinzas não variou com a temperatura e nem com o tempo de exposição. Esse resultado difere de outros estudos que encontraram uma redução significativa desse composto em relação ao aumento da temperatura (Bui et al. 2018, Urrea-Victoria 2018). Para macroalgas do gênero *Sargassum* foi possível observar a redução do peso seco sem cinzas em 15 dias de experimento (Bui et al. 2018) e, para a macroalga vermelha *Porphyra spiralis* já foi possível observar essa redução em 7 dias (Urrea-Victoria 2018). *Sargassum filipendula* apresentou cerca de 20 a 30% de peso seco sem cinzas, semelhante a outros trabalhos com o gênero, como *S. echinocarpum* (32%) (Mc Dermitt et al. 2007), *S. crassifolium* (19,64%) (Salosso 2019), *S. cristaefolium* (17,60%) (Salosso 2019), *S. ilicifolium* (30%) (Rohani-Ghadikolaei et al. 2012) e *S. polycystum* (16,19%) (Salosso 2019). Já

a concentração de lipídeos não variou com a temperatura, como também foi observado para a macroalga *Desmarestia menziessi* (Schram et al. 2017). Já para a *Desmarestia anceps* foi observado um efeito da temperatura somente quando combinado com a acidificação da água do mar (Schram et al. 2017). De maneira geral, macroalgas marinhas apresentam baixas concentrações de lipídeos (Polat & Ozogul 2013, Rohani-Ghadikolaei et al. 2012, Kailas & Nair 2015). A concentração de tal composto variou de 2 a 5% nas macroalgas do nosso experimento. Esse valor é semelhante para outros estudos realizados com *Sargassum* (Mc Dermid & Stuercke 2003, Mc Dermid et al. 2007, Diniz et al. 2011, Santos et al. 2019). Embora ocorram em baixa concentração, lipídeos são essenciais para os organismos, principalmente como compostos de reserva e componentes estruturais de membranas (Eyster 2007). Nosso experimento observou uma redução da quantidade de lipídeos apenas com o tempo do experimento, o que pode ser uma consequência da deterioração das membranas dos folíolos das macroalgas ao longo do experimento.

Com relação às proteínas, foi observado um aumento da concentração em resposta ao aumento da temperatura. Esse resultado também foi encontrado para o mesmo gênero (Bui et al. 2018) e para macroalga vermelha *P. spiralis* (Urrea-Victoria 2018). O aumento da temperatura pode gerar estresse e dano celular para as macroalgas (Eggert et al. 2012). Nessas situações, esses organismos podem realizar mudanças transcricionais em resposta ao estresse (Kim et al. 2011), aumentando a produção de proteínas de choque térmico (*heat shock protein*) para minimizar ou reparar danos (Lewis et al. 2001). No entanto, mesmo com esse aumento, o teor de proteína encontrado foi baixo (variou entre 1,5 e 4% do peso seco). De maneira geral, a quantidade de proteínas é menor em macroalgas pardas do que macroalgas verdes e vermelhas (Rohani-Ghadikolaei et al. 2012, Burtin 2013, Kailas & Nair 2015). Ainda assim, os valores de proteína encontrados no presente estudo estão abaixo do observado para macroalgas pardas (variação entre 8 e 12%) (Rohani-Ghadikolaei et al. 2012, Peng et al. 2013, Kailas & Nair 2015, Salosso 2019). A baixa quantidade de proteínas encontradas pode ser consequência de a formação de proteínas ser limitada pela disponibilidade de nitrogênio (Kim et al. 2007), que nesse trabalho não teve sua concentração alterada diante do aumento da temperatura.

Para carboidratos, nós observamos respostas distintas de acordo com o método utilizado. Nos extratos metanólicos, a concentração de carboidratos foi maior em 7 dias, independente da temperatura. Resultado semelhante também foi encontrado para *Sargassum stenophyllum* com 7 dias de experimento a 30°C (Urrea-Victoria 2018). Já no extrato aquoso, a concentração de carboidrato foi maior em 4 dias a 25°C e em 7 dias a 30°C. Carboidratos são importantes componentes dos tecidos das macroalgas, pois são fonte de energia para processos metabólicos e fisiológicos como a respiração. Em temperaturas altas, as

macroalgas fazem maior quantidade de fotossíntese (Brown et al. 2004), o que pode favorecer o acúmulo de carbono e a formação de carboidrato de reserva (Zou & Gao 2013). Isso pode explicar a maior quantidade de carboidrato em 7 dias de experimento. Anastasakis et al. (2011) também reportaram um incremento de carboidratos na macroalga parda *Laminaria* sp. em resposta a altas temperaturas. Já no extrato aquoso, a 25°C, o carboidrato foi maior em 4 dias. As diferenças encontradas provavelmente são em função do método de extração, uma vez que o extrato aquoso é realizado em altas temperaturas (70°C), sendo capaz de extrair carboidratos de parede celular (e.g. alginatos). A menor concentração em 7 dias de experimento deve ser consequência da redução dos carboidratos de parede que se deterioram ao longo do experimento. Os carboidratos foram os macronutrientes com maior concentração em *S. filipendula*, chegando a 32% do peso seco. Esse valor foi bem acima do encontrado para a espécie *S. echinocarpum* (cerca de 10%) (Mc Dermitt et al. 2017) e bem menor do que as espécies *S. crassifolium*, *S. cristaefolium* e *S. polycystum* (cerca de 50%) (Salosso 2019), indicando elevada variação na quantidade de carboidratos entre espécies do mesmo gênero. No entanto, essas concentrações são bem menores do que o observado para macroalgas verdes como as do gênero *Ulva* que variam entre 60 a 65% (Ortiz et al. 2006, Rohani-Ghadikolaei et al. 2012).

A temperatura e o tempo de exposição também afetaram a concentração de fenólicos nos tecidos das macroalgas. A maior concentração de fenólicos foi encontrada na temperatura mais alta e em 7 dias de experimento. Esse resultado difere de outros trabalhos que mostram que a concentração de florotaninos não é influenciada pela temperatura para outras espécies do mesmo gênero (Hay et al. 2010, Poore et al. 2013, Endo et al. 2013, Endo et al. 2015, Phelps et al. 2017) e nem para a macroalga coralina *Jania rubens* (Rich et al. 2018). Ainda, esse resultado difere do observado em outros trabalhos que reportaram a redução dos compostos fenólicos com o aumento da temperatura para a macroalga vermelha *L. brongniartii* (Phelps et al. 2017) e para os kelps *Agarum clathratum* (Simonson et al. 2017) e *Fucus vesiculosus* (Weinberger et al. 2011). Esses resultados mostram que mesmo espécies muito próximas filogeneticamente podem responder de maneira distinta ao mesmo estressor ambiental, uma vez que o ótimo térmico é característico de cada espécie (Somero 2010). Macroalgas pardas apresentam grande quantidade de substâncias fenólicas, com destaque para os florotaninos (Blunt et al. 2014). A quantidade de fenólicos variou entre 5 e 17% do peso seco em *S. filipendula*, valores semelhantes ao encontrado para outras espécies do mesmo gênero (Hay et al. 2010, Poore et al. 2013). Compostos fenólicos são importantes substâncias que atuam no metabolismo das plantas, tendo papel importante como antioxidantes (Wang et al. 2009) e defesa anti-herbivoria (Hay & Fenical 1988, Pavia et al. 1997, Amsler & Fairhead 2005). Devido a ação antioxidante, os florotaninos são abundantes

na região do ultravioleta, desempenhando um papel de fotoproteção nas macroalgas pardas (Pavia et al. 1997, Schmitz et al. 2018). Nos espectros de absorção de fenólicos das nossas amostras, encontramos 3 picos nessa região (pico entre 210-240nm, pico em 260-270 nm, pico em 370-400nm). Sendo que a primeira faixa de absorção indica taninos, flavonóides e ácidos fenólicos (Ferrerres et al. 2012, Abirami & Kowsalya 2016, Chakraborty & Joseph 2016), a segunda indica taninos e flavonóides (López et al. 2011, Ferreres et al. 2012) e a terceira, apenas flavonóides (López et al. 2011, Abirami & Kowsalya 2016).

A análise das amostras de água do mar também mostrou absorção somente na faixa do ultravioleta, com picos entre 210 e 240 nm. A mudança observada visualmente na coloração da água do aquário experimental, que adquiriu tons amarelados, reforça que ocorreu eliminação de compostos químicos pela macroalga, como observado em outros estudos com o gênero *Sargassum* (Polo et al. 2014, Urrea-Victoria 2018). No entanto, essa mudança na coloração não pode ser atribuída aos compostos fenólicos, pois no presente trabalho foi observado uma redução do pico de absorbâncias nas amostras de 30°C, indicando uma redução da concentração de fenólicos eliminados na água do mar do aquário, comparado com a temperatura de 25°C. Esse resultado reforça o encontrado para as amostras de macroalgas. Em altas temperaturas, *S. filipendula* concentra os fenólicos em seus tecidos, reduzindo a liberação na água, o que torna o tecido mais impalatável. Portanto, a maior quantidade de fenólicos em 30°C indica que o aumento da temperatura pode alterar a palatabilidade das macroalgas (Sudatti et al. 2011), o que pode influenciar o consumo por herbívoros. Por fim, nossos resultados para a macroalga *Sargassum filipendula* indicam que as mudanças no clima podem levar ao aumento da palatabilidade dos tecidos ao reduzir a razão C/N e aumentar a quantidade de proteínas, ao mesmo tempo que o aumento da concentração de fenólicos pode reduzir a palatabilidade, sendo necessário avaliar como os herbívoros respondem a essas mudanças conjuntas.

Efeito da temperatura no comportamento de anfípodes

Nossos resultados mostram que anfípodes respondem de maneira distinta ao aumento da temperatura. *Sunamphitoe pelagica* aumenta sua taxa de consumo quando a temperatura ambiente aumenta. No entanto, seu consumo é menor quando alimentado com macroalgas criadas em temperatura elevada. Esses resultados mostram que *S. pelagica* é afetado direta e indiretamente (via mudanças nos tecidos das macroalgas) pela temperatura. Esse resultado difere do encontrado para outros anfípodes (O'Connor 2009, Phelps et al. 2017), inclusive para seu congênere *S. parmerong*, que não foi afetado pela temperatura ambiente, somente pelas mudanças nos tecidos das macroalgas (Poore et al. 2013). No entanto, esses autores

manipularam a temperatura junto com a acidificação (Poore et al. 2013). Essa combinação de estressores ambientais pode influenciar no resultado encontrado, uma vez que a acidificação também apresenta efeito sobre a palatabilidade das macroalgas e dos compostos de defesa (Arnold et al. 2012, Kumar et al. 2018). Ainda, esse padrão de aumento da taxa alimentar também foi observado para o isópode *Idotea balthica* se alimentando de *F. vesiculosus*, porém somente depois de um período de exposição muito prolongado (7 meses) (Rothäusler et al. 2017). O aumento da taxa de consumo quando *S. pelagica* é exposto a maior temperatura, pode ser explicado pelo aumento metabólico do herbívoro. Pela teoria metabólica, temperaturas mais altas aceleram o metabolismo (Brown et al. 2004), aumentando o consumo (O'Connor 2009). Esse padrão de aumento do consumo com a temperatura foi observado para vários invertebrados marinhos, como o anfípode *Alorchestes compressa* (Phelps et al. 2017), gastrópodes (Sanford 2002, Phelps et al. 2017), estrelas do mar (Sanford 2002) e camarões (Wyban et al. 1995), e vertebrados, como peixes herbívoros (Alcantara & Noro 2005, Vergés et al. 2014). Embora a temperatura possa acelerar o metabolismo e aumentar o consumo em um primeiro momento (O'Connor, 2009), após atingir limites térmicos críticos, a temperatura pode afetar o metabolismo, que entra em um processo de depressão metabólica (Angilletta et al. 2002, Pörtner & Farrell 2008), reduzindo sua alimentação e até a sobrevivência. Esse padrão foi observado para o gastrópode *Littorina obtusata* se alimentando da macroalga parda *Ascophyllum nodosum* (Cardoso et al. 2017), assim como para outras espécies de gastrópodes (Gao et al. 1990, Mertens et al. 2015) e alguns invertebrados marinhos (Twomey et al. 2012, Iles 2014). Nesse estudo, a redução do consumo foi observada para *S. pelagica* quando a macroalga também foi criada em temperaturas mais altas, indicando um efeito indireto da redução da palatabilidade da alga, devido ao aumento dos metabólitos secundários. Esse resultado é muito importante, pois *S. pelagica* é um herbívoro com distribuição de hábitat e dieta restrita a macroalgas do gênero *Sargassum* (Jacobucci & Leite 2014, Machado et al. 2017). Por isso, mudanças na composição química ou na distribuição dessas macroalgas podem ter efeitos mais significativos sobre essa espécie, do que para espécies com hábitat e alimentação mais generalista, como *C. filosa* (Machado et al. 2017, Machado et al. 2019b).

Já *C. filosa* apresenta redução da alimentação somente quando a temperatura ambiente é elevada e a alimentação recebida também foi cultivada em altas temperaturas. Isso indica que o consumo desse mesoherbívoro é afetado somente quando há combinação dos efeitos diretos e indiretos da temperatura. Esses resultados diferem de trabalhos que mostraram que mudanças diretas na fisiologia dos herbívoros foram mais importantes que alterações na composição química das macroalgas, como para a taxa de alimentação de ouriços do mar (Rich et al. 2018) e na preferência alimentar de anfípodes (Schram et al. 2017).

Essas diferenças nas respostas observadas para os anfípodes em estudo também ocorreram dentro do mesmo grupo para outros animais. Para o ouriço do mar *Echinometra lucunter*, a temperatura reduziu as taxas de alimentação (Rich et al. 2018), já para o ouriço *Hemicetrotus pulcherrimus*, não foi observado nenhum efeito desse estressor ambiental (Endo et al. 2015). A redução da taxa de alimentação dos anfípodes em altas temperaturas altera a força da interação entre macroalgas e herbívoros. Pela teoria metabólica, esperávamos que o aumento da temperatura fortalecesse o controle *top-down* dos herbívoros nas comunidades de macroalgas, como observado para o anfípode *Ampithoe longimana* e a macroalga *Sargassum filipendula* (O'Connor 2009), e o ouriço *Lytechinus semituberculatus* e a macroalga *Ulva* sp. (Carr & Bruno 2013). No entanto, nosso resultado foi o oposto e semelhante ao encontrado para gastrópodes herbívoros. O aumento da temperatura levou a redução da taxa de consumo de macroalgas vermelhas formadoras de tapetes (*turfs*) pelo gastrópode *Turbo undulatus* (Mertens et al. 2015), assim como observado para *Gibbula umbilicalis* e a macroalga verde *Ulva rigida* (Sampaio et al. 2017).

Nossos resultados mostram que as taxas de alimentação para esses dois mesoherbívoros foram fortemente afetadas pelas condições de temperatura sob às quais as macroalgas foram cultivadas. Sabemos que mudanças nos tecidos vegetais das macroalgas podem alterar a taxa alimentar (Poore et al. 2013, Ledet et al. 2018), a preferência pelas macroalgas (Lemoine et al. 2013, Schram et al. 2015, Schram et al. 2017) e até a aptidão dos herbívoros (Cruz-Rivera & Hay 2000, Hemmi & Jormalainen 2002, Ledet et al. 2018). Com a redução da concentração de carbono e da razão C/N e o aumento das proteínas, era esperado que ocorresse um aumento do valor nutricional das macroalgas e por consequência, da taxa alimentar. No entanto, foi observado um efeito contrário. Além dessas alterações, também observamos em temperaturas mais altas o aumento dos compostos fenólicos nas macroalgas, que têm uma importante ação anti-herbívoria (Amsler & Fairhead 2005). Nesse caso, a concentração dos compostos de defesa das macroalgas parece ter um efeito mais importante na palatabilidade para os mesoherbívoros *S. pelagica* e *C. filosa* do que o aumento do valor nutricional (incremento de proteína e redução da razão C/N). Phelps et al. (2017) observou que o aumento da temperatura levou a redução dos compostos fenólicos e aumento da razão C/N para *L. brongniartii*. Nesse cenário, foi observado o aumento do consumo da macroalga por anfípodes e gastrópodes (Phelps et al. 2017). Já para *E. radiata*, também foi observado o aumento da razão C/N, porém não houve variação da quantidade de fenólico, que foi mais alto que na outra espécie de macroalga. Nesse caso, os gastrópodes reduziram o consumo de macroalga. Esses resultados reforçam que os compostos de defesa podem ser mais importantes para a taxa de alimentação do que o valor nutricional da macroalga, como observado no nosso trabalho. Cruz-Rivera & Hay (2003) mostraram que em experimentos de

escolha, todos os herbívoros preferiram uma macroalga verde em detrimento da macroalga parda produtora de compostos anti-herbivoria. O consumo de macroalgas com metabólitos de defesa pode reduzir a sobrevivência e a reprodução dos herbívoros (Cruz Rivera & Hay 2003). De forma similar, estudos em ambientes terrestres também mostram que os herbívoros rejeitam o alimento com metabólitos defensivos devido aos efeitos fisiológicos que eles causam nos consumidores (Ayres et al. 1997, Dearing et al. 2002). Ainda, esse comportamento de rejeição pode ser reforçado pela forma de alimentação dos anfípodes. Quando submetidos a alimentação com baixa qualidade nutricional, anfípodes apresentam um comportamento de alimentação compensatório, aumentando a quantidade de alimento ingerido para compensar o baixo conteúdo nutricional (Cruz Rivera & Hay 2000). Essa estratégia alimentar permite que anfípodes evitem alimentos com grande quantidade de compostos anti-herbivoria e consigam compensar o baixo valor nutricional de alimentos alternativos com menor concentração de compostos de defesa, sem necessariamente apresentar redução da aptidão (Duffy & Hay, 1991).

Com a redução do consumo das macroalgas pelos anfípodes, é esperado que elas apresentem um incremento na biomassa, principalmente se o aumento da temperatura favorecer a fotossíntese. No entanto, essa consequência pode não ser tão direta, pois é necessário compreender se as respostas macroalga-herbívoro são síncronas. Mertens et al. (2015) observaram que, em temperaturas mais baixas, as taxas de consumo de gastrópodes ultrapassavam a taxa de crescimento dos produtores. No início, eles observaram o aumento da taxa alimentar com a temperatura, aumentando a pressão de herbivoria. No entanto, por volta dos 20°C, os gastrópodes atingiram seu pico metabólico e começaram a reduzir sua taxa de alimentação, o que favoreceu a biomassa dos produtores. Resultado semelhante também foi observado para isópodes (Ito et al. 2019). Para *C. filosa* e *S. pelagica*, foi observado redução da alimentação quando as macroalgas estavam em altas temperaturas, o que favoreceria o aumento da biomassa dos produtores. No entanto, é necessário englobar as respostas fisiológicas das macroalgas para compreender de maneira mais clara as consequências para a relação herbívoro-macroalga, principalmente porque em temperaturas mais altas, o crescimento das macroalgas pode ser afetado (Endo et al. 2013).

CONCLUSÃO

O aquecimento oceânico leva a mudanças nas macroalgas, nos herbívoros associados e na relação alimentar entre eles. O aumento da temperatura da água do mar afeta a composição química da espécie *Sargassum filipendula*. Essa mudança merece atenção especial, uma vez que espécies tropicais já estão muito próximas de seus ótimos térmicos (Vinagre et al. 2016). Portanto, mudanças fisiológicas e no metabolismo podem afetar a

sobrevivência dessa espécie, inclusive modificando sua biomassa ou área de distribuição (Phelps et al. 2017, Komatsu et al. 2014). Ainda, essas macroalgas apresentam um papel importantíssimo como mitigador das mudanças no clima, pois são capazes de absorver e estocar grande quantidade de CO₂ atmosférico (Hill et al. 2015). Considerando o importante papel ecológico das macroalgas como habitat e alimento para a fauna associada, é esperado que essas mudanças nas macroalgas levem a modificações nas comunidades fitais, principalmente sobre as espécies que apresentam distribuição de hospedeiros mais restrita, como *Sunamphitoe pelagica* (Machado et al. 2017, Machado et al. 2019a). A redução das taxas de alimentação observadas em função das mudanças dos tecidos das macroalgas mostra que alterações no substrato alimentar pode trazer consequências importantes sobre os herbívoros. Ainda, tais efeitos no comportamento alimentar dos anfípodes pode enfraquecer o controle *top-down* por esses herbívoros, favorecendo a biomassa das macroalgas, o que pode levar a alterações nas cadeias tróficas e no fluxo energético marinho. No entanto, é importante ressaltar, que herbívoros podem responder de maneira muito distinta frente aos mesmos estressores ambientais, portanto é importante ampliar cada vez mais o conhecimento sobre outras espécies para confirmar o padrão de resposta encontrado aqui. Nesse sentido, nossos resultados fortalecem a necessidade de avaliar todas as espécies envolvidas na interação ecológica para compreender de maneira mais clara os efeitos das mudanças no clima sobre os sistemas naturais.

REFERÊNCIAS

Aarset, A V; Aunaas, T. 1990A. Influence of environmental salinity on oxygen consumption and excretion of the arctic under-ice amphipod *Onisimus glacialis*. *Marine Biology* 107: 9-15.

Abdala-Díaz, R; Cabello-Pasini, A; Marquez, E. 2014. Intra-thallus variation of phenolic compounds, antioxidant activity, and phenolsulphatase activity in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) from southern Spain. *Ciencias Marinas* 40: 1-10.

Abirami, R; Kowsalya, S. 2016. Quantification and correlation study on derived phenols and antioxidant activity of seaweeds from Gulf of Mannar. *Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants* 23: 9-17.

Alcantara, L B; Noro, T. 2005. Effects of macroalgas type and water temperature on macroalgal consumption rates of the abalone *Haliotis diversicolor* Reeve. *Journal of Shellfish Research* 24: 1169-1177.

Amsler, C D; Fairhead, V A. 2005. Defensive and sensory chemical ecology of brown macroalgae. *Advances in Botanical Research* 43: 1-91.

Amsler, D C; McClintock, B J; Baker, J B. 2012. Amphipods exclude filamentous macroalgae from the Western Antarctic Peninsula benthos: experimental evidence. *Polar Biology* 35: 171–177.

Anastasakis, K; Ross, A; Jones, J. 2011. Pyrolysis behaviour of the main carbohydrates of brown macro-macroalgae. *Fuel*. 90: 598-607.

Angilletta Jr, M J; Angilletta, M J. 2009. *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press. pp. 302.

Angilletta Jr, M J; Niewiarowski, P H; Navas, C A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 27: 249-268.

Appadoo, C; Myers, A A. 2003. Observations on the tube-building behavior of the marine amphipod *Cyamadusa filosa* Savigny (Crustacea: Ampithoidae). *Journal of Natural History* 37: 2151–2164.

Arnold, T; Mealey, C; Leahey H; Miller, A W; Hall-Spencer, J M; et al. 2012. Ocean acidification and the loss of phenolic substances in marine plants. *PLoS ONE* 7(4): e35107.

Ayres, M P; Clausen, T P; MacLean, S F; Jr., Redman, A M; Reichardt, P B. 1997. Diversity of structure and antiherbivore activity in condensed tannins. *Ecology* 78: 1696–1712.

Bale, J; Masters, G J; Hodkinson, I D; Awmack, C; Bezemer, T M J; Brown, V; et al. 2002. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology* 8: 1-16.

Barnard, J L; Karaman, G S. 1991. The families and genera of marine Gammaridean amphipoda (Except Marine Gammaroids). *Records of the Australian Museum, Supplement* 13 (Part 1): 1-418.

Blunt, J W; Copp, B R; Munro, M H G; Northcore, P T; Prinsep, M R. 2014. Marine natural products. *Natural Product Reports* 31:160–258.

Bradford, M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

Brown, J H; Gillooly, J F; Allen, A P; Savage, V M; West, G B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85: 1771–1789.

Bueno, M; Leite, F P P. 2019. Age and life style affect macroalgae colonization by amphipods in shallow marine environments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 514–515: 59–66.

Bui, H; Luu, T; Fotedar, R. 2018. Effects of temperature and pH on the growth of *Sargassum linearifolium* and *S. podacanthum* in potassium-fortified inland saline water. *American Journal of Applied Sciences* 15: 186-197.

Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2: 498–503.

Campbell, H; Ledet, J; Poore, A; Harianto, J; Byrne, M. 2020. Resilience of the amphipod *Hyale niger* and its macroalgal host *Sargassum linearifolium* to heatwave conditions. *Marine Biology* 167: 72.

Caputi, N; Kangas, M; Denham, A; Feng, M; Pearce, A; Hetzel, Y; Chandrapavan, A. 2016. Management adaptation of invertebrate fisheries to an extreme marine heat wave event at a global warming hot spot. *Ecology and Evolution* 6: 3583–3593.

Cardoso, P G; Grilo, T F; Dionísio, G; Aurélio, M; Lopes, A R; Pereira, R; Pacheco, Má; Rosa, R. 2017. Short-term effects of increased temperature and lowered pH on a temperate grazer-seaweed interaction (*Littorina obtusata/Ascophyllum nodosum*). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 197: 35-44.

Carr, L; Bruno, J F. 2013. Warming increases the top-down effects and metabolism of a subtidal herbivore. *PeerJ* 1: e109.

Chakraborty, K; Joseph, D. 2016. Antioxidant potential and phenolic compounds of brown seaweeds *Turbinaria conoides* and *Turbinaria ornata* (class: Phaeophyceae). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 1: 29-49.

Cheung, W W; Lam, V W; Sarmiento, J L; Kearney, K; Watson, R; Pauly, D. 2009. Projecting global marine biodiversity impacts under climate change scenarios. *Fish and Fisheries* 10: 235e251.

Cofrades, S; López-López, I; Bravo, L; Ruiz-Capilla, C; Larrea, M T; Jiménez-Colmenero, F. 2010. Nutritional and antioxidant properties of different brown and red spanish edible seaweeds. *Food Science and Technology International* 16(5): 361-370.

Cruz Rivera, E; Hay, M. E. 2003. Prey nutritional quality interacts with chemical defenses to affect consumer feeding and fitness. *Ecological Monographs* 73(3): 483–506.

Cruz-Rivera, E; Hay, M E. 2000. Can quantity replace quality? Food choice, compensatory feeding, and fitness of marine mesograzers. *Ecology* 81: 201–219.

de la Hoz, C F; Ramos, E; Puente, A; Juanes, J A. 2019. Climate change induced range shifts in seaweeds distributions in Europe. *Marine Environmental Research* 148: 1-11.

Dearing, M D; Mangione, A M; Karasov, W H. 2002. Ingestion of plant secondary compounds causes diuresis in desert herbivores. *Oecologia* 130: 576–584.

Diniz, G; Barbarino, E; Oiano-Neto, J; Pacheco, S; Lourenço, S. 2011. Gross chemical profile and calculation of nitrogen-to-protein conversion factors for five tropical seaweeds. *American Journal of Plant Sciences* 2: 287-296.

Duffy, J E; Hay, M E. 1991. Food and shelter as determinants of food choice by an herbivorous marine amphipod. *Ecology* 72: 1286–1298.

Egan, S; Harder, T; Burke, C; Steinberg, P; Kjelleberg, S; Thomas, T. 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews* 37: 462-476.

Eggert, A. 2012. Seaweed responses to temperature. In: C Wiencke; K Bischof (eds). *Seaweed Biology*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 47–66.

Eklöf, J S; Alsterberg, C; Havenhand, J N; Sundbäck, K; Wood, H L; Gamfeldt, L. 2012. Experimental climate change weakens the insurance effect of biodiversity. *Ecology Letters* 15: 864–872.

Endo, H; Suehiro, K; Kinoshita, J; Agatsuma, Y. 2015. Combined effects of temperature and nutrient enrichment on palatability of the brown macroalga *Sargassum yezoense* (Yamada) Yoshida & T. Konno. *American Journal of Plant Sciences* 6: 275-282.

Endo, H; Suehiro, K; Kinoshita, J; Gao, X; Agatsuma, Y. 2013. Combined effects of temperature and nutrient availability on growth and phlorotannin concentration of the brown

Aaga *Sargassum patens* (Fucales; Phaeophyceae). American Journal of Plant Sciences 4: 14-20.

Eyster, K M. 2007. The membrane and lipids as integral participants in signal transduction: lipid signal transduction for the non-lipid biochemist. Advances in Physiology Education 31: 5–16.

Farvin, K H S; Jacobsen, C. 2013. Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. Food Chemistry 138:1670–1681. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.078.

Faria, A V F; Plastino, E M. 2016. Physiological assessment of the mariculture potential of a *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) variant. Journal of Applied Phycology 28: 2445–2452.

Fernandez-Gonzalez J; Sanchez-Jerez P. 2014. First occurrence of *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Crustacea: Amphipoda) on off-coast fish farm cages in the Mediterranean Sea. Helgoland Marine Research 68: 187–191.

Ferreres, F; Lopes, G; Gil, A; Andrade, P; Sousa, C; Mouga, T; Valentão, P. 2012. Phlorotannin extracts from fucales characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: Approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties. Marine Drugs 10: 2766- 2781.

Franco, J; Wernberg, T; Bertocci, I; Duarte, P; Jacinto, D; Vasco-Rodrigues, N; Tuya, F. 2015. Herbivory drives kelp recruits into 'hiding' in a warm ocean climate. Marine Ecology Progress Series 536: 1-9.

Fredriksen, S; Christir, H; Saethre, B A. 2005. Species richness in macroalgae and macrofauna assemblages on *Fucus serratus* L. (phaeophyceae) and *Zoostera marina* L. (Angiospermae) in Skagerrak, Norway. Marine Biology Research 1: 2-19.

Frölicher, T L; Fischer, E M; Gruber, N. 2018. Marine heatwaves under global warming. Nature 560: 360–364.

Gabr, M K; Ziena, A F; Hellal, A M. 2020. Abundance and diversity of amphipod species associated with macro-macroalgae at Ras-Mohamed, Aqaba Gulf, Red Sea, Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries 24: 1-15.

Gao, X; Liu, Y; Liu, Y; Liu, J. 1990. Influence of temperature on feeding and growth of the young abalone. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 21: 20–26.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S, dos Santos, T C A, Hasue, F M; Ngan, P V. 2014. Oxygen consumption and ammonia excretion of the Antarctic amphipod *Bovallia gigantea* Pfeffer, 1888, at different temperatures and salinities. *Brazilian Journal of Oceanography* 62: 315-321.

Gouvêa, L P; Assis, J; Gurgel, C F D; Serrão, E A; Silveira, T C L; Santos, R; Duarte, C M. et al. 2020. Golden carbon of *Sargassum* forests revealed as an opportunity for climate change mitigation. *Science of the Total Environment* 729: 138745.

Gutow, L; Poore, A G B; Díaz Poblete, M A; Villalobos, V; Thiel, M. 2020. Small burrowing amphipods cause major damage in a large kelp. *Proceedings of the Royal Society B* 287: 20200330.<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2020.0330>.

Hay, K B; Millers, K; Poore, A G B; Lovelock, C E. 2010. The use of near infrared reflectance spectrometry for characterization of brown macroalgal tissue. *Journal of Phycology* 46: 937-946.

Hay, M E; Fenical, W. 1988. Marine plant–herbivore interactions: the ecology of chemical defense. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 111–145.

Hemmi, A; Jormalainen, V. 2002. Nutrient enhancement increases performance of a marine herbivore via quality of its food macroalga. *Ecology* 83: 1052–64.

Hill, R; Bellgrove, A; Macreadie, P I; Petrou, K; Beardall, J; Steven, A; Ralph, P J. 2015. Can macroalgae contribute to blue carbon? An Australian perspective. *Limnology Oceanography* 60:1689–1706.

Hughes, T P; Kerry, J M; Álvarez-Noriega, M; Álvarez-Romero, J G; Anderson, K D; Baird, A H; et al. 2017. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature* 543: 373–377.

Iles, A. 2014. Toward predicting community-level effects of climate: relative temperature scaling of metabolic and ingestion rates. *Ecology* 95: 2657–2668.

IPCC, 2013. Summary for Policymakers. In: T F Stocker; D Qin; G-K Plattner; M; S K Allen; J Boschung; A Nauels; Y Xia; V Bex; P M Midgley (eds). *Climate Change 2013: The*

Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Ito, M; Scotti, M; Franz, M; Barboza, F R; Buchholz, B; Zimmer, M; Guy-Haim, T; Wahl, M. 2019. Effects of temperature on carbon circulation in macroalgal food webs are mediated by herbivores.

Jacobucci, G B; Leite, F P P. 2014. The role of epiphytic macroalgae and different species of *Sargassum* in the distribution and feeding of herbivorous amphipods. Latin American Journal Aquatic Research 42: 353-363.

Jacobucci, G B; Tanaka, M O; Leite, F P P. 2009. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. Aquatic Ecology. 43: 1031-1040.

Ji, Y; Xu, Z; Zou, D; Gao, K. 2016. Ecophysiological responses of marine macroalgae to climate change factors. Journal of Applied Phycology 28: 2953–2967

Kailas, A P; Nair, S M. 2015. Comparison of nutrient compositions and calorific values of eight tropical seaweeds. Phycos 45(1): 62-74.

Katrina, P; Greig, H S; Thompson, P L; Carvalho-Pereira, T S A; Shurin, J B. 2012. Warming modifies trophic cascades and eutrophication in experimental freshwater communities. Ecology, 93(6): 1421–1430.

Khalil, A N; Ismael, A A; Halim, Y; El-Zayat, F M. 2020. Is the change in biodiversity of macro-macroalgae in Alexandria coastal waters related to climate change?. Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries 24(6): 435–457.

Kim, E; Park, H S; Jung, Y; Choi, D W; Jeong, W J; Hwang, M S; Park, E J; Gong, Y G. 2011. Identification of the high-temperature response genes from *Porphyra seriata* (Rhodophyta) expression sequence tags and enhancement of heat tolerance of *Chlamydomonas* (Chlorophyta) by expression of the *Porphyra* HTR2 gene. Journal of Phycology 47: 821–8.

Kim, J K; Kraemer, G P; Neefus, C D; Chung, I K; Yarish, C. 2007. Effects of temperature and ammonium on growth, pigment production and nitrogen uptake by four

species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) native to the New England coast. *Journal of Applied Phycology* 19: 431–440.

Komatsu, T; Fukuda, M; Mikami, A; Mizuno, S; Kantachumpoo. 2014. Possible change in distribution of seaweed, *Sargassum horneri*, in northeast Asia under A2 scenario of global warming and consequent effect on some fish. *Marine Pollution Bulletin* 85: 317–324.

Krause-Jensen, D; Duarte, C M. 2016. Substantial role of macroalgae in marine carbon sequestration. *Nature Geoscience*. 9: 737–742.

Kumar, A.; AbdElgawad, H.; Castellano, I.; Selim, S.; Beemster, G. T. S.; Asard, H. et al. 2018. Effects of ocean acidification on the levels of primary and secondary metabolites in the brown macroalga *Sargassum vulgare* at different time scales. *Science of the Total Environment* 643: 946–956.

Ledet, J; Byrne, M; Poore, A G B. 2018. Temperature effects on a marine herbivore depend strongly on diet across multiple generations. *Oecologia* 187: 483–494.

Lemoine, N P; Drews, W A; Burkepile, D E; Parker, J D. 2013. Increased temperature alters feeding behavior of a generalist herbivore. *Oikos* 122: 1669–1678.

Lindroth, R L. 2012 Atmospheric change, plant secondary metabolites and ecological interactions. In: G R Iason; M Dicke; S E Hartley (editors). *The ecology of plant secondary metabolites: from genes to global processes*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 120–153.

Lippert, H; Iken, K; Rachor, E; Wiencke, C. 2001. Macrofauna associated with macroalgae in the Kongsfjord (Spitsbergen). *Polar Biology* 24: 512–522.

López, A., Rico, M., Suarez, M. & Tangeil, M. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* macroalgae extracts. *Food Chemistry* 125: 1104–1109.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Bueno, M; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2019a. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. *Hydrobiologia* 836: 65–81.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Leite, F P P. 2019b. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzer. *Marine Biology* 166: 55.

Machado, G B O; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2017. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host macroalga-epiphyte system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486: 328-335.

Martínez, B; Radford, B; Thomsen, M S; Connell, S D; Carreño, F; Bradshaw, C J A; et al. 2018. Distribution models predict large contractions of habitat-forming seaweeds in response to ocean warming. *Biodiversity research* 24: 1350-1366.

Maschek, J A; Baker, B J. 2008 The chemistry of macroalgal secondary metabolism. In: C D Amsler (ed). *Macroalgal Chemical Ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp 1-24.

Masuko, T; Minami, A; Iwasaki, N; Majima, T; Nishimura, S-I; Lee, Y C. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry* 339:69–72.

Matson, P G; Edwards, M S. 2007 Effects of ocean temperature on the southern range limits of two understory kelps, *Pterygophora californica* and *Eisenia arborea*, at multiple life-stages. *Marine Biology* 151: 1941–1949.

McDermid, K J; Stuercke, B. 2003. Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 15: 513–524.

McDermid, K J; Stuercke, B; Balazs, G H. 2007. Nutritional composition of marine plants in the diet of the green sea turtle (*Chelonia mydas*) in the Hawaiian Islands. *Bulletin of marine science* 81(1): 55–71.

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: 1223–1229.

Nauer, F; Ayres-Ostrock, L; Amorim, A M; Santos, J P; Chow F; Plastino, E M; Oliveira, M C. 2019. Life history, growth, and pigment content of two morphological variants of *Hypnea pseudomusciformis* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 31: 1271–1284.

Nicotri, 1980. Factors involved in herbivore food preference. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 42: 13–26.

O'Connor, M I. 2009. Warming strengthens an herbivore–plant interaction. *Ecology* 90: 388–398.

Olischläger, M; Iñiguez, C; Gordillo, F J L; Wiencke, C. 2014. Biochemical composition of temperate and Arctic populations of *Saccharina latissima* after exposure to increased pCO₂ and temperature reveals ecotypic variation. *Planta* 240: 1213–1224.

Oliver, E C J; Burrows, M T; Donat, M G; Sen Gupta, A; Alexander, L V; Perkins-Kirkpatrick, S E; Benthuyssen, J A; Hobday, A J; Holbrook, N J; Moore, P J; Thomsen, M S; Wernberg, T; Smale, D A. 2019. Projected Marine Heatwaves in the 21st Century and the Potential for Ecological Impact. *Frontiers in Marine Science* 6: 734. doi: 10.3389/fmars.2019.00734.

Ortiz, J; Romero, N; Robert, P; Araya, J; Lopez-Hernández, J; Bozzo, C; Navarrete, E; Osorio, A; Rios, A. 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry* 99: 98–104.

Passarelli, M C; Riba, I; Cesar, A; Serrano-Bernando, F; DelValls, T A. 2017. Assessing the influence of ocean acidification to marine amphipods: A comparative study. *Science of the Total Environment* 595: 759–768.

Patarra, R; Paiva, L; Neto, A; Lima, E; Baptista, J. 2011. Nutritional value of selected macroalgae. *Journal of Applied Phycology* 23: 205-208.

Pavia H, Cervin G, Lindgren A, Åberg P. 1997. Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown macroalga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* 157:139–146.

Peng, Y; Xie, E; Zheng, K; Fredimoses, M; Yang, X et al., 2013. Nutritional and chemical composition and antiviral activity of cultivated seaweed *Sargassum naozhouense* Tseng et Lu. *Marine Drugs* 11: 20-32.

Phelps, C M; Boyce, M C; Huggett, M J. 2017. Future climate change scenarios differentially affect three abundant macroalgal species in southwestern Australia. *Marine Environmental Research* 126: 69e80.

Pires, J S; Torres, P B; Dos Santos, D; Chow, F. 2017. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de macroalgas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, pp. 1-5. ISBN 978-85-85658-70-0.

Polat, S; Ozogul, Y. 2013. Seasonal proximate and fatty acid variations of some seaweeds from the northeastern Mediterranean coast. *Oceanologia* 55(2): 375-391.

Polo, L; Felix, M; Kreuzsch, M; Pereira, D; Costa, G; Simioni, C; Ouriques, L; et al. 2014. Photoacclimation responses of the brown macroalga *Sargassum cymosum* to the combined influence of UV radiation and salinity: cytochemical and ultrastructural organization and photosynthetic performance. *Photochemistry and Photobiology* 90: 560-573.

Poore, A G B; Campbell, A H; Coleman, R A; Edgar, G J; Jormalainen, V; Reynolds, P L; et al. 2012. Global patterns in the impact of marine herbivores on benthic primary producers. *Ecology Letters* 15: 912-922.

Poore, A G B; Campbell, A H; Steinberg, P D. 2009. Natural densities of mesograzers fail to limit the growth of macroalgae or their epiphytes in a temperate macroalgal bed. *Journal of Ecology* 97: 164–175.

Poore, A G B; Graba-Landry, A; Favret, M; Brennand, H S; Byrne, M; Dworjanyn, S A. 2013. Direct and indirect effects of ocean acidification and warming on a marine plant–herbivore interaction. *Oecologia* 173: 1113-1124.

Pörtner, H O; Farrel, A P. 2008. Physiology and Climate Change. *Science* 322: 690-692.

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Reich, P B; Hobbie, S E; Lee, T; Ellsworth, D S; West, J B; Tilman, D; Knops, J M; Naeem, S; Trost, J. 2006. Nitrogen limitation constrains sustainability of ecosystem response to CO₂. *Nature* 440 (7086): 922e925.

Rich, W A; Schubertb, N; Schläpferb, N; Carvalho, V F; Horta, A C L; Horta, P A. 2018. Physiological and biochemical responses of a coralline macroalga and a sea urchin to climate change: Implications for herbivory. *Marine Environmental Research* 142: 100–107.

Rocha, F D; Pereira, R C; Kaplan, M A C; Teixeira, V L. 2007. Produtos naturais de macroalgas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17: 631–639.

Rohani-Ghadikolaei, K; Abdulalian, E; Ng, W K. 2012. Evaluation of the proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. *Journal of food science and technology*, 49(6): 774–780.

Rossoll, D; Bermúdez, R; Hauss, H; Schulz, K G; Riebesell, U; Sommer, U; Winder, M. 2012. Ocean acidification— induced food quality deterioration constrains trophic transfer. *PLOS ONE* 7: e34737.

Rothäusler, E; Haavisto, F; Jormalainen, V. 2017. Is the future as tasty as the present? Elevated temperature and hyposalinity affect the quality of *Fucus* (Phaeophyceae, Fucales) as food for the isopod *Idotea balthica* *Marine Biology* 164: 207.

Ruesink, J L. 2000. Intertidal mesograzers in field microcosms: linking laboratory feeding rates to community dynamics. *Journal of Experimental in Marine Biology and Ecology* 248 (2): 163e176.

Salosso, Y. 2019. Nutrient and alginate content of macroalgae *Sargassum* sp. from Kupang Bay waters, East Nusa Tenggara, Indonesia. *AAFL Bioflux* 12: 2130-2136.

Sampaio, E; Rodil, I F; Vaz-Pinto, F; Fernández, A; Arenas, F. 2017. Interaction strength between different grazers and macroalgae mediated by ocean acidification over warming gradients. *Marine Environmental Research* doi: 10.1016/j.marenvres.2017.01.001.

Sanford, E. 2002. Water temperature, predation, and the neglected role of physiological rate effects in rocky intertidal communities. *Integrative and Comparative Biology* 42: 881–891.

Santos, J P; Guihéneuf, F; Fleming, G.; Chow, F; Stengel, D B. 2019. Temporal stability in lipid classes and fatty acid profiles of three seaweed species from the north-eastern coast of Brazil. *Macroalgal Research* 41: 101572.

Schmitz, C; Ramlov, F; de Lucena, L A F; et al. 2018. UVR and PAR absorbing compounds of marine brown macroalgae along a latitudinal gradient of the Brazilian coast. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 178:165–174.

Schram, J B; McClintock, J B; Amsler, C D; Baker, B J. 2015. Impacts of acute elevated seawater temperature on the feeding preferences of an Antarctic amphipod toward chemically deterrent macroalgae. *Marine Biology* 162: 425–433.

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. *Marine Ecology Progress Series* 581: 45–56.

Simonson, E J; Metaxas, A; Scheibling, R E. 2015. Kelp in hot water: II. Effects of warming seawater temperature on kelp quality as a food source and settlement substrate. *Marine Ecology Progress Series* 537: 105–119.

Singleton, V; Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viniculture* 16: 144–158.

Somero, G N. 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine ‘winners’ and ‘losers’. *Journal of Experimental Biology* 213: 912–920.

Stachowicz, J J. 2001. Mutualism, Facilitation, and the Structure of Ecological Communities. *BioScience* 51: 235–246.

Staehr, P A; Wernberg, T. 2009. Physiological responses of *Ecklonia radiata* (Laminariales) to a latitudinal gradient in ocean temperature. *Journal of Phycology* 45: 91–99.

Stengel, D B; Connan, S; Popper, Z A. 2011. Macroalgal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances* 29: 483–501.

Sudatti, D B; Fujii, M T; Rodrigues, S. V.; Turra, A; Pereira, R C. 2011. Effects of abiotic factors on growth and chemical defenses in cultivated clones of *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Ceramiales, Rhodophyta). *Marine Biology* 158: 1439–1446.

Széchy, M T M; Gallilez, M; Marconi, M I. 2006. Quantitative variables applied to phenological studies of *Sargassum vulgare* C. Agardh (Phaeophyta-Fucales) from Ilha Grande Bay, State of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 27-37.

Széchy, M T M; Paula, E J. 2000. Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 121-132.

Tanaka, M O; Leite F P P. 2003 Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293: 1-22.

Thompson, R C; Wilson, B J; Tobin, M L; Hill, A S; Hawkins, S J. 1996. Biologically generated habitat provision and diversity of rocky shore organisms at a hierarchy of spatial scales. *Journal of Experimental in Marine Biology and Ecology* 202:73–84.

Tsoi, K H; Chiu, K M; Chu, K H. 2005. Effects of temperature and salinity on survival and growth of the amphipod *Hyale crassicornis* (Gammaridea, Hyalidae). *Journal of Natural History* 39: 325–336.

Twomey, M; Brodte, E; Jacob, U; Brose, U; Crowe, T P; Emmerson, M C. 2012. Idiosyncratic species effects confound size-based predictions of responses to climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 367: 2971–2978. doi:10.1098/rstb.2012.0244.

Urrea-Victoria, V. 2018. Efeito do estresse térmico sobre respostas fisiológicas, composição química e potencial antioxidante de *Sargassum stenophyllum* (Fucales, Ochrophyta) e *Pyropia spiralis* (Bangiales, Rhodophyta). Tese de doutorado do Instituto de Biociencias de São Paulo, pp. 178.

Van Alstyne, K L; Pelletreau, K N; Kirby, A. 2009. Nutritional preferences override chemical defenses in determining food choice by a generalist herbivore, *Littorina sitkana*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 379: 85–91.

Van den Hoek, C; Breeman, A M; Stam, W T. 1990. The geographic distribution of seaweeds species in relation to temperature: present and past. In: J J Beukema (ed). *Expected effects of climatic change on marine coastal ecosystems*. Kluwer, Dordrecht. pp. 55–67.

Verges, A; Steinberg, P D; Hay, M E; Poore, A G; Campbell, A H; Ballesteros, E; Heck, K L; Booth, D J; Coleman, M A; Feary, D A. 2014. The tropicalization of temperate marine ecosystems: climate-mediated changes in herbivory and community phase shifts. *Proceedings of the Royal Society B* 281(1789): 20140846.

Vinagre, C; Leal, I; Mendonça, V; Madeira, D; Narciso, L; Diniz, M S; Flores, A A V. 2016. Vulnerability to climate warming and acclimation capacity of tropical and temperate coastal organisms. *Ecological indicators* 62: 317-327.

Wang, G Z; Jing, W P; Wang, S L; Xu, Y; Wang, Z Y; Zhang, Z L; Li, Q L; Dai, M H. 2014. Coastal acidification induced by tidal-driven submarine ground water discharge in a coastal coral reef system. *Environmental Science & Technology* 48:13069–13075.

Wang, T; Jónsdóttir, R; Ólafsdóttir, G. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry* 116: 240–248.

Waterman, P G; Mole, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Wiley, 1ª edição, pp. 248.

Weinberger, F; Rohde, S; Oschmann, Y; Shahnaz, L; Dobretsov, S; Wahl, M. 2011. Effects of limitation stress and of disruptive stress on induced antigrazing defense in the bladder wrack *Fucus vesiculosus*. *Marine Ecology Progress Series* 427: 83–94.

Wernberg, T; Smale, D A; Tuya, F; Thomsen, M S; Langlois, T J; Bettignies, T; et al. 2012. An extreme climatic event alters marine ecosystem structure in a global biodiversity hotspot. *Nature Climate Change* 3: 78–82.

Wyban, J; Walsh, W A; Godin, D M. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific White shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138: 267–279.

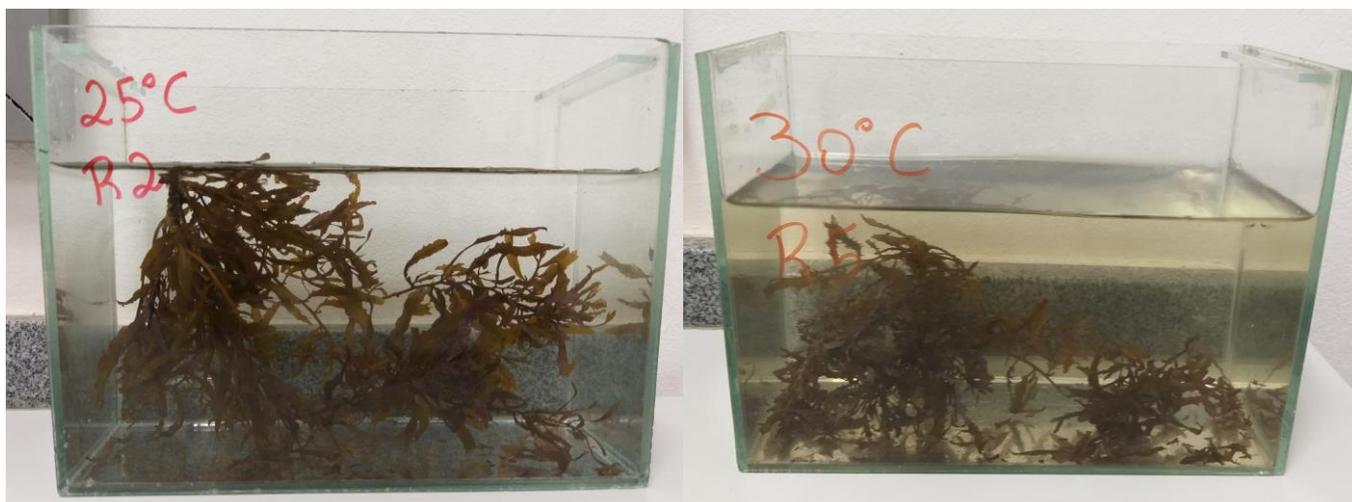
Zou, D H; Gao, K S. 2013. Thermal acclimation of respiration and photosynthesis in the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 49: 61–68.

Zvereva, E L; Kozlov, M V. 2006. Consequences of simultaneous elevation of carbon dioxide and temperature for plant-herbivore interactions: A Metaanalysis. *Global Change Biology* 12: 27-41.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1- Descrição da composição química das macroalgas (em %) após coleta de campo e aclimação em laboratório.

Composto analisado	Padrão de campo	Pós aclimação
Carbono	26,37 ± 1,01	26,15 ± 0,54
Nitrogênio	1,70 ± 0,02	1,60 ± 0,06
C/N	15,47 ± 0,72	16,39 ± 0,81
Fenólico (metanólico)	17,51 ± 1,13	16,93 ± 0,63
Fenólico (aquoso)	7,77 ± 0,33	6,77 ± 0,27
Proteína (metanólico)	3,70 ± 0,20	3,28 ± 0,15
Proteína (aquoso)	2,28 ± 0,20	1,87 ± 5,01
Carboidrato (metanólico)	10,87 ± 0,63	13,50 ± 0,30
Carboidrato (aquoso)	5,95 ± 0,38	12,48 ± 0,76
Lipídeos Totais	4,60 ± 1,77	3,15 ± 1,45
Peso seco sem cinzas	71,42 ± 9,06	21,14 ± 1,45



CAPÍTULO 5: A PERDA DA DIVERSIDADE DE MACROALGAS HOSPEDEIRAS REDUZ A DENSIDADE E A RIQUEZA DA COMUNIDADE DE ANFÍPODES ASSOCIADOS

INTRODUÇÃO

Nos últimos séculos, observamos o aumento da concentração dos níveis de CO₂ atmosférico (Benson & Surles 2006), principalmente devido a queima de combustíveis fósseis. Esse aumento teve por consequência alterações no clima (IPCC 2013). Projeções climáticas indicam que o ambiente marinho será muito afetado, podendo sofrer com o aquecimento (Fischetti 2013), acidificação (Caldeira & Wickett 2003, Wang et al. 2014) e aumento do nível do mar (Church & White 2006). Uma das consequências mais devastadoras das mudanças no clima é a perda da biodiversidade (Kappelle et al. 1999, Whillis & Bhagwat 2009, Pires et al. 2018). A biodiversidade se refere a toda variedade de vida existente, englobando a riqueza de espécies, diversidade funcional, variabilidade genética e fenotípica. A biodiversidade atua sobre o funcionamento dos ecossistemas (Tilman 1997, Hooper et al. 2005), influenciando na resistência a invasão (Levine & D'Antonio 1999, Stachowiks et al. 1999), resiliência (Allison 2004, Reusch et al. 2005) e estabilidade (Proulx et al. 2010). Portanto, mudanças que reduzam ou eliminem a diversidade podem afetar diretamente o funcionamento dos ecossistemas, levando a mudanças na composição das espécies e alterações nas relações ecológicas (Harley et al. 2006, Johnson et al. 2012). Parte expressiva dos estudos pioneiros sobre o papel da biodiversidade no ecossistema envolvia a manipulação da diversidade e seus efeitos dentro de um mesmo nível trófico, especialmente em produtores primários (Tilman 1999, Loreau et al. 2001). A inclusão de outros níveis tróficos, impulsionada por pesquisas em sistemas marinhos, ampliou a compreensão sobre o papel da biodiversidade nos ecossistemas (Kraufvelin & Salovius 2004, Reusch et al. 2005, Byrnes et al. 2006, Bruno et al. 2006).

A perda do hábitat é apontada como uma das principais causas de declínio da biodiversidade (Tilman et al. 1994) e pode ser causada por inúmeros impactos antrópicos como a contaminação e a superexploração (Schramm & Nienhuis 1996, Bates et al. 2005). Recentemente, a perda do habitat vem sendo acelerada, com impactos na escala global, devido às mudanças no clima. Macroalgas marinhas vêm sofrendo declínio populacional desde 1940 e, recentemente, tal processo se tornou muito mais acentuado, semelhante à perda dos habitats em manguezais e recifes de corais (Waycott et al. 2009). Essas perdas podem trazer uma série de consequências para o ambiente marinho. Macroalgas formadoras de dossel também são responsáveis pela absorção e estocagem de grande quantidade de carbono atmosférico (Golléty et al. 2008, Hill et al. 2015, Gouvêa et al. 2020). A perda desses

organismos pode afetar diretamente a população mundial, inclusive levando a redução dos serviços ecossistêmicos oferecidos (Schröter et al. 2005). Além desse efeito, o aumento da temperatura oceânica já alterou a distribuição de algumas espécies (Cheung et al. 2009) e reduziu a biomassa de outras macroalgas (Kawamata & Hasegawa 2006). Projeções futuras indicam mudanças drásticas na biomassa e nas áreas de ocorrência de várias espécies de macroalgas, podendo ocorrer redução considerável da sua distribuição (Komatsu et al. 2014, Phelps et al. 2017, de la Hoz et al. 2019). Além disso, os impactos antrópicos também podem reduzir a diversidade de macroalgas efêmeras (Eriksson et al. 2006), assim como a redução da biomassa de macroalgas incrustantes e homogeneização do ambiente (Balata et al. 2007).

Macrófitas marinhas são espécies formadoras de hábitat que podem atuar como facilitadoras no ambiente marinho, influenciando positivamente o estabelecimento de outras espécies e a diversidade local (Thompson et al. 1996, Stachowicz 2001). Nesse caso, uma alta diversidade de organismos facilitadores é um mecanismo chave para a manutenção dos ecossistemas (Stachowicz 2001). As macrófitas hospedeiras disponibilizam novos habitats (Lippert et al. 2001, Tanaka & Leite 2003, Fredriksen et al. 2005) ou aumentam a complexidade dos já existentes (Hacker & Steneck 1990, Chemello & Milazzo 2002). Além disso, podem atenuar as condições abióticas desfavoráveis no mesolitoral, como elevada salinidade, altas temperaturas e dessecação (Bertness et al. 1999, Lilley & Schiel 2006) e o fluxo de correntes na região do infralitoral (Hicks 1980, Eklöf et al. 2011). Além de amenizar as condições adversas do ambiente, macrófitas também são capazes de atenuar interações negativas, como a competição e predação (Nelson 1979, Machado et al. 2019a,b). Esse papel de facilitador desempenhado pelas macrófitas é o que permite a instalação de uma fauna associada abundante e diversa (Arrivillaga & Baltz 1999, Bruno & Bertness 2001, Eklöf et al. 2005, Christie et al. 2009). Dentre as macrófitas, macroalgas com morfologia mais complexas são capazes de comportar maior riqueza e diversidade da fauna associada (Gee & Warwick 1994, Chemello & Millazzo 2002, Hauser et al. 2006, Bueno et al. 2017), além de comportar maior carga de epífitas, que também favorecem a abundância da fauna (Cacabelos et al. 2010). Por isso, diferentes espécies de macroalgas podem abrigar distintas composições de fauna associada (Taylor & Cole 1994, Lippert et al. 2001, Parker et al. 2001, Machado et al. 2019a) e a perda dessa diversidade pode comprometer essas comunidades.

Crustáceos peracáridos como os anfípodes são muito representativos na fauna associada (Jacobucci & Leite 2006, Leite et al. 2007), apresentando uma grande variedade de hábitos de vida e alimentares (Guerra-Garcia et al. 2014). Anfípodes têm uma relação muito íntima com as macroalgas, uma vez que elas disponibilizam habitat (Tanaka & Leite 2004) e alimento (Poore et al. 2013). A disponibilidade de habitat oferecida pelas macroalgas

é um fator limitante na ocorrência desses organismos (Jacobucci et al. 2009). Os anfípodes herbívoros consomem o tecido das macroalgas hospedeiras ou epífitas (Machado et al. 2017), e a sua composição química (e.g. nutrientes e defesas químicas) pode afetar diretamente a fauna associada (Duffy & Hay 1994, Poore et al. 2013). Enquanto isso, as espécies detritívoras e carnívoras podem se beneficiar do acúmulo de sedimentos e do estabelecimento de presas promovidos pela estrutura tridimensional das macroalgas hospedeiras (Chemello & Millazzo 2002). Portanto, quanto maior a diversidade dessas espécies facilitadoras, maior a disponibilidade desses recursos para a fauna. Nesse contexto, a perda da diversidade das macroalgas hospedeiras representa um comprometimento no processo de facilitação que esses organismos desempenham. Portanto, é esperado que a redução da diversidade dos organismos formadores de habitat diminua a disponibilidade de recursos (e.g. alimento e hábitat) por eles oferecidos, afetando diretamente os grupos da fauna associada, como os anfípodes.

No presente estudo, nós simulamos experimentalmente a perda da diversidade de espécies de macroalgas hospedeiras e analisamos o impacto sobre a fauna associada. Especificamente, nós perguntamos (1) Qual o efeito da perda da diversidade das macroalgas hospedeiras sobre a comunidade de anfípodes? (2) Qual a importância relativa da riqueza e da identidade das macroalgas hospedeiras para a comunidade de anfípodes? Nós esperávamos que a perda da diversidade de macroalgas hospedeiras causasse uma redução na abundância, riqueza e diversidade da comunidade de anfípodes, uma vez que macroalgas são substratos estruturadores das comunidades de fauna associada. Nós também esperávamos que tanto a riqueza como a identidade de espécies de macroalgas tivesse um efeito positivo para os parâmetros da fauna associada, uma vez que a riqueza de macroalgas representa maior disponibilidade de recursos e a identidade das macroalgas hospedeiras é determinante para a fauna associada, devido às especificidades dessas interações.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenhos experimentais

Os experimentos foram realizados na região sul da Praia da Fortaleza (23°32'S, 45°10'W), litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil (Para detalhes, ver capítulo 1). Para investigar o efeito da diversidade de macroalgas sobre a fauna associada, realizamos experimentos em campo durante o verão (março) de 2019, manipulando a diversidade de algas hospedeiras (tratamentos com monoculturas e policultura). As monoculturas foram constituídas de frondes individuais de *Sargassum filipendula* C. Agardh, *Padina gymnospora*

(Kützing) e *Dichotomaria marginata* (J. Ellis & Solander), enquanto a policultura consistiu na união dessas três espécies de macroalgas. Foram realizados dois experimentos com desenhos distintos: experimento substitutivo e experimento aditivo. No experimento com desenho substitutivo, foi mantido o volume de alga constante de 30 mL por unidade experimental, tanto na policultura (n=5) como na monocultura (n=5 para cada espécie de macroalga). Portanto, no tratamento com mais de uma espécie de macroalga, o volume foi dividido de maneira similar entre todas as espécies de macroalgas (isto é, 10 mL por espécie de macroalga). Já no experimento com o desenho aditivo, as monoculturas de cada macroalga hospedeira tinham volume de 10 mL (n=5 para cada espécie de macroalga), o que seria equivalente ao tamanho individual dessas espécies no tratamento de policultura. Nesse caso, a policultura representa o somatório da contribuição individual de cada monocultura, apresentando volume de 30 mL (n=5). Por questões logísticas, as réplicas de policultura foram as mesmas para os dois experimentos. O volume do talo das macroalgas foi utilizado como *proxy* da disponibilidade de substrato hospedeiro, pois apresenta uma relação positiva com a fauna associada (Bhaduri & Wolf 2017). Ao manipularmos experimentalmente a riqueza de espécies, nos deparamos com o conflito do desenho utilizado. Em desenhos substitutivos, o tamanho (e.g. biomassa, volume) inicial é mantido igual entre os tratamentos de riqueza. Porém, há uma redução da biomassa individual de cada espécie conforme aumenta a riqueza do tratamento, o que reduz a contribuição de cada espécie na policultura em relação às monoculturas. Já nos desenhos aditivos, a contribuição de cada espécie é mantida constante entre os tratamentos de riqueza, porém o incremento da riqueza vem atrelado ao incremento do tamanho/volume total (i.e. tamanhos ou volumes maiores nos tratamentos com maior riqueza) (Sackville-Hamilton 1994). Por isso, nós tomamos o cuidado de realizar dois experimentos distintos (aditivo e substitutivos) para controlar essas variações.

Experimentos em campo

Fronde de *Sargassum filipendula*, *Padina gymnospora* e *Dichotomaria marginata* foram previamente coletadas na Praia da Fortaleza e transportadas em caixas térmicas para o laboratório. As macroalgas foram defaunadas por lavagens sucessivas e suas epífitas foram removidas manualmente. Ao final desse processo, as macroalgas foram colocadas durante 5 minutos em água doce para garantir a completa remoção da fauna. Frondes limpas foram colocadas em uma saladeira e rotacionadas por 10 vezes para retirar o excesso de água. O volume das macroalgas foi medido por deslocamento de água em uma proveta graduada para garantir que todas as amostras tivessem o mesmo volume nos experimentos. As unidades experimentais consistiram em quadrados de tela de plástico (8 cm X 8 cm) com macroalgas fixadas com uma abraçadeira e fios de nylon. Dois dias antes da adição das unidades

experimentais, hastes de ferro (~ 80 cm) foram enterradas no substrato arenoso na praia a cerca de 2 m de profundidade, distando cerca de 1 m do costão rochoso e com um intervalo de 1,5 m entre cada unidade. Em uma das extremidades da haste de ferro, que tinha um formato curvado, uma corda foi amarrada com uma boia presa a ela para facilitar a localização dessas estruturas em campo. As unidades experimentais foram unidas às estruturas que estavam previamente no campo com abraçadeiras, sendo mantidas a cerca de 10 cm do fundo arenoso (Figura 1).

O experimento foi mantido em campo durante 4 dias, tempo considerado suficiente para recolonização da fauna (Tanaka & Leite, 2004, Machado et al. 2019a, Machado et al. 2019b, Bueno & Leite 2019). Ao final do experimento, todas as amostras foram envolvidas em sacos de malha de tecido (malha de 0,2 mm) e removidas das estruturas de hastes de ferro e corda. O uso do saco de tecido garantiu a contenção de toda macrofauna que havia colonizado as macroalgas durante o experimento. As amostras foram levadas ao laboratório, mantidas congeladas e, posteriormente, lavadas por 5 vezes em água doce para que toda fauna fosse separada das frondes de macroalga. A fauna foi conservada em álcool 70% e os anfípodes foram contabilizados e identificados em espécie. Indivíduos muito jovens ou com o corpo muito danificado não foram possíveis de serem identificados e foram categorizados como “Não identificados”.

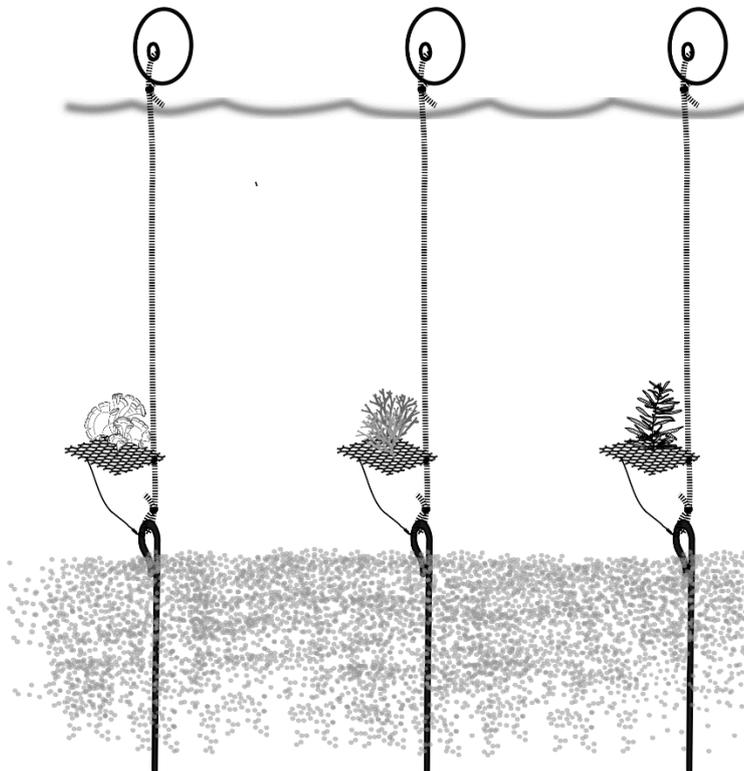


Figura 1- Representação do aparato experimental com as monoculturas de *Padina gymnopora*, *Dichotomaria marginata* e *Sargassum filipendula* (Fonte: Peres et al. 2021).

Análise de dados

Para verificar se a abundância, riqueza, diversidade (Índice de Shannon) e a dominância (Índice de Simpson) das assembleias de anfípodes foram influenciadas pela diversidade das macroalgas hospedeiras, foram realizadas Análises de Variância (Anova) de um fator (fixo, 4 níveis: policultura, *Sargassum filipendula* (monocultura), *Padina gymnospora* (monocultura) e *Dichotomaria marginata* (monocultura), para cada experimento (substitutivo, com monoculturas de 30 mL, e aditivo, com monoculturas de 10 mL). Os dados foram transformados em raiz quadrada para garantir os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando encontrado efeito do fator, o teste a posteriori de Tukey foi realizado.

Após realizar a Anova, para separar o efeito da riqueza do efeito da identidade das macroalgas, foi utilizada uma comparação planejada entre policultura (tratamento de 3 espécies) vs. todas as monoculturas juntas (tratamentos com uma espécie). Tal comparação representa o efeito da riqueza de macroalgas. A diferença da soma dos quadrados entre o modelo total e o efeito calculado da riqueza é devido as diferenças entre as espécies de macroalgas (i.e. efeito da identidade) (Duffy et al. 2005, Bruno et al. 2006). Essa análise foi realizada para cada variável resposta (abundância, riqueza, diversidade e dominância) em ambos os experimentos (aditivo e substitutivo). Além disso, calculamos a magnitude do efeito (ω^2) ou seja, a contribuição relativa de cada um desses componentes (riqueza e identidade) para cada variável resposta (Graham & Edwards 2001, Kirk 2013). Todas as análises foram realizadas usando o R 3.4.2 (R Core Team 2017).

Para o experimento substitutivo, também foi calculado dois índices, Dt e Dmax, para explorar melhor o efeito da diversidade de macroalgas em cada variável resposta estudada. O Dt indica se existe variação entre o observado na policultura e o esperado para policultura baseado no desempenho de cada espécie quando em monocultura ($Dt = (Ot - Et)/Et$, sendo Ot =observado, Et = esperado). O desempenho é o resultado do parâmetro analisado (isto é, abundância, riqueza, diversidade e dominância) para cada monocultura separadamente. Portanto, o esperado para a policultura seria a soma das contribuições individuais (desempenhos) das três monoculturas. $Dt > 0$ indica que a magnitude do efeito líquido das macroalgas em policultura é maior que o efeito esperado das macroalgas considerando

apenas sua contribuição individual baseada na monocultura (Loreau 1998). O D_{max} foi calculado como o desvio da produção observada na policultura comparado com a produção esperada baseada na melhor monocultura ($D_{max} = (O_t - \text{Max}(M_i)) / \text{Max}(M_i)$, sendo O_t =observado na policultura, $\text{Max}(M_i)$ =observado na melhor monocultura). A melhor monocultura foi aquela que apresentou maior índice do parâmetro analisado (abundância, riqueza, diversidade, dominância). Quando $D_{max} > 0$ podemos observar que ocorre uma superprodução nos parâmetros da policultura quando comparado com a melhor monocultura individualmente (Loreau 1998, Fridley 2001).

Para verificar se a composição das assembleias de anfípode variou com a diversidade das macroalgas hospedeiras, foram realizadas Análises Permutacionais de Variância (Permanova) do tipo III (Anderson, 2001) para cada desenho experimental (substitutivo e aditivo). Os dados de abundância foram transformados em $\log(x+1)$ e a matriz de similaridade foi construída a partir da distância de Bray-Curtis. As análises foram realizadas com 9999 permutações e o mesmo desenho utilizado nas Anovas. Quando foi encontrada diferença entre os níveis do fator, comparações par-a-par foram realizadas para melhor compreender as diferenças encontradas. O teste de Simper foi realizado para verificar quais as espécies de anfípodas que mais contribuíram para as diferenças observadas. Nesse caso, foram consideradas apenas as 3 espécies que mais contribuíram. As análises multivariadas foram realizadas no software Primer/Permanova versão 6.0.

RESULTADOS

Nos experimentos, foram encontrados um total de 4161 anfípodas, divididos em 35 espécies (Tabela 1). *Erichthonius brasiliensis*, *Batea catharinensis* e *Cymadusa filosa*, foram as espécies mais abundantes que colonizaram as macroalgas, representando cerca de 33%, 26% e 15% da abundância total da fauna, respectivamente.

Tabela 1- Composição das comunidades de anfípodas com a abundância média (n=5) para a policultura, monoculturas de 30 mL e monoculturas de 10 mL. Poli= policultura, Pad= monocultura de *Padina gymnospora*, Dic= monocultura de *Dichotomaria marginata*, Sar=monocultura de *Sargassum filipendula*.

Espécies	Poli (30mL)	Pad (30mL)	Dic (30mL)	Sar (30mL)	Pad (10mL)	Dic (10mL)	Sar (10mL)
<i>Ampithoe divisura</i> Shoemaker, 1993	1	0,4	0	0	0,2	0,2	0,2

<i>Ampithoe marcuzzi</i> Ruffo, 1954	3,2	0,6	0,2	0	0,2	0,2	0,4
<i>Ampithoe ramondi</i> Audouin, 1826	5,2	0,2	0,2	0,4	0	0,2	0,4
<i>Aora spinicornis</i> Afonso, 1976	9,6	3,6	7	1,8	3	2	1,2
<i>Batea catharinensis</i> Müller, 1868	43,8	52,4	47,4	55	8,2	6,2	2,8
<i>Caprella danilevskyi</i> Czerniavski, 1868	2,8	1,2	1,6	0,4	0,8	0,8	2,2
<i>Caprella dilatata</i> Krøyer, 1843	0,8	0	0	0,2	0	0,8	0,4
<i>Caprella equilibra</i> Say, 1818	0,8	0,2	0,6	0,2	0	0,6	0,6
<i>Caprella penantis</i> Leach, 1814	1,2	0	0	0	0,2	0	0
<i>Caprella scaura</i> Templeton, 1836	1,2	1	1,6	1,2	0,6	0,4	0,8
<i>Cymadusa filosa</i> Savigny, 1816	22,4	27	16,6	25,8	9,8	6,8	14,4
<i>Dulichella appendiculata</i> (Say, 1818)	0,4	0	0,2	0,2	0	0	0
<i>Elasmopus brasiliensis</i> (Dana, 1853)	0,6	0,2	0,2	0,6	0	0	0,2
<i>Elasmopus longipropodus</i> Senna & Souza-Filho, 2011	0,6	0	0	0	0,2	0	0
<i>Elasmopus pectinicus</i> (Spence Bate, 1862)	1	1,8	1	0,8	0	0,2	1,2
<i>Elasmopus souzafilhoi</i> Senna, 2011	1,6	0,8	0,2	0,6	0,2	0	0,8
<i>Elasmopus sp</i>	0,2	1,8	2,2	0,4	1,2	0,4	0,6
<i>Erichthonius brasiliensis</i> (Dana, 1853)	134,2	26,2	32,4	42	23,4	23,6	19,2
<i>Gammaropsis togoensis</i> (Schellenberg, 1925)	0,4	0	0	0,2	0	0	0,4
<i>Hourstonius wakabarae</i> Leite & Siqueira, 2013	1,2	0,2	0,2	0	0,2	0	0
<i>Parhyalella sp</i>	1,4	0	0	0,8	0	0,2	0
<i>Protohyale macrodactyla</i> (Stebbing, 1899)	2	0,6	0	0	0,2	0	0
<i>Hyale niger</i> (Haswell, 1879)	0	0	0	0	0	0	0
<i>Jassa slattery</i> (Conlan, 1990)	0,8	0,8	0	0,2	0,2	0	0,4
<i>Monocorophium acherusicum</i> (Costa, 1853)	0,4	0	0,4	0	0	0	0,2
<i>Nototropis minikoi</i> (Walker, 1905)	0	0,2	0	0,2	0	0	0
<i>Paracaprella pusilla</i> Mayer, 1890	2,6	0,2	4,6	2,4	0,4	2,8	2
<i>Photis longicaudata</i> (Space Bate & Westwood, 1863)	1,4	3,4	2,2	2,6	1,8	1,4	2,8
<i>Photis sarae</i> Souza-Filho & Serejo, 2010	1,8	5,2	5	2	2,8	1	0,2
<i>Podocerus brasiliensis</i> (Dana, 1853)	1,4	0	0,4	0	0	0	0,8

<i>Podocerus fissipes</i> (Serejo, 1995)	0,4	0	0	0,2	0	0	0
<i>Pseudaeginella montoucheti</i> (Quitete, 1971)	3,4	1	3,6	1	1,8	1,4	1,4
<i>Quadrinemaera sp</i>	3	2,4	2	1,8	0,4	1	0,6
<i>Stenothoe sp</i>	2,4	0,4	1	1	0,2	1,4	0,8
<i>Sunamphitoe pelagica</i> (Milne Edwards, 1830)	4,4	1,2	0	1,8	1	0	1,8
Não identificado	0,6	0,2	0,4	0,2	0,2	0	0

Para o experimento substitutivo, a abundância e a riqueza de anfípodes na policultura foram cerca de 2 vezes maiores do que em todas as monoculturas individualmente (Figura 2). Isso indica um efeito da diversidade de macroalgas hospedeiras sobre esses parâmetros da comunidade de anfípodes. No entanto, esse mesmo efeito não foi observado para a diversidade (Índice de Shannon) e a dominância (Índice de Simpson(D)) da comunidade (Anova, Tabela 2). Também observamos uma grande magnitude (ω^2) do efeito da riqueza das algas, sendo significativo para abundância e a riqueza dos anfípodes. Já o efeito da identidade das algas não influenciou nenhum parâmetro analisado (Anova, Tabela 2).

Os resultados para o desenho aditivo foram semelhantes ao encontrado para o desenho substitutivo, reforçando a importância da diversidade de macroalgas para a comunidade de anfípodes associados. A abundância foi cerca de 5 vezes maior na policultura do que nas monoculturas. Já a riqueza da policultura foi cerca de 2 vezes maior do que nas monoculturas (Figura 3). Não foi observado efeito sobre a diversidade (Índice de Shannon) e dominância (Índice de Simpson(D)) de anfípodes (Anova, Tabela 6). A riqueza de macroalgas teve um forte efeito significativo na densidade e riqueza de anfípodes, enquanto a identidade das macroalgas não influenciou nenhuma variável resposta. Os acréscimos de abundância e riqueza na policultura do desenho aditivo foi muito maior proporcionalmente do que o observado no desenho substitutivo. Apesar da diferença no tamanho das monoculturas entre os desenhos substitutivos e aditivos (volume das monoculturas três vezes maior no desenho substitutivo do que no aditivo), ambos desenhos indicam um efeito consistente da riqueza, mas não da identidade, das macroalgas na comunidade de anfípodes (Anova, Tabela 2).

Tabela 2- Resultados da Análise de Variância para abundância, riqueza, diversidade e dominância da comunidade de anfípodes no desenho substitutivo (a) e aditivo (b). O modelo total representa o teste principal e o efeito da riqueza e da identidade das macroalgas foi calculado através de comparações planejadas. ω^2 representa a magnitude do efeito observado (Kirk 2013). Dados foram transformados em raiz quadrada. Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de variação	g.l.	QM	F	p	ω^2
(a) Desenho substitutivo					
<i>Densidade</i>					
Modelo total	3	27,36	4,877	0,0135	0,368
Efeito da riqueza	1	80,14	14,283	0,0016	0,420
Efeito da identidade	2	0,97	0,1738	0,8420	0,000
<i>Riqueza</i>					
Modelo total	3	2,49	17,3	<0,0001	0,710
Efeito da riqueza	1	7,37	51,21	<0,0001	0,729
Efeito da identidade	2	0,05	0,33681	0,7190	0,000
<i>Diversidade (H')</i>					
Modelo total	3	0,025	2,651	0,0841	0,192
Efeito da riqueza	1	0,029	3,07	0,0991	0,081
Efeito da identidade	2	0,023	2,33127	0,1293	0,112
<i>Dominância (D)</i>					
Modelo total	3	0,007	1,855	0,1780	0,114
Efeito da riqueza	1	7×10^{-5}	0,02	0,8950	0,000
Efeito da identidade	2	0,010	2,77293	0,0925	0,157
(b) Desenho aditivo					
<i>Densidade</i>					
Modelo total	3	95,920	43,44	<0,001	0,86422
Efeito da riqueza	1	287,160	130,05	<0,001	0,87596
Efeito da identidade	2	0,300	0,13575	0,8741	0,000
<i>Riqueza</i>					
Modelo total	3	3,427	25,07	<0,001	0,78304
Efeito da riqueza	1	10,053	73,54	<0,001	0,78661
Efeito da identidade	2	0,115	0,83577	0,4516	0,000
<i>Diversidade (H')</i>					
Modelo total	3	0,008	0,642	0,5990	0,000
Efeito da riqueza	1	0,009	0,695	0,4170	0,000

Efeito da identidade	2	0,008	0,61638	0,5522	0,000
----------------------	---	-------	---------	--------	-------

Dominância (D)

Modelo total	3	0,001	0,194	0,8990	0,000
Efeito da riqueza	1	0,0002	0,043	0,8380	0,000
Efeito da identidade	2	0,001	0,26975	0,7670	0,000

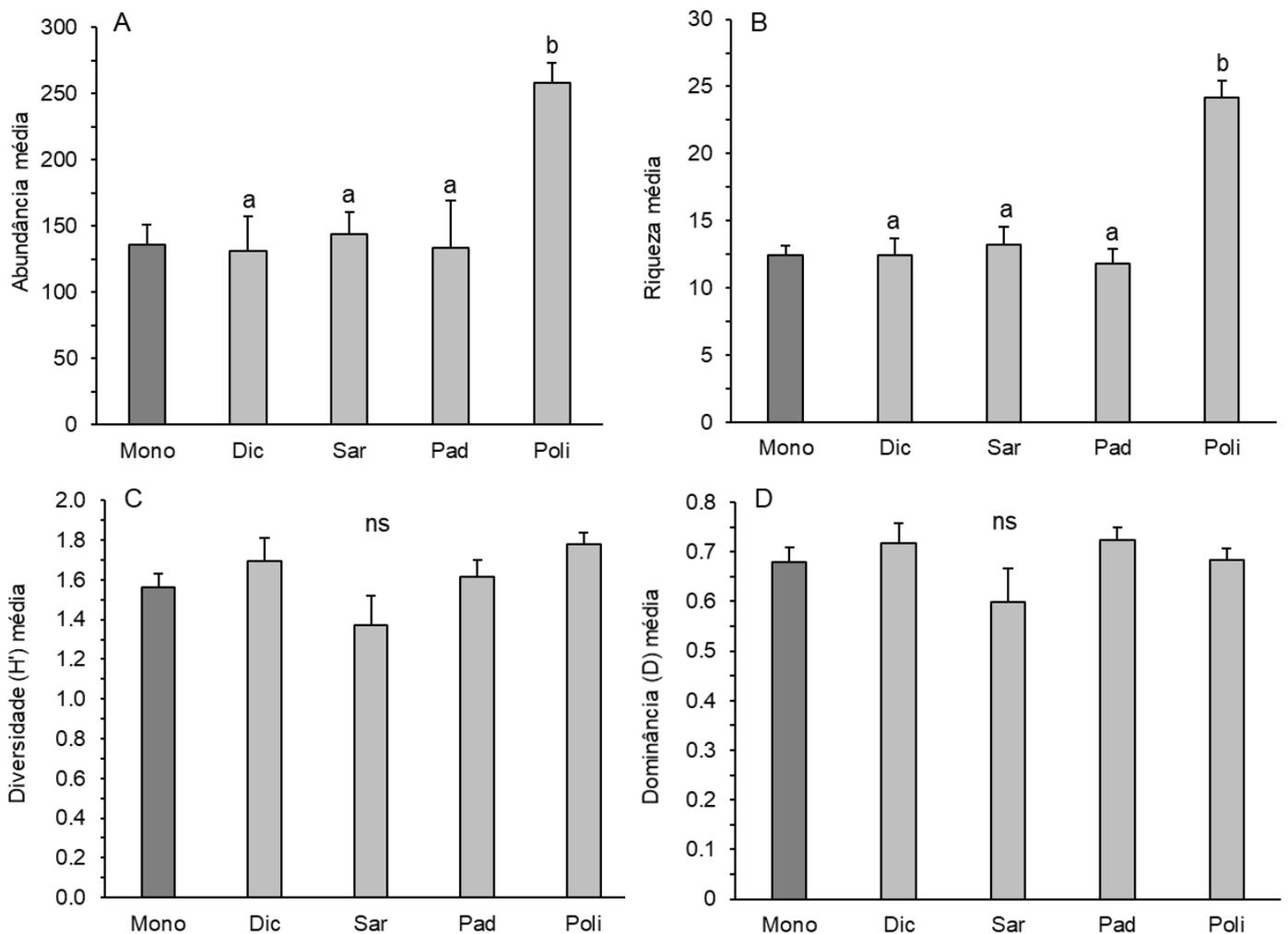


Figura 2- (A) Abundância média, (B) Riqueza média, (C) Diversidade média, (D) Dominância média das monoculturas e policulturas para o experimento substitutivo (volume=30mL para as monoculturas e policulturas). Mono= média das três monoculturas, Dic=monocultura de *Dichotomaria marginata*, Sar=monocultura de *Sargassum filipendula*, Pad=monocultura de *Padina gymnospora*, Poli=policultura. Barras de erro representam o erro padrão. Letras diferentes entre barras da mesma cor representam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Ns= ausência de diferença significativa (Tukey, $p > 0,05$).

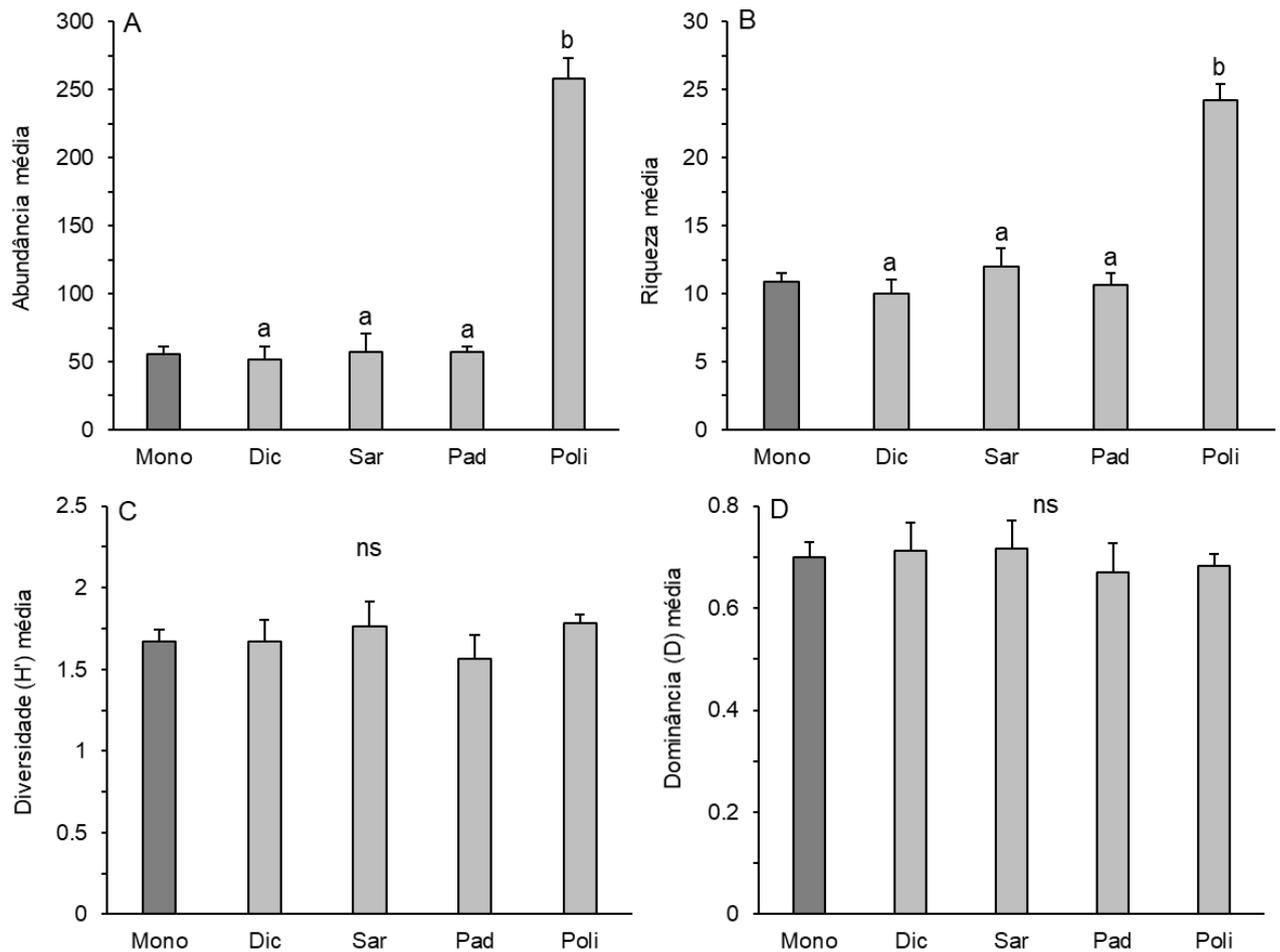


Figura 3 - (A) Abundância média, (B) Riqueza média, (C) Diversidade média, (D) Dominância média das monoculturas e policulturas para o experimento aditivo (volume=30mL para policulturas e volume=10mL para cada monocultura). Mono= média das três monoculturas, Dic=monocultura de *Dichotomaria marginata*, Sar=monocultura de *Sargassum filipendula*, Pad=monocultura de *Padina gymnospora*, Poli=policultura. Barras de erro representam o erro padrão. Letras diferentes entre barras da mesma cor representam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Ns= ausência de diferença significativa (Tukey, $p > 0,05$).

Para o desenho substitutivo, nós também observamos que a policultura apresentou um desvio positivo dos rendimentos relativos esperados para as três monoculturas (i.e. $Dt > 0$) em todos os parâmetros analisados. Os maiores acréscimos de rendimentos na policultura foram observados na abundância (89%) e riqueza (94%), enquanto os menores na diversidade (14%) e dominância (0,3%) (Tabela 3). Além disso, foi possível observar que o rendimento da policultura também foi maior quando comparado ao rendimento máximo da melhor monocultura (i.e. $Dmax > 0$), indicando uma superprodução nos parâmetros da comunidade de anfípodas, exceto para a dominância (Tabela 3).

Tabela 3- Valores médios observados para os parâmetros de abundância, riqueza, diversidade e dominância na policultura, monocultura e na melhor monocultura no experimento com desenho substitutivo. A espécie considerada melhor monocultura para cada parâmetro analisado está entre parênteses. Dt = variação do observado na policultura pelo esperado entre as monoculturas. Dmax = variação entre o observado na policultura e o esperado baseado na melhor monocultura.

	Policultura	Monocultura	Melhor monocultura	Dt	Dmax
Abundância	258,2	133,13	144 (<i>Sargassum</i>)	0,89667	0,79306
Riqueza	24,2	12,47	13,2 (<i>Sargassum</i>)	0,94118	0,83333
Diversidade (H')	1,7808	1,56	1,69(<i>Dichotomaria</i>)	0,14157	0,05199
Dominância (D)	0,683	0,68	0,72 (<i>Padina</i>)	0,00397	-0,05687

A composição da comunidade de anfípodes da policultura foi diferente das três monoculturas que, por sua vez, foram semelhantes entre si, em ambos os desenhos (substitutivo e aditivo) (Permanova, Tabela 4). Para o desenho substitutivo, as espécies que mais contribuíram para as diferenças entre a policultura e as monoculturas foram *Batea catharinensis* (mais abundante nas monoculturas de *Padina gymnospora* e de *Sargassum filipendula* do que na policultura) e *Erichthonius brasiliensis*, *Sunamphitoe pelagica*, *Aora spinicornis* e *Ampithoe ramondi* (todos mais abundantes na policultura) (SIMPER, Tabela 5). Já no desenho aditivo, as espécies que mais contribuíram para as diferenças entre a policultura e as monoculturas foram *Erichthonius brasiliensis*, *Batea catharinensis*, *Cymadusa filosa*, *Aora spinicornis* e *Ampithoe ramondi*. Nesse caso, para todas as espécies mencionadas, a abundância foi maior na policultura (SIMPER, Tabela 5).

Tabela 4- Permanova para a composição das comunidades de anfípodes nas policulturas e nas monoculturas de *Padina gymnospora*, *Dichotomaria marginata* e *Sargassum filipendula* dos desenhos substitutivo (a) e aditivo (b). Valores em negrito indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte de Variação	gl	QM	Pseudo-F	p
<i>(a) Desenho substitutivo</i>				
Tratamento	3	1674,4	22,964	0,0063
Resíduo	16	729,14		
<i>(b) Desenho aditivo</i>				

Tratamento	3	3166,1	36,544	0,0001
Resíduo	16	866,37		

Tabela 5- Resultado do Simper indicando as espécies que mais contribuíram (em %) para as diferenças na composição dos anfípodes entre a policultura e as monoculturas de *Padina gymnospora*, *Dichotomaria marginata* e *Sargassum filipendula*. Para cada comparação, o tratamento no qual a espécie foi mais abundante está indicado entre parênteses. E.c.= *Erichthonius brasiliensis*, B.c.=*Batea catharinensis*, S.p.=*Sunamphitoe pelagica*, A.s.= *Aora spinicornis*, A.r. =*Ampithoe ramondi* e C.f.=*Cymadusa filosa*.

	Poli x <i>Padina</i>	%	Poli x <i>Dichotomaria</i>	%	Poli x <i>Sargassum</i>	%
Desenho substitutivo	E. c. (poli)	18,1	E. c. (poli)	16,5	E. c. (poli)	15,9
	B. c. (<i>Padina</i>)	5,35	S. p. (poli)	5,36	A. s. (poli)	5,92
	A. r. (poli)	4,63	A. r. (poli)	4,87	B. c. (<i>Sargassum</i>)	5,67
Desenho aditivo	E. c. (poli)	17,2	E. c. (poli)	16,8	E. c. (poli)	19,2
	B. c. (poli)	9,79	B. c. (poli)	10,3	B. c. (poli)	12,1
	A. r. (poli)	4,98	C. f (poli)	5,14	A.s. (poli)	4,95

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que a perda da diversidade das macroalgas hospedeiras afeta a densidade, riqueza e composição da comunidade dos anfípodes associados. Tais resultados encontrados foram atribuídos ao efeito da riqueza, mas não da identidade, das macroalgas hospedeiras. Esse padrão é robusto, uma vez que foi observado tanto no desenho aditivo (volume do tratamento aumenta com riqueza de algas) como no substitutivo (volume do tratamento não muda com a riqueza de algas). O efeito positivo da diversidade de macroalgas sobre a densidade e a riqueza de anfípodes é suportado pela observação de um maior desempenho em policultura do que o esperado, considerando a contribuição individual de cada espécie nas monoculturas (i.e. $Dt > 0$), ou mesmo quando comparada com as melhores monoculturas (i.e. $D_{max} > 0$). Esses resultados refletem a importância da manutenção da diversidade dos bancos de macroalgas para a comunidade da fauna associada.

No presente estudo, a diversidade das macroalgas influenciou fortemente a abundância e a riqueza da comunidade de anfípodes. As policulturas de macroalgas abrigaram maior abundância e riqueza de anfípodes do que as monoculturas. Apesar do efeito da diversidade de macroalgas sobre abundância, riqueza e composição de anfípodes, a diversidade e dominância desse grupo não variou entre os tratamentos de monocultura e policultura, assim como observado em outro estudo (Hughes & Stachowicz 2004). Ainda, a composição de anfípodes diferiu entre as monoculturas e a policultura. As espécies *B. catharinensis*, *S. pelagica*, *A. spinicornis*, *A. ramondi*, *E. brasiliensis* e *C. filosa* foram as mais representativas na comunidade de anfípodes no presente estudo. Essas espécies são bastante abundantes em macroalgas (Machado et al. 2019a) e, nesse experimento, todas foram mais abundantes na policultura, com exceção de *B. catharinensis* (mais abundante nas monoculturas de *P. gymnospora* e *S. filipendula* para o desenho substitutivo). Macroalgas são facilitadoras no ambiente marinho ao disponibilizar habitat (Lippert et al. 2001) e alimento (Machado et al. 2017), o que permite a existência de uma fauna associada abundante e diversa (Hughes & Stachowicz 2004, Reusch et al. 2005). Por isso, uma maior diversidade de substratos (i.e. policultura) pode representar uma maior disponibilidade de recursos, o que explicaria nossos resultados.

Os resultados do presente trabalho não são consistentes com alguns estudos prévios que não encontraram efeito da diversidade de algas sobre as comunidades associadas. Lemieux & Cusson (2014) não observaram mudanças na diversidade da fauna associada ao manipular a identidade e riqueza de macroalgas e mexilhões, embora tenham observado mudanças nas guildas tróficas. Ainda, Bates & DeWreede (2007) analisaram monoculturas e policulturas de macroalgas com morfologias diferentes (foliosas x complexas) e mostraram que a diversidade das macroalgas não influencia a comunidade de invertebrados associados. A exceção desse resultado foi observada no tratamento com monocultura de macroalgas foliosas, reforçando o papel da complexidade do substrato e da identidade da macroalga. No entanto, tais estudos são baseados em experimentos com maior duração (mais do que 4 semanas) do que o apresentado em nosso estudo. Esses estudos também diferem do nosso ao manipular macroalgas com diferentes complexidades estruturais ou outros substratos biológicos (mexilhões) associados. A resolução taxonômica da fauna também foi diferente, sendo utilizado apenas morfoespécies (Bates & DeWreede 2007) ou grupos tróficos (Lemieux & Cusson 2014). Tais diferenças entre os trabalhos podem explicar os contrastes nos resultados encontrados. Também é importante ressaltar que esses trabalhos que não encontraram efeitos da diversidade de macroalgas sobre a fauna associada foram todos realizados em regiões temperadas, no qual a força das interações bióticas é menor (Schemske et al. 2009). O presente estudo foi realizado em sistemas subtropicais,

identificando a comunidade em espécies, e apresentou um claro efeito da diversidade de macroalgas sobre a comunidade de anfípodes. Portanto, mais estudos em diferentes latitudes, usando diferentes substratos e/ou grupos da fauna associada, com diferentes tempos de colonização, são necessários para avaliar o quão consistentes são os efeitos da diversidade dos substratos biológicos sobre os organismos associados. Somente a partir disso, será possível entender com propriedade, e fazer extrapolações para o sistema marinho, de como alterações na diversidade de substratos biológicos podem afetar a comunidade da fauna associada.

Observamos uma elevada magnitude do efeito da riqueza de macroalgas sobre a abundância e a riqueza da fauna associada. Tal resultado reforça a sugestão de que um incremento na riqueza de espécies de macroalgas está associado a uma maior oferta de recursos para a fauna associada. De fato, a perda de espécies formadoras de habitat representa uma complexa alteração que pode envolver a perda de: (1) recursos alimentares, (2) complexidade física do habitat e (3) espécies residentes ou associadas (Airoidi et al. 2008). Essas perdas podem atuar em conjunto ou separadamente, direcionando de maneira distinta e bastante complexa os efeitos da perda da diversidade sobre a comunidade associada. Esse cenário de perda de espécies formadoras de hábitat vem sendo constantemente acelerado pelas mudanças no clima (Swanson & Fox 2007, Widdicombe & Spicer 2008, Poore et al. 2013, Sampaio et al. 2017). Nesse sentido, nossos resultados reforçam que a perda de organismos facilitadores, como as macroalgas, representa uma redução da disponibilidade de hábitat e alimento, reduzindo a abundância e riqueza da fauna associada. Além disso, a perda de macroalgas pode ter outras consequências para os ecossistemas marinhos, como a redução da riqueza de caranguejos, poliquetas e mexilhões (Wells 1961, Ruesink et al. 2005), mudança na composição da epifauna (Reed & Hovel 2006), redução da biomassa e diversidade de peixes associados (Hughes et al. 2002), homogeneização do habitat (Balata et al. 2007) e alterações nas cadeias tróficas (Graham 2004).

Por outro lado, não observamos efeito da identidade das macroalgas hospedeiras sobre a comunidade de anfípodes associados. Esse resultado é diferente do que esperávamos e diverge de outros estudos, uma vez que é conhecida a importância da identidade da macroalga hospedeira sobre a fauna associada (Taylor & Cole 1994, Lippert et al. 2001, Parker et al. 2001, Christie et al. 2009). Inclusive, efeitos robustos da identidade das espécies afetando os mais variados processos em ecossistemas são amplamente conhecidos (Cardinale et al. 2006, Stachowicz et al. 2007). Porém, grande parte desses efeitos significativos da identidade das espécies são relatados para certas variáveis resposta, como produção primária e secundária, e envolvem interações dentro de um mesmo nível trófico (e.g.

competição, facilitação) ou interações de consumo (entre níveis tróficos adjacentes). Em contraste, a associação da fauna com substratos biológicos, incluindo as macroalgas, envolve uma complexa interação que depende da oferta de habitat e alimento (representado pelo próprio substrato, ou cuja disponibilidade é facilitada pelo substrato) (Duffy & Hay 1994, Christie et al. 2009), e geralmente tal interação é avaliada por meio de descritores da comunidade da fauna associada (Bhaduri & Wolf 2017). Espécies de macroalgas geralmente diferem quanto a atributos morfológicos e químicos que afetam o uso desses substratos como habitat e/ou alimento pela fauna associada (Duffy & Hay 1994, Zamzow et al. 2010, Poore et al. 2013). No presente estudo, ainda que haja certa variação entre as macroalgas quanto a atributos que afetam a fauna associada, é possível que tal variação não seja suficiente para provocar diferenças relevantes entre esses hospedeiros quanto à comunidade de anfípodes. De fato, as três macroalgas usadas nesse estudo são capazes de abrigar similar abundância, riqueza e diversidade da fauna ao longo do ano todo (Machado et al. 2019a). Além disso, uma vez que espécies de anfípodes simpátricas diferem quanto a demandas por alimento e habitat (Guerra-Garcia et al. 2011, Guerra-Garcia et al. 2014, Machado et al. 2017), substratos com maior variedade desses recursos, como a policultura, devem suprir às necessidades de mais espécies de anfípodes do que substratos relativamente mais simples, como as monoculturas. Nesse sentido, o incremento oferecido pela maior riqueza de macroalgas na policultura (que se traduz em riqueza de habitats e alimento) deve ter um papel fundamental para estruturar as comunidades de anfípodes associados.

Observamos um desvio positivo do desempenho da policultura em relação a todas as monoculturas (i.e. $Dt > 0$), reforçando a importância da diversidade de macroalgas para a fauna associada. O desempenho das policulturas também foi maior que o desempenho individual da melhor monocultura (i.e. $D_{max} > 0$). Valores positivos de Dt e D_{max} indicam um efeito sinérgico positivo do desempenho das espécies em policulturas, sendo conhecido como efeito de complementariedade (Loreau 1998, Loreau & Hector 2001, Bruno et al. 2005). As macroalgas que foram usadas no experimento não contribuem de maneira similar para o banco de macroalgas na área de estudo. *Sargassum filipendula* forma extensos bancos no infralitoral (Széchy & Paula 2000), enquanto *Padina gymnospora* e *Dichotomaria marginata* ocorrem em manchas ao longo do costão rochoso. Nesse sentido, o banco de macroalgas como um todo pode ser visto como uma policultura natural, mas com diferentes contribuições das espécies dominantes. Apesar de *Sargassum filipendula* apresentar uma clara dominância em campo e ser a monocultura mais produtiva, não encontramos diferenças entre as espécies de monocultura quanto a riqueza e abundância de anfípodes que elas comportam, reforçando o efeito de complementariedade no sistema. Em uma revisão de meta-análise, Cardinale et al. (2006) mostraram que as policulturas não são mais produtivas em termos de biomassa do

que a monocultura mais produtiva, não corroborando o efeito da complementariedade. No entanto, esse resultado pode ser devido ao curto período de duração dos experimentos analisados (1 a 3 anos). Efeitos de complementariedade são mais prováveis de serem observados em experimentos ao longo prazo (vários anos) (Tilman et al. 2014). Para o nosso sistema de estudo, que envolve a colonização dos anfípodes, um período de tempo bastante curto (i.e. 4 dias) foi suficiente para observarmos o efeito da complementariedade, sugerindo que esse é um sistema altamente dinâmico. Esse resultado também indica que esse efeito da complementariedade, observado em comunidade maduras e estáveis já se inicia desde o processo de colonização, pelo menos no nosso sistema de estudo.

Os experimentos com desenho aditivo e o substitutivo apresentaram os mesmos resultados, reforçando que a riqueza tem papel fundamental no sistema de estudo. No entanto, outros trabalhos encontraram diferenças entre os dois desenhos experimentais. Bruno et al. (2008) encontraram efeito da riqueza de macroalgas sobre os herbívoros associados somente no desenho aditivo. Nesse caso, é possível que o sistema de estudo tenha um papel fundamental para determinar os resultados que serão encontrados por meio dos desenhos experimentais usados. Em estudos futuros, para sistemas semelhantes ao nosso, talvez não seja necessário realizar dois desenhos experimentais, já que ambos respondem de maneira similar. Nesse sentido, uma simplificação no desenho experimental (i.e. usando apenas um desenho experimental) pode reduzir custos e facilitar a interpretação dos resultados.

Macroalgas são produtores primários que permitem o estabelecimento de uma diversa fauna associada, pois atuam como facilitadores no ambiente marinho (Bertness et al. 1999). Mudanças no clima vêm afetando diretamente os organismos formadores de habitat, reduzindo sua abundância e diversidade (Lotze & Milewski 2004, Bates et al. 2005, Waycott et al. 2009). Mudanças na comunidade de macroalgas, reduzindo sua diversidade, representam a perda ou redução dos recursos oferecidos por elas, como habitat e alimento. Essa mudança afeta diretamente os anfípodes que são dependentes desses recursos. Nossos resultados mostram que bancos mais diversos de algas hospedeiras favorecem o desenvolvimento de uma fauna associada mais rica e abundante em comparação a bancos de alga monoespecíficos. Portanto, a manutenção da diversidade de macroalgas hospedeiras é fundamental para a comunidade dos anfípodes associados. Ainda, no presente estudo, usamos o efeito da perda da diversidade de macroalgas para verificar quais as consequências sobre outras comunidades marinhas, como os anfípodes associados. Nesse sentido, nós enfatizamos a importância de estudos experimentais como esse, capazes de manipular efeitos previstos das mudanças no clima (como a perda da diversidade de macroalgas), para

entender de forma mais abrangente os possíveis desdobramentos de tais alterações ambientais nos ecossistemas marinhos.

REFERÊNCIAS

Airoldi, L; Balata, D; Beck, M W. 2008. The Gray Zone: Relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366: 8-15.

Allison, A. 2004. The influence of species diversity and stress intensity on community resistance and resilience. *Ecological Monographs* 74: 117-134.

Anderson, M J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26: 32-46.

Arrivillaga, A; Baltz, D M. 1999. Comparison of fishes and macroinvertebrates on seagrass and bare-sand sites on Guatemala's Atlantic Coast. *Bulletin of Marine Science* 65: 301-319.

Balata, D; Piazzini, L; Cinelli, F. 2007. Increase of sedimentation in a subtidal system: Effects on the structure and diversity of macroalgal assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 351: 73-82.

Bates, C R; DeWreede, R E. 2007. Do changes in seaweed biodiversity influence associated invertebrate epifauna? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 344: 206–214.

Bates, C R; Saunders, G W; Chopin, T C. 2005. An assessment of two taxonomic distinctness indices for detecting seaweed assemblage responses to environmental stress. *Botanica Marina* 48: 231–243.

Benson, S M; Surles, T L. 2006. Carbon dioxide capture and storage: an overview with emphasis on capture and storage in deep geological formations. *Proceedings of the IEEE* 94 10: 1795–1805.

Bertness, M D; Shumway, SW. 1993. Competition and facilitation in marsh plants. *The American Naturalist* 142: 718-724.

Bertness, M D. 1989. Intraspecific competition and facilitation in northern acorn barnacles. *Ecology* 70: 257–268.

Bertness, M D; Leonard, G H; Levine, J M; Schmidt, P R; Ingraham, A O. 1999. Testing the relative contribution of positive and negative interactions in rocky intertidal communities. *Ecology* 80: 2711–2726.

Bhaduri, R N; Wolf, M. 2017. Saccate thallus of the red macroalga *Halosaccion glandiforme* harbor diverse invertebrate fauna. *International Aquatic Research* 9: 169–176.

Bruno, J F; Bertness, M D. 2001. Habitat modification and facilitation in benthic marine communities. In: M D Bertness; S D Gaines; H M E (eds). *Marine community ecology* Sunderland, Massachusetts, USA: Sinauer Associates, INC. pp. 201–218.

Bruno, J F; Boyer, K E; Duffy, J E; Lee, S C; Kertesz, J S. 2005. Effects of macroalgal species identity and richness on primary production in benthic marine communities. *Ecology Letters* 8: 1165–74.

Bruno, J F; Lee, S C; Kertesz, J S; Carpenter, R C; Long, Z T; Duffy, J E. 2006. Partitioning the effects of macroalgal species identity and richness on benthic marine primary production. *Oikos* 115: 170-178.

Bruno, J F; Boyer, K E; Duffy, J E; Lee, S C. 2008. Relative and interactive effects of plant and grazer richness in a benthic marine community. *Ecology* 89: 2518–2528.

Bueno, M; Leite, F P P. 2019. Age and life style affect macroalgae colonization by amphipods in shallow marine environments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 514–515: 59–66.

Bueno, M; Dias, G M; Leite, F P P. 2017. The importance of shore height and host identity for amphipod assemblages. *Marine Biology Research*, DOI: 10.1080/17451000.2017.1306650.

Byrnes, J; Stachowicz, J J; Hultgren, K M; Hughes, A R; Olyarnik, S V et al. 2006. Predator diversity strengthens trophic cascades in kelp forests by modifying herbivore behaviour. *Ecology Letters* 9: 61-71.

Cacabelos, E. Olabarria, C; Incera, M; Troncoso, J S. 2010. Effects of habitat structure and tidal height on epifaunal assemblages associated with macroalgae. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 89: 43e52.

Caldeira, K; Wickett, M E. 2003. Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425: 365–365.

Cardinale, B J; Srivastava, D S; Duffy, J E; Wright, J P; Downing, A L; et al. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* 443: 989-992.

Chemello, R; Milazzo, M. 2002. Effect of macroalgal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. *Marine Biology* 140: 981-990.

Cheung, W W; Lam, V W; Sarmiento, J L; Kearney, K; Watson, R; Pauly, D. 2009. Projecting global marine biodiversity impacts under climate change scenarios. *Fish Fisheries* 10: 235e251.

Christie, H; Norderhaug, K M; Fredriksen, S. 2009. Macrophytes as habitat for fauna. *Marine Ecology Progress Series* 396: 221-233.

Church, J A, White, N J. 2006. A 20th century acceleration in global sea-level rise. *Geophysical Research Letters* 33: 94–97.

de la Hoz, C F; Ramos, E; Puente, A; Juanes, J A. 2019. Climate change induced range shifts in seaweeds distributions in Europe. *Marine Environmental Research* 148: 1-11.

Duffy, J E; Hay, M E. 1994. Herbivory resistance to seaweed chemical defense: The roles of mobility and predation risk. *Ecology* 75: 1304-1319.

Duffy, J E; Richardson, J P, France, K E. 2005. Ecosystem consequences of diversity depend on food chain length in estuarine vegetation. *Ecology Letters* 8: 301–309.

Eklöf, J S; de la Torre Castro, M; Adelsköld, L; Jiddawi, N S; Kautsky, N. 2005. Differences in macrofaunal and seagrass assemblages in seagrass beds with and without seaweed farms. *Estuarine Coastal Shelf Science* 63: 385–396.

Eklöf, J S; van der Heide, T; Donadi, S; van der Zee, E M; O'hara, R; Eriksson, B K. 2011. Habitat-mediated facilitation and counteracting ecosystem engineering interactively influence ecosystem responses to disturbance. *PLoS ONE* 6: e23229.

Eriksson, B K; Rubach, A; Hillebrand, H. 2006. Biotic habitat complexity controls species diversity and nutrient effects on net biomass production. *Ecology* 87: 246–254.

Fischetti, M. 2013. Deep heat threatens marine life. *Scientific American* 308: 92.

Fredriksen, S; Christir, H; Saethre, B A. 2005. Species richness in macroalgae and macrofauna assemblages on *Fucus serratus* L. (phaeophyceae) and *Zoostera marina* L. (Angiospermae) in Skagerrak, Norway. *Marine Biology Research* 1: 2-19.

Fridley, J D. 2001. The influence of species diversity on ecosystem productivity: how, where and why? – *Oikos* 93: 514-526.

Gee, J M; Warwick, R M. 1994. Metazoan community structure in relation to the fractal dimension of marine macroalgae. *Marine Ecology Progress Series* 103: 141–150.

Graham, M H; Edwards, M S. 2001. Statistical significance versus fit: estimating the importance of individual factors in ecological analysis of variance. *Oikos* 91: 505-516.

Graham, M H. 2004. Effects of local deforestation on the diversity and structure of southern California giant kelp forest food webs. *Ecosystems* 7: 341–357.

Guerra-García, J. M.; Figueroa, J. M. T; Navarro-Barranco, C.; Ros, M.; Sánchez-Moyano, J. E. & Moreira, J. 2014. Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula *Journal of Sea Research* 85: 508–517.

Guerra-García, J M; Baeza-Rojano, E; Cabezas, M P; García-Gómez, J C. 2011. Vertical distribution and seasonality of peracarid crustaceans associated with intertidal macroalgae. *Journal of Sea Research* 65: 256–264.

Hacker, S D; Steneck, R S. 1990. Habitat architecture and abundance and body-size-dependent habitat selection of a phytal amphipod. *Ecology* 71: 2269-2285.

Harley, C D G; Randall Hughes, A; Hultgren, K M; Miner, B G; Sorte, C J B; Thornber, C S; et al. 2006. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* 9: 228–241.

Hauser, A; Attrill, M J; Cotton, A. 2006. Effects of habitat complexity on the diversity and abundance of macrofauna colonising artificial kelp holdfasts. *Marine Ecology Progress Series* 325: 93–100.

Hicks, G R F. 1980. Structure of phytoplankton harpacticoid copepod assemblages and the influence of habitat complexity and turbidity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 44: 157-192.

Eklof, J S; van der Heide, T; Donadi, S; van der Zee, E M; O'hara, R; Eriksson, B K. 2011. Habitat-mediated facilitation and counteracting ecosystem engineering interactively influence ecosystem responses to disturbance. *PLoS ONE* 6: e23229.

Hill, R; Bellgrove, A; Macreadie, P I; Petrou, K; Beardall, J; Steven, A; Ralph, P J. 2015. Can macroalgae contribute to blue carbon? An Australian perspective. *Limnology Oceanography* 60: 1689–1706.

Hooper, D U; Chapin, E S; Ewel, J J; Hector, A; Inchausti, P; Lavorel, S; et al. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75: 3-35

Hughes, A R; Stachowicz, J J. 2004. Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 8998–9002.

Hughes, J E; Deegan, L A; Wyda, J C; Weaver, M J; Wright, A. 2002. The effects of eelgrass habitat loss on estuarine fish communities of southern New England. *Estuaries* 25: 235–249.

Jacobucci, G B; Leite, F P P. 2006. Biologia populacional das espécies de Amphipoda (Amphipoda, Crustacea) associadas a *Sargassum filipendula* C. Agarth, na Praia da Fortaleza, Ubatuba, São Paulo. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 1207-1216.

Jacobucci, G B; Tanaka, M O; Leite, F P P. 2009. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquatic Ecology* 43: 1031-1040.

Johnson, V R; Russell, B D; Fabricius, K E; Brownlee, C; Hall-Spencer, J M. 2012. Temperate and tropical brown macroalgae thrive, despite decalcification, along natural CO₂ gradients. *Global Change Biology* 18: 2792-2803.

Kappelle, M; Van Vuuren, M M I; Baas, P. 1999. Effects of climate change on biodiversity: a review and identification of key research issues. *Biodiversity and Conservation* 8: 1383-1397.

Kawamata, S; Hasegawa, M. 2006. Effects of oscillating water flow on feeding of rabbit fish *Siganus fuscescens* on kelp. *Nippon Suisan Gakkaishi* 72: 717–724.

Kirk R E. 2013. Research Strategies and the Control of Nuisance Variables In: *Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences*. SAGE Publications, Thousand Oaks, pp 1-32.

Komatsu, T; Fukuda, M; Mikami, A; Mizuno, S; Kantachumpoo, A; Tanoue, H.; Kawamiya, M. 2014. Possible change in distribution of seaweed, *Sargassum horneri*, in northeast Asia under A2 scenario of global warming and consequent effect on some fish. *Marine Pollution Bulletin* 85: 317-324.

Kraufvelin, P; Salovius, S. 2004. Animal diversity in Baltic rocky shore macroalgae: can *Cladophora glomerata* compensate for lost *Fucus vesiculosus*? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61: 369–378.

Leite, F P P; Tanaka, M O; Gebara, R S. 2007. Structural variation in the brown macroalga *Sargassum cymosum* and its effects on associated amphipod assemblages. *Brazilian Journal of Biology* 67: 215-21.

Lemieux, J; Cusson, M. 2014. Effects of habitat-forming species richness, evenness, identity, and abundance on benthic intertidal community establishment and productivity. *PLoS ONE* 9(10): e109261.

Levine, J M; D'Antonio, C M. 1999. Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 87: 15–26.

Lilley, S A; Schiel, D R. 2006. Community effects following the deletion of a habitat-forming macroalga from rocky marine shores. *Oecologia* 148: 672–681

Lippert, H; Iken, K; Rachor, E; Wiencke, C. 2001. Macrofauna associated with macroalgae in the Kongsfjord (Spitsbergen). *Polar Biology* 24: 512-522.

Loreau, M; Hector, A. 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412: 72–76.

Loreau, 1998. Separating sampling and other effects in biodiversity experiments. *Oikos* 82: 600-602.

Loreau, M; Naeem, S; Inchausti, P; Bengtsson, J, Grime, J P; Hector, A; et al. 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* 294: 804–808.

Lotze, H K; Milewski, I. 2004. Two centuries of multiple human impacts and successive changes in a North Atlantic food web. *Ecological Applications* 14: 1428–1447.

Machado, G B O; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2017. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host macroalga-epiphyte system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486: 328-335.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Bueno, M; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2019a. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. *Hydrobiologia* 836: 65-81.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Leite, F P P. 2019b. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzer. *Marine Biology* 166: 55.

Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-Being: Wetlands and Water*. World Resources Institute.

Nelson, W G. 1979. Experimental studies of selective predation on amphipods: consequences for amphipod distribution and abundance. *Journal of Experimental Marine Biology* 38: 225-245.

Parker, J D; Duffy, J E; Orth, R J. 2001. Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 224: 55-67.

Phelps, C M; Boyce, M C; Huggett, M J. 2017. Future climate change scenarios differentially affect three abundant algal species in southwestern Australia. *Marine Environmental Research* 126: 69e80.

Pires, A P F; Srivastava, D S; Marino, N A C; Macdonald, A M; Figueiredo-Barros, M P; Farjalla, V F. 2018. Interactive effects of climate change and biodiversity loss on ecosystem Functioning. *Ecology* 99: 1203-1213.

Poore, A G B; Graba-Landry, A; Favret, M; Brennand, H S; Byrne, M; Dworjanyn, S A. 2013. Direct and indirect effects of ocean acidification and warming on a marine plant–herbivore interaction. *Oecologia* 173: 1113-1124.

Proulx, R; Wirth, C; Voigt, W; Weigelt, A; Roscher C; Attinger, S; et al. 2010. Diversity promotes temporal stability across levels of ecosystem organization in experimental grasslands. *PLoS ONE* 5(10): e13382.

R Core Team 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Reed, B J; Hovel, K A. 2006. Seagrass habitat disturbance: how loss and fragmentation of eelgrass *Zostera marina* influences epifaunal abundance and diversity. *Marine Ecology Progress Series* 326: 133–143.

Reusch, T B H; Ehlers, A; Hammerli, A; Worm, B. 2005. Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 102: 2826-2831.

Sackville-Hamilton, N R. 1994. Replacement and additive designs for plant competition studies. *Journal of Applied Ecology* 31: 599-603.

Sampaio, E; Rodil, I F; Vaz-Pinto, F; Fernandez, A; Arenas, F. 2017. Interaction strength between different grazers and macroalgae mediated by ocean acidification over warming gradients. *Marine Environmental Research* 125: 25e33.

Schemske, D W; Mittelbach, G G; Cornell, H V; Sobel, J M; Roy, K. 2009. Is There a Latitudinal Gradient in the Importance of Biotic Interactions? *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40: 245-269.

Schramm, W; Nienhuis, P H. 1996. Marine Benthic Vegetation: Recent changes and effects of eutrophication (*Ecological Studies*), vol. 123. Springer-Verlag, Berlin. pp. 492.

Stachowicz, J J. 2001. Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *BioScience* 51: 235–246.

Stachowicz, J J; Bruno, J F; Duffy, J E. 2007. Understanding the effects of marine biodiversity on communities and ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and systematics* 38: 739–66.

Stachowicz, J J; Whitlatch, R B; Osman, R W. 1999. Species diversity and invasion resistance in a marine ecosystem. *Science* 286: 1577-1579.

Swanson, A K; Fox, C H. 2007. Altered kelp (Laminariales) phlorotannins and growth under elevated carbon dioxide and ultraviolet-B treatments can influence associated intertidal food webs. *Global Change Biology* 13: 1696–1709.

Széchy, M T M; Paula, E J. 2000. Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 121-132.

Tanaka, M O; Leite, F P P. 2003. Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293: 1-22.

Tanaka, M O; Leite, F P P. 2004. Distance effects on short-term recolonization of *Sargassum stenophyllum* by mobile epifauna, with an analysis of gammarid life habits. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 84: 901-910.

Swanson, A K; Fox, C H. 2007. Altered kelp (Laminariales) phlorotannins and growth under elevated carbon dioxide and ultraviolet-B treatments can influence associated intertidal food webs. *Global Change Biology* 13: 1696–1709.

Taylor, R B; Cole, R G. 1994. Mobile epifauna on subtidal brown seaweeds in northeastern New Zealand. *Marine Ecology Progress Series* 115: 271–282.

Thompson, R C; Wilson, B J; Tobin, M L; Hill, A S; Hawkins, S J. 1996. Biologically generated habitat provision and diversity of rocky shore organisms at a hierarchy of spatial scales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 202: 73-84.

Tilman, D. 1997. Distinguishing between the effects of species diversity and species composition. *Oikos* 80: 185.

Tilman, D; Knops, J; Wedin, D; Reich, P; Ritchie, M; Siemann, E. 1997. The Influence of Functional Diversity and Composition on Ecosystem Processes. *Science* 277: 1300-1302.

Tilman, D. 1999. The ecological consequences of changes in biodiversity: a search for general principles. *Ecology* 80: 1455-1474.

Tilman, D; May, R M; Lehman, C L; Nowak, M A. 1994. Habitat destruction and the extinction debt. *Nature* 371: 65-66.

Tilman, D; Isbell, F; Cowles, J M. 2014. Biodiversity and ecosystem functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45: 471-493.

Wang, G Z; Jing, W P; Wang, S L; Xu, Y; Wang, Z Y; Zhang, Z L; Li, Q L; Dai, M H. 2014. Coastal acidification induced by tidal-driven submarine groundwater discharge in a coastal coral reef system. *Environmental Science & Technology* 48: 13069-13075.

Waycott, M; Duarte, C M; Carruthers, T J B; Orth, R J; Dennison, W C; Olyarnik, S; et al. 2009. Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 12377-12381.

Wells, H W. 1961. The fauna of oyster beds, with special reference to the salinity factor. *Ecological Monographs*. 31: 266-329.

Willis, K J; Bhagwat, S A. 2009. Biodiversity and climate change. *Science* 326 (5954): 806-807.

Widdicombe, S; Spicer, J I. 2008. Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366 :187–197.

Zamzow, J P; Amsler, C D; McClintock, J B; Baker, B J. 2010. Habitat choice and predator avoidance by Antarctic amphipods: the roles of macroalgal chemistry and morphology. *Marine Ecology Progress Series* 400:155-163.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse trabalho mostram que as mudanças no clima, principalmente o aquecimento da água do mar, podem afetar diretamente a comunidade de macroalgas e a fauna associada. Organismos reagem de maneira muito distinta frente ao mesmo estressor ambiental, sendo que alguns grupos podem ser muito mais sensíveis ao aquecimento do que outros. Isso reafirma a necessidade de ampliarmos os estudos desses efeitos sobre uma maior diversidade de espécies. Além disso, nossos resultados mostram a importância de uma abordagem mais integrativa para obter resultados mais robustos e ecologicamente realísticos. Nesse sentido, esse trabalho mostrou que abordar o efeito dos estressores de maneira isolada e combinada, assim como diferentes variáveis respostas (aptidão, fisiologia e comportamento) são fundamentais para avaliar os diversos efeitos esperados sobre os organismos. Também englobamos diferentes níveis organizacionais (de indivíduos a comunidades), e importantes relações ecológicas existentes entre eles (alimentação e facilitação), para compreender como mudanças nesses níveis menores são capazes de prever mudanças em níveis maiores, como o ecossistema marinho.

Mudanças na homeostase dos organismos por alterações térmicas ou no metabolismo ácido-base alteraram diretamente a fisiologia dos indivíduos, modificando sua sobrevivência e outros processos vitais, como respiração e excreção. Além disso, mudanças no comportamento alimentar também foram observadas. Por outro lado, as macroalgas também apresentaram mudanças fisiológicas que alteraram a sua composição química e o valor nutricional. Ainda, a perda da diversidade das macroalgas hospedeiras afetou diretamente a comunidade dos anfípodes associados. Todas essas alterações observadas frente a mudanças ambientais podem aproximar ou distanciar esses organismos do seu ótimo fisiológico, o que afeta diretamente a sua área de distribuição, influenciando a composição das comunidades. Uma vez que as comunidades de macroalgas e fauna são afetadas, os dois elos dessa relação se tornam comprometidos, podendo alterar a força e a direção das interações ecológicas que elas participam. Mudanças na relação de consumo entre macroalgas e os herbívoros associados e no processo de facilitação podem desencadear um efeito cascata no ambiente marinho, causando efeitos ecossistêmicos como reestruturação das comunidades marinhas, alteração nas produtividades primária e secundária e no fluxo energético marinho.

Esses resultados mostram que as mudanças no clima são uma grande ameaça para a manutenção da diversidade e o funcionamento do sistema marinho, pois são capazes de comprometer diferentes níveis organizacionais e as relações ecológicas entre eles. O

agravamento previsto das mudanças no clima pode acelerar ainda mais esses processos. Importante ressaltar que não só os animais e vegetais marinhos serão afetados nessa situação, mas toda a comunidade humana que depende dos serviços oferecidos por esse importante ambiente. Portanto, é cada vez mais urgente aceitar o processo de transformação que o ambiente marinho vem sofrendo e, a partir disso, tentar propor formas de frear ou pelo menos desacelerar esse processo, além de medidas efetivas para mitigar as mudanças que não poderão ser contidas.

REFERÊNCIAS

- Aarset, A V; Aunaas, T. 1990a. Influence of environmental salinity on oxygen consumption and excretion of the arctic under-ice amphipod *Onisimus glacialis*. *Marine Biology* 107: 9-15.
- Almagro-Pastor, V; Conradi, M; DelValls, T A; Riba, I. 2015. Alterations in the macrobenthic fauna from Guadarranque River (Southern Spain) associated with sediment–seawater acidification deriving from CO₂ leakage. *Marine Pollution Bulletin* 96: 65-75.
- Amsler, M O; Huang, Y M; Engl, W; McClintock, J B, Amsler, C D. 2015. Abundance and diversity of gastropods associated with dominant subtidal macroalgae from the western Antarctic Peninsula. *Polar Biology* 38: 1171-1181.
- Amsler, D C; McClintock, B J; Baker, J B. 2012. Amphipods exclude filamentous macroalgae from the Western Antarctic Peninsula benthos: experimental evidence. *Polar Biology* 35: 171-177.
- Angilletta Jr, M J; Niewiarowski, P H; Navas, C A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 27: 249-268.
- Angilletta, M J. 2009. *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press, Oxford, pp. 306.
- Appelhans, Y S; Thomsen, J; Opitz, S; Pansch, C; Melzner, F; Wahl, M. 2014. Juvenile sea stars exposed to acidification decrease feeding and growth with no acclimation potential. *Marine Ecology Progress Series* 509: 227–239.
- Arnold, T; Mealey, C; Leahey H; Miller, A W; Hall-Spencer, J M; et al. 2012. Ocean Acidification and the Loss of Phenolic Substances in Marine Plants. *PLoS ONE* 7(4): e35107. doi:10.1371/journal.pone.0035107.
- Axenov-Gribanov, D; Bedulina, D; Shatilina, Z; Jakob, L; Vereshchagina, K; Lubyaga, Y et al. 2016. Thermal Preference Ranges Correlate with Stable Signals of Universal Stress Markers in Lake Baikal Endemic and Holarctic Amphipods. *PLoS ONE* 11(10): e0164226.
- Bakun, A; Weeks, S J. 2004. Greenhouse gas buildup, sardines, submarine eruptions and the possibility of abrupt degradation of intense marine upwelling ecosystems. *Ecology Letters* 7: 1015–1023.

Baloo, N; Appadoo, C. 2017. Effect of acidified seawater and high temperature on the survival and behaviour of supralittoral and sublittoral amphipods (Crustacea). *WIO Journal of Marine Science* 16: 1-11.

Basallote, M D; Rodriguez-Romero, A; Blasco, J; Del Valls, A; Riba, I. 2012. Lethal effects on different marine organisms, associated with sediment–seawater acidification deriving from CO₂ leakage. *Environment Science and Pollution Research* 19: 2550–2560.

Bertness, M D. 1989. Intraspecific competition and facilitation in northern acorn barnacles. *Ecology* 70: 257–268.

Bertness, M D; Leonard, G H; Levine, J M; Schimidt, P R; Ingraham, A O. 1999. Testing the relative contribution of positive and negative interactions in rocky intertidal communities. *Ecology*, 80: 2711–2726.

Bible, J M; Evans, T G; Sanford, E. 2020. Differences in induced thermotolerance among populations of *Olympia oysters*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 239: 110563.

Borg, A.; Pihl, L; Wennhage, H. 1997. Habitat choice by juvenile cod (*Gadus morhua* L.) on soft bottoms with different vegetation types. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 51: 197–212.

Bruno, J F; Stachowicz, J J; Bertness, M D. 2003. Inclusion of faciliton into ecological theory. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 119-125.

Bueno, M; Dena-Silva, S A; Flores, A A V; Leite, F P P. 2016. Effects of wave exposure on the abundance and composition of amphipod and tanaidacean assemblages inhabiting intertidal coralline macroalgae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96: 761–767.

Bueno, M; Dias, G M; Leite, F P P. 2017. The importance of shore height and host identity for amphipod assemblages, *Marine Biology Research*, DOI: 10.1080/17451000.2017.1306650.

Bui, H; Luu, T; Fotedar, R. 2018. Effects of Temperature and pH on the Growth of *Sargassum linearifolium* and *S. podacanthum* in Potassium-Fortified Inland Saline Water. *American Journal of Applied Sciences*, 15: 186-197.

Byrne, M. 2011. Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 49: 1–42.

Cacabelos, E. Olabarria, C; Incera, M; Troncoso, J S. 2010. Effects of habitat structure and tidal height on epifaunal assemblages associated with macroalgae. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 89: 43e52.

Caldeira, K; Wickett, M E. 2003. Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425: 365–365.

Cardinale, B; Duffy, J; Gonzalez, A. et al. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 486: 59–67

Carr, L; Bruno, J F. 2013. Warming increases the top-down effects and metabolism of a subtidal herbivore. - *Peer Journal* 1: e109.

Chemello, R; Milazzo, M. 2002. Effect of macroalgal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. *Marine Biology* 140:981-990.

Chen, J C; Lin, M N; Ting, Y Y; Lin, J N. 1995. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperature levels. *Comparative Biochemistry and Physiology* 110A: 253–258.

Cheung, W W; Lam, V W; Sarmiento, J L; Kearney, K; Watson, R; Pauly, D. 2009. Projecting global marine biodiversity impacts under climate change scenarios. *Fish and Fisheries* 10: 235e251.

Church, J A; White, N J. 2006. A 20th century acceleration in global sea-level rise. *Geophysical Research Letters* 33: L01602.

Cottin, D; Roussel, D; Foucreau, N; Hervant, F; Piscart, C. 2012. Disentangling the effects of local and regional factors on the thermal tolerance of freshwater crustaceans. *Naturwissenschaften* 99: 259–264.

de la Hoz, C F; Ramos, E; Puente, A; Juanes, J A. 2019. Climate change induced range shifts in seaweeds distributions in Europe. *Marine Environmental Research* 148: 1-11.

Duffy, J E; Hay, M E. 1990. Seaweed adaptations to herbivory. *BioScience*, 40: 368-375.

Egilsdottir, H; Spicer, J I; Rundle, S D. 2009. The effect of CO₂ acidified sea water and reduced salinity on aspects of the embryonic development of the amphipod *Echinogammarus marinus* (Leach). *Marine Pollution Bulletin* 58: 1187–1191.

Eklof, J S; van der Heide, T; Donadi, S; van der Zee, E M, O'hara, R; Eriksson, B K 2011. Habitat-mediated facilitation and counteracting ecosystem engineering interactively influence ecosystem responses to disturbance. *PLoS ONE* 6(8): e23229.

Eklöf, J S; Alsterberg, C; Havenhand, J N; Sundbäck, K; Wood, H L; Gamfeldt, L. 2012. Experimental climate change weakens the insurance effect of biodiversity. *Ecology Letters* 15: 864–872.

Endo, H; Suehiro, K; Kinoshita, J; Gao, X; Agatsuma, Y. 2013. Combined effects of temperature and nutrient availability on growth and phlorotannin concentration of the brown macroalga *Sargassum patens* (Fucales; Phaeophyceae). *American Journal of Plant Sciences* 4: 14-20.

Fabry, V J; Seibel, B A; Feely, R A; Orr, J C. 2008. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science* 65: 414–432.

Fernandez-Gonzalez J; Sanchez-Jerez P. 2014. First occurrence of *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Crustacea: Amphipoda) on off-coast fish farm cages in the Mediterranean Sea. *Helgoland Marine Research* 68: 187–191.

Fischetti, M. 2013. Deep heat threatens marine life. *Scientific American* 308: 92.

Foucreau, N; Cottin, D; Piscart, C; Hervant, F. 2014. Physiological and metabolic responses to rising temperature in *Gammarus pulex* (Crustacea) populations living under continental or Mediterranean climates. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 168: 69–75.

Frölicher, T L; Fischer, E M; Gruber, N. 2018. Marine heatwaves under global warming. *Nature* 560: 360–364.

Gabr, M K; Ziena, A F; Hellal, A M. 2020. Abundance and diversity of amphipod species associated with macro-macroalgae at Ras-Mohamed, Aqaba Gulf, Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* 24: 1-15.

Gao, K; Gao, G; Wang, Y; Dupont, S. 2020. Impacts of ocean acidification under multiple stressors on typical organisms and ecological processes. *Marine Life Science & Technology*. <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00048-w>.

García, E; Clemente, S. 2015. Ocean warming ameliorates the negative effects of ocean acidification on *Paracentrotus lividus* larval development and settlement. *Marine Environment Research* 110: 61–68.

Gee, J M; Warwick, R M. 1994. Metazoan community structure in relation to the fractal dimensions of marine macroalgae. *Marine Ecology Progress Series* 103: 141-150.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S, dos Santos, T C A, Hasue, F M; Ngan, P V. 2014. Oxygen consumption and ammonia excretion of the Antarctic amphipod *Bovallia gigantea* Pfeffer, 1888, at different temperatures and salinities. *Brazilian Journal of Oceanography* 62: 315-321.

Gomes, V; Passos, M J A C R; Rocha, A J S, dos Santos, T C A, Machado, A S D; Ngan, P V. 2013. Metabolic rates of the Antarctic amphipod *Gondogeneia antarctica* at different temperatures and salinities. *Brazilian Journal of Oceanography* 61: 243-249.

Gooding, R; Harley, C; Tang, E. 2009. Elevated water temperature and carbon dioxide concentration increase the growth of a keystone echinoderm. *Proceeding of National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 9316–9321.

Gorman, D; Horta, P; Flores, A V V; Turra, A; Berchez, F A S; Batista, M B. et al. 2019. Decadal losses of canopy-forming macroalgae along the warm temperate coastline of Brazil. *Global Change Biology* 26: 1446-1457.

Gouvêa, L P; Assis, J; Gurgel, C F D; Serrão, E A; Silveira, T C L; Santos, R; Duarte, C M. et al. 2020. Golden carbon of *Sargassum* forests revealed as an opportunity for climate change mitigation. *Science of the Total Environment* 729: 138745.

Guerra-García, J M.; Figueroa, J M T; Navarro-Barranco, C; Ros, M; Sánchez-Moyano, J E; Moreira, J. 2014. Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *Journal of Sea Research* 85: 508–517.

Hacker, S D; Steneck, R S. 1990. Habitat architecture and abundance and body-size-dependent habitat selection of a phytal amphipod. *Ecology* 71: 2269-2285.

Harley, C D G; Randall Hughes, A; Hultgren, K M; Miner, B G; Sorte, C J B; Thornber, C S; et al. 2006. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* 9: 228–241.

Harvey, B P; Dylan, G J; Moore, P. 2013. Meta-analysis reveals complex marine biological responses to the interactive effects of ocean acidification and warming. *Ecology and Evolution* 3: 1016–1030.

Hauser, A; Attrill, M J; Cotton, A. 2006. Effects of habitat complexity on the diversity and abundance of macrofauna colonising artificial kelp holdfasts. *Marine Ecology Progress Series* 325: 93–100.

Hicks, G R F. 1980. Structure of phytal harpacticoid copepod assemblages and the influence of habitat complexity and turbidity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 44: 157-192.

Hoegh-Guldberg, O; Mumby, P J; Hooten, A J; Steneck, R S; Greenfield, P; Gomez, E; et al. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* 318: 1737–1742.

Hopkin, R S; Qari, S; Bowler, K; Hyde, D; Cuculescu, M. 2006. Seasonal thermal tolerance in marine Crustacea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 331: 74–81.

IPCC, 2013. Summary for Policymakers. In: Stocker, T. F.; Qin, D.; Plattner, G.-K.; Tignor, M.; Allen, S. K.; Boschung, J.; Nauels, A.; Xia, Y.; Bex, V. & Midgley, P. M. (Eds.), *Climate Change 2013: the Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Jacobucci, G B; Leite, F P P. 2006. Biologia populacional das espécies de Ampithoidae (Amphipoda, Crustacea) associadas a *Sargassum filipendula* C. Agarth, na Praia da Fortaleza, Ubatuba, São Paulo. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 1207-1216.

Jacobucci, G B; Tanaka, M O; Leite, F P P. 2009. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquatic Ecology* 43: 1031-1040.

Ji, Y; Xu, Z; Zou, D; Gao, K. 2016. Ecophysiological responses of marine macroalgae to climate change factors. *Journal of Applied Phycology* 28: 2953-2967.

Katrina, P; Greig, H S; Thompson, P L; Carvalho-Pereira, T S A; Shurin, J B. 2012. Warming modifies trophic cascades and eutrophication in experimental freshwater communities. *Ecology* 93: 1421-1430.

Khalil, A N; Ismael, A A; Halim, Y; El-Zayat, F M. 2020. Is the change in biodiversity of macro-macroalgae in Alexandria coastal waters related to climate change? *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* 24: 435-457.

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. *Ecology Letters* 13: 1419–1434

Le Quere, C; Andres, R J; Boden, T; Conway, T; Houghton, R A; House, J I. 2012. The global carbon budget 1959–2011. *Earth System Science Data* 5: 1107-1157.

Ledet, J; Byrne, M; Poore, A G B. 2018. Temperature effects on a marine herbivore depend strongly on diet across multiple generations. *Oecologia* 187: 483–494.

Li, M H; Cherubini, P; Dobbertin, M; Arend, M; Xiao, W F; Rigling, A. 2013. Responses of leaf nitrogen and mobile carbohydrates in different *Quercus* species provenances to moderate climate changes. *Plant Biology* 15: 177-184.

Lilley, S A; Schiel, D R. 2006. Community effects following the deletion of a habitat-forming macroalga from rocky marine shores. *Oecologia* 148: 672-681.

Lotze, H K; Worm, B. 2002. Complex interactions of climatic and ecological controls on macroalgal recruitment. *Limnology and Oceanography* 47: 1734–1741.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Bueno, M; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2019^a. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. *Hydrobiologia* 836: 65-81.

Machado, G B O; Ferreira, A P; Leite, F P P. 2019^b. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzers. *Marine Biology* 166: 55.

Machado, G B O; Siqueira, S G L; Leite, F P P. 2017. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host macroalga-epiphyte system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486: 328-335.

Martínez, B; Radford, B; Thomsen, M S; Connell, S D; Carreño, F; Bradshaw, C J A; et al. 2018. Distribution models predict large contractions of habitat-forming seaweeds in response to ocean warming. *Biodiversity research* 24: 1350-1366.

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: 1223–1229.

Monroy-Velázquez, L V; Rodríguez-Martínez, R E; van Tussenbroek, B I; Aguiar, T; Solís-Weiss, V; Briones-Fourzán, P. 2019. Motile macrofauna associated with pelagic *Sargassum* in a Mexican reef lagoon. *Journal of Environmental Management* 252: 109650.

Montouchet, P G C. 1972. A fauna vágil associada a *Sargassum cymosum* C. Agardh, na Enseada do Flamengo, Ubatuba, SP. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, pp. 72.

Morales-Nunez, A; Chigbu, P. 2017. Abundance, distribution, and species composition of amphipods associated with macroalgae from shallow waters of the Maryland Coastal Bays, USA. *Marine Biodiversity*. DOI 10.1007/s12526-017-0779-z.

Moreira, P S; Pires-Vanin, A M S. 1977. Aspects of the breeding biology of *Janaira gracilis* Moreira & Pires (Crustacea, Isopoda, Asellota). *Boletim do Instituto Oceanográfico*. São Paulo 26: 181-199.

Nolan, C; Overpeck, J T; Allen, J R M; Anderson, P M; Betancourt, J L; Binney, H A; et al. 2018. Past and future global transformation of terrestrial ecosystems under climate change. *Science* 361: 920-923.

O'Connor, M I. 2009. Warming strengthens an herbivore–plant interaction. *Ecology* 90: 388–398.

Oliver, E C J; Burrows, M T; Donat, M G; Sen Gupta, A; Alexander, L V; Perkins-Kirkpatrick, S E; Benthuyssen, J A; Hobday, A J; Holbrook, N J; Moore, P J; Thomsen, M S; Wernberg, T; Smale, D A. 2019. Projected marine heatwaves in the 21st century and the potential for ecological impact. *Frontiers in Marine Science* 6: 734.

Ornellas, A B; Coutinho, R. 1998. Spatial and temporal patterns of distribution and abundance of a tropical fish assemblage in a seasonal *Sargassum* bed, Cabo Frio Island, Brazil. *Journal of Fish Biology* 53: 198-208.

Orr, K K; Wilding, T A; Horstmeyer, L; Weigl, S; Heymans, J J. 2014. Detached macroalgae: its importance to in shore sandy beach fauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 150: 125-135.

Pandolfi, J M; Conolly, S R; Marshall, D J; Cohen, A L. 2011. Projecting coral reef futures under global warming and ocean acidification. *Science* 333: 418-422.

Parker, J D; Duffy, J E; Orth, R J. 2001. Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 224: 55-67.

Patarra, R; Paiva, L; Neto, A; Lima, E; Baptista, J. 2011. Nutritional value of selected macroalgae. *Journal of Applied Phycology* 23: 205-208.

Petchey, O L; Mcphearson, P T; Casey, T M; Morin, P J. 1999. Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature* 402: 69–72.

Pimm, S L; Russel, G J; Gittleman, J L; Brooks, T M. 1995. The Future of Biodiversity. *Science* 269: 347-350.

Pires, J C M; Martins, F G; Alvim-Ferraz, M C M; Simões, M. 2011. Recent developments in carbon capture and storage: an overview. *Chemical Engineering Research and Design* 89: 1446–1460.

Poore, A G B; Graba-Landry, A; Favret, M; Brennand, H S; Byrne, M; Dworiansyn, S A. 2013. Direct and indirect effects of ocean acidification and warming on a marine plant–herbivore interaction. *Oecologia* 173: 1113-1124.

Pörtner, H O; Knust, R. 2007. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science* 315: 95-97.

Pörtner, H O; Langenbuch, M; Reipschläger, A. 2004. Biological impact of elevated ocean CO₂ concentrations: lessons from animal physiology and Earth history. *Journal of Oceanography* 60: 705-718.

Raybaud, V; Tambutte, S; Ferrier-Pages, C; Reynaud, S; Venn, A A; Tambutte, E; Allemand, D. 2017. Computing the carbonate chemistry of the coral calcifying medium and its response to ocean acidification. *Journal of Theoretical Biology* 424: 26–36.

Sampaio, E; Rodil, I F; Vaz-Pinto, F; Fernandez, A; Arenas, F. 2017. Interaction strength between different grazers and macroalgae mediated by ocean acidification over warming gradients. *Marine Environmental Research* 125: 25-33

Sanford, E. 1999. Regulation of keystone predation by small changes in ocean temperature. *Science* 283: 2095–2097.

Small, D; Calosi, P; White, D; Spicer, J I; Widdicombe, S. 2010. Impact of medium-term exposure to CO₂ enriched seawater on the physiological functions of the velvet swimming crab *Necora puber*. *Aquatic Biology* 10: 11–21.

Somero, G N. 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine ‘winners’ and ‘losers’. *Journal of Experimental Biology* 213: 912–920.

Sornom, P; Felten, V; Médoc, V; Sroda, S; Rousselle, P; Beisel, J N. 2010. Effect of gender on physiological and behavioural responses of *Gammarus roeseli* (Crustacea Amphipoda) to salinity and temperature. *Environmental pollution* 158: 1288–1295.

Staehr, P A; Wernberg, T. 2009. Physiological responses of *Ecklonia radiata* (Laminariales) to a latitudinal gradient in ocean temperature. *Journal of Phycology* 45: 91-99.

Stengel, D B; Connan, S; Popper, Z A. 2011. Macroalgal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances* 29: 483-501.

Tanaka, M O; Leite F P P. 2003. Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293: 1-22.

Tsoi, K H; Chiu, K M; Chu, K H. 2005. Effects of temperature and salinity on survival and growth of the amphipod *Hyale crassicornis* (Gammaridea, Hyalidae). *Journal of Natural History* 39: 325–336.

Van Hoey, G; Degraer, S; Vincx, M. 2004. Macrobenthic community structure of soft-bottom sediments at the Belgian continental shelf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 59: 599-613.

Vazquez-Luis, M; Sanchez-Jerez, P; Bayle-Sempere, J T. 2008. Changes in amphipod (Crustacea) assemblages associated with shallow-water macroalgal habitats invaded by *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* in the western Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research* 65: 416–426.

Walker, D I; Woelkerling, W J. 1988. Quantitative study of sediment contribution by epiphytic coralline red macroalgae in seagrass meadows in Shark Bay, Western Australia. *Marine Ecology Progress Series* 43: 71-77

Walther, G; Post, E; Convey, P; Menzel, A; Parmesan, C; Beebee, T J C; et al. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416: 389–395.

Weinberger, F; Rohde, S; Oschmann, Y; Shahnaz, L; Dobretsov, S; Wahl, M. 2011. Effects of limitation stress and of disruptive stress on induced antigrazing defense in the bladder wrack *Fucus vesiculosus*. *Marine Ecology Progress Series* 427: 83–94.

Widdicombe, S; Dashfield, S L; McNeill, C L; Needham, H R; Beesley, A; McEvoy, A; Øxnevad, S; Clarke, K R; Berge, J A. 2009. Effects of CO₂ induced seawater acidification on infaunal diversity and sediment nutrient fluxes. *Marine Ecology Progress Series* 379: 59–75.

Widdicombe, S; Spicer, J I. 2008. Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366: 187–197.

Wikstrom, S A; Kautsky, L. 2007. Structure and diversity of invertebrate communities in the presence and absence of canopy-forming *Fucus vesiculosus* in the Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72: 168e176.

Worm, B; Lotze, H K; Engkvist, R; Labanauskas, V; Sommer, U. 1999. Marine diversity shift linked to interactions among grazers, nutrients and propagule banks. *Marine Ecology Progress Series* 185: 309–314.

Worm, B; Lotze, H K; Sommer, U. 2000. Coastal food web structure, carbon storage, and nitrogen retention regulated by consumer pressure and nutrient loading. *Limnology and Oceanography* 45: 339–349.

Zimmerman, R; Gibson, R; Harrington, J. 1979. Herbivory and detritivory among gammaridean amphipods from a Florida seagrass community. *Marine Biology* 54: 41–47.

ANEXOS

Declaração da Comissão de Bioética/ Biossegurança



UNICAMP

COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Universidade Estadual de Campinas

Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil



DECLARAÇÃO

Em observância ao **§5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15**, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Tese de Doutorado, intitulada **“COMUNIDADE DE MACROALGAS E SUA FAUNA ASSOCIADA EM UM CENÁRIO DE MUDANÇAS NO CLIMA: EFEITOS SOBRE A DIVERSIDADE, COMPORTAMENTO E FISILOGIA”**, desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ecologia do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: 
Nome da aluna: Ana Paula Ferreira

Assinatura: 
Nome da orientadora: Fosca Pedini Pereira Leite

Data: 20/04/2021

ANEXOS

Declaração de direitos autorais

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Tese de Doutorado, intitulada **COMUNIDADE DE MACROALGAS E SUA FAUNA ASSOCIADA EM UM CENÁRIO DEMUDANÇAS NO CLIMA: EFEITOS SOBRE A DIVERSIDADE, COMPORTAMENTO E FISIOLOGIA**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 20/04/2021

Assinatura :  _____

Nome da autora: **Ana Paula Ferreira**

RG n.º 47110455-3

Assinatura :  _____

Nome da orientadora: **Fosca Pedini Pereira Leite**

RG n.º 4125410