



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E  
PLANTAS

Carolina Herrera Mazo

**Efeitos de qualidades espectrais de radiação na fotossíntese e na síntese de compostos de  
valor agregado em algas vermelhas foliáceas**

Florianópolis  
2022

Carolina Herrera Mazo

**Efeitos de qualidades espectrais de radiação na fotossíntese e na síntese de compostos de valor agregado em algas vermelhas foliáceas**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.  
Orientador: Prof. Dr. Jose Bonomi Barufi  
Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Maraschin

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Herrera Mazo, Carolina

Efeitos de qualidades espectrais de radiação na fotossíntese e na síntese de compostos de valor agregado em algas vermelhas foliáceas / Carolina Herrera Mazo; orientador, José Bonomi Barufi, coorientador, Marcelo Maraschin, 2022.  
113 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. UVR. 3. Radiação azul. 4. Fotossíntese. 5. Compostos de valor agregado. I. Bonomi Barufi, José. II. Maraschin, Marcelo . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.

Carolina Herrera Mazo

**Título: Efeitos de qualidades espectrais de radiação na fotossíntese e na síntese de compostos de valor agregado em algas vermelhas foliáceas**

O presente trabalho em nível de mestrado será avaliado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Ana Catarina Guedes, Dra.  
Instituição CIIMAR-PT

Prof. Paulo Tamaso Miotto, Dr.  
Instituição UFSC

Prof. Leonardo Rubi Rörig, Dr. (suplente)  
Instituição UFSC

Profa. Ana Claudia Rodrigues  
Instituição UFSC

Certificamos que esta é a **versão original** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Dr. José Bonomi Barufi  
Orientador

Florianópolis, 2022

Este trabalho é dedicado a todas as pessoas que me dão seu apoio e amor incondicional. Em especial à minha família e minha tia Luz Elena (RIP) pela dedicação, amor e companhia incondicional, que nos fortaleceu para continuarmos em tempos difíceis.

## AGRADECIMENTOS

À vida, que me dá a chance de continuar aprendendo e lutando pelos meus sonhos, principalmente neste tempo de pandemia, onde tantos seres apagaram sua luz.

Em continuidade, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) por me conceder a bolsa de pesquisa durante o período de mestrado, sem a qual não teria sido possível concluir minha formação.

À UFSC, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas (PPGFAP) por me fornecer todos os recursos necessários para concluir meus estudos. Agradeço também a todo o grupo do Laboratório de Ficologia (LAFIC), ao Laboratório de Fotobiologia y Biotecnologia de Organismos Acuáticos (FYBOA) e ao Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV), por fornecerem a estrutura, e auxílio técnico para desenvolver minha pesquisa. Também pelo apoio profissional e emocional que me deram em todas as etapas deste processo.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Bonomi Barufi, que me recebeu com todo o incentivo e energia que o caracteriza, além de me dar seu conhecimento e todo seu apoio profissional diante das dificuldades da investigação, bem como seu apoio pessoal e emocional neste processo. Gratíssima pela sua companhia e compreensão!

Ao Professor Felix Figueroa e sua esposa Ingrid, não só pela grande acolhida durante minha estadia na Espanha, mas também por acreditarem em mim desde o primeiro momento e me motivarem com seu conhecimento, experiência e entusiasmo. Muito obrigada!

Ao professor Marcelo Maraschin, que desde antes de chegar ao Brasil acreditou em mim e no meu conhecimento. Sempre me passando seu conhecimento e sugestões para encontrar as melhores opções na pós-graduação. Gratíssima!

Aos professores Paulo Horta, Leonardo Rörig, Natalie Korbee pela disponibilidade em fornecer seus conhecimentos e suporte quando necessário. Obrigado Paulo por suas ótimas ideias e por sua motivação!

A todos os colegas que de uma forma ou de outra apoiaram e/ou colaboraram para que este trabalho fosse possível: Carlos López, Leonardo Macagnan, William Oliveira, Geniane Schneider, Nelson Alejandro Sierra, Andre Faria, Melissa Gonzales de Dos Santos, Claudia Bauer, Caroline Schmitz, Gabrielle Koerich, Giulia Burle, Thais Massocato, Eduardo Bastos, Debora Cabral, Sacha Branco. Agradecimento especial aos meus parceiros e amigos que apoiaram e colaboraram neste grande desafio da minha vida: Bruna Moreira, muito obrigado

pela amizade, companhia e parceria. Julia Vega e Talissa Harb, muito obrigada por todo o apoio, colaboração e acolhimento durante a minha estadia em Espanha. Paola Urón, obrigado por seus conselhos, sua amizade e motivação. Deise Munaro, imensa gratidão a você, por sua parceria, recomendações, cumplicidade, por oferecer sua amizade incondicional nos bons e maus momentos. Luis Alberto Gonzalez, muito obrigada por sempre me apoiar com seu valioso conhecimento (especialmente para análise de HPLC) e amizade.

A todos os meus amigos brasileiros, que fizeram da minha estadia uma grande aventura, além do grande apoio que me deram: Antônio Machado, Lia Bruno, Sergio Rocha (RIP), Karoline Fendel, Cristian Faig, Vanderlei Vieira, Patricia Link, Rodrigo e Bianca.

À minha família e aos amigos de alma, que me motivaram em todas as etapas deste processo e sempre estão presentes. Agradeço não só a você, mas também à vida por me permitir caminhar ao seu lado. Meus pais, irmãos e meu grande companheiro de vida Tulio Eduardo, que além de seu amor incondicional, apoio emocional, também possibilitaram meu estágio na Espanha. Ele tem sido um grande colaborador neste processo de mestrado, contribuindo com seu conhecimento para resolver problemas matemáticos, além de me ajudar a revisar cada parte da minha tese. Gratidão infinita meu amor, sem teu apoio não teria conseguido chegar até este ponto!

Gratidão!

"Em algum lugar, algo incrível está esperando para ser conhecido."

(Carl Sagan, 1977)



## RESUMO

A qualidade e quantidade de radiação que atinge as algas marinhas desempenham um papel fundamental no desenvolvimento fisiológico, morfológico e bioquímico das algas. A radiação fotossinteticamente ativa (PAR), é necessária para que os organismos fotossintéticos realizem a fotossíntese. Porém combinação de diferentes fatores de radiação (incremento, intensidade, tempo, suplemento), além do PAR geram efeitos adicionais. A luz azul e a radiação ultravioleta (UVR) são comprimentos de onda que demonstraram ter um grande efeito sobre as algas, chegando a promover a concentração de compostos derivados do metabolismo do nitrogênio. A UVR pode gerar respostas benéficas ou prejudiciais de acordo com a intensidade e o tempo com que é aplicada às algas, o que está contemplado na Lei de Reciprocidade de Busen-Roscoe (LBR). As macroalgas vermelhas são organismos fotossintetizantes que toleram altas quantidades de UVR, têm a capacidade de gerenciar a radiação que recebem para manter sua fisiologia intacta e produzir metabólitos de valor agregado (como proteínas, clorofilas, ficobiliproteínas, compostos absorventes de UV, antioxidantes, fenólicos e carboidratos) para diferentes indústrias. Essas características as tornam protótipos eficientes para estudar variações na radiação azul e UVR. Neste trabalho, os efeitos da qualidade e quantidade de luz foram analisados em tratamentos considerando diferentes combinações de incremento de luz azul e radiação UV. Esses tratamentos foram aplicados nas macroalgas vermelhas foliáceas *Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta*. O objetivo principal foi estimular a síntese de compostos biotecnológicos de alto valor e regular a fotossíntese durante a exposição aos tratamentos com diferentes combinações de radiação. A radiação UV foi aplicada em diferentes intensidades e tempos, produzindo doses diferentes de UVR. O papel da luz azul foi avaliado pelo incremento ou não de luz azul a lâmpadas brancas de controle, sendo  $16 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para *P. acanthophora* e  $60 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para *N. leucosticta*. Durante os períodos experimentais foram medidas as respostas fotossintetizantes usando fluorescência de clorofila *a in vivo* [rendimento quântico máximo (Fv/Fm) e taxas de transporte de elétrons (ETR)] e as taxas de crescimento dos talos. Após a exposição das espécies aos diferentes tratamentos de radiação, foram determinadas as quantidades de compostos absorventes de UV, pigmentos fotossintetizantes (clorofilas e ficobiliproteínas), capacidade antioxidante (ABTS, DPPH), proteínas solúveis, carboidratos e compostos fenólicos. Foram observadas respostas significativas em *P. acanthophora* nos compostos absorventes de UV dependendo dos efeitos da interação entre incremento de luz azul e as condições de UVR. Também houve efeito significativo na capacidade antioxidante pelo incremento de azul. Para *N. leucosticta*, as respostas significativas pelas condições de UVR aconteceram no caso de ficocianina, pela interação de condições UVR no tempo para carboidratos e irradiância de saturação, pela interação do incremento de azul e condições de disponibilidade de UVR para a taxa de crescimento e os compostos absorvente de UV, e pelo efeito do incremento de azul e as condições UVR ao longo do tempo para os teores de ficoeritrina, a capacidade antioxidante e as proteínas solúveis. Em geral, para ambas das espécies, se percebeu que o incremento de luz azul regulou positivamente as respostas obtidas e foi validada a LBR em função das intensidades e doses para tratamentos com incremento de azul. A fotossíntese permaneceu estável durante o experimento em *N. leucosticta*. Este estudo enfatiza a relevância de testar o incremento de luz azul e a disponibilidade de radiação UV e como essas radiações podem ser gerenciadas adequadamente para aumentar alguns compostos de alto valor agregado.

**Palavras-chave:** UVR, radiação azul, fotossíntese, antioxidantes, pigmentos fotossintetizantes.

## ABSTRACT

The quality and quantity of radiation that reaches seaweeds play a fundamental role in the physiological, morphological, and biochemical development of algae. Photosynthetically active radiation (PAR) is necessary for photosynthetic organisms to carry out photosynthesis, but the combination of different radiation factors (increment, intensity, time, supplement), in addition to PAR, generate additional effects. Blue light and ultraviolet radiation (UVR) are wavelengths that have been shown to have a great effect on algae, even promoting the concentration of compounds derived from nitrogen metabolism. UVR can generate beneficial or harmful responses according to the intensity and time with which it is applied to algae, which is contemplated in the Busen-Roscoe Reciprocity Law (LBR). Red macroalgae are photosynthetic organisms that tolerate high amounts of UVR. In addition, they could manage the received radiation to keep their physiology intact and produce value-added metabolites (such as proteins, chlorophylls, phycobiliproteins, UV-absorbing compounds, antioxidants, phenolics and carbohydrates) for different industries. These characteristics make them efficient prototypes for studying variations in blue radiation and UVR. In this work, the effects of light quality and quantity were analyzed in treatments considering different combinations of blue light increment and UV radiation. These treatments were applied to the red foliaceous macroalgae *Phycocalidia acanthophora* and *Neopyropia leucosticta*. The main objective was to stimulate the synthesis of high-value biotechnological compounds and regulate photosynthesis during exposure to treatments with different combinations of radiation. UV radiation was applied at different intensities and times, producing different doses of UVR. The role of blue light was evaluated by the increment or not of blue light to white control lamps, being  $16 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  for *P. acanthophora* and  $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  for *N. leucosticta*. During the experimental periods, photosynthetic responses using chlorophyll a fluorescence *in vivo* [maximum quantum yield (Fv/Fm) and electron transport rates (ETR)] and thallus growth rates were measured. After exposing the species to different radiation treatments, the amounts of UV-absorbing compounds, photosynthetic pigments (chlorophylls and phycobiliproteins), antioxidant capacity (ABTS, DPPH), soluble proteins, carbohydrates and phenolic compounds were determined. Significant responses were observed in *P. acanthophora* to UV-absorbing compounds depending on the effects of the interaction between blue light increment and UVR conditions. There was also a significant effect on the antioxidant capacity by the increase in blue light. There was also a significant effect on the antioxidant capacity by the increase of blue light. For *N. leucosticta*, the significant responses by UVR conditions were observed for phycocyanin, considering the interaction of UVR conditions in time for carbohydrates and saturation irradiance, for the interaction of blue increment and UVR conditions for growth rate and UV-absorbing compounds, and by the effect of increasing blue and UVR conditions on time for phycoerythrin, antioxidant capacity and soluble proteins. In general, for both species, it was perceived that the increase in blue light positively regulated the responses obtained and the LBR was validated as a function of the intensity and doses for treatments with an increase in blue light. Photosynthesis remained stable during the experiment in *N. leucosticta*. This study emphasizes the relevance of testing the blue light increment and the availability of UV radiation and how these radiations can be properly managed to enhance some high value-added compounds.

**Keywords:** UVR, blue radiation, photosynthesis, antioxidants, photosynthetic pigments.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Radiação fotossinteticamente ativa que atinge a superfície da Terra A) Espectro diurno simplificado como fluxo de energia que atinge a superfície da Terra; B) Penetração de luz qualitativa em água mostrando a profundidade relativa, onde resta 1% do fluxo de energia espectral na superfície da água. .... 2
- Figura 2-** Mapa com coordenadas do local de coleta de *P. acanthophora*, na Prainha da Barra da Lagoa, Florianópolis, Brasil (27.574244 S, 48.420602 W), em julho de 2019. .... 10
- Figura 3- A.** Talos de *P. acanthophora* em substrato rochoso na Prainha da Barra da Lagoa. **B.** Macroalga *P. acanthophora* (fase gametofítica), coletada na Prainha da Barra da Lagoa ..... 11
- Figura 4-** Mapa com coordenadas do local de coleta de *N. leucosticta*, em Lagos, Andalucia, Espanha (36°44'37,5 "N 4°01'41,9" W 36,743749, -4,028291), em janeiro de 2020. .... 12
- Figura 5-A.** Talo de *N. leucosticta* coletada em costão rochoso de Lagos. A régua preta indica a medida aproximada do talo coletado. **B.** Fragmento de talo da fase gametofítica de *N. leucosticta*. .... 12
- Figura 6-** Espécimes de *P. acanthophora*, em condições de cultivo no Laboratório de Ficologia da UFSC. Manutenção em frascos de vidro, sendo o meio de cultivo água do mar enriquecida com solução de Von Stoch, com aeração constante, e fotoperíodo 12 h. .... 14
- Figura 7-** Espécimes de *N. leucosticta*, em condições de cultivo no Laboratório de Fotobiología y Biotecnología de Organismos Acuáticos - FYBOA. Manutenção em frascos de metacrilato, sendo o meio de cultivo água do mar enriquecida com solução Provasoli, com aeração constante, e fotoperíodo de 12 h. .... 15
- Figura 8-** Fluxograma do desenho experimental realizado nesta dissertação. .... 17
- Figura 9-** Espectros de emissão das diferentes fontes de radiação utilizadas nos tratamentos de *P. acanthophora*, medidos com o espectroradiômetro Ocean Optics USB 2000+ UV-VIS e o espectroradiômetro Avantes. Em linha verde se apresenta o espectro da lâmpada fluorescente (Osram 30W), em linha azul se observa o espectro da fita LED (INSPIRE RGB 5050, 24W) e em linha roxa, o espectro da Q-PANEL UVA 340 (Q-Panel Co, 40W). .... 19
- Figura 10-** Espectros de emissão das diferentes fontes de radiação fornecidos nos tratamentos de *N. leucosticta*, medidos com SphereOptics SMS500. Em linha verde se apresenta a radiação do painel LED (Philips 44W Dayligt), em linha azul se observa a radiação da fita LED (INSPIRE RGB 5050, 24W) e em linha roxa se mostra a radiação da Q-PANEL UVA 340 (Q-Panel Co, 40W). .... 20
- Figura 8** – Infraestrutura dos experimentos executados nesta dissertação. **A.** Recipientes contendo espécimes de *P. acanthophora* em exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de UV. **B.** Espécimes de *N. leucosticta* em exposição a diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de UV. .... 22
- Figura 12** – Exemplo de curva de taxa de transporte de elétrons relativa vs irradiância PAR crescente, a partir da curva rápida de luz (RLC). Neste exemplo, os dados estão ajustados de acordo com o modelo matemático de Eilers e Peters (1988), onde são obtidos parâmetros fotossintéticos, como taxa máxima de transporte de elétrons (ETR máx.), eficiência fotossintética ( $\alpha$ ), irradiância de saturação ( $E_k$ ), irradiância ótima ( $E_{opt}$ ) e parâmetro de fotoinibição ( $\beta$ ). .... 26
- Figura 13-** Taxa de crescimento de *P. acanthophora* após 5 dias na exposição aos diferentes

tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a percentagem de taxa de crescimento (%dia<sup>-1</sup>), no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem incremento à luz azul, enquanto as barras azuis os tratamentos expostos a incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (∞ 0i0D; ∞ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3 ..... 33

**Figura 14-** Monitoramento das respostas fotossintetizantes de *P. acanthophora* durante o experimento. A. Rendimento quântico máximo (Fv/Fm) durante 5 dias de exposição dos talos aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y o Fv/Fm, e no eixo x os dias no qual foi medido. As barras sobre cada ponto correspondem ao desvio padrão. B. Taxa de transporte de elétrons in situ no decorrer do tempo na exposição dos talos aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y o ETR in situ, e no eixo x os dias no qual foi medido. As barras sobre cada ponto correspondem ao desvio padrão. N=3..... 34

**Figura 15-** Acúmulo de Compostos UV Absorventes de *P. acanthophora* após da exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de UVR. A. Espectro de absorção de 280-400 nm de extratos aquosos ao início e após a exposição das algas as diferentes irradiâncias. No eixo y a absorbância, e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). B. Dados agrupados considerando o efeito significativo dos tratamentos de PAR, incremento de luz azul e radiação UV, após 5 dias de exposição aos diferentes tratamentos. No eixo y a absorbância máxima a 334 nm, e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem exposição ao incremento de luz azul, enquanto as barras roxas os tratamentos expostos a incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (∞ 0i0D; ∞ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde à absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento (p < 0,05). N=3 ..... 36

**Figura 16-** Espectro de Absorção de 400-750 nm de amostra inicial e de campo de *P. acanthophora* e as amostras coletadas por cada tratamento após a exposição de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a absorbância, e no eixo x os comprimentos de onda em nm. .... 37

**Figura 17-** Conteúdo de clorofila a em *P. acanthophora* após 5 dias na exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a concentração da clorofila a (mg Chla g<sup>-1</sup> BS), e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem incremento de luz azul, enquanto as barras verdes os tratamentos expostos a incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (∞ 0i0D; ∞ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3 ..... 38

**Figura 18-** Capacidade antioxidante por método ABTS de extratos de *P. acanthophora* após 5 dias de exposição aos diferentes tratamentos compostos por PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. Os dados apresentados estão agrupados considerando os efeitos significativos causados pelo incremento ou não da luz azul. No eixo y a capacidade antioxidante (µmolTE g<sup>-1</sup>BS), no eixo x os tratamentos agrupados de acordo ao incremento ou não da luz azul. A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de

erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3 ...39

**Figura 19-** Respostas significativas das variáveis de *P. acanthophora* dentro do experimento, após a exposição às condições de radiação azul e UVR. Em relação aos valores iniciais, antes da exposição. Nenhum efeito (-), ligeiramente superior ( $\approx \uparrow$ ), Superior ( $\uparrow$ ), duas vezes superior ( $\uparrow\uparrow$ ), ligeiramente inferior ( $\approx \downarrow$ ), inferior ( $\downarrow$ ), Lei Bussen Roscoe (LBR), intensidade (i), doses (D), tratamentos (ttos), sem azul (SA), com azul (CA), concentração [], diferença significativa ( $p < 0,05$ ). ..... 42

**Figura 20-** Taxa de crescimento de *N. leucosticta* analisadas entre o início e após 4 dias, e entre o início e após 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y à porcentagem de taxa de crescimento (%dia<sup>-1</sup>), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem incremento de luz azul, enquanto as barras azuis os tratamentos com incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento, considerando as taxas calculadas entre os 0-8 dias ( $p < 0,05$ ). N=3

43

**Figura 21-** Respostas fotossintetizantes de *N. leucosticta* ao longo de 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. **A.** Monitoramento do rendimento quântico máximo (Fv/Fm). No eixo y o Fv/Fm, e no eixo x os dias no qual foi medido. **B.** Seguimento da taxa de transporte de elétrons (ETR) in situ. No eixo y o ETR in situ, e no eixo x os dias no qual foi medido. Os dados são apresentados como média e indicam o desvio padrão. N=3..... 44

**Figura 22-** Irradiância de saturação de *N. leucosticta* após 4 dias e após 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. Os dados apresentados estão agrupados considerando os efeitos significativos causados pela interação dos tratamentos de radiação UV no tempo. No eixo y a irradiância de saturação ( $E_k$ ), no eixo x os tratamentos agrupados. As barras roxo-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, e as barras rosa indicam os tratamentos medidos no tempo 8 do experimento. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3 ..... 45

**Figura 23-** Compostos UV absorventes em *N. leucosticta* após exposição a tratamentos com PAR, incremento de luz azul e radiação UV. **A.** Espectro de absorção de 280-400 nm de extrato aquoso da amostra inicial e das amostras coletadas por cada tratamento após de 4 dias e 8 dias a exposição de PAR, luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a absorbância, e no eixo x os diferentes tratamentos. **B.** Compostos UV absorventes em *N. leucosticta* considerando os efeitos significativos causados pelo incremento de luz azul e os tratamentos com radiação UV. No eixo y mg de compostos absorventes por grama de massa seca (mg Comp Abs UV g<sup>-1</sup> BS) e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). A linha horizontal sólida corresponde a absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3 ..... 47

**Figura 24-** Concentração de Ficoeritrina em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y mg de Ficoeritrina por grama de massa seca (mgFE g<sup>-1</sup>BS), no eixo x

os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras rosas claras representam os tratamentos medidos no dia 4, enquanto as barras rosas escuras os tratamentos medidos no dia 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ⌘ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3..48

**Figura 25-** Concentração de Ficocianina em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. Dados agrupados considerando o efeito significativo causado pelos tratamentos de radiação UV sob a concentração de ficocianina de *N. leucosticta*. No eixo y mg de ficocianina por grama de massa seca (mgFC g<sup>-1</sup>BS) e no eixo x os diferentes tratamentos de UVR (ver Tabela 2). A linha horizontal sólida corresponde a absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento (p < 0,05). N=3 ...49

**Figura 26-** Compostos antioxidantes por método ABTS em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y μmol de equivalente em trolox por grama de massa seca (μmolTE g<sup>-1</sup>BS), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras roxas-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, enquanto as barras roxas escuro os tratamentos medidos no tempo 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ⌘ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). A a linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento (p < 0,05). N=3 ..... 50

**Figura 27-** Concentração de proteínas solúveis em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y mg de equivalente em albumina bovina por grama de massa seca (mgAB g<sup>-1</sup>BS), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras rosas-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, enquanto as barras roxas escuro os tratamentos medidos no tempo 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ⌘ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento (p < 0,05). N=3 ..... 51

**Figura 28-** Teor de carboidratos em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y mg de equivalente em albumina bovina por grama de massa seca (mgAB g<sup>-1</sup>BS), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras ciano-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, enquanto as barras ciano-escuras os tratamentos medidos no tempo 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (■ 0i0D; ■ 2i1D; ■ 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3 ..... 52

**Figura 29-** Respostas significativas das variáveis de *N.leucosticta* dentro do experimento, após a exposição as condições de radiação azul e UV. Em relação aos valores iniciais, antes da exposição. T4 corresponde as respostas aos 4 dias, e T8 corresponde as respostas aos 8 dias de exposição. Nenhum efeito (-), ligeiramente superior (≈ ↑), Superior (↑), duas vezes superior

(↑↑), ligeiramente inferior ( $\approx$  ↓), inferior (↓), Lei Bussen Roscoe (LBR), intensidade (i), doses (D), tratamentos (ttos), sem azul (SA), com azul (CA), concentração [], diferença significativa ( $p < 0,05$ ). ..... 61

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Composição química das soluções Von Stosch (Modificado de Edwards 1970) e Provasoli (Modificado de Provasoli 1963) para enriquecimento do meio de cultura. O pH foi ajustado a  $8,0 \pm 0,5$ . Para atingir o 100% das soluções no meio de cultura, se adicionaram 8 mL de solução Von Stoch para cada 1L de água de mar e 20 mL da solução de Provasoli para 1 L de água de mar. .... 16
- Tabela 2-** Quantidades das intensidades de radiações recebidas em cada experimento dentro do desenho experimental para testar a Lei de Reciprocidade + Azul. Os tratamentos são nomeados de acordo com a intensidade (i) e doses (D) de UV recebidas, além do incremento ou não de luz azul, aqueles tratamentos com incremento de luz azul, são identificados com (A). Todos os tratamentos foram irradiados por radiação PAR (quantidades fornecidas de acordo ao experimento). O incremento de radiação azul é representado com a quantidade irradiância de azul fornecida, enquanto aqueles sem incremento de radiação azul é representada com (-). A radiação ultravioleta é representada com Doses UV (D), que é dado pela intensidade (-i- neste experimento dado pela quantidade de lâmpadas de UV) vezes o tempo de exposição das lâmpadas UV (dado em horas). .... 20
- Tabela 3-** Resultados das ANOVA bifatorial executadas para cada variável dependente de *P. acanthophora*. Com resultados de efeitos isolados das variáveis independentes (incremento de luz azul, tratamentos de radiação UV) e resultados da interação entre esses dois fatores. As seguintes variáveis dependentes foram analisadas: taxa de crescimento, absorbância máxima de compostos absorventes de radiação UV, total de clorofila *a* e capacidade antioxidante a partir do método ABTS. Os efeitos significativos do fator são apresentados com dados de F e p em negrito. .... 40
- Tabela 4-** Correlação de Pearson obtidas entre as variáveis dependentes de *P. acanthophora*, após a exposição aos tratamentos com radiação UV e a presença ou não de radiação azul, N=3. .... 41
- Tabela 5-** Resultados das ANOVAs para cada variável dependente de *N. leucosticta*, considerando as seguintes fontes de variação: incremento de luz azul (com ou sem). Tratamentos de radiação UV (PAR 0i0D, PAR 0i0D A, PAR 2i1D, PAR 2i1D A, PAR 2i2D, PAR 2i2D A, PAR 1i1D, PAR 1i1D A) e tempo (4 e 8 dias), bem como a interação entre esses fatores. As seguintes variáveis dependentes foram analisadas com ANOVA bifatorial, sem considerar o tempo como fator (taxas de crescimento, compostos fenólicos, proteínas solúveis e capacidade antioxidante por método DPPH). Os efeitos significativos do fator são destacados com dados de F e p em negrito. .... 54
- Tabela 6-** Correlação de Pearson obtidas entre as variáveis dependentes de *N. leucosticta* no tempo 4, durante a exposição as condições de radiação azul, UV, medidas 4 dias após iniciar o experimento. As relações significativas com  $p < 0,05$ , são apresentadas em negrito. N=3 ..... 59
- Tabela 7-** Correlação de Pearson obtidas entre as variáveis dependentes de *N. leucosticta* no tempo 8, durante a exposição as condições de radiação azul, UV, medidas 8 dias após iniciar o experimento. As relações significativas com  $p < 0.05$ , são apresentadas em negrito. N=3 ..... 60



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ABTS <sup>+</sup>	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
Carb.	Carboidratos
Chl <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
Comp. Fenól	Compostos Fenólicos
Comp.UV	Compostos absorventes de radiação ultravioleta
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ETR	Taxa de Transporte de Elétrons
Ek	Irradiância de Saturação
FC	Ficocianina
FE	Ficoeritrina
F <sub>0</sub>	Fluorescência mínima em estado basal
F <sub>m</sub>	Fluorescência máxima de amostra aclimatada ao escuro, durante o pulso de saturação
F <sub>v</sub>	Fluorescência Variável
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	Rendimento Quântico Máximo
LBR	Lei de Reciprocidade de Bunsen-Roscoe
MAAs	Aminoácidos do Tipo Micosporina
MetOH	Metanol
PAR	Radiação Fotossinteticamente Ativa
PSII	Fotossistema II
P. Sol	Proteínas Solúveis Totais
TC	Taxa de crescimento
UVR	Radiação Ultravioleta
Y(II)	Rendimento Quântico Efetivo
$\alpha$	Eficiência fotossintetizante

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	REGULAÇÃO DE RESPOSTAS BIOLÓGICAS POR RADIAÇÃO E A LEI DE BUNSEN-ROSCOE.....	1
1.2	O USO DE ALGAS PELA INDÚSTRIA E SEUS COMPOSTOS DE VALOR AGREGADO.....	5
1.3	HIPÓTESE E OBJETIVOS.....	8
1.3.1	<b>Hipótese</b> .....	<b>8</b>
1.3.2	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>8</b>
1.3.3	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>9</b>
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
2.1	MATERIAL BIOLÓGICO.....	9
2.1.1	<i>Phycocalidia acanthophora</i> .....	9
2.1.2	<i>Neopyropia leucosticta</i> .....	11
2.2	CONDIÇÕES GERAIS DE CULTIVO E MANUTENÇÃO DAS ALGAS EM LABORATÓRIO.....	13
2.2.1	<i>Phycocalidia acanthophora</i> .....	13
2.2.2	<i>Neopyropia leucosticta</i> .....	14
2.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	16
2.3.1	<b>Desenvolvimento dos experimentos</b> .....	<b>21</b>
2.4	PARÂMETROS FISIOLÓGICOS.....	23
2.4.1	<b>Taxa de Crescimento</b> .....	<b>23</b>
2.4.2	<b>Atividade fotossintetizante a partir da fluorescência da clorofila <i>a</i></b> .....	<b>23</b>
2.5	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	26
2.5.1	<b>Espectros de absorção e quantificação dos pigmentos fotossintetizantes</b> .....	<b>27</b>
2.5.2	<b>Compostos absorvedores de UVR</b> .....	<b>28</b>
2.5.3	<b>Compostos Fenólicos Totais</b> .....	<b>28</b>
2.5.4	<b>Capacidade Antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH</b> .....	<b>28</b>
2.5.5	<b>Proteínas Solúveis</b> .....	<b>30</b>
2.5.6	<b>Carboidratos</b> .....	<b>31</b>
2.6	<b>ANÁLISES ESTATÍSTICAS</b> .....	<b>31</b>
3	RESULTADOS.....	32
3.1	<i>Phycocalidia acanthophora</i> .....	32
3.1.1	<b>Parâmetros fotossintéticos</b> .....	<b>32</b>
3.1.2	<b>Parâmetros bioquímicos</b> .....	<b>34</b>
3.2	<i>Neopyropia leucosticta</i> .....	42
4	DISCUSSÃO.....	62

4.1	<i>Phycocalidia acanthophora</i> .....	62
4.2	<i>Neopyropia leucosticta</i> .....	68
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	76
	REFERÊNCIAS .....	78

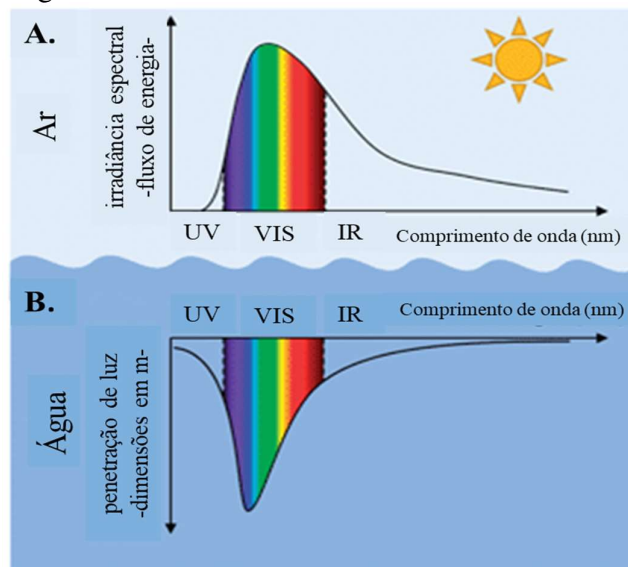
# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 REGULAÇÃO DE RESPOSTAS BIOLÓGICAS POR RADIAÇÃO E A LEI DE BUNSEN-ROSCOE

A Terra recebe em média de  $3,9 \times 10^6$  MJ de energia anualmente na forma de radiação solar, que é distribuída no espectro eletromagnético em comprimentos de onda entre 200 nm e 4000 nm, incluindo as radiações ultravioleta (280-400), visível (400-750) e infravermelho (780-4000) (MOHEIMANI; PARLEVLIET, 2013). Uma parte dessa radiação solar, conhecida como radiação fotossinteticamente ativa (PAR) é essencial para o desenvolvimento de organismos fotossintetizantes, como algas e plantas, nos quais essa radiação é transformada em energia química e biomassa (RAY F. EVERT ; SUSAN E. EICHHORN, 2013).

As algas por exemplo, têm gerado grande interesse na fotobiologia, por terem grande capacidade de gerenciar a chegada da intensidade e qualidade da luz. No ambiente, dependendo da posição das algas na coluna de água e das condições ambientais, estas recebem diferentes porcentagens dos diferentes comprimentos de onda. Quanto mais profundamente a alga se encontra em relação a superfície da água, recebe principalmente comprimentos como azul, verde, e quanto mais perto da superfície, as algas são atingidas por a maioria dos comprimentos de onda do PAR (desde radiação ultravioleta até vermelha), como é apresentada na figura 1(LUEDER et al., 2020).

**Figura 1-** Radiação fotossinteticamente ativa que atinge a superfície da Terra A) Espectro diurno simplificado como fluxo de energia que atinge a superfície da Terra; B) Penetração de luz qualitativa em água mostrando a profundidade relativa, onde resta 1% do fluxo de energia espectral na superfície da água.



Fonte:(LUEDER et al., 2020)

Estudos sobre a influência de diferentes comprimentos de onda em plantas e algas têm se tornado uma ferramenta fundamental nos últimos anos, não só por regular fotossíntese, mas também por controlar processos metabólicos e sínteses de compostos de alto valor agregado, tais como: antioxidantes, compostos fenólicos, clorofilas, ficobiliproteínas, entre outros. Alguns estudos avaliam os processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, expondo os organismos a um comprimento de onda e depois comparando os resultados entre os diferentes comprimentos de onda, como no caso de *Tetraselmis* sp., *Nannochloropsis* e *Brasica oleracea*. Já outros trabalhos avaliam uma combinação de lâmpadas de sódio de baixa pressão (SOX) (GHEDIFA et al., 2021; PAGELS et al., 2020; SCHNEIDER et al., 2020a) e de alta pressão (MARTINEAU et al., 2012; MÉNARD et al., 2006; TAMULAITIS et al., 2005; VIRŠILĖ et al., 2008), com a suplementação de diferentes comprimentos de onda, visando a detecção da atuação de diferentes fotorreceptores ativados por diferentes comprimentos de onda, como executado em experimentos com *Gracilaria gracilis*, *Cynobium* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus*, *Raphanus sativus*, entre outras espécies.

Pesquisas sobre a exposição de algas a diferentes qualidades de radiação mostraram que os comprimentos de onda que mais afetam os processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos são aqueles correspondentes às faixas de 280-400 nm que compreendem à radiação ultravioleta (UV), na faixa de 450 - 495 nm (luz azul, LA), na faixa de 495-570 nm

(luz verde, LV) e na faixa de 620-750 nm (luz vermelha, LVM) (KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005; TSEKOS et al., 2002; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Por exemplo, López Figueroa e Niell (1989) evidenciaram o aumento da síntese de clorofila *a* pela exposição à LVM em *Porphyra umbilicalis*, e por LA em *Corallina elongata*, *Plocamium cartilagineum* e *Schizymenia dubyi*, mediada por fitocromo (fotorreceptor de LVM) e criptocromo (fotorreceptor de LA e UV) (LOPEZ-FIGUEROA; NIELL, 1989; SMITH, 2014a).

Da mesma forma, Schneider et al. (2020) demonstraram uma influência positiva da LA sobre *Osmundea pinnatifida*, para o aumento da clorofila *a*, violaxantina, ficoeritrina (FE) e polifenóis. Além disso, esses autores verificaram que a ficoeritrina aumentou em LV e LVM. Ghedifa et al. (2021) encontraram estímulo da LA sobre *Gracilaria gracilis*, para o acúmulo de compostos fenólicos. Além disso, nessa alga a LV induziu o acúmulo de ficoeritrina, e a LVM o aumento da taxa de crescimento. Pagels et al. (2020) obtiveram aumento de lipídios, ficocianina, carotenoides e compostos antioxidantes em *Cyanobium* sp. cultivados com LVM, e aumento de carboidratos e clorofila *a*, quando essa cianobactéria recebeu LV (GHEDIFA et al., 2021; PAGELS et al., 2020; SCHNEIDER et al., 2020a).

Dentro dos comprimentos de onda que mais afetam as espécies fotossintetizantes, a luz azul se destaca por promover o acúmulo de compostos derivados do metabolismo do nitrogênio, que geralmente são compostos de valor agregado para diferentes indústrias. Por exemplo, Korbee et al. (2006) estudaram o efeito da qualidade da luz no acúmulo de pigmentos fotossintetizantes, proteínas e MAAs na alga vermelha *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta), descobrindo que a LA promoveu o maior acúmulo de MAAs, FE e proteínas (compostos derivados do metabolismo de nitrogênio). Esses autores ainda observaram no mesmo estudo que a LA diminuiu a capacidade fotossintética e a taxa de transporte de elétrons (ETR) (KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2006). Da mesma forma, vários estudos indicam a síntese e o acúmulo de metabólitos secundários quimicamente ativos, como compostos fotoprotetores, MAAs, carotenoides e compostos fenólicos, que atuam na redução dos efeitos nocivos causados pela radiação UV, absorvendo direta ou indiretamente energia dessa radiação (BARUFI et al., 2012; RAY F. EVERT; SUSAN E. EICHHORN, 2013; TALARICO; MARANZANA, 2000).

Outro comprimento de onda muito relevante para impactar em respostas de espécies fotossintetizantes é a radiação ultravioleta (UVR). A UVR pode ser separada em UV-A (320-400), UV-B (280-320) e UV-C (100-280 nm), sendo que esta última é completamente barrada pela atmosfera e não atinge a superfície terrestre. Estudos realizados sobre o impacto da UVR

nas algas e plantas vasculares incluem danos negativos diretos ou indiretos nas moléculas que participam da fotossíntese, na taxa de crescimento e nas ultraestrutura das células (HÄDER et al., 2007; HEO; JEON, 2009; SCHMIDT; MARASCHIN; BOUZON, 2010). Por outro lado, muitos autores têm demonstrado a capacidade de adaptação e mecanismos de fotoproteção das algas contra a UVR, através da regulação do metabolismo, crescimento, ativação das vias de inibição da fotossíntese e estímulo das vias fotomorfogênicas (BARUFI et al., 2012; DAY; NEALE, 2002; RÜDIGER, W.; LÓPEZ-FIGUEROA, 1992). Outros autores conseguiram demonstrar efeitos positivos da UVR em algas, como o estímulo na recuperação da fotossíntese (FLORES-MOYA et al., 1999) e o aumento nas taxas de crescimento dos talos após aclimação à UVR (FLORES-MOYA et al., 1999).

Dois aspectos importantes no estudo da radiação UV consistem no tempo de exposição e a intensidade utilizada dessa radiação. Ambos os aspectos podem ser contemplados dentro da Lei de Reciprocidade de Bunsen-Roscoe (LBR), um dos teoremas propostos pela fotobiologia (SMITH, 2014b). A LBR afirma que um determinado efeito biológico é diretamente proporcional à dose total de energia fornecida, independentemente do tipo de regime administrado (considerando um balanço entre intensidade e tempo). Neste caso, a dose é igual à intensidade de radiação multiplicada pelo seu tempo de exposição,  $Doses = intensidade * tempo$  (ROSCOE, 1855; SCHINDL; ROSADO-SCHLOSSER; TRAUTINGER, 2001). A LBR foi avaliada no estudo de Cullen e Lesser (1991), que mostraram que a fotoinibição de *Thalassiosira pseudonana* aconteceu em função da intensidade e do tempo de exposição à UVR, assumindo a validade dessa lei com relação aos efeitos de UVR. (CULLEN; LESSER, 1991). Também foram realizados trabalhos onde se avalia a influência da LBR em fungos, algas e plantas, procurando encontrar metodologias para estimular os organismos e controlar os efeitos gerados. Dring et al. (1996) perceberam reciprocidade nas respostas fotossintéticas de *Delesseria* e *Plocamium*, após a exposição dessas algas à UVR por até 6h. Também Rech et al. (2005) indicaram respostas de reciprocidade da UVR sobre a quantidade de clorofila de diferentes diatomáceas (*Amphora coffeaeformis*, *Entomoneis paludosa*, *Haslea ostrearia*, *Phaeodactylum tricornutum* e *Skeletonema costatum*) após da exposição das mesmas intensidades de UVR em diferentes tempos (DRING et al., 1996; KOBAYASHI et al., 1992; RECH et al., 2005; TAYLOR-EDMONDS et al., 2015; WARPEHA; MARRS; KAUFMAN, 1989).

Bonomi-Barufi (2010) avaliou a influência de doses e intensidade de UVR na fotoproteção de *Gracilaria tenuistipitata*, obtendo resultados significativos na produção de metabólitos da espécie, e assumindo assim uma validação da LBR (BONOMI BARUFI, 2010).

Nesse caso, foi observada uma rápida resposta fotossintética de *G. tenuistipitata*, onde houve tendência a uma menor capacidade fotossintética nos tratamentos com maior intensidade de radiação, independentemente do tempo de exposição. Além disso, os aminoácidos do tipo micosporina (MAAs) nessa espécie de alga vermelha apresentaram maior acúmulo em doses diárias maiores de UVR (BONOMI BARUFI, 2010).

Como apresentado acima, é importante considerar que existem poucos estudos sobre os efeitos da UVR considerando diferentes doses e intensidades, porém este aspecto é muito relevante para controlar o comportamento das espécies frente à radiação. A qualidade e intensidade da luz são fatores importantes no crescimento e desenvolvimento das algas (METSOVITI et al., 2019; WANG et al., 2021). Mudanças na qualidade da luz afetam consideravelmente muitas respostas fisiológicas, morfológicas e bioquímicas de diferentes espécies de algas (DRING; LÜNING, 1983; KLEM et al., 2019; TALARICO; MARANZANA, 2000).

## 1.2 O USO DE ALGAS PELA INDÚSTRIA E SEUS COMPOSTOS DE VALOR AGREGADO

Embora as algas sejam cultivadas, ainda não foram incluídas na “folha de balanço alimentar” da FAO, porém as algas são reconhecidas pela organização por possuir compostos de valor agregado. De acordo com as últimas estatísticas mundiais da aquicultura compiladas pela FAO, a produção mundial de algas em 2018 atingiu 32,4 milhões de toneladas, o que corresponde a 13,3 bilhões de dólares. O mesmo levantamento indica que a produção mundial de algas diminuiu 0.7% em 2018, causada pelo crescimento tardio da produção de algas tropicais e pela redução da produção dessas algas no sudeste asiático. Apesar de estudos mostrarem que as macroalgas de climas frios e temperados mantiveram o incremento no crescimento (CHESHIRE; NAYAR; ROOS, 2019; FAO, 2020), o desenvolvimento de algas de ambientes tropicais diminuiu, podendo ser uma consequência dos efeitos das mudanças climáticas (FAO, 2020).

As macroalgas marinhas podem ser separadas em três grandes grupos, sendo eles Rhodophyta (algas vermelhas), Phaeophyceae (algas marrons) e Chlorophyta (algas verdes) (PEREIRA, 2021). Esses organismos têm sido usados há vários séculos, inicialmente como fonte de alimento. No entanto, há mais de 50 anos, são reconhecidas como organismos fotossintetizantes altamente eficientes na conversão de energia solar para a produção rápida de biomassa. Além disso, as algas são eficientes para a produção de metabólitos secundários. Por



isso, as algas se tornaram altamente atraentes principalmente para a indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Os compostos bioativos de algas são pertinentes em muitas indústrias, como alimentos, produtos farmacêuticos, cosméticos e indústrias químicas e têxteis (HWANG; PARK, 2020; NAYLOR et al., 2021; RATHOUR et al., 2021; TANDEL et al., 2016; VEERAGURUNATHAN et al., 2019; YANG; LU; BRODIE, 2017).

Rhodophyta é um dos grupos de macroalgas mais cultivados em todo o mundo incluindo as espécies dos gêneros *Neopyropia*, *Pyropia*, *Porphyra* e *Phycocalidia*. Essas algas se destacam, devido às suas propriedades nutricionais, por conterem minerais, micronutrientes como ferro, cálcio, potássio, selênio, vitaminas, ômega-3 entre outros compostos de interesse para a área da saúde e cosmética. Além disso, são reconhecidos pelo seu uso na preparação de sushi e pelas diferentes atividades biológicas que vêm sendo estudadas, incluindo potencial antioxidante, anti-inflamatório, entre outras (FAO, 2020; MOHAPATRA; PANIGRAHY; BHATTAMISRA, 2013).

Duas espécies que representam as algas foliáceas vermelhas são *Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta*. Essas algas são encontradas na zona entre marés, perto das rochas, onde eles toleram estresses ambientais, como alta luminosidade e dessecação (CHAN et al., 2012). Em resposta a essas pressões ecológicas, várias macroalgas, incluindo estas duas espécies (*Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta*) produzem metabólitos bioativos, o que as torna fontes promissoras de compostos de valor agregado, além de apropriadas para estudos de radiação (KÖNIG et al., 1994).

*Phycocalidia acanthophora* (anteriormente *Pyropia*) consiste numa alga foliácea vermelha, reclassificada taxonomicamente em 2020 por Santiañez et al., a partir de um holótipo. Assim, essa alga pode ser considerada como pertencente ao filo Rhodophyta, na classe Bangiophyceae, dentro da ordem Bangiales, na família Bangiaceae, incluída no gênero *Phycocalidia* (SANTIAÑEZ; WYNNE, 2020). Por sua vez *Neopyropia leucosticta* (anteriormente nomeada *Porphyra*) é um tipo de macroalga vermelha, classificada taxonomicamente em 1863 por Le Jolis, publicado como lectotipo dentro do filo Rhodophyta, na classe Bangiophyceae, inserida na ordem Bangiales, na família Bangiaceae, como parte do gênero *Neopyropia* (SANTIAÑEZ; WYNNE, 2020; YANG et al., 2020). Para a coleta destas espécies, é preciso ter condições de temperatura e salinidade apropriadas no local, que permitem o desenvolvimento gametofítico de ambas espécies. Este desenvolvimento gametofítico dos gêneros *Phycocalidia* e *Neopyropia* é normalmente favorecido em temperaturas abaixo de 20°C e salinidade entre 35-38 (BAWEJA et al., 2016; PEREIRA et al., 2018; SUTHERLAND et al., 2011).

A fase gametofítica da macroalga vermelha proporciona maior área de contato com a radiação e melhor manipulação da biomassa no momento da extração de compostos de valor agregado, que podem ser aplicados em diversas áreas, como farmacognosia, nutracêutica e cosméticos (ISMAIL; ALOTAIBI; EL-SHEEKH, 2020). Entre os metabólitos mais relevantes nas espécies selecionadas para este trabalho, podemos mencionar as proteínas, os pigmentos fotossintetizantes, os compostos fotoprotetores, compostos antioxidantes e os carboidratos.

As proteínas nas algas são procuradas por seu alto valor nutricional e bioatividades como anti-hipertensivas, antioxidantes, entre outras (MEHTA et al., 2018; OKOLIE, CHIGOZIE LOUIS, BETH MASON, 2018). As macroalgas vermelhas geralmente possuem três grandes grupos de complexos de proteínas pigmentares, também catalogados como fotoprotetores, as clorofilas, os carotenóides e as ficobiliproteínas (BAG, 2021; JEFFREY et al., 2005).

As ficobiliproteínas (FBP), além de participar da fotossíntese como molécula coletora de luz, são também atraentes por agir como neuroprotetores e por ter alta capacidade anticâncer. As FBP podem ativar várias vias de sinalização, como a repressão da ciclooxigenase-2, prostaglandina E2. Também atuam como agentes antiinflamatórios, hipolipidêmicos e hepatoprotetores (CHANDRALEKHA et al., 2021; GANTAR; DHANDAYUTHAPANI; RATHINAVELU, 2012; LEE et al., 2017; PUNAMPALAM; KHOO; SIT, 2018; RAVI et al., 2015; SU et al., 2020). A clorofila, além de ser o pigmento natural mais importante para a fotossíntese, também é utilizada na indústria de alimentos e em outras áreas para colorir ceras, resinas, sabões e cosméticos. Além disso, foram atribuídas a essas moléculas propriedades antiapoptóticas, antimutagênicas, antidiabéticas, imunomoduladoras e antioxidantes (ENDO; USUKI; KANEDA, 1985; FERRUZZI; BLAKESLEE, 2007; FERRUZZI; FAILLA; SCHWARTZ, 2001; QUEIROZ ZEPKA; JACOB-LOPES; ROCA, 2019; SZCZYGIEL et al., 2008).

As macroalgas vermelhas também se destacam porque podem ter uma alta concentração de compostos absorventes de UV, carboidratos, compostos fenólicos e antioxidantes, o que ajuda a protegê-las do ambiente onde crescem (CHAVES-PEÑA et al., 2019). Alguns compostos absorvedores de UV são identificados por suas propriedades fotoprotetoras, como o caso dos MAAs, que têm se mostrado atrativos na indústria cosmética e têxtil por serem fotoestabilizantes aditivos (CHAVES-PEÑA et al., 2019; FERNANDES et al., 2015; VEGA et al., 2021). Os carboidratos que vêm das algas têm várias propriedades, como anti-inflamatória, imunoestimulante, antioxidante, anti-apreensão, antiviral, antiproliferativa e antitumoral, essas bioatividades são atribuídas a polissacarídeos como carragenanas e ágar

(ABU-GHANNAM; RAJAURIA, 2013; FLEITA; EL-SAYED; RIFAAT, 2015; GARCIA-VAQUERO et al., 2017; HAYES; TIWARI, 2015; WU et al., 2016). Os compostos fenólicos são um grande grupo de metabólitos secundários, formados por pelo menos um grupo fenol em sua estrutura química. A maioria dos compostos fenólicos possui capacidade antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, hipocolesterolêmica, anticoagulante, antiviral e antimicrobiana (ABAD, 2013; ISMAIL; ALOTAIBI; EL-SHEEKH, 2020; JIMENEZ-LOPEZ et al., 2021; KLEJDUS et al., 2017). Todas essas características fisiológicas e propriedades bioativas dos metabólitos presentes em *P. acanthophora* e *N. leucosticta*, conferem-lhes valor agregado para sua biomassa.

Assim, considerando o conhecimento da fisiologia e a síntese de compostos metabólicos de algas do filo Rhodophyta, e levando em conta as diferentes descobertas de fotorregulação de alguns biocompostos e as características que tornam interessantes os gêneros selecionados, este presente estudo foi elaborado para analisar algas vermelhas foliáceas de dois gêneros de macroalgas (*P. acanthophora* e *N. leucosticta*). Além disso, pretendeu-se testar a LBR e sua potencial relação com o incremento de radiação azul, dado o fato que essa qualidade de radiação é importante para fotorregulação de substâncias, como mencionado anteriormente. Este trabalho é então apoiado pelas respostas de fotorregulação positivas obtidas após radiação, sobre as macroalgas, com luz azul em alguns casos e, em outros casos com radiação UV de baixa intensidade (ambas as respostas descritas neste texto). Este trabalho busca entender uma possível relação entre o incremento da radiação azul e a disponibilidade de radiação ultravioleta, distribuídas em diferentes intensidades e doses, sobre as respostas fisiológicas (fotossíntese e crescimento) e bioquímicas (visando o acúmulo de compostos bioativos de alto valor agregado) em *P. acanthophora* e *N. leucosticta*.

### 1.3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

#### 1.3.1 Hipótese

Existem diferenças fisiológicas (fotossíntese e crescimento) e bioquímicas (visando o acúmulo de compostos bioativos de alto valor agregado) significativas em *Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta* expostas ao incremento da luz azul e a diferentes doses e intensidades de radiação UV.

#### 1.3.2 Objetivo Geral

Determinar os efeitos de diferentes doses e intensidades de radiação UV (avaliando a lei

de reciprocidade de Bunsen-Roscoe) associados ou não com o incremento de luz azul na fotossíntese e no acúmulo de compostos de alto valor agregado em *Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta*.

### 1.3.3 Objetivos Específicos

- Avaliar o crescimento e fotossíntese de *Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta* durante a complementação da PAR com diferentes doses e intensidades de radiação UV e incremento de luz azul.

- Analisar os efeitos das diferentes composições com radiação UV, incremento de luz azul e PAR sobre a concentração de compostos com alto valor agregado, presentes nas duas espécies de algas vermelhas, tais como: ficobiliproteínas, compostos que absorvem UVR, compostos fenólicos e proteínas solúveis.

- Avaliar os efeitos das diferentes radiações fornecidas no experimento (UVR, PAR e incremento de luz azul), na produção de compostos com capacidade antioxidante dos extratos aquosos das duas espécies de macroalgas vermelhas (*Phycocalidia acanthophora* e *Neopyropia leucosticta*).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção são apresentados os materiais, delineamento experimental e métodos usados, para o desenvolvimento deste trabalho. Foram realizados dois experimentos, que compartilham algumas características, como o desenho experimental e alguns métodos de análises fisiológicas e bioquímicas. Entretanto, são experimentos independentes e não podem ser comparados. A seguir serão especificados os detalhes e diferenças entre os materiais e métodos utilizados.

### 2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Para o estudo foram usadas duas espécies de macroalgas vermelhas foliáceas em dois experimentos, coletadas em dois locais diferentes.

#### 2.1.1 *Phycocalidia acanthophora*

Exemplares de *P. acanthophora* foram cuidadosamente coletados em julho de 2019, na prainha da Barra da Lagoa, Florianópolis, Brasil (27.574244 s, 48.420602 w; Figura 2). A fase gametofítica de *P. acanthophora* (Figura 3 A-B) foi encontrada em substratos consolidados

rochosos, na região entre marés considerando a zona de mesolitoral superior. Essas amostras foram obtidas nos meses de junho a agosto (época de inverno), quando a temperatura da água de mar varia entre 15-19 °C aproximadamente, e uma salinidade de 35±1.

Os talos de *P. acanthophora* foram recolhidos, colocados dentro de um saco com pouca água de mar, e posteriormente dentro de uma caixa térmica. Após a coleta, os espécimes foram transportados, para o “Laboratório de Ficologia - LAFIC” da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis, SC, Brasil. No LAFIC, os espécimes foram lavados 4 vezes com água de mar filtrada, subtraindo cuidadosamente com pincéis as epífitas e sedimentos arenosos. Foram selecionados os talos com aspecto íntegro, os quais foram inseridos em condições de cultivo.

**Figura 2-** Mapa com coordenadas do local de coleta de *P. acanthophora*, na Prainha da Barra da Lagoa, Florianópolis, Brasil (27.574244 S, 48.420602 W), em julho de 2019.



Fonte: Própria criação (2021)

**Figura 3-** A. Talos de *P.acanthophora* em substrato rochoso na Prainha da Barra da Lagoa. B. Macroalga *P. acanthophora* (fase gametofítica), coletada na Prainha da Barra da Lagoa



Fonte: Própria criação (2019)

### 2.1.2 *Neopyropia leucosticta*

Talos de *N.leucosticta* foram coletados em janeiro de 2020, em Lagos, Andalucia, Espanha (36°44'37,5 "N 4°01'41,9" W 36,743749, -4,028291; Figura 4). Neste caso, a fase gametofítica de *Neopyropia leucosticta* (Figura 5 A-B) foi encontrada nas zonas entre marés, nos meses de dezembro a fevereiro (época de inverno), quando a temperatura da água de mar varia entre 12-16°C, e tem uma salinidade de 38 aproximadamente.

Os talos de *N. leucosticta* foram agrupados e colocados dentro de um saco com pouca água de mar, posteriormente dentro de uma caixa térmica. Após a coleta, os espécimes foram transportados para o “Laboratório de Fotobiología y Biotecnología de Organismos Acuáticos - FYBOA” da Universidad de Málaga, em Málaga, Espanha. No laboratório, os talos coletados foram limpos com água de mar filtrada, procurando extrair todas as epífitas e os sedimentos arenosos. Em seguida, as algas foram inseridas em condições gerais de cultivo.

**Figura 4-** Mapa com coordenadas do local de coleta de *N. leucosticta*, em Lagos, Andalucia, Espanha (36°44'37,5 "N 4°01'41,9" W 36,743749, -4,028291), em janeiro de 2020.



Fonte: Própria criação (2021)

**Figura 5-A.** Talo de *N. leucosticta* coletada em costão rochoso de Lagos. A régua preta indica a medida aproximada do talo coletado. **B.** Fragmento de talo da fase gametofítica de *N. leucosticta*.



Fonte: Própria criação (2020)

## 2.2 CONDIÇÕES GERAIS DE CULTIVO E MANUTENÇÃO DAS ALGAS EM LABORATÓRIO

Os talos selecionados de cada espécie, foram acondicionados em laboratório de forma gradual, usando sombrites sob as fontes de luz PAR. Esses sombrites foram removidos progressivamente, permitindo um incremento gradual da intensidade da radiação do cultivo. Isso foi feito a fim de minimizar o estresse nos espécimes após a coleta.

### 2.2.1 *Phycocalidia acanthophora*

Os talos de *P. acanthophora* foram inicialmente cultivados em frascos de vidro (Figura 6), contendo aproximadamente 9 g de biomassa em 2 L de água do mar filtrada e esterilizada (filtrada usando papel filtro de 5- 10  $\mu\text{m}$  e esterilizada com exposição da água a um fluxo de radiação UV-C). A água do mar foi enriquecida com solução modificada de Von Stoch 20% (preparada conforme a Tabela 1) no primeiro dia. A cada três dias, o meio de cultura foi renovado, incrementado 20% a mais da solução até atingir 100% do meio (8 mL de solução de enriquecimento para 1 L de água do mar, para uma concentração total de 0,8% v/v) (EDWARDS, 1970). Durante o período de manutenção em laboratório (4 meses), preliminar ao experimento, os talos de *P. acanthophora* estiveram submetidos à aeração constante, sob temperatura de  $17 \pm 2^\circ\text{C}$  e à salinidade da água do mar de  $35 \pm 1$ . A radiação do cultivo foi obtida com o uso de lâmpadas fluorescentes, Osram 30 W Daylight, iniciando com uma irradiância de  $17,15 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , monitorando a cada três dias com o quantômetro LI-COR Light Sensor Logger LI-1500 até atingir o total de  $150 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e um fotoperíodo de 12 h.

Os talos foram cortados em círculos de 1 cm de diâmetro e misturados, para garantir a homogeneidade da biomassa, sete dias antes de iniciar o experimento, para garantir a recuperação do tecido após o corte e antes de iniciar a exposição às radiações de estudo. Após isto, os talos foram divididos em 27 frascos cilíndricos de tereftalato de polietileno de etileno (material transparente que permite a passagem de radiação ultravioleta). Foi mantida uma proporção de 1 g de biomassa em 1 L de água do mar filtrada e purificada, enriquecida com solução Von Stoch 100%, sob condições controladas de aeração a cada 30 minutos, salinidade de  $35 \pm 1$ , temperatura de  $17 \pm 2^\circ\text{C}$ , intensidade de irradiância PAR de  $200 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , e fotoperíodo de 12 h. É importante salientar que sete dias antes de iniciar o experimento, os talos apresentaram estabilidade nas medidas de rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$  usando Junior-PAM, ver detalhes mais abaixo). Isso indica que as algas estavam com a fotossíntese em



estado constante, evidenciando a aclimação dos talos ao ambiente de laboratório. Da mesma forma houve estabilidade das medidas de  $F_v/F_m$  três dias antes do início do experimento.

**Figura 6**-Espécimes de *P. acanthophora*, em condições de cultivo no Laboratório de Ficologia da UFSC. Manutenção em frascos de vidro, sendo o meio de cultivo água do mar enriquecida com solução de Von Stoch, com aeração constante, e fotoperíodo 12 h



Fonte: Própria criação (2019)

### 2.2.2 *Neopyropia leucosticta*

Os espécimes de *N. leucosticta* foram cultivados em frascos de metacrilato (Fig. 6), envolvendo aproximadamente 12 g de biomassa em 1,5 L de água do mar filtrada (decantada e filtrada usando papel filtro de 5- 10  $\mu\text{m}$ ), e enriquecida com solução modificada de Provasoli 20% (preparada conforme a Tabela 1) no primeiro dia. A cada três dias, o meio de cultura foi renovado, incrementado 20% a mais da solução até atingir 100% do meio (20 mL de solução de enriquecimento para 1 L de água do mar) (PROVASOLI, 1963). Na manutenção de *N. leucosticta*, os frascos receberam aeração constante, a temperatura de cultivo foi de  $15 \pm 2^\circ\text{C}$  e a salinidade da água do mar foi de 38. A radiação do cultivo foi fornecida pela fonte de luz LEDs Philips 44W Daylight, iniciando por  $90 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  até conseguir  $210 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . O cultivo foi submetido a cada intensidade num fotoperíodo de 12 h. Nesta ocasião, os talos foram mantidos íntegros para execução do experimento de radiação.

Os talos foram divididos em 27 frascos cilíndricos de metacrilato (material transparente que permite a passagem da radiação ultravioleta), totalizando 2 g de biomassa em 2 L de água do mar filtrada, enriquecida com solução Provasoli 100%, sob condições controladas de aeração contínua, salinidade 38, temperatura de  $15 \pm 2^\circ\text{C}$ , intensidade de  $200 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , e fotoperíodo de 12 h. Assim, sete dias antes de iniciar os experimentos, os talos estavam

aclimatados aos ambientes de laboratório, já que as medições de Fv/Fm permaneceram constantes, conforme procedimento também realizado com o experimento feito em *P. acanthophora*.

**Figura 7**-Espécimes de *N. leucosticta*, em condições de cultivo no Laboratório de Fotobiología y Biotecnología de Organismos Acuáticos - FYBOA. Manutenção em frascos de metacrilato, sendo o meio de cultivo água do mar enriquecida com solução Provasoli, com aeração constante, e fotoperíodo de 12 h.



Fonte: Própria criação (2020)

**Tabela 1-** Composição química das soluções Von Stosch (Modificado de Edwards 1970) e Provasoli (Modificado de Provasoli 1963) para enriquecimento do meio de cultura. O pH foi ajustado a  $8,0 \pm 0,5$ . Para atingir o 100% das soluções no meio de cultura, se adicionaram 8 mL de solução Von Stoch para cada 1L de água de mar e 20 mL da solução de Provasoli para 1 L de água de mar.

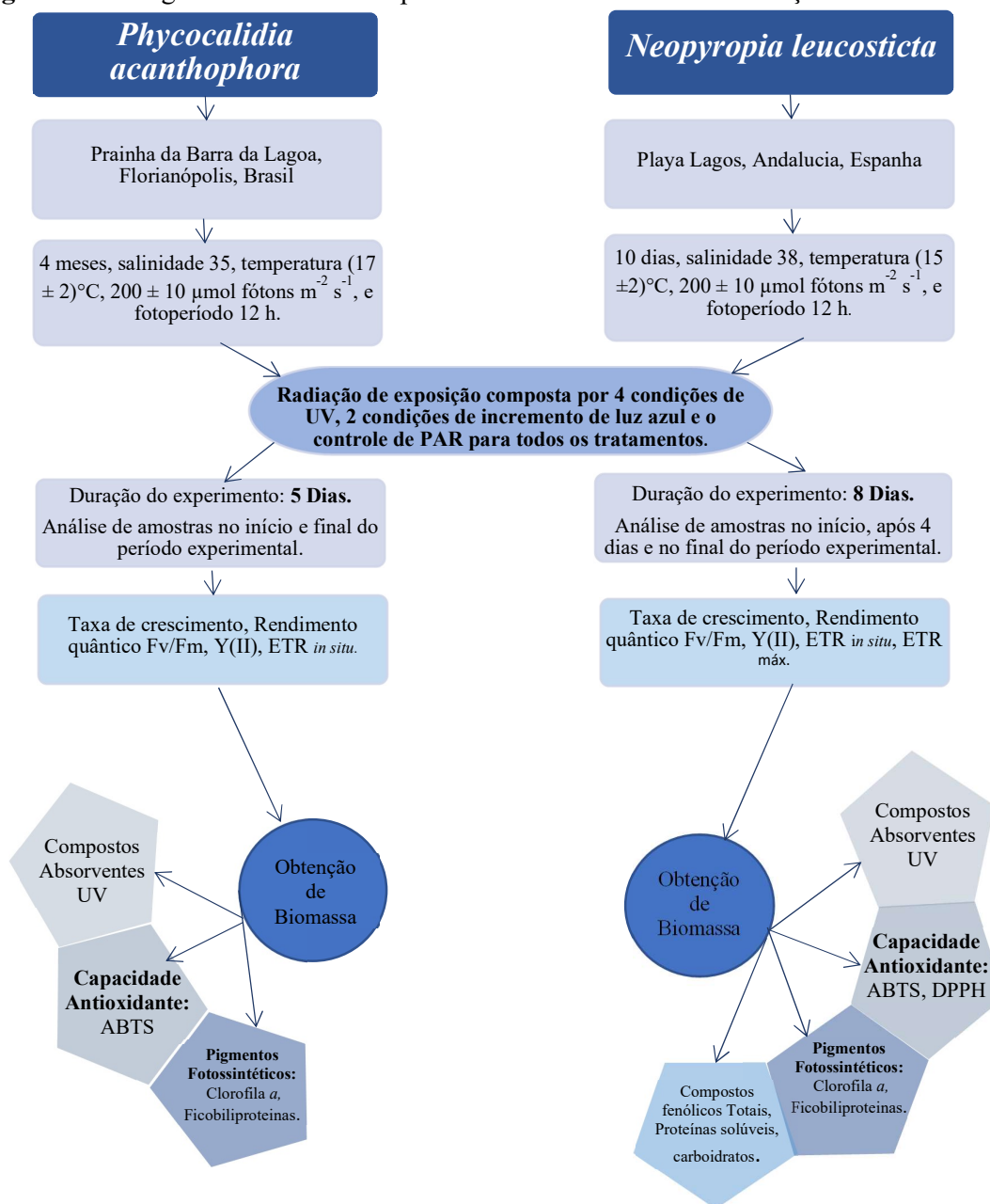
Reagentes	Concentrações dentro da solução Von Stoch	Concentrações dentro da solução Provasoli
EDTA	15,9 $\mu$ M	0,93 mM
MnCl <sub>2</sub> (4H <sub>2</sub> O)	47,5 nM	--
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (7H <sub>2</sub> O)	7,044 $\mu$ M	--
NaNO <sub>3</sub>	62,36 $\mu$ M	0,476 mM
FeSO <sub>4</sub> (7H <sub>2</sub> O)	78,6 nM	--
Biotina	0,44 nM	0,122 nM
Cianocobalamina	0,0737 nM	0,42 nM
Tiamina	92,2 nM	0,13 $\mu$ M
Na <sub>2</sub> -Glicerofosfato.5H <sub>2</sub> O	---	0,38 mM
KI	---	0,61 $\mu$ M
GeO <sub>2</sub>	---	0,39 mM
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	---	0,76 mM
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	---	0,72 $\mu$ M
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	---	0,123 mM
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	---	0,147 $\mu$ M
CoSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	---	0,83 $\mu$ M
Tris	---	0,476 M
hidroximetilaminametano		
Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	---	0,81 mM

Fonte: Própria criação (2021)

### 2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo consistiu em dois experimentos, os quais diferem em vários aspectos (ver Figura 8). Ambos os experimentos seguem o mesmo desenho experimental multifatorial, no entanto não é possível fazer comparação entre eles.

**Figura 8-** Fluxograma do desenho experimental realizado nesta dissertação.



Os experimentos do presente trabalho consistiram na exposição das respectivas espécies à radiação PAR, incremento de luz azul e radiação ultravioleta, esta última distribuída em diferentes intensidades e doses. Para ambos os experimentos, a radiação UV foi aplicada em dois delineamentos experimentais: (1) duas irradiâncias e (2) tempos de exposição diferentes, produzindo doses diferentes (dois níveis). O papel do incremento de luz azul foi avaliado pela adição ou não de luz azul, a um controle de lâmpadas emitindo PAR. O desenho experimental

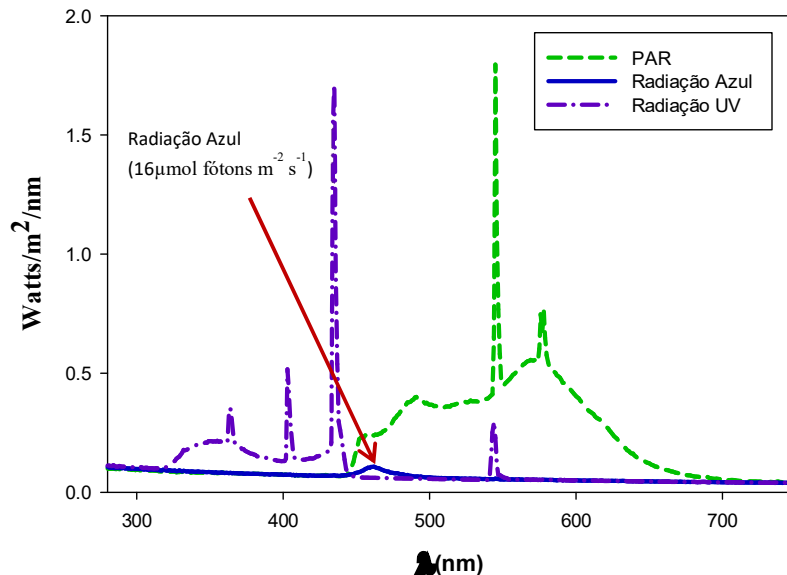
para duas espécies apresentou quatro condições de UV, duas condições de incremento de luz azul e o controle de luz PAR para todos os tratamentos (Tabela 2). As quantidades das intensidades de radiações recebidas em cada experimento variaram entre (206-210)  $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  PAR, (16-60)  $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de azul e (1,39 – 8,08) Watts  $\text{m}^{-2}$  e (0,037 – 0,29) KJ  $\text{m}^{-2}$  de radiação UV para ambas as espécies, conforme os valores especificados na Tabela 2. Os efeitos dessas radiações foram avaliados e analisados em diferentes respostas, as quais foram divididas em duas abordagens, uma considerando os parâmetros fisiológicos e a outra levando em conta os parâmetros bioquímicos, os quais são apresentados e resumidos na Figura 8.

As diferentes composições de radiação foram obtidas com o uso de diferentes lâmpadas para os experimentos realizados com as duas espécies de macroalgas foliáceas.

As seguintes fontes de radiação foram usadas para o experimento com *P. acanthophora*, permitindo a aplicação de diferentes espectros de radiação em cada tratamento (ver Figura 9):

- Radiação fotossinteticamente ativa (PAR), a partir de lâmpadas fluorescentes (Osram 30W Daylight).
- Radiação no comprimento de onda entre 450-495 nm compreendendo a luz azul, proveniente de fita LED (INSPIRE RGB 5050, 24W)
- Radiação UV proveniente de lâmpadas Q-PANEL UVA 340 (Q-Panel Co, 40W), com comprimento de onda entre 280-400 nm

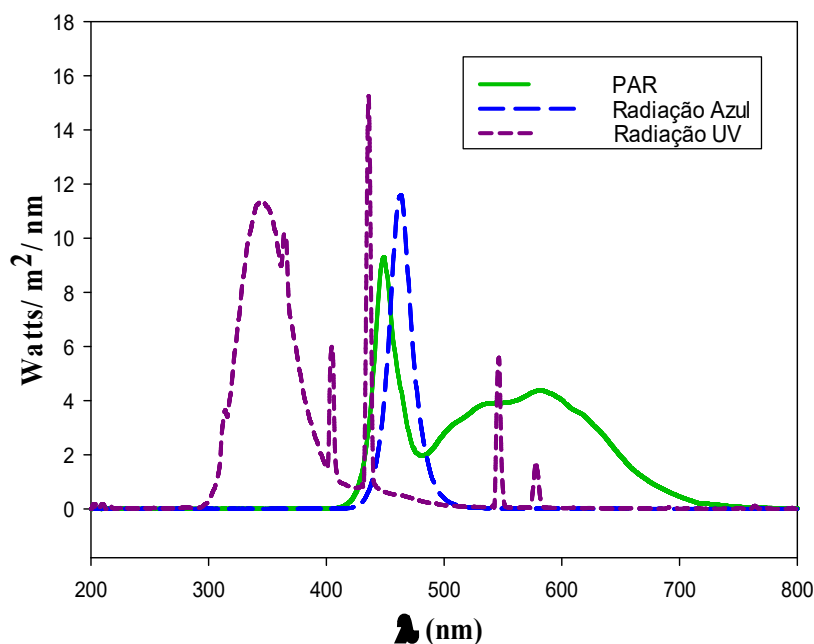
**Figura 9-** Espectros de emissão das diferentes fontes de radiação utilizadas nos tratamentos de *P. acanthophora*, medidos com o espectrorradiômetro Ocean Optics USB 2000+ UV-VIS e o espectrorradiômetro Avantes. Em linha verde se apresenta o espectro da lâmpada fluorescente (Osram 30W), em linha azul se observa o espectro da fita LED (INSPIRE RGB 5050, 24W) e em linha roxa, o espectro da Q-PANEL UVA 340 (Q-Panel Co, 40W).



A radiações para o experimento com *N. leucosticta* foram obtidas pelas seguintes fontes de radiação, permitindo a aplicação dos seguintes espectros de radiação (ver Figura 10):

- Radiação fotossinteticamente ativa (PAR), com o uso de um painel LED (Philips 44W Daylight).
- Radiação dos comprimentos de onda entre 450-495 nm compreendendo a luz azul proveniente de fita LED (INSPIRE RGB 5050, 24W).
- Radiação UV proveniente de lâmpadas Q-PANEL UVA 340 (Q-Panel Co, 40W), nos comprimentos de onda entre 280-400 nm.

**Figura 10-** Espectros de emissão das diferentes fontes de radiação fornecidos nos tratamentos de *N. leucosticta*, medidos com SphereOptics SMS500. Em linha verde se apresenta a radiação do painel LED (Philips 44W Daylight), em linha azul se observa a radiação da fita LED (INSPIRE RGB 5050, 24W) e em linha roxa se mostra a radiação da Q-PANEL UVA 340 (Q-Panel Co, 40W).



As medidas do espectro da radiação transmitido pelas diferentes fontes (PAR, Azul e UVR) foram adquiridas usando o espectrorradiômetro Avantes para o experimento de *P. acanthophora*, e o espectrorradiômetro SphereOptics SMS 500 (Spectral Measurements System, Espectrômetro UV-Visible) para o experimento de *N. leucosticta*. Todas as irradiâncias foram obtidas em  $W m^{-2}$ . Para o caso das medidas de intensidade de irradiância de PAR e Azul, foi utilizado o quantômetro LI-COR Light Sensor Logger LI-1500, adaptado a um sensor modelo US-SQS/L S/N:SQSA0704 (Heinz Walz GbmH, 91090, Effeltrich, Alemanha), para *P. acanthophora* e para *N. leucosticta* foi usado o quantômetro LI-COR Biosciences modelo LI-250A, acoplado ao sensor modelo US-SQS/L S/N:SQSA0235 (Heinz Walz GbmH, 91090, Effeltrich, Alemanha). Todas as medidas de intensidade de irradiância PAR e azul foram obtidas em  $\mu mol \text{ fótons } m^{-2} s^{-1}$ .

**Tabela 2-** Quantidades das intensidades de radiações recebidas em cada experimento dentro do desenho experimental para testar a Lei de Reciprocidade + Azul. Os tratamentos são nomeados de acordo com a intensidade (i) e doses (D) de UV recebidas, além do incremento ou não de luz azul, aqueles tratamentos com incremento de luz azul, são identificados com (A). Todos os tratamentos foram irradiados por radiação PAR (quantidades fornecidas de acordo ao experimento). O incremento de radiação azul é representado com a quantidade irradiância de azul fornecida, enquanto aqueles sem incremento de radiação azul é representada com (-). A radiação ultravioleta é representada com Doses UV (D), que é dado pela intensidade (-i- neste experimento dado pela quantidade de lâmpadas de UV) vezes o tempo de exposição das lâmpadas UV (dado em horas).

Tratamentos	PAR		Incremento de radiação Azul		Quanta diária total PAR		(LBR) Doses UV= i*t			Doses diária de exposição UV	
	(μmol fótons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		(μmol fótons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		(mol fótons m <sup>-2</sup> )		Irradiância UV (intensidade)		Tempo de exposição radiação UV	Doses diárias de exposição UV	
	<i>Phycocalidia acanthophora</i>	<i>Neopyropia leucosticta</i>	<i>Phycocalidia acanthophora</i>	<i>Neopyropia leucosticta</i>	<i>Phycocalidia acanthophora</i>	<i>Neopyropia leucosticta</i>	(W m <sup>-2</sup> )	(W m <sup>-2</sup> )	(horas)	(KJ m <sup>-2</sup> )	(KJ m <sup>-2</sup> )
0i0D	206	210	-	-	8,89	9,07	0 (0i)	0 (0i)	12	0 (0D)	0 (0D)
0i0D A	206	210	16	60	9,59	11,66	0 (0i)	0 (0i)	12	0 (0D)	0 (0D)
2i1D	206	210	-	-	8,89	9,07	1,83 (2i)	7,54 (2i)	6	0,039 (1D)	0,163 (1D)
2i1D A	206	210	16	60	9,59	11,66	1,63 (2i)	8,08 (2i)	6	0,035 (1D)	0,174 (1D)
2i2D	206	210	-	-	8,89	9,07	1,80 (2i)	6,45 (2i)	12	0,078 (2D)	0,278 (2D)
2i2D A	206	210	16	60	9,59	11,66	1,57 (2i)	6,79 (2i)	12	0,067 (2D)	0,293 (2D)
1i1D	206	210	-	-	8,89	9,07	1,39 (1i)	2,62 (1i)	12	0,059 (1D)	0,113 (1D)
1i1D A	206	210	16	60	9,59	11,66	1,43 (1i)	3,19 (1i)	12	0,060 (1D)	0,137 (1D)



### 2.3.1 Desenvolvimento dos experimentos

#### *Phycocalidia acanthophora*:

Foram colocadas amostras da espécie em exposição a 8 tratamentos por 5 dias contínuos, com o fotoperíodo 12 h, onde a intensidade da luz azul utilizada em 4 dos tratamentos foi de  $16 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . J\u00e1 a intensidade da luz branca PAR, aplicada nos 8 tratamentos foi de  $200 \pm 6 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Tabela 2; Figura 11A). A biomassa para as an\u00e1lises bioqu\u00edmicas, foi tomada no tempo 0 e no tempo 5, e armazenada a  $-40^\circ\text{C}$  at\u00e9 a liofiliza\u00e7\u00e3o.

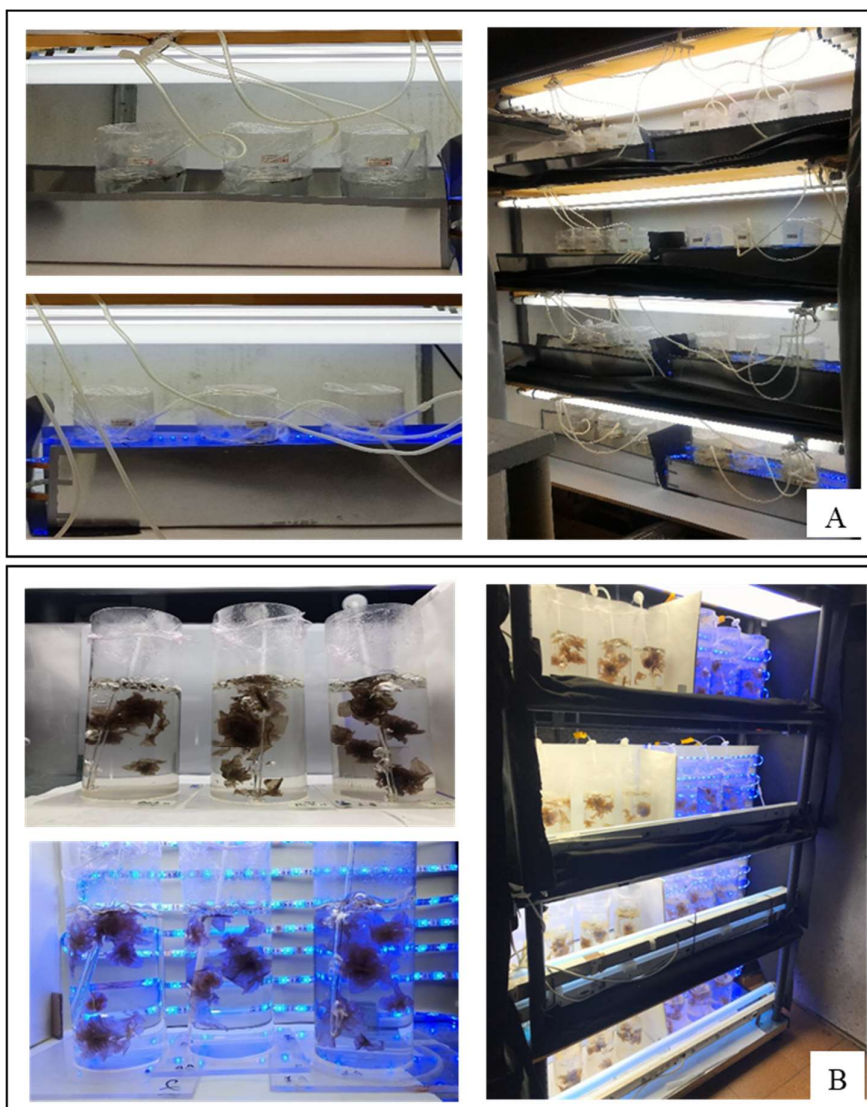
Durante o tempo de experimento, cada frasco foi movimentado dentro do mesmo ambiente do tratamento a cada dia, com o fim de randomizar as amostras e homogeneizar a quantidade de radia\u00e7\u00e3o recebida. No decorrer da exposi\u00e7\u00e3o dos tratamentos, foi monitorado frequentemente os par\u00e2metros f\u00edsico-qu\u00edmicos do meio de cultura, alcan\u00e7ando m\u00e9dia de temperatura de  $17 \pm 2^\circ\text{C}$ , m\u00e9dia de pH de  $7.73 \pm 0.2$ , e m\u00e9dia de salinidade de  $36 \pm 0.6$ .

#### *Neopyropia leucosticta*:

Foram colocadas amostras de *N. leucosticta* em exposi\u00e7\u00e3o a 8 tratamentos por um total de 8 dias cont\u00ednuos, em um fotoper\u00edodo de 12h. Neste experimento, a biomassa produzida por crescimento desde o tempo 0 at\u00e9 o quarto dia foi retirada e armazenada a  $-40^\circ\text{C}$  at\u00e9 a liofiliza\u00e7\u00e3o, para posteriores an\u00e1lises bioqu\u00edmicas. Tamb\u00e9m foi retirada biomassa para an\u00e1lises no in\u00edcio e ap\u00f3s 8 dias (final), igualmente armazenada a  $-40^\circ\text{C}$  at\u00e9 a liofiliza\u00e7\u00e3o. A intensidade da luz azul utilizada em 4 dos tratamentos foi de  $60 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . J\u00e1 a intensidade da luz branca, aplicada nos 8 tratamentos, foi de  $210 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Tabela 2; Figura 11B). O fotoper\u00edodo deste experimento foi de 12 h.

Durante o tempo do experimento, cada frasco foi movimentado dentro do mesmo ambiente de tratamento a cada dia, com o fim de randomizar as amostras e homogeneizar a quantidade de radia\u00e7\u00e3o recebida. No decorrer da exposi\u00e7\u00e3o dos tratamentos, foram monitorados frequentemente os par\u00e2metros f\u00edsico-qu\u00edmicos do meio de cultura, alcan\u00e7ando m\u00e9dia de temperatura de  $15 \pm 2^\circ\text{C}$ , m\u00e9dia de pH de  $8,64 \pm 0,01$ , e m\u00e9dia de salinidade de  $42 \pm 1$ .

**Figura 8** – Infraestrutura dos experimentos executados nesta dissertação. **A.** Recipientes contendo espécimes de *P. acanthophora* em exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de UV. **B.** Espécimes de *N. leucosticta* em exposição a diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de UV.



## 2.4 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

### 2.4.1 Taxa de Crescimento

Para determinar as taxas de crescimento em ambas as espécies, a biomassa fresca foi pesada antes de iniciar a exposição aos tratamentos e distribuída uniformemente em todos os frascos. Após o período experimental, foi obtido o peso final, o que permitiu o cálculo da taxa de crescimento usando a fórmula:

$$TC (\% \text{ dia}^{-1}) = [(Pt/Pi)^{1/t} - 1] \times 100$$

onde Pi = Peso da biomassa fresca inicial, Pt = Peso da biomassa fresca após 4, 5 ou 8 dias de exposição e t = intervalo experimental em dias.

No caso de *P. acanthophora* a biomassa inicial foi aproximadamente de 1 grama. O peso foi registrado durante a exposição à radiação de estudo, nos tempos 0 e 5 dias. Já para *N. leucosticta*, a biomassa inicial foi aproximadamente 2,2 gramas. O peso foi registrado durante a exposição à radiação de estudo, nos tempos 0, 4 e 8 dias. Após 4 dias, os pesos em cada frasco foram novamente homogeneizados, deixando (aproximadamente 2 gramas) da biomassa fresca em cada frasco, e o peso ganho em cada replicação foi congelado para análises posteriores, sendo identificadas essas amostras como dia 4. As diferenças entre a quantidade de biomassa usada para cada experimento, foi motivada pela diferença na quantidade de biomassa disponível no momento das respectivas coletas.

### 2.4.2 Atividade fotossintetizante a partir da fluorescência da clorofila *a*

A atividade fotossintetizante das algas foi acompanhada durante os experimentos por meio da análise da fluorescência da clorofila *a in vivo*, que permite uma visão detalhada do desempenho do aparato fotossintético que ocorre no fotossistema II (PSII). É uma das vias pelas quais o aparato fotossintético direciona a energia luminosa absorvida, as outras duas vias principais correspondem à produção de calor e à fotoquímica. A fotoquímica é usada no anabolismo de algas (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

É importante saber que medidas de fluorescência permitem informações da fase fotoquímica de fotossíntese, uma vez que exclui informações da respiração e a fixação de carbono. Além disso, o método de fluorescência é uma ferramenta para avaliar não só o estado fotossintético, mas também para identificar alterações fisiológicas e ambientais em algas. Essa técnica também permite a identificação dos rendimentos quânticos, da capacidade fotossintética, da taxa de transporte de elétrons e da dissipação de energia na forma de calor (BONOMI-BARUFI, 2010; MAXWELL; JOHNSON, 2000; SCHREIBER; SCHLIWA; BILGER, 1986).

A emissão de fluorescência da clorofila *a* foi medida com fluorômetros de pulso de amplitude modulada (PAM). No caso de *P. acanthophora* foi utilizado o Junior-PAM, enquanto para *N. leucosticta* foi utilizado o Mini-PAM II. Os fluorômetros conseguem detectar a fluorescência quando os centros de reação estão abertos e em estado estacionário, o que é conhecido como  $F_0$  ou nível basal do desempenho fluorescente. Em seguida, é aplicado um pulso de saturação de luz actínica e, neste momento é medido o desempenho fluorescente máximo conhecido como  $F_m$ , onde os centros de reação são fechados. Com ambas as medidas é possível obter a fluorescência variável  $F_v$ , encontrada a partir da diferença entre  $F_m - F_0$ , que está relacionada com  $F_m$  e sua relação  $F_v/F_m$  é conhecida como rendimento quântico máximo e indica o estado fisiológico das espécies de algas. Para as espécies em estudo, o  $F_v/F_m$  foi medido na fase escura dos experimentos, durante a noite experimental. Em ambos os casos foram aplicados três pulsos de saturação por frasco. No caso de *P. acanthophora*, este parâmetro foi medido todos os dias, após 9 horas de escuridão durante a exposição aos tratamentos. Para *N. leucosticta*, o  $F_v/F_m$  foi monitorado a cada dois dias, totalizando 8 medidas, cada medição feita após 8 horas de escuridão (FIGUEROA; ALVAREZ, 2003).

Após as medidas nos talos de  $F_v/F_m$  (medição no período escuro dos tratamentos, 12 horas), as luzes de tratamento foram acesas (período de luz dos tratamentos, 12 horas). Antes de realizar a medição de outros parâmetros a partir da fluorescência, esperaram-se algumas horas, para garantir um período de aclimatação dos talos ao período de luz. Neste caso, o fluorômetro detecta a medição do  $F_t$  (fluorescência das amostras sob iluminação), e após o pulso de saturação da luz nos centros de reação reduzidos, a fluorescência máxima sob condições de iluminação é obtida ( $F_m'$ ). Assim, a variação da fluorescência se calcula pela diferença entre  $F_m' - F_t = \Delta F$ , que quando relacionado a  $F_m'$  indica o rendimento quântico efetivo  $Y(II) = \Delta F/F_m'$ . O  $Y(II)$  em *P. acanthophora* foi mesurado todos os dias, após 3 horas de acendimento das luzes dos

tratamentos, submetendo-se a três pulsos de saturação por frasco. Da mesma forma, em *N. leucosticta*, foram executados 3 pulsos de saturação por frasco, no entanto, o Y (II) foi medido 4 horas após as luzes serem acesas (BAKER, 2008).

Após a energia absorvida ser recebida pelo complexo coletor de luz (LCH), uma cascata de elétrons envolvidos nas reações utilizadas no anabolismo das algas é gerada (GRZYMSKI; JOHNSEN; SAKSHAUG, 1997). Em ambos os experimentos, foi calculada a taxa de transporte de elétrons *in situ* (com as medidas de Y(II) em um momento determinado), conforme a equação:

$$ETR = Y(II) \cdot E \cdot A \cdot FII \text{ (}\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{)}$$

onde, Y(II) = rendimento efetivo, (E) = irradiância PAR incidente, A = Absortância, FII = Fração de clorofila associada ao Fotosistema II (PSII), que é estimada em (0,15) para algas foliáceas vermelhas (FIGUEROA; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ; KORBEE, 2014; GRZYMSKI; JOHNSEN; SAKSHAUG, 1997).

Para *P. acanthophora* o ETR *in situ* foi calculado, com os valores de Y (II) medidos todos os dias de exposição aos tratamentos, com a irradiância refletida nos talos e a absorvância medida com o quantômetro LI-COR LI 500. Já para *N. leucosticta* o ETR foi calculado *in situ*, também com valores de Y(II) medidos a cada dois dias. O ETR máximo também foi calculado só para *N. leucosticta*, com base nos dados obtidos na absorvância dos talos, que foi medida por meio de um espectrofotômetro visível e as curvas rápidas de luz (RLC) que relacionam os valores de Y (II) com o aumento da irradiância incidente nos talos. Para as medições das curvas rápidas de luz, foi utilizado o Mini-PAM e antes das medidas de Y(II), os talos foram deixados no escuro por 15 minutos, garantindo o fechamento dos centros de reação, antes de iniciar a exposição a irradiâncias crescentes com a luz actínia.

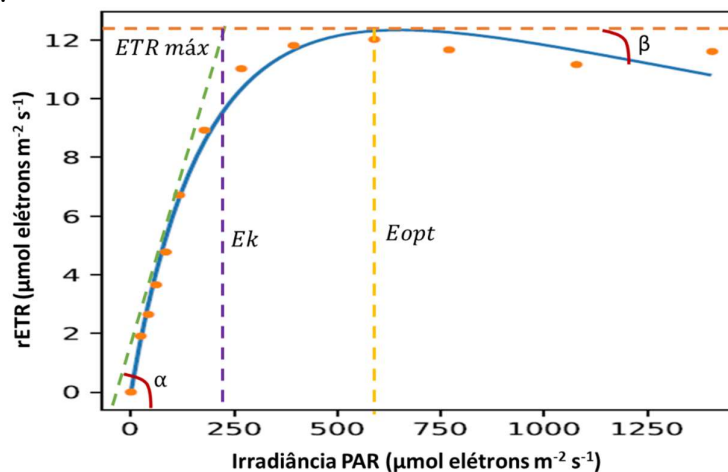
Os dados obtidos na RLC forneceram uma curva de taxa de transporte de elétrons (ETR, calculada conforme acima) vs. irradiância PAR crescente (E), que foi ajustada de acordo com o modelo matemático (polinomial) de Eilers e Peters (1988), plotados na Figura 12. A partir deste ajuste são obtidos parâmetros fotossintéticos, como taxa máxima de transporte de elétrons (ETR<sub>máx</sub>), eficiência fotossintética ( $\alpha$ ), irradiância de saturação (E<sub>k</sub>), irradiância ótima (E<sub>opt</sub>) e parâmetro de fotoinibição ( $\beta$ ), representados nas seguintes equações:

$$F = \frac{E}{aE^2 + bE + c} \quad ETR_{max} = \frac{1}{b + 2\sqrt{ac}} \quad Ek = \frac{c}{b + 2\sqrt{ac}} \quad \alpha ETR = \frac{1}{c}$$

$$a = \frac{1}{\alpha E_{opt}^2} \quad b = \frac{1}{ETR_{max}} - \frac{1}{\alpha E_{opt}} \quad c = \frac{1}{\alpha}$$

Onde a, b, c são dados obtidos do ajuste matemático da curva ETR vs. PAR absorvido. ETR<sub>máx</sub>= Taxa fotossintética máxima, Ek= irradiância de saturação, α= eficiência fotossintética, Eopt= irradiância ótima e β= parâmetro de fotoinibição (EILERS; PEETERS, 1988).

**Figura 12** – Exemplo de curva de taxa de transporte de elétrons relativa vs irradiância PAR crescente, a partir da curva rápida de luz (RLC). Neste exemplo, os dados estão ajustados de acordo com o modelo matemático de Eilers e Peters (1988), onde são obtidos parâmetros fotossintéticos, como taxa máxima de transporte de elétrons (ETR máx.), eficiência fotossintética (α), irradiância de saturação (Ek), irradiância ótima (Eopt) e parâmetro de fotoinibição (β).



Fonte: Própria criação (2021)

## 2.5 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

A biomassa obtida nos tempos 0 e 5 em *P. acanthophora* e nos tempos 0, 4 e 8 em *N. leucosticta* foi inicialmente congelada e depois, liofilizada. As amostras liofilizadas foram destinadas para as análises de compostos UV absorventes, pigmentos fotossintetizantes e,

capacidade antioxidante. No caso das análises de proteínas solúveis totais, carboidratos e compostos fenólicos, apenas amostras de *N. leucosticta* foram utilizadas. Os protocolos de análise de cada composto são descritos nos itens a seguir:

### 2.5.1 Espectros de absorção e quantificação dos pigmentos fotossintetizantes

A biomassa liofilizada das algas foi utilizada para extração de pigmentos. Esse extrato foi obtido com dois diferentes tipos de solventes. No caso das ficobiliproteínas determinadas para *N. leucosticta*, foi obtido um extrato aquoso. Assim, 20 mg de biomassa liofilizada foram pesados em endorff de 2 mL e diluídos em 1 mL de H<sub>2</sub>O. A solução de extrato foi submetida a ruptura mecânica do tecido celular com ultra-turrax Ika, e logo deixada por 12 h no escuro a 4°C. No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas (3500 rpm por 5 min). O sobrenadante foi separado para a execução de varredura em espectrofotômetro (UVMini-1240), entre 290 e 400 nm (considerando a fração associada com a radiação UV) e entre 400 nm e 750 nm considerando os componentes que absorvem na porção visível do espectro. Os dados dos espectros foram utilizados para a quantificação de ficobiliproteínas de acordo com (BERMEJO ROMÁN et al., 2002), conforme as seguintes equações:

$$Ficoeritrina (FE) = [(Abs\ 564 - Abs\ 592) - (Abs\ 455 - Abs\ 592)0,20]0,12$$

$$Ficocianina (FC) = [(Abs\ 618 - Abs\ 645) - (Abs\ 592 - Abs\ 645)0,51]0,15$$

Para a determinação do conteúdo de clorofila *a* em *P.acanthophora* e *N.leucosticta*, foi seguido o procedimento conforme (SU et al., 2010). As amostras foram extraídas em acetona 90% da seguinte maneira: 20 mg de biomassa liofilizada foram diluídos em 1 mL de acetona 90%, a solução de extração foi submetida a ruptura mecânica do tecido celular com ultra-turrax Ika, e logo deixada por 12 h no escuro a 4°C. Em seguida, depois da centrifugação (3500 rpm por 10 min), foi feita a varredura dos sobrenadantes em espectrofotometro UVMini-1240 entre 320 e 750 nm. Os dados adquiridos dos espectros foram usados para determinar a concentração de Chl *a*, de acordo com a seguinte equação:

$$Chl\ a = (Abs\ 664 - Abs\ 750)12,7$$

### 2.5.2 Compostos absorvedores de UVR

Para a determinação dos compostos absorventes de UV, foi utilizado o mesmo extrato aquoso e sobrenadante de Ficobiliproteínas, cuja obtenção foi explicada no item 2.5.1 (VEGA et al., 2020). Assim, foi feita a varredura da absorção desse extrato na região entre 290-400nm, usando um espectrofotômetro UVMini-1240. Posteriormente, foi realizada uma análise comparativa entre as absorbâncias máximas de cada tratamento.

### 2.5.3 Compostos Fenólicos Totais

O método fotocolorimétrico de Folin-Ciocalteu ((FOLIN; CIOCALTEAU, 1927)) foi usado para determinar os compostos fenólicos das amostras após 8 dias de *N. leucosticta*. 20 mg de biomassa liofilizada foram pesados e adicionados em 1mL de 80% de MetOH. Em seguida, as amostras, foram submetidas à ruptura mecânica do tecido celular com ultra-turrax Ika e deixados por 12h no escuro a 4°C. Posteriormente, o extrato obtido foi centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante utilizado para a determinação dos compostos fenólicos.

Uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anidro a 20% foi preparada e o reagente Folin Ciocalteu foi usado (armazenado a 4°C). Após, as seguintes proporções foram preparadas para a medição das amostras: 1400 µL H<sub>2</sub>O, 100 µL de reagente de Folin-Ciocalteu, 300 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% e 200 µL de amostra. A reação após essa mistura se deu por 2 horas no escuro a 4°C, e em seguida, mediu-se a absorbância da mistura inicial, sem conter a amostra, que corresponde à absorbância do branco, posteriormente mediram-se as amostras de interesse. Todas as amostras foram medidas em 760 nm, com o espectrofotômetro UVMini-1240.

Uma curva padrão para fluroglucinol foi feita em concentrações finais entre (0-20) µg mL<sup>-1</sup>. A função de ajuste linear da curva padrão, o peso seco da amostra e o fator de dissolução foram usados para determinar o teor de compostos fenólicos, expressos em µg de equivalentes a fluroglucinol (FGE) por g de massa seca (mg FGE g<sup>-1</sup> BS).

### 2.5.4 Capacidade Antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH

A capacidade antioxidante foi determinada através de métodos espectrofotométricos como ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)), e DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), que são baseados em reações por transferência de um átomo de hidrogênio.



De acordo com a metodologia de reação ABTS<sup>+</sup> de Re et al. (RE et al., 1999), foi avaliada a capacidade antioxidante nas amostras nos dias 0 e 5 para *P. acanthophora*, e nos dias 0, 4 e 8 para *N. leucosticta*. Iniciou-se com 20 mg de amostras liofilizadas, adicionando 1 mL de tampão fosfato (50mM, pH 7). Em seguida, as amostras com tampão foram submetidas à ruptura mecânica do tecido celular com ultra-turrax Ika, e permaneceram 12 h no escuro a 4°C. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi utilizado para determinação da capacidade antioxidante.

Foi preparada uma solução de ABTS<sup>+</sup> em tampão fosfato na concentração de 7mM e persulfato de potássio em 2,45mM. Esta solução foi mantida no escuro à temperatura ambiente durante 12 horas. A reação foi realizada em cubetas plásticas de 2 mL, nas proporções a seguir: 940 µL de tampão fosfato, 10 µL de solução ABTS<sup>+</sup> e 50 µL de amostra. Em seguida, foi medida a absorbância da mistura inicial, sem conter a amostra, que corresponde à absorbância do branco. Posteriormente, as amostras de interesse foram medidas imediatamente depois da mistura, o qual equivale à absorbância inicial (da amostra) e após 8 minutos de reação a amostra foi lida novamente, o que corresponde à absorbância final (da amostra). Todas as amostras foram medidas em 727 nm, usando um espectrofotômetro UVMINI-1240.

De acordo com a metodologia DPPH de Brand-Williams et al. (BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995), se estimou a capacidade antioxidante de extratos de *N. leucosticta*. O protocolo se iniciou com 20 mg de amostras liofilizadas, adicionando 1 mL de MetOH a 80%. Essas amostras com metanol foram submetidas à ruptura mecânica do tecido celular com ultra-turrax Ika, e permaneceram em extração por 12h no escuro a 4°C. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi utilizado para determinação da capacidade antioxidante.

Foi preparada uma solução de DPPH 1 mM em MetOH a 80%. Em seguida, as seguintes soluções foram preparadas para a reação das amostras: 950 µL de Solução DPPH 1mM e 50 µL de amostra.

Foi medida a absorbância da mistura inicial, sem conter a amostra, que corresponde à absorbância do branco. Depois, as amostras de interesse foram lidas em dois tempos, imediatamente após a mistura e após 30 minutos de reação com a solução de DPPH. Todas as amostras foram lidas em 517 nm, usando um espectrofotômetro UVMINI-1240.

Para ambas as metodologias (ABTS e DPPH), uma curva padrão do antioxidante Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) 1mM foi realizada em concentrações finais entre (0-30)  $\mu\text{M}$ .

O cálculo da capacidade antioxidante foi semelhante para  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  e DPPH em porcentagem de Inibição (I%). A fórmula utilizada para a capacidade antioxidante é:

$$\text{I\%} = ((\text{Abs inicial} - \text{Abs final}) / (\text{Abs inicial})) * 100$$

Posteriormente, a função de ajuste linear da curva padrão, o peso seco da amostra, e o fator de dissolução foram usados para calcular os resultados finais, expressos em  $\mu\text{g}$  de equivalente de Trolox (TE) por g de massa seca ( $\mu\text{g TE g}^{-1} \text{BS}$ ).

### 2.5.5 Proteínas Solúveis

O método de Bradford et al. (BRADFORD, 1976) foi usado para determinar a quantificação em proteínas solúveis de *N. leucosticta*. Foram pesados 20 mg de biomassa liofilizada, as quais foram submetidas a ruptura mecânica do tecido celular com ultra-turrax Ika, e adicionadas em 1 mL de tampão fosfato (50mM, pH 7) para cada amostra, deixada por 12h no escuro a 4°C. Posteriormente, amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi utilizado para a determinação das proteínas solúveis. Em seguida, as seguintes soluções foram preparadas e misturadas para a reação das amostras: 780  $\mu\text{L}$  de Tampão Fosfato 50 mM pH 7, 200  $\mu\text{L}$  de Reagente Biorad e 20  $\mu\text{L}$  de amostra.

A mistura da reação ficou no escuro por 15 minutos, e em seguida foi medida a absorbância da mistura sem conter a amostra, que corresponde à absorbância do branco, posteriormente foram mensuradas as amostras de interesse. Todas as amostras foram medidas em 595 nm.

Uma curva padrão para albumina bovina (AB) foi feita em concentrações finais entre (0-20)  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A função de ajuste linear da curva padrão, o peso seco da amostra e o fator de dissolução foram usados para calcular o teor de proteínas solúveis em  $\mu\text{g}$  de AB por g de massa seca ( $\mu\text{gAB g}^{-1}\text{BS}$ ).

### 2.5.6 Carboidratos

Os Carboidratos Totais de *N.leucosticta* foram determinados a partir da metodologia de Dubois et al. (DUBOIS et al., 1951). Foram pesados 5 mg de biomassa liofilizada, e adicionado em 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1M) para cada amostra em tubos de vidro. As amostras, foram agitadas em vórtex por 3-4 min em temperatura ambiente, em seguida 4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1M) foram adicionados à reação da biomassa com o ácido inicialmente adicionado, e levados a banho-maria de 100°C por 1 hora. Após este intervalo, as amostras foram retiradas do banho-maria e deixadas em repouso em temperatura ambiente, depois centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante considerado o extrato ácido de cada amostra. 1mL desse extrato ácido foi mesclado com 1 mL de fenol a 5%, a mistura permaneceu em repouso por 40 minutos e por fim, foram adicionados 5mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado entre 95-97%. Dado que a reação acima é uma reação exotérmica que libera calor e esquenta a solução, foi necessário esperar que a temperatura da solução voltasse a esfriar à temperatura ambiente, e seguidamente foi feita a leitura das absorvâncias das amostras em espectrofotômetro a 485nm.

Foi medida a absorvância da mistura inicial, sem conter a amostra, que corresponde à absorvância do branco, posteriormente foram mensuradas as amostras de interesse.

Uma curva padrão de solução de glicose (G) foi feita em concentrações finais entre (0-100) µg mL<sup>-1</sup>. A função linear de ajuste da curva padrão, o peso seco da amostra e o fator de dissolução foram usados para calcular o teor de carboidratos totais em mg de Glicose por g de massa seca (mgG g<sup>-1</sup>BS).

## 2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos em ambos os experimentos, foram processados e analisados nos softwares Statistica 7.0 (StatSoft, Inc.) e Excel 2016.

Inicialmente, foram realizadas análises estatísticas exploratórias, dentro das quais as mais relevantes foram os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e o teste de homogeneidade de variâncias entre os grupos (Brown-Forsythe). Posterior às análises exploratórias, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) de duas ou três vias, dependendo do resultado bioquímico a analisar, com o fim de verificar diferenças significativas entre as respostas à exposição dos

diferentes tratamentos.

Posteriormente, quando foram detectados efeitos significativos dos tratamentos, foi realizada a análise Post-hoc com o teste de Newman-Keuls para identificar as diferenças significativas entre os diversos fatores, com nível de significância de  $p < 0.05$ . Também foram realizadas análises de correlação de Pearson entre as variáveis respostas de cada experimento.

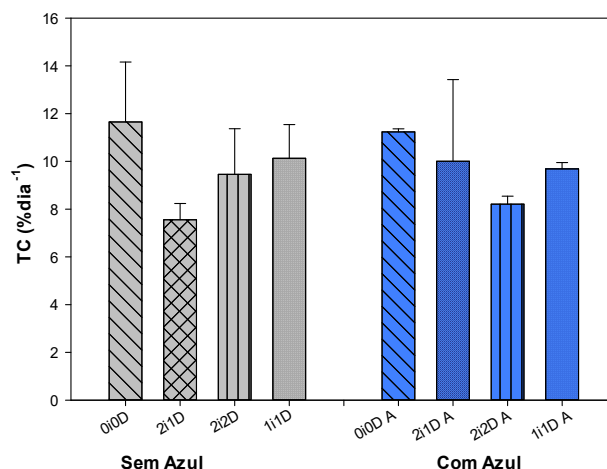
### **3 RESULTADOS**

#### *3.1 Phycocalidia acanthophora*

##### **3.1.1 Parâmetros fotossintéticos**

As taxas de crescimento de *P. acanthophora* no decorrer do experimento são apresentados na Figura 13 e os dados da ANOVA bifatorial estão na Tabela 3. Não foram encontrados efeitos significativos nem do fator do tipo de tratamento com radiação UV e tampouco pelo incremento ou não da luz azul (Tabela 3). Assim, os talos cresceram de forma similar, atingindo uma média de crescimento de  $9,74\% \text{ dia}^{-1}$  (Figura 13).

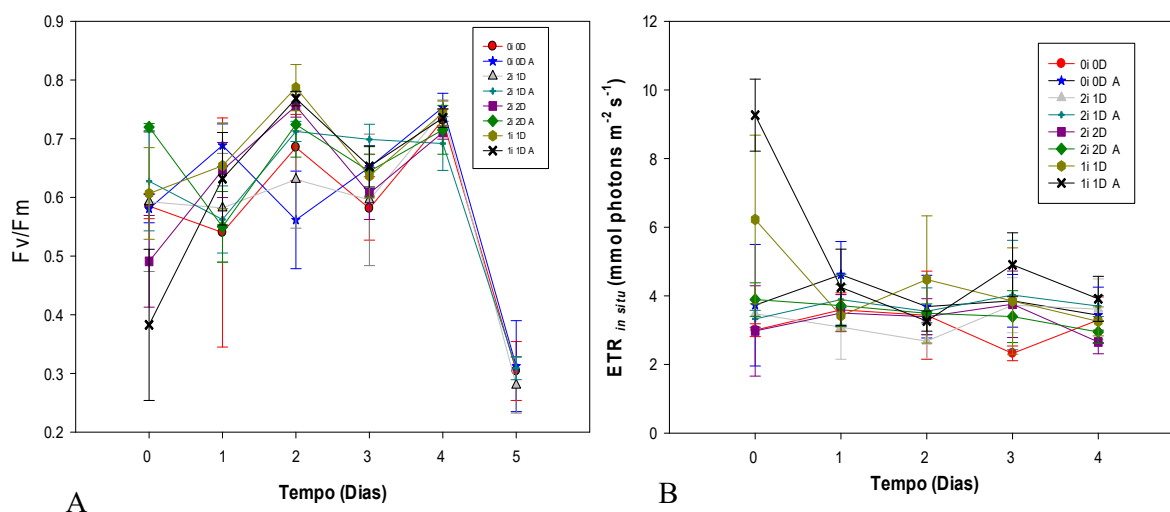
**Figura 13**-Taxa de crescimento de *P. acanthophora* após 5 dias na exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y à porcentagem de taxa de crescimento (%dia<sup>-1</sup>), no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem incremento à luz azul, enquanto as barras azuis os tratamentos expostos a incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; |||| 2i2D; ■ 1i1D). As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3



Os dados de rendimento quântico máximo (Fv/Fm) e as taxas de transporte de elétrons (ETR) de *P. acanthophora* durante o experimento são apresentados na Figura 14. Foi observado um incremento no Fv/Fm nos primeiros três dias do experimento, no entanto após o terceiro dia se observa um comportamento mais instável e no último dia foi observada uma redução dos valores de Fv/Fm em todos os tratamentos (Figura 14A).

O ETR *in situ* foi estável durante a exposição dos tratamentos. Só se percebeu que os talos expostos a 1 dose e 1 intensidade (1i1D) apresentaram ETR superior aos demais tratamentos no início do experimento. No entanto, após 1 dia, os dados de ETR já estavam similares entre todos os tratamentos (Figura 14B). Após obter a sexta medição de Fv/Fm, decidiu-se parar o experimento, devido ao estado de dano dos talos e a resposta negativa no rendimento quântico no último dia da exposição. Por essa razão, os dados de ETR foram obtidos apenas até o quarto dia (Figura 14B), sem obter uma grande influência sobre a intensidade do transporte de elétrons na cadeia fotossintética.

**Figura 14-** Monitoramento das respostas fotossintetizantes de *P. acanthophora* durante o experimento. **A.** Rendimento quântico máximo (Fv/Fm) durante 5 dias de exposição dos talos aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y o Fv/Fm, e no eixo x os dias no qual foi medido. As barras sobre cada ponto correspondem ao desvio padrão. **B.** Taxa de transporte de elétrons in situ no decorrer do tempo na exposição dos talos aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y o ETR in situ, e no eixo x os dias no qual foi medido. As barras sobre cada ponto correspondem ao desvio padrão. N=3

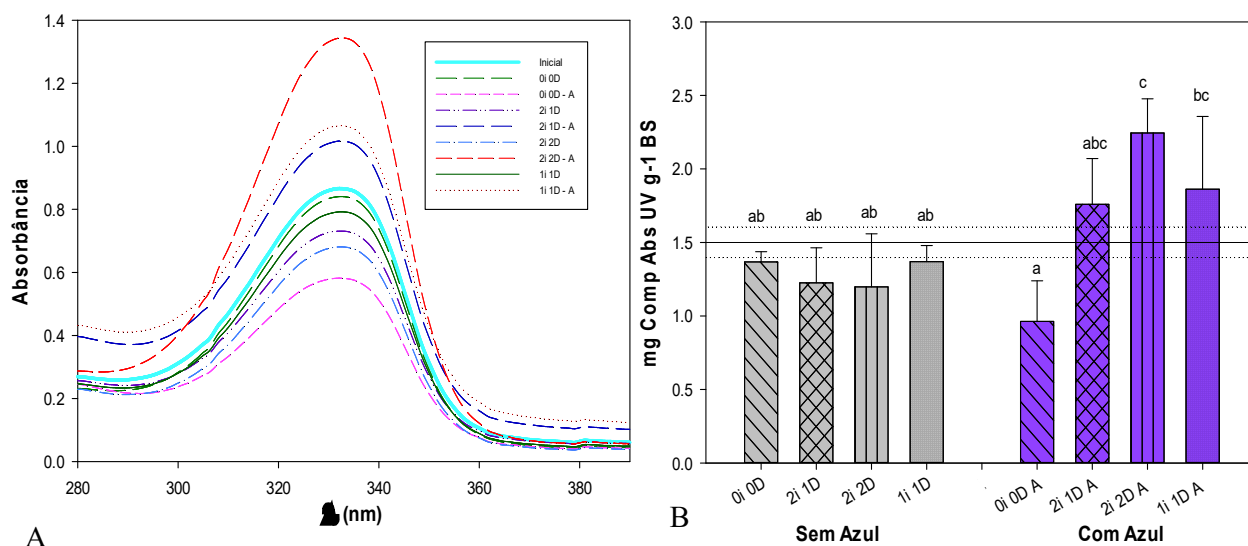


### 3.1.2 Parâmetros bioquímicos

O espectro de absorção de extrato aquosos de *P. acanthophora* nos comprimentos de onda UV-visível 280-400 nm e o acúmulo de compostos absorventes UV em *P. acanthophora* no experimento são apresentados na Figura 15. O espectro indica bandas de absorção similar para todos os tratamentos, com um máximo de absorção em 334 nm aproximadamente (Figura 15A). Comparando com o espectro de absorção inicial, os tratamentos 2i1D-A, 2i2D-A e 1i1D-A, apresentam um incremento na absorbância das bandas, enquanto o tratamento 0i0D-A, mostra a absorção mais baixa dos tratamentos. Em concordância, se observa uma diferença estatisticamente significativa entre a capacidade de absorção dos talos expostos com tratamentos de incremento de luz azul e também aqueles que estiveram submetidos em tratamentos com radiação UV (Tabela 3). Os tratamentos com incremento de luz azul apresentam um maior acúmulo de compostos UV absorventes, exceto o tratamento 0i0D-A. Aqueles tratamentos sem incremento de luz azul, apresentam um acúmulo similar de compostos

UV absorventes e não se apresenta uma diferença significativa entre eles (Figura 15B). Assim, o grupo de tratamentos sem incremento de azul apresentou quantidades similares de compostos absorventes de UV quando comparados com a amostra inicial, enquanto os tratamentos com incremento de azul mostraram maior acúmulo de compostos UV absorventes quando comparados com a amostra inicial (Figura 15B). Analisando os dados agrupados, considerando apenas os tratamentos com diferentes doses e intensidades de radiação UV, observa-se que o tratamento exposto a 2i2D-A, indicou maior acúmulo de compostos UV absorventes (Figura 15B). Em geral, o acúmulo de compostos absorvedores de UV foi estimulado pelo efeito cruzado do incremento da luz azul, com as diferentes intensidades e radiação UV.

**Figura 15-** Acúmulo de Compostos UV Absorventes de *P. acanthophora* após da exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de UVR. **A.** Espectro de absorção de 280-400 nm de extratos aquosos ao início e após a exposição das algas as diferentes irradiâncias. No eixo y a absorbância, e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). **B.** Dados agrupados considerando o efeito significativo dos tratamentos de PAR, incremento de luz azul e radiação UV, após 5 dias de exposição aos diferentes tratamentos. No eixo y a absorbância máxima a 334 nm, e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem exposição ao incremento de luz azul, enquanto as barras roxas os tratamentos expostos a incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; ▪ 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde à absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3

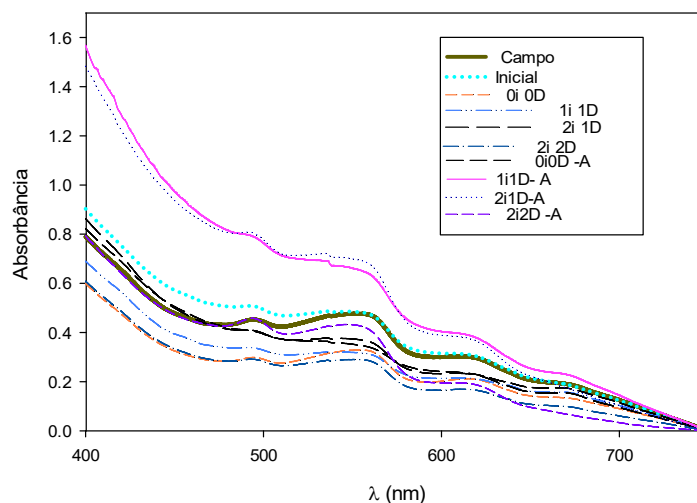


Os espectros de absorção de ficobiliproteínas presentes no extrato aquoso de *P. acanthophora* nos comprimentos de onda visível 400-750 nm são apresentados na Figura 16. O espectro indica bandas de absorção com padrão similar para todos os tratamentos. As bandas apresentam diferentes picos e em geral todos os tratamentos e as amostras de campo e inicial tem o mesmo perfil de absorção dos diferentes comprimentos de onda (Figura 16). A absorção da amostra inicial é similar a absorção da amostra de campo, porém apresenta um pequeno incremento na absorção entre 430-530 nm. Além disso, fazendo uma comparação da absorção inicial e de campo com as absorções por tratamento, é possível observar que os talo submetidos



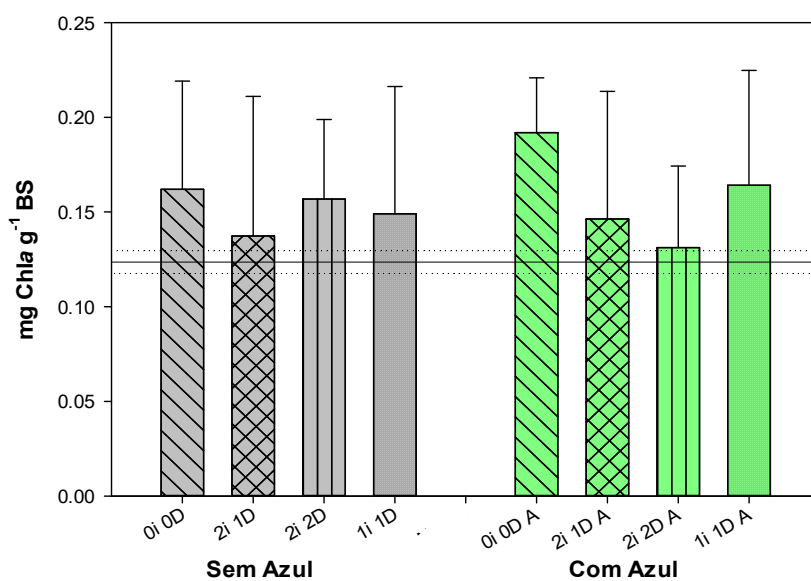
aos tratamentos com radiação UV de 1i1D-A e 2i1D-A, apresentam uma absorção maior, enquanto o tratamento 2i2D apresenta a menor absorção de todos os tratamentos. No entanto não foi possível executar a quantificação de ficobiliproteínas em *P. acanthophora* devido à obtenção de resultados negativos tanto para ficoeritrinas, como para a quantificação de ficocianinas.

**Figura 16-** Espectro de Absorção de 400-750 nm de amostra inicial e de campo de *P. acanthophora* e as amostras coletadas por cada tratamento após a exposição de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a absorbância, e no eixo x os comprimentos de onda em nm (ver Tabela 2).



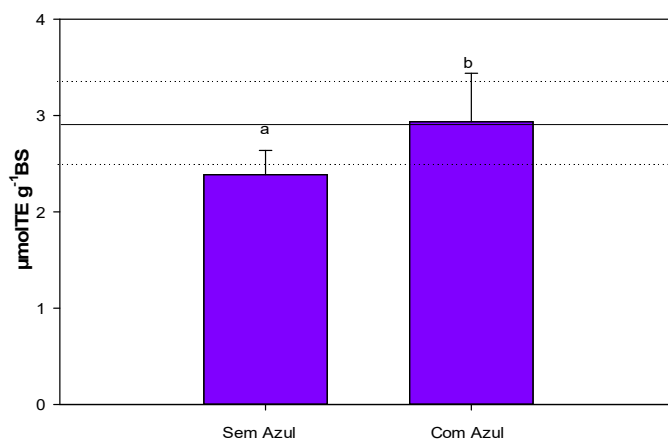
Os conteúdos de Clorofila *a* nos talos de *P. acanthophora* são apresentados na Figura 17. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 3). No entanto, é possível verificar que todos os tratamentos tiveram um incremento de conteúdo de clorofila *a* comparado com o conteúdo da amostra inicial. Em geral, os pigmentos fotossintetizantes não apresentaram variações decorrentes da exposição às diferentes radiações dos tratamentos.

**Figura 17-**Conteúdo de clorofila a em *P. acanthophora* após 5 dias na exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a concentração da clorofila a (mg Chla g<sup>-1</sup> BS), e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem incremento de luz azul, enquanto as barras verdes os tratamentos expostos a incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; ▪ 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3



Os resultados da capacidade antioxidante dos extratos de *P. acanthophora* mensurada pelo método ABTS são apresentados na Figura 18. Foi observado um efeito significativo do fator do incremento de luz azul na resposta ao método ABTS (Tabela 3). Os tratamentos que apresentaram um pouco mais de capacidade antioxidante são aqueles com incremento de luz azul ( $2.94 \pm 0.50 \mu\text{molTE g}^{-1}\text{BS}$ , Figura 18). Em geral, os tratamentos não geraram um alto incremento da capacidade antioxidante, em comparação com a amostra inicial.

**Figura 18**-Capacidade antioxidante por método ABTS de extratos de *P. acanthophora* após 5 dias de exposição aos diferentes tratamentos compostos por PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. Os dados apresentados estão agrupados considerando os efeitos significativos causados pelo incremento ou não da luz azul. No eixo y a capacidade antioxidante ( $\mu\text{molTE g}^{-1}\text{BS}$ ), no eixo x os tratamentos agrupados de acordo ao incremento ou não da luz azul. A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3



As variáveis dependentes de *P. acanthophora* foram analisadas por correlação de Pearson e os dados resultantes são apresentados na Tabela 4. As diferentes variáveis dependentes não apresentaram correlação significativa entre elas.

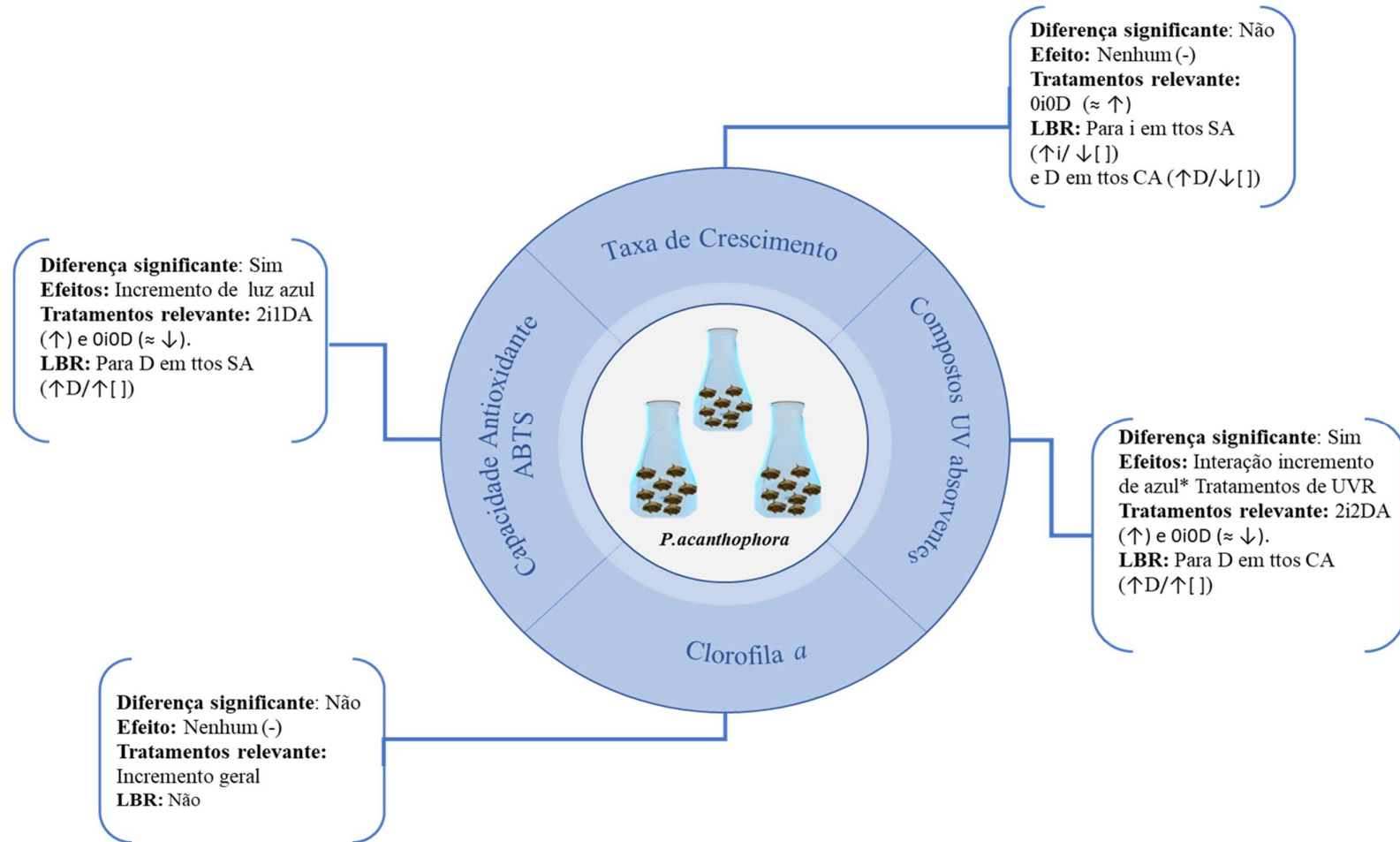
**Tabela 3** – Resultados das ANOVA bifatorial executadas para cada variável dependente de *P. acanthophora*. Com resultados de efeitos isolados das variáveis independentes (incremento de luz azul, tratamentos de radiação UV) e resultados da interação entre esses dois fatores. As seguintes variáveis dependentes foram analisadas: taxa de crescimento, absorvância máxima de compostos absorventes de radiação UV, total de clorofila *a* e capacidade antioxidante a partir do método ABTS. Os efeitos significativos do fator são apresentados com dados de F e p em negrito.

Variáveis dependente	Fontes de variação (variáveis independentes)	DF	SS	MS	F	p
<b>Taxa de Crescimento</b>	Incremento da luz azul	1	0,043	0,043	0,014	0,907
	Tratamentos de radiação UV	3	28,011	9,337	3,073	0,058
	Incremento da luz azul * Tratamentos de radiação UV	3	11,837	3,946	1,299	0,309
	Residual	16	48,611	3,038		
<b>Compostos Absorventes UV</b>	<b>Incremento da luz azul</b>	<b>1</b>	<b>1,043</b>	<b>1,043</b>	<b>12,431</b>	<b>0,003</b>
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>1,048</b>	<b>0,349</b>	<b>4,1332</b>	<b>0,024</b>
	<b>Incremento da luz azul * Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>1,636</b>	<b>0,545</b>	<b>6,4557</b>	<b>0,004</b>
	Residual	16	1,352	0,084		
<b>Clorofila a</b>	Incremento da luz azul	1	1,336	1,336	0,177	0,679
	Tratamentos de radiação UV	3	13,816	4,605	0,612	0,617
	Incremento da luz azul * Tratamentos de radiação UV	3	8,804	2,935	0,39	0,762
	Residual	16	120,438	7,527		
<b>ABTS</b>	<b>Incremento da luz azul</b>	<b>1</b>	<b>1,814</b>	<b>1,814</b>	<b>9,339</b>	<b>0,008</b>
	Tratamentos de radiação UV	3	0,313	0,104	0,537	0,663
	Incremento da luz azul * Tratamentos de radiação UV	3	0,429	0,143	0,737	0,545
	Residual	16	3,108	0,194		

**Tabela 4-** Correlação de Pearson obtidas entre as variáveis dependentes de *P. acanthophora*, após a exposição aos tratamentos com radiação UV e a presença ou não de radiação azul, N=3.

	<b>Compostos Absorventes UV</b>	<b>Clorofila <i>a</i></b>	<b>ABTS</b>
Taxa de Crescimento	-0,214	-0,383	-0,204
Compostos Absorventes UV		0,192	0,250
Clorofila <i>a</i>			0,202

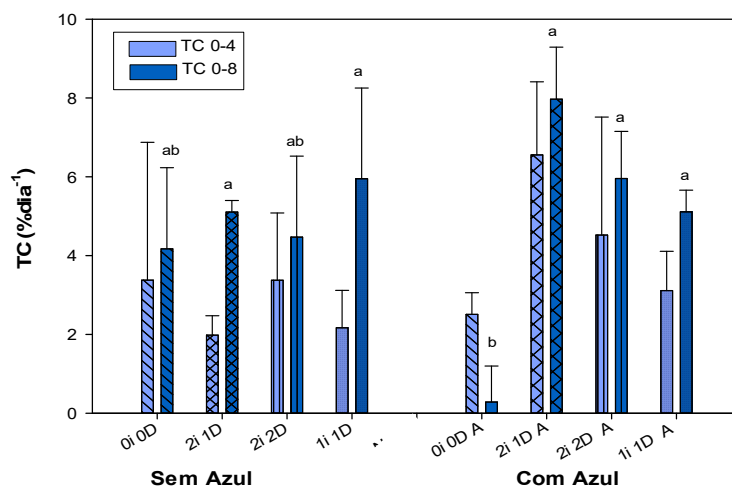
**Figura 19-** Respostas significativas das variáveis de *P. acanthophora* dentro do experimento, após a exposição às condições de radiação azul e UVR. Em relação aos valores iniciais, antes da exposição. Nenhum efeito (-), ligeiramente superior ( $\approx \uparrow$ ), Superior ( $\uparrow$ ), duas vezes superior ( $\uparrow\uparrow$ ), ligeiramente inferior ( $\approx \downarrow$ ), inferior ( $\downarrow$ ), Lei Bussen Roscoe (LBR), intensidade (i), doses (D), tratamentos (ttos), sem azul (SA), com azul (CA), concentração [], diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



### 3.2 *Neopyropia leucosticta*

As taxas de crescimento de *N. leucosticta* durante o experimento são apresentadas na Figura 20 e os resultados da ANOVA bifatorial no período dos dias 0-4 e entre os dias 0-8, são apresentados na Tabela 6. Não foram registradas variações significativas das taxas de crescimento entre o tempo 0-4 ( $p > 0,05$ , Tabela 5). Assim, nesse período, *N. leucosticta* apresentou um crescimento médio de  $3,5 \pm 1,63 \%$  dia<sup>-1</sup>. Por outro lado, as taxas de crescimento da espécie entre os tempos 0-8 apresentaram variações significativas causadas pela interação entre os tratamentos de diferentes intensidades e doses de radiação UV e o incremento de luz azul (Tabela 6). A comparação da condição UV em TC 0-8, indicou que todos os tratamentos submetidos a alguma intensidade e doses maiores do que 0, tiveram uma taxa de crescimento maior durante o experimento do que aquele tratamento com incremento de luz azul, mas não de radiação UV (Figura 20). A comparação entre a condição azul e a condição UV em TC 0-8, mostrou que o tratamento 0i0D sem radiação azul teve um crescimento significativamente superior ao tratamento 0i0D-A. A taxa de crescimento deste último foi bastante baixa comparado com os demais tratamentos. Os tratamentos 2i1D, 1i1D sem radiação azul, tiveram um crescimento similar aos demais tratamentos com presença de radiação azul, excluindo o tratamento 0i0D-A (Figura 20). Durante o experimento a *N. leucosticta*, teve uma média de crescimento entre os tempos 0-4 de 3.45% dia<sup>-1</sup> e entre os tempos 0-8 de 4.97% dia<sup>-1</sup>. Em geral os tratamentos com incremento de luz azul e UVR apresentaram uma maior taxa de crescimento, que incrementou com o tempo.

**Figura 20-** Taxa de crescimento de *N. leucosticta* analisadas entre o início e após 4 dias, e entre o início e após 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y à porcentagem de taxa de crescimento (%dia<sup>-1</sup>), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras cinzas representam os tratamentos sem incremento de luz azul, enquanto as barras azuis os tratamentos com incremento de luz azul. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ⌘ 2i1D; ||| 2i2D; ■ 1i1D). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento, considerando as taxas calculadas entre os 0-8 dias ( $p < 0,05$ ). N=3

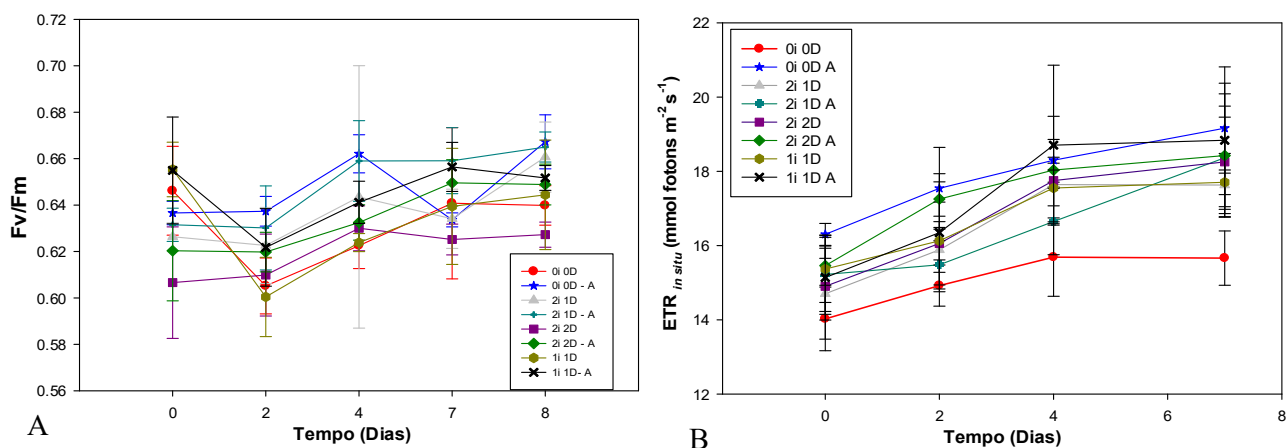


Os resultados do rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ) e taxa de transporte de elétrons *in situ* de *N. leucosticta* ao longo do tempo são apresentados na Figura 21. Os dados de  $F_v/F_m$  foram bastante homogêneos ao longo do experimento, oscilando entre 0.60-0.66 (Figura 21A). Os resultados da ANOVA para ETR é apresentada na Tabela 5. Em geral o ETR *in situ* incrementou em todos os tratamentos ao longo do experimento, com valores oscilando entre (14,7-19,2  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). O tratamento 0i0D A com incremento de luz azul foi o tratamento que obteve os maiores valores durante o experimento (ver Figura 21B). Já considerando as análises feitas a partir de dados de curvas rápidas de luz, se observou que os valores de ETR  $\text{m\u00e1x.}$ , medidos nos dias 4 e 8 foram similares e apresentaram varia\u00e7\u00f5es significativas causadas pela intera\u00e7\u00e3o do incremento de luz azul e os tratamentos de radia\u00e7\u00e3o UV (Tabela 6). Todos os tratamentos tiveram um ETR  $\text{m\u00e1x.}$  m\u00e9dio de  $8.86 \pm 1.72 \mu\text{mol de el\u00e9trons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e maior comparado com o ETR  $\text{m\u00e1x.}$  das amostras iniciais de  $4.84 \pm 1.36 \mu\text{mol de el\u00e9trons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Os tratamentos 1i1D medidos nos dias 4 e 8 apresentaram um ETR  $\text{m\u00e1x.}$



menor que os tratamentos 1i1D - A medidos nos dias 4 e 8, além os demais níveis de condição UV exibem comportamento similar no  $ETR_{\text{máx}}$ . Dessa forma os tratamentos, não apresentaram grande influência sobre o rendimento quântico e a taxa de transporte de elétrons na cadeia fotossintética.

**Figura 21-** Respostas fotossintetizantes de *N. leucosticta* ao longo de 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. **A.** Monitoramento do rendimento quântico máximo (Fv/Fm). No eixo y o Fv/Fm, e no eixo x os dias no qual foi medido. **B.** Seguimento da taxa de transporte de elétrons (ETR) in situ. No eixo y o ETR in situ, e no eixo x os dias no qual foi medido. Os dados são apresentados como média e indicam o desvio padrão. N=3

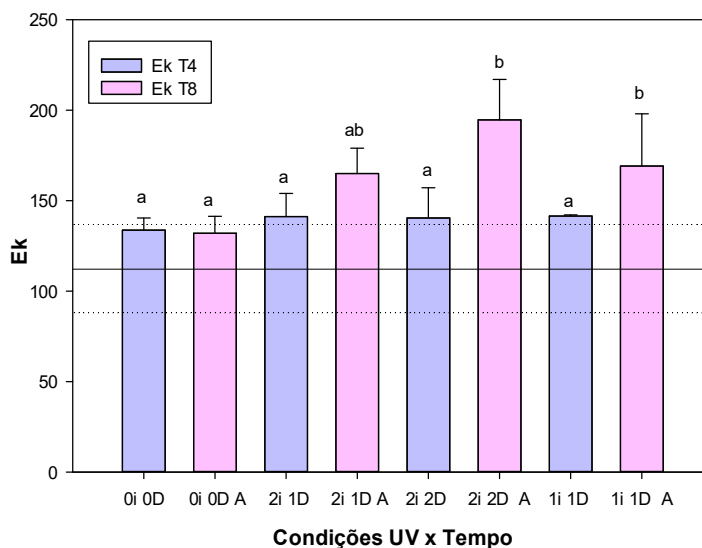


A eficiência da fotossíntese ( $\alpha$ ) de *N. leucosticta* foi influenciada pelo tempo (Tabela 5). Assim, os valores obtidos para as algas após 4 dias, apresentaram o valor médio de  $0,067 \pm 0,018$ , significativamente maiores do que os valores obtidos para as algas após 8 dias, com um valor médio de  $0,05 \pm 0,01$ .

Os dados de irradiância de saturação ( $E_k$ ) de *N. leucosticta* são apresentadas na Figura 22 e as diferenças significativas por meio da ANOVA na Tabela 5. O  $E_k$  para todos os tratamentos foi maior do que a amostra inicial ( $111.78 \pm 24 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Os tratamentos medidos no 4 dia são aproximados com um valor médio de  $139.17 \pm 14.8 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , enquanto os tratamentos medidos no dia 8, apresentaram um valor médio de  $172 \pm 18.6 \mu\text{mol}$

fotons $m^{-2} s^{-1}$ . Considerando os efeitos significativos causados pela interação dos tratamentos de radiação UV no tempo, se observa uma diferença significativa nos tratamentos com incremento de luz azul medidos no tempo 8, exceto o tratamento 0i0D-A. Os tratamentos 2i2D-A e 1i1D-A tiveram efeito similar, apresentando maiores valores de  $E_k$ . Já as amostras cultivadas nos tratamentos após 4 dias, permanecem com valores similares de irradiâncias de saturação. Em geral os tratamentos com incremento de luz azul e UVR, apresentaram influência sobre os parâmetros fotossintetizantes (eficiência da fotossíntese e irradiância de saturação) no tempo.

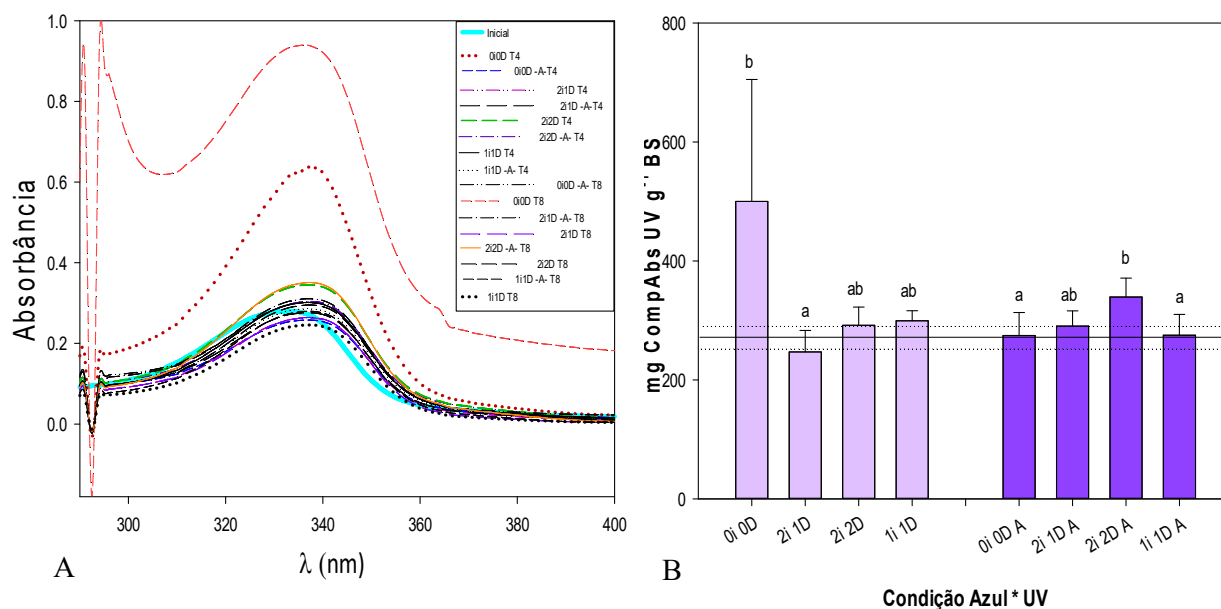
**Figura 22-** Irradiância de saturação de *N. leucosticta* após 4 dias e após 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. Os dados apresentados estão agrupados considerando os efeitos significativos causados pela interação dos tratamentos de radiação UV no tempo. No eixo y a irradiância de saturação ( $E_k$ ), no eixo x os tratamentos agrupados. As barras roxo-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, e as barras rosa indicam os tratamentos medidos no tempo 8 do experimento. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3



Os espectros de absorção dos extratos aquosos de *N. leucosticta* nos comprimentos de onda UV-visível 280-400 nm são apresentados na Figura 23A, enquanto os efeitos da radiação sob o acúmulo de compostos absorventes UV em *N. leucosticta* no experimento são

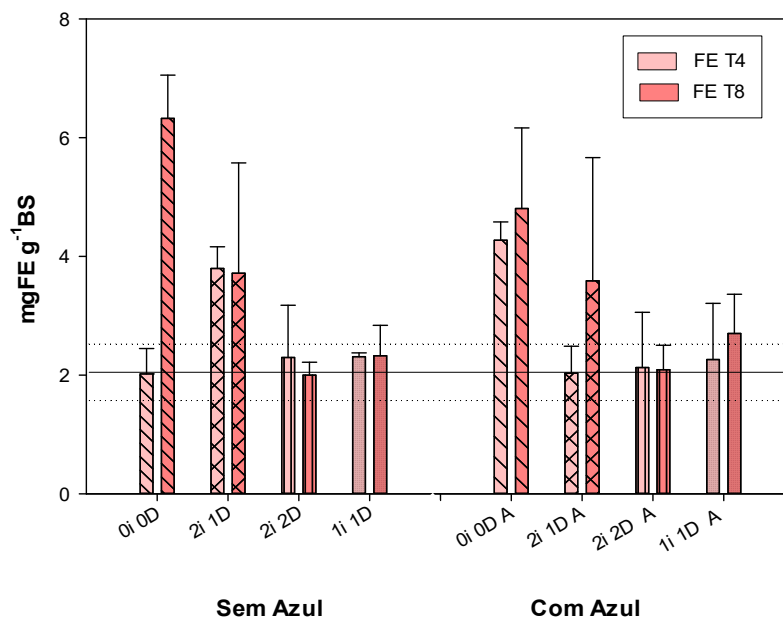
apresentados na Figura 23B. A interação entre o incremento de luz azul e os diferentes tratamentos com radiação UV apresentou efeitos significativos para causar variações nas respostas dos picos de absorção relacionados com a biomassa de *N. leucosticta* (Tabela 5). O espectro de absorção indica bandas de absorção similar para todos os tratamentos, com um máximo de absorção em 334 nm aproximadamente. O acúmulo de compostos UV absorventes no experimento foi resultado da interação entre o incremento de luz azul e os tratamentos de radiação. As amostras submetidas ao tratamento com 2i2DA apresentaram o maior teor de compostos UV absorventes, junto com o tratamento 0i0D. Em geral os tratamentos sem incremento de luz azul com um acúmulo médio de  $334,5 \pm 72$  mg de Compostos UV absorventes por g de massa seca e os tratamentos com incremento de azul com um acúmulo médio de  $279,4 \pm 28$  mg de Compostos UV absorventes por g de massa seca. Em geral os tratamentos com incremento de luz azul e UVR, apresentaram influência no acúmulo de compostos absorventes de UV.

**Figura 23-** Compostos UV absorventes em *N. leucosticta* após exposição a tratamentos com PAR, incremento de luz azul e radiação UV. **A.** Espectro de absorção de 280-400 nm de extrato aquoso da amostra inicial e das amostras coletadas por cada tratamento após de 4 dias e 8 dias a exposição de PAR, luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y a absorbância, e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). **B.** Compostos UV absorventes em *N. leucosticta* considerando os efeitos significativos causados pelo incremento de luz azul e os tratamentos com radiação UV. No eixo y mg de compostos absorventes por grama de massa seca (mg Comp Abs UV g<sup>-1</sup> BS) e no eixo x os diferentes tratamentos (ver Tabela 2). A linha horizontal sólida corresponde a absorbância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3



Os teores de ficoeritrina em *N. leucosticta* no experimento são apresentados na Figura 24 e os fatores que apresentam efeitos significativos são mostrados na Tabela 5. Percebe-se um fraco efeito da interação tripla entre os fatores analisados (tempo, incremento de luz azul e tipo de tratamento em radiação UV). Em geral houve um aumento na concentração de FE dos tratamentos após 8 dias (Figura 24).

**Figura 24-** Concentração de Ficoeritrina em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y mg de Ficoeritrina por grama de massa seca (mgFE g<sup>-1</sup>BS), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras rosas claras representam os tratamentos medidos no dia 4, enquanto as barras rosas escuras os tratamentos medidos no dia 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; ||| 2i2D; ■ 1i1D). As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3



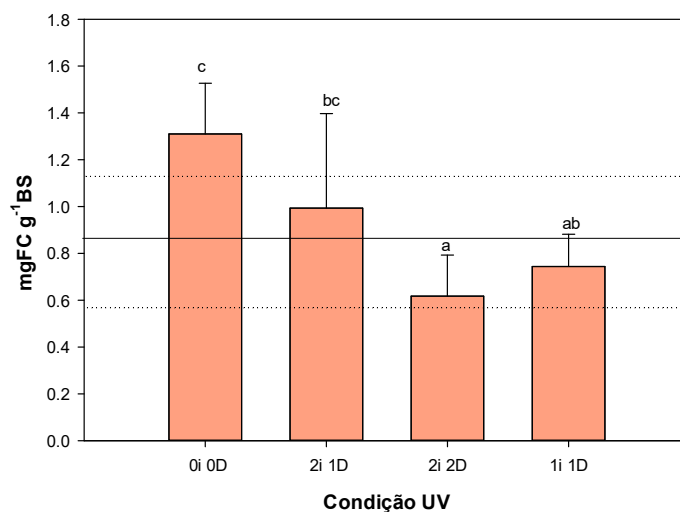
As variações nos teores de ficocianina em *N. leucosticta* no experimento são apresentadas na Figura 25. Foi possível perceber um efeito dos tratamentos de radiação UV isoladamente para causar variações nos teores de FC (Tabela 5). Dessa forma, nem o tempo, e tampouco a luz azul geraram influência sobre a acumulação de FC nos diferentes tratamentos.

As quantidades de clorofila *a* em *N. leucosticta* se mantiveram constantes ao longo do experimento, sem efeitos significativos por parte das variáveis analisadas neste estudo (Tabela 5). No entanto, todos os tratamentos apresentaram concentrações de clorofila *a* maior do que a concentração da amostra inicial ( $0,44 \pm 0,13$  mg Chl *a* g<sup>-1</sup>BS).

A concentração de compostos fenólicos totais em *N. leucosticta* medidos no tempo 8 do experimento não apresentou variação significativa causada pelos tratamentos desenvolvidos neste trabalho (Tabela 5), com um valor médio de  $2,44 \pm 0,15$  mg FGE g<sup>-1</sup>BS. Todos os tratamentos mostraram concentrações maiores de compostos fenólicos totais comparadas com

a concentração da amostra inicial ( $1,53 \pm 0,094$  mg FGE  $g^{-1}$ BS).

**Figura 25-** Concentração de Ficocianina em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. Dados agrupados considerando o efeito significativo causado pelos tratamentos de radiação UV sob a concentração de ficocianina de *N. leucosticta*. No eixo y mg de ficocianina por grama de massa seca (mgFC  $g^{-1}$ BS) e no eixo x os diferentes tratamentos de UVR (ver Tabela 2). A linha horizontal sólida corresponde a absorvância da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3

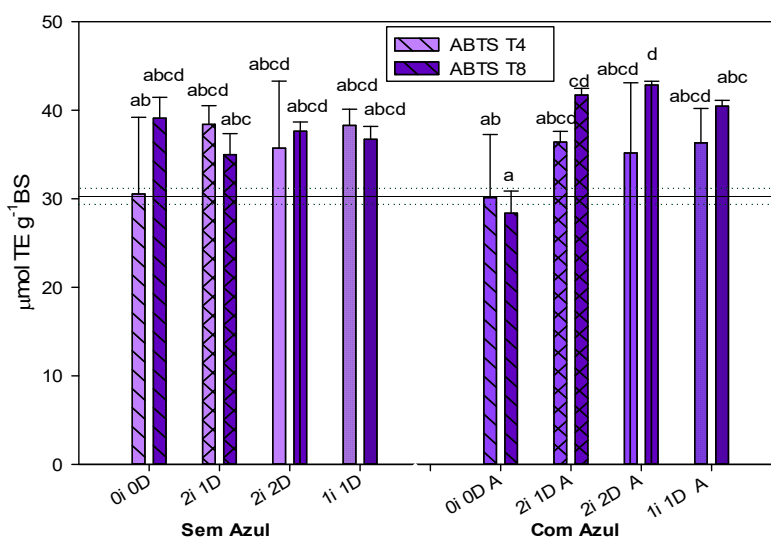


Os dados de capacidade antioxidante por método ABTS em *N. leucosticta* no experimento são apresentados na Figura 26 e os dados de diferenças significativas por meio da ANOVA na Tabela 5. Se observaram diferenças significativas causadas pela interação dos tratamentos de radiação UV, o incremento de luz azul e o tempo. A maior capacidade antioxidante de extratos de *N. leucosticta* foi detectada em algas que estavam com incremento de luz azul, após 8 dias, com 2i2D de radiação UV em comparação com as algas que não receberam radiação UV (Figura 26).

A capacidade antioxidante por método DPPH de extratos de *N. leucosticta* após o experimento não sofreu influências significativas por parte dos tratamentos executados (Tabela 5). Assim, os extratos de *N. leucosticta* apresentaram em média a capacidade antioxidante de  $60,31 \pm 7,12$   $\mu$ mol TE  $g^{-1}$  BS. De maneira geral, houve poucas variações nas respostas de

antioxidantes de *N. leucosticta* em decorrência dos tratamentos realizados neste trabalho, no entanto a capacidade antioxidante pelo método DPPH, apresentou um grande incremento geral.

**Figura 26-** Compostos antioxidantes por método ABTS em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y  $\mu\text{mol TE g}^{-1}\text{BS}$ , no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras roxas-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, enquanto as barras roxas escuro os tratamentos medidos no tempo 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; ▪ 2i2D; ▫ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3

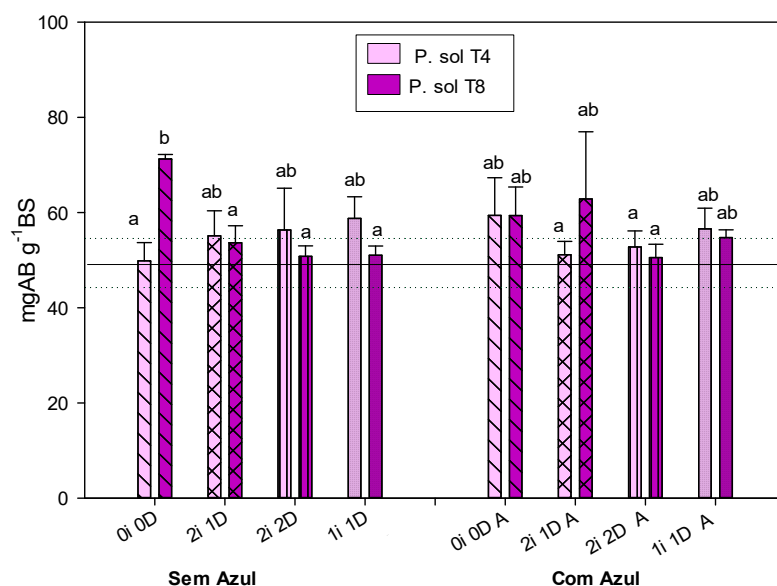


As quantidades de proteínas solúveis de *N. leucosticta* se apresentam na figura 27. Pela Tabela 5, percebe-se que houve um efeito significativo da interação entre o incremento de luz azul, os tratamentos de radiação UV e o tempo para causar variações na quantidade desses compostos em *N. leucosticta*. Entretanto, destaca-se principalmente um maior teor dessas substâncias em algas que estiveram expostas ao tratamento sem radiação UV após 8 dias, em comparação com outras condições experimentais.

O teor de carboidratos em *N. leucosticta* foi influenciado significativamente pela interação entre os tratamentos de radiação UV e o tempo (Tabela 5). Entretanto, essa

significância foi muito baixa, de modo que o teste a posteriori não detectou diferenças significativas entre as médias (Figura 28). Assim, a espécie teve um teor médio de carboidratos de  $4,06 \pm 1,84 \text{ mg G g}^{-1} \text{BS}$ .

**Figura 27-** Concentração de proteínas solúveis em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y mg de equivalente em albumina bovina por grama de massa seca ( $\text{mgAB g}^{-1} \text{BS}$ ), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras rosas-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, enquanto as barras roxas escuro os tratamentos medidos no tempo 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (▨ 0i0D; ▩ 2i1D; ▧ 2i2D; ▦ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão e as diferentes letras sobre estas linhas representam as diferenças significativas observadas entre os tratamentos do experimento ( $p < 0,05$ ). N=3



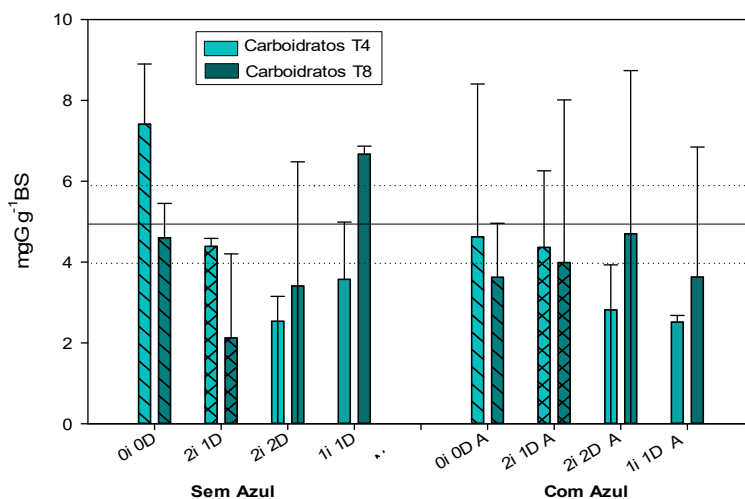
As variáveis dependentes de *N. leucosticta* foram analisadas por correlação de Pearson e os dados resultantes são expostos na Tabela 6 para variáveis medidas no dia 4 e na Tabela 7 para variáveis medidas no dia 8.

Para as variáveis medidas no dia 4, se apresentou correlação significativa e negativa entre a taxa de crescimento com os teores de ficocianina, ficoeritrina e proteínas solúveis. Por outro lado, o  $\text{ETR}_{\text{máx}}$  exibiu correlação significativa e positiva com  $\alpha$  (correlação quase perfeita), e correlação significativa negativa com  $E_k$ . Por sua vez, o  $\alpha$  apresentou correlação



significativa negativa com o Ek. Os compostos UV absorventes apresentaram correlação significativa positiva com carboidratos e correlação significativa negativa com as proteínas solúveis. A ficocianina exibiu correlação significativa positiva com a ficoeritrina e as proteínas solúveis, enquanto mostrou correlação significativa negativa com capacidade antioxidante por ABTS. A ficoeritrina apresentou correlação significativa positiva com as proteínas solúveis.

**Figura 28-** Teor de carboidratos em *N. leucosticta* após 4 e 8 dias de exposição aos diferentes tratamentos de PAR, incremento de luz azul e diferentes irradiâncias e doses de radiação UV. No eixo y mg de equivalente em albumina bovina por grama de massa seca (mgAB g<sup>-1</sup>BS), no eixo x os diferentes tratamentos após 4 dias e após 8 dias (ver Tabela 2). As barras ciano-claras representam os tratamentos medidos no tempo 4, enquanto as barras ciano-escuras os tratamentos medidos no tempo 8. Os desenhos dentro das barras indicam as condições UV dos tratamentos (■ 0i0D; ■ 2i1D; ■ 2i2D; ■ 1i1D). A linha horizontal sólida corresponde a concentração da amostra inicial e as linhas horizontais pontilhadas ao desvio padrão das medições iniciais. As barras de erro correspondem ao desvio padrão. N=3



Já no caso das variáveis medidas no dia 8, foi observada uma correlação significativa e positiva entre a taxa de crescimento de 0-8 dias com a capacidade antioxidante por método ABTS. Da mesma maneira, o  $ETR_{máx.}$  apresentou correlação significativa e positiva com  $\alpha$ . Mas o  $\alpha$ , mostrou correlação significativa negativa com Ek. Similarmente o Ek exibiu correlações significativas negativas com ficocianina, ficoeritrina, proteínas solúveis e carboidratos. Já os teores de ficocianina foram correlacionados positivamente com os teores de ficoeritrina, e proteínas solúveis. Além disso, a ficoeritrina apresentou correlação significativa positiva com proteínas solúveis totais.

**Tabela 5** – Resultados das ANOVAs para cada variável dependente de *N. leucosticta*, considerando as seguintes fontes de variação: incremento de luz azul (com ou sem). Tratamentos de radiação UV (PAR 0i0D, PAR 0i0D A, PAR 2i1D, PAR 2i1D A, PAR 2i2D, PAR 2i2D A, PAR 1i1D, PAR 1i1D A) e tempo (4 e 8 dias), bem como a interação entre esses fatores. As seguintes variáveis dependentes foram analisadas com ANOVA bifatorial, sem considerar o tempo como fator (taxas de crescimento, compostos fenólicos, proteínas solúveis e capacidade antioxidante por método DPPH). Os efeitos significativos do fator são destacados com dados de F e p em negrito.

Variáveis dependentes	Fontes de variação	DF	SS	MS	F	p
<b>Taxa de Crescimento (0-4) dias</b>	Incremento de luz azul	1	12,585	12,585	3,355	0,0856
	Tratamentos de radiação UV	3	10,985	3,662	0,976	0,4284
	Incremento de luz azul * Tratamentos de radiação UV	3	23,233	7,744	2,065	0,1453
	Residual	16	60,009	3,750		
<b>Taxa de Crescimento (4-8) dias</b>	Incremento de luz azul	1	0,0534	0,053	0,024	0,880
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>61,873</b>	<b>20,624</b>	<b>9,084</b>	<b>0,0009</b>
	<b>Incremento de luz azul * Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>39,288</b>	<b>13,095</b>	<b>5,768</b>	<b>0,007</b>
	Residual	16	36,325	2,2703		
<b>ETR Máximo</b>	Incremento de luz azul	1	6,201	6,201	1,515	0,227
	Tratamentos de radiação UV	3	13,158	4,386	1,072	0,374
	Tempo	1	3,970	3,970	0,970	0,332
	<b>Incremento de luz azul* Tratamento de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>36,645</b>	<b>12,215</b>	<b>2,985</b>	<b>0,046</b>
	Incremento de luz azul*Tempo	1	5,279	5,279	1,289	0,264

	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	2,916	0,972	0,238	0,869
	Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	6,363	2,121	0,518	0,672
	Residual	32	130,958	4,092		
<b>Alfa</b>	Incremento de luz azul	1	0,0005	0,0005	1,691	0,202
	Tratamentos de radiação UV	3	0,0003	0,0001	0,411	0,745
	<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>11,267</b>	<b>0,002</b>
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV	3	0,002	0,0008	2,887	0,051
	Incremento de luz azul*Tempo	1	0,00005	0,00005	0,182	0,673
	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	0,0002	0,00006	0,241	0,866
	Incremento de luz azul *Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	0,0003	0,00008	0,308	0,819
	Residual	32	0,009	0,003		
<b>Ek</b>	Incremento de luz azul	1	0,003	0,003	1,131	0,295
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>0,072</b>	<b>0,023</b>	<b>7,478</b>	<b>0,0006</b>
	<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>0,089</b>	<b>0,089</b>	<b>27,937</b>	<b>0,000009</b>
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV	3	0,008	0,002	0,836	0,484
	Incremento de luz azul*Tempo	1	0,001	0,001	0,318	0,577
	<b>Tratamentos de radiação UV*Tempo</b>	<b>3</b>	<b>0,0439</b>	<b>0,014</b>	<b>4,592</b>	<b>0,009</b>
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	0,002	0,0006	0,211	0,888
	Residual	32	0,102	0,003		
<b>Compostos Absorventes UV</b>	Incremento de luz azul	1	2,08	2,08	0,017	0,895
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>1353,50</b>	<b>451,17</b>	<b>3,829</b>	<b>0,0188</b>
	Tempo	1	40,33	40,33	0,342	0,563
	<b>Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>2579,08</b>	<b>859,69</b>	<b>7,297</b>	<b>0,0007</b>
	Incremento de luz azul*Tempo	1	374,08	374,08	3,175	0,084
	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	1018,50	339,50	2,882	0,05105

	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	74,42	24,81	0,2106	0,888345
	Residual	32	3770	117,81		
<b>Ficoeritrina</b>	Incremento de luz azul	1	5,33	5,33	0,0434	0,836258
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>2597,50</b>	<b>865,83</b>	<b>7,0488</b>	<b>0,000907</b>
	Tempo	1	396,75	396,75	3,2300	0,081745
	Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV	3	725,17	241,72	1,9679	0,138617
	Incremento de luz azul*Tempo	1	0,08	0,08	0,0007	0,979382
	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	433,42	144,47	1,1762	0,334188
	<b>Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV*Tempo</b>	<b>3</b>	<b>1123,08</b>	<b>374,36</b>	<b>3,0477</b>	<b>0,042747</b>
	Residual	32	3,930.67	122,83		
<b>Ficocianina</b>	Incremento de luz azul	1	18,75	18,75	0,1554	0,696079
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>2801,33</b>	<b>933,78</b>	<b>7,7372</b>	<b>0,000506</b>
	Tempo	1	252,08	252,08	2,0887	0,158112
	Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV	3	700,92	233,64	1,9359	0,143625
	Incremento de luz azul *Tempo	1	48,00	48,00	0,3977	0,532747
	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	640,92	213,64	1,7702	0,172671
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	888,00	296,00	2,4526	0,081268
	Residual	32	3862,00	120,69		
<b>Clorofila a</b>	Incremento de luz azul	1	0,07128	0,07128	0,6834	0,414540
	Tratamentos de radiação UV	3	0,45498	0,15166	1,4541	0,245522
	Tempo	1	0,00366	0,00366	0,0351	0,852580
	Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV	3	0,74789	0,24930	2,3902	0,087009

	Incremento de luz azul*Tempo	1	0,00088	0,00088	0,0084	0,927470
	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	0,40014	0,13338	1,2788	0,298314
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	0,50407	0,16802	1,6110	0,206167
	Residual	32	3,33757	0,10430		
<b>Compostos Fenólicos Totais</b>	Incremento de luz azul	1	0,0771	0,0771	0,559	0,465
	Tratamento de radiação UV	3	0,871	0,29	2,106	0,14
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV	3	0,718	0,239	1,735	0,2
	Residual	16	2,206	0,138		
<b>ABTS</b>	Incremento de luz azul	1	70,08	70,08	0,7328	0,398336
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>1965,37</b>	<b>655,12</b>	<b>6,8502</b>	<b>0,001078</b>
	<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>705,33</b>	<b>705,33</b>	<b>7,3752</b>	<b>0,0010573</b>
	<b>Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>1128,29</b>	<b>376,10</b>	<b>3,5954</b>	<b>0,016987</b>
	<b>Incremento de luz azul*Tempo</b>	<b>1</b>	<b>630,75</b>	<b>630,75</b>	<b>6,5954</b>	<b>0,015096</b>
	Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	82,54	27,51	0,2877	0,833923
	<b>Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV*Tempo</b>	<b>3</b>	<b>1568,79</b>	<b>522,93</b>	<b>5,4680</b>	<b>0,003775</b>
	Residual	32	3060,33	95,64		
<b>DPPH</b>	Incremento de luz azul	1	127,78	127,78	1,697	0,211065
	Tratamentos de radiação UV	3	369,06	123,02	1,634	0,221044
	Incremento de luz azul*Tratamento de radiação UV	3	469,09	156,36	2,077	0,143607
	Residual	16	1204,50	75,28		
<b>Proteínas Solúveis</b>	Incremento de luz azul	1	0,1	0,1	0,002	0,964578
	<b>Tratamentos de radiação UV</b>	<b>3</b>	<b>334,0</b>	<b>111,3</b>	<b>3,504</b>	<b>0,026413</b>

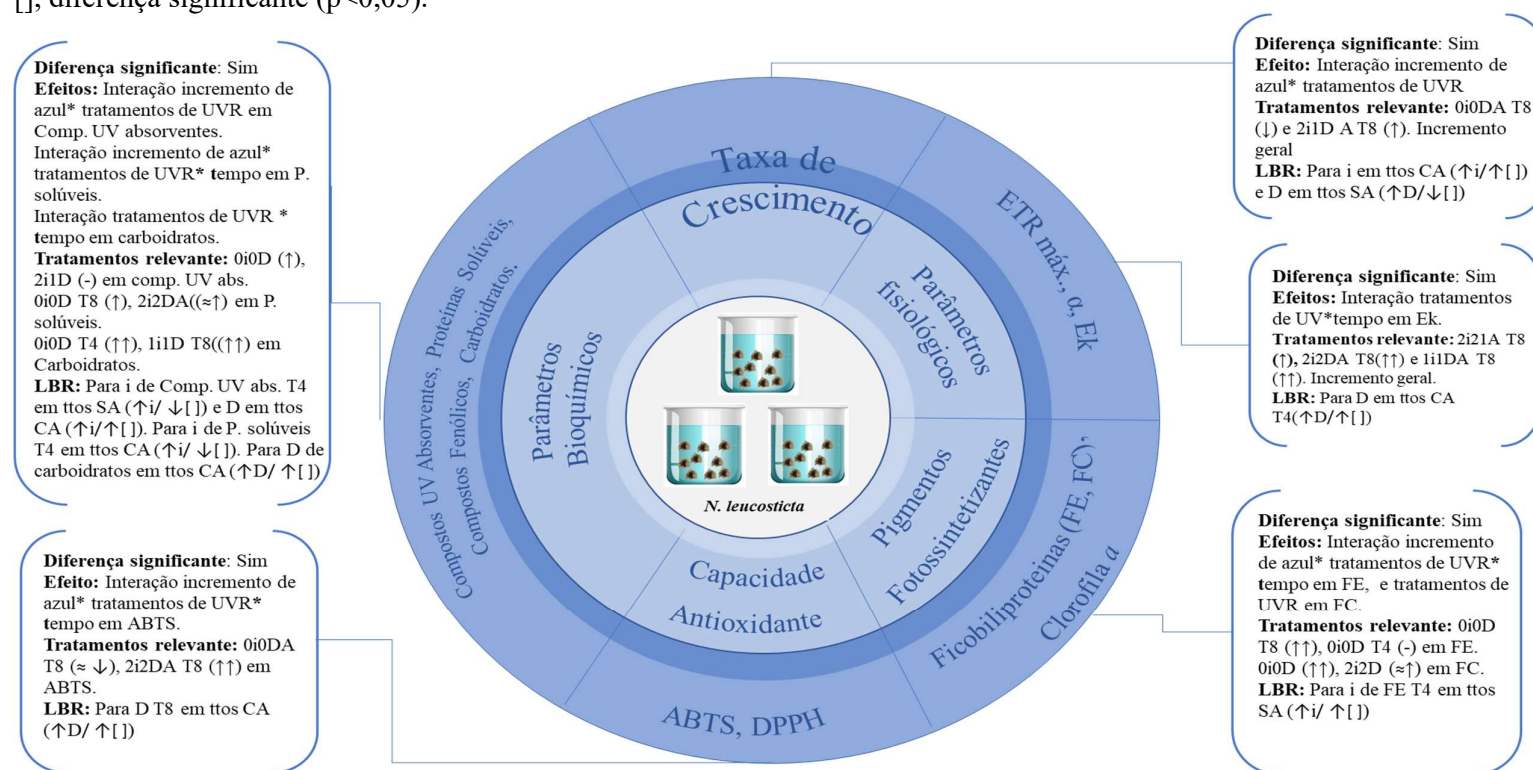
	Tempo	1	38,4	38,4	1,208	0,279912
	Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV	3	37,5	12,5	0,394	0,758241
	Incremento de luz azul*Tempo	1	0,2	0,2	0,005	0,942184
	<b>Tratamentos de radiação UV*Tempo</b>	<b>3</b>	<b>496,3</b>	<b>165,4</b>	<b>5,208</b>	<b>0,004829</b>
	<b>Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV*Tempo</b>	<b>3</b>	<b>509,4</b>	<b>169,8</b>	<b>5,345</b>	<b>0,004239</b>
	Residual	32	1016,6	31,8		
<b>Carboidratos</b>	Incremento de luz azul	1	147,00	147,00	0,826	0,370
	Tratamentos de radiação UV	3	730,958	243,653	1,369	0,270
	Tempo	1	27,00	27,00	0,152	0,699
	Incremento de luz azul*Tratamentos de radiação UV	3	720,792	240,264	1,350	0,276
	Incremento de luz azul*Tempo	1	40,333	40,333	0,227	0,637
	<b>Tratamentos de radiação UV*Tempo</b>	<b>3</b>	<b>1628,792</b>	<b>542,931</b>	<b>3,051</b>	<b>0,043</b>
	Incremento de luz azul* Tratamentos de radiação UV*Tempo	3	222,958	74,319	0,418	0,741
	Residual	32	5693,667	177,927		







**Figura 29-** Respostas significativas das variáveis de *N. leucosticta* dentro do experimento, após a exposição as condições de radiação azul e UV. Em relação aos valores iniciais, antes da exposição. T4 corresponde as respostas aos 4 dias, e T8 corresponde as respostas aos 8 dias de exposição. Nenhum efeito (-), ligeiramente superior ( $\approx \uparrow$ ), Superior ( $\uparrow$ ), duas vezes superior ( $\uparrow\uparrow$ ), ligeiramente inferior ( $\approx \downarrow$ ), inferior ( $\downarrow$ ), Lei Bussen Roscoe (LBR), intensidade (i), doses (D), tratamentos (ttos), sem azul (SA), com azul (CA), concentração [], diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



## 4 DISCUSSÃO

A variação da qualidade da radiação sobre as respostas fisiológicas e bioquímicas de macroalgas pode ocasionar múltiplos efeitos positivos ou negativos, dependendo da sensibilidade de cada espécie aos comprimentos de onda e intensidades que incidem sobre ela.

Nos experimentos realizados para esta dissertação, as intensidades de UVR foram fornecidas por quantidades diferentes de lâmpadas. Quando se pretendeu tentar dobrar as intensidades (2i), se utilizaram 2 lâmpadas em vez de uma. Entretanto, percebe-se que as medidas em termos de quantidades absolutas de irradiância não atingiram exatamente o dobro umas das outras, conforme se pode averiguar na tabela 2. Por esta razão, em ambos os experimentos, foram obtidas irradiâncias crescentes (ver Tabela 2). Há que se reconhecer que outros trabalhos também apresentam alguma variabilidade nas quantidades de radiação e nas doses decorrentes das mesmas, conforme Cullen e Lesser observaram que a fotoinibição de *Thalassiosira pseudonana* foi uma resposta à intensidade de UVR. Para doses iguais, se apresentou uma maior fotoinibição quando a irradiância UV foi alta por um curto período de tempo, enquanto a baixa irradiância por um longo tempo, a fotoinibição foi reduzida. Da mesma forma, Bonomi Barufi (2010) observou que a fotoproteção de *Gracilaria tenuistipitata* também é função da intensidade de UVR (BONOMI BARUFI, 2010; CULLEN; LESSER, 1991).

A seguir discutiremos os resultados dos experimentos de radiação induzida sobre *Phycocalidia acanthophora* (ver figura 19 e tabela 3) e *Neopyropia leucosticta* (ver figura 29 e tabela 5).

### 4.1 *Phycocalidia acanthophora*

O crescimento é um aspecto determinante, na hora de avaliar o comportamento e as respostas das macroalgas, quando expostas a diversos fatores abióticos (PEREIRA; YARISH, 2008). O experimento com *P. acanthophora*, apresentou um incremento geral de  $9,74 \pm 1,33\%$  dia<sup>-1</sup> na taxa de crescimento, em todos os tratamentos de exposição, o que corresponde a uma taxa de aproximadamente 2% a menos do que a taxa de crescimento durante o tempo de aclimação. A aclimação de *P. acanthophora* às condições do laboratório aconteceu num intervalo de 4 meses, alcançando uma média na taxa de crescimento de  $11,8 \pm 1\%$  dia<sup>-1</sup>, o que

indica a adaptação da espécie ao ambiente de laboratório unicamente sob condições de PAR. Efeitos de UVR e luz azul sobre o crescimento em algas e plantas têm sido relatados por vários autores (BONOMI BARUFI; FIGUEROA; PLASTINO, 2015; DAVISON et al., 2007; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005; OURIQUES et al., 2017; PEREIRA et al., 2018). Alguns trabalhos apontam ao decaimento ou pouco incremento na taxa de crescimento nas espécies submetidas a UVR ou a luz azul. Por exemplo Pereira et al. (2018) encontraram diminuição na taxa de crescimento de *Acanthophora spicifera*, após exposição à radiação UV por 3h diárias durante 7 dias (PEREIRA et al., 2018). O crescimento de *Laminaria saccharina*, exposta a UVR (3 a 4 semanas) foi reduzido, e foi detectada a inibição no crescimento da alga vermelha *Aglaothamnion* cultivada em PAR, PAR + UVA + UVB 3 h por dia durante 7 dias. Entretanto a inibição do crescimento de *L.saccharina* foi reduzida pelo enriquecimento de nitrogênio (DAVISON et al., 2007; OURIQUES et al., 2017). Já no caso da luz azul, alguns autores submeteram espécies como, *Porphyra umbilicalis*, *Porphyra leucosticta*, as cianobactérias *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., *Chlorella sorokiniana* e *Pyropia haitanensis* à radiação azul, em paralelo com outros comprimentos de onda, como vermelho, laranja, verde e branco, no período de 1 a 4 semanas, com irradiancias entre 20 – 50  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Esses trabalhos verificaram que as algas produziram pouca biomassa quando submetidas à luz azul, em comparação com os outros comprimentos de onda. (AGUILERA et al., 2000; FIGUEROA; AGUILERA; NIELL, 1995; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005; LUIMSTRA et al., 2018; WANG et al., 2020)

Porém, outros autores identificaram efeitos positivos de radiação UV e luz azul sobre as taxas de crescimento. Por exemplo, Schneider et al. (2020) evidenciaram que complementos de radiação UVA e luz azul a SOX (lâmpadas de sódio de baixa pressão), induziram a taxa de crescimento de *Osmundea pinnatifida* num período de 15 dias. Ghedifa et al. (2021) obtiveram um resultado similar no seu experimento de 14 dias utilizando *Gracilaria gracilis* nos tratamentos expostos a luz azul +SOX e radiação UVA+SOX, comparados com o controle SOX (GHEDIFA et al., 2021; SCHNEIDER et al., 2020a). Os talos de *Gracilaria lemaneiformis* e *Sargassum filipendula* expostos a PAR+UVA+ UVB, exibiram uma taxa de crescimento mais baixa, comparado com PAR, porém muito similares depois de dois dias de exposição (POLO; CHOW, 2020; ZHENG; GAO, 2009). Já no caso de plantas, a radiação UVA LED incrementou a taxa de crescimento em plantas como *Brassica oleracea* var.

*acephala* e *Brassica juncea* cv, após serem irradiadas por 5 dias e 3 semanas respectivamente (BRAZAITYTĖ et al., 2019; LEE; OH; SON, 2019).

As macroalgas são expostas a diferentes fatores de estresse no ambiente, com variações de temperatura, salinidade, oxigenação, aeração, falta de nutrientes e radiação. A UVR é um dos fatores que muitos autores têm identificado como um potente estressor tanto no ambiente como no laboratório. Porém tem sido demonstrado que a alta disponibilidade de nutrientes (principalmente  $\text{NO}_3^-$ ) favorece a aclimação em ambientes estressores, além de contribuir para manter a taxa de crescimento e o desenvolvimento das algas quando estas estão sob altas doses de UVR (PEREIRA et al., 2020; POLO; CHOW, 2020; ZHENG; GAO, 2009). Doses moderadas de UVR são detectadas por vias de sinalização específicas, promovendo uma regulação metabólica em algas e plantas (representadas na capacidade antioxidante e ação de diferentes biocompostos), que contribui para a aclimação. (CRUCES; HUOVINEN; GÓMEZ, 2012; HIDEG; JANSEN; STRID, 2013; VILLAFANE et al., 2003)

No presente experimento, *P. acanthophora* foi submetida dias antes do experimento a cortes dos talos em forma circular de 1 cm de diâmetro, para acompanhar o crescimento dos discos. No entanto, durante o experimento foi percebido um decaimento na taxa de crescimento em todos os tratamentos. Isso pode ser atribuído ao estresse gerado pelo corte, do qual muitos poucos talos conseguiram se recuperar dentro do experimento, somando-se à exposição das algas à UVR, muito tempo após dos talos estarem aclimatados a PAR. Os cortes dos tecidos dos talos é uma técnica de laboratório usada para enxergar o crescimento dos espécimes, como utilizado em alguns estudos (BONOMI BARUFI, 2010; FIGUEROA; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ; KORBEE, 2014; KORBEE, 2006). Neste experimento, se percebeu a alteração dos tecidos e a pouca recuperação deles, fazendo estes mais sensíveis aos possíveis estressores do experimento como a UVR.

Os parâmetros da fotossíntese, obtidos a partir das medidas de fluorescência *in vivo* da clorofila *a*, permitem seguir o estado fisiológico da alga e compreender o balanço entre o fotodano e a fotoreparação (BONOMI BARUFI, 2010). No presente experimento, *P. acanthophora* exibiu um rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ) entre (0,28-0,78), que se manteve ligeiramente variável (talos tentando manter a estabilidade fotossintética) durante os primeiros dias e decaiu abruptamente no último dia de experimento (ver Figura 14A), sinalizando um efeito de reação dos espécimes ao ambiente da radiação expostos, com a

redução dos parâmetros medidos. No dia 5, as algas de todos os tratamentos alcançaram um mínimo de 0,28, apontando ao desequilíbrio nas reações enzimáticas funcionando durante o período escuro do fotoperíodo e do estado fisiológico dos talos. Alguns autores têm demonstrado que a exposição à UVR reduz o rendimento quântico das plantas, levando à fotoinibição (DAVISON et al., 2007; HARTMANN et al., 2015; RAUTENBERGER et al., 2009), como foi evidenciado no presente experimento com o decaimento no dia 5 da exposição. Segundo Viñepla et al. (2009), a maioria de macroalgas aclimatadas apresentam valores do rendimento quântico máximo entre 0,75 a 0,80, sendo um pouco mais baixos os valores em macroalgas pardas e vermelhas (VIÑEPLA, 2009). Ainda assim, *P. acanthophora* exibiu uma taxa de transporte de elétrons ETR, relativamente estável entre 2,3–9,2, durante os dias de tratamento, só os tratamentos li1D-A e li1D apresentaram ETR maiores no primeiro dia de exposição (ver Figura 14B).

Os organismos fotossintéticos dispõem de complexos de proteínas pigmentar que captam a energia da luz, e fazem o processo fotossintético mais eficiente. Neste estudo foi avaliado o teor de clorofila *a* em *P. acanthophora*. Os espectros de absorção de ficobiliproteínas das amostras inicial e de campo indicaram que os talos coletados chegaram no laboratório com baixo conteúdo de ficobiliproteínas (ver Figura 16). Entretanto, os teores de clorofila *a* nos tratamentos foi similar ao se comparar amostras dos diferentes tratamentos entre si.

As ficobiliproteínas atuam como os principais coletores de energia da luz, que logo é transferida à clorofila durante a fotossíntese. Além disso, determinam a cor de macroalgas vermelhas e cianobactérias (SINGH et al., 2015; STADNICHUK; TROPIN, 2017; TSEKOS et al., 2002). Por exemplo, neste experimento, as algas chegaram com pouca pigmentação vermelha no laboratório, e durante o período de aclimação, observou-se períodos em que a coloração vermelha incrementava, mas de acordo aos resultados da amostra inicial, no momento de iniciar o experimento, os talos estavam num momento de baixa concentração de ficobiliproteínas. O estresse gerado pelo corte e a baixa quantidade de ficobiliproteínas podem ter interferido no processo de aclimação e recuperação da *P. acanthophora* com relação à radiação do experimento, observada nos valores de rendimento quântico máximo. De acordo com Bag, existe uma relação entre a complexidade da antena dos organismos fotossintéticos e a capacidade de eles se adaptarem a condições flutuantes de luz, já que os complexos de antena além de captarem a luz, também fornecem fotoproteção (BAG, 2021).

Os dados de ETR em *P. acanthophora*, medida como a estimativa da capacidade da fotossíntese concordam com o teor de clorofila *a* obtido, sendo que ambos estiveram constantes ao longo do experimento, ainda que no último dia, o ETR não tenha sido medido por finalização do experimento. Os dois parâmetros são relacionados por causa da transferência de energia, embora os talos tenham começado o processo de fotodano, detectado pela queda abrupta do Fv/Fm. No entanto o Y(II) em *P. acanthophora* variou entre 0,21 a 0,37, valores que ao enxergar o conjunto de respostas fotossintéticas (Fv/Fm, ETR<sub>in situ</sub>, Y(II), Chl *a* e ficobiliproteínas) sugerem desacoplamentos no complexos de antena externa, uma vez que ocorrem estas variações pigmentares, visando a conservação da antena núcleo, onde se encontra a clorofila *a* (BOEHM et al., 2011). Altamirano et al. (2000), por seu lado manifestaram que tratamentos que contêm UVR podem elicitar o acúmulo de clorofilas (ALTAMIRANO; FLORES-MOYA; FIGUEROA, 2000). Além disso, Polo et al. (2020) destacam a fotossíntese como um processo ativo que visa proteger a integridade dos centros de reação e da clorofila, de forma que a clorofila seja tolerante a impactos estressantes, conforme observado em seu estudo, onde a clorofila *a* de *Sargassum filipendula* permaneceu estável durante a exposição moderada à UVR (POLO; CHOW, 2020).

A produção de compostos absorvedores de UV é uma das formas mais eficientes com que alguns organismos conseguem filtrar passivamente a energia da UVR, antes que ela iniba a fotossíntese, o crescimento ou gere danos intracelulares e no DNA. Vários tipos e quantidades de compostos químicos que absorvem UVR são encontrados em diversos organismos, nos quais tem várias funções além de fotoproteção. Exemplos destes compostos são os metabólitos secundários, como pigmentos fluorescentes, scytonemina e os MAAs (KLISCH; SINHA; HÄDER, 2002; PAVIA; BROCK, 2000; PÉREZ-RODRÍGUEZ et al., 1998).

No experimento de *P. acanthophora*, foi observada uma diferença entre a concentração de compostos UV absorventes com incremento de luz azul e sem incremento de luz azul. Além disso, se observou uma resposta significativa ao efeito das doses de UVR em tratamentos com incremento de luz azul, respondendo positivamente à LBR. Isso porque ocorreu um maior teor de compostos UV absorventes quando as algas estiveram recebendo as maiores doses de UVR (ver Figuras 15, 19 e Tabela 2). Os tratamentos sem **incremento de** azul, apresentaram uma diminuição no teor de compostos UV absorventes, quando comparados com o conteúdo do talo inicial, enquanto os tratamentos com **incremento de** luz azul, apresentaram um maior

teor de compostos UV absorventes em relação ao inicial. Muitos estudos referem-se ao fato de que compostos absorventes são sintetizados com exposição à UVR, como no caso dos MAAs. Porém vários autores citam algumas espécies com níveis elevados de MAAs, sem exposição prévia à UVR (FRANKLIN et al., 1999; JEFFREY et al., 1999; KARSTEN; WIENCKE, 1999; POLO; CHOW, 2020). Neste experimento também foram percebidos efeitos em diferentes níveis de UV com um aumento no azul. Nos resultados obtidos, observou-se que quanto maior a quantidade de dose de UV com o suplemento de azul, maior a concentração de compostos UV absorventes. Assim, o incremento da luz azul, ainda que em baixa quantidade ( $16 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), pode ter contribuído para causar acúmulo de substâncias UV absorventes. Franklin e colaboradores identificaram em seu trabalho com *Chondrus crispus* que a síntese de compostos absorventes, como os MAAs pode vir de várias induções, e depende da natureza dos receptores presentes na espécie. (FRANKLIN; KRÄBS; KUHLENKAMP, 2001). Só exposição ao PAR pode induzir uma certa quantidade de MAAs. No entanto alguns compostos específicos, como palitina, chinorina, são estimulados pela radiação azul e UVR (FRANKLIN; KRÄBS; KUHLENKAMP, 2001; GUDRUN KRABS; CHRISTIAN WIENCKE, 2005; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2006).

A capacidade dos organismos fotossintéticos de se protegerem contra agentes externos é muito ampla e depende do equilíbrio entre os processos de dano e reparo. No caso de exposição à UVR, eles ativam mecanismos fisiológicos e bioquímicos para mitigar o impacto. Dentro desses processos, barreiras físicas e químicas estão incluídas, envolvendo substâncias antioxidantes que diminuem as espécies reativas de oxigênio, na produção de metabólitos como carotenoides, compostos fenólicos, sínteses de polissacarídeos, além alguns compostos que também absorvem UVR (BANASZAK, 2003; BONOMI BARUFI, 2010; MITTLER, 2002; RAMLOV, 2010). Um modelo cinético para as análises dos compostos antioxidantes é a captura do radical ABTS, baseado na transferência de elétrons, o que permite medir a capacidade antioxidante total de uma amostra que contém substâncias lipofílicas e/ou substâncias hidrofílicas (GUEDES et al., 2013; HUANG; OU; PRIOR, 2005; KIM et al., 2002). Essa estratégia de análise foi utilizada para *P. acanthophora*, havendo uma diferença significativa na capacidade antioxidante dos tratamentos com incremento de luz azul e os tratamentos sem incremento de luz azul. Também se observou resposta à LBR nos tratamentos sem incremento de luz azul, em função das doses de UVR. Quanto maior a dose, maior a

capacidade antioxidante (ver Figuras 18,19 e Tabela 2). Aqueles tratamentos sem incremento de luz azul apresentaram uma capacidade abaixo da capacidade da amostra inicial, enquanto os tratamentos com incremento de luz azul indicaram capacidade antioxidante similar a amostra inicial, com exceção do tratamento 2i1D-A que teve uma capacidade antioxidante superior. Alguns estudos de qualidade de luz sobre diferentes espécies, têm identificado que diferentes comprimentos de onda incrementam a capacidade antioxidante, em diferentes proporções, mas a luz azul é um dos comprimentos que menor incremento de capacidade antioxidante têm gerado. No entanto, Ghedifa et al. (2021) encontraram um alto incremento na capacidade antioxidante de *Gracilaria gracilis*, quando submetida à radiação SOX+ luz Azul, e SOX + UVR(GHEDIFA et al., 2021; SCHNEIDER et al., 2020a). Adicionalmente, vários estudos têm demonstrado que baixas doses de UVR estimulam a capacidade antioxidante em algas e plantas (BARUFI et al., 2012; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2006; PEREIRA et al., 2020; POLO et al., 2014). Entretanto, no presente estudo não foi observada uma diferença significativa entre os diferentes níveis de UVR, incluindo os tratamentos expostos unicamente a PAR + UVR, apresentaram capacidade antioxidante mais baixas do que os talos iniciais.

Assim, o baixo incremento da luz azul estimulou para o acúmulo de compostos capazes de reduzir o estresse oxidativo, gerado em *P. acanthophora* quando submetida a altas energias como UVR e luz azul. Incrementos de compostos fenólicos, MAAs, carotenoides e ficobiliproteínas, foram estimulados pela luz azul em diferentes estudos, além de serem conhecidos por ter propriedades antioxidantes o que leva a sugerir que compostos como compostos UV absorventes fazem diferença significativa na capacidade antioxidante dos tratamentos com incremento de luz azul(KOBAYASHI et al., 1992; KORBEE, 2006; LATIFI; RUIZ; ZHANG, 2009).

#### 4.2 *Neopyropia leucosticta*

A taxa de crescimento de macroalgas é conhecida como um fator integrador de diferentes processos, ao mesmo tempo que é muito importante pelo seu interesse nutricional. Por isso, qualquer condição que favoreça o incremento da taxa de crescimento, torna-se relevante nos estudos que visam gerar mais produção de biomassa (WAN et al., 2019). No experimento com *N. leucosticta*, a taxa de crescimento aumentou com o passar dos dias. Entre os dias 0-4 não



foi observada uma diferença significativa no crescimento, e apresentou um crescimento geral de  $3.50 \pm 2.16\%$  dia<sup>-1</sup>. Entre os dias 0-8 se obteve um crescimento geral de  $4,76 \pm 2.47\%$  dia<sup>-1</sup>, além de exibir uma taxa de crescimento maior que nos primeiros quatro dias. Aliás, identificou-se uma diferença significativa entre os tratamentos com e sem incremento de luz azul, e entre os diferentes níveis de tratamentos de radiação UV.

Villañafe et al. (2003) sugerem considerar o tempo dos experimentos de organismos expostos a UVR, viabilizando os processos de reparação e aclimação dos organismos (VILLAFANE et al., 2003). No caso da *N. leucosticta*, o tempo favoreceu o crescimento, exibindo aclimação às condições do experimento durante o tempo de exposição. Doses moderadas de UVR podem eliciar respostas fisiológicas e metabólicas em organismos marinhos (BONOMI-BARUFI et al., 2020; POLO; CHOW, 2020). Além disso, vários estudos têm demonstrado que luz azul suplementar contribui na aclimação, recuperação e mitiga os efeitos prejudiciais gerados pela UVR em algas e plantas, induzindo assim, uma maior produção de biomassa (HOFFMANN; NOGA; HUNSCHE, 2015; SCHELLENBERGER COSTA et al., 2013) pela intervenção de fotorreceptores, que atuam como proteínas de sinalização (CHAVES et al., 2011). O grupo dos fotorreceptores do criptocromo, são aqueles que possuem sensibilidade à UVR e luz azul (ALLORENT; PETROUTSOS, 2017; RAI; MORALES; APHALO, 2021; RÜDIGER, W.; LÓPEZ-FIGUEROA, 1992; SCHNEIDER et al., 2020a), e isso pode acarretar em interferência no crescimento das algas. Diferentes trabalhos têm evidenciado que luz azul e UVA-R estimularam o crescimento de *Gracilaria gracilis* e *Osmundea pinnatifida*, respectivamente, sugerindo ativação de fotorreceptores, uma vez e usada a radiação SOX, mais que os diferentes comprimentos de onda (GHEDIFA et al., 2021; SCHNEIDER et al., 2020a). Por outro lado, estudos da qualidade da luz em *Neopyropia leucosticta*, *Porphyra umbilicalis*, *Osmundea pinnatifida* demonstraram uma baixa produção de biomassa quando submetida à luz azul, comparada com outros comprimentos de onda numa intensidade maior ou igual a  $50 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (AGUILERA et al., 2000; FIGUEROA; AGUILERA; NIELL, 1995; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005; SCHNEIDER et al., 2020a). No entanto, alguns dos experimentos baixaram a quantidade de nutriente, com o fim de estimular o acúmulo de compostos nitrogenados, influenciados por fotorreceptores não fotossintéticos. Por outro lado, o enriquecimento de nitrogênio é fundamental quando o objetivo é estimular o crescimento das espécies, como por exemplo, o caso de *Gracilaria*

*lemaniformis* e *Pyropia acanthophora* var. *brasiliensis* que sendo expostas à UVR incrementaram sua biomassa quando o requerimento de nitrogênio foi fornecido (FIGUEROA, J. AGUILERA, C. JIMÉNEZ, J. J. VERGARA, M. D. ROBLES, 1995; FIGUEROA, 1996; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005; PEREIRA et al., 2020; ZHENG; GAO, 2009).

Assim, levando em consideração que neste experimento a *N. leucosticta* manteve enriquecimento de nutrientes a cada 4 dias, e que a intensidade da luz azul complementar foi de  $60 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , foi possível observar algas aclimatadas à radiação UVR, sem sofrer grandes impactos da mesma. Além disso, percebeu-se que houve uma resposta combinada considerando as radiações fornecidas. Assim, os talos que produziram maior biomassa foram aqueles submetidos à radiação UVR com incremento da luz azul. Além disso, se observaram efeitos da dose de UVR em tratamentos sem incremento de luz azul, à medida que a dose aumenta, a taxa de crescimento diminui. Além disso, foram observados efeitos de intensidade para tratamentos com incremento de luz azul, neste caso, à medida que a intensidade aumenta, a taxa de crescimento aumenta (ver Figuras 20,29 e Tabela 2).

Alguns estudos em algas apresentaram fotoinibição à exposição de altas doses de PAR, UVR, ou diferentes comprimentos de onda, exibindo a sensibilidade das espécies às qualidades e quantidades da radiação (BISCHOF et al., 2000; DRING et al., 1996; HAN; KAIN (JONES), 1993; HANELT; WIENCKE; NULTSCH, 1997). Figueroa et al. observaram que UVB gera maior fotoinibição em *Neopyropia leucosticta*, ao comparar com exposição a PAR ou PAR +UVA (FIGUEROA et al., 1997). Por outro lado, Cullen e Lesser identificaram variações nas respostas de *Thalassiosira pseudonana* frente às diferentes doses e tempo de UVR, sugerindo que o efeito da radiação UVR depende da irradiância e das doses de UVR utilizadas. Outros autores atribuem as respostas ao mecanismo de reparação da espécie e a susceptibilidade frente à radiação (CULLEN; LESSER, 1991).

No presente experimento com *N. leucosticta*, constatou-se o equilíbrio entre o fotodano e a fotorreparação considerando os diferentes tratamentos de radiação. Os resultados das medidas feitas a partir da fluorescência da clorofila *a* ( $F_v/F_m$ , ETR, e parâmetros obtidos de curvas de luz) indicaram o bom estado fisiológico dos talos no decorrer do experimento. Por exemplo, as medições no transcorrer do experimento variaram para  $F_v/F_m$  entre (0,60-0,66).

O fotossistema II pode ser um dos mais afetados pelo excesso de energia luminosa, por

exemplo, Clendennen et al.(1996) observaram como a ETR foi reduzida em *Macrocystis pyrifera*, após a exposição à radiação UV (CLENDENNEN et al., 1996). Neste trabalho, no caso da *N. leucosticta*, não foi percebido dano ao sistema coletor de luz, uma vez que os valores de ETR *in situ* e aqueles estimados de ETR<sub>máx.</sub> se mantiveram praticamente constantes durante o experimento. O  $\alpha$  foi semelhante em todos os tratamentos. Os talos de *Neopyropia leucosticta* aumentaram a irradiância de saturação, quando submetidos aos diferentes tratamentos do experimento. Neste parâmetro (Ek) foi possível observar o efeito que UVR gerou nos talos, já que quanto maior a dose, maior o valor Ek medido no 4º dia (ver Figuras 22,29 e Tabela 2). Um trabalho onde o Ek aumentou foi realizado por Bonomi Barufi em *Gracilaria tenuistipitata*, quando submetidas a estresse nutricional (BONOMI BARUFI, 2010).

Alguns autores sugerem que a fotoinibição pode ocorrer como estratégia para o organismo se proteger da luz, iniciando uma cadeia de transporte de elétrons, por um determinado tempo(HÄDER; FIGUEROA, 1997; RUSSELL et al., 1995). Estudos em plantas têm mostrado que alguns efeitos da radiação UV geram respostas inversas na fotossíntese e na taxa de crescimento. Eles também indicam que esses processos envolvem fotorreceptores para UVA e luz azul (JENKINS et al., 1995; THOMAS; DICKINSON, 1979). Neste experimento, nenhum dano foi percebido nos centros de reação, uma vez que os rendimentos quânticos permaneceram estáveis (Y(II), Fv/Fm), além em geral a ETR e  $\alpha$  estavam aumentando. Ainda assim, as diferenças observadas nas respostas entre alguns tratamentos com azul e UV (taxa de crescimento, compostos UV absorventes, ficobiliproteínas, ABTS, proteínas solúveis e carboidratos.), podem sugerir ação de fotorreceptores UV e luz azul.

Os pigmentos fotossintéticos que compõem o complexo de absorção da luz atuam para regular a produtividade primária das espécies fotossintetizantes, após absorver diferentes comprimentos de onda, favorecendo assim a eficiência fotossintética, como aconteceu no presente experimento levado a cabo com *N.leucosticta*. As ficobiliproteínas, um dos pigmentos acessórios da fotossíntese, são concebidos como proteínas de reserva em algas (DOBYCHINA et al., 2020; TAKAHASHI; MIKAMI, 2021). O Carra & hEocha,1976 sugeriram que dentro da evolução das algas e plantas, as ficobiliproteínas representavam um fotorreceptor, que foi perdido em algumas espécies (P, Ó CARRA & C, 1976).

No experimento com *N. leucosticta*, foram avaliados os teores de ficoeritrina, ficocianina e clorofila *a*. A ficoeritrina e ficocianina no dia 8 apresentaram maior concentração

que no dia 4. Além disso, a FE respondeu à LBR por efeito da irradiância em tratamentos sem incremento de luz azul, medido no dia 4. Nesta resposta, quanto maior a intensidade de UVR, maior a concentração de FE (ver Figura 24,29 e Tabela 2). Observa-se que os níveis de condições UV tiveram efeitos dentro das respostas do teor de FC, onde os tratamentos 0i0D apresentaram a maior concentração (ver Figuras 24,25 e 29). Alguns estudos obtiveram incremento de FE, FC e Chl *a*, após expor algumas algas à luz azul (FIGUEROA; AGUILERA; NIELL, 1995; SCHNEIDER et al., 2020b). Mas para as concentrações de FE e FC em *N. leucosticta* não foi percebido efeito dependente da luz azul nos tratamentos, uma vez que foi semelhante nos tratamentos com e sem incremento de luz azul. Vale ressaltar que, para FE e FC nos dias 4 e 8, o tratamento com 0i0D teve um aumento significativo em relação ao 0i0D-A. Tem sido demonstrado que a UVR pode gerar efeitos negativos ou positivos, aumentando o diminuindo a concentração de pigmentos fotossintéticos (FIGUEROA et al., 1997; OURIQUES et al., 2017; ROLEDA et al., 2004; XUE et al., 2005). Os tratamentos 0i0D apresentaram os maiores teores de FE e FC, seguidos do tratamento 2i1D e posteriormente dos tratamentos 1i1D e 2i 2D, sendo estes dois últimos com teores semelhantes à amostra inicial para FE e teores menores a amostra inicial para FC. Isso indica que a luz azul suplementada com UVR pode regular os efeitos nas concentrações de FE e FC, dependendo das doses e intensidade utilizadas, seguindo que as altas intensidades de luz por um longo tempo podem diminuir a quantidade de pigmentos fotossintéticos (DOBYCHINA et al., 2020; JU et al., 2011). Além disso, as concentrações de FE e FC em 4 dias da *Neopyropia leucosticta* foram negativamente correlacionadas com as taxas de crescimento e Ek no dia 8. Estudos como o de Figueroa e Korbee, encontraram que a luz azul diminui a taxa de crescimento de *Porphyra umbilicalis*, *Porphyra leucosticta*, quando comparado a outros comprimentos de onda, mas também induziu o acúmulo de ficobiliproteínas (FIGUEROA; AGUILERA; NIELL, 1995; FRANKLIN; KRÄBS; KUHLENKAMP, 2001; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005).

Algas e plantas podem ser beneficiadas por compostos UV absorventes, pois por possuir capacidade fotoprotetora auxiliam na adaptação de organismos expostos à UVR (POLO; CHOW, 2020). Neste experimento com *N. leucosticta*, se percebe que o tratamento 0i0D em 4 dias exibiu a mais de 2 vezes o acúmulo de compostos UV absorventes comparado com a concentração inicial. Os compostos absorventes de radiação UV podem ser induzidos apenas pela radiação PAR (FRANKLIN; KRÄBS; KUHLENKAMP, 2001; GUDRUN

KRABS AND CHRISTIAN WIENCKE, 2005). Não só a qualidade da radiação influencia as respostas de acúmulo de compostos UV absorventes, mas também a irradiação e o tempo de exposição à UVR, gerando efeitos significativos entre os tratamentos. O tratamento com 2i1D em 4 dias teve um tempo de exposição de 6 horas por dia, utilizando as irradiâncias de ( $7,81 \pm 0,38 \text{ W m}^{-2}$ ) e na dose de ( $0,17 \pm 0,0077 \text{ KJ m}^{-2}$ ) e apresentou o menor acúmulo de compostos UV absorventes em todo o experimento, estímulo associado a LBR por intensidade nos tratamentos sem incremento de luz azul após 4 dias (ver Figura 23,29 e Tabela 2). Estudos dos efeitos da UVR em algas e plantas, geralmente relatam o aumento dos compostos absorvedores de UV, quando expostos a altas doses de UVR, como mecanismo de fotoproteção de organismos fotossintizantes (HELBLING et al., 1996; VAN DE POLL et al., 2001; XUE et al., 2005; ZHENG; GAO, 2009). No entanto, neste experimento, não foi observado acúmulo significativo de compostos absorvedores de UV, quando comparado ao acúmulo inicial. O talo não sofreu danos perceptíveis, uma vez que não foi observada diminuição na taxa de crescimento ou na fotossíntese. No entanto, observa-se uma resposta significativa em função das doses para tratamentos com incremento de luz azul, respondendo assim à LBR uma vez que o incremento da dose, de radiação resultou no aumento do teor de compostos absorventes de UVR. Por outro lado, alguns autores expõem a influência do suprimento de nutrientes e a pré-exposição à luz azul, ajudam a mitigar os efeitos nocivos da UVR (FRANKLIN; KRÄBS; KUHLENKAMP, 2001; HOFFMANN; NOGA; HUNSCHE, 2015; ZHENG; GAO, 2009). A luz azul ajudou a *N. leucosticta* na regulação da quantidade de UVR recebida, respondendo positivamente às doses fornecidas.

No presente experimento com *N. leucosticta*, foi avaliada a capacidade antioxidante através dos métodos ABTS e DPPH. Além disso, foram testados os compostos fenólicos totais, que são referenciados por ter forte capacidade antioxidante (CHA et al., 2014; LIU; HANSEN; LIN, 2011). Em geral, todos os tratamentos apresentaram grande capacidade antioxidante, em relação às amostras iniciais. Pelo método DPPH, a capacidade antioxidante aumentou até 6 vezes mais em relação ao inicial, porém não foi percebida diferença significativa entre os tratamentos dependendo das condições de UV, incremento de luz azul ou efeito de ambas as condições.

Em relação à capacidade antioxidante pelo método ABTS, se perceberam diferenças significativas entre os tratamentos. Uma resposta significativa em função das doses de UVR

foi observada nos tratamentos com incremento de luz azul. Quanto maior a dose de UVR, maior a capacidade antioxidante de *N. leucosticta*, respondendo positivamente à LBR (ver Figuras 26,29 e Tabela 2). A combinação do incremento de luz azul com algumas doses de UVR aumenta a capacidade antioxidante de forma moderada (FRANKLIN; KRÄBS; KUHLENKAMP, 2001; HOFFMANN; NOGA; HUNSCHE, 2015; MITTLER, 2002).

Os compostos fenólicos estão relacionados ao mecanismo de defesa de algas e plantas, razão pela qual vários autores observaram seu acúmulo em processos de estresse abiótico, como o produzido pela alta radiação luminosa, principalmente UVR (ABDALA-DÍAZ et al., 2014; B. DUVAL, K. SHETTY, W.H. THOMAS, B DUVAL, WH THOMAS, K. SHETTY, W.H THOMAS, W THOMAS, 1999; JAIME COPIA, HERNÁN GAETE, GUSTAVO ZÚÑIGA, 2012; TAULAVUORI et al., 2013). No presente experimento com *N. leucosticta*, todos os tratamentos exibiram conteúdo de compostos fenólicos totais maior do que a concentração da amostra inicial. Não foi observada uma diferença significativa entre as respostas dos diferentes tratamentos.

As proteínas solúveis, são dos compostos do metabolismo primário mais sensíveis às variações dos fatores abióticos, aos quais são expostas as algas e plantas. A qualidade da radiação, em especial a radiação UV, pode afetar a sínteses de proteínas (BANASZAK, 2003; WANG et al., 2018).

Os resultados deste trabalho mostraram aumento no teor de proteínas solúveis comparado com o inicial. As proteínas solúveis totais apresentaram diferenças significativas pelo efeito da combinação de UVR, incremento de luz azul no tempo. Além disso, se observou efeito da intensidade de UVR nos tratamentos com incremento de luz azul medidos no dia 4. Com o incremento da intensidade de UVR, diminui o teor de proteínas solúveis (ver Figuras 27,29 e Tabela 2). Alguns autores encontraram incremento de proteínas solúveis em algas, uma vez estas foram expostas a luz azul, como no caso de *Porphyra umbilicalis*, *Gracilaria birdiae* e *Porphyra leucosticta* (BONOMI BARUFI; FIGUEROA; PLASTINO, 2015; FIGUEROA; AGUILERA; NIELL, 1995; KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2005; TSEKOS et al., 2002).

Os carboidratos são compostos do metabolismo primário nos organismos, uma vez que intervêm nos processos de energia primária, como sinalização. Além disso, são capazes de regular o crescimento, desenvolvimento e respostas ao estresse (ANA FURLAN, ANALÍA

LLANES, VIRGINIA LUNA, 2012; FILIP ROLLAND, ELENA BAENA-GONZALEZ, 2006; WIM VAN DEN ENDE, 2009; YOUNG-HEE CHO, 2011).

No presente experimento com *N. leucosticta*, se percebeu uma diferença significativa muito baixa nas respostas dos diferentes tratamentos as condições UV dependentes do tempo, sobre o acúmulo de carboidratos (ver Figuras 28,29 e Tabelas 2,6). De acordo com alguns autores os carboidratos podem ser regulados positivamente por UVR. No entanto existem resultados contraditórios enquanto ao acúmulo de carboidratos, quando as algas são expostas à luz azul. Por exemplo, Pagels et al. (2020) verificaram que a suplementação de luz azul e UVR podem gerar incremento no conteúdo de carboidratos em *Cyanobium* sp. Por outro lado, Tsekos et al. (2002) reportaram degradação de carboidratos quando são submetidos a luz azul em *Porphyra leucosticta* (PAGELS et al., 2020; SHIMEI FU ,SONG XUE ,JUN CHEN ,SHUAI SHANG ,HUI XIAO ,YU ZANG, 2021; TSEKOS et al., 2002). O conteúdo de carboidratos medidos após 4 dias, apresentou uma correlação positiva com os entre Compostos UV absorventes medidos no dia 4 (ver Tabela 6).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No experimento com *Phycocalidia acanthophora*, os efeitos da radiação combinada afetaram negativamente o crescimento das algas, o estado fisiológico e os pigmentos fotossintéticos. É possível que o corte feito nos talos dias antes de serem submetidos a radiação tenha influenciado em na sensibilidade dos talos à radiação ultravioleta.

Outra característica neste primeiro experimento foi a intensidade da luz azul fornecida, a qual apresentou uma intensidade de ( $16 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) que pode não ter sido suficiente para promover muitos efeitos significativos nas respostas dessa espécie.

Apesar disso, foi possível observar respostas positivas da combinação da radiação fornecida, como no acúmulo de compostos absorvedores de UV e compostos antioxidantes.

Embora tenha ocorrido estresse nas algas, observou-se que *P. acanthophora* responde positivamente por meio de doses de UVR para absorção de compostos UV e capacidade antioxidante.

No experimento com *Neopyropia leucosticta*, foi possível verificar que a combinação de luz azul e tratamentos de UVR, regulou positivamente o incremento da taxa de crescimento. Além disso, a espécie respondeu à LBR em função das doses para tratamentos com incremento de luz azul, e em função da intensidade das irradiâncias para tratamentos sem incremento de luz azul. Nenhum dano ao sistema fotossintético foi observado, os rendimentos quânticos máximos, as taxas de transporte de elétrons permaneceram estáveis. A irradiância de saturação aumentou conforme a intensidade e a dose de UVR aumentaram ao longo do tempo. Se observou resposta positiva em função das doses de UVR, regulada pelo incremento de luz azul.

Os pigmentos fotossintéticos foram afetados pela UVR. No entanto, o incremento de luz azul num longo período de tempo ajudou a regular as concentrações de ficoeritrina e ficocianina, com maior acúmulo em FE, isto devido à forte absorção no comprimento de onda azul. Já a clorofila *a*, apresentou grande aumento em todos os tratamentos, com tendência a maior regulação nos tratamentos com aumento de azul. A FE, apresentou resposta positiva a LBR em função da intensidade de UVR para tratamentos sem incremento de luz azul.

Os compostos absorvedores de UV foram regulados em seus teores em todos os tratamentos, com exceção do tratamento apenas com PAR nos primeiros dias de experimento e apresentou uma resposta positiva a LBR em função da intensidade para os tratamentos sem



incremento de luz azul, e em função das doses para tratamentos com incremento de luz azul.

A capacidade antioxidante aumentou ao longo do tempo, tendo maior regulação nos tratamentos com incremento de luz azul e em função das doses de UVR. As proteínas solúveis aumentaram moderadamente ao longo do tempo, de acordo com a intensidade e a dose de UVR fornecida. Embora a resposta a LBR seja negativa em função da intensidade de UVR, já que a maior intensidade causou a redução do teor de proteínas solúveis. O conteúdo de compostos fenólicos totais, o teor de clorofila *a* e a capacidade antioxidante pelo método DPPH, não apresentaram resultados significativos. O conteúdo de carboidratos foi afetado pelas doses de radiação UVR e incremento de luz azul em todos os tratamentos.

Em geral, a *N. leucosticta* responde de forma positiva a LBR, em função das doses de UVR para Ek, compostos UV absorventes, ABTS e carboidratos, regulado pelo incremento de luz azul.

De maneira geral, as respostas de ambos os experimentos permitiram identificar os efeitos gerados pelo aumento da radiação complementar nas duas espécies, que dependem de vários fatores, como a qualidade e intensidade da radiação aplicada, o estado fisiológico inicial das algas, o fornecimento de nutrientes, temperatura, salinidade, entre outros. A luz azul impediu a ocorrência de possíveis efeitos prejudiciais da radiação UVR, permitindo um efeito combinado, e estimulando as espécies a produzir mais compostos de forma regulada. Assim, a combinação entre o incremento de radiação azul e a radiação UV pode estimular respostas fisiológicas, e aumentar a concentração de alguns compostos de valor agregado, sem causar danos e desequilíbrio na espécie, dessa forma validando as hipóteses do trabalho.

Este estudo mostra a importância de testar combinações de radiação, a fim de aproveitar os efeitos benéficos em prol do bem-estar da espécie e do aumento de bioativos. Além disso, sugere considerar o aprofundamento nas vias de regulação da radiação suplementada (fotorreceptores, vias enzimáticas etc.), e avaliar a LBR de forma independente.

## 6 REFERÊNCIAS

- ABAD, M. J. Anti-inflammatory properties of algae. In: **Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals**. [s.l.] Elsevier, 2013. p. 338–368.
- ABDALA-DÍAZ, R. T. et al. Intra-thallus variation of phenolic compounds, antioxidant activity, and phenolsulphatase activity in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) from southern Spain. **Ciencias Marinas**, v. 40, n. 1, p. 1–10, 31 mar. 2014.
- ABU-GHANNAM, N.; RAJAURIA, G. Antimicrobial activity of compounds isolated from algae. In: **Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals**. [s.l.] Elsevier, 2013. p. 287–306.
- AGUILERA, J. et al. Light quality effect on photosynthesis and efficiency of carbon assimilation in the red alga *Porphyra leucosticta*. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 1, p. 86–92, jul. 2000.
- ALLORENT, G.; PETROUTSOS, D. Photoreceptor-dependent regulation of photoprotection. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 37, p. 102–108, jun. 2017.
- ALTAMIRANO, M.; FLORES-MOYA, A.; FIGUEROA, F. L. Long-Term Effects of Natural Sunlight under Various Ultraviolet Radiation Conditions on Growth and Photosynthesis of Intertidal *Ulva rigida* (Chlorophyceae) Cultivated In Situ. **Botanica Marina**, v. 43, n. 2, 8 jan. 2000.
- ANA FURLAN, ANALÍA LLANES, VIRGINIA LUNA, AND S. C. Physiological and Biochemical Responses to Drought Stress and Subsequent Rehydration in the Symbiotic Association Peanut-Bradyrhizobium sp. **International Scholarly Research Notices**, 2012.
- B. DUVAL, K. SHETTY, W.H. THOMAS, B DUVAL, WH THOMAS, K. SHETTY, W.H THOMAS, W THOMAS, W. T. Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* after exposure to UV light. **Environ. Boil. Fishes**, 1999.
- BAG, P. Light harvesting in fluctuating environments: Evolution and function of antenna proteins across photosynthetic lineage. **Plants**, v. 10, n. 6, 2021.
- BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 89–113, 1 jun. 2008.
- BANASZAK, A. Photoprotective physiological and biochemical responses of aquatic organisms. In: [s.l: s.n.].

- BAWEJA, P. et al. Chapter 3 - Biology of Seaweeds. In: FLEURENCE, J.; LEVINE, I. (Eds.). **. Seaweed in Health and Disease Prevention**. San Diego: Academic Press, 2016. p. 41–106.
- BERMEJO ROMÁN, R. et al. Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. **Journal of Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 73–85, jan. 2002.
- BISCHOF, K. et al. Photosynthetic characteristics and mycosporine-like amino acids under UV radiation: a competitive advantage of *Mastocarpus stellatus* over *Chondrus crispus* at the Helgoland shoreline? **Helgoland Marine Research**, v. 54, n. 1, p. 47–52, 12 maio 2000.
- BOEHM, M. et al. Investigating the Early Stages of Photosystem II Assembly in *Synechocystis* sp. PCC 6803. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 17, p. 14812–14819, abr. 2011.
- BONOMI-BARUFI, J. **Fotoproteção em *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta): Uma abordagem fisiologica e Molecular**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2010.
- BONOMI-BARUFI, J. et al. Nitrate reduces the negative effect of UV radiation on photosynthesis and pigmentation in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta): the photoprotection role of mycosporine-like amino acids. **Phycologia**, v. 51, n. 6, p. 636–648, nov. 2012.
- BONOMI-BARUFI, J. et al. How macroalgae can deal with radiation variability and photoacclimation capacity: The example of *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta) in laboratory. **Algal Research**, v. 50, n. July, p. 102007, set. 2020.
- BONOMI BARUFI, J. **PHOTOPROTECTION OF *Gracilaria tenuistipitata* (RHODOPHYTA): A PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR APPROACH**. [s.l.: s.n.].
- BONOMI BARUFI, J.; FIGUEROA, F. L.; PLASTINO, E. M. Effects of light quality on reproduction, growth and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta: Gracilariales). **Scientia Marina**, v. 79, n. 1, p. 15–24, 30 mar. 2015.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, maio 1976.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRAZAITYTĖ, A. et al. Response of Mustard Microgreens to Different Wavelengths and Durations of UV-A LEDs. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. October, p. 1–14, 2019.
- CHA, J. W. et al. Protective Effect of 3,4-Dihydroxybenzoic Acid Isolated from *Cladophora*

wrightiana Harvey Against Ultraviolet B Radiation-Induced Cell Damage in Human HaCaT Keratinocytes. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2582–2592, 12 mar. 2014.

CHAN, C. X. et al. Analysis of Porphyrin Membrane Transporters Demonstrates Gene Transfer among Photosynthetic Eukaryotes and Numerous Sodium-Coupled Transport Systems. **Plant Physiology**, v. 158, n. 4, p. 2001–2012, 2 abr. 2012.

CHANDRALEKHA, A. et al. Recent Developments in the Downstream Processing of Phycobiliproteins from Algae: A Review. **Current Biochemical Engineering**, v. 7, n. 1, p. 13–25, 11 nov. 2021.

CHAVES-PENÑA, P. et al. Quantitative and Qualitative HPLC Analysis of Mycosporine-Like Amino Acids Extracted in Distilled Water for Cosmetics Uses in Four Rhodophyta. **Marine Drugs**, v. 18, n. 1, p. 27, 28 dez. 2019.

CHAVES, I. et al. The Cryptochromes: Blue Light Photoreceptors in Plants and Animals. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, n. 1, p. 335–364, 2 jun. 2011.

CHESHIRE, A.; NAYAR, S.; ROOS, G. Understanding the Macroalgal Value Chain. In: [s.l.: s.n.]. p. 1–21.

CLENDENNEN, S. K. et al. PHOTOSYNTHETIC RESPONSE OF THE GIANT KELP MACROCYSTIS PYRIFERA (PHAEOPHYCEAE) TO ULTRAVIOLET RADIATION1. **Journal of Phycology**, v. 32, n. 4, p. 614–620, ago. 1996.

CRUCES, E.; HUOVINEN, P.; GÓMEZ, I. Stress proteins and auxiliary anti-stress compounds in intertidal macroalgae. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 40, n. 4, p. 822–834, 2012.

CULLEN, J. J.; LESSER, M. P. Inhibition of photosynthesis by ultraviolet radiation as a function of dose and dosage rate: Results for a marine diatom. **Marine Biology**, v. 111, n. 2, p. 183–190, 1991.

DAVISON, I. R. et al. Response of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) growth and photosynthesis to simultaneous ultraviolet radiation and nitrogen limitation. **Journal of Phycology**, v. 43, n. 4, p. 636–646, 2007.

DAY, T. A.; NEALE, P. J. Effects of UV-B Radiation on Terrestrial and Aquatic Primary Producers. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 33, n. 1, p. 371–396, nov. 2002.

DOBYCHINA, E. et al. Seasonal Changes in the Concentration of Photosynthetic Pigments

- Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber & D. Mohr. **KnE Life Sciences**, 15 jan. 2020.
- DRING, M. J. et al. Sensitivity of intertidal and subtidal red algae to uva and uvb radiation, as monitored by chlorophyll fluorescence measurements: Influence of collection depth and season, and length of irradiation. **European Journal of Phycology**, v. 31, n. 4, p. 293–302, 1996.
- DRING, M. J.; LÜNING, K. Photomorphogenesis of Marine Macroalgae. In: **Photomorphogenesis**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1983. p. 545–568.
- DUBOIS, M. et al. A colorimetric method for the determination of sugars. **Nature**, v. 168, n. 4265, p. 167, 1951.
- EDWARDS, P. Illustrated Guide to the Seaweeds and Sea Grasses in the Vicinity of Porto Arkansas. **Marine Science**, v. 15, p. 1–228, 1970.
- EILERS, P. H. C.; PEETERS, J. C. H. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. **Ecological Modelling**, v. 42, n. 3–4, p. 199–215, set. 1988.
- ENDO, Y.; USUKI, R.; KANEDA, T. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 62, n. 9, p. 1375–1378, set. 1985.
- F. FIGUEROA, J. AGUILERA, C. JIMÉNEZ, J. J. VERGARA, M. D. ROBLES, F. X. N. C. Growth, pigment synthesis and nitrogen assimilation in the red alga *Porphyra* sp. (Bangiales, Rhodophyta) under blue and red light. **Scientia Marina**, v. 59, p. 9–20, 1995.
- FAO, F. AND A. O. OF THE U. N. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. [s.l.] FAO, 2020.
- FERNANDES, S. C. M. et al. Exploiting Mycosporines as Natural Molecular Sunscreens for the Fabrication of UV-Absorbing Green Materials. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 30, p. 16558–16564, 5 ago. 2015.
- FERRUZZI, M. G.; BLAKESLEE, J. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. **Nutrition Research**, v. 27, n. 1, p. 1–12, jan. 2007.
- FERRUZZI, M. G.; FAILLA, M. L.; SCHWARTZ, S. J. Assessment of Degradation and Intestinal Cell Uptake of Carotenoids and Chlorophyll Derivatives from Spinach Puree Using an In Vitro Digestion and Caco-2 Human Cell Model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 2082–2089, 1 abr. 2001.

- FIGUEROA, F. et al. Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 151, p. 81–90, 1997.
- FIGUEROA, F. L. Effects of light quality on nitrate reductase and glutamine synthetase activities in the red alga *Porphyra leucosticta*. **Scientia Marina**, v. 60, p. 163–170, 1996.
- FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J.; NIELL, F. X. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta). **European Journal of Phycology**, v. 30, n. 1, p. 11–18, fev. 1995.
- FIGUEROA, F. L.; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, B.; KORBEE, N. Vulnerability and acclimation to increased UVB radiation in three intertidal macroalgae of different morpho-functional groups. **Marine Environmental Research**, v. 97, p. 30–38, 2014.
- FIGUEROA, L.; ALVAREZ, R. C.-. Relations between electron transport rates determined by pulse amplitude modulated chlorophyll fluorescence and oxygen evolution in macroalgae under different light conditions. p. 259–275, 2003.
- FILIP ROLLAND, ELENA BAENA-GONZALEZ, J. S. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annu Rev Plant Biol**, 2006.
- FLEITA, D.; EL-SAYED, M.; RIFAAT, D. Evaluation of the antioxidant activity of enzymatically-hydrolyzed sulfated polysaccharides extracted from red algae; *Pterocladia capillacea*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1236–1244, out. 2015.
- FLORES-MOYA, A. et al. Involvement of solar UV-B radiation in recovery of inhibited photosynthesis in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Hudson) Lamouroux. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 49, n. 2–3, p. 129–135, abr. 1999.
- FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. Tyrosine and Tryptophane in Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 627–648, 1927.
- FRANKLIN, L. A. et al. Synthesis of mycosporine-like amino acids in *Chondrus crispus* (Florideophyceae) and the consequences for sensitivity to ultraviolet B radiation. **Journal of Phycology**, v. 35, n. 4, p. 682–693, 1999.
- FRANKLIN, L. A.; KRÄBS, G.; KUHLENKAMP, R. BLUE LIGHT AND UV-A RADIATION CONTROL THE SYNTHESIS OF MYCOSPORINE-LIKE AMINO ACIDS IN *CHONDRUS CRISPUS* (FLORIDEOPHYCEAE). **Journal of Phycology**, v. 37, n. 2, p. 257–270, 18 abr. 2001.
- GANTAR, M.; DHANDAYUTHAPANI, S.; RATHINAVELU, A. Phycocyanin Induces

Apoptosis and Enhances the Effect of Topotecan on Prostate Cell Line LNCaP. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 12, p. 1091–1095, dez. 2012.

GARCIA-VAQUERO, M. et al. Polysaccharides from macroalgae: Recent advances, innovative technologies and challenges in extraction and purification. **Food Research International**, v. 99, p. 1011–1020, set. 2017.

GHEDIFA, A. BEN et al. Effects of light quality on the photosynthetic activity and biochemical composition of *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 5, p. 3413–3425, 10 out. 2021.

GRZYMSKI, J.; JOHNSEN, G.; SAKSHAUG, E. THE SIGNIFICANCE OF INTRACELLULAR SELF-SHADING ON THE BIOOPTICAL PROPERTIES OF BROWN, RED, AND GREEN MACROALGAE1. **Journal of Phycology**, v. 33, n. 3, p. 408–414, jun. 1997.

GUDRUN KRABS AND CHRISTIAN WIENCKE. Photosynthesis, photosynthetic pigments and mycosporine-like amino acids after exposure of the marine red alga *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta) to different light qualities. 2005.

GUEDES, A. C. et al. Optimization of ABTS radical cation assay specifically for determination of antioxidant capacity of intracellular extracts of microalgae and cyanobacteria. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 638–643, maio 2013.

HÄDER, D.-P. et al. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 6, n. 3, p. 267–285, 2007.

HÄDER, D.-P.; FIGUEROA, F. L. Photoecophysiology of Marine Macroalgae. **Photochemistry and Photobiology**, v. 66, n. 1, p. 1–14, jul. 1997.

HAN, T.; KAIN (JONES), J. M. BLUE LIGHT PHOTOREACTIVATION IN ULTRAVIOLET-IRRADIATED YOUNG SPOROPHYTES OF *ALARIA ESCULENTA* AND *LAMINARIA SACCHARINA* (PHAEOPHYTA)1. **Journal of Phycology**, v. 29, n. 1, p. 79–81, fev. 1993.

HANELT, D.; WIENCKE, C.; NULTSCH, W. Influence of UV radiation on the photosynthesis of Arctic macroalgae in the field. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 38, n. 1, p. 40–47, 1997.

HARTMANN, A. et al. Analysis of mycosporine-like amino acids by hydrophilic interaction liquid chromatography and a novel MAA from the red alga *Catenella repens*. p. 6291–6305,

2015.

HAYES, M.; TIWARI, B. Bioactive Carbohydrates and Peptides in Foods: An Overview of Sources, Downstream Processing Steps and Associated Bioactivities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 9, p. 22485–22508, 17 set. 2015.

HELBLING, E. W. et al. Photoacclimation of antarctic marine diatoms to solar ultraviolet radiation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 204, n. 1, p. 85–101, 1996.

HEO, S.-J.; JEON, Y.-J. Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-B induced cell damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 95, n. 2, p. 101–107, maio 2009.

HIDEG, É.; JANSEN, M. A. K.; STRID, Å. UV-B exposure, ROS, and stress: Inseparable companions or loosely linked associates? **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 2, p. 107–115, 2013.

HOFFMANN, A. M.; NOGA, G.; HUNSCHE, M. High blue light improves acclimation and photosynthetic recovery of pepper plants exposed to UV stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 254–263, 2015.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 1 mar. 2005.

HWANG, E. K.; PARK, C. S. Seaweed cultivation and utilization of Korea. **ALGAE**, v. 35, n. 2, p. 107–121, 15 jun. 2020.

ISMAIL, M. M.; ALOTAIBI, B. S.; EL-SHEEKH, M. M. Therapeutic Uses of Red Macroalgae. **Molecules**, v. 25, n. 19, p. 4411, 25 set. 2020.

JAIME COPIA, HERNÁN GAETE, GUSTAVO ZÚÑIGA, M. H. & E. C. Effect of ultraviolet B radiation on the production of polyphenols in the marine microalga *Chlorella* sp. **Latin american journal of aquatic research**, 2012.

JEFFREY, S. et al. Occurrence of UVA- and UVB-absorbing compounds in 152 species (206 strains) of marine microalgae. **Marine Ecology Progress Series**, v. 189, p. 35–51, 1999.

JEFFREY, S. W. et al. Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods. In: Monographs on oceanographic methodology. [s.l.] UNESCO Publishing, 2005.

JENKINS, G. I. et al. Plant responses to UV and blue light: biochemical and genetic approaches. **Plant Science**, v. 112, n. 2, p. 117–138, 1995.



- JIAO, G. et al. Natural Polymers with Antioxidant Properties: Poly-/oligosaccharides of Marine Origin. In: **Antioxidant Polymers**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 179–201.
- JIMENEZ-LOPEZ, C. et al. Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. **Food Chemistry**, v. 341, p. 128262, mar. 2021.
- JU, Q. et al. Effects of UV-B radiation and different light repair conditions on the early development of the tetraspores of *Chondrus ocellatus* Holm. **Acta Oceanologica Sinica**, v. 30, p. 100–111, 2011.
- KARSTEN, U.; WIENCKE, C. Factors Controlling the Formation of UV-absorbing Mycosporine-like Amino Acids in the Marine Red Alga *Palmaria palmata* from Spitsbergen (Norway). **Journal of Plant Physiology**, v. 155, n. 3, p. 407–415, set. 1999.
- KIM, D.-O. et al. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3713–3717, 1 jun. 2002.
- KLEJDUS, B. et al. Development of new efficient method for isolation of phenolics from sea algae prior to their rapid resolution liquid chromatographic–tandem mass spectrometric determination. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 135, p. 87–96, fev. 2017.
- KLEM, K. et al. Distinct Morphological, Physiological, and Biochemical Responses to Light Quality in Barley Leaves and Roots. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 14 ago. 2019.
- KLISCH, M.; SINHA, R.; HÄDER, D. UV-absorbing compounds in algae. **Current Topics in Plant Biology**, v. 3, p. 113–120, 1 jan. 2002.
- KOBAYASHI, M. et al. Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 74, n. 1, p. 61–63, jan. 1992.
- KÖNIG, G. M. et al. Biological Activities of Selected Marine Natural Products. p. 532–537, 1994.
- KORBEE, N. Acumulación de aminoácidos tipo micospolina ( MAAs ): biosíntesis , fotocontrol y funciones ecofisiológicas. p. 119–132, 2006.
- KORBEE, N.; FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J. Effect of light quality on the accumulation

of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 80, n. 2, p. 71–78, 2005.

KORBEE, N.; FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina (MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. **Revista chilena de historia natural**, v. 79, n. 1, p. 119–132, mar. 2006.

LATIFI, A.; RUIZ, M.; ZHANG, C.-C. Oxidative stress in cyanobacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 33, n. 2, p. 258–278, mar. 2009.

LEE, D. et al. Anti-inflammatory effects of dulse ( *Palmaria palmata* ) resulting from the simultaneous water-extraction of phycobiliproteins and chlorophyll a. **Food Research International**, v. 100, p. 514–521, out. 2017.

LEE, J. H.; OH, M. M.; SON, K. H. Short-Term Ultraviolet (UV)-A Light-Emitting Diode (LED) Radiation Improves Biomass and Bioactive Compounds of Kale. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. August, p. 1–13, 2019.

LIU, M.; HANSEN, P. E.; LIN, X. Bromophenols in Marine Algae and Their Bioactivities. **Marine Drugs**, v. 9, n. 7, p. 1273–1292, 22 jul. 2011.

LOPEZ-FIGUEROA, F.; NIELL, F. X. Red-light and blue-light photoreceptors controlling chlorophyll a synthesis in the red alga *Porphyra umbilicalis* and in the green alga *Ulva rigida*. **Physiologia Plantarum**, v. 76, n. 3, p. 391–397, jul. 1989.

LUEDER, U. et al. Photochemistry of iron in aquatic environments. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 22, n. 1, p. 12–24, 2020.

LUIMSTRA, V. M. et al. Blue light reduces photosynthetic efficiency of cyanobacteria through an imbalance between photosystems I and II. **Photosynthesis Research**, v. 138, n. 2, p. 177–189, 2018.

MARTINEAU, V. et al. Comparison of Light-emitting Diode and High-pressure Sodium Light Treatments for Hydroponics Growth of Boston Lettuce. **HortScience**, v. 47, n. 4, p. 477–482, abr. 2012.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659–668, abr. 2000.

MEHTA, P. et al. High-Value Coproducts from Algae—An Innovative Way to Deal with Advance Algal Industry. In: [s.l: s.n.]. p. 343–363.

- MÉNARD, C. et al. DEVELOPMENTAL AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF TOMATO AND CUCUMBER TO ADDITIONAL BLUE LIGHT. **Acta Horticulturae**, n. 711, p. 291–296, jun. 2006.
- METSOVITI, M. N. et al. Effect of Light Intensity and Quality on Growth Rate and Composition of *Chlorella vulgaris*. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 31, 24 dez. 2019.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, set. 2002.
- MOHAPATRA, L.; PANIGRAHY, R.; BHATTAMISRA, S. K. Therapeutic health booster : seaweeds against several maladies. **Indian Journal of Geo-Marine Science**, v. 42, n. September, p. 538–546, 2013.
- MOHEIMANI, N. R.; PARLEVLIET, D. Sustainable solar energy conversion to chemical and electrical energy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 494–504, nov. 2013.
- NAYLOR, R. L. et al. A 20-year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, v. 591, n. 7851, p. 551–563, 25 mar. 2021.
- OKOLIE, CHIGOZIE LOUIS, BETH MASON, AND A. T. C. Seaweeds as a source of proteins for use in pharmaceuticals and high-value applications. In: **Novel Proteins for Food, Pharmaceuticals, and Agriculture: Sources, Applications, and Advances**. [s.l.: s.n.]. p. 217.
- OURIQUES, L. C. et al. Physiological, morphological and ultrastructural responses to exposure to ultraviolet radiation in the red alga *Aglaothamnion uruguayense* (W.R. Taylor). **Revista Brasileira de Botanica**, v. 40, n. 3, p. 783–791, 2017.
- P, Ó CARRA & C, HE. Algal biliproteins and phycobilins. In: **Goodwin T.W.** [s.l.: s.n.]. p. 328–376.
- PAGELS, F. et al. Light quality triggers biochemical modulation of *Cyanobium* sp.— photobiology as tool for biotechnological optimization. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 5, p. 2851–2861, 2020.
- PAVIA, H.; BROCK, E. Extrinsic factors influencing phlorotannin production in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 193, p. 285–294, 12 out. 2000.
- PEREIRA, D. T. et al. Comparative study of the effects of salinity and UV radiation on metabolism and morphology of the red macroalga *Acanthophora spicifera* (Rhodophyta, Ceramiales). **Photosynthetica**, v. 56, n. 3, p. 799–810, 1 ago. 2018.

- PEREIRA, D. T. et al. Effects of ultraviolet radiation on the morphophysiology of the macroalga *Pyropia acanthophora* var. *brasiliensis* (Rhodophyta, Bangiales) cultivated at high concentrations of nitrate. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 4, p. 1–14, 2020.
- PEREIRA, L. Macroalgae. **Encyclopedia**, v. 1, n. 1, p. 177–188, 7 fev. 2021.
- PEREIRA, R.; YARISH, C. Mass Production of Marine Macroalgae. In: **Encyclopedia of Ecology**. [s.l.] Elsevier, 2008. p. 2236–2247.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, E. et al. Effects of UV radiation on photosynthesis and excretion of UV-absorbing compounds of *Dasycladus vermicularis* (Dasycladales, Chlorophyta) from southern Spain. **Phycologia**, v. 37, n. 5, p. 379–387, 1998.
- POLO, L. K. et al. Photoacclimation Responses of the Brown Macroalga *Sargassum Cymosum* to the Combined Influence of UV Radiation and Salinity: Cytochemical and Ultrastructural Organization and Photosynthetic Performance. **Photochemistry and Photobiology**, v. 90, n. 3, p. 560–573, maio 2014.
- POLO, L. K.; CHOW, F. Physiological performance by growth rate, pigment and protein content of the brown seaweed *Sargassum filipendula* (Ochrophyta: Fucales) induced by moderate UV radiation exposure in the laboratory. **Scientia Marina**, v. 84, n. 1, p. 59–70, 2020.
- PROVASOLI, L. Growing marine seaweeds. **Seaweed Symp**, v. 4, p. 9–17, 1963.
- PUNAMPALAM, R.; KHOO, K. S.; SIT, N. W. Evaluation of antioxidant properties of phycobiliproteins and phenolic compounds extracted from *Bangia atropurpurea*. **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 14, n. 2, p. 289–297, 3 jun. 2018.
- QUEIROZ ZEPKA, L.; JACOB-LOPES, E.; ROCA, M. Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. **Current Opinion in Food Science**, v. 26, p. 94–100, abr. 2019.
- RAI, N.; MORALES, L. O.; APHALO, P. J. Perception of solar UV radiation by plants: photoreceptors and mechanisms. **Plant Physiology**, v. 186, n. 3, p. 1382–1396, 6 jul. 2021.
- RAMLOV, F. **Variação sazonal dos carotenóides e compostos fenólicos e estudos fisiológicos em diferentes estádios reprodutivos de *Gracilaria domingensis* (Kütz.) Sonder ex Dickie (Gracilariales, Rhodophyta)**. [s.l: s.n.].
- RATHOUR, R. K. et al. Seaweed Cultivation and Its Biobusiness Status Around the World. In: [s.l: s.n.]. p. 151–182.
- RAUTENBERGER, R. et al. Photosynthetic responses to UV-radiation of intertidal

- macroalgae from the Strait of Magellan (Chile). **Revista chilena de historia natural**, v. 82, n. 1, p. 43–61, mar. 2009.
- RAVI, M. et al. Molecular mechanism of anti-cancer activity of phycocyanin in triple-negative breast cancer cells. **BMC Cancer**, v. 15, n. 1, p. 768, 23 dez. 2015.
- RAY F. EVERT ; SUSAN E. EICHHORN. Raven BIOLOGY OF PLANTS. 2013.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1 maio 1999.
- RECH, M. et al. Long-term acclimation to UV radiation: Effects on growth, photosynthesis and carbonic anhydrase activity in marine diatoms. **Botanica Marina**, v. 48, n. 5–6, p. 407–420, 2005.
- ROLEDA, M. et al. PAR and UVBR effects on photosynthesis, viability, growth and DNA in different life stages of coexisting Gigartinales: implications for recruitment and zonation pattern. **Marine Ecology Progress Series**, v. 281, p. 37–50, 2004.
- ROSCOE, B. Photochemische Untersuchungen. **Poggendorffs Annalen**, v. 96, p. 373–394, 1855.
- RÜDIGER, W.; LÓPEZ-FIGUEROA, F. PHOTORECEPTORS IN ALGAE. **Photochemistry and Photobiology**, v. 55, n. 6, p. 949–954, 1992.
- RUSSELL, A. W. et al. Photosystem II Regulation and Dynamics of the Chloroplast D1 Protein in Arabidopsis Leaves during Photosynthesis and Photoinhibition. **Plant Physiology**, v. 107, n. 3, p. 943–952, 1 mar. 1995.
- SANTIAÑEZ, W. J.; WYNNE, M. Proposal of Phycocalidia Santiañez & M.J.Wynne nom. nov. to replace Calidia L.-E.Yang & J.Brodie nom. illeg. (Bangiales, Rhodophyta). v. 10, p. 1–3, 2020.
- SCHELLENBERGER COSTA, B. et al. Blue light is essential for high light acclimation and photoprotection in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 2, p. 483–493, jan. 2013.
- SCHINDL, A.; ROSADO-SCHLOSSER, B.; TRAUTINGER, F. Reciprocity regulation in photobiology. An overview. **Der Hautarzt**, v. 52, n. 9, p. 779–785, 1 set. 2001.
- SCHMIDT, É. C.; MARASCHIN, M.; BOUZON, Z. L. Effects of UVB radiation on the carragenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales): changes in ultrastructure, growth, and photosynthetic pigments. **Hydrobiologia**, v. 649, n. 1, p. 171–182, 7 jul. 2010.

SCHNEIDER, G. et al. Physiological and biochemical responses driven by different UV-visible radiation in: *Osmundea pinnatifida* (Hudson) Stackhouse (Rhodophyta). **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 19, n. 12, p. 1650–1664, 2020a.

SCHNEIDER, G. et al. Photoprotection properties of marine photosynthetic organisms grown in high ultraviolet exposure areas: Cosmeceutical applications. **Algal Research**, v. 49, n. July 2019, p. 101956, 2020b.

SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research**, v. 10, n. 1–2, p. 51–62, 1986.

SHIMEI FU ,SONG XUE ,JUN CHEN ,SHUAI SHANG ,HUI XIAO ,YU ZANG, AND X. T. Effects of Different Short-Term UV-B Radiation Intensities on Metabolic Characteristics of *Porphyra haitanensis*. **International Journal of Molecular Sciences**, 2021.

SINGH, N. K. et al. The phycobilisomes: An early requisite for efficient photosynthesis in cyanobacteria. **EXCLI Journal**, v. 14, p. 268–289, 2015.

SMITH, K. C. **American Society for Photobiology**.

SMITH, K. C. **PHOTOBIOLOGICAL SCIENCES ONLINE**. Disponível em: <<http://www.photobiology.info/>>.

STADNICHUK, I. N.; TROPIN, I. V. Phycobiliproteins: Structure, functions and biotechnological applications. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 53, n. 1, 2017.

SU, S. et al. Optimization of the method for chlorophyll extraction in aquatic plants. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 25, n. 4, p. 531–538, 2010.

SU, S. et al. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 37, n. 2, p. 1–14, 2 nov. 2020.

SUTHERLAND, J. E. et al. A NEW LOOK AT AN ANCIENT ORDER : GENERIC REVISION OF THE BANGIALES ( RHODOPHYTA ) 1. v. 1151, p. 1131–1151, 2011.

SZCZYGIEL, M. et al. Central Metal Determines Pharmacokinetics of Chlorophyll-Derived Xenobiotics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4412–4418, 1 ago. 2008.

TAKAHASHI, M.; MIKAMI, K. Blue–red chromatic acclimation in the red alga *Pyropia yezoensis*. **Algal Research**, v. 58, p. 102428, out. 2021.

TALARICO, L.; MARANZANA, G. Light and adaptive responses in red macroalgae: an overview. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 56, n. 1, p. 1–11, jun. 2000.

TAMULAITIS, G. et al. High-power light-emitting diode based facility for plant cultivation. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 38, n. 17, p. 3182–3187, 7 set. 2005.

TANDEL, K. et al. Seaweed Cultivation in India, A New Opportunity of Revenue Generation. **Advances in Life Sciences (ISSN 2278-3849)**, p. 2487–2491, 2016.

TAULAVUORI, K. et al. Blue Mood for Superfood. **Natural Product Communications**, v. 8, n. 6, p. 1934578X1300800, 1 jun. 2013.

TAYLOR-EDMONDS, L. et al. The impact of dose, irradiance and growth conditions on *Aspergillus niger* (renamed *A. brasiliensis*) spores low-pressure (LP) UV inactivation. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 50, n. 4, p. 341–347, 21 mar. 2015.

THOMAS, B.; DICKINSON, H. G. Evidence for two photoreceptors controlling growth in de-etiolated seedlings. **Planta**, v. 146, n. 5, p. 545–550, out. 1979.

TSEKOS, I. et al. Ultrastructure of the vegetative gametophytic cells of *Porphyra leucosticta* (Rhodophyta) grown in red, blue and green light. **Phycological Research**, v. 50, n. 4, p. 251–264, 2002.

VAN DE POLL, W. H. et al. Effects of UV-B-induced DNA damage and photoinhibition on growth of temperate marine red macrophytes: Habitat-related differences in UV-B tolerance. **Journal of Phycology**, v. 37, n. 1, p. 30–38, 2001.

VEERAGURUNATHAN, V. et al. *Gracilaria debilis* cultivation, agar characterization and economics: bringing new species in the ambit of commercial farming in India. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 4, p. 2609–2621, 14 ago. 2019.

VEGA, J. et al. Cyanobacteria and Red Macroalgae as Potential Sources of Antioxidants and UV Radiation-Absorbing Compounds for Cosmeceutical Applications. **Marine Drugs**, v. 18, n. 12, p. 659, 21 dez. 2020.

VEGA, J. et al. Mycosporine-Like Amino Acids from Red Macroalgae: UV-Photoprotectors with Potential Cosmeceutical Applications. **Applied Sciences**, v. 11, n. 11, p. 5112, 31 maio 2021.

VILLAFANE, V. E. et al. Photosynthesis in the aquatic environment as affected by UVR, in UV effects in aquatic organisms and ecosystems. In: [s.l: s.n.]. p. 357–397.

- VIÑEGLA, B. Effect of solar and artificial UV radiation on photosynthetic performance and carbonic anhydrase activity in intertidal macroalgae from southern Spain. **Ciencias Marinas**, v. 35, n. 1, p. 59–74, 15 mar. 2009.
- VIRŠILĒ, A. et al. The possibility to control the metabolism of green vegetables and sprouts using light emitting diode illumination. **Sodininkystė ir daržininkystė**, v. 27, p. 83–92, 2008.
- WAN, A. H. L. et al. Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 458–492, ago. 2019.
- WANG, S. et al. Changes in the fucoxanthin production and protein profiles in *Cylindrotheca closterium* in response to blue light-emitting diode light. **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, p. 1–13, 2018.
- WANG, X. et al. Effect of light quality on growth, ultrastructure, pigments, and membrane lipids of *Pyropia haitanensis*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 6, p. 4189–4197, 2020.
- WANG, Y. et al. Effects of Temperature and Light on Growth Rate and Photosynthetic Characteristics of *Sargassum horneri*. **Journal of Ocean University of China**, v. 20, n. 1, p. 101–110, 12 fev. 2021.
- WARPEHA, K. M. F.; MARRS, K. A.; KAUFMAN, L. S. Blue-Light Regulation of Specific Transcript Levels in *Pisum sativum*. **Plant Physiology**, v. 91, n. 3, p. 1030–1035, 1989.
- WIM VAN DEN ENDE, R. V. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? **J Exp Bot**, 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Artificial tanning sunbeds: risk and guidance. **Artificial tanning sunbeds: risk and guidance**, p. 20, 2003.
- WU, G.-J. et al. Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum cristaefolium*. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 16–23, fev. 2016.
- XUE, L. et al. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on algae and cyanobacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 31, n. 2, p. 79–89, 2005.
- YANG, L.-E.; LU, Q.-Q.; BRODIE, J. A review of the bladed Bangiales (Rhodophyta) in China: history, culture and taxonomy. **European Journal of Phycology**, v. 52, n. 3, p. 251–263, 3 jul. 2017.
- YANG, L. et al. Redefining *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta): Four New Genera, Resurrection of *Porphyrella* and Description of *Calidia pseudolobata* sp. nov. From China. **Journal of Phycology**, v. 56, n. 4, p. 862–879, 12 ago. 2020.



YANG Z, LIU B, SU J, LIAO J, LIN C, O. Y. Cryptochromes Orchestrate Transcription Regulation of Diverse Blue Light Responses in Plants. **Photochem Photobiol.**, 2017.

YOUNG-HEE CHO, S.-D. Y. Signaling Role of Fructose Mediated by FINS1/FBP in *Arabidopsis thaliana*. **PLoS Genet**, 2011.

ZHENG, Y.; GAO, K. Impacts of solar uv radiation on the photosynthesis, growth, and uv-absorbing compounds in *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) grown at different nitrate concentrations. **Journal of Phycology**, v. 45, n. 2, p. 314–323, 2009.