

CESAR BERTAGIA PASQUALETTI

**Análise de pigmentos, proteínas solúveis e
carboidratos em espécies de Rhodophyta das
regiões antártica e subantártica**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

São Paulo

2015

CESAR BERTAGIA PASQUALETTI

**Análise de pigmentos, proteínas solúveis e
carboidratos em espécies de Rhodophyta das
regiões antártica e subantártica**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

ORIENTADORA: DRA. NAIR SUMIE YOKOYA

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Pasqualetti, Cesar Bertagia
P284a Análise de pigmentos, proteínas solúveis e carboidratos em espécies de
Rhodophyta das regiões antártica e subantártica / Cesar Bertagia Pasqualetti – São
Paulo, 2015
101 p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio
Ambiente, 2015

Bibliografia.

1. Algas. 2. Adaptação. 3. Metabólitos. I. Título

CDU: 582.26

*Aos meus pais, minha
irmã, minha tia, meu
primo e minha
namorada, com muito
amor e carinho!*

Agradecimentos

Agradeço...

Primeiramente às incríveis pessoas Pedro, Sílvia, Vanessa e Vinícius, que formam essa querida família, que não medem e nunca mediram esforços para me oferecer apoio, compreensão, incentivo e principalmente amor durante toda minha vida;

À minha namorada, mulher, amiga e professora Isabelle, que além de me proporcionar muitas alegrias, ensinamentos e sonhos, soube entender minha ausência quando necessário;

À minha incrível orientadora, Dra. Nair Sumie Yokoya, por me aceitar como aluno e com isso, me proporcionar dois anos de muito conhecimento, evolução, conselhos e amizade;

À Dra. Maria Angela Machado de Carvalho, por toda a atenção, paciência, ensinamentos e colaboração para o desenvolvimento do presente trabalho;

Aos pesquisadores e funcionários do Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Dra. Mutue, Dra. Silvia, Dra. Diclá, Dra. Célia, Dra. Luciana, Dra. Andréa, Valdilene, Neide, Neuzete e Elizete, pelos conselhos, suportes e ótimas conversas;

Aos alunos do Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Jonatas, Ana Livia, Júlia, Cecília, Mayra, Luanda, Renato, Julyana, Fernanda, Edna, Watson, Dani Milstein e Amanda pela amizade e ótima convivência ao longo desses anos;

Ao Jonatas M. C. de Souza e a Cecília H. Kano, que além de compartilharam comigo praticamente todas as responsabilidades e prazos de entrega, ótimas conversas e caronas, me transferiram grande parte do conhecimento que adquiri ao longo desses dois anos;

Aos amigos Erick Lam, Franciane, Michele, Bruna e Helena, que durante a expedição à Antártica, tive a feliz oportunidade de conhecer, conviver e compartilhar por 1 mês, experiências únicas e de grande valor;

Ao Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica pelo apoio técnico do Pedro, Ana e Mary, e da grande amizade de todos os alunos;

Ao Instituto de Botânica de São Paulo, por toda a infraestrutura e apoio oferecido;

Ao Dr. Pio Colepicolo Neto, por sempre me receber bem em seu laboratório e oferecer todo apoio necessário para o desenvolvimento do trabalho;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio financeiro sob a forma de concessão de bolsa de mestrado (Processo FAPESP 2013/03685-4);

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e ao Programa Antártico Brasileiro, pelo auxílio financeiro e apoio para as viagens de coleta de material biológico na Antártica (Processo CNPq/Proantar 557030/2009-9);

Aos professores Dr. Andres Mansilla (Universidad de Magallanes, Chile) e Dra. Marcela Ávila (Universidad Arturo Prat, Chile), e ao Conicyt (MEC 80100021) pelo apoio e colaboração na coleta de algas da região subantártica.

...Muito Obrigado!!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABELAS.....	X
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XVI
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Macroalgas marinhas bentônicas - Filo Rhodophyta	1
1.2. Ambiente físico polar - Antártica	5
1.3. Ambiente subantártico – Chile.....	6
1.4. Adaptação das macroalga marinhas em ambientes extremos	7
1.4.1. Biodiversidade e distribuição das macroalgas	10
1.4.2. Ecofisiologia das algas polares	11
1.5. Efeitos das mudanças climáticas nas regiões polares.....	14
1.5.1. Aumento da incidência de raios ultra-violeta (UV)	14
1.5.2. Aumento da concentração de CO ₂ atmosférico	15
1.6. Estudos moleculares: “DNA barcoding”	16
1.7. Justificativa	16
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivos específicos	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Espécies selecionadas	18
3.1.1 <i>Palmaria decipiens</i> (Reinsch) R.W.Ricker (Palmariales, Rhodophyta)	18
3.1.2 <i>Georgiella confluens</i> (Reinsch) Kylin (Ceramiales, Rhodophyta)	18
3.1.3 <i>Gigartina skottsbergii</i> Setchell & N.L.Gardner (Gigartinales, Rhodophyta)	18
3.1.4 <i>Iridaea cordata</i> (Turner) Bory de Saint-Vincent (Gigartinales, Rhodophyta)	19
3.2 Coleta e armazenamento do material algáceo	19
3.3 - Determinação do teor de água	25
3.4 - Extração e dosagem de pigmentos fotossintetizantes	25
3.5 - Extração e dosagem de proteínas solúveis totais.....	26

3.6 - Extração de carboidratos solúveis.....	26
3.6.1 Análise quantitativa de carboidratos solúveis	26
3.6.2 Análise qualitativa dos carboidratos solúveis	27
3.7 Extração e análise de ficocolóides	27
3.7.1 Extração dos ficocolóides	27
3.7.2 Análise da qualidade dos ficocolóides	28
3.8 Análises moleculares	29
3.8.1 Extração de DNA	29
3.8.2. Amplificação dos marcadores alvos	29
3.8.3 Limpeza do produto de PCR.....	29
3.8.4 Sequenciamento e purificação	29
3.8.5 Análises de “DNA Barcoding”	29
3.9 Análise estatística dos dados.....	30
4. RESULTADOS.....	31
4.1. Caracterização bioquímica das espécies	31
4.1.1. Pigmentos fotossintetizantes	31
4.1.2. Proteínas Solúveis Totais	34
4.1.3. Açúcares Totais.....	36
4.1.4. Açúcares Redutores.....	38
4.1.5. Análise dos ficocolóides	40
4.1.6. Análise qualitativa dos carboidratos solúveis	44
4.2. Análises estatísticas	48
4.3. Análise molecular: “DNA barcoding”	57
5. DISCUSSÃO.....	60
6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema representativo do histórico de vida com três fases, do tipo Polysiphonia, presente no Filo Rhodophyta. 1
- Figura 2.** Organização estrutural do complexo antena do fotossistema II (FSII) de algas vermelhas (A) e o processo de transferência de energia (B), modificado de Gvindjee & Shevala (2011). 2
- Figura 3.** Esquema representativo da conformação molecular de uma agarana (A) e uma carragenana (B), modificado de Usov (2011). 2
- Figura 4.** Grânulos de amido das florídeas armazenados no citoplasma da célula (Yu et al, 2002). 3
- Figura 5.** Estruturas químicas dos heterosídeos encontrados em macroalgas marinhas (Usov, 2011). 4
- Figura 6.** Esquema representativo da atuação da Corrente Circumpolar Antártica e Corrente Costeira Antártica ao redor do continente antártico (modificado de Lee, 2008). 5
- Figura 7.** Localização da Região de Magalhães na América do Sul (A), sua composição de canais juntos ao Estreito de Magalhães (B) e sua localização no mapa mundial como único pedaço de continente nesta faixa latitudinal (C) (modificado de Aldea, 2012). 7
- Figura 8.** Hábito geral das espécies de algas estudadas no presente trabalho. A – *Palmaria decipiens*; B – *Georgiella confluens*; C - *Gigartina skotsbergii*; D – *Iridaea cordata*. Fotos: Cesar B. Pasqualetti. 20
- Figura 9.** Mapa da área amostrada durante OPERANTAR XXIV, indicando os pontos de coleta da Baía do Almirantado, da Ilha Rei George, localizada no arquipélago Ilhas Shetland do Sul, na Península Antártica (adaptado de Yoneshigue-Valentin et al., 2012). 21
- Figura 10.** Mapa da área amostrada durante a OPERANTAR XXXII, indicando os pontos de coleta nas Ilhas Shetland do Sul. 21
- Figura 11.** Mapa da área amostrada, indicando os pontos de coleta da região subantártica, no Chile (adaptado de Aldea, 2012). 22
- Figura 12.** Aspecto geral de alguns locais de coleta na Região Antártica. A, B – Costão

rochoso e comunidades de macroalgas (Ilha Deception); C, D – Costão rochoso em maré baixa (Ilha Livingston); E – Coleta manual das espécies; F – Biomassa algácea arribada na praia (Ilha Robert). Fotos: A – Eric Lam; B~F – Cesar B. Pasqualetti.23

Figura 13. Locais utilizados durante a expedição para armazenamento e processamento do material coletado. A – Navio Polar Almirante Maximiano; B – Estação Antártica Comandante Ferraz (Módulos Antárticos Emergenciais). Fotos: Cesar B. Pasqualetti.23

Figura 14. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).31

Figura 15. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).32

Figura 16. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrásporo). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).33

Figura 17. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3).

Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).34

Figura 18. Concentração de proteínas solúveis totais das amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).34

Figura 19. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).35

Figura 20. Concentração de proteínas solúveis totais das amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman-Keuls ($p < 0,05$).35

Figura 21. Concentração de proteínas solúveis totais das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).36

Figura 22. Concentração açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de *Palmaria decipiens* (Pd) coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul,

Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Os valores correspondem a médias \pm desvio padrão (n=3).....36

Figura 23. Concentração açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).37

Figura 24. Concentração açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).37

Figura 25. Concentração de açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).38

Figura 26. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).38

Figura 27. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).39

Figura 28. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Média \pm DP (n=3). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).39

Figura 29. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).40

Figura 30. Rendimento de ficocolóide por massa seca de amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).40

Figura 31. Rendimento de ficocolóide por massa seca de amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-

Newman- Keuls ($p < 0,05$).....41

Figura 32. Rendimento de ficocolóide por massa seca de amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman- Keuls ($p < 0,05$).....41

Figura 33. Rendimento de ficocolóide por massa seca de amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman- Keuls ($p < 0,05$).....42

Figura 34. Teor de 3,6 anidrogactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficocolóides da espécie *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).42

Figura 35. Teor de 3,6 anidrogactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficocolóides da espécie *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).....43

Figura 36. Teor de 3,6 anidrogactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficocolóides da espécie *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW =

Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).43

Figura 37. Teor de 3,6 anidrogalactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficolóides da espécie *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).44

Figura 38. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos das amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contem 300 μ g/mL de açúcares totais.45

Figura 39. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos solúveis das amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contem 300 μ g/mL de açúcares totais.46

Figura 40. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos solúveis das amostras *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contem 300 μ g/mL de açúcares totais.47

Figura 41. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos solúveis das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contem 300µg/mL de açúcares totais.48

Figura 42. Diagrama de dispersão de dados dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais dos dados sobre o comportamento dos metabólitos analisados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) nas quatro espécies estudadas *Palmaria decipiens* (Pd), *Georgiella confluens* (Gc), *Gigartina skottsbergii* (Gs) e *Iridaea cordata* (Ic) coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2 e VR = Vaureal) e em diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla - planta cistocárpica; ES T = Punta Estaquilla – tetrasporofito; BQ = Buque Quemada).53

Figura 43. Diagrama de dispersão de dados dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais dos dados sobre o comportamento dos metabólitos analisados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) nas espécies endêmicas *Palmaria decipiens* (Pd) e *Georgiella confluens* (Gc), coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2 e VR = Vaureal).55

Figura 44. Diagrama de dispersão de dados dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais dos dados sobre o comportamento dos metabólitos analisados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR =

Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogalactose; SF = Teor de sulfato) nas espécies *Gigartina skottsbergii* (Gs) e *Iridaea cordata* (Ic) coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal) e em diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla - planta cistocárpica; ES T = Punta Estaquilla – tetrasporofito; BQ = Buque Quemada).56

Figura 45. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências do marcador *cox1*, mostrando o agrupamento das espécies *G. skottsbergii* e *I. cordata* que ocorrem em diversas ilhas na Antártica e na região de Magalhães, no Chile. Nos ramos estão plotados os valores de Bootstrap. As sequências já obtidas retiradas do BOLD estão representadas com (*).58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Nível de endemismo dos táxons de macroalgas da Antártica (Wiencke & Clayton, 2002).....	8
Tabela 2. Dados de coleta e número de depósito no Herbário do Instituto de Botânica (SP) das espécies de rodófitas em estudo coletadas nas Ilhas Shetland do Sul, na Antártica, e na região subantártica (Chile) durante os períodos Novembro/2009 a Fevereiro/2010 e Novembro/2010 a Fevereiro/2011 e Novembro/2013 a Dezembro/2014.....	24
Tabela 3. Primers utilizados para produção de PCR.....	30
Tabela 4. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila <i>a</i> ; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de <i>Palmaria decipiens</i> coletadas nas Ilhas Shetland do Sul, Antártica. Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).....	49
Tabela 5. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila <i>a</i> ; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de <i>Georgiella confluens</i> coletadas nas Ilhas Shetland do Sul, Antártica. Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).....	50
Tabela 6. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila <i>a</i> ; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de <i>Gigartina skottsbergii</i> coletadas em regiões antárticas (Ilhas Shetland do Sul, Antártica) e subantártica (Chile). Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).....	51
Tabela 7. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila <i>a</i> ; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF	

= Teor de sulfato) em amostras de *Iridaea cordata* coletadas em regiões antárticas (Ilhas Shetland do Sul, Antártica) e subantártica (Chile). Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$)..... 52

Tabela 8. Análise dos componentes principais, mostrando a explicabilidade dos dois principais eixos que formam o diagrama de dispersão da Figura 42 e a importância das variáveis sobre ambos os eixos. 53

Tabela 9. Análise dos componentes principais, mostrando a explicabilidade dos dois principais eixos que formam o diagrama de dispersão da Figura 43 e a importância das variáveis sobre ambos os eixos. 54

Tabela 10. Análise dos componentes principais, mostrando a explicabilidade dos dois principais eixos que formam o diagrama de dispersão da Figura 43 e a importância das variáveis sobre ambos os eixos. 56

Tabela 11. Espécies analisadas com indicação dos marcadores moleculares obtidos. “X” indica sequência obtida para o referido marcador, e “P” indica que a sequência foi obtida parcialmente. As sequências já obtidas retiradas do BOLD estão representadas com (*). 57

Tabela 12. Valores de divergência intra e interespecífica para o marcador *cox 1*, entre as espécies coletadas em gradiente latitudinal. BQ = Buque Quemada; RG = Ilha Rei George; LV = Ilha Livingston; FB = Fuerte Bulnes; ES = Punta Estaquilla. 59

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA:	Análise de variância
AW:	Arctowski
BLAST:	Basic Local Alignment Search Tool
BOLD:	Barcode of life Database systems
BQ:	Buque Quemada
BSA:	Bovine serum albumine
CBMM:	Carboidratos de Baixa Massa Molecular
CF:	Estação Antártica Comandante Ferraz
cox 1 / COI:	Gene que codifica para a subunidade I da enzima citocromo c oxidase
DC:	Ilha Deception
DNA:	Ácido desoxirribonucleico
DS:	Denais Stack
DTT:	Ditiotreitol
Ec:	Ponto de compensação
EDTA:	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Ek:	Ponto de saturação
ES C:	Planta cistocárpica de Punta Estaquilla
ES T:	Tetrasporófito de Punta Estaquilla
FB:	Fuerte Bulnes
Gc:	<i>Georgiella confluens</i>
Gs:	<i>Gigartina skottsbergii</i>
HC:	Herve Cove
HCl:	Ácido clorídrico
HM:	Halfmoon
HPAEC/PAD:	Cromatografia de troca aniônica de alta performance acoplado a detector de pulso amperométrico
Ic:	<i>Iridaea cordata</i>
IP:	Ipanema
LV:	Ilha Livingston
MS:	Massa seca
nC:	Nanocoulomb
P:	Fósforo inorgânico
PAR:	Radiação fotossinteticamente ativa

PP:	Punta Plaza
pb:	Pares de base
ACP:	Análise de componentes principais
PCR:	Reação em cadeia de polimerase
Pd:	<i>Palmaria decipiens</i>
R2:	Refúgio 2
RB:	Ilha Robert
rbcL:	Gene que codifica para uma subunidade da Rubisco
TMS:	Temperatura máxima suportada
UPA:	“Universal Plastid Amplicon”, domínio V do gene 23S rRNA
ups:	Unidade principal de salinidade
UV:	Radiação ultra-violeta
VR:	Vaureal

RESUMO

Nas regiões polares, a radiação solar anual é 30% a 50% menor do que nas regiões tropicais, onde o inverno é caracterizado por períodos curtos de luz e longos períodos de escuro devido à noite polar e a cobertura de gelo. Porém no verão, essas regiões são expostas a longos períodos de luz. Para sobreviver a tais condições, as macroalgas marinhas necessitam adotar uma estratégia de adaptação bioquímica e fisiológica para garantir proteção e alimento na ausência de luz, tornando-as resistentes à ação das ondas, à dessecação e à variação de salinidade devido ao ciclo de congelamento/descongelamento. Portanto, o presente estudo teve como principal objetivo caracterizar o perfil de metabólitos primários em quatro espécies de Rhodophyta: *Palmaria decipiens* (Reinsch) R.W.Ricker; *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin, *Gigartina skottsbergii* Setchell & N.L.Gardner e *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent. Foram analisadas amostras coletadas em 23 pontos em diferentes latitudes nas regiões antártica e subantártica. *P. decipiens* e *Georgiella confluens* são espécies endêmicas e foram coletadas nas Ilhas Shetland do Sul em oito e três pontos, respectivamente. *I. cordata* e *Gigartina skottsbergii* foram coletadas em quatro pontos nas Ilhas Shetland do Sul e em um e três pontos, respectivamente, na região de Magalhães (região subantártica). As análises quantitativas (n=3) dos pigmentos fotossintetizantes (ficobiliproteínas e clorofila a), proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis, teor de 3,6 anidrogactose e de sulfato foram realizadas utilizando-se métodos colorimétricos em espectrofotômetro. A análise qualitativa dos carboidratos solúveis foi realizada através da cromatografia de troca aniônica de alto desempenho (HPAEC) e utilizou-se “DNA barcoding” para a confirmação taxonômica das amostras de *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata*. Para avaliar a variação de cada metabólito proveniente de amostras coletadas em diferentes latitudes, foi utilizada análise de variância unifatorial (ANOVA), seguido do teste a posteriori Student-Newman-Keuls. Para análise conjunta dos dados, foram realizadas Correlação de Pearson e Análise de Componentes Principais (ACP). *P. decipiens* apresentou maiores concentrações de proteínas solúveis totais e açúcares redutores, além de apresentar maior diversidade de carboidratos de baixa massa molecular nas amostras coletadas em locais com maiores latitudes. As amostras de *Georgiella confluens*, apesar de apresentarem relações diretamente proporcionais entre seus pigmentos fotossintetizantes, apresentaram maiores concentrações de ficoeritrina e aloficocianina e menor diversidade de açúcares solúveis de baixa massa molecular no local de menor latitude. Por outro lado, *Gigartina skottsbergii* apresentou concentrações mais baixas de clorofila a, proteínas solúveis totais e açúcares totais (fração etanólica) em amostras de menores latitudes da região subantártica. A análise da qualidade do ficocolóide de *Gigartina skottsbergii* evidenciou o maior teor de 3,6 anidrogactose e menor teor de sulfato nas amostras de

latitudes intermediárias (Arctowski, Ilha Rei George, e Fuerte Bulnes, Chile). Além disso, foi possível observar que a planta cistocárpica de *Gigartina skottsbergii* apresentou maiores concentrações de proteínas solúveis totais e açúcares totais (na fração aquosa), e carragenana com maior rendimento, maior teor de 3,6 anidrogactose e menor teor de sulfato, quando comparada com a planta tetrasporofítica. *I. cordata* apresentou maiores concentrações de alofocianina, clorofila *a*, e carragenana com maior rendimento, maior teor de 3,6 anidrogactose e menor teor de sulfato na amostra coletada na região subantártica. As análises moleculares confirmaram a identificação taxonômica de *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata* e demonstraram que as diferenças encontradas no perfil de metabólitos destas espécies estão relacionadas a uma variação interespecífica e intraespecífica. O agrupamento obtido pela ACP evidencia que os metabólitos analisados interagem de formas diferentes em cada espécie estudada, demonstrando estratégias distintas de sobrevivência a ambientes extremos das regiões antártica e subantártica.

Palavras-chave: Macroalgas, Rhodophyta, Antártica, região subantártica, pigmentos, proteínas, carboidratos.

ABSTRACT

In the polar regions, the annual solar radiation is 30% to 50% lower than in the tropical regions, where winter is characterized by short periods of light and long periods of dark due to the polar night and the ice cover. However, in the summer, these regions are exposed to light for long periods. To survive in such conditions, seaweeds need to adopt a biochemical and physiological adaptation strategies to ensure protection and food in the dark period, making them resistant to the action of the waves, desiccation and the change in salinity levels due to the freezing / thawing cycle. Therefore, the main objective of this study is to characterize the profile of primary metabolites in four species of Rhodophyta: *Palmaria decipiens* (Reinsch) R.W. Ricker; *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin, *Gigartina skottsbergii* Setchell & N.L. Gardner and *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent. Samples were collected in 23 sites at different latitudes in the antarctic and subantarctic regions. *P. decipiens* and *Georgiella confluens* are endemic, and they were collected in the South Shetland Islands in eight and three sites, respectively. *I. cordata* and *Gigartina skottsbergii* were collected in four sites in the South Shetland Islands, and one and three sites, respectively, in the Magellan region (subantarctic region). Quantitative analysis (n = 3) of photosynthetic pigments (phycobiliproteins and chlorophyll a), total soluble proteins, soluble carbohydrates, 3,6 anhydrogalactose and sulphate content were performed using colorimetric methods in spectrophotometer. The qualitative analysis of soluble carbohydrates was performed by high performance anion exchange chromatography (HPAEC), and "DNA barcoding" was conducted to confirm the taxonomy of *Gigartina skottsbergii* and *I. cordata* samples. To assess the variation of each metabolite in samples collected in different latitudes, we used one-factor analysis of variance (ANOVA), followed by the Student-Newman-Keuls post test. For joint analysis of the data, Pearson's Correlation and Principal Component Analysis (PCA) were performed. *P. decipiens* had higher concentrations of total soluble proteins and reducing sugars, and presented higher diversity of low molecular weight carbohydrates in samples collected at sites with higher latitudes. Samples of *Georgiella confluens* collected from site with lower latitude presented directly proportional relationship between photosynthetic pigments as well as higher concentrations of phycoerythrin and allophycocyanin, and lower diversity of low molecular weight soluble sugars. Moreover, *Gigartina skottsbergii* showed lower concentrations of chlorophyll a, soluble protein and total sugars (ethanol fraction) in the lower latitude samples, from subantarctic region. The analysis of phycocolloid quality of *Gigartina skottsbergii* showed the highest content of 3,6 anhydrogalactose and lower sulphate content in the intermediate latitudes samples (Arctowski, King George Island, and Fuerte Bulnes, Chile). Furthermore, cystocarpic plant of

Gigartina skottsbergii showed higher concentrations of total soluble proteins and sugars (in aqueous fraction,) carrageenan with higher yield, higher 3,6 anhydrogalactose content, and lower sulfate content when compared with tetrasporophytic plant. *I. cordata* from subantarctic region showed higher concentrations of allophycocyanin, chlorophyll *a*, and carrageenan with higher yield, higher 3,6 anhydrogalactose content and lower sulphate content than those from antarctic region. Molecular analysis confirmed the taxonomic identification of *Gigartina skottsbergii* and *I. cordata* samples, and demonstrated that the differences in their metabolite profile are related to interspecific as well as intraspecific variations. The grouping obtained by the PCA analysis showed that the studied metabolites interact differently in each species, showing different survival strategies to the extreme conditions of antarctic and subantarctic regions.

Key-words: Macroalgae, Rhodophyta, Antarctica, subantarctic region, pigments, proteins, carbohydrates.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Macroalgas marinhas bentônicas - Filo Rhodophyta

O Filo Rhodophyta (algas vermelhas) é composto atualmente por aproximadamente 6000 espécies, que são encontradas nas mais diversas formas e tamanhos, desde organismos unicelulares microscópicos à organismos macroscópicos e estruturalmente mais complexos. É um grupo amplamente distribuído pelo mundo, presente em regiões tropicais e polares, sendo que a grande maioria se encontra em ambiente marinho crescendo geralmente fixa a rochas ou sobre outras algas, como epífitas. As características deste filo podem ser encontradas no histórico de vida, nos cloroplastos, no material de reserva e na parede celular desses organismos (Raven et al., 2007).

A ausência de gametas flagelados pode ter sido responsável pelo aparecimento de um histórico de vida mais complexo do que aqueles dos demais grupos de algas, apresentando alternância de gerações e mais uma fase diplóide (o carposporófito) (**figura 1**), que auxilia a produzir uma maior quantidade de esporos, ampliando a sua dispersão e suprindo assim a falta de flagelos no histórico de vida (Raven et al., 2007).

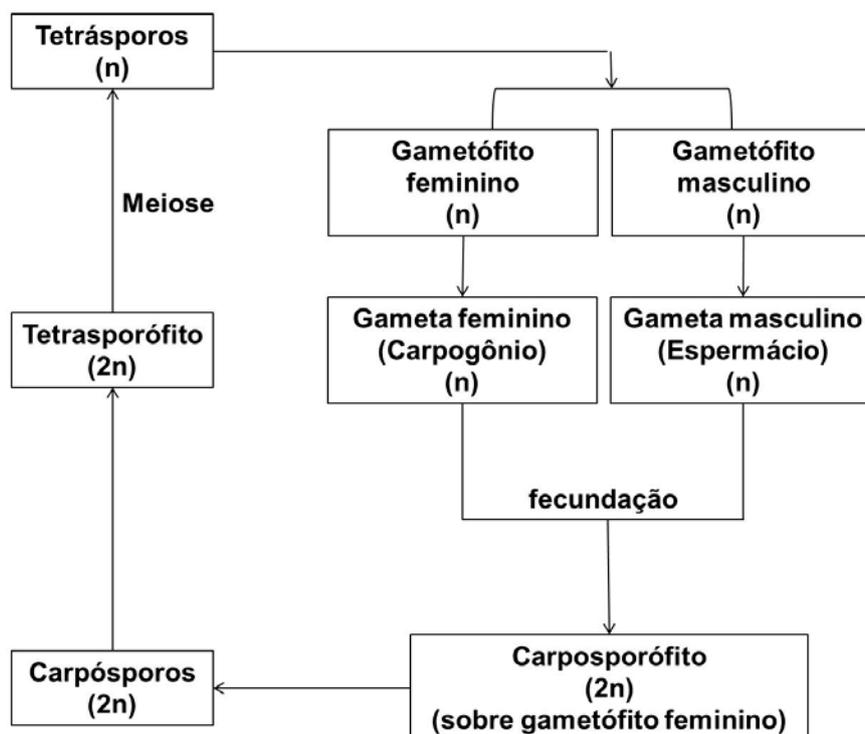


Figura 1. Esquema representativo do histórico de vida com três fases, do tipo Polysiphonia, presente no Filo Rhodophyta.

Os cloroplastos das algas vermelhas são providos de clorofila *a* e ficobilinas, que são pigmentos acessórios com a função de ampliar a faixa de absorção de luz, possibilitando a

sobrevivência em ambientes mais profundos. As ficobilinas incluem 3 tipos de pigmentos, a ficoeritrina, a ficocianina e a aloficocianina, sendo que cada um absorve um comprimento de onda específico, como apresentado na **figura 2** (Gvindjee & Shevala, 2011). Por este motivo, a coloração verde da clorofila é mascarada, dando a cor vermelha característica deste filo. Nas algas vermelhas, esses pigmentos também atuam como reserva de nitrogênio (N), uma vez que na falta de N, a ficoeritrina tende a ser degradada (Bird et al., 1982).

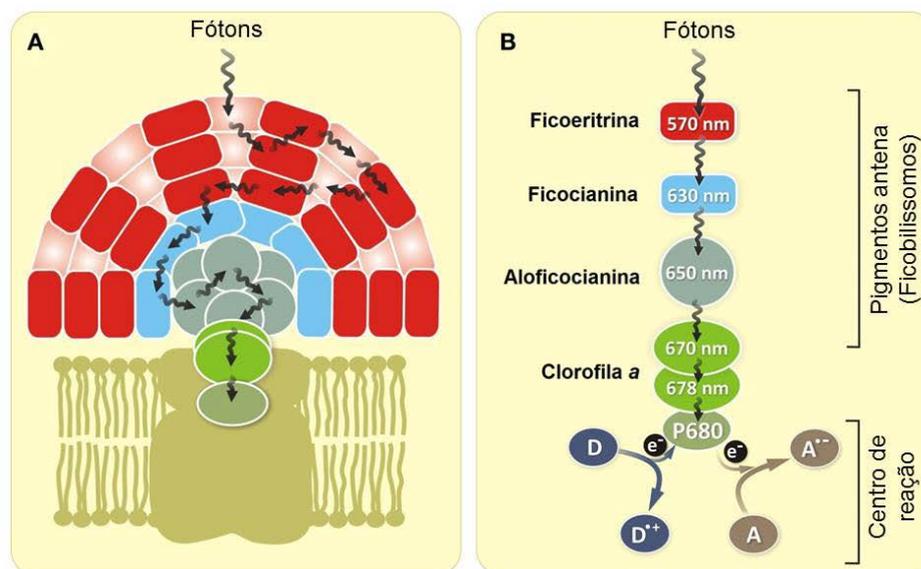


Figura 2. Organização estrutural do complexo antena do fotossistema II (FSII) de algas vermelhas (A) e o processo de transferência de energia (B), modificado de Gvindjee & Shevala (2011).

Assim como os cloroplastos, a parede celular possui algumas peculiaridades, como por exemplo, a presença de polissacarídeos sulfatados de função estrutural, denominados ficocolóides. Estes carboidratos são de grande importância, já que oferecem proteção contra a ação das ondas, herbivoria e dessecação em períodos de maré baixa (Usov, 2011)

Os ficocolóides possuem estrutura constituída de moléculas alternadas de 3- β -D-galactopiranosose e 4- α -galactopiranosose. Quando sintetizados na conformação L são denominadas agaranas e na conformação D, carragenanas (**figura 3**).

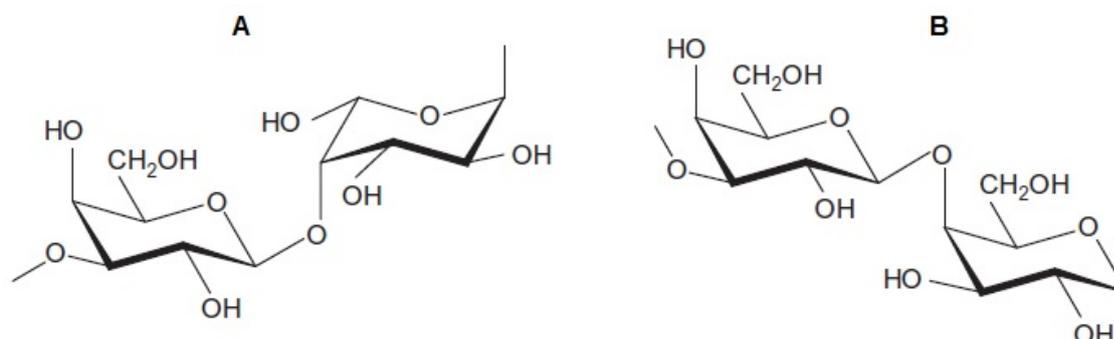


Figura 3. Esquema representativo da conformação molecular de uma agarana (A) e uma carragenana (B), modificado de Usov (2011).

Em alguns casos, os polissacarídeos sofrem alterações em suas estruturas, apresentando moléculas associadas que alteram a sua qualidade. Por exemplo, alguns resíduos de 4- α -galactose podem ser substituídos parcial ou completamente por moléculas de 3,6-anidrogactose. Além disso, os grupos hidroxilas presentes na cadeia de polissacarídeos podem também ser metilados, sulfatados e até mesmo ser substituídos por monossacarídeos, como por exemplo, a xylose. Esses processos ocorrem *in vivo*, através da ação de enzimas específicas que atuam removendo o grupo sulfato e um próton do grupo hidroxila (3-OH) do 4- α -galactose 6-sulfato, formando assim moléculas de 3,6-anidrogactose. Estas transformações resultarão em um gel mais firme, graças à remoção de sulfato (Usov, 2011).

O ágar e a carragenana são produtos de alto valor econômico, já que esses polissacarídeos são muito utilizados na fabricação de produtos alimentícios e farmacêuticos como estabilizantes e espessantes naturais, além de serem utilizados para fabricação de meio de cultura para laboratórios (Pengzhan et al., 2003). Eles são produzidos em grande escala em países como a China, atingindo atualmente, uma média de 1665 toneladas por ano (Sernapesca, 2003), cuja matéria prima é proveniente, principalmente, de rodofíceas pertencentes aos gêneros *Sarcothalia*, *Chondracanthus* e *Gigartina*.

Além dessas aplicações, Damontea et al. (2004) verificaram a atividade antiviral de polissacarídeos sulfatados de diferentes espécies de rodofíceas, dentre elas *Gigartina skottsbergii* Setchell & N.L.Gardner, principalmente contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), causador da AIDS e contra o Vírus Herpes Simplex, causador da Herpes).

Outros carboidratos são também encontrados nas rodofíceas, como o amido das florídeas, que é o produto de reserva encontrado nessas algas. Este polissacarídeo é formado por D-glicopiranoses unidas por ligações $\alpha(1,4)$ e $\alpha(1,3)$ em alguns casos, além disso, podem ocorrer ramificações no C6. Assim como o amido das plantas, estes polissacarídeos formam grânulos, porém são armazenados no citoplasma da célula, como mostra a **figura 4**.

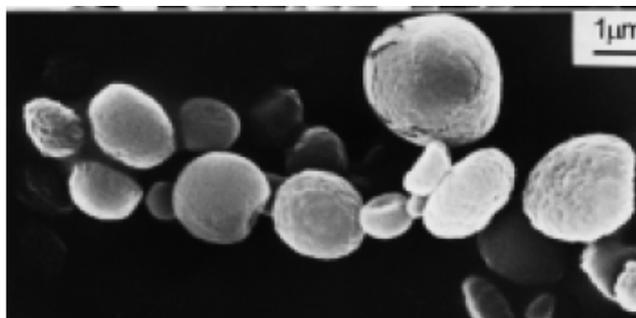


Figura 4. Grânulos de amido das florídeas armazenados no citoplasma da célula (Yu et al, 2002).

Além dos polissacarídeos, as algas sintetizam carboidratos de baixa massa molecular (CBMM), que são de grande importância para a manutenção da pressão osmótica das células.

Estes podem ser heterosídeos, sacarose e polióis (Karsten et al. 1999). Os heterosídeos presentes em macroalgas marinhas são classificados em **floridosídeos**, formados por moléculas de galactose ligadas a molécula de glicerol (α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 2)-glicerol), e seus dois isômeros de posição D-isofloridosídeo (α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 1)-D-glicerol) e L-isofloridosídeo (α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 1)-L-glicerol) e **digeneasídeos**, que são formados por moléculas de manose e ácido glicérico (α -D-manopiranosil-(1 \rightarrow 2)-glicerato), apresentados na **figura 5** (Karsten et al., 1993; Karsten et al., 1999).

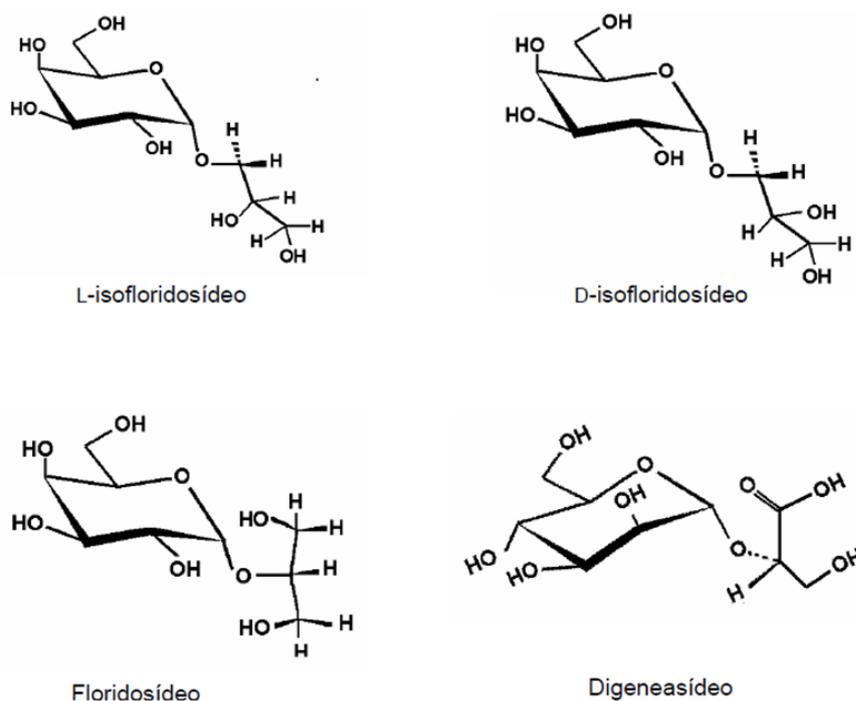


Figura 5. Estruturas químicas dos heterosídeos encontrados em macroalgas marinhas (Usov, 2011).

Os polióis são formados a partir da redução de unidades de monossacarídeos como manose, galactose e glicose, originando os poliálcoois manitol, dulcitol e sorbitol, respectivamente. Estes, além de auxiliarem na regulação osmótica da célula, protegendo a integridade da membrana celular e suas proteínas (Crowe et al., 1987), podem ser considerados um substrato de rápida utilização no processo de respiração celular.

Todos esses metabólitos possibilitam que o filo Rhodophyta apresente uma ampla distribuição no globo terrestre, podendo ocorrer em água doce e salobra, porém a grande maioria está presente em água salgada. Além disso, as rodófitas estão presentes em climas tropicais, temperados e polares, podendo ocorrer em costão rochoso parcialmente submerso até em grandes profundidades (Raven, 2007).

1.2. Ambiente físico polar - Antártica

As regiões polares do planeta Terra, a Antártica e o Ártico, apesar de apresentarem muitas similaridades diferem entre si em alguns pontos. Primeiramente, o histórico de baixas temperaturas é muito distinto: na Antártica, datam de 14 milhões de anos atrás, enquanto que no Ártico elas ocorrem há apenas 2 milhões de anos. Além disso, o Ártico é rodeado por massas de terra continentais, apresentando diversos pontos de conexão com ambientes temperados. Por outro lado, a Antártica é um continente coberto por gelo e completamente cercado pelo Oceano Austral, sem nenhuma ligação por terra com as regiões temperadas desde o Mesozóico (Lüning, 1990), contribuindo para a alta taxa de endemismo da biota deste continente se comparado com o Ártico, onde estes valores são bem baixos (Zacher et al., 2009).

Atualmente, a Antártica ocupa uma posição no globo terrestre de forma que os ventos do leste, próximos ao continente Antártico, conduzem a Corrente Costeira Antártica, enquanto que ao norte desta, ventos do oeste conduzem uma das maiores correntes do planeta, a Corrente Circumpolar Antártica, no sentido oposto, como mostra a **figura 6**. Essa corrente segue ininterruptamente ao redor da Antártica, formando uma barreira geográfica entre este e os demais continentes. Entre a Corrente Costeira Antártica e a Corrente Circumpolar Antártica ocorre uma zona de ressurgência capaz de trazer as águas mais profundas, ricas em nutrientes, para a superfície, favorecendo o desenvolvimento de organismos, principalmente planctônicos, que vivem nestes locais. (Lee, 2008)

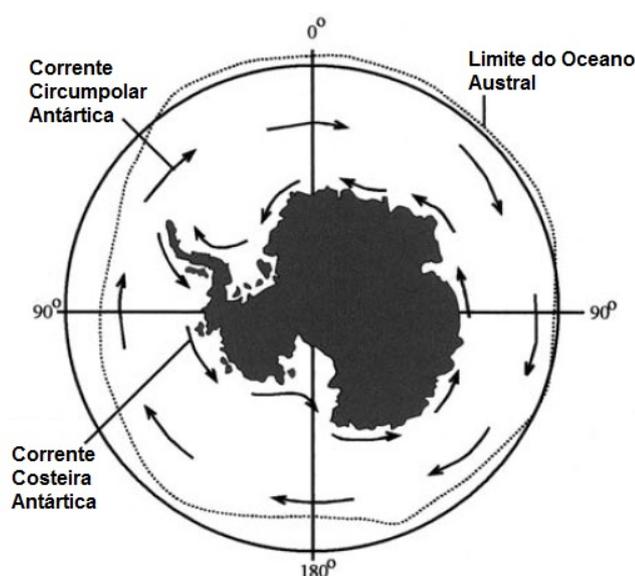


Figura 6. Esquema representativo da atuação da Corrente Circumpolar Antártica e Corrente Costeira Antártica ao redor do continente antártico (modificado de Lee, 2008).

Devido a essas peculiaridades, a Antártica é conhecida como “*O continente dos superlativos*”, pelo fato de ser o mais seco, mais frio, mais ventoso, mais remoto, mais desconhecido e o mais preservado. Além dessas características únicas, este continente se torna ainda mais importante pelo fato de armazenar 80% da água doce do planeta, pela presença de rochas e sedimentos com recursos minerais e energéticos e por controlar as circulações atmosféricas e oceânicas no Hemisfério Sul (Ministério do Meio Ambiente, 2009).

Por todas as características citadas anteriormente, a Antártica tem sido preservada em todos os aspectos pelo Tratado Antártico, que decretou que este continente não pertenceria a nenhum país em específico, sendo um bem da humanidade destinado à preservação e à ciência. Atualmente, é considerada Antártica, as regiões que estão acima da latitude 60° Sul (Ministério do Meio Ambiente, 2009).

1.3. Ambiente subantártico – Chile

A região subantártica é dividida em quatro províncias, sendo elas nomeadas de Forsterian, Antipodean, Kerguelenian e Magellanic (Powell, 1955 apud. Ricker, 1987). Especificamente, a região de Magalhães (Magellanic) é uma província caracterizada por conter ambientes com muitas singularidades. Isto se deve ao fato do histórico geográfico local, que reúne características únicas, originadas da erosão glacial do continente devido aos grandes ciclos de congelamento e degelo que estes locais sofreram. Após a última glaciação, houve elevação do nível do mar que encheu os canais gerados, formando um sistema de canais e mares interiores (Silva & Calvete, 2002), com água superficial com baixa salinidade devido ao degelo e águas mais profundas mais salgadas, vindas dos oceanos (Dyer & Taylor, 1973). Atualmente, esta província é formada pelas seguintes regiões: Patagônia da Ilha de Chiloé (na costa oeste), Cape Blanco (na costa oeste) e Tierra del Fuego, incluindo o leste da Patagônia (Ilhas Malvinas). Esta região é importante, já que a água salgada que entra nesses canais e percorrem pelo Estreito do Magalhães são tanto do Oceano Pacífico como do Oceano Atlântico (Aldea, 2012).

Outro fator que torna essa região única e de grande importância para ciência e preservação é o fato de ser o único ambiente continental presente nesta faixa latitudinal, como mostra a **figura 7**.

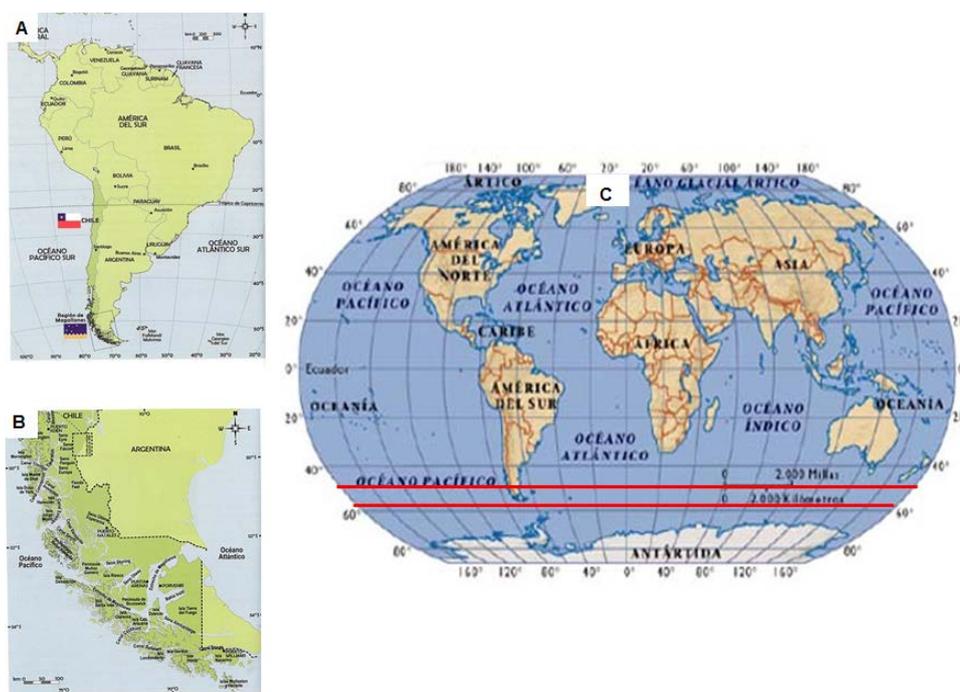


Figura 7. Localização da Região de Magalhães na América do Sul (A), sua composição de canais juntos ao Estreito de Magalhães (B) e sua localização no mapa mundial como único pedaço de continente nesta faixa latitudinal (C) (modificado de Aldea, 2012).

Devido à posição desta região no globo terrestre, o fotoperíodo e a irradiância, assim como na Antártica, sofrem grandes alterações sazonalmente (Mansilla et al., 2006). No inverno há registro de um mínimo de 6 horas de luz, com uma radiação (PAR) de aproximadamente $73 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Junho), com temperaturas por volta de 3 a 11°C , enquanto que no verão o fotoperíodo máximo registrado foi de 18 horas de luz, com uma radiação de aproximadamente $589 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Dezembro), com temperaturas entre 6 a 15°C (Santana et al., 2010; De Broyer & Koubbi, 2014). Porém, até o momento não se tem muito conhecimento sobre a disponibilidade de nutrientes como P e N nas águas dessas regiões. Mas devido alguns estudos, sabe-se que são ambientes ricos em Fe e Mn (Astorga-España & Mansilla, 2014; Astorga-España et al., 2015).

Porém, neste trabalho será tratado como região subantártica, apenas a província de Magalhães (Magellanic), mais especificamente a região da Ilha Chiloé e Tierra del Fuego, já que foram os únicos locais subantárticos que fizeram parte deste estudo.

1.4. Adaptação das macroalga marinhas em ambientes extremos

Os estudos ficológicos em ambientes polares iniciaram no século XIX no continente Antártico, mais especificamente a partir de 1817 por alguns autores como, por exemplo, Gaudichaud, Bory, Montagne, Hooker and Harvey (Wiencke et al., 2007).

Mais tarde, no final do século XIX, os estudos foram intensificados por um número

maior de pesquisadores como Skottsberg, Reinsch, Gain, Hariot, Kylin, Hylmö e Foslie (Papenfuss, 1964). A partir desta fase, os estudos nas regiões antárticas se tornaram cada vez mais comuns, envolvendo mais pesquisadores como Neushul, Délépine, Lamb, Moe, DeLaca, Richardson, Klöser, Zaneveld e Cormaci. Posteriormente, em 1849, teve início a pesquisa no Ártico com os autores Harvey e Dickie no Canadá e Kjellman na Rússia (Wiencke et al., 2007).

Na Antártica, vem se tentando estimar o número de espécies de macroalgas marinhas desde 1964 com Skottsberg, que encontrou cerca de 96 espécies, sendo dessas 16 pertencentes ao filo Chlorophyta, 19 Phaeophyceae e 61 Rhodophyta. Após estudos de demais autores, esses números aumentaram, totalizando valores entre 115 a 130 espécies, como detalhado na tabela 1, sendo que os maiores valores são encontrados no filo Rhodophyta. É claro que estes valores de espécies são baixos quando comparados com os de regiões temperadas e tropicais do planeta (Wiencke & Clayton, 2002).

Tabela 1. Nível de endemismo dos táxons de macroalgas da Antártica (Wiencke & Clayton, 2002).

	Nº Espécies Totais	Nº Espécies Endêmicas	% de Endemismo
Rhodophyta	75	24	32
Heterocontophyta	27	12	44
Chlorophyta	17	3	18
Total	>119	39	33

A maioria das espécies antárticas (cerca de 90%) é encontrada no lado oeste do continente, junto a Península Antártica e as Ilhas Shetland do Sul. Já no leste antártico e em maiores latitudes (~76°S) a quantidade de espécies diminui drasticamente, sendo poucas as espécies encontradas nessas áreas, dentre elas podemos citar *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent e *Phyllophora antarctica* A.Gepp & E.S.Gepp (Wiencke & Clayton, 2002). Em outros levantamentos das macroalgas marinhas da Baía do Almirantado, na Ilha Rei George, Antártica, realizados por Oliveira et al. (2009) e Yoneshigue-Valentin et al. (2012), foi observado que dentre as espécies encontradas, o filo Rhodophyta foi o mais presente (48~50%) seguidos de Heterokontophyta (27~34%) e por último Clorophyta (16~23%), confirmando o descrito por Wiencke & Clayton (2002), para a Antártica.

Nas regiões subantárticas de Magalhães a diversidade se assemelha em determinados pontos, com esta citada para Antártica.

Nas menores latitudes da Antártica, por exemplo, nas Ilhas Shetland do Sul, a duração

do dia varia de 5 horas no inverno e 20 horas no verão (Wiencke, 1990a). Este regime de luz muito distinto tem grande influência na produção primária e desenvolvimento sazonal das algas marinhas. Além disso, os longos períodos de escuro são intensificados no ambiente marinho devido ao congelamento da camada superficial de água, podendo muitas vezes ser coberto por neve, acarretando em uma radiação menor do que 2% nessas regiões. Desta forma, as comunidades de algas marinhas bentônicas podem sobreviver no escuro por 10 meses consecutivos, mas também podem ficar expostas a longos períodos de luz constante, uma vez que se adaptaram a estas condições extremas (Miller & Pearse, 1991; Drew & Hastings, 1992; Klöser et al., 1993).

Outra dificuldade enfrentada pelos organismos polares são os “icebergs” e as placas de gelos dispersas no litoral, que causam fortes impactos, especialmente em áreas com forte ação de ondas (Klöser et al., 1994).

Estes fatores determinam os limites de distribuição das macroalgas marinhas em ambientes polares, sendo eles 77°S e 80°N (Lüning, 1990).

Com o início da primavera, após o derretimento do gelo, a luz penetra em maiores profundidades devido à maior transparência da água. Nas Ilhas Shetland do Sul (Península Antártica), as taxas de fluxo de fótons são de $70 \mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ ao meio-dia a 30 m de profundidade (Gómez et al., 1997). Já nas Ilhas Orkney do Sul (Antártica), a zona eufótica foi determinada a 29 m de profundidade (Brouwer, 1996). No verão, as águas costeiras das regiões polares vão se tornando mais turvas devido a alta taxa de crescimento do fitoplâncton e da entrada de correntes de água, trazendo sedimentos e detritos que afetam profundamente a dispersão da luz no meio aquático. Com o aumento da turbidez, o comprimento de onda muda de azul para verde em determinadas profundidades. Consequentemente, as algas do infralitoral são expostas a baixa radiação solar, mesmo quando o Sol estiver em seu ponto mais alto em relação à superfície da Terra.

É no verão que ocorre os maiores derretimentos de gelo nesses locais, alterando o regime de salinidade e da temperatura em águas costeiras. Quando não há movimentação do corpo d'água, forma-se uma camada de água doce sobre a camada de água do mar. Porém, devido à ação de ondas e dos ventos, há uma mistura dessas águas com salinidades distintas, podendo ocasionar a diminuição da salinidade em regiões mais profundas, de até 20 metros (Hanelt et al., 2001).

Diferentemente da forte mudança de radiação solar entre as estações, a temperatura da água sofre pouca alteração oscilando entre $-1,8^{\circ}\text{C}$ no inverno a $2,0^{\circ}\text{C}$ no verão, na região da Península Antártica (Drew & Hastings, 1992; Klöser et al., 1993). Além disso, em regiões de fronteira com ambientes de clima temperado, a temperatura máxima no verão chega a 5°C na

Antártica (Wiencke & tom Dieck, 1989; Lüning, 1990; Svendsen et al., 2002).

As concentrações de macronutrientes não são limitantes para as macroalgas marinhas em qualquer época do ano na Antártica (Deacon, 1937; Drew & Hastings 1992). Porém, as concentrações de ferro são baixas e inibem o crescimento do fitoplâncton (de Baar et al., 1995).

Com o aumento da temperatura na primavera, a região do supralitoral é banhada pela água proveniente do derretimento das geleiras e da neve, seguido pelo período de dessecação do verão, ocasionando em grande variação da salinidade local. Os valores de salinidade podem ser baixos em situações de maré baixa e degelo. Por exemplo, na região entre-marés das Ilhas Rei George (Península Antártica) os valores de salinidade variam de 27 a 41 ups (Klöser, 1994). Em poças, após o recuo da maré, a temperatura da água pode alcançar 14° C na ilha durante o verão (Klöser, 1994).

1.4.1. Biodiversidade e distribuição das macroalgas

A diferença entre os Oceanos Ártico e Antártico e o tipo de vida que os habitam está basicamente relacionada à criação e históricos de águas geladas de cada região. O Oceano Austral (Antártico) não tinha conexões geográficas com as regiões temperadas desde o fim do Mesozóico, além de ter sido separado dos continentes vizinhos do sul pela Corrente Circumpolar Antártica desde 26 milhões de anos (Lüning, 1990; Kirst & Wiencke, 1995). Após a primeira maior glaciação (14 milhões de anos atrás), a temperatura da Antártica diminuiu e tem se mantido baixa até os dias de hoje (Crame, 1993). Por outro lado, áreas do Ártico mantiveram conexões contínuas com a costa temperada da América do Norte e Eurásia. Além disso, a cobertura de gelo perene não se desenvolveu antes de 2 milhões de anos atrás (Clarke, 1990). Essas diferenças são as maiores razões para as diferenças entre a biodiversidade de macroalgas marinhas entre esses dois ambientes polares.

Uma característica das algas marinhas bentônicas da Antártica é a escassez de algas epífitas pequenas em comparação com as regiões temperadas. Porém, essa informação não significa que elas estão ausentes. No caso dessas macroalgas, as epífitas ocorrem como endófitas, dentro de algas maiores, provavelmente como uma estratégia contra herbivoria, que pode ser intensa nessas regiões (Peters, 2003).

O isolamento da ficoflora na região antártica e as condições abióticas extremas podem explicar o alto grau de endemismo desses organismos na Antártica, sendo que 33% das macroalgas marinhas bentônicas presentes na Antártica, são endêmicas. Dentre elas, podemos citar como exemplos, as alga pardas *Himantothallus grandifolius* (A.Gepp & E.S.Gepp) Zinova, *Cystosphaera jacquinotii* (Montagne) Skottsberg, a alga vermelha *Pyropia*

endiviifolia (A.Gepp & E.Gepp) H.G.Choi & M.S.Hwang e a alga verde *Lambia antarctica* (Skottsberg) Delépine. Por outro lado, o Ártico, devido aos fatores citados anteriormente, possui poucas espécies de macroalgas endêmicas, dentre elas podemos citar as algas pardas *Punctaria glacialis* Rosenvinge, *Platysiphon verticillatus* R.T.Wilce e a alga vermelha *Petrocelis polygyna* (Kjellman) F.Schmitz (Wilce, 1990). Com base nestes dados, alguns autores sugeriram que a Baía do Almirantado é um ecótono entre as Ilhas Subantárticas e a zona costeira do Continente Antártico (Rakusa-Suszczewski & Zielinski, 1993).

Como dito anteriormente, devido às formações geológicas, as ilhas subantárticas são constituídas de ambientes únicos, como o Estreito de Magalhães, que recebe águas do Oceano Pacífico e do Atlântico. Estas características contribuem para o endemismo das macroalgas marinhas, como por exemplo *Lessonia corrugata* Lucas, *Macrocystis pyrifer* (Linnaeus) C.Agardh e *Durvillaea antarctica* (Chamisso) Hariot, que são espécies endêmicas da região subantártica (Barrales & Lobban, 1975; John et al., 1994; Clayton et al., 1997)

1.4.2. Ecofisiologia das algas polares

a) Temperatura

A fotossíntese das algas polares apresenta uma considerável adaptação às baixas temperaturas do ambiente. As taxas máximas de fotossíntese de espécies antárticas endêmicas em temperaturas de 0°C são similares às taxas de algas de clima temperado em altas temperaturas (Eggert & Wiencke, 2000). As mais baixas temperaturas consideradas ótimas para fotossíntese foram observadas nas algas pardas *Ascoseira mirabilis* Skottsberg (1-10°C) e *Himantothallus grandifolius* (10-15°C) (Wiencke & tom Dieck, 1989). As algas vermelhas *Ballia callitricha* (C.Agardh) Kützing e *Gigartina skottsbergii* também apresentam fotossíntese máxima em temperaturas entre 10 e 15°C, enquanto que *Trematocarpus antarcticus* (Hariot) Fredericq & R.L.Moe (como *Kallymenia antarctica* Hariot), *Gymnogongrus antarcticus* Skottsberg e *Phyllophora ahnfeltioides* Skottsberg apresentam intervalo ótimo entre 10 e 25°C (Eggert & Wiencke, 2000). Estudos com algumas algas do Ártico demonstraram que a temperatura ótima está em torno de 20°C (Healey 1972).

Outras espécies da Antártica, como *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin, *Gigartina skottsbergii* e *Plocamium cartilagineum* (Linnaeus) P.S. Dixon crescem a 0°C e não a 5°C (Bischoff-Bäsmann & Wiencke, 1996). A temperatura mais alta suportada por estas algas variam de 7 a 11°C. Porém, outras espécies destes ambientes que crescem em intervalos de 5-10°C podem tolerar temperaturas um pouco mais elevadas, por volta de 19°C. É interessante o fato de uma espécie suportar determinada temperatura, dependendo do estágio reprodutivo em que ela se encontra, como, por exemplo, em espécies de Desmarestiales endêmicas da

Antártica, onde seu esporófito cresce a 5°C e a temperatura máxima suportada (TMS) é entre 11 e 13°C. Por outro lado, a fase gametofítica cresce a 10°C e sua TMS está entre 15 e 18°C (Wiencke & tom Dieck, 1989).

Diferente da Antártica, a demanda de temperatura pelas algas do Ártico são maiores se comparada às espécies endêmicas da Antártica. Por exemplo, o esporófito da “kelp” *Laminaria solidungula* cresce sob temperaturas de até 15°C, sendo 16°C sua TMS (tom Dieck, 1992). Já o gametófito, tanto masculino como feminino tem uma TMS de 18° (tom Dieck, 1993). No Ártico também pode ser encontrada demandas mais baixas de temperaturas, como é o caso da alga vermelha *Devaleraea ramentacea*, que cresce à 10°C, exibindo uma TMS entre 18 e 20°C (Novaczek et al., 1990).

A distribuição das algas endêmicas ao norte da Antártica é limitada por demandas de temperatura para o crescimento, principalmente no caso de Desmarestiales, pois o crescimento dos esporófitos é limitado pelo aumento de temperatura, excedendo o limite máximo suportado pela alga (Wiencke & tom Dieck, 1989). As temperaturas limitantes também podem ser encontradas nas algas do Ártico, onde em regiões de menores latitudes, no verão, a temperatura ultrapassa o limite máximo para sobrevivência de algumas espécies de macroalgas marinhas. A reprodução pode ser inibida em latitudes mais altas, onde há invernos com temperaturas muito baixas, prejudicando o desenvolvimento de espécies como *Laminaria digitata*, *Chorda filum* e *Halosiphon tomentosus* (Lüning, 1990).

Durante as Eras Glaciais, ambas regiões polares foram inóspitas para as algas marinhas. No Hemisfério Sul, as ilhas subantárticas serviram provavelmente como refúgio, assim como o Arquipélago Sul-Americano, servindo de habitat para algumas espécies provenientes da costa antártica (Skottsberg 1964). No Hemisfério Norte, muitas espécies tiveram sua distribuição reduzida, pois as regiões favoráveis à reprodução e desenvolvimento se tornaram muito restritas durante os períodos de glaciações (van den Hoek & Breeman, 1989).

b) Luz

Por estes ambientes apresentarem condições extremas, as algas marinhas necessitam ter baixa demanda de luz e tolerância a períodos escuros como pré-requisitos para sobreviverem nestes ambientes (Zielinski 1981; Amsler et al. 1995). Uma importante característica das algas com histórico de vida heteromórfico é os estádios de desenvolvimento microcóspicos apresentar tolerância ao escuro, podendo sobreviver em torno de 18 meses nessas condições. (tom Dieck, 1993; Wiencke, 1990a).

Estudos avaliando a relação entre características fotossintéticas e a zonação de 36 espécies de algas da Ilha Rei George indicaram alto grau de adaptação à sombra (Weykam et

al., 1996; Gómez et al., 1997). Dentre estas adaptações podemos encontrar:

- Alta taxa fotossintética em diferentes profundidades;
- Indivíduos que crescem em profundidades maiores do que 10 m apresentam baixos pontos de saturação ($E_k < 40 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$);
- Algas que apresentam altos pontos de saturação ($E_k > 50 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) vivem em regiões entre-marés.

Para a fotossíntese, a demanda de luz necessária para que haja crescimento é relativamente baixa. Em estádios microscópicos de desenvolvimento de algas marinhas antárticas, o crescimento chega ao ponto de saturação quando a irradiância está em torno de 4 a $20 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Wiencke, 1990a; Wiencke & Fischer, 1990). No caso de espécies do Ártico, baixos valores também são encontrados como requisito para a fotossíntese (Roberts et al. 2002). Por exemplo, a espécie *Laminaria solidungula* apresenta valores de E_k entre 20 e $30 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em indivíduos jovens e E_k de até $38 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em indivíduos adultos (Dunton & Jodwalis, 1988). Já em clima temperado, as algas marinhas apresentam valores de eficiência fotossintética (α) e de saturação (E_k) maiores. O fato das algas de regiões polares apresentarem baixos valores de α e E_k está relacionado ao alto grau de adaptação a longos períodos de escuro e cobertura de neve no inverno e alta turbidez da água no verão. Além disso, *Laminaria solidungula* também apresenta baixos valores do ponto de compensação (E_c) para o seu crescimento, em torno de $0,6 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Chapman & Lindley, 1980).

Por outro lado, as macroalgas de regiões austrais necessitam de adaptações que auxiliam na proteção contra a exposição excessiva à radiação durante o verão, como será comentado posteriormente.

c) Salinidade

Para viver nesses ambientes, onde o congelamento e descongelamento alteram frequentemente a salinidade, as macroalgas marinhas sofreram aclimações. Um exemplo disso são espécies de clorofíceas presentes no mediolitoral antártico, que podem suportar salinidades entre 7 e 102 ups e a alga do supralitoral *Prasiola crista*, que tolera salinidades entre 0,3 e 105 ups, sendo esses organismos caracterizados como eurialinos. (Karsten et al., 1991a, b).

Esses organismos são capazes de suportar tais variações de salinidade devido à síntese de osmólitos orgânicos. Dentre eles, podemos encontrar a sacarose, que age como molécula osmorreguladora e protetora contra o congelamento, assim como outro osmólito comum nas algas, o β -dimetilsulfoniopropionato (DMSP). O aminoácido prolina, também está entre os

osmólitos, que além de ser um ótimo osmorregulador, estimula a atividade enzimática em caso de estresse. Os polióis (sorbitol, por exemplo), ao contrário das demais substâncias descritas, não são osmorreguladores igualmente eficientes, mas confere à célula propriedades antioxidantes e contra dessecação. A concentração desses osmólitos no organismo é regulada de acordo com a salinidade do meio extracelular (Karsten et al., 1996).

1.5. Efeitos das mudanças climáticas nas regiões polares

1.5.1. Aumento da incidência de raios ultra-violeta (UV)

Ultimamente, com a industrialização, houve um aumento de gases responsáveis pela deterioração da camada de ozônio. E um dos principais agravantes deste ocorrido, é a exposição dos organismos a uma maior quantidade de radiação ultravioleta.

A radiação ultravioleta (UV) é classificada em três tipos de acordo com o comprimento de onda, sendo eles: radiação UV-C: 190-280 nm, radiação UVB: 280-315 nm e radiação UV-A: 315-400 nm. A radiação UV-C é fortemente mutagênica e letal para grande parte dos organismos, mas praticamente não alcança a biosfera, pois é absorvida pela camada de ozônio quase que completamente. A radiação do tipo UV-A não sofre absorção pela camada de ozônio, atingindo os organismos polares, independentemente do estado de conservação da camada de ozônio, fato que a diferencia da radiação UVB, que quanto maior a degradação desta camada, maior será sua incidência sobre os organismos. Embora este comprimento de onda represente 1% do fluxo total de energia solar, é extremamente prejudicial aos sistemas biológicos (Franklin & Forster, 1997).

A radiação UV-B afeta as macroalgas marinhas de diferentes maneiras, provocando alterações na fotossíntese, metabolismo de nitrogênio, crescimento, e danos ao DNA, exigindo assim certas adaptações, principalmente em algas de regiões polares, onde esses organismos ficam expostos a longos períodos de luminosidade durante o verão (Xue et al., 2005). Em cada estágio de desenvolvimento em que a alga se encontra, o dano causado provavelmente será diferente, sendo maior em plântulas mais jovens do que em indivíduos adultos de macroalgas pardas (Altamirano et al., 2003), como em algas vermelhas da ordem Gigartinales (Roleda et al., 2004; Navarro et al., 2008). Esta hipótese foi corroborada, quando estudos realizados por Navarro et al. (2010) evidenciaram que diferentes estádios da alga vermelha *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent foram expostos a diferentes níveis de radiação UV-B. Os resultados mostraram que a radiação UV-B afeta o desenvolvimento de novas plântulas, causando alterações morfológicas e bioquímicas que impede o desenvolvimento desses organismos.

Para isto, existem mecanismos de reparo que operam para mitigar esses danos. Em

algas, isto pode ser mostrado pela recuperação da fotossíntese e reparação de danos no DNA (Roleda et al., 2004, 2006, Zacher et al., 2007). Esses danos podem ser prevenidos pela absorção da radiação UV por florotananos em algas pardas (Swanson & Druehl 2002, Roleda et al. 2006) e aminoácidos do tipo micosporina em algas vermelhas (Roleda et al. 2008, Zacher et al., 2009). O balanço entre esses danos e os reparos pode ser medido pela germinação. Se os esporos ou zigotos germinarem após a exposição à radiação UV, os mecanismos de reparo e/ou proteção são fortes o suficiente para lidar com os efeitos nocivos da radiação ultravioleta.

1.5.2. Aumento da concentração de CO₂ atmosférico

O aumento do dióxido de carbono na atmosfera é, em sua grande parte, resultado da intensificação de ações antrópicas. Com isso, a quantidade deste gás aumentará e causará a acidificação dos oceanos. A princípio, o carbono proveniente do CO₂ será incorporado em corais, conchas e carapaças de artrópodes que vivem nesses ambientes. Porém, esses gases tendem a se dissolver mais facilmente em águas mais frias, o que leva a acreditar que a deposição e dissolução desses gases serão mais elevadas nos polos, onde a temperatura da água é menor (Cox et al., 2000).

Ao se dissolver na água, o carbono será fixado nesses organismos através de seus respectivos metabolismos, liberando íons que tornarão a água mais ácida com o decorrer dos anos. Estudos baseados em modelagem projetam que se a emissão de CO₂ continuar aumentando, a água se acidificará, tornando o processo inverso, ou seja, retirando o carbono fixado e liberando de volta à atmosfera (Cox et al., 2000).

Com todas estas particularidades climáticas, as macroalgas marinhas apresentam uma alta conectividade com o meio circundante, sendo consideradas importantes indicadoras do estado de conservação em ambientes aquáticos, ao passo que respondem rapidamente a alterações no meio através de mudanças significativas em suas populações. Portanto, o conhecimento destas comunidades fornece subsídios importantes para definir ações de manejo e monitoramento, além de políticas de conservação da região antártica (Orfanidis et al., 2001).

Tais condições somadas à baixa quantidade de luz, principalmente em períodos prolongados de noite polares, influenciaram o processo de adaptação das macroalgas marinhas da Antártica e permitiram a alteração do aparelho fotossintético em vários níveis incluindo alterações quantitativas, como o aumento do tamanho das unidades fotossintéticas, alterações qualitativas na composição de pigmento e alterações nas atividades de enzimas envolvidas na fixação de carbono.

1.6. Estudos moleculares: “DNA barcoding”

Com todas essas pressões ambientais proporcionadas pelas condições abióticas extremas encontradas nas regiões Antártica e Subantártica, a coleta de material vegetal se torna difícil, limitando a qualidade e a quantidade disponível para estudo. Muitas vezes, o material biológico encontrado está fragmentado, dificultando a identificação através da taxonomia clássica, aumentando a possibilidade de erros na identificação dessas espécies.

A utilização de técnicas moleculares vem ajudando muito a resolver estas problemáticas, já que necessita de pouca quantidade de material, e complementam de forma segura as identificações feitas por análises morfológicas.

Com a intenção de tornar as análises moleculares mais rápidas e eficientes na identificação de espécies, foi proposto o “DNA barcoding”. Este nome é uma analogia aos códigos de barras de produtos industrializados. A proposta desse método é utilização da região 5’ do gene mitocondrial *cox1* ou COI, que codifica para a subunidade I da enzima citocromo c oxidase, como padrão “universal” para identificação das espécies em animais. Essa região foi escolhida por ser um segmento de DNA curto (aproximadamente 700 pb), mas suficiente para identificação das espécies. (Stoeckle, 2003). O método proposto por Hebert et al. (2003) tornou possível a quantificação dos limites da diversidade intraespecífica, o reconhecimento de espécies crípticas e a identificação de fases da vida será facilitada (Hebert et al., 2003).

1.7. Justificativa

A diversidade bioquímica das espécies de macroalgas marinhas vem sendo muito estudada, já que as pesquisas vêm revelando muitas substâncias de interesse econômico neste grupo de organismos, como por exemplo o ágar e a carragenana. Porém, é de extrema importância que se produzam em paralelo, estudos sobre as interações entre os metabólitos e as estratégias de sobrevivência em ambientes extremos, contribuindo desta forma, para melhor conhecimento dos artifícios utilizados por cada espécie para sobreviver no ambiente em que se encontra.

2. OBJETIVOS

O principal objetivo do presente estudo é determinar o conteúdo de pigmentos fotossintetizantes, proteínas solúveis e carboidratos solúveis em espécies de rodófitas das regiões antártica e subantártica e avaliar o envolvimento desses metabólitos primários nas estratégias de sobrevivência dessas algas submetidas a ambientes extremos.

2.1. Objetivos específicos

- Extrair e analisar quantitativamente os carboidratos totais, pigmentos e proteínas solúveis presentes nas espécies estudadas;
- Extrair e analisar a quantidade e qualidade da carragenana presente nas espécies *Gigartina skottsbergii* Setchell & N.L.Gardner e *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent, relacionando com as demais características bioquímicas analisadas.
- Comparar as características bioquímicas apresentadas por espécimes de *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata* coletados em diferentes latitudes (na Península Antártica e na região subantártica do Chile) e entre as espécies endêmicas *Palmaria decipiens* (Reinsch) R.W.Ricker e *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Espécies selecionadas

Para o presente estudo foram selecionadas quatro espécies de macroalgas marinhas pertencentes ao Filo Rhodophyta:

3.1.1 *Palmaria decipiens* (Reinsch) R.W.Ricker (Palmariales, Rhodophyta)

Palmaria decipiens está entre as espécies endêmicas da Antártica, apresentando alta adaptação ao seu habitat, como alta tolerância a baixas temperaturas e adaptação à sombra (Wiencke et al, 1994;. Bischoff-Bäsmann & Wiencke, 1996). Portanto, a espécie é uma boa candidata para estudar mecanismos de adaptação a esses fatores ambientais.

A espécie apresenta histórico de vida heteromórfico diferenciado, onde é gametófito masculino é morfologicamente semelhante ao tetrasporófito, porém ambos são diferentes do gametófito feminino. O talo desta espécie se desenvolve no final do inverno e início da primavera mesmo no escuro (Wiencke, 1990b; Weykam et al., 1997). Seu crescimento inicia-se em julho e assim como a fotossíntese, atinge seu ponto máximo na primavera (Outubro/Novembro) (Wiencke 1990b; Weykam & Wiencke, 1996). A demanda por luz para o crescimento desta espécie é muito baixa (Wiencke, 1990b). *P. decipiens* ainda sobrevive por um período de 6 meses no escuro, utilizando seu estoque de amido das florídeas (Weykam et al., 1997).

3.1.2 *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin (Ceramiales, Rhodophyta)

Esta espécie foi encontrada até o momento apenas nos mares gelados da região antártica, sendo considerada endêmica desta região. Crescem no infralitoral, em profundidades maiores que 30 m, crescendo sobre substratos rochosos ou como epífitas. Apresenta alta adaptação fisiológica contra baixa quantidade de luz baixas temperaturas (Wiencke & Clayton, 2002).

A espécie apresenta histórico de vida isomórfico, onde a fase diploide é morfologicamente semelhante a fase haploide. Possui talo de cores vermelho à castanho, com aproximadamente 30 cm de comprimento, rígido e pinado. É uma espécie perene com histórico de vida isomórfico, sendo que as plantas cistocápicas ocorrem ao longo de todo o ano (Wiencke & Clayton, 2002).

3.1.3 *Gigartina skottsbergii* Setchell & N.L.Gardner (Gigartinales, Rhodophyta)

Gigartina skottsbergii está distribuída ao longo da costa antártica e subantártica, sendo muito utilizada no Chile, já que é uma espécie produtora de carragenana, e por isso, de alto

valor econômico. Possui um histórico de vida isomórfico, onde o gametófito feminino apresenta cistocarpos salientes em papilas distribuídas ao longo de toda a superfície do talo. As frondes são de tamanhos variáveis, podendo atingir até 1,5 m de largura. É espessa e coriácea, com talo laminar ereto vermelho-púrpura que cresce fixo a rochas, pedras e conchas de bivalves (Wiencke & Clayton, 2002).

A espécie apresenta histórico de vida isomórfico, onde a fase diploide é morfologicamente semelhante à fase haploide. Está disposta horizontalmente sobre o substrato e permanece fixa por diversos apressórios que se desenvolvem em diferentes partes do talo. Esta forma de crescimento limita a disponibilidade do substrato, reduzindo o desenvolvimento de outras espécies. Crescem em profundidades variando de 4 a 30 m dependendo do local (Avila et al., 1999; Mansilla et al., 2012).

3.1.4 *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent (Gigartinales, Rhodophyta)

Iridaea cordata está distribuída ao longo das costas antártica e subantártica (Wiencke, 1990b; Cormaci et al., 1992) e é uma importante produtora de carragenana (Craigie, 1990).

A espécie apresenta histórico de vida isomórfico, onde a fase diploide é morfologicamente semelhante à fase haploide (Bold & Wynne, 1985). Os indivíduos da espécie se desenvolvem sem a parte ereta do talo (lâminas) durante períodos escuros e começam a crescer lentamente quando submetidos à luz, atingindo taxas máximas de crescimento no final da primavera (Wiencke et al., 2007). Estão presentes em piscinas naturais no costão rochoso em períodos de maré baixa, junto com *Palmaria decipiens*, além de também estar presente em profundidades de 30 m (Wiencke & Clayton, 2002).

3.2 Coleta e armazenamento do material algáceo

As espécies de macroalgas estudadas (**Figura 8**) foram coletadas em diferentes pontos da Região antártica e subantártica, durante as Operações Antárticas XXX e XXXII. As coletas foram realizadas em diversos pontos na Ilha Rei George (**Figura 9**) e nas Ilhas Robert, Deception, Livingston e Half Moon (**Figura 10**), que fazem parte do Arquipélago Shetland do Sul, na Península Antártica (62° 58' 44,6" S 60° 33' 22,1" W a 62° 10' 56,8" S 58° 17' 50,4" W), durante o verão austral de 2010-2011 e 2013-2014, como mostra a **Tabela 2**. As espécies *Palmaria decipiens* e *Georgiella confluens* foram coletadas apenas na região antártica, uma vez que são endêmicas desse local. As espécies *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata* foram coletadas também em regiões subantárticas, como Punta Estaquilla, Fuerte Bulnes e Buque Quemada (53° 37' 48.15" S, 70° 55' 3.29" W), no Chile (Figura 11).

As coletas foram realizadas durante o período de maré-baixa, selecionando 3

representantes de cada espécie para cada local de coleta (**Figura 12**). O material coletado foi limpo e identificado com auxílio de microscópio e esteromicroscópio. Para as análises bioquímicas, as amostras foram armazenadas em freezer a temperatura de -20°C na Estação Antártica Comandante Ferraz e no Navio Polar Almirante Maximiano (**Figura 13**). Parte de cada amostra foi utilizada para a confecção de exsicatas para depósito no Herbário do Instituto de Botânica (SP) e outra parte foi seca em sílica gel para análise molecular visando a confirmação da identificação taxonômica.

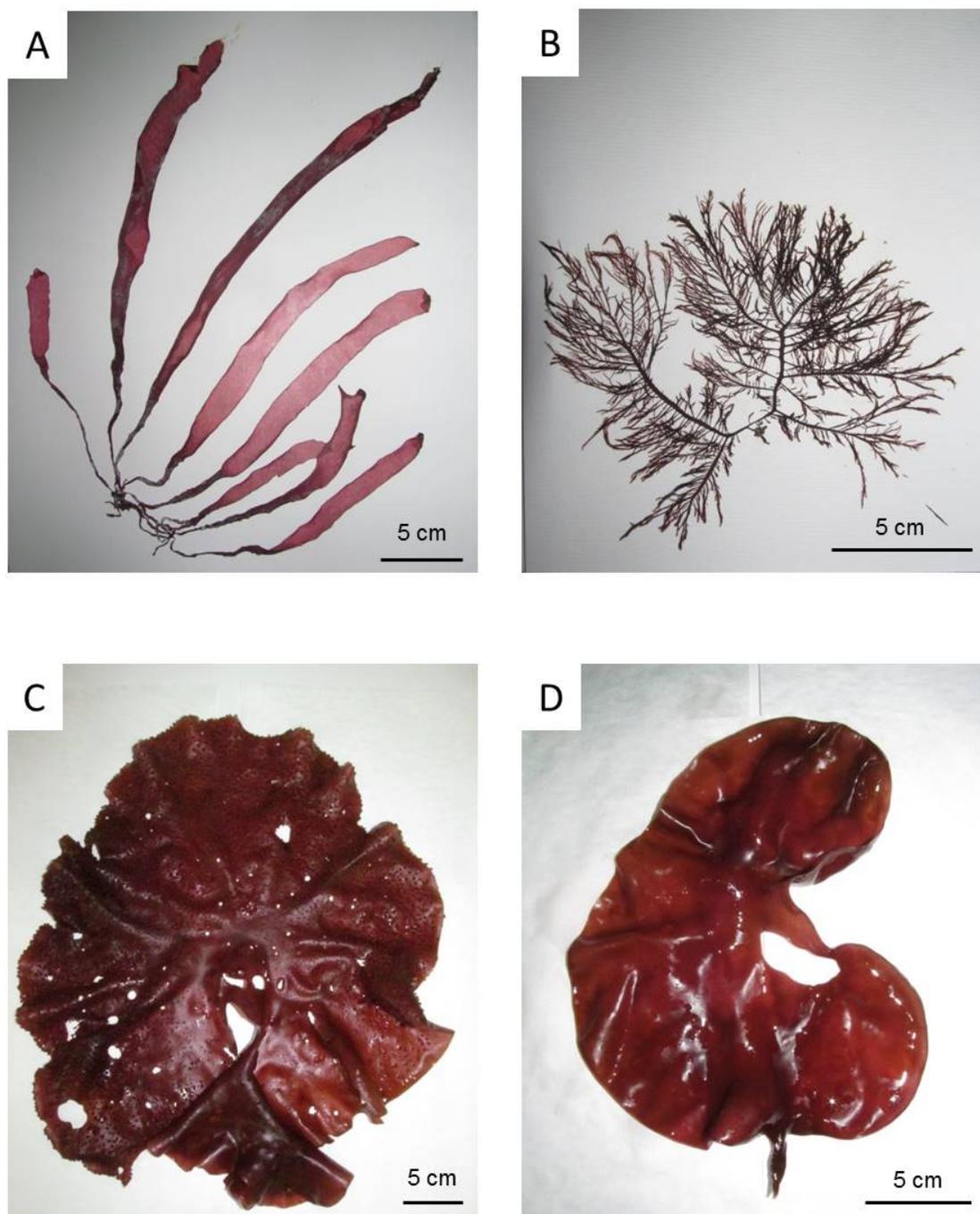


Figura 8. Hábito geral das espécies de algas estudadas no presente trabalho. A – *Palmaria decipiens*; B – *Georgiella confluens*; C - *Gigartina skotsbergii*; D – *Iridaea cordata*. Fotos: Cesar B. Pasqualetti.

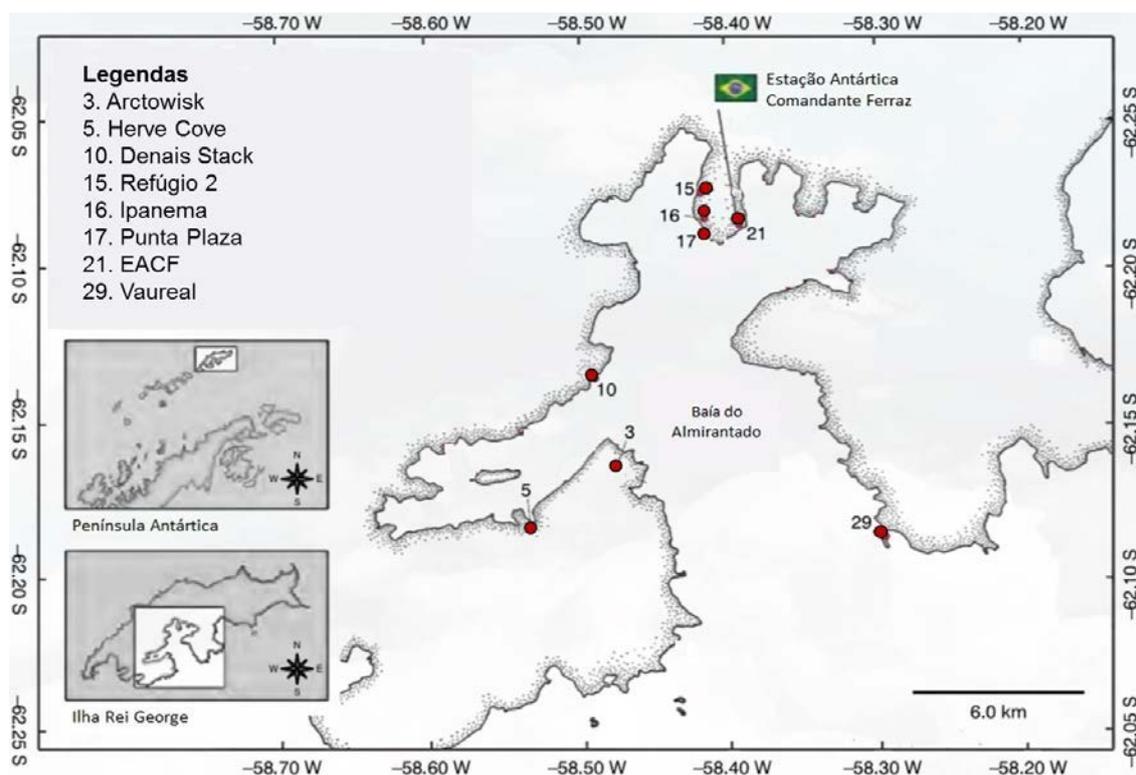


Figura 9. Mapa da área amostrada durante OPERANTAR XXIV, indicando os pontos de coleta da Baía do Almirantado, da Ilha Rei George, localizada no arquipélago Ilhas Shetland do Sul, na Península Antártica (adaptado de Yoneshigue-Valentin et al., 2012).

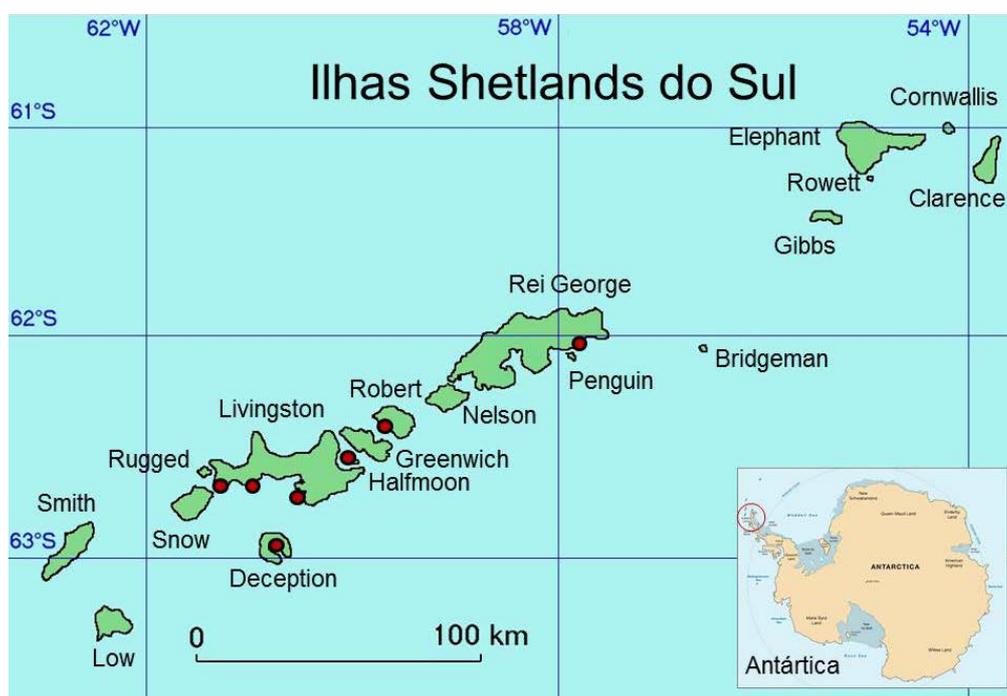


Figura 10. Mapa da área amostrada durante a OPERANTAR XXXII, indicando os pontos de coleta nas Ilhas Shetland do Sul.

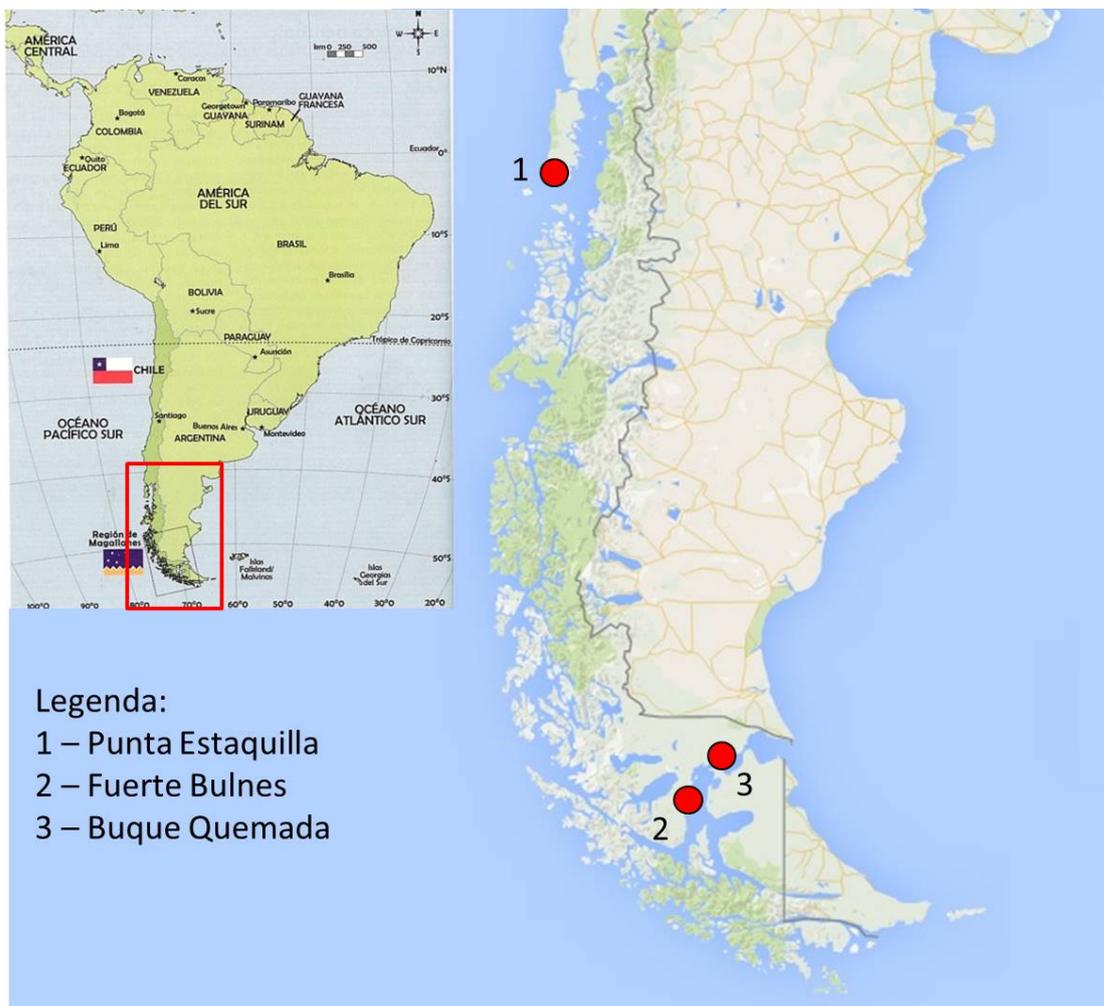


Figura 11. Mapa da área amostrada, indicando os pontos de coleta da região subantártica, no Chile (adaptado de Aldea, 2012).



Figura 12. Aspecto geral de alguns locais de coleta na Região Antártica. A, B – Costão rochoso e comunidades de macroalgas (Ilha Deception); C, D – Costão rochoso em maré baixa (Ilha Livingston); E – Coleta manual das espécies; F – Biomassa algácea arribada na praia (Ilha Robert). Fotos: A – Eric Lam; B-F – Cesar B. Pasqualetti.



Figura 13. Locais utilizados durante a expedição para armazenamento e processamento do material coletado. A – Navio Polar Almirante Maximiano; B – Estação Antártica Comandante Ferraz (Módulos Antárticos Emergenciais). Fotos: Cesar B. Pasqualetti.

Tabela 2. Dados de coleta e número de depósito no Herbário do Instituto de Botânica (SP) das espécies de rodófitas em estudo coletadas nas Ilhas Shetland do Sul, na Antártica, e na região subantártica (Chile) durante os períodos Novembro/2009 a Fevereiro/2010 e Novembro/2010 a Fevereiro/2011 e Novembro/2013 a Dezembro/2014.

ESPÉCIE	LOCAL DE COLETA	DATA DE COLETA	Nº DE HERBÁRIO
<i>Palmaria decipiens</i> (Reinsch) R.W.Ricker	Ilha Deception	02/12/2013	SP 428528
	62° 58' 44,6" S 60° 33' 22,1" W		
	Ilha Robert	06/12/2013	SP 428529
	62° 22' 37,4" S 59° 40' 53,5" W		
	Ilha Rei George, Enseada Ezcurra, Herve Cove	23/12/2010	SP 401734
	62° 10' 62,6" S 58° 32' 09,2" W		
	Ilha Rei George, Enseada Ezcurra, Denais Stack	03/01/2011	SP 401733
	62° 07' 52,1" S 58° 28' 58,6" W		
	Ilha Rei George, Enseada Martel, Punta Plaza	22/12/2010	SP 401711
	62° 05' 25,9" S 58° 24' 29,5" W		
	Ilha Rei George, Ipanema	11/12/2010	SP 401735
	62° 05' 14,4" S 58° 24' 55,0" W		
<i>Georgiella confluens</i> (Reinsch) Kytlin	Ilha Rei George, Enseada Martel, EACF	28/12/2010	SP 401720
	62° 05' 10,3" S 58° 23' 46,2" W		
	Ilha Rei George, Enseada Mackellar, Refúgio 2	20/12/2010	SP 401732
	62° 04' 39,3" S 58° 25' 15,3" W		
	Ilha Livingston	05/12/2013	SP 428532
	62° 38' 52,7" S 60° 45' 49,8" W		
<i>Gigartina skottsbergii</i> Setchell & N.L.Gardner	Ilha Robert	06/12/2013	SP 428530
	62° 22' 37,4" S 59° 40' 53,5" W		
	Ilha Rei George, Vaureal	10/12/2013	SP 428531
	62° 10' 56,8" S 58° 17' 50,4" W		
	Ilha Livingston	05/12/2013	SP 428526
	62° 38' 52,7" S 60° 45' 49,8" W		
<i>Gigartina skottsbergii</i> Setchell & N.L.Gardner	Ilha Halfmoon	04/12/2013	SP 428527
	62° 35' 24" S, 59° 54' 36" W		
	Ilha Robert	06/12/2013	SP 428784
	62° 22' 37,4" S 59° 40' 53,5" W		
	Ilha Rei George, Arctowski	15/12/2010	SP 401727
	62° 09' 54,9" S 58° 28' 23,7" W		
	Fuerte Bulnes, Chile	22/11/2012	SP 428522

	53° 37' 48,15" S 70° 55' 3,29" W		
	Punta Estaquilla, Chile	16/06/2014	SP 428785
	41° 35' 12,4" S 73° 47' 23,7" W		
	(Tetrasporófito)		
	Punta Estaquilla, Chile	16/06/2014	SP 428786
	41° 35' 12,4" S 73° 47' 23,7" W		
	(Gametófito feminino com cistocarpo)		
<i>Iridaea cordata</i>	Ilha Deception	02/12/2013	SP 428525
(Turner) Bory de Saint-	62° 58' 44,6" S 60° 33' 22,1" W		
Vincent	Ilha Robert	06/12/2013	SP 428524
	62° 22' 37,4" S 59° 40' 53,5" W		
	Ilha Rei George, Vaureal	10/12/2013	SP 428523
	62° 10' 56,8" S 58° 17' 50,4" W		
	Ilha Rei George, Arctowski	15/12/2010	SP 401715
	62° 09' 54,9" S 58° 28' 23,7" W		
	Buque Quemada, Chile	19/10/2012	SP 428521
	52° 18' 56,23" S 69° 41' 16,84" W		

3.3 - Determinação do teor de água

Para determinação da porcentagem de água das amostras, foi selecionado 1g de massa fresca de cada amostra e as mesmas foram deixadas em estufa a 60° C até atingirem peso constante. Após a secagem completa, as amostras foram novamente pesadas. O teor de água (%) foi determinado através da relação (Massa Seca / Massa Fresca) x 100.

3.4 - Extração e dosagem de pigmentos fotossintetizantes

A extração dos pigmentos foi realizada através da trituração de 75 mg (massa fresca) de cada amostra. O material algáceo foi macerado em nitrogênio líquido e suspenso em 1mL de tampão fosfato 50 mM, pH 5,5 e temperatura de 4°C. A solução foi centrifugada por 20 minutos (14000 rpm a 4°C), e o sobrenadante, contendo as ficobiliproteínas, foi retirado e mantido no escuro até a leitura em espectrofotômetro (Shimadzu – UV 1800; $\lambda = 498,5, 615$ e 651 nm). O sedimento foi ressuspendido em 750 μ L de acetona 90%, até a obtenção de um homogêneo. A solução foi centrifugada (10000 rpm a 4°C) durante 15 minutos, e o sobrenadante, contendo a clorofila *a*, foi transferido para microtubos vedados e mantidos no escuro até a leitura em espectrofotômetro ($\lambda = 630, 647$ e 664 nm). A determinação da concentração das ficobiliproteínas (ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina) foi realizada utilizando-se as fórmulas descritas por Kursar et al. (1983) e da concentração de clorofila *a*

utilizando-se a fórmula descrita por Jeffrey & Humphrey (1975). Os resultados foram expressos em mg g^{-1} de massa seca (MS). Nesta análise, foram realizadas três repetições ($n=3$) para cada amostra.

3.5 - Extração e dosagem de proteínas solúveis totais

A extração das proteínas solúveis totais foi realizada através da maceração das amostras em nitrogênio líquido (75 mg – massa fresca). O macerado foi suspenso em tampão de extração (0,2 M tampão fosfato, pH 8,0, 5 mM EDTA; 1mM DTT) na proporção de 1g de massa fresca por 10 mL de tampão. A solução foi centrifugada (12000 rpm a 4°C) por 15 minutos. A concentração das proteínas solúveis totais foi determinada por espectrofotometria UV-vis (Shimadzu – UV 1800) a 595 nm, após a adição de solução de Coomassie Blue (Bio-Rad), segundo o método de Bradford (1976). A concentração de proteínas foi determinada com a utilização de curva-padrão externa, utilizando-se soro albumina bovina (BSA, Bio-Rad) como padrão e os resultados foram expressos em mg.g^{-1} de massa seca (MS). Nesta análise, foram realizadas três repetições ($n=3$) para cada amostra.

3.6 - Extração de carboidratos solúveis

Para extração de carboidratos solúveis foi utilizado o método de Carvalho et al. (1998) com modificações, onde 1g de massa fresca de alga foi macerado em almofariz com nitrogênio líquido, suspensas em 15mL de etanol 80%, mantidas em banho-maria a 80°C por 1h e em seguida centrifugadas a 1082 g por 15 min. O sobrenadante foi armazenado e o precipitado foi submetido ao mesmo procedimento por mais duas vezes. O resíduo final foi ressuspenso em 15mL de água destilada, mantido em banho-maria a 60°C durante 1h e filtrados a vácuo em tecido de nylon. O sobrenadante foi armazenado e o precipitado foi submetido ao mesmo procedimento por mais duas vezes. Os sobrenadantes etanólicos e aquosos foram armazenados separadamente, concentrados em roto evaporador e liofilizador respectivamente, ressuspendidos em 10 mL de água deionizada e armazenados a -20°C. Nesta análise, foram realizadas três repetições ($n=3$) para cada amostra.

3.6.1 Análise quantitativa de carboidratos solúveis

A análise quantitativa de açúcares solúveis totais dos extratos de macroalgas foi realizada através do método colorimétrico de fenol-sulfúrico, determinado por Dubois et al. (1956) e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, regulado para um comprimento de onda de 490nm.

Os açúcares redutores foram quantificados por meio do método de Somogyi-Nelson (Somogyi, 1945) e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, regulado para

um comprimento de onda de 520nm. A determinação dos teores estimados de açúcar foi calculada com base na equação da reta gerada a partir da curva confeccionada utilizando glicose como padrão.

Nestas análises, foram realizadas três repetições (n=3) para cada amostra.

3.6.2 Análise qualitativa dos carboidratos solúveis

Alíquotas de 1mL de cada amostra foram submetidas à purificação em coluna de troca iônica, preenchidas por resina catiônica Dowex 50x8 (100-200 mesh) seguida de coluna preenchida com resina aniônica Dowex 1x8 (52-100 mesh). A eluição das colunas foi feita com água deionizada e as amostras purificadas recolhidas tiveram seu pH ajustado para 7,0 com hidróxido de amônio (1M).

Em seguida, as amostras purificadas foram liofilizadas e ressuspensas em 1mL de água deionizada. Foi realizada uma nova dosagem de açúcares totais pelo método de fenol-sulfúrico (Dubois, 1956), para manter todas as amostras na mesma concentração de 400µg mL⁻¹ (Carvalho & Dietrich, 1993). As amostras foram então filtradas em membranas Millipore e analisadas por cromatografia líquida de alta resolução acoplada a detector de pulso amperométrico (HPAEC/PAD) em coluna Carbo-Pac PA1 no sistema Dionex ICS 3000. Na eluição, foi utilizado o método isocrático com 18 mM de hidróxido de sódio, com fluxo de 0,25 mL min⁻¹ e tempo de corrida de 30 minutos. A identificação dos monossacarídeos foi realizada através da comparação dos tempos de retenção com padrões externos comerciais de mio-inositol, sorbitol, dulcitol, glucose, galactose, frutose, sacarose, xilose e rafinose

Nesta análise, foram realizadas três repetições (n=3) para cada amostra.

3.7 Extração e análise de ficocolóides

A extração de ficocolóides foi realizada segundo o método descrito por Farias et al. (2001), modificado por Rodrigues et al. (2011).

A análise da qualidade dos ficocolóides foi obtida através da determinação do teor de 3,6-anidrogactose segundo Matsuhira (1995) e Saito (1997), e o grau de sulfato segundo a metodologia de Saito (1997).

Nesta análise, foram realizadas três repetições (n=3) para cada amostra.

3.7.1 Extração dos ficocolóides

Amostra de 500mg de alga seca higienizada foi submetida a embebição em 40 mL de água destilada durante 24h. Em seguida, a alga foi escoada para retirar o excesso de água e posteriormente triturada em almofariz. O material triturado foi novamente ressuspensado em

40mL de água destilada e submetido ao banho-maria a 100 °C por 3 horas, sendo posteriormente filtrado a quente, em tecido de nylon. O filtrado foi deixado em repouso, por 24h a temperatura ambiente (25° C). Decorrido este tempo, o filtrado foi congelado em freezer por mais 24 horas. Posteriormente, o filtrado foi colocado em estufa, por 72 horas a 65°C, eliminando o restante de água.

3.7.2 Análise da qualidade dos ficocolóides

a) Quantificação de 3,6-anidrogalactose

Aproximadamente 10 mg de carragenana seca foram dissolvidos em 40 mL de água destilada em banho-maria a 80-85°C até sua completa dissolução (90 a 120min). As amostras foram resfriadas em banho de gelo com água e o volume foi completado para 50 mL com água destilada (solução estoque).

Em tubo de ensaio, foram adicionados 400 µL da solução estoque e 400 µL de água destilada, 100 µL de Timol 5% e 1 mL de cloreto férrico 0,5%. As amostras foram homogeneizadas, aquecidas em banho-maria por 13 min a 80°C e resfriadas em banho de gelo com água. Em seguida, foram adicionados 2 mL de etanol 98%. Após estes procedimentos, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro a 635 nm e suas absorvâncias registradas para se calcular a quantidade de 3,6-anidrogalactose (%), utilizando-se a curva de calibração, através da utilização de padrão de frutose (Sigma) (12-120 µg).

Nesta análise, foram realizadas três repetições (n=3) para cada amostra.

b) Quantificação de sulfato

Aproximadamente 40mg de carragenana seca foram umedecidas em 100 µL de etanol 95%, seguidas da adição de 500 µL de HCl 0,5 N. As amostras foram hidrolisadas em água fervente por 2 h. O volume foi completado para 10mL com água destilada. As amostras foram centrifugadas em 12.000 rpm durante 15min em temperatura ambiente, descartando o precipitado e armazenando o sobrenadante (solução estoque).

Em tubo de ensaio, foram adicionados 1mL da solução estoque, 1mL de água destilada e 200µL de HCl 0,5 N, seguido de leve agitação. Em sequência, adicionou-se 100µL da solução de cloreto de bário-gelatina. As amostras foram novamente agitadas, deixando-as em repouso à temperatura ambiente por 30 min. Após este período, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro a 550 nm e suas absorvâncias registradas para se calcular a quantidade de sulfato (%) utilizando-se curva de calibração, através de padrão de sulfato de sódio anidro.

Nesta análise, foram realizadas três repetições (n=3) para cada amostra.

3.8 Análises moleculares

3.8.1 Extração de DNA

O DNA do material algáceo desidratado foi macerado com nitrogênio líquido em almofariz e extraído utilizando-se o kit de extração de tecidos vegetais “DNeasyPlantMini-Kit” (Qiagen).

3.8.2. Amplificação dos marcadores alvos

O DNA extraído foi utilizado para a amplificação através da "Polymerase Chain Reaction" ou PCR (Sambrook et al. 1989). Os marcadores moleculares escolhidos para “DNA Barcoding” foram *cox1*, *UPA* e *rbcL*, sendo que os primers para estes marcadores estão descritos na Tabela 3. Para a PCR foi utilizado o kit da General Electric, seguindo o protocolo dos próprios fabricantes. Após a PCR, os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose 0,7%, com marcador de tamanho padrão (1 Kb DNA Ladder- Gibco BRL) para verificar os tamanhos dos fragmentos amplificados.

3.8.3 Limpeza do produto de PCR

Os produtos de PCR foram purificados utilizando a coluna MicroSpin™ S-300 HR (Amersham Pharmacia Biotech) e foram submetidos a uma reação de sequenciamento.

3.8.4 Sequenciamento e purificação

O sequenciamento dos marcadores moleculares a partir de PCR purificado e quantificado foi realizado no sequenciador automático (ABI PRISM 3100) usando-se o kit “CycleSequencing, Big-Dye Terminator” (AppliedBiosystems) e foram utilizados os mesmos “primers” da PCR com concentração de 3~5picomol/μL.

As alíquotas de DNA sequenciado foram purificadas e precipitadas para fazer a injeção das amostras no sequenciador, que foi realizada no laboratório GENOMICS.

3.8.5 Análises de “DNA Barcoding”

As sequências consenso para cada marcador de amostra foram montadas usando o programa BioEdit a partir das sequências obtidas nas direções direta e reversa (Hall, 1999). Nucleotídeos divergentes ocorrendo na mesma posição foram verificados nos cromatogramas das sequências. As sequências consenso obtidas foram comparadas com as sequências disponíveis no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), com o uso do programa BLAST (Altschul et al., 1997).

As sequências obtidas foram editadas e alinhadas e foi inferido o método de distância, pairwise, que indicam as divergências genéticas entre as espécies para cada marcador estudado.

Tabela 3. Primers utilizados para produção de PCR.

Marcadores	Primers	Sequência 5'-3'
cox 1	GAZR1	ACTTCTGGATGTCCAAAAAAYCA
	GWSFT	CAAAAYCAYAAARGATATYGGTAC
UPA	UPAF	GGACAGAAA GACCCTATGA
	UPAR	CTCTAGGGATAACA GGCTGA
rbcL	F57	GTAATTCGATATGCWAAAATGG
	R753	CGAGAAAGRATGTATAGYA G
	F492	CGTATGGATAAATTTGGTCCG
	F993	GGTACTGTTGTA GGTAAATTWGAA GG
	rbcS	GTGAGATTAACACAA GAAG

3.9 Análise estatística dos dados

Os resultados foram analisados estatisticamente através da análise de variância “ANOVA” unifatorial, seguido do teste de comparação Student-Newman-Keuls. As diferenças significativas estão apresentadas nos gráficos através de letras minúsculas em cima das barras ($p < 0,05$).

Foi realizada a Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os dados quantitativos dos metabólitos para cada espécie separadamente, afim de observar relações significativas entre eles. Além disso, foi realizada a Análise de Componentes Principais (ACP) envolvendo todos os dados quantitativos dos metabólitos nas quatro espécies estudadas de forma conjunta.

Foi utilizado o software Statistica v10.0 para realização da ANOVA e Correlação de Pearson. Para a análise de componentes principais foi utilizado o software PCOrd v6.0.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização bioquímica das espécies

4.1.1. Pigmentos fotossintetizantes

Em *Palmaria decipiens* (figura 14 A-D), todos os pigmentos analisados apresentaram variação significativa entre os locais de coleta analisados. As concentrações de ficoeritrina (figura 14-A) das amostras coletadas em Ilha Robert (RB), Estação Antártica Comandante Ferraz (CF) e Refúgio 2 (R2) foram significativamente maiores do que os demais locais de coleta. As concentrações de ficocianina (figura 14-B) foram significativamente maiores em Ilha Deception (DC), RB e CF se comparadas com Punta Plaza (PP) e Ipanema (IP), sendo que os demais apresentaram valores intermediários. Já as concentrações de aloficocianina (figura 14-C) foram significativamente maiores em Herve Cove (HC) e Denais Stack (DS) e as menores concentrações foram encontradas em PP, IP e CF. Finalmente, a clorofila a (figura 14-D), o pigmento com as menores concentrações, apresentou concentrações significativamente maiores em HC e DS, se comparadas com as amostras coletadas em DC e RB, onde foram encontrados os menores valores para este pigmento.

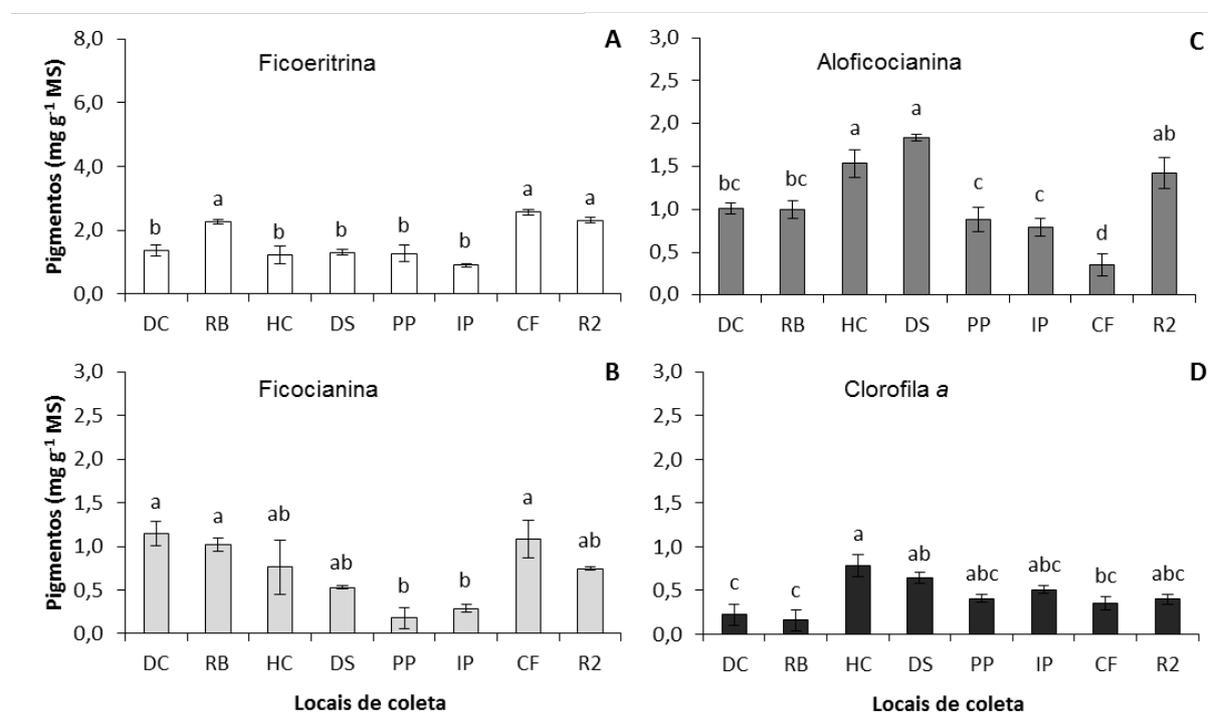


Figura 14. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

Nas amostras de *Georgiella confluens* (figura 15 A-D), nota-se diferença significativa entre locais de coleta para o pigmento ficoeritrina (figura 15-A) e aloficocianina (figura 15-C), onde a amostra coletada em Vaureal (VR) apresentou significativamente a maior concentração em ambos os casos. Já as concentrações de ficocianina (figura 15-B) e clorofila a (figura 15-D) não apresentaram diferenças significativas entre os locais de coleta.

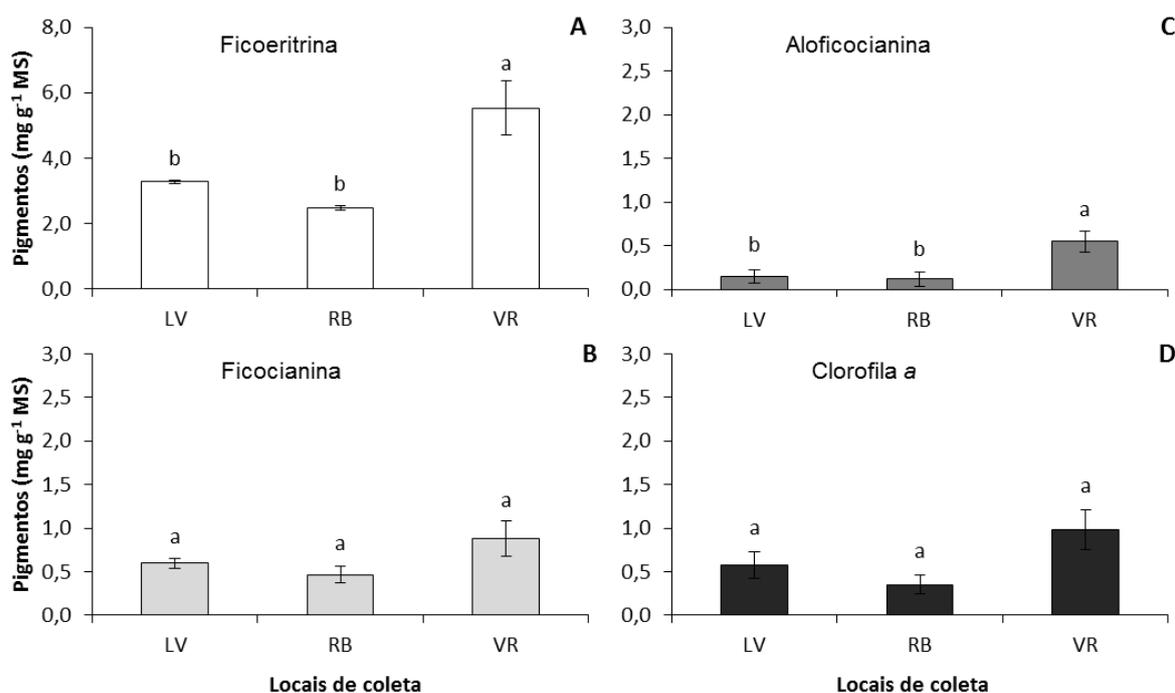


Figura 15. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

As concentrações dos pigmentos fotossintetizantes das amostras de *Gigartina skottsbergii* da região antártica e subantártica são apresentadas na Figura 16 (A-D). A concentração de ficoeritrina (Figura 16-A) apresentou pouca variação, sendo que a amostra coletada em Arctowski (AW) foi significativamente maior do que a coletada em RB, já que as demais localidades apresentaram valores intermediários. As concentrações de ficocianina apresentaram valores significativamente maiores em AW, se comparadas com as amostras coletadas nas regiões subantárticas Fuerte Bulnes (FB) e plantas cistocárpicas e tetrasporofíticas coletadas em Punta Estaquilla (ES C e ES T, respectivamente) e RB. Já as concentrações de aloficocianina não apresentaram diferenças significativas entre os locais de coleta. Finalmente, as concentrações de clorofila a foram as menores dentre os pigmentos analisados, sendo significativamente maiores em AW e FB do que os demais locais de coleta.

Não houve diferença significativa nas concentrações dos pigmentos analisados entre os estádios de histórico de vida de *Gigartina skottsbergii*.

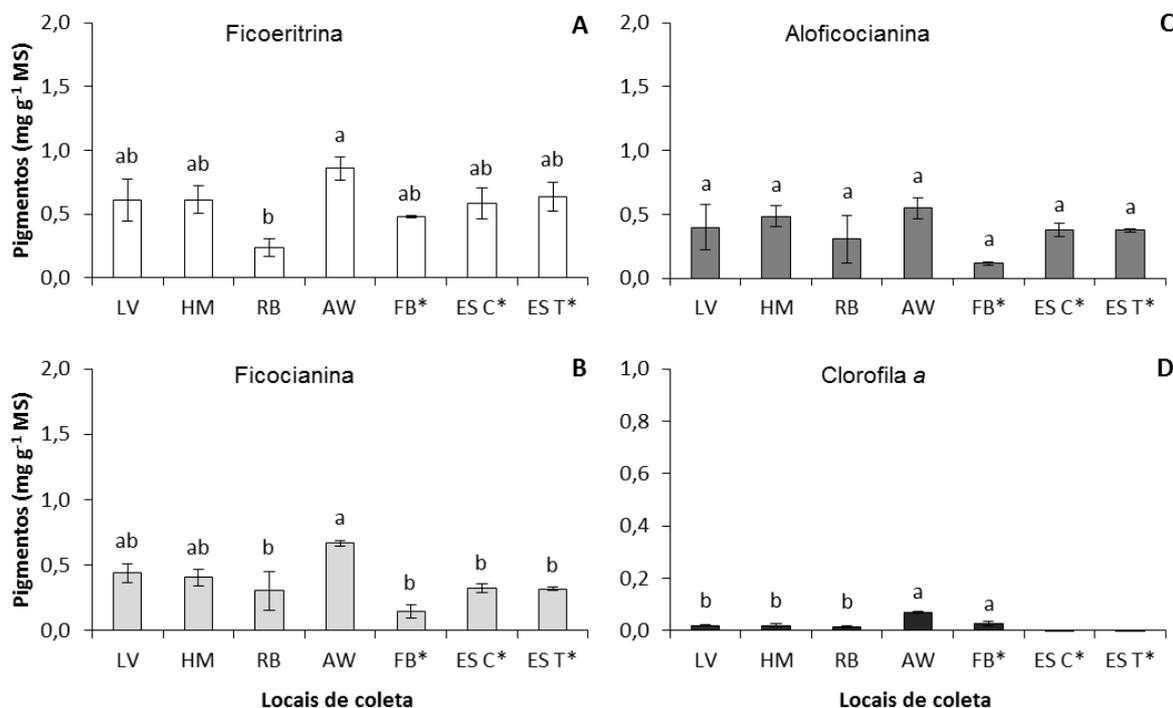


Figura 16. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ESC = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); EST = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

As amostras de *Iridaea cordata* (figura 17 A-D) apresentaram concentrações de ficoeritrina (figura 17-A) e ficocianina (figura 17-B) significativamente maiores nas amostras coletadas na região subantártica (BQ*) se comparadas com a amostra coletada em AW, já que os demais valores apresentaram valores intermediários entre os dois locais citados. Por outro lado, as concentrações de aloficocianina (figura 17-C) e clorofila a (figura 17-D) foram significativamente maiores na amostra coletada em região subantártica (BQ*) se comparada às demais localidades.

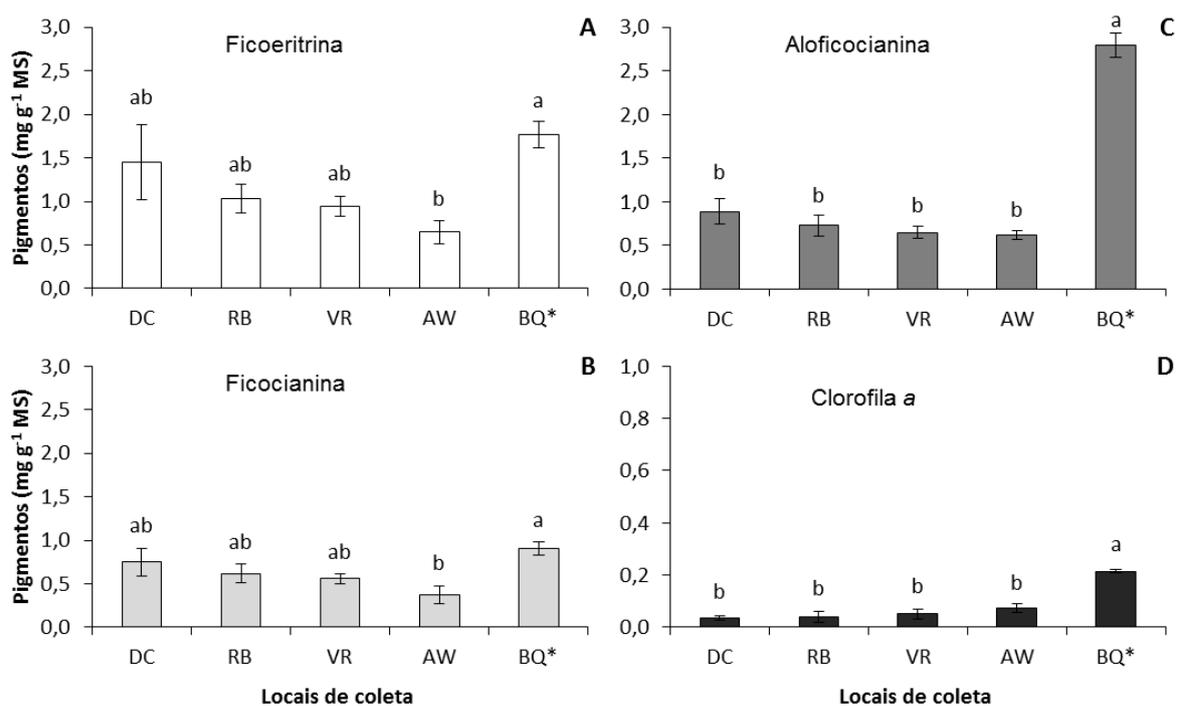


Figura 17. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

4.1.2. Proteínas Solúveis Totais

A concentração de proteínas solúveis totais em amostras de *Palmaria decipiens* (figura 18) foi significativamente maior em amostras coletadas em DC, RB e DS em relação aos demais pontos de coleta. Já a espécie *Georgiella confluens* não apresentou diferenças significativas entre os locais de coleta (figura 19).

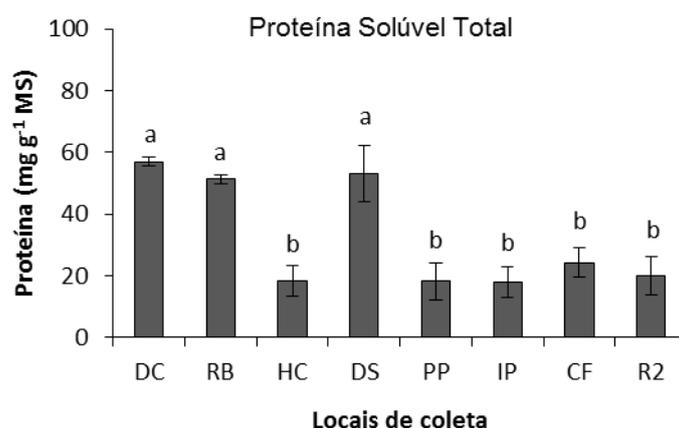


Figura 18. Concentração de proteínas solúveis totais das amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

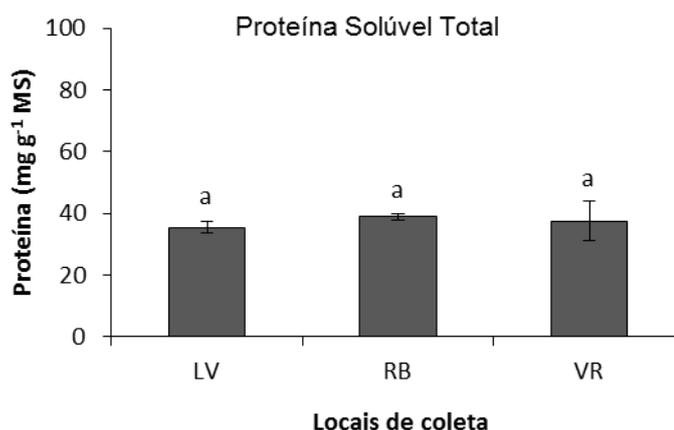


Figura 19. Concentração de ficobiliproteínas (Ficoeritrina, Ficocianina e Aloficocianina) e clorofila a das amostras de *Geigiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV= Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

Na espécie *Gigartina skottsbergii* (**figura 20**), os locais de coleta da região antártica (LV, HM, RB e AW) apresentaram concentrações de proteínas significativamente maiores do que as amostras coletadas na região subantártica (FB, ES C e ES T*). Ainda nesta espécie, é possível observar que concentração de proteína foi significativamente maior na amostra de plantas cistocárpicas (ES C) se comparada com a amostra de tetrasporófito (ES T), que por sua vez apresenta a concentração mais baixa de proteínas. Porém, em *Iridaea cordata* (**figura 21**) foram encontrados os menores valores em locais da região antártica (RB, VR e AW) se comparadas com a amostra coletada região subantártica (BQ*).

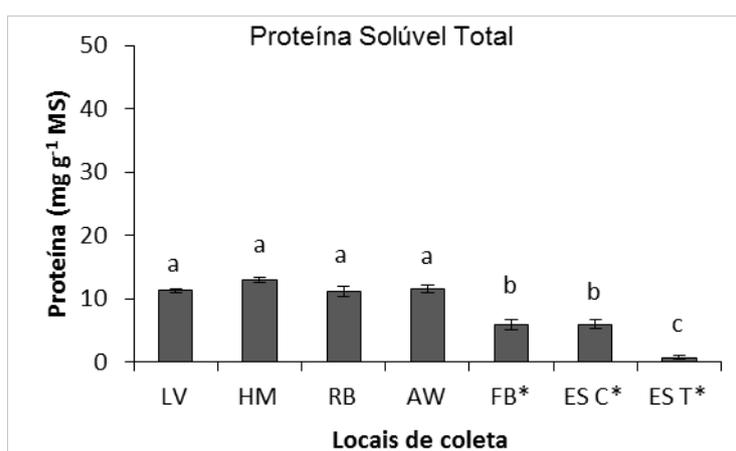


Figura 20. Concentração de proteínas solúveis totais das amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporófito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

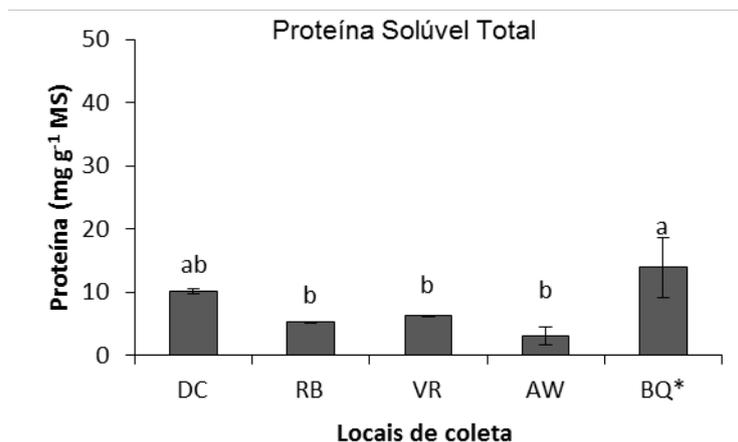


Figura 21. Concentração de proteínas solúveis totais das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

4.1.3. Açúcares Totais

A concentração de açúcares totais na fração etanólica mostrou grande variação entre os locais de coleta em *Palmaria decipiens* (**figura 22A**). A amostra coletada em DC, RB e DS apresentaram concentrações significativamente maiores do que a amostra coletada em HC. Os demais locais apresentaram valores intermediários, com grandes variações. Já a fração aquosa desta espécie apresentou valores muito maiores, sendo que DC foi significativamente maior que as demais localidades com exceção de PP, que apresentou concentração semelhante (**figura 22B**).

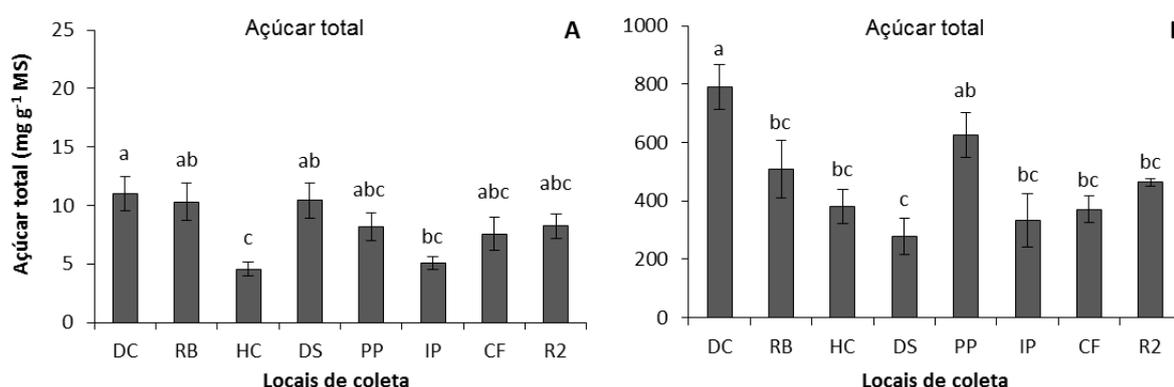


Figura 22. Concentração açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de *Palmaria decipiens* (Pd) coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Os valores correspondem a médias \pm desvio padrão (n=3).

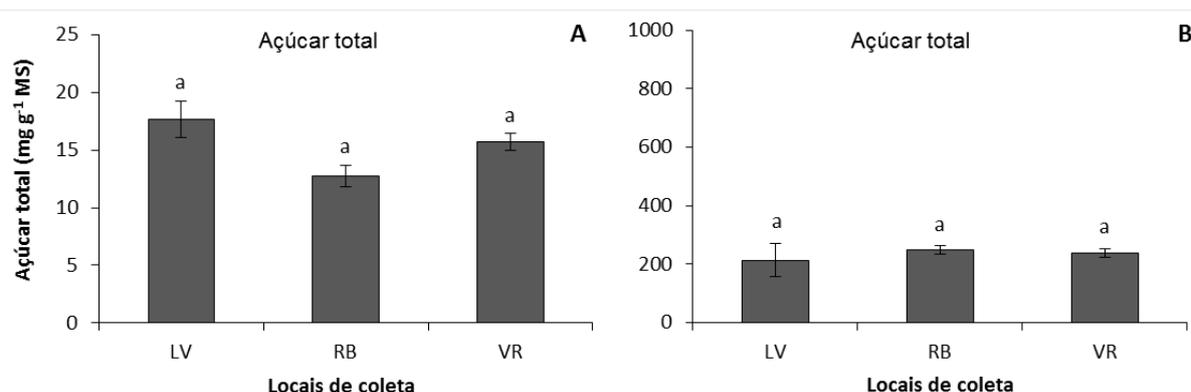


Figura 23. Concentração açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Diferentemente de *P. decipiens*, as concentrações dos açúcares totais das amostras de *Georgiella confluens* não apresentaram diferenças significativas entre os locais de coleta, em ambos os casos (**figura 23A- B**).

As amostras da fração etanólica de *Gigartina skottsbergii* (**figura 24A**) que foram coletadas em HM e RB apresentaram concentrações de açúcares solúveis totais significativamente maiores do que a amostra coletada em AW e as demais coletadas na região subantártica (*). Além disso, não foi observada diferença significativa entre as fases de vida coletadas em ES. Já a fração aquosa (**figura 24B**) mostrou maiores variações, sendo que amostras coletadas em LV, HM, RB e ES C apresentaram valores significativamente maiores do que as amostras coletadas em FB e ES T, que apresentaram as menores concentrações de açúcares solúveis totais. Desta forma é possível notar diferença significativa entre os estádios de vida coletados em ES, onde a planta cistocárpica apresentou maiores concentrações do que o tetrasporófito.

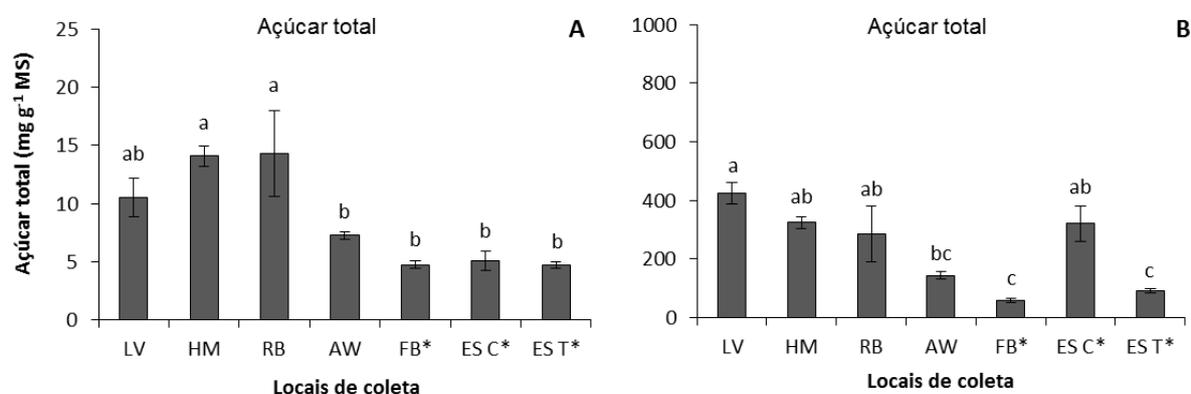


Figura 24. Concentração açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com

letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

As amostras de *Iridaea cordata* (figura 25 A-B) não apresentaram diferenças significativas entre os locais de coleta tanto na fração etanólica (A) como na fração aquosa (B).

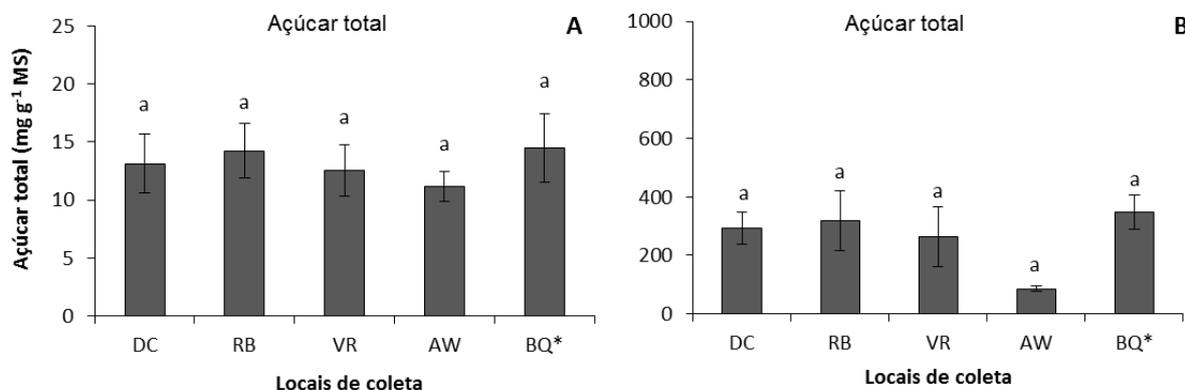


Figura 25. Concentração de açúcares totais presentes no extrato etanólico (A) e aquoso (B) de das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

4.1.4. Açúcares Redutores

O maior valor encontrado de açúcares redutores em *Palmaria decipiens* (figura 26) foi em DC, seguido da amostra coletada em RB e por fim, os demais pontos de coleta. Porém, as amostras de *Georgiella confluens* não apresentaram diferenças significativas na concentração de açúcares redutores entre os locais de coleta, como pode ser observado na figura 27.

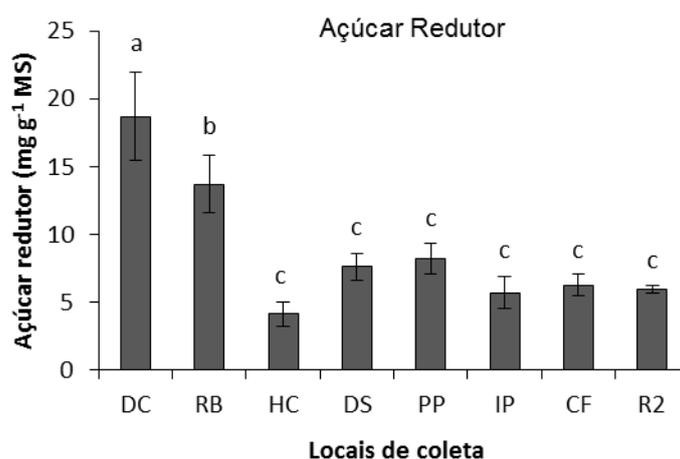


Figura 26. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

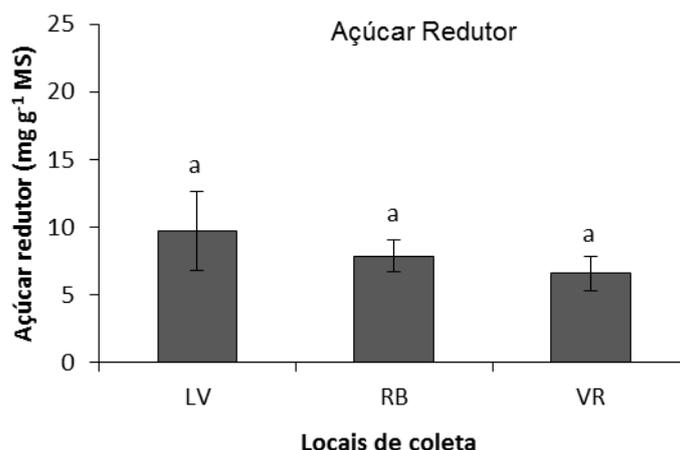


Figura 27. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

As concentrações de açúcares redutores nas amostras de *Gigartina skottsbergii* (**figura 28**) tiveram pouca variação entre as localidades. A amostra de tetrasporófito coletada em ES foi significativamente maior do que a amostra coletada em FB. Já as demais amostras coletadas na região antártica não apresentaram diferenças significativas. Foi observada ausência de diferenças significativas também entre os locais de coleta de *Iridaea cordata*, como mostra a **figura 29**.

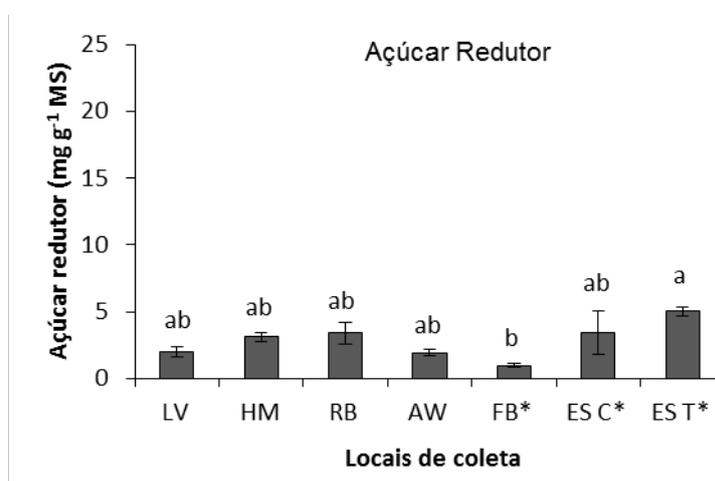


Figura 28. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Média \pm DP (n=3). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

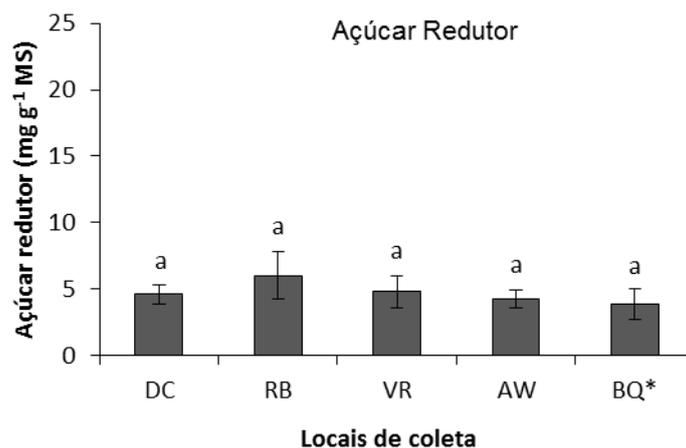


Figura 29. Concentração de açúcares redutores no extrato etanólico das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

4.1.5. Análise dos ficocolóides

O rendimento dos ficocolóides obtidos nas amostras de *Palmaria decipiens* (figura 30) diferiu entre os locais de coleta. As amostras coletadas em DS, PP e CF foram as que apresentaram maior rendimento se comparada com as demais, e as amostras coletadas em RB e IP foram as que apresentaram menores rendimentos.

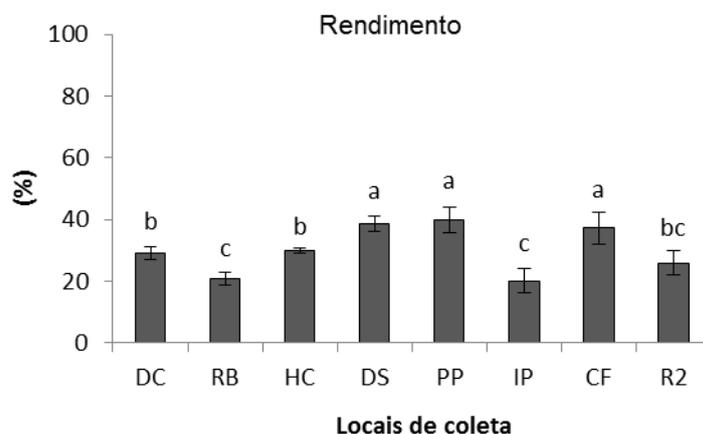


Figura 30. Rendimento de ficocolóide por massa seca de amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

O rendimento das amostras de *Georgiella confluens* (figura 31) também apresentaram diferenças entre os locais de coleta, onde o maior valor foi encontrado nas amostras coletadas em LV e VR se comparadas com a coletada em RB.

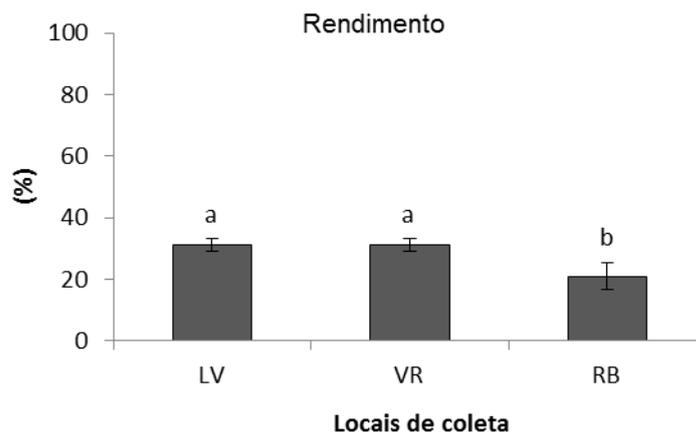


Figura 31. Rendimento de ficolóide por massa seca de amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

Diferentemente das espécies citadas anteriormente, as amostras de *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata* apresentam um maior rendimento (aproximadamente duas vezes mais). As amostras de *Gigartina skottsbergii* (figura 32) apresentaram valores significativamente maiores em amostras de plantas cistocárpicas coletadas em ES (ES C) se comparadas com os demais locais, com exceção de RB, que apresentou valores semelhantes. Já os menores valores foram encontrados em FB e ES T. Os demais pontos de coleta apresentaram valores intermediários de rendimento.

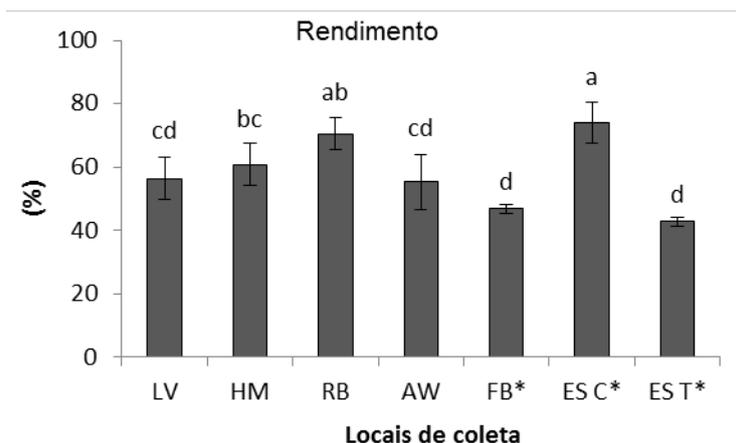


Figura 32. Rendimento de ficolóide por massa seca de amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

Já em *Iridaea cordata* (figura 33), o maior valor de rendimento foi encontrado na região subantártica (BQ*), sendo significativamente maior do que os demais locais de coleta da região antártica.

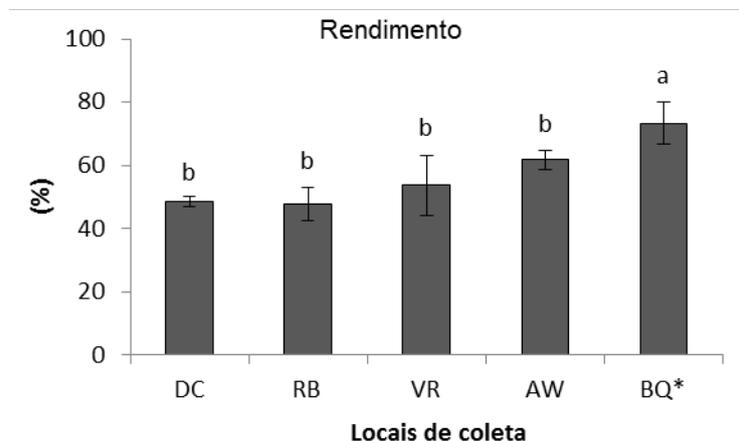


Figura 33. Rendimento de ficolóide por massa seca de amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

A porcentagem de 3,6 anidrogactose encontrada nos polissacarídeos não mostrou variações significativas entre os locais de coleta de *Palmaria decipiens* (figura 34-A), com exceção de RB, que apresentou significativamente o menor valor. Já os valores de sulfato para esta mesma espécie (figura 34-B) se mostraram baixos, porem com mais variações. Os valores obtidos para as amostras coletadas em DC, DS e R2 foram significativamente maiores do que em RB, HC, PP e CF.

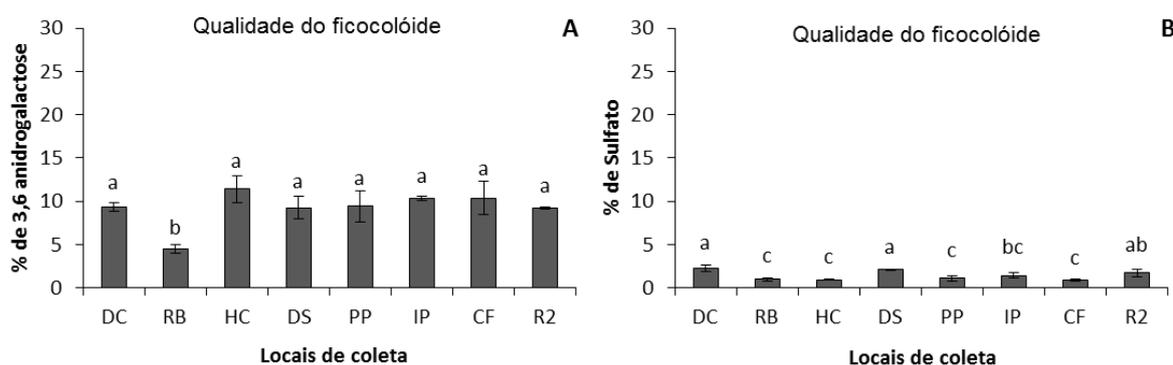


Figura 34. Teor de 3,6 anidrogactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficolóides da espécie *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

Em *Georgiella confluens* (figura 35A), a porcentagem de 3,6 anidrogalaactose nos polissacarídeos foi significativamente maior em VR do que nas demais localidades. A porcentagem de sulfato (figura 35B) também foi significativamente maior em amostras coletadas em VR, sendo seguido LV e finalmente RB, com o menor grau de sulfatação.

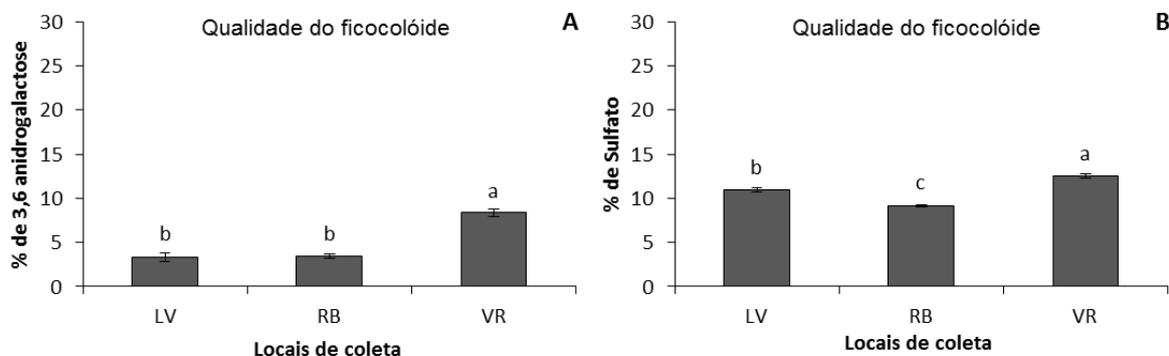


Figura 35. Teor de 3,6 anidrogalaactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficocolóides da espécie *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média ± DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls (p < 0,05).

As porcentagens de 3,6 AG em amostras de *Gigartina skottsbergii* (figura 36A) são muito superiores se comparadas com as espécies citadas anteriormente. Neste caso, as amostras coletadas em AW e FB apresentaram significativamente os maiores valores, seguidas de LV, HM, RB e ES C e por fim, o tetrasporófito coletado em ES, com a menor porcentagem. Já a porcentagem de sulfato nesta espécie (figura 36B) apresentou maiores valores em LV e ES T se comparados com AW, FB e ES C. Os demais locais de coleta apresentaram valores intermediários entre os citados.

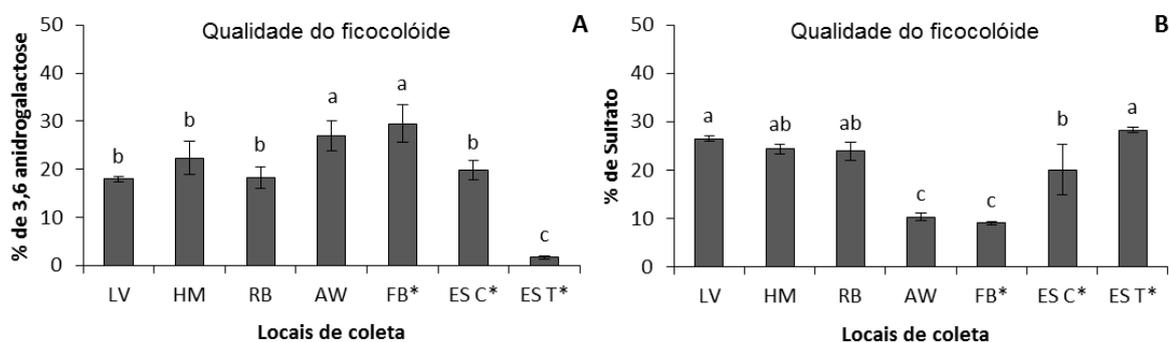


Figura 36. Teor de 3,6 anidrogalaactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficocolóides da espécie *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporófito). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média ± DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls (p < 0,05).

Em *Iridaea cordata*, os valores de 3,6 AG apresentaram grandes variações, sendo significativamente maior em região subantártica (BQ*), seguida de VR e AW, e finalmente, DC e RB apresentando as menores porcentagens de 3,6 AG (**figura 37A**). Já a quantidade de sulfato (**figura 37 B**) foi significativamente maior em AW se comparada a VR, sendo que o menor valor encontrado foi na amostra da região subantártica (BQ*). DC e RB apresentaram valores semelhantes VR e AW.

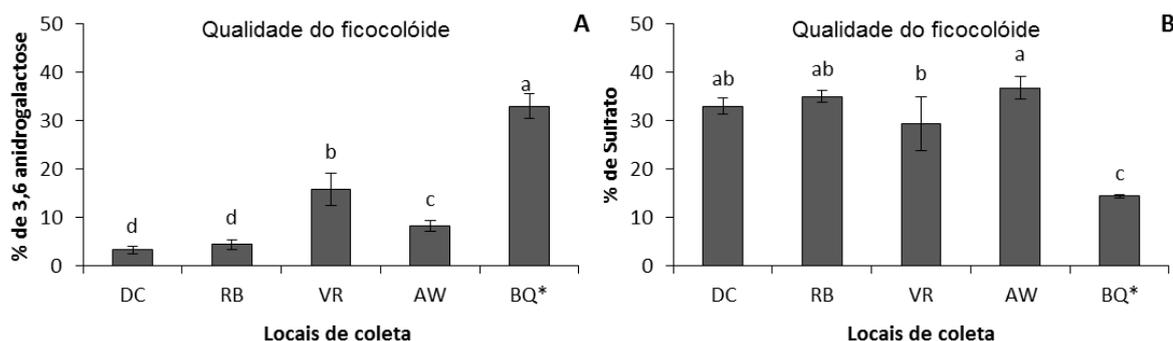


Figura 37. Teor de 3,6 anidrogactose (A) e sulfato (B) presentes em amostras de ficocolóides da espécie *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. Os locais de coleta estão representados em ordem decrescente de latitude. Média \pm DP (n=3). Tratamentos com letras distintas são significativamente diferentes entre si, segundo teste de comparação múltipla de Student- Newman- Keuls ($p < 0,05$).

4.1.6. Análise qualitativa dos carboidratos solúveis

A análise qualitativa dos carboidratos solúveis feita por HPAEC/PAD mostrou que os carboidratos majoritários são polióis, apresentando tempo de retenção (TR) entre 0 e 5 minutos. Houve variação qualitativa dos carboidratos em *Palmaria decipiens* (**figura 38**) coletadas em RB e DC, primeiramente por apresentar maiores quantidades de polióis, e por apresentarem maiores variações na composição de carboidratos com tempo de retenção (TR) entre 5 e 10 minutos, se comparadas com as demais localidades. As amostras de *Georgiella confluens* (**figura 39**) coletadas em LV e RB apresentaram perfil muito semelhante, porém diferentes se comparadas com a amostra coletada em VR, onde muitos dos açúcares com TR entre 5 e 15 minutos não foram detectados. Já os açúcares com TR entre 0 e 5 foram detectados, porém apresentaram picos inferiores se comparadas as demais localidades para esta espécie.

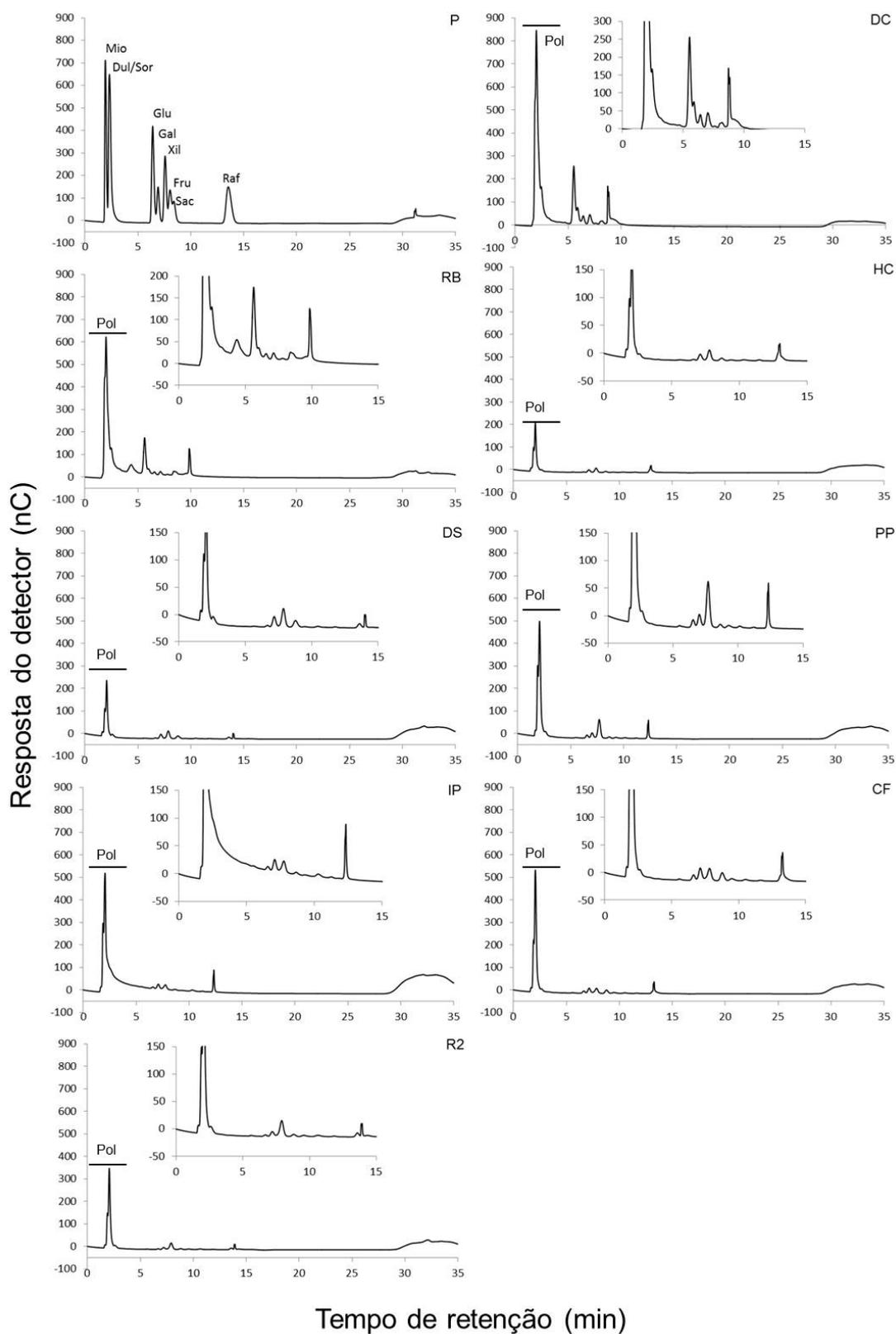


Figura 38. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos das amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2). P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contem 300 μ g/mL de açúcares totais.

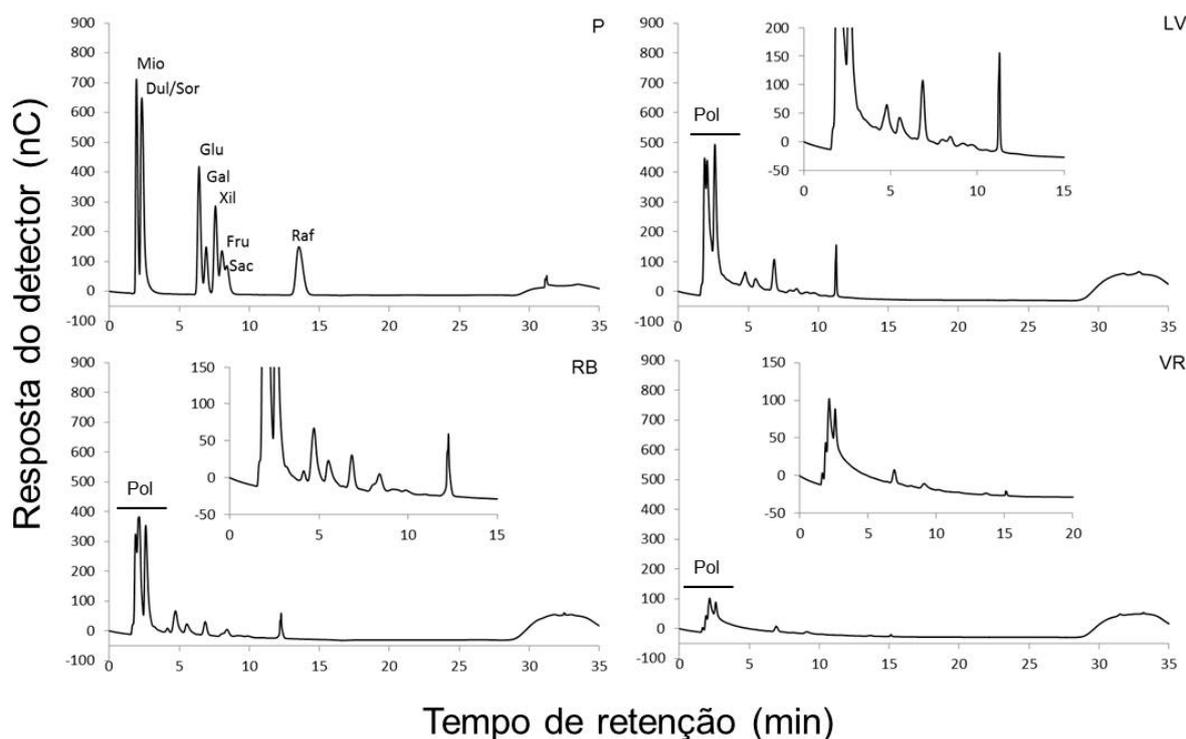


Figura 39. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos solúveis das amostras de *Georgiella confluens* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal). P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contêm 300 μ g/mL de açúcares totais.

Já nas amostras de *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata*, a quantidade de carboidratos com tempo de retenção entre 5 e 15 minutos foi menor se comparadas com as espécies apresentadas nas espécies anteriores (**figuras 38; 39**). Além disso, essas amostras apresentaram carboidratos de peso molecular maior, com TR entre 30 e 35 minutos. As amostras de *Gigartina skottsbergii* (**figura 40**) coletadas na região antártica (LV, HM, RB e AW) apresentaram basicamente o mesmo perfil, revelando a presença de 2 picos majoritários, sendo um deles com TR entre 0 e 5 e outro com TR entre 30 e 35 minutos. Já as amostras de região subantártica mostraram diferenças, como em FB que apresentou uma quantidade inferior de carboidratos com TR entre 5 e 15 minutos se comparadas com as coletadas em ES C e ES T. Em *I. cordata* (**figura 41**), as amostras coletadas em AW apresentaram um perfil cromatográfico diferente se comparada com as demais amostras coletadas na região antártica (DC, RB e VR). Já a amostra da região subantártica, coletada em BQ, apresentou baixa diversidade e concentração de açúcares solúveis.

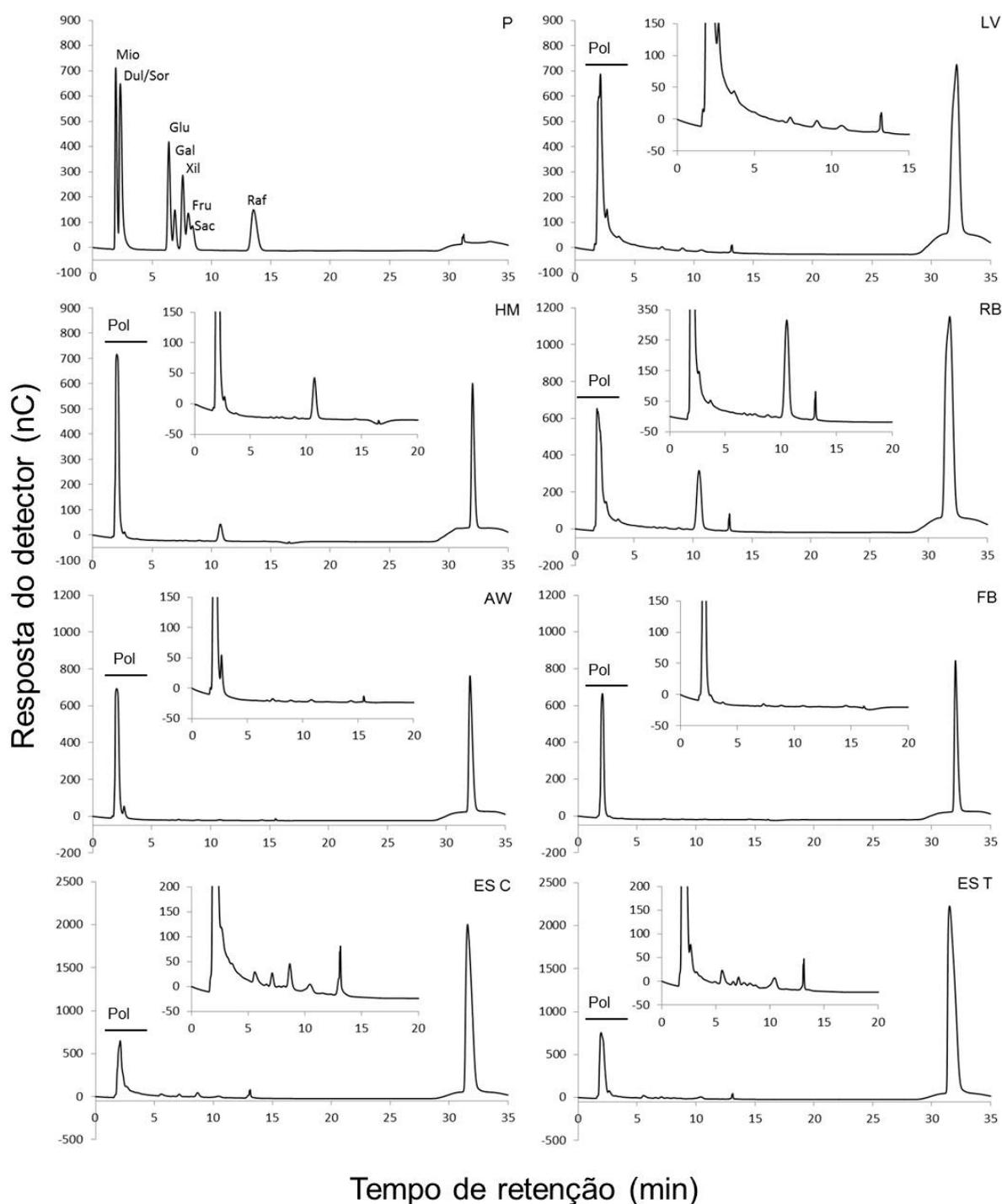


Figura 40. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos solúveis das amostras *Gigartina skottsbergii* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (LV = Ilha Livingston; HM = Halfmoon; RB = Ilha Robert; AW = Arctowski) e diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla (planta cistocárpica); ES T = Punta Estaquilla (tetrasporofito). (*) = região subantártica. P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contêm 300µg/mL de açúcares totais.

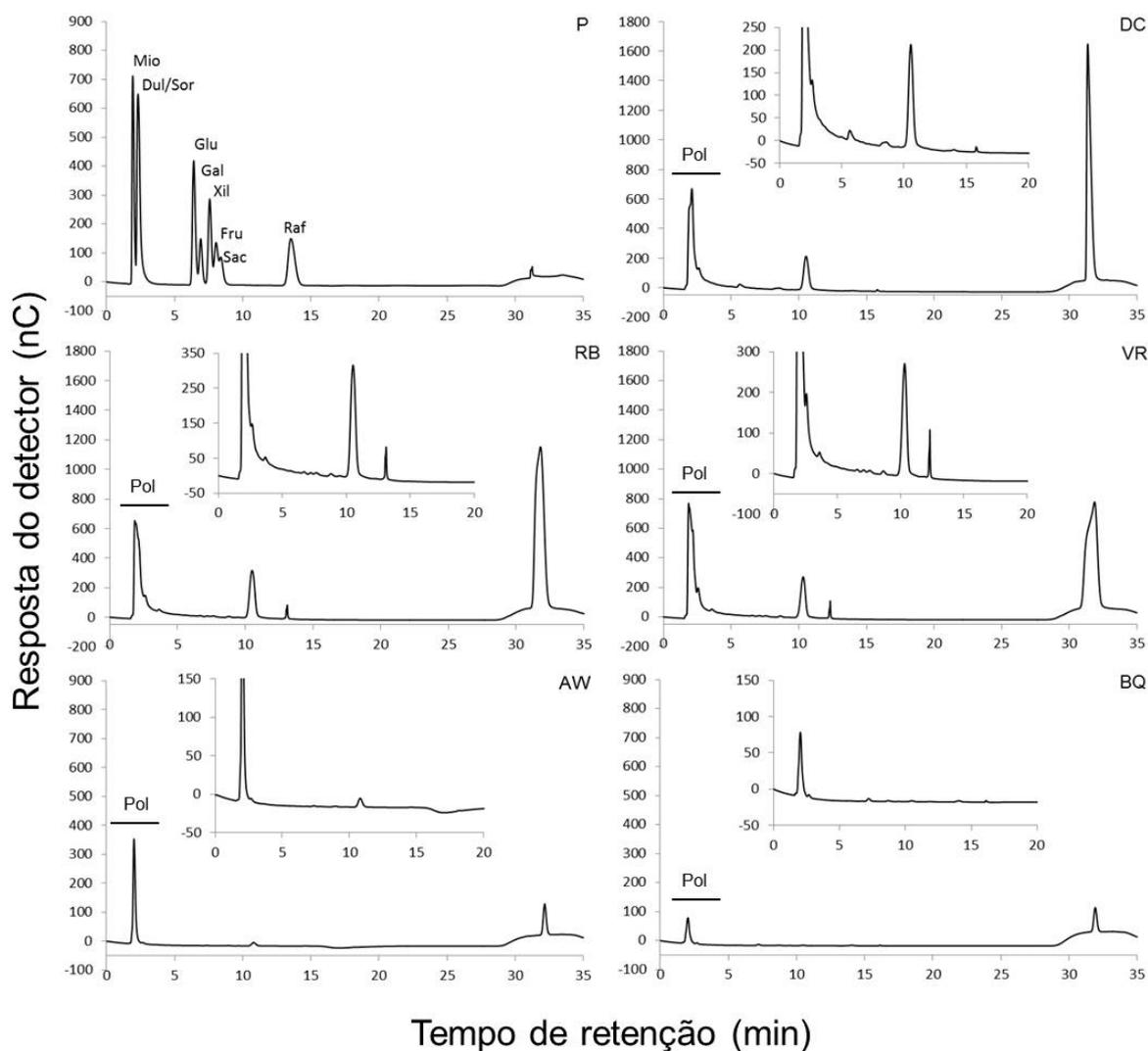


Figura 41. Análise por HPAEC/PAD em coluna CarboPac PA1 de carboidratos solúveis das amostras de *Iridaea cordata* coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; RB = Ilha Robert; VR = Vaoreal; AW = Arctowski) e em um ponto do Chile (BQ = Buque Quemada). (*) = região subantártica. P = Padrão; Mio = Mio-Inositol; Dul = Dulcitol; Sor = Sorbitol; Glu = Glucose; Gal = Galactose; Xil = Xilose; Fru = Frutose; Sac = Sacarose; Raf = Rafinose; Pol = Polióis. Amostras contêm 300µg/mL de açúcares totais.

4.2. Análises estatísticas

A análise de Correlação de Pearson entre os metabólitos de *Palmaria decipiens* (tabela 4) mostra que os pigmentos desta espécie, apresentaram correlações positivas nas comparações entre FE x FC, FC x PST, FC x AR e CL x 3,6 AG e correlações negativas entre CL x AT Et, CL x AT Aq e CL x AR. As proteínas solúveis totais (PST) apresentaram correlações positivas nas comparações entre PST x AT Et, PST x AR, PST x SF e negativas em PST e 3,6 AG. Já os carboidratos, apresentaram correlações positivas entre AT Et x AR e AT Aq x AR, e negativas entre AT Et x 3,6 AG e AR x 3,6 AG. As demais correlações não foram significativas.

Tabela 4. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de *Palmaria decipiens* coletadas nas Ilhas Shetland do Sul, Antártica. Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).

		FE	FC	AF	CL	PST	AT Et	AT Aq	AR	3,6 AG	SF
FC	r	0,625									
	p	0,001									
AF	r	-0,260	-0,120								
	p	0,220	0,574								
CL	r	-0,307	-0,186	0,378							
	p	0,145	0,383	0,069							
PST	r	0,0672	0,453	0,236	-0,259						
	p	0,755	0,026	0,268	0,222						
AT Et	r	0,267	0,298	0,0847	-0,424	0,704					
	p	0,207	0,157	0,694	0,039	0,000					
AT Aq	r	-0,064	0,183	-0,170	-0,470	0,252	0,253				
	p	0,767	0,391	0,426	0,020	0,234	0,233				
AR	r	0,080	0,448	-0,055	-0,534	0,7500	0,676	0,662			
	p	0,709	0,028	0,797	0,007	0,000	0,000	0,000			
3,6 AG	r	-0,365	-0,251	-0,022	0,532	-0,457	-0,561	-0,163	-0,506		
	p	0,079	0,237	0,919	0,007	0,025	0,004	0,446	0,012		
SF	r	-0,291	-0,046	0,313	-0,010	0,444	0,348	0,235	0,311	0,086	
	p	0,167	0,832	0,136	0,964	0,030	0,096	0,268	0,139	0,689	
RD	r	-0,021	-0,107	0,035	0,153	-0,055	0,146	0,005	-0,145	0,237	-0,009
	p	0,922	0,619	0,872	0,476	0,799	0,496	0,980	0,499	0,264	0,968

Na espécie *Georgiella confluens*, a análise de Correlação de Pearson entre os metabólitos (tabela 5) mostra que os pigmentos desta espécie, apresentaram correlações positivas nas comparações entre FE x FC, FE x AF, FE x CL, FE x 3,6 AG, FE x SF, FC x AF, FC x CL, FC x 3,6 AG, AF x CL, AF x 3,6 AG, AF x SF. As proteínas mostraram correlação positiva entre PST x AT Aq. Já os carboidratos apresentaram correlação positiva entre AT Et x RD, AT Aq x AR e por fim, correlação positiva na qualidade dos ficocolóides entre 3,6 AG x SF e SF x RD.

Tabela 5. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de *Georgiella confluens* coletadas nas Ilhas Shetland do Sul, Antártica. Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).

		FE	FC	AF	CL	PST	AT Et	AT Aq	AR	3,6 AG	SF
FC	r	0,899									
	p	0,001									
AF	r	0,911	0,921								
	p	0,001	0,000								
CL	r	0,865	0,938	0,782							
	p	0,003	0,000	0,013							
PST	r	0,105	0,364	0,206	0,441						
	p	0,788	0,335	0,595	0,234						
AT Et	r	0,355	0,375	0,132	0,505	0,335					
	p	0,348	0,319	0,735	0,166	0,378					
AT Aq	r	0,075	0,329	0,317	0,216	0,699	0,098				
	p	0,849	0,387	0,405	0,576	0,036	0,802				
AR	r	-0,155	0,054	-0,101	0,045	0,486	0,513	0,672			
	p	0,690	0,889	0,796	0,909	0,184	0,158	0,048			
3,6 AG	r	0,87	0,674	0,865	0,593	0,007	0,053	0,097	-0,304		
	p	0,002	0,047	0,003	0,093	0,986	0,892	0,805	0,426		
SF	r	0,834	0,666	0,753	0,601	-0,054	0,479	-0,046	-0,131	0,827	
	p	0,005	0,050	0,019	0,087	0,891	0,192	0,907	0,737	0,006	
RD	r	0,483	0,359	0,319	0,364	-0,137	0,741	-0,228	0,102	0,381	0,821
	p	0,188	0,353	0,402	0,336	0,725	0,022	0,556	0,794	0,312	0,007

Já as amostras de *Gigartina skottsbergii*, apresentaram resultados diferentes na análise de Correlação de Pearson entre os metabólitos (**tabela 6**). Os pigmentos desta espécie apresentaram correlações positivas nas comparações entre FE x FC, FE x AF, FC x AF, FC x CL, CL x AR, CL x SF e negativa entre CL x 3,6 AG. As proteínas mostraram correlação positiva entre PST x AT Et, PST x AT Aq, PST x 3,6 AG. Já os carboidratos apresentaram correlações positivas entre AT Et x AT Aq, AT Aq x SF, AT Aq x RD, AR x SF, e negativa entre AR x 3,6 AG. Por fim, a qualidade do ficocolóide mostrou correlação negativa entre 3,6 AG x SF. As demais correlações não foram significativas.

Tabela 6. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em regiões antárticas (Ilhas Shetland do Sul, Antártica) e subantártica (Chile). Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r). As correlações significativas estão representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).

		FE	FC	AF	CL	PST	AT Et	AT Aq	AR	3,6 AG	SF
FC	r	0,696									
	p	0,000									
AF	r	0,702	0,776								
	p	0,000	0,000								
CL	r	0,254	0,466	0,148							
	p	0,266	0,033	0,523							
PST	r	-0,079	0,430	0,285	0,299						
	p	0,734	0,052	0,211	0,188						
AT Et	r	-0,122	0,138	0,146	-0,068	0,776					
	p	0,599	0,551	0,526	0,770	0,000					
AT Aq	r	-0,068	0,034	0,078	-0,367	0,539	0,662				
	p	0,771	0,885	0,737	0,102	0,012	0,001				
AR	r	0,174	-0,107	0,111	-0,564	-0,248	0,126	0,064			
	p	0,451	0,644	0,631	0,008	0,277	0,587	0,782			
3,6 AG	r	0,007	0,272	0,024	0,763	0,484	0,097	0,013	-0,609		
	p	0,976	0,233	0,916	0,000	0,026	0,676	0,956	0,003		
SF	r	-0,176	-0,309	-0,034	-0,796	0,012	0,394	0,533	0,543	-0,758	
	p	0,446	0,173	0,884	0,000	0,958	0,078	0,013	0,011	0,000	
RD	r	-0,181	-0,025	0,098	-0,262	0,413	0,383	0,592	0,173	0,237	0,085
	p	0,432	0,913	0,672	0,251	0,063	0,087	0,005	0,454	0,300	0,713

Semelhante às amostras de *Gigartina skottsbergii*, a análise de Correlação de Pearson entre os metabólitos de *Iridaea cordata* (tabela 7) mostra que os pigmentos desta espécie, apresentaram correlações positivas nas comparações entre FE x FC, FE x AF, FE x PST, FE x AT Et, FC x AF, FC x PST, AF x CL, AF x PST, AF x 3,6 AG, AF x RD, CL x 3,6 AG, CL x RD e negativa entre AF x SF e CL x SF. As proteínas mostraram correlação positiva entre PST x AT Aq e negativa entre PST x SF. Por fim, a qualidade do ficocolóide mostrou correlação positiva entre 3,6 AG e RD, e negativa entre 3,6 AG x SF e SF x RD. As demais correlações não foram significativas.

Tabela 7. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os metabólitos estudados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila α ; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) em amostras de *Iridaea cordata* coletadas em regiões antárticas (Ilhas Shetland do Sul, Antártica) e subantártica (Chile). Os primeiros valores correspondem ao coeficiente de correlação (r As correlações significativas então representadas em vermelho (sendo $p < 0,05$).

		FE	FC	AF	CL	PST	AT Et	AT Aq	AR	3,6 AG	SF
FC	r	0,969									
	p	0,000									
AF	r	0,657	0,703								
	p	0,011	0,005								
CL	r	0,391	0,433	0,847							
	p	0,166	0,122	0,000							
PST	r	0,853	0,876	0,704	0,387						
	p	0,000	0,000	0,005	0,171						
AT Et	r	0,544	0,492	0,290	0,320	0,265					
	p	0,044	0,074	0,315	0,265	0,361					
AT Aq	r	0,446	0,513	0,340	0,224	0,556	0,144				
	p	0,110	0,061	0,234	0,441	0,039	0,624				
AR	r	-0,184	-0,103	-0,220	-0,508	-0,183	-0,402	-0,365			
	p	0,530	0,726	0,450	0,064	0,531	0,154	0,199			
3,6 AG	r	0,392	0,428	0,781	0,841	0,373	0,304	0,233	-0,372		
	p	0,165	0,126	0,001	0,000	0,188	0,291	0,423	0,190		
SF	r	-0,507	-0,525	-0,826	-0,743	-0,544	-0,318	-0,395	0,306	-0,902	
	p	0,064	0,054	0,000	0,002	0,044	0,267	0,162	0,288	0,000	
RD	r	0,229	0,222	0,662	0,803	0,138	0,215	0,103	-0,420	0,802	-0,693
	p	0,432	0,445	0,010	0,001	0,639	0,461	0,725	0,135	0,001	0,006

A análise de componentes principais (ACP) envolvendo os metabólitos das quatro espécies em estudo deu origem a dois principais eixos, sendo eles: Eixo 1 e Eixo 2, com explicabilidade de 48,189% e 16,102%, respectivamente (**tabela 8**). No Eixo 1, as variáveis com maior importância foram SF e RD (negativamente) e PST, AR e CL (positivamente). Já as de menores importância foram AT Et e AF. No Eixo 2, as variáveis com maior importância foram 3,6 AG (negativamente) e SF (positivamente) e os de menor importância foram CL e PST.

O diagrama de dispersão (**figura 42**) resultante da ACP demonstra a presença de quatro grupos (circulados). Nota-se que o agrupamento formado é basicamente referente às quatro espécies, mostrando que os parâmetros bioquímicos analisados são característicos para cada uma delas, com algumas exceções, como é o caso da amostra de *Iridaea cordata* coletada na região subantártica (BQ), que foi diferente das demais amostras.

Tabela 8. Análise dos componentes principais, mostrando a explicabilidade dos dois principais eixos que formam o diagrama de dispersão da Figura 42 e a importância das variáveis sobre ambos os eixos.

Variáveis	Componentes Principais	
	Eixo 1	Eixo 2
Ficoeritrina (FE)	0,1908	0,1179
Ficocianina (FC)	0,2235	-0,1015
Aloficocianina (AF)	0,0788	-0,27
Clorofila a (CL)	0,2522	0,0013
Proteína Solúvel Total (PST)	0,3822	0,0067
Açúcar Total – Etanólico (AT Et)	-0,0502	0,1464
Açúcar Total – Aquoso (AT Aq)	0,2341	-0,0931
Açúcar Redutor (AR)	0,2659	0,1416
3,6 Anidrogactose (3,6 AG)	-0,2386	-0,7229
Sulfato (SF)	-0,5501	0,5121
Rendimento de ficocolóide (RD)	-0,4584	-0,2603
Explicabilidade (%)	48,189	16,102

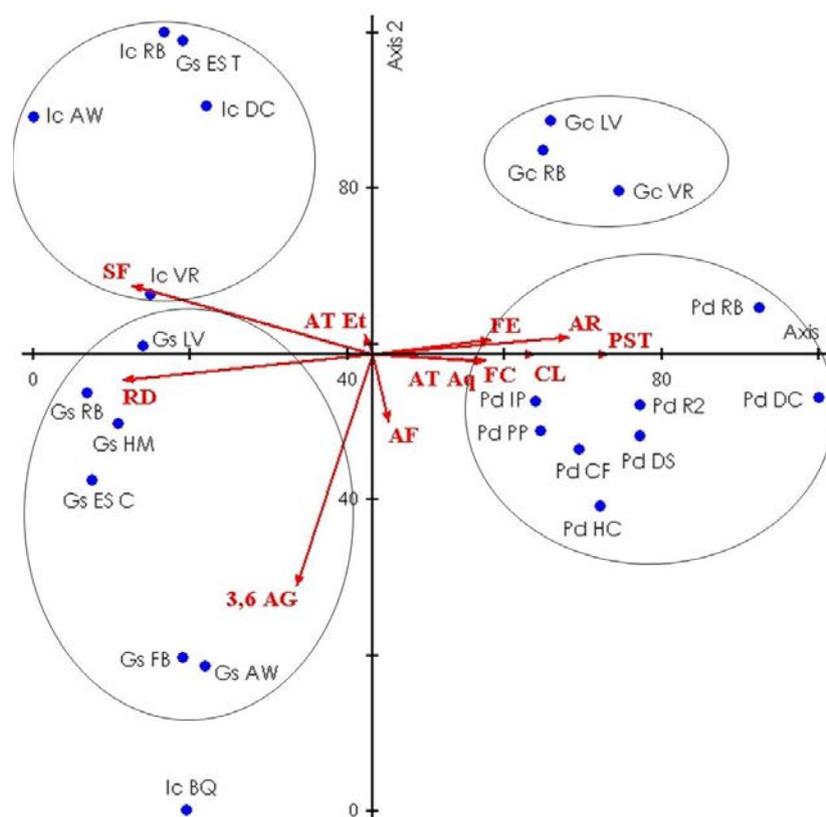


Figura 42. Diagrama de dispersão de dados dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais dos dados sobre o comportamento dos metabólitos analisados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) nas quatro espécies estudadas *Palmaria decipiens* (Pd), *Geigiella confluens* (Gc), *Gigartina skottsbergii* (Gs) e *Iridaea cordata* (Ic) coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2 e VR = Vaureal) e em diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla - planta cistocárpica; ES T = Punta Estaquilla – tetrasporofito; BQ = Buque Quemada).

A análise de componentes principais envolvendo os metabólitos apenas das espécies endêmicas da região antártica, *Palmaria decipiens* e *Georgiella confluens*, deu origem a dois principais eixos, sendo eles: Eixo 1 e Eixo 2, com explicabilidade de 37,072% e 30,057%, respectivamente (**tabela 9**). No Eixo 1, as variáveis com maiores influência foram AT Aq, AR, FC (positivamente) e CL (negativamente) e as de menores importância foram 3,6 AG, RD e AT Et. No Eixo 2, as variáveis com maior importância foram AT Et, FE e PST (positivamente) e AT Aq (negativamente) e as de menor importância foi CL e RD.

O diagrama de dispersão (Figura 43) resultante da ACP demonstra a presença de três grupos (circulados), sendo um deles referente às amostras de *Georgiella confluens*, outro referente às amostras de *P. decipiens* coletadas na Baía do Almirantado e outro dessa mesma espécie coletadas nas Ilhas Robert (RB) e Deception (DC), que são de maiores latitudes.

Tabela 9. Análise dos componentes principais, mostrando a explicabilidade dos dois principais eixos que formam o diagrama de dispersão da Figura 43 e a importância das variáveis sobre ambos os eixos.

Variáveis	Componentes Principais	
	Eixo 1	Eixo 2
Ficoeritrina (FE)	-0,1646	0,4694
Ficocianina (FC)	0,4022	0,2760
Aloficocianina (AF)	0,1353	-0,1929
Clorofila a (CL)	-0,3197	0,0719
Proteína Solúvel Total (PST)	0,3656	0,4267
Açúcar Total – Etanólico (AT Et)	-0,0567	0,5023
Açúcar Total – Aquoso (AT Aq)	0,5469	-0,2534
Açúcar Redutor (AR)	0,4653	0,1808
3,6 Anidrogactose (3,6 AG)	-0,0260	-0,1560
Sulfato (SF)	-0,1883	0,3244
Rendimento de ficocolóide (RD)	0,0457	-0,0159
Explicabilidade (%)	37,072	30,057

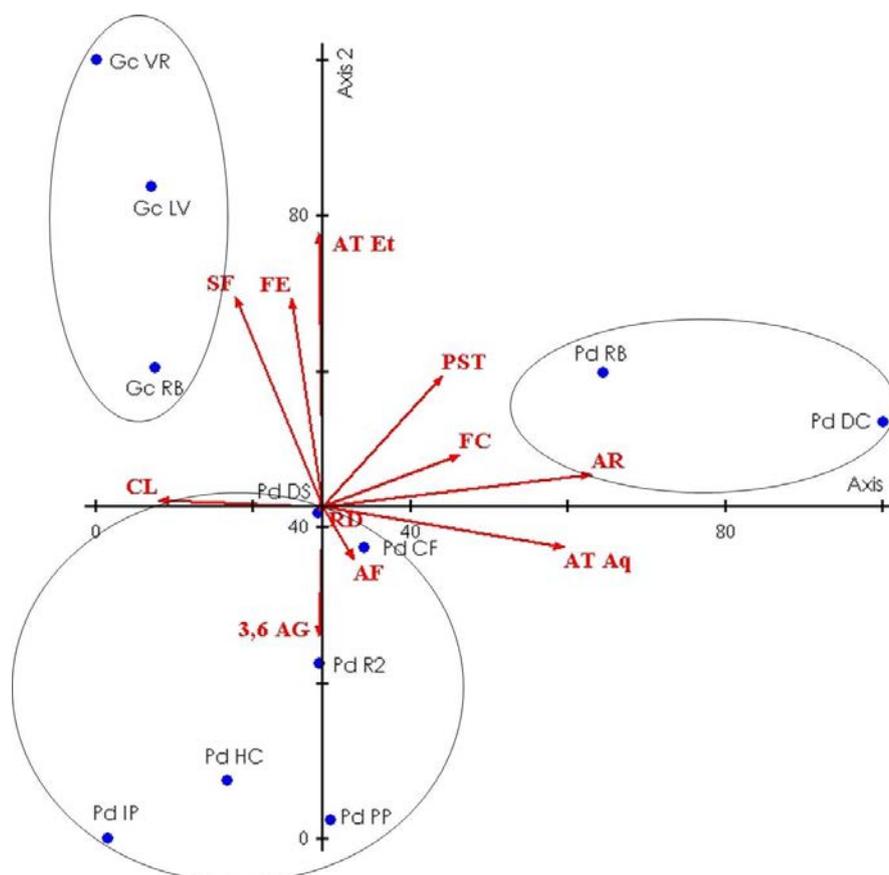


Figura 43. Diagrama de dispersão de dados dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais dos dados sobre o comportamento dos metabólitos analisados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila *a*; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogallactose; SF = Teor de sulfato) nas espécies endêmicas *Palmaria decipiens* (Pd) e *Geigiella confluens* (Gc), coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; HC = Herve Cove; DS = Denais Stack; PP = Punta Plaza; IP = Ipanema; CF = Estação Antártica Comandante Ferraz; R2 = Refúgio 2 e VR = Vaureal).

A análise de componentes principais envolvendo os metabólitos de *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata* deu origem à dois principais eixos, sendo eles: Eixo 1 e Eixo 2, com explicabilidade de 50,639% e 26,867%, respectivamente (**tabela 10**). No Eixo 1, as variáveis com maior influência foram 3,6 AG (positivamente) e SF (negativamente) e as com menores influência foram FE e AT Aq. Já no Eixo 2, AF e AT Et apresentaram maior importância (negativamente) e os menores valores foram referente à FE e 3,6 AG.

O diagrama de dispersão (**figura 44**) resultante da ACP demonstra a presença de três grandes grupos, sendo um deles referente às amostras de *I. cordata* coletadas na região antártica (DC, RB, AW e VR), outro referente às amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em latitudes menores (ES C, FB e AW) e outro dessa mesma espécie coletadas nas demais ilhas de maiores latitudes (LV, HM e RB). Porém, nesta análise, nota-se que a amostra de tetrasporofito de *Gigartina skottsbergii* coletada em ES (Gs ES T) se distanciou da amostra de planta cistocárpica coletada no mesmo local (Gs ES C), da mesma forma que a amostra de *I.*

cordata coletada na região subantártica (BQ) se distanciou das demais coletadas na região antártica.

Tabela 10. Análise dos componentes principais, mostrando a explicabilidade dos dois principais eixos que formam o diagrama de dispersão da Figura 43 e a importância das variáveis sobre ambos os eixos.

Variáveis	Componentes Principais	
	Eixo 1	Eixo 2
Ficoeritrina (FE)	0,0170	-0,0900
Ficocianina (FC)	0,1224	-0,3597
Aloficocianina (AF)	0,2255	-0,5250
Clorofila a (CL)	0,0475	-0,0403
Proteína Solúvel Total (PST)	0,1059	-0,1006
Açúcar Total – Etanólico (AT Et)	0,0393	-0,5589
Açúcar Total – Aquoso (AT Aq)	-0,0012	-0,2862
Açúcar Redutor (AR)	-0,1212	-0,1915
3,6 Anidrogactose (3,6 AG)	0,7693	0,0706
Sulfato (SF)	-0,5097	-0,3216
Rendimento de ficocolóide (RD)	0,2293	-0,1891
Explicabilidade (%)	50,639	26,867

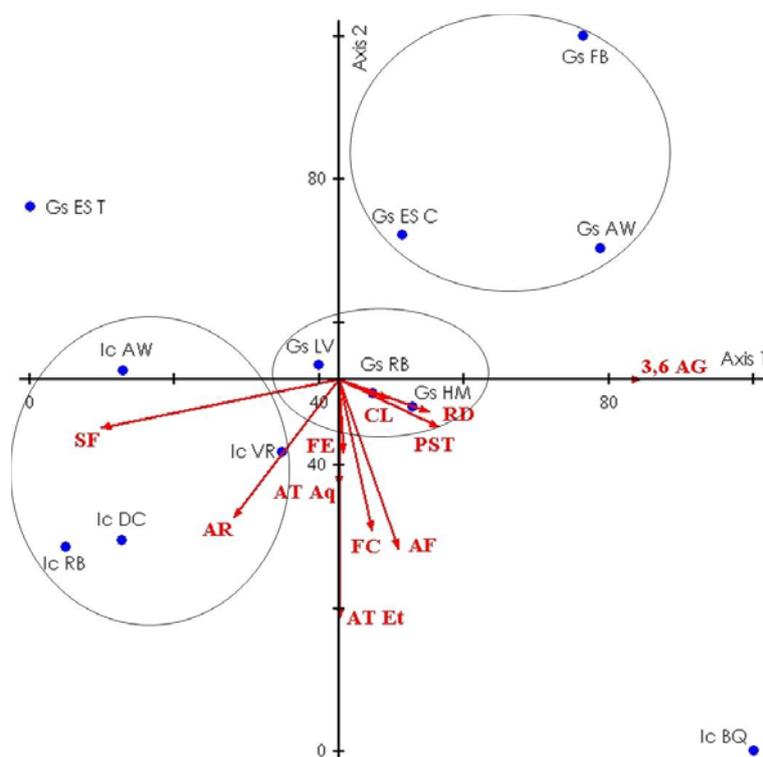


Figura 44. Diagrama de dispersão de dados dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais dos dados sobre o comportamento dos metabólitos analisados (FE = ficoeritrina; FC = ficocianina; AF = aloficocianina; CL = clorofila a; PST = (Proteína solúvel total; AT Et = Açúcar total – Fração etanólica; AT Aq = Açúcar total – Fração aquosa; AR = Açúcar redutor; RD = Rendimento de ficocolóides; 3,6 AG = Teor de 3,6 anidrogactose; SF = Teor de sulfato) nas espécies *Gigartina skottsbergii* (Gs) e *Iridaea cordata* (Ic) coletadas em diferentes localidades das Ilhas Shetland do Sul, Antártica (DC = Ilha Deception; LV = Ilha Livingston; RB = Ilha Robert; VR = Vaureal) e em diferentes pontos do Chile (FB = Fuerte Bulnes; ES C = Punta Estaquilla - planta cistocárpica; ES T = Punta Estaquilla – tetrasporofito; BQ = Buque Quemada).

4.3. Análise molecular: “DNA barcoding”

Para as análises moleculares foram utilizados 3 marcadores (UPA, *cox1* e *rbcL*), porém, somente as sequências de *cox1* foram obtidas para todas as amostras em questão, como apresentado na **tabela 11**.

As sequências com “*”, são referentes às sequências obtidas por Medeiros (2013), que foram utilizadas neste trabalho para confirmação taxonômica das espécies *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata* coletadas para este trabalho.

Tabela 11. Espécies analisadas com indicação dos marcadores moleculares obtidos. “X” indica sequência obtida para o referido marcador, e “P” indica que a sequência foi obtida parcialmente. As sequências já obtidas retiradas do BOLD estão representadas com (*).

Espécies	Local de coleta	Marcadores moleculares utilizados		
		UPA	cox 1	rbcL
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Ilha Rei George, Antártica		X	P
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Ilha Rei George, Antártica*	*	*	*
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Ilha Livingston, Antártica	X	X	P
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Ilha Robert, Antártica		X	P
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Fuerte Bulnes, Chile		X	P
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Punta Estaquilla, Chile		X	P
<i>Iridaea cordata</i>	Ilha Livingston, Antártica		X	P
<i>Iridaea cordata</i>	Ilha Rei George, Antártica*	*	*	*
<i>Iridaea cordata</i>	Ilha Rei George, Antártica		X	P
<i>Iridaea cordata</i>	Buque Quemada, Chile	X	X	P

A análise de Neighbor Joining baseadas nas sequencias do marcador *cox1*, mostrou um agrupamento em 4 clados, com exceção de *Georgiella confluens*, que foi primeiramente

separado dos demais já que esta espécie pertence a ordem Ceramiales e as demais à ordem Gigartinales.

Podemos observar que a espécie *Gigartina skottsbergii* foi separada em 2 clados, sendo um deles contendo as espécies coletadas na região Antártica e o outro contendo as espécies coletadas no Chile. O mesmo ocorreu com as amostras de *I. cordata*.

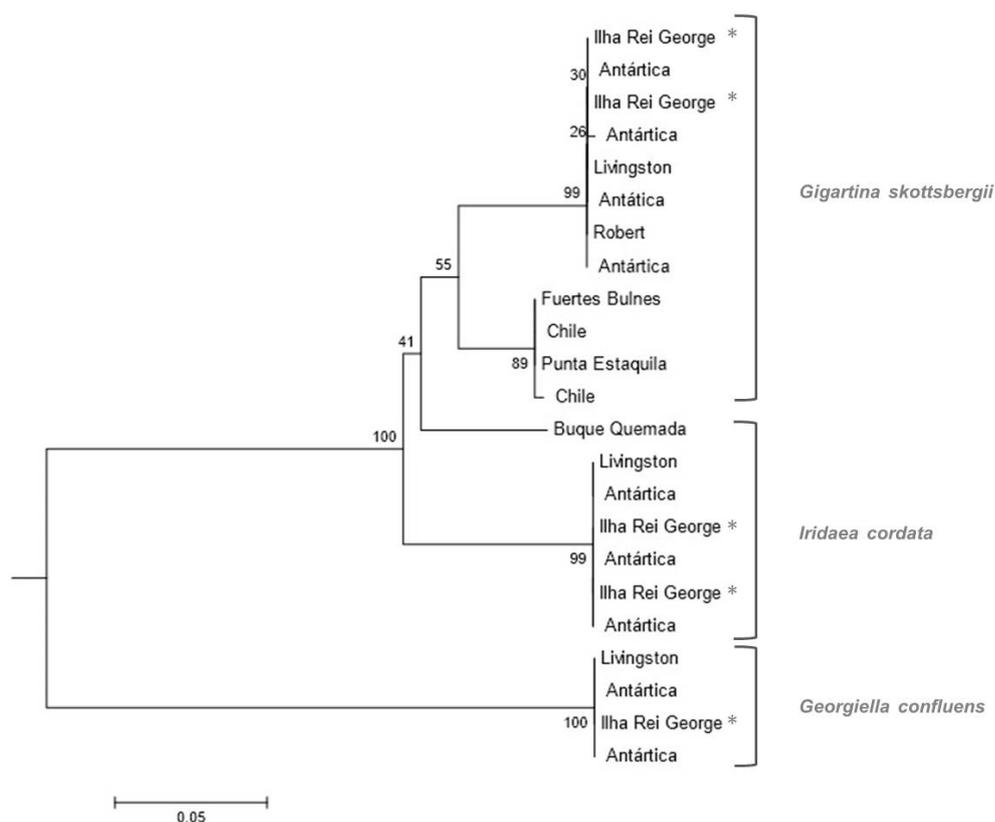


Figura 45. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências do marcador *cox1*, mostrando o agrupamento das espécies *G. skottsbergii* e *I. cordata* que ocorrem em diversas ilhas na Antártica e na região de Magalhães, no Chile. Nos ramos estão plotados os valores de Bootstrap. As sequências já obtidas retiradas do BOLD estão representadas com (*).

A análise de divergência confirma o dendrograma construído pela análise de Neighbor Joining, mostrando que as divergências para o marcador *cox 1* entre as amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas na mesma região é baixa (0 - 0,23%), tanto para as coletadas no Chile como para aquelas coletadas na Antártica. Comparando-se as amostras destas espécies coletadas em regiões diferentes, ou seja, Chile e Antártica, nota-se que os valores das divergências são maiores (6,65 – 7,19%). Porém, para as amostras de *I. cordata* não houve divergência entre os locais de coleta da Antártica (0%), mas houve um alto valor de divergência quando comparada a amostra coletada no Chile (10,2%).

Os valores de divergências interespecíficas variaram de 8,87% a 12,24% entre as espécies *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata*. Porém, quando comparadas com *Georgiella confluens*, os valores de divergências variam entre 30,14% a 34,62%, confirmando assim os resultados apresentados na **figura 45**.

Tabela 12. Valores de divergência intra e interespecífica para o marcador *cox 1*, entre as espécies coletadas em gradiente latitudinal. BQ = Buque Quemada; RG = Ilha Rei George; LV = Ilha Livingston; FB = Fuerte Bulnes; ES = Punta Estaquilla.

	<i>I. cordata</i> (BQ)	<i>I. cordata</i> (RG)	<i>I. cordata</i> (RG)	<i>I. cordata</i> (LV)	<i>G. skottsbergii</i> (FB)	<i>G. skottsbergii</i> (ES)	<i>G. skottsbergii</i> (RB)	<i>G. skottsbergii</i> (LV)	<i>G. skottsbergii</i> (RG)	<i>G. skottsbergii</i> (RG)	<i>G. confluens</i> (RG)	<i>G. confluens</i> (LV)
<i>I. cordata</i> (BQ)												
<i>I. cordata</i> (RG)	10,20%											
<i>I. cordata</i> (RG)	10,20%	0,00%										
<i>I. cordata</i> (LV)	10,20%	0,00%	0,00%									
<i>G. skottsbergii</i> (FB)	8,87%	10,35%	10,35%	10,35%								
<i>G. skottsbergii</i> (ES)	9,17%	10,65%	10,65%	10,65%	0,23%							
<i>G. skottsbergii</i> (RB)	9,21%	12,24%	12,24%	12,24%	6,65%	6,93%						
<i>G. skottsbergii</i> (LV)	9,21%	12,24%	12,24%	12,24%	6,65%	6,93%	0,00%					
<i>G. skottsbergii</i> (RG)	9,21%	12,24%	12,24%	12,24%	6,65%	6,93%	0,00%	0,00%				
<i>G. skottsbergii</i> (RG)	9,48%	12,52%	12,52%	12,52%	6,91%	7,19%	0,23%	0,23%	0,23%			
<i>G. confluens</i> (RG)	33,22%	34,12%	34,12%	34,12%	30,14%	30,67%	34,23%	34,23%	34,23%	34,62%		
<i>G. confluens</i> (LV)	33,22%	34,12%	34,12%	34,12%	30,14%	30,67%	34,23%	34,23%	34,23%	34,62%	0,00%	

5. DISCUSSÃO

Sabe-se que o maior estoque de nitrogênio é encontrado em aminoácidos e proteínas (Bird et al. 1982; Fujita 1985). Porém, nas algas, os pigmentos e proteínas associadas contribuem de forma significativa no armazenamento do nitrogênio, sendo que em rodofíceas, a maior parcela está armazenada especificamente na ficoeritrina, fato que pode explicar as maiores concentrações deste pigmento em relação aos demais (Bird et al., 1982), como mostra a **figura 14**, ressaltando que estes podem ser degradados na falta deste nutriente.

As concentrações de ficoeritrina foram maiores nas amostras de *Palmaria decipiens* coletadas em RB, CF e R2, sendo que *Georgiella confluens* coletada em VR, apresentou valor significativamente maior do que os demais locais. Nota-se que CF, R2 e VR são locais que se posicionam geograficamente nas menores latitudes das Ilhas Shetland do Sul, mostrando uma possível relação entre este pigmento e o gradiente latitudinal apresentado. Este fator pode estar relacionado com a atividade antrópica mais intensa na Baía do Almirantado, devido a maior concentração de estações de pesquisas, podendo alterar o ciclo de nutrientes nestes locais. Resultados similares foram observados por Mansilla (2014) que encontrou diferenças nas concentrações de pigmentos em amostras de *Desmarestia* (Phaeophyceae) coletadas em gradientes latitudinais entre a região de Magalhães e as Ilhas Shetland do Sul, e Tala & Chow (2014) observaram que a diferença latitudinal ao longo do Chile influenciou a taxa fotossintética de *Porphyra* spp.. Este pigmento teve uma relação significativamente positiva com a concentração de ficocianina, como mostra a correlação apresentada na **tabela 4**, para as duas espécies citadas. Os demais pigmentos não apresentaram relações significativas entre si na espécie *P. decipiens*, porém mostraram correlações significativamente positivas entre todos os pigmentos na espécie *Georgiella confluens* (Tabela 4).

Iridaea cordata coletada em BQ (região subantártica) apresentou a maior quantidade de pigmentos (ficoeritrina, ficocianina, aloficocianina e clorofila a). Mas com exceção dessa amostra, de uma forma geral, pode se observar que as espécies *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata* apresentaram quantidades inferiores de todos os pigmentos, se comparadas com as duas espécies endêmicas descritas anteriormente. Estes resultados podem ser explicados pelo fato de *Palmaria decipiens* e *Georgiella confluens* serem espécies endêmicas da região antártica, apresentando estratégias distintas e específicas de sobrevivência para esses locais, uma vez que as quantidades de nitrato e fosfato são elevadas durante todo o ano no Oceano Antártico (Wiencke & Bischof, 2012). Além disso, os maiores valores de proteínas solúveis totais (PST) foram encontrados em *P. decipiens*, coletadas em DC e DS, seguidas da espécie *Georgiella confluens*, mostrando eficiência no uso de nitrogênio disponível, explicando o fato

das algas da Antártica apresentarem altas concentrações de proteínas (Peters et al., 2005; Martins, 2013).

As concentrações de PST encontradas na espécie *Gigartina skottsbergii*, apesar de serem mais baixas do que as espécies citadas anteriormente, foram maiores nas amostras da região antártica (entre 10 e 15 mg/g massa seca) do que da região subantártica (entre 0 e 8 mg/g massa seca). Estes dados corroboram os resultados descritos por Peters et al. (2005) e Martins (2013), que encontraram maiores concentrações de PST em espécies da região antártica. Além disso, a planta cistocárpica de *Gigartina skottsbergii* coletada em Punta Estanquilla (ES C) apresentou concentração significativamente maior do que o tetrasporófito (ES T), corroborando os resultados de Piriz & Cerezo (1991) e Araújo et al. (2013), onde as fases do histórico de vida tendem a apresentar diferenças fisiológicas, mesmo quando são isomórficas.

Em *Iridaea cordata*, observa-se que as maiores concentrações de PST foram encontradas em BQ (na região subantártica) e em DC (na região antártica), sendo que os demais pontos de coleta da região antártica apresentaram valores mais baixos, se comportando diferente de *Gigartina skottsbergii* dentre os locais de coleta. Porém, a correlação de Pearson (**tabela 7**) mostra que *I. cordata* apresentou relação significativamente positiva entre PST e os pigmentos, com exceção da clorofila *a*, mostrando estratégias diferentes das observadas. Os estudos de Weykam et al. (1997) e Lüder et al. (2001) denominam *I. cordata* como uma espécie “season responder”, diferentemente de *P. decipiens*, que além de não cessar a atividade fotossintética mesmo com baixa luz, apresenta aumento da quantidade de clorofila *a*, e da taxa fotossintética no final da primavera e começo do verão (Novembro / Dezembro) é maior do que a espécie citada anteriormente.

Os valores mais baixos de PST encontrados para *Palmaria decipiens* e *Georgiella confluens* são maiores do que as concentrações encontradas em *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata*, evidenciando a adaptação das espécies endêmicas da região antártica a alta disponibilidade de nitrato no Oceano antártico (Wiencke & Bischof 2012; Martins 2013), uma vez que as proteínas são as principais substâncias de reserva de nitrogênio (Bird, 1982). Além disso, os organismos que vivem na costa Antártica, por estarem sujeitos a grandes períodos de congelamento (Klöser et al. 1993), necessitam de artifícios metabólicos para lidar com estas condições, como as proteínas com propriedades crioprotetoras encontradas na alga verde *Prasiola crispa* e algumas diatomáceas (Raymond e Fritsen, 2001).

As concentrações de açúcares totais nas amostras de *Palmaria decipiens* apresentaram poucas diferenças. Porém, as amostras de *Georgiella confluens* não apresentaram diferenças significativas entre os locais de coleta, inclusive nos açúcares redutores. Em *P. decipiens*, os

açúcares redutores foram encontrados em maiores concentrações em DC e RB, que são os locais de coleta de maiores latitudes. Além disso, a correlação de Pearson entre os metabólitos de *P. decipiens* mostra correlação significativamente positiva entre os carboidratos AT Et, AT Aq e AR, e negativa entre estes açúcares e Clorofila *a*, fato que não foi observado nas demais espécies. Esses resultados sugerem uma estratégia adotada por esta espécie endêmica da região antártica para sobreviver a tais condições, podendo sofrer alterações dos açúcares redutores quando se desenvolve em diferentes latitudes. Corroborando com esta observação, os dados obtidos por Weykam et al. (1997) e Lüder et al. (2001) mostram que *P. decipiens* tende a apresentar valores de carboidratos inversamente proporcionais à quantidade de clorofila, caracterizando essa espécie como “season anticipator”, já que a síntese de carboidratos é realizada nos períodos de luz, para serem utilizados como fonte de energia no período de noite prolongada.

A alta concentração de açúcares redutores encontradas em *Palmaria decipiens*, principalmente em DC e RB, pode ser confirmada nos cromatogramas (**figura 38**), onde o número de detecções (picos) com tempo de retenção entre 2 e 10 min. é maior do que os demais. Este mesmo fato pode ser observado em amostras de *Georgiella confluens* (**figura 39**) coletadas em LV e RB, que também são locais de maiores latitudes se comparados com VR, apesar de não apresentarem diferenças significativas na quantificação de açúcares totais e redutores (**figuras 23; 27**).

As concentrações de açúcares totais no extrato etanólico de amostras de *Gigartina skottsbergii* coletadas em maiores latitudes (HM e RB) foram mais altas do que as amostras coletadas em locais de menores latitudes (AW, FB, ES C e ES T), fato que não foi observado em *Iridaea cordata*. Esses resultados evidenciam que, assim como observado em *P. decipiens*, há maior concentração de carboidratos de baixa massa molecular. Este resultado pode estar relacionado à proteção osmótica, uma vez que os carboidratos de baixa massa molecular atuam como osmólitos (Crowe et al., 1987). Ascêncio (2006) observou atividade osmorreguladora do floridosídeo, uma vez que a concentração deste composto aumentou em *Hypnea musciformis* (Wulfen) J.V.Lamouroux, quando submetida ao aumento da salinidade em meio de cultura. Porém, as amostras de *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata* apresentaram maiores concentrações de polióis, que apresentam tempo de retenção entre 0 e 3 minutos e a presença de carboidratos com maior massa molecular, com tempo de retenção entre 30 e 35min., que estão ausentes nas espécies endêmicas *P. decipiens* e *G. confluens*. Estes resultados evidenciam que os tipos de carboidratos utilizados nos metabolismos são diferentes, dependendo da espécie e das condições em que vivem (Ascêncio, 2006).

Os maiores valores de rendimento de ficocolóides apresentados por *P. decipiens* foram

de 40%, encontrados nas amostras coletadas em DS, PP e CF. Já os demais locais apresentaram valores entre 20 e 40%, faixa de porcentagem que foi observado para as amostras de *Georgiella confluens*.

O rendimento de carragenana em *Gigartina skottsbergii* foi menor em amostras coletadas em ES T e FB, com aproximadamente 40%, e os maiores valores foram encontrados em ES C, com aproximadamente 75%. Observa-se que o tetrasporófito apresentou valores significativamente menores do que a planta cistocárpica, evidenciando uma diferença fisiológica entre as fases do histórico de vida. As amostras de *Iridaea cordata* apresentaram valores de rendimento semelhantes aos encontrados em *Gigartina skottsbergii*, sendo que o maior valor foi encontrado na amostra de região subantártica (BQ), com aproximadamente 75%. Estes altos valores de rendimento de carragenana distinguem essas duas espécies das demais espécies endêmicas da região antártica citadas anteriormente. Além disso, os valores de rendimento de *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata* foram maiores quando comparadas com valores de rendimento de macroalgas produtoras de carragenana de regiões tropicais, como *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C.Silva (Hayashi et al., 2007) e *Solieria filiformis* (Kützing) P. W. Gabrielson (Pontes et al., 2009), que apresentaram valores entre 25 a 30% e 30 a 45%, respectivamente.

No presente estudo, a análise da qualidade dos ficocolóides foi baseada na quantificação de 3,6 anidrogactose (3,6 AG) e quantificação de sulfato. Ou seja, quanto maior a quantidade de 3,6 AG maior será a firmeza do gel formado pelos ficocolóides, e quanto maior a quantidade de sulfato, o efeito será inverso. As carragenanas são classificadas principalmente como kappa (gel de maior firmeza), iota e lambda (gel de menor firmeza) (McHugh, 2003). O teor de 3,6 AG das amostras de *P. decipiens* não apresentou grande variação, semelhante aos valores encontrados em *Georgiella confluens*. Já os teores de sulfato para essas duas espécies mostraram valores inversos, onde amostras de *Georgiella confluens* apresentaram maior teor de sulfato, com valores entre 9 e 14%. As amostras de *P. decipiens* apresentaram teores de sulfato mais baixos, variando entre 0 e 3%. Este fator foi importante na dispersão e separação das espécies, como foi evidenciado na análise de componente principal (ACP).

Por outro lado, as amostras de *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata* apresentaram teores mais elevados de 3,6 AG. *Gigartina skottsbergii* apresentou valores que variam entre 18% (LV) até 30% (AW e FB). e *I. cordata* coletada na região subantártica (BQ) apresentou um teor maior se comparada com as amostras coletadas na região antártica. Para as duas espécies, o teor de sulfato foi inversamente proporcional, sendo menores nas amostras que apresentaram maiores teores de 3,6 AG, como pode ser observado na ACP (**figura 44**) e nas

correlações de Pearson (**tabelas 6; 7**). O fato de possuírem altas concentrações de 3,6 AG, apesar do alto nível de sulfato em alguns casos, explica o interesse dessas duas espécies pelas indústrias, principalmente no Chile, para extração de seus ficolóides, denominadas carragenanas (Usov, 2011), e que apresentam propriedades específicas para dar origem a um gel mais resistente (McHugh, 2003).

A diferença significativa encontrada entre as fases do histórico de vida de *Gigartina skottsbergii* coletadas na região subantártica, onde a planta cistocárpica apresentou teor de 3,6 AG em torno de 20% e o tetrasporófito em torno de 2,5%, corrobora com os dados descritos por Chen et al. (1973), Matulewicz et al. (1989) e Piriz & Cerezo (1991), que encontraram carragenana do tipo kappa em plantas cistocárpicas e do tipo lambda em tetrasporófito de *Gigartina skottsbergii*. Estes resultados evidenciam mais uma diferença fisiológica e bioquímica entre as fases do histórico de vida, como encontrado nos níveis de PST, e descrito por Wiencke & tom Dieck (1989), onde gametófitos das macroalgas antárticas *Phaeurus antarcticus*, *Himantothallus grandifolius* e *Desmarestia anceps*, apresentaram diferenças na taxa de crescimento quando submetidas à regimes de temperatura.

Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências do marcador *cox1* apresentada na **figura 45** mostra um agrupamento das amostras de *Gigartina skottsbergii*, que apesar de serem consideradas como mesma espécie, há uma divergência de 0,23% entre as amostras coletadas em Punta Estanquilla (ES) e Fuerte Bulnes (FB), que são locais pertencentes à região subantártica. Já as amostras coletadas na região antártica apresentaram divergências de 6,93% em relação às amostras de região subantártica. Esta divergência é maior do que a encontrada para o marcador molecular *rbcL* (2%), descrito por Hommersand and Fredericq, (2003), entre amostras destas espécies coletadas na Antártica e no sul da América do Sul (Hommersand et al., 2009). Estes resultados indicam que há uma diversidade intraespecífica entre esses locais, talvez pelo fato de serem separadas por aproximadamente 900 Km de distância, e por onde passa a Corrente Circumpolar Antártica que pode atuar como uma barreira geográfica (Lee, 2008). Os resultados das análises moleculares corroboram com os demais dados encontrados na ACP (**figura 44**), onde o perfil metabólico desta espécie é diferente entre as amostras coletadas na região antártica e subantártica. Resultado similar foi observado nas amostras de *Iridaea cordata*, uma vez que a análise de Neighbor Joining baseada nas sequências do marcador *cox1* (**figura 45**) evidenciou grande divergência entre as amostras coletadas na região antártica e subantártica (10,20%). Hommersand & Fredericq (2003), ao comparar sequências obtidas para o marcador molecular *rbcL* de amostras de *I. cordata* da região antártica e subantártica, também encontraram uma divergência maior do que aquela encontrada em *Gigartina skottsbergii*. Este resultado também corrobora com a

dispersão encontrada na análise de componentes principais (**figura 44**), onde a amostra coletada na região subantártica ficou separada das demais amostras coletadas na região antártica, devido a variações distintas no conjunto de metabólitos analisados. Essa diferença pode estar relacionada com o fato de Buque Quemada ser uma região com características específicas, já que é um local que recebe influências das águas do Oceano Atlântico e do Oceano Pacífico.

6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliando os metabólitos estudados, podemos concluir que:

- *Palmaria decipiens* apresenta maiores concentrações de proteínas solúveis totais e açúcares redutores, além de apresentarem maior diversidade de carboidratos de baixa massa molecular nas amostras coletadas em locais de maiores latitudes na região antártica. Além disso, as concentrações dos açúcares analisados são inversamente proporcionais à concentração de clorofila *a*.

- *Georgiella confluens*, apesar de apresentar relações diretamente proporcionais entre seus pigmentos fotossintetizantes, apresenta maiores concentrações de ficoeritrina e aloficocianina e menor diversidade de açúcares solúveis de baixa massa molecular nas amostras provenientes de local de menor latitude na região antártica.

- *Gigartina skottsbergii* apresenta concentrações mais baixas de clorofila *a*, proteínas solúveis totais e açúcares totais (fração etanólica) em amostras de menores latitudes da região subantártica. Porém, a análise da qualidade do ficolóide demonstra maior teor de 3,6 anidrogactose e menor teor de sulfato nas amostras de latitudes intermediárias AW e FB. Além disso, é possível observar que a planta cistocárpica demonstra maiores concentrações de proteínas solúveis totais e açúcares totais (na fração aquosa), e carragenana com maior rendimento, maior teor de 3,6 anidrogactose e menor teor de sulfato, se comparada com a planta tetrasporofítica, ambas coletadas em Punta Estaquilla (Chile).

- *Iridaea cordata* apresenta as maiores concentrações de aloficocianina, clorofila *a* e carragenana com maior rendimento, maior teor de 3,6 anidrogactose e menor teor de sulfato na amostra coletada na região subantártica (BQ).

Os resultados do presente trabalho evidenciam que a interação entre os metabólitos analisados nas quatro espécies de Rhodophyta varia conforme a latitude, a espécie e as fases do histórico de vida, mostrando que essas interações ocorrem de acordo com as condições bióticas e abióticas, impostas pelo ambiente. Os metabólitos analisados interagem de formas diferentes em cada espécie estudada, demonstrando estratégias distintas de sobrevivência a ambientes extremos das regiões antártica e subantártica. As análises moleculares confirmam a identificação taxonômica de *Gigartina skottsbergii* e *I. cordata* e demonstram que as diferenças encontradas no perfil de metabólitos destas espécies estão relacionadas a uma variação interespecífica e intraespecífica.

Porém, são necessários mais estudos, avaliando as diferentes fases do histórico de vida de cada espécie, além da relação que há entre a variação dos metabólitos, as condições

abióticas, o gradiente latitudinal e as divergências moleculares, para melhor entender, preservar e usufruir desses organismos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldea, C.** 2012. La Región de Magallanes y el conocimiento de su biota bentónica. In: Guía representativa de la biodiversidad de los fondos marinos de Magallanes. Fundación Cequa, Punta Arenas, Chile, p.33-48.
- Altamirano, M., Flores-moya, A., Figueroa, F.** 2003. Effects of the radiation and temperature on growth of germling of three species of *Fucus* (Phaeophyta). *Aquatic Botany* 75:9–20.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. J.** 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402.
- Amsler, C. D., Rowley, R. J., Laur, D. R., Quetin, L. B., Ross, R. M.** 1995. Vertical distribution of Antarctic Peninsular macroalgae: cover, biomass and species composition. *Phycologia* 34:424–430.
- Ascencio, S. D.** 2006. Heterosídeos sintetizados por linhagens de cor e estádios reprodutivos de macroalgas vermelhas dos gêneros *Hypnea* e *Gracilaria*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 135 p.
- Avila, M., Candia, A., Nuñez, M., Romo, H.** 1999. Reproductive biology of *Gigartina skottsbergii* (Gigartinaceae, Rhodophyta) from Chile. *Hydrobiologia* 398-399: 149-157.
- Araújo, F. O., Ursi, S., Plastino, E. M.** 2013. Intraspecific variation in *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, pigment content, and photosynthesis. *Journal of Applied Phycology* 26 (2):849-858.
- Astorga-España, M. S., Galdón, B. R., Rodríguez, E. M. R., Romero, C. D.** 2015. Mineral and trace element concentrations in seaweeds from the sub-Antarctic ecoregion of Magallanes (Chile) *Journal of Food Composition and Analysis* 39:69–76.
- Astorga-España, M. S. & Mansilla, A.** 2014. Sub-Antarctic macroalgae: opportunities for gastronomic tourism and local fisheries in the Region of Magallanes and Chilean Antarctic Territory. *Journal of Applied Phycology* 26:973–978.
- De Baar, H. J. W., DE Jong, J. T. M., Bakker, D. C. E., Löscher, B. M., Veth, C., Bathmann, U., Smetacek, V.** 1995. Importance of Iron for Plankton Blooms and Carbon Dioxide Drawdown in the Southern Ocean. *Nature* 373:412–415.
- Barrales, H. & Lobban, C. S.** 1975. The comparative ecology of *Macrocystis pyrifera*, with emphasis on the forests of Chubut, Argentina. *Ecology* 63:657–677.
- Bischoff-Bäsmann, B. & Wiencke, C.** 1996. Temperature requirements for growth and survival of Antarctic Rhodophyta. *Journal of Phycology* 32:525–535.

- Bird, K. T., Habig, C., Debusk, T.** 1982. Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta). *Journal. Phycology* 18:344-348.
- Bold, H. C. & Wynne, M. J.** 1985. Introduction to the algae. Structure and reproduction. 2nd edn. — Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice-Hall.
- 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.
- Brouwer, P. E. M.** 1996. In situ photosynthesis and estimated annual production of the red macroalga *Myriogramme mangini* in relation to underwater irradiance at Signy Island (Antarctica). *Antarctic Science* 8:245–252.
- Carvalho, M. A. M., Pinto, M. M. & Figueiredo-Ribeiro, R. C. L.** 1998. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica* 21:275-280.
- Carvalho, M. A. M., Dietrich, S. M.** 1993. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytologist* 123:735-740.
- Chapman, A. R. O., Lindley, J. E.** 1980. Seasonal growth of *Laminaria longicuris* in the High Arctic in relation to irradiance and dissolved nutrient concentration. *Marine Biology* 57:1–5.
- Chen, L. C-M., Chen, J., Mclachlan, A. C., Neish, F. R. S., & Shacklock, P. F.** 1973. The ratio of kappa- to lambda-carrageenan in nuclear phases of the rhodophycean algae, *Chondrus crispus* and *Gigartina stellata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 53:11-6.
- Clarke, D. L.** 1990. Arctic Ocean ice cover; geologic history and climatic significance. In: Grantz, A., Johnson, L., Sweeney, J. L. (eds). *The Arctic Ocean region*. Geological Society of America, Boulder Colo, pp. 53–62.
- Clayton, M. N., Wiencke, C., Kloser, H.** 1997. New records of temperate and sub-Antarctic marine benthic macroalgae from Antarctica. *Polar Biology* 17:141–149.
- Cormaci, M., Furnari, G., Scamacca, B.** 1992. The benthic algal flora of Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Botanica Marina* 35:541-552.
- Cox, P. M.; Betts, R. A.; Jones C. D.; Spall, S. A.; Totterdell, I. J.** 2000. “Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model”. *Nature* 408:184-187.
- Craigie, J.S.** 1990. The cell wall. In: Cole, K.M., Sheath, R.G., eds, *Biology of the Red Algae*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 221–257.

- Crame, J. A.** 1993. Latitudinal range fluctuations in the marine realm through geological time. *Trends Ecology & Evolution* 8:162–266.
- Crowe, J. H., Crowe, L. M., Carpenter, J. F., Aurell Wistrom.** 1987. Stabilization of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars. *Biochemical Journal* 242:1-10.
- Damonte, E. B., Matulewicz, M. C., Cerezo, A. S.** 2004. Sulfated seaweed polysaccharides as antiviral agents. *Current Medicinal Chemistry* 11:2399-2419.
- De Broyer C., Koubbi P.** 2014. Chapter 1.1. The biogeography of the Southern Ocean. In: De Broyer C., Koubbi P., Griffiths H.J., Raymond B., Udekem d’Acoz C. d’, et al. (eds.). *Biogeographic Atlas of the Southern Ocean*. Scientific Committee on Antarctic Research, Cambridge, pp. 2-9.
- Deacon, G. E. R.** 1937. The hydrology of the Southern Ocean. *Discovery Rep.* 15: 125–152.
- Dieck, I.** 1992. North Pacific and North Atlantic *Laminaria digitata* species (Phaeophyta): hybridization experiments and temperature responses. *Phycologia* 31:147–163.
- Dieck, I.** 1993. Temperature tolerance and survival in darkness of kelp gametophytes (Laminariales, Phaeophyta): ecological and biogeographical implications. *Marine Ecology Progress Series* 100:253–264.
- Drew, E. A. & Hastings, R. M.** 1992. A year-round ecophysiological study of *Himantothallus grandifolius* (Desmarestiales, Phaeophyta) at Signy Island. *Antarctica. Phycologia* 31:262–27.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A.; Smith, F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.
- Dunton, K. H., Jodwalis, C. M.** 1988. Photosynthetic performance of *Laminaria solidungula* measured in situ in the Alaskan High Arctic. *Marine Biology* 98: 277–285.
- Dyer, K. R. & Taylor, P. A.** 1973. A simple segmented prism model of tidal mixing in well mixed estuaries. *Estuarine and Coastal Marine Science* 1:411–418.
- Eggert, A. & Wiencke, C.** 2000. Adaptation and acclimation of growth and photosynthesis of five Antarctic red algae to low temperatures. *Polar Biology* 23:609–618.
- Eicken, H.** 1992. The role of sea ice in structuring Antarctic ecosystems. *Polar Biology* 12:3-13.
- Farias, W. R. L., Nazareth, R. A., Mourão, P. A. S.** 2001. Dual effects of sulfated D-galactans from the red alga *Botryocladia occidentalis* preventing thrombosis and inducing platelet aggregation. *Thrombosis and Haemostasis*, 86(6):1540-1546.

- Franklin, L. A., Forster, R. M.** 1997. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *Eur. Journal of Phycology* 32:207-232.
- Fujita, R. M.** 1985. The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 92:283–301.
- Gómez, I., Weykam, G., Klöser, H., Wiencke, C.** 1997. Photosynthetic light requirements, daily carbon balance and zonation of sublittoral macroalgae from King George Island (Antarctica). *Marine Ecology Progress Series* 148:281–293.
- Gvindjee & Shevala, D.** 2011. Adventures with cyanobacteria: a personal perspective. *Frontiers in Plant Science*. 2(28):1-17.
- Hall, T. A.** 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.
- Hanelt, D., Tüg, H., Bischof, K., Gross, C., Lippert, H., Sawall, T., Karsten, U., Wiencke, C.** 2001. Light regime in an Arctic fjord: a study related to Stratospheric Ozone depletion as a basis for determination of UV effects on algal growth. *Marine Biology* 138:649–658.
- Hayashi, L., Oliveira, E. C., Bleicher-Lhonneur, G., Boulenger, P., Pereira R. T. L., Seckendorff, R., Shimoda, V. T., Leflamand, A., Vallée, P., Critchley A. T.** 2007. The effects of selected cultivation conditions on the carrageenan characteristics of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. *Journal of Applied Phycology* 19:505–511.
- Healey, F. P.** 1972. Photosynthesis and respiration of some Arctic seaweeds. *Phycologia* 11:267–271.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., DeWaard, J. R..** 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Royal Society Biological Science* 270:313–321.
- van den Hoek, C. & Breeman, A. M.** 1989. Seaweed biogeography in the North Atlantic: where are we now? In: Garbary, D. J., South, G. R. (eds) *Evolutionary biogeography of the marine algae of the North Atlantic*. NATO ASI Series, Vol. G 22, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 57–86.
- Hommersand, M. H. & Fredericq, S.** 2003. Biogeography of the marine red algae of the South African West Coast: a molecular approach. In: (A.R.O. Chapman, R.J. Anderson, V.J. Vreeland and I.R. Davison, eds) *Proceedings of the XVIIth International Seaweed Symposium*. Oxford University Press, Oxford. pp. 325–336.

- Hommersand, M. H., Moe, R. L., Amsler, C. D. & Fredericq, S.** 2009. Notes on the systematics and biogeographical relationships of Antarctic and sub-Antarctic Rhodophyta with descriptions of four new genera and five new species. *Botanica Marina* 52:509–534.
- Jeffrey, S. W. & Humphrey, G.F.** 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 e c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP)*. 167: 191-194.
- John, D. M., Tittley, I., Lawson, G. W., Pugh, P. J. A.** 1994. Distribution of seaweed floras in the Southern Ocean. *Botanica Marina* 37:235–239.
- Karsten, U.** 1999. Seasonal variation in heteroside concentrations of field-collected *Porphyra* species (Rhodophyta) from different biogeographic regions. *New Phytologist* 143:561–571.
- Karsten, U., Barrow, K. D., Nixdorf, O., King, R. J.** 1996. The compatibility of unusual organic osmolytes from mangrove red algae with enzyme activity. *Australian Journal of Plant Physiology* 23:577–582.
- Karsten, U., West, J. A., Ganesan., E. K.** 1993. Comparative physiological ecology of *Bostrychia moritziana* (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater and marine habitats. *Phycologia* 32:401-409.
- Karsten, U., West, J. A., Zuccarello, G. C., Nixdorf, O., Barrow, K. D., King, R. J.** Low molecular weight carbohydrate patterns in the Bangiophyceae (RHODOPHYTA). *Journal of Phycology*, Lawrence, v. 35, p. 967-976, 1999.
- Karsten, U., Wiencke, C., Kirst, G. O.** 1991a. The effect of salinity changes upon physiology of eulittoral green macroalgae from Antarctica and Southern Chile. I. Cell viability, growth, photosynthesis and dark respiration. *Journal of Plant Physiology* 138:667–673.
- Karsten, U., Wiencke, C., Kirst, G. O.** 1991b. The effect of salinity changes upon physiology of eulittoral green macroalgae from Antarctica and Southern Chile. II. Inorganic ions and organic compounds. *Journal of Experimental Botany* 42:1533–1539.
- Kirst, G. O. & Wiencke, C.** 1995. Ecophysiology of polar algae. *Journal of Phycology* 31:181–199.
- Klöser, H.** 1994. Descripción Basica de la Caleta Potter y Costas Abiertas Adyacentes. Dirección Nacional Del Antártico; reporte de datos: Estructura y Dinamica de un Ecosistema Costero Antártico, Estación Científica “Teniente Jubany” en la Isla 25 de Mayo (King George Island), Islas Shetland del Sur. Contribución 419B.
- Klöser, H., Ferreyra, G., Schloss, I., Mercuri, G., Laternus, F., Curtosi, A.** 1993.

- Seasonal variation of algal growth conditions in sheltered Antarctic bays: the example of Potter Cove (King George Island, South Shetland). *Journal of Marine Systems* 4:289–301.
- Klöser H., Ferreyra G., Schloss, I. R., Mercuri, G., Laturmus, F. & Curtosi, A.** 1994. A hydrography of Potter Cove, a small fiord-like inlet on King George Island, South Shetlands. *Estuarine Coastal Shelf Science* 38:523–537.
- Kursar, T. A., Van der meer, J. & AlbertE, R. S.** 1983. Light-harvesting system of red alga *Gracilaria tikvahiae*. Biochemical analyses of pigment mutations. *Plant. Physiology* 73:353-360.
- Lee, R. E.** 2008. *Phycology*. Cambridge University Press. 547pp.
- Lüder, U. H., Knoetzel, J. & Wiencke, C.** 2001. Two forms of phycobilisomes in the Antarctic red macroalgae *Palmaria decipiens* (Palmariales, Florideophyceae). *Physiologia Plantarum* 112:572-581.
- Lüning, K.** 1990. *Seaweeds. Their environment, biogeography and ecophysiology*. John Wiley, Sons, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 527 pp.
- Mansilla, A., Ávila, M., Yokoya, N. S.** 2012. Current knowledge on biotechnological interesting seaweeds from the Magellan Region, Chile. *Revista Brasileira de Farmacognisia* 22(4):760-767.
- Mansilla, A., Navarro, N. P. & Fujii, M. T.** 2006. First record of a ceramiaceous red algal species, *Ceramium stichidiosum*, from Magellanic Region, Chile. *Gayana* 70:245-251.
- Mansilla, H. F. M.** 2014. Composición pigmentaria de especies del género *Desmarestia*, en la Ecorregión Subantártica de Magallanes y Continente Antártico. Tesis entregada como requerimiento para obter el Título de Biólogo Marino em la Facultad de Ciencias. Departamento de Ciencias y Recursos Naturales. Universidad de Magallanes. Punta Arenas, Chile. 51 pp.
- Martins, A. P.** Avaliação do potencial biotecnológico de macroalgas marinhas. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 188 p.
- Matsuhira, B.** 1995. Aislamiento y caracterización de ficocolóides. In: ALVEAL, K., FERRARIO, M. E., OLIVEIRA, E. C. & SAR, E. *Manual de métodos ficocolóides*. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 657-689p.
- Matulewicz, M. C., Ciancia, M., Nosedá, M. D. & Cerezo, A. S.** 1989. The carrageenan system from tetrasporic and cystocarpic stages of *Gigartina skottsbergii*. *Phytochemistry* 28:2937–2941.
- McHugh, D. J.** 2003. *A guide to seaweed industry*. FAO Fisheries Technical Paper nº 441. Rome. 105p.

- Medeiros, A. S.** 2013. Diversidade de macroalgas da Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Península Antártica, baseada em “DNA Barcoding” e outros marcadores moleculares. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. 164p.
- Miller, A. K. & Pearse, J. S.** 1991. Ecological studies of seaweeds in McMurdo sound. *Antarctica American Zoologist*. 31:35–48.
- Ministério do Meio Ambiente.** 2009. ANTÁRTICA: Um bem comum da humanidade. 69p.
- Navarro, N. P., Mansilla, A., Palacios, M.** 2008. UVB effects on early developmental stages of commercially important macroalgae in southern Chile. *Journal of Applied Phycology* 20(5):897–906.
- Navarro, N. P., Mansilla, A., Plastino, E. M.** 2010. *Iridaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta): responses to artificial UVB radiation. *Journal of Applied Phycology* 22:385–394.
- Novaczek, I., Lubbers, G. W., Breeman, A. M.** 1990. Thermal ecotypes in amphi-Atlantic algae. I. Algae of Arctic to cold-temperate distribution (*Chaetomorpha melagonium*, *Devaleraea ramentacea* and *Phycodrys rubens*). *Helgoländer Meeresunters* 44:459–474.
- Oliveira, E. C., Absher, T. M., Pellizzari, F. M., Oliveira, M. C.** 2009. The seaweed flora of Admiralty Bay, King George Island, Antarctic. *Polar Biology*, 32: 1639–1647.
- Orfanidis, S., Panayotidis, P., Stamatis, N.** 2001. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: a marine benthic macrophytes-based model. *Mediterranean Marine Research* 2(2):45–65.
- Papenfuss, G. F.** 1964. Catalogue and bibliography of Antarctic and Subantarctic benthic marine algae. Am Geophys Union, Antarctic Research Series 1:1–76.
- Pengzhan, Y., Quanbin, Z., Ning, L., Zuhong, X., Yanmei, W., Zhi'en, L.** 2003. Polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity. *Journal of Applied Phycology* 15:21-27.
- Peters, A. F.** 2003. Molecular identification, taxonomy and distribution of brown algal endophytes, with emphasis on species from Antarctica. In: Chapman, A. R. O., Anderson, R. J., Vreeland, V., Davison, I. F. (eds). Proceedings of the 17th international seaweed symposium. Oxford University Press, New York, pp. 293–302.
- Peters, K. J., Amsler, C. D., Amsler, M. O., McClintock, J. B., Dunbar, R. B and Bake, B. J.** 2005. A comparative analysis of the nutritional and elemental composition of macroalgae from the western Antarctic Peninsula. *Phycologia* 44:453-463.
- Piriz, M. & Cerezo, A.** 1991. Seasonal variation of carrageenans in tetrasporic, cystocarpic and “sterile” stages of *Gigartina skottsbergii* S. et G. (Rhodophyta, Gigartinales).

- Hydrobiology 226:65–69.
- Pontes, G. C., Bezerra-Neto, J. T. B., Rodrigues, J. A. G., Farias, W. R. L.** 2009. Carragenanas da rodófitas *Solieria filiformis* (KÜTZING) P.W. Gabrielson: análise por duas metodologias de precipitação. Revista Brasileira de Engenharia de Pesca, 4 (1):67-79.
- Powell, A. W. B.** 1955. Mollusca of the southern islands of New Zealand. Cape Exped. Ser., Bull. 15: 1-152. DSIR, Wellington.
- Rakusa-suszczewski, S. & Zielinski, K.** 1993. Macrophytobenthos (In: The Maritime Antarctic Coastal Ecosystem of Admiralty Bay. Ed. S. Rakusa-Suszczewski) – Warsaw, Department of Antarctic Biology, Polish Academy of Sciences, 57–60.
- Raven, P. H., Evert, R. F.; Eichhorn, S. E.** 2007. Biologia Vegetal, 7a. ed. Coord. Trad. J.E.Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Raymond, J. A., Fritsen, C. H.** 2001. Semipurification and ice recrystallization inhibition activity of ice-active substances associated with Antarctic photosynthetic organisms. Cryobiology 43:63–70.
- Ricker, R. W.** 1987. Taxonomy and biogeography of Macquarie Island seaweeds. London: British Museum (Natural History). 344p.
- Roberts, R. D., Kühl, M., Glud, R. N., Rysgard, S.** 2002. Primary production of crustose coralline red algae in a high Arctic fjord. Journal of Phycology 38: 273–283.
- Rodrigues, J. A. G., Araújo, I. W. F., Paula, G. A., Lima, T. B., Bessa, E. F., Benevides, N. M. B.** 2011. Carragenana da epífita *Hypnea musciformis* obtida do cultivo experimental de *Solieria filiformis* em Flecheiras, Estado do Ceará, Brasil. Acta Scientiarum. Technology, 33 (2):137-144.
- Roleda, M., van de Poll, W., Hanelt, D., Wiencke, C.** 2004. PAR and UVBR effects on photosynthesis, viability, growth and DNA in different life stages of two coexisting Gigartinales: implications for recruitment and zonation pattern. Marine Ecology Progress Series 281:37–50.
- Roleda, M. Y., Hanelt, D., Wiencke, C.** 2006. Exposure to ultraviolet radiation delays photosynthetic recovery in Arctic kelp zoospores. Photosynthesis Research 88:311–322.
- Roleda, M. Y., Zacher, K., Wulff, A., Hanelt, D., Wiencke, C.** 2008. Susceptibility of spores of different ploidy levels from Antarctic *Gigartina skottsbergii* (Gigartinales, Rhodophyta) to ultraviolet radiation. Phycologia 47:361–370.
- Sambrook, J., Fritschi, E. F., Maniatis, T.** 1989. Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Santana, A., Olave, C., Butorovic, N.** 2010. Estudio climatológico con registros de alta

- resolución temporal en campamento posesión (ENAP), Magallanes, Chile. *Anales Instituto Patagonia (Chile)*, 38(1):5-34.
- Saito, R. M. M.** 1997. Extração e propriedades físico-químicas do colóide de uma alga brasileira (*Gracilariopsis tenuifrons* – Rhodophyta). Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo. 80p.
- Sernapesca.** 2003. Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción, Santiago, Chile.
- Silva, N. S. & Calvete, C. M.** 2002. Características oceanográficas físicas y químicas de canales australes chilenos entre el Golfo de Penas y El Estrecho de Magallanes (Crucero-CIMAR-FIORDO 2). *Cienc. Tecnol. Mar.*, 25(1):23-88.
- Skottsberg, C. J. F.** 1964. Antarctic phycology. In: Carrick R (ed) *Comptes rendues premier symposium biologie Antarctique*, Paris 1962. Hermann, Paris, pp. 147–154.
- Somogyi, M.** 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry*. 160: 61-63.
- Stoeckle, M.,** 2003. Taxonomy. DNA, bar code life. *Bioscience* 53(9):2–3.
- Svendsen, H., Beszczynska-Møller, A., Hagen, J. O., Lefauconnier, B., Tverberg, V., Gerland, S., Bischof, K., Papucci, C., Ørbæk, J. B., Zajaczkowski, M., Azzolini, R., Bruland, O., Wiencke, C., Winther, J.G., Dallmann, W.** 2002. The physical environment of Kongsfjorden-Krossfjorden, an Arctic fjord system in Svalbard. *Polar Research*. 21:133–166.
- Swanson, A. K. & Druehl, L. D.** 2002. Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquatic Botany* 73:241–253.
- Tala, F. & Chow, F.** 2014. Phenology and photosynthetic performance of *Porphyra* spp. (Bangiophyceae, Rhodophyta): Seasonal and latitudinal variation in Chile. *Aquatic Botany* 113:107– 116.
- Usov, A. I.** 2011. Polysaccharides of the red algae. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 65:115–217.
- Weykam, G. & Wiencke, C.** 1996. Seasonal photosynthetic performance of the endemic Antarctic red alga *Palmaria decipiens* (Reinsch) Ricker. *Polar Biology* 16: 357-361.
- Weykam, G., Thomas, D.N., Wiencke, C.** 1997. Growth and photosynthesis of the Antarctic red algae *Palmaria decipiens* (Palmariales) and *Iridaea cordata* (Gigartinales) during and following extended periods of darkness. *Phycologia* 36:395–405.
- Wiencke, C.** 1990a. Seasonality of brown macroalgae from Antarctica – a long-term culture study under fluctuating Antarctic daylengths. *Polar Biol.* 10: 589–600.

- Wiencke, C.** 1990b. Seasonality of red and green macroalgae from Antarctica - a long-term culture study under fluctuating Antarctic daylengths. *Polar Biology* 10: 601–607.
- Wiencke, C., Bartsch, I., Bischoff, B., Peters, A. F., Breeman, A. M.** 1994. Temperature requirements and biogeography of Antarctic, Arctic and amphiequatorial seaweeds. *Botanica Marina* 37:247–259.
- Wiencke, C. & Bischof, K.** 2012. *Seaweed Biology. Novel Insights into Ecophysiology, Ecology and Utilization.* Springer-Verlag, Berlin. 510p.
- Wiencke, C. & Clayton, M. N.** 2002. Antarctic Seaweeds. Synopses of the Antarctic benthos. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag KG. Volume 9. 239p.
- Wiencke, C., Clayton, M. N., Gomez, I., Iken, K., Lüder, U. H., Amsler, C. D., Karsten, U., Hanelt, D., Bischof, K., Dunton, K.** 2007. Life strategy, ecophysiology and ecology of seaweeds in polar waters. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 6:95–126.
- Wiencke, C. & Fischer, G.** 1990. Growth and stable carbon isotope composition of cold-water macroalgae in relation to light and temperature. *Marine Ecology Progress Series* 65:283–292.
- Wiencke, C. & tom Dieck, I.** 1989. Temperature requirements for growth and temperature tolerance of macroalgae endemic to the Antarctic region. *Marine Ecology Progress Series* 54:189–197.
- Wilce, R. T.** 1990. Role of the Arctic Ocean as a bridge between the Atlantic and Pacific Oceans: fact and hypothesis. In: Garbary DJ, South GR (eds) *Evolutionary biogeography of the marine algae of the North Atlantic.* Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, pp. 323–348.
- Xue, L., Zhang, Y., Zhang, T., An, L., Wang, X.** 2005. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on algae and cyanobacteria. *Critical Reviews in Microbiology* 31:79–89.
- Yoneshigue-Valentin Y., Silva, I. B., Fujii, M. T., Yokoya, N. S. Pupo, D., Guimarães S. M. P. B., Martins, A. P., Sanches, P. F., Pereira, D. C., Dalto, A. G. Souza, J. M. C., Pereira, C. M. P., Pellizzari, F. M. & Colepicolo, P.** 2012. Marine macroalgal diversity in Admiralty Bay, King George Island, South Shetland Islands, Antarctica. INCT-APA Annual Activity Report. pp. 140-148.
- Yu, S., Blennow, A., Bojko, M., Madsen, F., Olsen, C. E., Engelsen, S. B.** 2002. Physico-chemical characterization of floridean starch of red algae. *Starch* 54:66-74.
- Zacher, K., Roleda, M. Y., Hanelt, D., Wiencke, C.** 2007. UV effects on photosynthesis and DNA in propagules of three different Antarctic macroalgae species (*Adenocystis utricularis*, *Monostroma hariotii* and *Porphyra endiviifolium*). *Planta* 225:1505–16.

- Zacher, K., Roleda, M. Y., Wulff, A., Hanelt, D., Wiencke, C.** 2009. Responses of Antarctic *Iridaea cordata* (Rhodophyta) tetraspores exposed to ultraviolet radiation. *Phycological Research* 57:186–193.
- Zielinski, K.** 1981. Benthic macroalgae of Admiralty Bay (King George Island, Antarctica) and circulation of algal matter between the water and the shore. *Pol. Polar Research* 2:71–94.