

# **Botânica Marinha**

**Vanda Brotas**



**Outubro de 2000**

As algas negro-cerrado,  
que eu trouxe da beira-mar,  
guardo-as num missal doirado,  
onde costumo cismar.

Às vezes, triste e cansado  
quando o vou a folhear,  
dentro do livro encantado  
eu oiço as algas chorar...

Choram os tempos de quando  
viviam no mar em bando  
com os peixes e as areias.

E eu cismo, ao ver esses trapos,  
que as algas são os farrapos  
dos vestidos das sereias.

António Nobre  
“As Algas”, in Poesia Completa de António Nobre

## INDICE

Introdução.....	5
Avaliação.....	5
Programa teórico .....	6
Capítulo I. Classificação filogenética das algas, morfologia e ciclos de vida.....	6
Classificação filogenética.....	6
Nomenclatura botânica.....	7
Diversidade morfológica .....	8
Fontes de carbono.....	8
A Moderna taxonomia pós Biologia Molecular .....	8
A teoria endossimbiontica dos cloroplastos.....	9
Reprodução e ciclos de vida.....	9
Capítulo II - Ambiente aquático.....	10
Radiação luminosa .....	10
Temperatura e salinidade.....	11
Composição da água salgada, química da zona eufótica.....	12
Razão de Redfield .....	12
Gases dissolvidos: azoto, oxigénio e dióxido de carbono .....	12
Capítulo III. Produção primária marinha.....	13
Pigmentos e Complexos Captadores de Luz .....	13
Espectros de absorção da luz.....	13
Curvas de Fotossíntese-Radiação .....	14
Adaptação a condições de Luz e Sombra .....	14
Adaptação à qualidade da luz.....	15
Produtividade primária nos ecossistemas costeiros e oceânicos .....	15
Capítulo IV – Crescimento, Absorção e disponibilidade de nutrientes.....	16
Absorção de nutrientes inorgânicos .....	16
Absorção de nutrientes pelas células.....	16
Taxa de crescimento e tomada de nutrientes .....	17
Nutrientes limitantes para o crescimento.....	17
Disponibilidade de nutrientes no meio natural.....	18
Capítulo V - Fitoplâncton.....	18
Classificação em relação ao tamanho .....	18
Métodos de estudo do Fitoplâncton.....	19
Evolução sazonal do fitoplâncton.....	20
Fenómenos de upwelling e produtividade.....	21
Capítulo VI - Florescimento de Algas Nocivas ou “Harmful Algal Blooms”.....	21
Breve resenha histórica .....	22
Ocorrência de HABs .....	22
Tipos e caracterização de toxinas .....	22
Significado ecológico das toxinas? .....	23
Ocorrência de HABs está a aumentar por causas antropogénicas?.....	24
Marés verdes.....	24
Capítulo VII - Comunidades de Microalgas Bênticas .....	24
Caracterização e ocorrência.....	24
Função nos ecossistemas costeiros .....	25
Fotoperiodismo e ritmos endógenos.....	26
Factores que afectam a sua distribuição .....	26
Metodologias de estudo.....	26
Capítulo VII - Ecologia das comunidades de Macroalgas .....	26
Padrões de Zonação.....	27

Quais os factores que afectam a distribuição das macroalgas? .....	27
Marés .....	27
Limites superiores: efeitos da dessecação .....	27
Limites inferiores: competição, herbivoria e radiação luminosa.....	28
Conclusões sobre os padrões de zonação .....	28
Dinâmica de populações e sucessão de espécies .....	29
Capítulo VIII - Angiospérmicas marinhas. Eutrofização. Tendências actuais na investigação .....	29
Angiospérmicas marinhas .....	29
Alterações do ambiente natural .....	29
Tendências actuais da investigação da Botânica Marinha.....	30
Programa Teórico-Prático .....	31
Parte A - Aulas .....	31
Parte B –Seminários .....	32
Programa Prático .....	35
Bibliografia Aulas Teóricas.....	37
Moradas na Internet.....	39
Bibliografia Aulas Teórico-Práticas e Aulas Práticas .....	40
Anexo 1. Protocolo para determinação da fluorescência da Clorofila <i>a</i> como indicadora da eficiência fotossintética, através da utilização do PAM .....	41
Anexo 2. Protocolo para determinação da Clorofila <i>a</i> e feopigmentos para o microfitobentos por espectrofotometria .....	44
Procedimento experimental .....	46
Anexo 3. Regras para escrever um relatório ou um artigo científico. ....	49

## **Introdução**

A disciplina de Botânica Marinha é opção de área para os alunos das Licenciaturas em Biologia e Biologia Aplicada aos Recursos Animais, e opção livre para os alunos das Licenciaturas em Biologia Vegetal Aplicada e Biologia Microbiana e Genética. A disciplina pode ser frequentada por alunos do 3º e 4º anos. É uma disciplina do 1º semestre, com uma escolaridade de 3,5 créditos, divididos do seguinte modo: 1,5 para as aulas teóricas, 1 para as aulas teórico-práticas e 1 para aulas práticas. O que, por semestre, corresponde a 15 horas de aulas teóricas, 22 horas de aulas teórico-práticas e 40 horas de aulas práticas.

Este trabalho constitui um documento de apoio para os docentes e alunos da disciplina, apresentando a matéria leccionada nas aulas de um modo geral, sem pretender reflectir o exacto conteúdo das aulas.

## **Avaliação**

A avaliação da disciplina inclui:

A - Exame teórico e individual, sem consulta, com a duração máxima 2h30 - 45% da nota final.

B - Apresentação do seminário nas aulas teórico-práticas - avaliação individual da exposição - 10% da nota final.

C - Aulas práticas, onde a avaliação é tripartida. Compreende avaliação contínua, onde será dada atenção aos seguintes aspectos: capacidade de formular hipóteses científicas, capacidade de elaborar um protocolo experimental para testar as hipóteses formuladas, facilidade no desempenho das tarefas laboratoriais - 10% da nota final.

Seminário com exposição do trabalho para os docentes e colegas da turma a realizar na última aula teórica; cada grupo dispõe de um período máximo de 15 minutos, seguido de perguntas – avaliação individual da exposição - 10% da nota final.

Avaliação do relatório escrito - 25% da nota final.

## **Programa teórico**

A Botânica Marinha compreende uma grande diversidade de espécies de algas e algumas espécies de angiospérmicas. Apenas cerca de 0,01% das plantas com flores se adaptaram ao ambiente marinho submerso, pelo que o termo Botânica Marinha é frequentemente tomado como a área do conhecimento em que se estudam as algas, sob a perspectiva da sua função no ecossistema.

O termo algas não constitui nenhuma classificação taxonómica. As algas constituem um grupo heterogéneo de organismos, fotossintéticos, produtores de oxigénio, não-vasculares e com estruturas reprodutoras desprotegidas.

### **Capítulo I. Classificação filogenética das algas, morfologia e ciclos de vida.**

#### *Classificação filogenética*

Classicamente, as características diagnosticantes para as diversas classes de algas são o tipo de pigmentos, a natureza das substâncias de reserva, e o número, tipo e morfologia dos flagelos. Registe-se que, para as macroalgas, a cor do talo foi introduzida como uma característica taxonómica desde 1836.

Apresenta-se uma tabela com a Classificação filogenética, segundo Dawes, 1998 (Tabela 1). Descrevem-se as divisões e classes taxonómicas das algas e suas características principais, com o apoio de esquemas e/ou fotografias. Na abordagem da classificação filogenética está subjacente a origem dos vários grupos de algas, que será situada na escala evolutiva da biosfera. A distribuição e ocorrência das diversas divisões e classes nos ecossistemas aquáticos, costeiros, e oceânicos são discutidas, assim como o número de espécies conhecidas e a sua relevância para o ecossistema que ocupam. É apresentado o contraponto da vertente ecológica dessas características bioquímicas e morfológicas. Por exemplo, a constituição (com elevada quantidade de mucopolissacáridos) da parede celular das macroalgas é uma estratégia de protecção face ao elevado hidrodinamismo da faixa intermareal; ou ainda, há evidências de que o carbonato de cálcio da parede dos cocolitoforídeos constitui uma importante fonte de retenção de CO<sub>2</sub>.

Livros de texto como Dring, 1982, South & Whittick, 1987, Dawes, 1998, apresentam tabelas de classificação com algumas diferenças. Esta questão deve ser amplamente discutida, explicando que ligeiras alterações nos critérios produzem diferenças em algumas divisões e

classes taxonómicas, com especial incidência em grupos de organismos unicelulares. É uma das questões paradigmáticas para ilustrar a dialéctica certezas /incertezas sobre o conhecimento da sistemática. Discute-se também a classificação filogenética “em forma de leque” apresentada por Hoek e colaboradores em 1995.

Tabela 1

Divisão/Classe	Nome comum
<u>Cianobactérias</u>	
Cyanophyta	Algas Azuis
Prochlorophyta	Prochlorófitas
<u>Algas</u>	
Rhodophyta	Algas vermelhas
Chlorophyta	Algas verdes
Euglenophyta	Euglenas
Phaeophyta	Algas castanhas
Chrysophyta	
Chrysophyceae	Algas douradas
Xanthophyceae	Algas amarelas
	Diatomáceas
Bacillariophyceae	Cocolitoforídeos (parte)
Prymnesiophyceae	
Eustigmatophyceae	Cloromonadas
Raphidophyceae	Dinoflagelados
Pyrrophyta	Criptomonadas
Cryptophyta	

Tabela adaptada de Dawes, 1998.

Por fim, a classificação das algas é relacionada com os sistemas de classificação dos organismos em cinco reinos, introduzido na disciplina de Biologia Vegetal. As divisões constituídas por algas devem estar incluídas no Reino Protista ou Reino Vegetal? Esta polémica tem sido alimentada com diversos argumentos, prolongando-se por tanto tempo, que atingiu contornos quase metafísicos. Actualmente, existem duas hipóteses fortes, uma que coloca as divisões de microalgas nos protistas e as de macroalgas nas plantas, e outra que coloca todas as divisões de algas no Reino Protista.

#### *Nomenclatura botânica*

A terminação específica de cada taxa é consistente, e segue o Código Internacional da Nomenclatura Botânica, sumarizada no seguinte exemplo:

Divisão:	Phaeophyta	phyta
Classe:	Phaeophyceae	phyceae
Ordem:	Fucales	ales
Família:	Fucaceae	aceae
Gênero	<i>Fucus</i>	
Espécie	<i>vesiculosus</i>	

### *Diversidade morfológica*

Porque é que a diversidade morfológica nas algas é tão elevada? Esta pergunta é parcialmente respondida pela hipótese de representarem “experiências da evolução”, mas não explica a manutenção dessa diversidade. Definem-se os principais tipos morfológicos de algas: unicelulares, coloniais, filamentosas, cenocíticas e parenquimatosas.

De ressaltar ainda que a diversidade na morfogénese e desenvolvimento nas macroalgas contrasta com a uniformidade encontrada para as plantas vasculares. Com efeito, nas macroalgas, a divisão celular pode ocorrer numa região meristemática ou então através de todo a planta. As regiões meristemáticas encontram-se com mais frequência no apex, mas também podem ocorrer na base ou em zonas intercalares.

### *Fontes de carbono*

A vasta maioria das algas é fotoautotrófica, i.e., usam a luz como fonte de energia para produzir compostos (reduzidos) de carbono orgânico, a partir de compostos de carbono inorgânicos (mais oxidados). No entanto, existem por exemplo no caso das Euglenas ou dos Dinoflagelados, organismos heterotróficos, ou mixotróficos (em que os processos de heterotrofia e autotrofia podem alternar, inclusivamente no mesmo indivíduo). Para os Dinoflagelados, foram referidas espécies saprófitas, fagotróficas, que ingeriam outros organismos, como bactérias, e, recentemente, foi descrito o bizarro comportamento de *Pfiesteria piscicida*, que intoxica e mata peixes, e a seguir invade e ingere o seu interior.

### *A Moderna taxonomia pós Biologia Molecular*

O estudo da sistemática molecular, ou evolução molecular, baseia-se em dois aspectos do conhecimento muito recentes. Um é a possibilidade de decifrar sequências de aminoácidos ou nucleótidos em DNA e RNA, e outro, é a possibilidade de analisar em programas de computador, a imensa quantidade de dados gerada. Não restam dúvidas de que, a sistemática molecular, ao comparar moléculas com a mesma função, nos vários ramos filogenéticos, irá ter a última palavra no que respeita o nosso conhecimento sobre a evolução.



Neste momento, estamos numa fase transitória, em que o conhecimento de sistemática molecular existente sobre as divisões de algas não é ainda suficiente para alterar as actuais classificações filogenéticas, com o acordo unânime dos especialistas. Com efeito, estes procuram uma classificação que tenha em conta a comparação de sequências moleculares em conjunto com critérios morfológicos e de desenvolvimento.

Um processo semelhante ocorreu, nos anos 60, com o desenvolvimento da tecnologia de microscopia electrónica, que transformou as até então Cianófitas nas Cianobactérias, incluindo-as nos Procariotas. Para efeitos de classificação dos géneros e das espécies, no entanto, continuam-se a utilizar as características morfológicas e os livros de sistemática clássicos.

#### *A teoria endosimbiontica dos cloroplastos*

Os cloroplastos apresentam características morfológicas que também são utilizadas para a classificação do taxon a que pertencem.

A origem dos cloroplastos mantem-se um dos tópicos mais intrigantes e mais estudados em biologia. Faz-se a perspectiva histórica desta questão, que remonta a 1905. Apresentam-se as duas teorias vigentes, a teoria de origem múltipla dos plastos endosimbiontes, em que os plastos teriam sido originados a partir de vários acontecimentos de endosimbiose, ao longo da evolução; e a teoria da origem unica de todos os plastos, que resultariam de uma evolução a partir de um único evento endosimbótico. Grande parte da investigação nesta área é realizada a partir das análises de pequenas subunidades de RNA ribossomal (designados por ssu rRNAs). A análise dos ssu rRNAs também tem sido utilizada para elaborar relações filogenéticas. A variedade de árvores geneológicas que podemos neste momento encontrar na bibliografia é comentada e discutida.

#### *Reprodução e ciclos de vida*

Consideram-se três tipos de reprodução, i) vegetativa - crescimento vegetativo, proveniente de divisões mitóticas, que não envolve células ou estruturas especializadas, ii) reprodução assexuada - também proveniente de divisões mitóticas, envolve estruturas especializadas tais como esporos assexuais, iii) reprodução sexuada - envolve meiose e fertilização, alternância de gerações, células e estruturas especializadas. Apresentam-se exemplos para os três casos.

A complexidade dos ciclos de vida das algas levou a que, frequentemente, algas da mesma espécie fossem identificadas como duas espécies distintas. O padrão base de alternância do esporófito e do gametófito apresenta múltiplas variações. No entanto, o ciclo de vida das algas pode ser sumarizado em três tipos fundamentais:

A - Uma só fase morfológica: as células somáticas são haplóides ou diplóides.

B- Duas fases morfológicas: o gametófito é haploide e o esporófito diploide (as duas fases podem ser iso ou heteromorfas)

C - Três fases morfológicas: gametófito haplóide, carposporófito diploide que se desenvolve a partir do gametofito feminino, e esporófito independente e diploide (o tetraesporófito). Esta variante apenas está presente nas Rodófitas.

São apresentados vários exemplos de espécies para cada tipo de ciclo de vida.

A classificação do tipo de ciclo de vida nas algas é feita de acordo com a localização da meiose. Assim, definem-se os seguintes tipos: zigótico, esporico, gamético e somático. Apresentam-se esquemas para cada um destes ciclos. A tabela com as divisões das algas, introduzida para a classificação filogenética é agora apresentada com o tipo de singamia e a localização da meiose para cada divisão.

O ciclo de vida de uma espécie é fruto da interacção da alga com os factores bióticos e abióticos do ambiente. A passagem da reprodução vegetativa para a sexual depende frequentemente de factores ambientais como a luz e a temperatura. Alguns exemplos são apresentados para ilustrar esta questão.

## **Bibliografia**

5 (capítulo 11); 6 (capítulos 1 e 5); 9 (capítulo 1); 12 (capítulo 4); 15 (capítulo 1); 18; 19; 28 (capítulo 5).

(Para consultar as referências completas, ver Bibliografia Aulas Teóricas)

## **Capítulo II - Ambiente aquático**

As características do Ambiente aquático serão abordadas enquanto meio ambiente para as algas, macro e microscópicas.

### *Radiação luminosa*

Espectro electro-magnético. Natureza ondulatória da luz. A energia de um fóton é directamente proporcional à sua frequência. São apresentadas e amplamente discutidas as

expressões  $E=h\nu$  e  $E=hc/\lambda$ . Composição espectral da luz subaquática. Porque é que o mar é azul? A Absorção diferencial do espectro de radiação dentro de água é explicado com exemplos das equações anteriores, em que se estima a energia de fotões de vários comprimentos de onda. Classificação dos tipos de água segundo a atenuação de luz: águas costeiras e oceânicas. Metodologias para medição da luz subaquática. Disco de Secchi, radiómetros. Forma da curva da atenuação da intensidade luminosa em função da profundidade, determinação do coeficiente de extinção. Limites inferiores de distribuição das macroalgas e da produção primária do Fitoplâncton. Introdução da noção de Profundidade de Compensação. Relação dos espectros de absorção de diversos pigmentos com o espectro de luz subaquática. Unidades de medida da luz, em energia ( $\text{J m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e densidade de fotões ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Unidades antigas como lux, lumen  $\text{min}^{-1}$ , etc, cuidados a ter nas respectivas equivalências e conversões.

### *Temperatura e salinidade*

A temperatura e a salinidade são factores considerados em conjunto, uma vez que da sua interacção resulta uma propriedade fundamental, que é a densidade da água do mar.

Definição de salinidade e metodologias de medida. Composição da água do mar e sua uniformidade nos oceanos. Mapa da distribuição da temperatura superficial da água do mar no planeta. Comparação com o mapa da concentração da clorofila *a* no planeta (imagem de satélite). A distribuição da biomassa fitoplânctónica é independente da latitude. Quais são então os factores que regulam a sua abundância?

Variação da temperatura e salinidade com a profundidade. Estratificação vertical da coluna de água. Noção de termoclina e de pycnoclina. Indirectamente, a temperatura influencia a produção primária originando uma termoclina acima da qual existe uma camada de água menos densa, em que os nutrientes vão escasseando à medida que são absorvidos pelos fitoplantontes; os nutrientes da camada de água inferior, mais densa, não ficam assim disponíveis para as células. Processos de mistura de água, hidrodinamismo a larga e a pequena escala. Mapa com as principais correntes oceânicas. Circulações de Langmuir. Definição de *Eddies*, exemplo dos *meddies*, provenientes do Mediterrâneo, que influenciam marcadamente a costa portuguesa.

### *Composição da água salgada, química da zona eufótica*

Elementos majoritários e minoritários. Os elementos majoritários são aqueles que ocorrem em concentrações superiores a 1 ppm, e que constituem 99,9% dos sais dissolvidos na água do mar. Os elementos minoritários ou de traço constituem o restante. Tendo em conta a sua concentração e em relação à sua função nas células, estes elementos também se podem classificar em macro e micronutrientes. Apresenta-se e discute-se uma tabela com funções e utilizações nas algas, para vários destes elementos (exemplo, azoto, função: proteínas, estrutura celular, utilização: aminoácidos; magnésio, função: enzimas, transporte de iões, utilização: clorofila) .

### *Razão de Redfield*

A importância relativa do carbono, azoto e fósforo é melhor compreendida quando se comparam as respectivas razões atómicas na constituição do material vegetal. Em 1934, Redfield demonstrou que na composição química do plâncton, as proporções atómicas entre carbono, azoto e fósforo obedeciam a uma razão constante, C:N:P = 106:16:1. Na água do mar, tanto a razão C:N como a C:P são muito superiores à razão de Redfield, o que sugere serem o nitrato ou o fosfato os elementos limitantes do crescimento.

### *Gases dissolvidos: azoto, oxigénio e dióxido de carbono*

Composição total dos gases dissolvidos na água e na atmosfera, diferenças entre as suas proporções relativas na atmosfera e dentro de água. A actividade biológica joga um papel muito importante na redistribuição do oxigénio e do dióxido de carbono nas camadas sub-superficiais, através da fotossíntese e da respiração. O azoto molecular está envolvido em dois processos microbiológicos antagónicos, a fixação de azoto e a desnitrificação, processos estes, que, nas zonas costeiras podem ter bastante relevância. Relação entre CO<sub>2</sub> e alcalinidade da água, equilíbrio do sistema “CO<sub>2</sub> – carbonato”, influência da fotossíntese no pH da água. Comparação do efeito tampão da água do mar em relação à expressão desta influência em sistemas como pequenos lagos ou barragens.

## **Bibliografia**

1; 5 (capítulo 4); 6 (capítulo 2); 7.

### **Capítulo III. Produção primária marinha**

#### *Pigmentos e Complexos Captadores de Luz*

Caracterização bioquímica e funcional dos três tipos principais de pigmentos envolvidos na fotossíntese: clorofilas, carotenoides e ficobiliproteínas.

Os pigmentos ocorrem no cloroplasto, organizados em complexos de proteínas e pigmentos, que funcionam como antenas receptoras de luz. Os componentes básicos destes complexos são o Fotossistema I e o Fotossistema II (cada fotossistema é formado por um número definido de moléculas de clorofila *a* e de moléculas de  $\beta$ -caroteno, e está associado à variedade de clorofilas e carotenoides existentes nos vários grupos de algas). O terceiro grupo de pigmentos receptores, as ficobilinas (que incluem as ficoeritrinas e as ficocianinas), ocorrem em partículas denominadas ficobilissomas, que se encontram sobre os tilacóides, e não no seu interior, como no caso dos Fotossistemas I e II. Esta matéria é relacionada com o sistema de classificação das algas já explicado, nomeadamente no que se refere aos pigmentos.

#### *Espectros de absorção da luz*

Pelo facto de os pigmentos serem solúveis em solventes orgânicos, as suas propriedades de absorção têm sido estudadas quando as membranas dos cloroplastos estão dissolvidas. O estudo dos espectros de absorção dos pigmentos *in vivo* revela importantes diferenças entre estes e os anteriores. São apresentados, em tabela, complexos proteína-clorofila, para os principais grupos de algas. É discutido o facto de complexo P700 (o centro de reacção do Fotossistema I) ser aparentemente universal, assim como a diversidade de outros complexos existentes. O leque de variação da razão pigmento acessório/ clorofila *a* é discutido.

São apresentados gráficos com o espectro de acção para a fotossíntese e com os espectros de absorção *in vivo* para espécies características dos principais grupos taxonómicos, e discutidas as eventuais implicações ecológicas.

### *Curvas de Fotossíntese-Radiação*

A resposta da taxa fotossintética em relação ao acréscimo da intensidade luminosa segue uma função bem parametrizada, que é conhecida pelo acrónimo inglês “P-I curves” (Curvas Fotossíntese-Radiação). A taxa fotossintética aumenta linearmente com a intensidade da luz, o declive deste acréscimo é designado por  $\alpha$ , até atingir um valor constante,  $P_{max}$ , a intensidade de luz saturante,  $I_k$ . Intensidades de luz excessivamente elevadas podem causar um efeito de fotoinibição, que resulta no decréscimo da taxa fotossintética. Apresenta-se um gráfico com uma curva P-I, ilustrando a determinação de  $P_{max}$ ,  $\alpha$  e  $I_k$ , com exemplos numéricos.

Apresentam-se as possíveis unidades de medida das curvas “P-I”. A intensidade saturante,  $P_{max}$ , expresso em mgC /mgChla/ h, pode ser designado como número de assimilação. Apresentam-se as ordens de grandeza e de variação para  $P_{max}$  (0,1-20 mg C/ mg Chla / h) e  $\alpha$  (0,01-0,2 mg C/ mg Chla / h) para o Fitoplâncton.

A dedução de que a fotossíntese seria compartimentada em fase luminosa e fase escura, foi efectuada a partir da observação da função “P-I”. Alterações da temperatura e da concentração de CO<sub>2</sub> influenciam  $P_{max}$ , mas não o  $\alpha$ , ou seja, trata-se de uma reacção enzimática, influenciada pela temperatura e pela concentração do substrato (o CO<sub>2</sub>), a fase luminosa consiste no processo fotoquímico que depende da luz e do teor em clorofila a. Estas relações são ilustradas graficamente, e amplamente discutidas.

É apresentado e explicado o esquema (o esquema Z, ou em ziguezague) do transporte de electrões da fase luminosa da fotossíntese. A clorofila *a* é o principal pigmento da fotossíntese, todos os outros são considerados acessórios: a energia absorvida por estes últimos é transferida para a clorofila *a*. Faz-se notar que esta transferência é possível uma vez que a clorofila *a* absorve a um c.d.o. superior, necessitando, portanto, menor energia de excitação. Este assunto é relacionado com a composição dos Fotossistemas I (PSI) e II (PSII), já abordada. A maioria dos pigmentos acessórios encontra-se no PSII, enquanto o PSI consiste essencialmente em clorofila *a*. É explicada a transferência de energia do PSII para o PSI.

### *Adaptação a condições de Luz e Sombra*

Células adaptadas a baixas intensidades luminosas apresentam maior concentração em clorofila *a* que células adaptadas a elevadas intensidades, conseqüentemente, são mais eficientes a absorver a luz disponível.

Macroalgas adaptadas a um ambiente com pouca luz e macroalgas que crescem, por exemplo no supralitoral apresentam curvas “P-I” bem distintas. A sua forma tem sido largamente utilizada para avaliar a tolerância fisiológica das espécies. As moléculas de clorofila *a* estão distribuídas em “PSUs”, unidades fotossintéticas, em que cada uma consiste em 300-400 moléculas de Chla associadas a um centro de reacção. O processo de fotoaclimação pode seguir um dos dois caminhos: 1) aumento do número de moléculas de Chla por PSU de modo a aumentar o tamanho de cada unidade ou 2) desenvolvimento de novas unidades PSU, de modo a que o seu número aumenta, mas o seu tamanho se mantém constante. Cada uma destas estratégias tem resultados opostos. Enquanto a primeira não provoca alteração no valor de  $P_{max}$ , apenas na eficiência fotossintética,  $\alpha$ , a segunda induz alterações tanto em  $P_{max}$  como em  $\alpha$ . No entanto, se a produção fotossintética for expressa em função da quantidade de clorofila *a*, em vez de ser expressa por área ou peso, as conclusões são diversas. Toda esta matéria tem de ser explicada com gráficos que ilustrem todas as situações, no âmbito da ocorrência e distribuição de várias espécies típicas.

#### *Adaptação à qualidade da luz*

A alteração do tipo de pigmentos acessórios e das suas proporções respectivas face a alterações do espectro visível é explicada, através de diferentes composições pigmentares no mesmo grupo taxonómico, a profundidades diferentes. Existem, na bibliografia, numerosas experiências simples e ilustrativas, da resposta pigmentar de espécies sujeitas a diferentes c.d.o..

#### *Produtividade primária nos ecossistemas costeiros e oceânicos*

A comparação entre as produtividades dos diversos ecossistemas terrestres e aquáticos não é tarefa óbvia, dada a grande diversidade de metodologias utilizadas. No entanto, no contexto de estudo da Ecologia, tais comparações são elucidativas e indispensáveis. Existem na bibliografia, algumas tabelas de comparação de biomassa e produção primária por unidade de área, que incluem estimativas de áreas para os diversos ecossistemas. Deste modo, as produções marinhas e terrestres totais podem ser comparadas. Apresentam-se tabelas com valores de produção primária total por ano para diferentes comunidades vegetais, e, a nível do planeta, das produções dos vários ecossistemas, por unidade de área e considerando a sua extensão total. Ressaltam-se aqui os trabalhos de Margalef, que efectuam estas comparações em termos globais, explicando a rentabilidade superior dos ecossistemas terrestres, através do exemplo comparativo da árvore e do ecossistema aquático, em que a questão limitante, o aporte de nutrientes às células,

é “resolvido”, na árvore, pelo floema, enquanto que, no ecossistema aquático, está dependente de energias externas, tais como as correntes ou o vento, que coloquem os nutrientes de novo sob o alcance das células.

#### *Nova produção e produção reciclada*

Nova produção é a parte da produção primária total que excede o metabolismo da comunidade local. Depende de nutrientes alóctonos em relação à zona eufótica. Enquanto que a nova produção está associada às formas oxidadas do azoto, nomeadamente o nitrato, a produção reciclada está associada à amónia (proveniente da degradação da matéria orgânica).

### **Bibliografia**

5 (capítulo 4); 12 (capítulos 4 e 9); 15 (capítulo 4); 17; 23.

## **Capítulo IV – Crescimento, Absorção e disponibilidade de nutrientes**

### *Absorção de nutrientes inorgânicos*

As algas necessitam de vários tipos de nutrientes para o seu crescimento. Elementos como azoto e fósforo (e sílica para o caso das diatomáceas) são necessários em elevadas quantidades, pelo que são designados por macronutrientes. Todos os outros, cuja importância varia consoante as espécies são considerados micronutrientes. São apresentadas as várias formas de azoto, discutida a função de elementos como o fósforo, a sílica, o cálcio, o potássio, o enxofre, os elementos traço e as vitaminas. Esta matéria é relacionada com a questão dos elementos maioritários e minoritários da água do mar, abordada no capítulo II.

Ainda em relação ao azoto, é discutida a absorção diferencial do nitrato e da amónia pelas células. É igualmente referida a absorção de compostos de azoto orgânico, tais como a ureia e diversos aminoácidos, nomeadamente para diversas espécies de microalgas. Aparentemente apenas nas Pheophyta não é observado este processo.

### *Absorção de nutrientes pelas células*

A entrada de nutrientes na célula pode ou não requerer energia. Os processos não energéticos incluem a adsorção de elementos pela parede celular, e o transporte passivo, de elementos como o  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{N}_2$ , que se realiza por difusão. A entrada de iões, tais como o  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^-$ , requer transporte activo, com o consequente dispêndio de energia.



A taxa de *uptake* do nutriente depende da sua concentração no meio ambiente: aumenta exponencialmente em proporção directa com a concentração do nutriente no meio externo, até atingir um patamar. A semelhança entre esta função e a equação de Michaelis–Menten é discutida e interpretada. A equação de *uptake* dos nutrientes é apresentada, com o apoio de um gráfico tipo (com valores numéricos reais), e amplamente discutido o significado dos seus parâmetros. Esta matéria é relacionada com o conhecimento que os alunos tenham sobre Bioquímica, nomeadamente, reacções enzimáticas.

#### *Taxa de crescimento e tomada de nutrientes*

Tal como para a absorção de nutrientes, a taxa intrínseca de crescimento das células e a concentração do nutriente limitante no meio também seguem uma relação hiperbólica. Esta relação é conhecida pela equação de Monod. Apresentam-se exemplos estudados em espécies de microalgas de diferentes dimensões (para que as respectivas taxas de crescimento possam ser também comparadas).

Chama-se a atenção para o facto da extrapolação deste modelo, estudado em culturas, para o meio ambiente ser um assunto controverso.

Para as macroalgas, existem muito poucos trabalhos sobre a regulação do crescimento pelos nutrientes. Apresentam-se as experiências clássicas sobre o teor de nitrato na água e a concentração em azoto orgânico no talo da *Laminaria*, ao longo das estações do ano. Refere-se também um trabalho recente (1993) que relaciona o desenvolvimento de pêlos no talo de espécies do género *Fucus*, com uma absorção mais eficiente de nutrientes.

#### *Nutrientes limitantes para o crescimento*

Discute-se a noção de nutriente limitante. Refere-se o paradoxo do plâncton, em que várias espécies coexistem no mesmo nicho ecológico, aparentemente limitadas pelo mesmo recurso – apresenta-se a experiência de Tilman, em 1977, com uma eventual solução para o problema. O azoto e o fósforo são os nutrientes que têm recebido mais atenção, por se considerar que são eles que regulam a produção primária. Menciona-se de novo a razão de Redfield. De um modo geral, e dado que o nitrato é mais abundante nas águas doces, considera-se que este é o nutriente limitante na água do mar, enquanto que o fosfato o é nas águas doces. Esta “verdade académica” é discutida face a artigos recentes da bibliografia, tais como Falkowski, 1998, Tyrrel, 1999, que discutem as relações nitrato:fosfato a nível global, e a experiência de “fertilização” do oceano em Ferro, *IronEx* (Coale *et al*, 1996).

### *Disponibilidade de nutrientes no meio natural*

Nos climas temperados, a concentração dos nutrientes na água do mar sofre uma flutuação bem conhecida, directamente ligada com os períodos de mistura e de estratificação das massas de água. Tipicamente, a homogeneização da coluna de água ocorre nos equinócios da Primavera e Outono, trazendo nutrientes para a superfície. Esta distribuição afecta a sazonalidade do fitoplâncton, tanto em termos de biomassa como de composição específica, o que será abordado no capítulo seguinte. Em relação às macroalgas, espécies oportunistas como *Ulva* ou *Enteromorpha*, sofrem acentuados acréscimos de biomassa sob elevadas concentrações de nutrientes.

### **Bibliografia**

3; 5; 6; 8; 10; 12 (capítulo 9); 28; 30; 31

### **Capítulo V - Fitoplâncton**

De acordo com a definição, o fitoplâncton é constituído por organismos unicelulares fotossintéticos, cuja distribuição espacial é essencialmente controlada pelas correntes. As divisões taxonómicas que fazem parte do fitoplâncton pertencem aos procariotas e aos eucariotas. Breve revisão das divisões e classes pertencentes ao Fitoplâncton, já abordada no Capítulo I, em que se refere mais pormenorizadamente a sua distribuição nos ecossistemas aquáticos, salobros e marinhos.

Em águas costeiras, a concentração de células é da ordem de 1 milhão de células por litro, (o que faz com que uma colher de sobremesa contenha cerca de 5000 células). Numa situação de *bloom* podem ocorrer até  $20 \times 10^6$  células por litro. As primeiras espécies de fitoplâncton foram descritas na segunda metade do sec. XVIII. Tanto foram consideradas plantas, como animais, como fósseis, o que teve como consequência a existência de taxonomias paralelas e não coincidentes, no domínio da botânica, da zoologia e da geologia.

### *Classificação em relação ao tamanho*

Todas as células do fitoplâncton são consideradas microscópicas. No entanto, abrangem um largo leque de tamanhos, desde o dinoflagelado *Noctiluca* até à cianobactéria

*Synechococcus*, a comparação é semelhante à do comprimento do elefante e o da própria *Noctiluca*.

Definem-se três categorias, microplancton (20-200 $\mu$ m), nanoplancton (2-20 $\mu$ m) e picoplancton (<2 $\mu$ m). Indicam-se as principais divisões taxonómicas de cada categoria. O conhecimento e a importância relativa destas categorias evoluiu em paralelo com os métodos de colheita e análise.

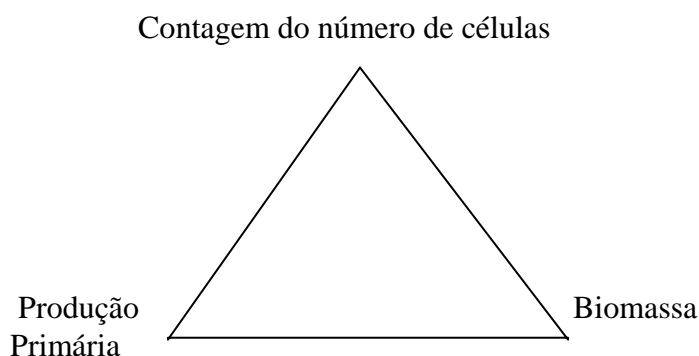
A história da divisão Prochlorophyta é paradigmática: Lewis (1976) identificou um novo organismo, o *Prochloron*, simbiote em Ascídeas, que por ser procariota e possuir clorofilas *a* e *b*, com ausência simultânea de ficocianinas e ficoeritrinas, justificou a proposição de uma nova divisão. Em 1984, num lago holandês, foi identificado um Prochlorophyta de vida livre, designado por *Prochlorothrix*. Chislom e colaboradores, em 1988, identificaram a espécie *Prochlorococcus marinus*, registando a sua elevada abundância na zona eufótica do oceano. Durante a última década, com o desenvolvimento e generalização de uma nova tecnologia, o *flow cytometry*, descobriu-se que esta espécie é provavelmente o organismo mais comum do planeta, e que, em conjunto com cianobactérias como o *Synechococcus*, constituem a base do picoplancton. Artigos recentes indicam que o picoplancton forma a maior parte da comunidade planctónica dos oceanos intertropicais, sendo responsável pela maior parte da produção primária oceânica.

Note-se que, recentemente, Margulis & Schwartz, 1998 (página 78) rejeitam a identidade da divisão Prochlorophyta e inclui estes organismos na divisão Cianobactéria, num grupo designado por bactérias “grass-green”.

#### *Métodos de estudo do Fitoplâncton*

No entanto, apesar das avançadas e deslumbrantes recentes tecnologias, é importante descrever, numa disciplina de Botânica Marinha, as metodologias clássicas de colheita e estudo do fitoplâncton, explicando a sua importância actual. Assim, são apresentados os métodos de colheita com rede de plâncton e garrafa, discutidas as suas especificidades e objectivos.

Em relação à caracterização de uma comunidade fitoplanctónica, pode-se sumariá-la do seguinte modo:



As metodologias clássicas para os parâmetros indicados em cada vértice do triângulo são explicadas. A contagem de células é feita em câmara de sedimentação, em microscópio de inversão; a determinação da biomassa consiste no método de quantificação da clorofila  $\alpha$ ; para a produção primária são apresentados os métodos do  $^{14}$ carbono e do oxigénio, através da incubação em câmaras claras e escuras – destes métodos, aqueles que serão utilizados pelos alunos nas aulas práticas serão objecto de uma descrição pormenorizada nas aulas teórico-práticas - A equação da fotossíntese é relembrada aos alunos.

A relação entre cada dois parâmetros, i.e., cada lado do triângulo, fornece informação valiosa, nomeadamente de âmbito fisiológico, por exemplo, a razão Produção Primária sobre Biomassa indica a eficiência fotossintética.

Como conclusão, reforça-se a ideia de que a evolução da metodologia de detecção influencia o conhecimento sobre a função do fitoplâncton nos ecossistemas aquáticos.

#### *Evolução sazonal do fitoplâncton*

São apresentadas e discutidas figuras com a distribuição temporal de biomassa do fitoplâncton em diferentes latitudes. Obviamente, a vasta maioria de estudos sobre a sazonalidade do fitoplâncton, tem sido realizada nas zonas temperadas, e sobretudo no hemisfério Norte. A sucessão das espécies foi descrita numa matriz teórica, por Margalef, em que as espécies se sucedem de acordo com dois factores, a turbulência e a concentração em nutrientes. Esta teoria ficou conhecida pela Mandala de Margalef, e foi objecto de vários trabalhos posteriores a favor e contra. No entanto, Reynolds e Smayda em 1998 retomam-na como válida para descrever a sucessão do fitoplâncton marinho e principalmente, como a única teoria geral que explica o aparecimento de (alguns) *blooms* de dinoflagelados. Nesta sucessão, o *bloom* da Primavera (onde coexistem concentrações altas de nutrientes e elevada turbulência) é formado por pequenas diatomáceas, de estratégia R; durante a situação de água

estratificada no Verão, com termoclina muito acentuada (onde os nutrientes escasseiam), predominam espécies de maiores dimensões, de estratégia K; situações de relaxamento da mistura de águas mas com abundância de nutrientes são propícias ao desenvolvimento dos dinoflagelados e susceptíveis de provocar marés vermelhas.

#### *Fenómenos de upwelling e produtividade*

O fenómeno de *upwelling* ou de afloramento das camadas de água profunda, com menor temperatura e mais nutrientes, ocorre ciclicamente, em áreas localizadas da costa, pela acção conjunta do vento e do movimento de rotação da terra, que forçam a camada de água superficial a afastar-se da costa. Durante estes período, não existe estratificação na coluna de água, a concentração de nutrientes permite que o crescimento do fitoplâncton atinja valores máximos, cerca de dez vezes superiores aos valores registados no Verão, (quando a água apresenta maior temperatura, mas se encontra fortemente estratificada). O mapa da distribuição da clorofila *a* (para as quatro estações do ano) é de novo apresentado e relacionado com as zonas de afloramento costeiro do planeta, e com as zonas das principais pescarias.

#### **Bibliografia**

4; 7; 11; 13; 18; 19; 22.

#### **Capítulo VI - Florescimento de Algas Nocivas ou “Harmful Algal Blooms”**

Devido à sua crescente importância, os fenómenos de HABs merecem destaque na disciplina de Botânica Marinha. Até há pouco tempo, era utilizado o termo “marés vermelhas” uma vez que os organismos causadores conhecidos eram os dinoflagelados, que, em grandes concentrações, causavam uma descoloração da água.

Das cerca de 4000 espécies de microalgas marinhas conhecidas, 6% podem causar “blooms” nocivos, e apenas 2% são tóxicas. Há evidências de que estes fenómenos ocorrem desde há 150 milhões de anos, logo, os fenómenos por si só, não estão de certeza relacionados com a actividade humana ou com a poluição. A influência humana no acréscimo da ocorrência de HABs nas últimas décadas tem sido intensamente discutida na bibliografia, e será abordado durante esta aula.

### *Breve resenha histórica*

Na Bíblia, aparece uma referência a uma maré vermelha no rio Nilo. Marés vermelhas no Outono eram eventos comuns nas Rias Galegas. Com a descoberta do Novo Mundo aparecem relatos de mortalidades periódicas de peixes (século XVI), bem conhecidos pelas populações locais, associados, na costa de Vancouver no Canadá (século XVIII), à fosforescência da superfície do mar.

### *Ocorrência de HABs*

As observações actuais registam a ocorrência preferencial de fenómenos HABs nos últimos estádios da sucessão planctónica, quando acaba a mistura de águas e recomeça a sua estratificação. No caso particular de Portugal, em baías, lagoas, ou zonas geográficas em que as águas costeiras ficam retidas, têm sido observadas ocorrências de HABs no Verão, quando a quantidade de nutrientes na água é elevada. No entanto, não foi ainda definida nenhuma previsibilidade em relação a estes fenómenos: há anos em que aparecem e anos, com condições aparentemente semelhantes, em que não são registados.

Uma teoria frequentemente apresentada nos livros de texto é a de que o florescimento de algumas espécies de dinoflagelados possa estar associado à germinação de quistos bentónicos, quando surgem condições propícias na coluna de água. O termo quistos refere-se a hipnozigotos, (resultam da fusão sexual de duas células), que passam obrigatoriamente estádios de dormência que se podem prolongar por largos períodos. Frequentemente a classificação taxonómica atribuiu duas espécies diferentes ao organismo pelágico e ao seu respectivo quisto. No caso dos dinoflagelados, ainda se mantêm duas nomenclaturas paralelas uma vez que os quistos foram considerados dinoflagelados fósseis até aos anos 60. A teoria do aparecimento de *blooms* a partir de quistos não é pacífica, e tem sido objecto de forte polémica da comunidade científica.

### *Tipos e caracterização de toxinas*

Os tipos de toxinas existentes são designados pelas sintomatologias que provocam, PSP, paralisante, DSP, diarreica, NSP, neurotóxica, ASP, amnésica e ainda ciguatera. É apresentada uma tabela com os vários tipos de toxinas, com o organismo causador, a sintomatologia e o tratamento. As toxinas PSP, DSP e NSP são provenientes de dinoflagelados pelágicos, enquanto a ciguatera, (síndrome de envenenamento por ingestão de peixes tropicais) provem de um dinoflagelado bentónico. Enquanto que HABs provenientes

de espécies pelágicas ocorrem apenas ocasionalmente, a ciguatera é considerado uma situação crónica, devido à persistência do dinoflagelado ao longo do ano. A toxina ASP, descoberta apenas em 1987, é proveniente de uma diatomácea do género *Pseudo-nitzschia*.

É apresentado um esquema exemplificativo do ciclo de ingestão das microalgas por filtração pelos bivalves. Os bivalves que absorvem as toxinas, não são afectados. A toxicidade na população humana depende de indivíduo para indivíduo.

Embora características de águas doces, referem-se aqui as cianobactérias produtoras de toxinas, nomeadamente hepatotoxinas, que por serem solúveis em água, podem causar graves problemas de saúde pública.

#### *Significado ecológico das toxinas?*

É desconhecida a função das toxinas, considerados metabolitos secundários. Alguma investigação defende a hipótese de serem compostos com funções alelopáticas contra competidores ou herbívoros. Outras teorias sugerem que se tratam de metabolitos provenientes de vias metabólicas que desembocaram num beco sem saída; ou seja, actualmente, não trazem vantagem ou desvantagem nenhuma em relação ao organismo.

A saxitoxina, a toxina mais potente de todas as conhecidas, actua de modo a evitar a transmissão normal, nas sinapses neuro-musculares, interferindo no bloqueio dos canais de sódio das membranas. Este mecanismo, de uma extrema eficiência, surgiu em organismos que apareceram na Terra há mais de 500 milhões de anos, e faz efeito em organismos surgidos muitos milhões de anos depois. As implicações evolutivas e ecológicas da existência destas toxinas estão longe de se encontrarem esclarecidas.

#### *Em Portugal,*

As marés vermelhas (como eram então conhecidas) foram estudadas a partir de 1953, em Angola, e poucos anos mais tarde, na Lagoa de Óbidos, após terem surgido casos de intoxicações graves, tendo sido publicados alguns trabalhos, pela Dr<sup>a</sup> Estela Sousa e Silva, que obtiveram reconhecimento internacional, numa época, em que, nesta área, a investigação em Portugal era desconhecida. Esta investigadora pôs hipótese de existirem bactérias simbiotes nos dinoflagelados, e de serem estas as produtoras de toxinas. Este tema volta a ser abordado nas aulas teórico-práticas.

### *Ocorrência de HABs está a aumentar por causas antropogénicas?*

O acréscimo de ocorrências de HABs nos últimos 20 anos é notório. Para além do concomitante aumento do número de investigadores, como explicar este acréscimo? em que medida é que têm origem antropogénica? Os investigadores consideram que algumas actividades humanas têm um efeito positivo no acréscimo de HABs, nomeadamente, a eutrofização das regiões costeiras, o uso de pesticidas na agricultura, (que leixiados para o mar, poderão causar alterações na composição específica), a transferência intercontinental de espécies para aquacultura e o transporte e descarga da água dos lastros dos navios, em várias zonas do globo.

### *Marés verdes*

A crescente eutrofização da zona costeira tem causado fenómenos de “marés verdes” que consistem no acréscimo descontrolado de espécies de macroalgas, a sua maioria pertencente à divisão Chlorophyta. Estas ocorrências têm acontecido em várias zonas do planeta, e entre os géneros mais frequentes, contam-se *Ulva*, *Enteromorpha*, e *Cladophora*. A quantidade de biomassa produzida nas praias é da ordem de várias toneladas por dia, o que tem causado graves prejuízos no domínio da indústria turística.

## **Bibliografia**

18; 22; 25 (capítulos 1 e 2); 27; 28.

## **Capítulo VII - Comunidades de Microalgas Bênticas**

A coloração dourada, facilmente observável à vista desarmada, à superfície dos sedimentos das zonas entre-marés, foi atribuída, desde o fim do século passado, à presença abundante de microalgas, nomeadamente de diatomáceas.

### *Caracterização e ocorrência*

As microalgas da interface sedimento-água são geralmente designadas na bibliografia por microfitobentos. Este termo inclui todas as algas unicelulares que vivem sobre um substrato inerte em ambiente aquático. A comunidade do microfitobentos é constituída essencialmente por diatomáceas, euglenófitas e cianobactérias. As dimensões destes organismos variam entre poucos  $\mu\text{m}$  até mais de  $500\mu\text{m}$ , e incluem formas móveis (epipélicas) e formas que estão agarradas às partículas de sedimento (epipsâmicas).



Distribuem-se desde os limites superiores da preia-mar até a zonas sempre imersas, atingidas por níveis de luz suficientes para a fotossíntese.

Embora só as células presentes nos milímetros superficiais de sedimento realizem fotossíntese (uma vez que a luz é rapidamente atenuada), as espécies microfitobentónicas distribuem-se dentro do sedimento, segundo um gradiente vertical, mantendo-se num aparente estágio de baixo metabolismo, até que, por efeito de ressuspensão das camadas superficiais de sedimento, estas células vêm para a superfície e retomam a sua actividade fotossintética. Esta existência de um verdadeiro *stock* de produtores primários é uma das razões apontadas para a extrema resiliência destes ecossistemas, em relação a perturbações externas.

#### *Função nos ecossistemas costeiros*

As diatomáceas, que constituem o grupo dominante, segregam mucilagens que contribuem para a estabilidade dos sedimentos. A película formada pelas células das microalgas e pelas mucilagens designa-se por biofilme, constitui uma fronteira física entre o sedimento e a coluna de água, ou o ar, jogando um papel relevante na alteração dos fluxos dos elementos nessa interface.

Referem-se os ciclos biogeoquímicos mais importantes e a sua relação com o microfitobentos. Através da fotossíntese, as microalgas produzem oxigénio, elemento extremamente requisitado para a degradação da abundante matéria orgânica que existe normalmente depositada nos sedimentos. Também através da fotossíntese, interferem no ciclo do carbono, através do CO<sub>2</sub>.

O microfitobentos constitui a base das cadeias tróficas estuarinas, existindo numerosos herbívoros que se alimentam directamente do biofilme formado por microalgas e matéria orgânica. São dados como exemplo, o caso das tainhas, dos anfípodes e do molusco *Hydrobia ulvae*. A influência das espécies do microfitobentos na produtividade da coluna de água dos sistemas costeiros e estuarinos tem sido um assunto abordado por vários autores tentando elucidar o papel desta comunidade no funcionamento dos ecossistemas. Recentemente, a utilização de isótopos estáveis nos estudos de ecologia revelou-se uma metodologia eficaz e expedita, na medida em que, por exemplo, a absorção do <sup>13</sup>carbono pode ser seguida através de uma cadeia trófica, *in situ*.

### *Fotoperiodismo e ritmos endógenos*

A fracção móvel tem a capacidade de migrar verticalmente no sedimento, em resposta ao estímulo conjugado da luz e da maré. Este ritmo é ou não endógeno? Como estudá-lo? Referem-se os trabalhos clássicos realizados nos anos 60, e alguns trabalhos mais recentes da bibliografia, nomeadamente o trabalho de Serôdio e colaboradores em 1997, uma vez que utiliza o Fluorómetro Modulado “PAM (Pulse Amplitude Modulation) Fluorometer” para medir a fluorescência da clorofila *a* presente à superfície de uma amostra de sedimento, de uma maneira não intrusiva. (Ver Anexo 1).

### *Factores que afectam a sua distribuição*

O tipo de sedimento e o tempo de emersão/imersão são apontados pela maioria dos autores como os principais factores que influenciam a biomassa do microfitobentos. Em geral a biomassa é maior nos sedimentos mais finos e nos locais com cota de maré mais elevada. Em relação aos nutrientes, a bibliografia está de acordo em considerar que não constituem limitação para o crescimento das células.

### *Metodologias de estudo*

A medição da biomassa é feita através da clorofila *a*, por unidade de área ou de peso seco de sedimento (ver Anexo 2), a produção fotossintética é medida através do método do Oxigénio, em câmaras claras e escuras, ou através de <sup>14</sup>carbono, e desde há 10 anos, pelo método dos microelctrodos de oxigénio. Este tema será bastante estudado nas aulas teórico-práticas e práticas.

## **Bibliografia**

5 (capítulo 7); 21 (capítulo 6); 31; e várias referências listadas na Bibliografia das Aulas Práticas

## **Capítulo VII - Ecologia das comunidades de Macroalgas**

As macroalgas são indubitavelmente os organismos que dominam, em termos de biomassa, a faixa costeira rochosa. Os padrões de zonação das várias espécies tem sido um tema estudado desde 1832, de especial apetência para os ecologistas, dada a facilidade de colheita e observação dos espécimens, e a multiplicidade de factores abióticos e bióticos envolvidos na sua distribuição espacial.

### *Padrões de Zonação*

O carácter universal da zonação das espécies em relação ao gradiente de maré, ao longo de várias costas rochosas do mundo foi demonstrado pelo casal Stephenson nos anos 30. Existem vários esquemas de zonação, consoante os autores. Para ilustrar esta questão, apresentam-se, em paralelo, o esquema dos Stephensons e o de Lewis (adoptado por Dring, 1982), definindo cada faixa de acordo com o seu povoamento típico.

### *Quais os factores que afectam a distribuição das macroalgas?*

As macroalgas estão limitadas a áreas onde o substrato seja suficientemente estável para permitir a sua fixação. O limite superior da sua distribuição é dado pela humectação do substrato provocada pelas ondas e o limite inferior é estabelecido pelo fim da zona eufótica. As populações de algas não estão distribuídas ao acaso ao longo deste gradiente vertical, muitas ocupam nichos bem definidos, com fronteiras abruptas. De todos os factores abióticos, a amplitude e a periodicidade das marés são dos que mais obviamente afectam a zonação das populações.

### *Marés*

É explicado o mecanismo das marés, a razão da diferença entre marés vivas e marés mortas. Depois de caracterizar bem o regime de marés de Portugal, são apresentados regimes de maré para outras latitudes. O gradiente vertical induzido pela maré pode ser sumariado num esquema em que, do infralitoral para o supralitoral, os factores físicos e químicos e as comunidades biológicas sofrem uma escala crescente de “stress” e variabilidade.

### *Limites superiores: efeitos da dessecação*

A quantidade de água perdida durante a emersão é proporcional ao tempo de exposição, às condições atmosféricas e à morfologia da alga, nomeadamente a razão superfície/volume. Em situação de emersão, a alga deixa de utilizar o bicarbonato dissolvido na água e passa a utilizar o CO<sub>2</sub> atmosférico para a fotossíntese. A comparação de taxas fotossintéticas nas duas situações tem sido difícil por razões metodológicas (enquanto no ar, a fotossíntese era estimada a partir de CO<sub>2</sub>, na água, o método utilizado era o do oxigénio).

A questão chave da dessecação foi identificada como sendo a habilidade do aparelho fotossintético em recuperar do “stress” de dessecação depois da re-imersão. Na bibliografia, é demonstrado que espécies normalmente sujeitas a maior exposição apresentam uma capacidade

superior desta recuperação. Esta experiência constitui um dos temas fortes dos projectos das aulas práticas, pelo que os alunos terão oportunidade de discutir este assunto em profundidade.

#### *Limites inferiores: competição, herbivoria e radiação luminosa*

A competição pelo espaço é feita entre as algas (intra e interespecies) e entre algas e vertebrados sésseis, tanto em termos do local de fixação como do posterior ensombreamento e competição por nutrientes. São apresentados e discutidos vários exemplos de competição, para diferentes tipos morfológicos de algas. O epifitismo pode ser considerado um aspecto particular da competição; também aqui várias estratégias podem existir, de ressaltar a produção de antibióticos por parte da planta epifitada. O processo de produção e libertação de compostos que inibem o crescimento de outras algas denomina-se alelopatia. Este processo é objecto de grande interesse por parte da indústria naval, que procura continuamente compostos anti-“fouling” de baixa toxicidade.

A herbivoria é uma força estruturante poderosa que controla a biomassa e a composição das espécies. Enumeram-se os principais grupos de animais que se alimentam directamente de macroalgas. O tamanho e o estágio de desenvolvimento da alga são elementos determinantes para a sua fragilidade em relação aos predadores. Discutem-se as estratégias das algas para minimizar o impacto da herbivoria. Apresenta-se um esquema com os grupos funcionais de algas em relação à dificuldade para um tipo de herbívoros, os moluscos. Definem-se sete grupos, desde as microalgas unicelulares e filamentosas até às rodófitas calcárias incrustantes. Apresentam-se casos-tipo da bibliografia, em que o papel das chamadas espécies-chave na regulação da espécie dominante é discutido.

Para além das interacções bióticas, o limite inferior para cada espécie, é função da capacidade de realizar fotossíntese a baixas intensidades luminosas. Este limite, que depende do ponto de compensação, é sujeito a adaptação fenotípica, pelo que dificulta comparações de índole geral.

#### *Conclusões sobre os padrões de zonação*

Uma das teorias aceites é de que os limites superiores são determinados pela resposta fisiológica das espécies à dessecação, enquanto que os limites inferiores são estabelecidos por interacções biológicas, nomeadamente a competição e a herbivoria.

É discutida a teoria dos “Critical tidal levels - CTL”, níveis na zona inter-mareal, em que a duração da exposição/imersão sofre descontinuidades abruptas. Há autores que usam os CTL

como estrutura base para descrever os padrões de zonação. Outros autores contestam o conceito de CTL, dado que não entra com a variabilidade diária das ondas.

#### *Dinâmica de populações e sucessão de espécies*

O crescimento teórico de uma população, num meio com recursos limitados, é apresentado. O processo de sucessão de espécies nas algas marinhas é mais rápido do que nos ecossistemas terrestres, dado que o ciclo de vida das algas é mais curto. Apresentam-se as diferentes estratégias para espécies características dos primeiros estádios de sucessão, e dos estádios de climax, em tabela comparativa.

### **Bibliografia**

6; 14; 15; 21; 28

### **Capítulo VIII - Angiospérmicas marinhas. Eutrofização. Tendências actuais na investigação**

#### *Angiospérmicas marinhas*

Apenas 0,01% das plantas com flor se adaptou ao ambiente aquático submerso. Porquê tão poucas? Porquê só monocotiledóneas? São referidas as adaptações morfológicas e anatómicas, assim como a estratégia de reprodução. *Zostera marina* é a espécie mais abundante no Atlântico Norte. Em termos de estratégia, é considerada uma espécie K, típica de situações de climax. É perene, usa as reservas de hidratos de carbono no rizoma para manutenção, se as folhas forem removidas.

Os povoamentos de *Zostera marina* constituem nichos ecológicos de grande especificidade que jogam importantes funções nos ecossistemas em que se inserem, nomeadamente no ciclo do azoto e como *nurseries* para juvenis de peixes.

#### *Alterações do ambiente natural*

A Eutrofização, que consiste no enriquecimento em nutrientes, poluentes, e matéria orgânica nas águas costeiras, por causas antropogénicas, é reconhecido como um grave problema ambiental. Afecta particularmente estuários e baías costeiras pouco profundas.

A introdução de espécies exóticas, nomeadamente para a maricultura extensiva pode causar alterações imprevisíveis nas comunidades naturais. Tal como para os ecossistemas

terrestres, também se pode falar de infestantes - um exemplo é o caso da introdução e desenvolvimento do *Sargassum muticum* (proveniente do Japão) na costa norte francesa.

Uma das soluções interessantes em estudo para a resolução da eutrofização é a remoção de nutrientes pela maricultura.

As utilizações alimentares e industriais das algas assim como a produção de metabolitos secundários, de interesse farmacêutico será apenas abordada no sentido de despertar o interesse dos alunos, uma vez que este assunto é objecto de estudo na disciplina de Algologia Aplicada.

#### *Tendências actuais da investigação da Botânica Marinha*

Actualmente, as linhas de investigação são indissociáveis das fontes de financiamento, conseqüentemente, tendem a estar ligadas às preocupações da Sociedade, tais como a Alteração do Clima, o Ciclo do Carbono, o Aproveitamento dos Recursos Naturais e a Gestão Sustentada dos Ecossistemas.

No que diz respeito ao Fitoplâncton, o estudo dos organismos em si tem sido preterido em favor da investigação sobre medidas de produção das comunidades, uma vez que esta componente se encontra a aspectos mais aplicados, tais como a pesca. Actualmente, depois da comunidade científica ter percebido a importância das séries temporais de longo termo, em que alterações na composição específica das comunidades podem reflectir mudanças climáticas, prevê-se que o financiamento da investigação contemple igualmente o estudo dos organismos, a sua taxonomia, distribuição e autoecologia.

Com efeito, as questões sobre a mudança do clima e o eventual efeito produzido pela actividade humana estão na ordem do dia. Os assuntos relevantes, em relação a esta questão, já abordados ao longo da disciplina, serão aqui lembrados.

Paralelamente, a preocupação em prever e controlar os fenómenos de HABs (incluindo as marés verdes) será com certeza uma linha muito importante de investigação.

O buraco do ozono com o acréscimo de radiação ultravioleta tem fomentado investigação no domínio da Fisiologia da Fotossíntese.

No que respeita as zonas costeiras, são apresentadas aos alunos as linhas de orientação do “Fifth Framework Programme” da Comunidade Europeia, para o período 1998-2002. Segundo este programa, o desenvolvimento sustentado dos ecossistemas, apoiado com novos conhecimentos científicos constitui a grande prioridade. Especificamente no que respeita as zonas entre-marés, o seu papel nos processos biogeoquímicos, assim como a sua acção na defesa contra a erosão da linha de costa é posto em relevo.

A ligação entre os resultados científicos e a opinião pública, passando pelo poder local e regional, (os “decision-makers”) constitui uma faceta até há pouco descurada, mas que, sobretudo nos domínios da Ecologia e do Ambiente, será forçada a desenvolver-se rapidamente. Assim, o cuidado na transcrição de resultados científicos para conclusões que possam ser absorvidas pelos órgãos de comunicação social, deve ser objecto de alguma reflexão de carácter ético e de aprendizagem por parte dos licenciandos.

Em conclusão, sabendo que metade da população europeia vive numa estreita faixa de 40 km ao longo da costa, é previsível que a investigação em áreas ligadas à Botânica Marinha seja implementada, com a interdisciplinaridade quase compulsiva a que obrigam os novos programas de investigação na área do mar.

## **Bibliografia**

5 (capítulo 11); 25;

## **Programa Teórico-Prático**

### **Parte A - Aulas**

Aula nº 1- Padrões de zonação e distribuição das macroalgas. Diferentes sistemas sob diferentes autores. Esta aula, cujo tema geral será falado nas aulas teóricas, pretende apresentar a maioria das espécies de macroalgas presentes na zona inter-mareal, discutir métodos de estudo quantitativo e qualitativo cujo objectivo seja o de caracterizar a zonação de uma determinada praia rochosa.

Aula nº 2 – Apresentação dos artigos para os seminários. Formação dos grupos teórico-práticos.

Aula nº 3 – Padrões de zonação (continuação)

Aula nº 4 – A utilização do “Teaching PAM Chlorophyll Fluorometer” permite medir a fluorescência da clorofila *a* de um modo não intrusivo e extremamente simples. As amostras não precisam de nenhuma preparação prévia. É explicada a base teórica deste equipamento,

em que é possível obter dados sucessivos da eficiência quântica do Fotossistema II, de um modo não intrusivo, em amostras de algas sujeitas a diversas condições. É explicado o funcionamento prático do equipamento, com amostras de plantas ou macroalgas. Ver anexo 2

Aula nº 5 - Metodologia de determinação de pigmentos em macroalgas, fitoplâncton e microfitobentos

Aula nº 6 – Apresentação de resultados científicos. Diferenças entre apresentação de resultados para comunicação oral ou para artigo. Tratamento e transformação dos dados. Apresentação de tabelas e gráficos - discussão sobre os vários tipos de gráficos.

São apresentadas as regras para elaboração de um trabalho sob a forma de artigo científico. (ver Anexo 3)

### **Parte B – Seminários**

Apresentação de seminários pelos alunos. Consoante o número total de alunos e o tema dos artigos, podem ser apresentados um ou dois seminários por aula. Apresentam-se os artigos sugeridos para o ano 2000/2001.

#### Seminário 1 – Experiência de fertilização do Oceano *IronEx* (1 grupo)

Behrenfeld, M. J., Bale, A. J., Kolber, Z. S., Aiken, J., & Falkowski, P. G., 1996. Confirmation of iron limitations of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean. *Nature* 383: 508-511.

Coale, K. H., Johnson, K. S., Fitzwater, S. E., Gordon, R. M., Tanner, S., Chavez, F. P., Ferioli, L., Sakamoto, C., Rogers, P., Millero, F., Steinberg, P., Nithingale, P., Cooper, D., Cochlan, W. P., Landry, M. R., Constantinou, J., Rollwagen, G., Trasvina, A. & Kudela, R., 1996. A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean. *Nature* 383: 495-501.

Frost, B. W., 1996. Phytoplankton bloom on iron rations. *Nature* 383: 475-476.

#### Seminário 2 – Ocorrência de HABs na Costa Portuguesa e na Costa da Galiza em relação com o fenómeno de *upwelling* (2 grupos)

Fraga, S., Anderson, D. M., Bravo, I., Reguera, B., Steidinger, K. A. & Yentsch, C. M., 1988. Influence of upwelling relaxation on dinoflagellates and shellfish toxicity in Ria de Vigo, Spain. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 27: 349-361.



Moita, M. T., 1993. Development of toxic dinoflagellates in relation to upwelling patterns off Portugal in Smayda, T. J. and Shimizu, Y.(eds). *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*, 299pp. Elsevier Science.

Seminário 3 – Hidrodinamismo e produtividade nas macroalgas (1 ou 2 grupos)

Hurd, C.L, & C.L: Stevens, 1997. Flow visualization around single- and multiple-bladed seaweeds with various morphologies. *J. Phycol*, 33: 360-367

Hurd, C.L:, 2000. Water motion, marine macroalgal physiology, and production. *J. Phycol*, 36: 453-472.

Seminário 4 – Hormonas de crescimento em macroalgas (2 grupos)

Bradley, P. M., 1991. Plant hormones do have a role in controlling growth and development of algae. *J.Phycol*. 27: 317-321.

Evans, L. V. & Trewavas, A. J., 1991. Is algal development controlled by plant growth substances? *J.Phycol*. 27: 322-326.

Seminário 5 – O valor económico dos ecossistemas (1 grupo)

Constanza, Robert, d'Arge, Ralph, de Groot, Rudolf, Farber, Stephen, Grasso, Monica, Hannon, Bruce, Limburg, Karin, Naeem, Shahid, O'Neill, Robert V., Paruelo, Jose, Raskin, Robert G., Sutton, Paul, and van den Belt, Marjan, 1998. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387: 253-260.

Pimm, S.L., 1997. The Value of everything. *Nature* 387:261.

## **Programa Prático**

Depois de uma iniciação à Sistemática das Macro e Microalgas, a maior parte do tempo das aulas práticas, é dispendido na realização de um pequeno projecto de investigação dentro dos Temas propostos pelo docente.

### **Temas de Trabalhos Práticos**

São apresentados exemplos de Questões a desenvolver.

Tema 1 - Estudo dos povoamentos de macroalgas bentónicas em duas praias rochosas da Costa Portuguesa

*Locais de amostragem:* Praia das Avencas, Cabo Raso, Ribeira de Ilhas, Vila Nova de Mil Fontes

*Questão:* Comparação do padrão de zonação em praias com características diferentes (ex., hidrodinamismo, densidade de predadores, etc.)

*Metodologias a utilizar:* Determinação do perfil topográfico das plataformas rochosas. Colheita de macroalgas, determinação de níveis de abundância e cobertura. Determinação de índices de diversidade e de similaridade.

Tema 2 – Comparação de métodos de amostragem (aleatório e não aleatório) no estudo dos povoamentos bentónicos entre-marés, num local rochoso da Costa Portuguesa

*Locais de amostragem:* Praia das Avencas, Cabo Raso.

*Questão:* Qual a melhor metodologia para estudar um determinado povoamento de macroalgas?

*Metodologias a utilizar:* Determinação do perfil topográfico da praia. Realização de colheitas através de um transecto, escolhendo os pontos de amostragem, realização de colheitas através do método dos quadrados aleatórios. Utilização de quadrados de 0,05m<sup>2</sup>. Identificação das espécies presentes em cada quadrado, determinação de abundância e de percentagem de

cobertura. Cálculo do número mínimo de amostras com os dois métodos. Realização de testes estatísticos para comparação dos resultados obtidos.

Tema 3 - Indução de stress hídrico (dessecação) nas macroalgas. Utilização da fluorescência da clorofila *a* como indicador da actividade fotossintética, e avaliação da capacidade de recuperação face ao stress da dessecação.

*Local de amostragem:* Praia das Avencas, Cabo Raso

*Questão:* Capacidade de recuperação à dessecação para espécies de diferentes níveis do eulitoral.

*Metodologias a utilizar:* As experiências de dessecação são realizadas no laboratório. Utilização do “Photosynthesis Yield Analyzer MINI-PAM”, que, através de medições de fluorescência da clorofila *a*, permite determinar a eficiência quântica, dos espécimens, em várias situações de uma maneira não intrusiva.

## Bibliografía Aulas Teóricas

1. Bearman, G (ed) 1995. *Seawater: its composition, properties and behaviour*, 168pp. The Open University. Pergamon.
2. Bhattacharya, D. & Medlin, L., 1995. The phylogeny of plastids: a review based on comparisons of small-subunit ribosomal RNA coding regions. *J.Phycol.* 31: 489-498.
3. Coale, K. H., Johnson, K. S., Fitzwater, S. E., Gordon, R. M., Tanner, S., Chavez, F. P., Ferioli, L., Sakamoto, C., Rogers, P., Miler, F., Steinberg, P., Nighthale, P., Cooper, D., Cochlan, W. P., Landry, M. R., Constantinou, J., Rollwagen, G., Trasvina, A. & Kudela, R., 1996. A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean. *Nature* 383: 495-501.
4. Chisholm, S. W., Olson, R. J., Zettler, E. R., Goerick, R., Waterbury, J. B. & Welshmeyer, N. A., 1988. *Nature* 334(28): 340-343.
5. Dawes, C. J., 1998. *Marine Botany*, 480pp. John Wiley & Sons.
6. Dring, M. J., 1992. *The Biology of Marine Plants*, 199pp. Cambridge University Press.
7. Falkowski, P. G. & Raven, J. A., 1997. *Aquatic Photosynthesis*, 375pp. Blackwell Science.
8. Falkowski, P. G., 1998. Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO<sub>2</sub> in the ocean. *Nature* 383: 272-274.
9. Hoek, C. van den, Mann, D. G. & Jahns, H. M., 1993. *Algae: An introduction to phycology*, 623 pp. Cambridge University Press.
10. Hurd, C., Galvin, R. S., Norton, T. A. & Dring, M. J., 1993. Production of hyaline hairs by intertidal species of *Fucus* (Fucales) and their role in phosphate uptake. *J.Phycol.* 29: 160-165.
11. Jacquet, S., Lennon, J-F., Marie, D. & Vaultot, D., 1998. *Limnology & Oceanography* 43(8): 1916-1931.
12. Jumars, P. A., 1993. *Concepts in Biological Oceanography. An interdisciplinary primer*, 348pp. Oxford University Press.
13. Lewis, R. A., 1976. Prochlorophyta as a proposed new division of algae. *Nature* 261:697-698.
14. Little, C. & Kitching, J. A., 1996. *The Biology of Rocky Shores*, 240pp. Oxford University Press.
15. Lobban, C. S. & Harrison, P. J., 1994. *Seaweed Ecology and Physiology*, 366pp. Cambridge University Press.

16. Mann, K. H. & Lazier, J. R. N., 1991. *Dynamics of marine Ecosystems. Biological-physical interactions in the Oceans*, 466pp. Blackwell Scientific Publications.
17. Margalef, R., 1992. *Ecologia*, 255pp. Ed. Planeta.
18. Margalef, R., 1998. Red tides and ciguatera as successful ways in the evolution and survival of an admirable old phylum, in Reguera, B.; Blanco, J.; Fernández, M.L.; Wyatt, T. (eds), *Harmful Algae* 3-7. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO.
19. Margulis, L. & Schwartz, K. V., 1998, 3<sup>rd</sup> ed. *Five Kingdoms: an illustrated guide to the phyla of life on Earth*, 520pp. Freeman and Company.
20. Parsons, T. & Takahashi, M., 1975. *Biological Oceanographic Processes*, 186pp. Pergamon Press.
21. Raffaelli, D. & Hawkins, S., 1999. *Intertidal Ecology*, 356pp. Kluwer Academic Publishers.
22. Reynolds, C. S. & Smayda, T. J., 1998. Principles of species selection and community assembly in the phytoplankton: further explorations of the mandala, in Reguera, B.; Blanco, J.; Fernández, M.L.; Wyatt, T. (eds), *Harmful Algae* 8-10. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO.
23. Sathyendranath, S., Platt, T., Horne, E. P. W., Harrison, W. G., Ulloa, O., Outerbridge, R., & Hoepffner, N., 1991. Estimation of new production in the ocean by compound remote sensing. *Nature* 353: 129-133.
24. Serôdio, J., Marques da Silva, J. & Catarino, F., 1997. Nondestructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence. *J. Phycol.* 33: 542-553.
25. Schramm, W. & Nienhuis, P. H., 1996. *Marine Benthic Vegetation. Recent Changes and the effects of eutrophication*, 470pp. Springer
26. Smetacek, V., 1998. How mainstream biological oceanography can profit from harmful – algal- blooms studies and vice versa, in Reguera, B.; Blanco, J.; Fernández, M.L.; Wyatt, T. (eds), *Harmful Algae* 109-113. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO.
27. Sournia, A., Le Denn, E. Erard, Grzebyk, D., Lassus, P. & Partensky, F., 1990. Plancton nuisible sur les côtes de France. *Pour la Science* 153: 60-67.
28. South, G. R. & Whittick, A., 1987. *Introduction to Phycology*, 341pp. Blackwell Science.
29. Teixeira, A. R. N. & Ricardo, C. P. P., 1993. *Fotossíntese*, 343pp. Didáctica Editora.
30. Tyrrell, T., 1999. The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature* 400(5): 525-531.
31. Valiela, I. M., 1995. *Ecological Processes*, 686pp. Springer.

### **Moradas na Internet**

<http://fig.cox.miami.edu/~1framer/MSC111/1114.HTM>

<http://www.ices.dk/asc/1997/openlect/abs.htm>

<http://seaweed.ugc.ie/glossary/>

<http://www.cordis.lu/fp5/>

<http://seawifs.gsfc.nasa.gov/SEAWIFES/LIVING-OCEAN/>

<http://sol.climerh.rct-sc.br/nino/>

<http://www.gcrio.org/ocp98/ch2.html>

<http://www.pmel.noaa.gov/toga-tao/el-nino/>

<http://earth.agu.org/>

<http://www.com.univ-mrs.fr/DIMAR/Dinof/>

<http://www.euronet.nl/users/janpar/virtual/diatoms.html>

<http://www.uc.pt/botanica/ACOI.htm>

<http://icn.pt/outros/fito8.html>

<http://hypnea.botany.uwc.ac.za/marbot/index.asp>

<http://ccmp.bigelow.org>

<http://www.st-and.ac.uk/~seeb/serg/overview.html>

<http://vis-pc.plantbio.ohiou.edu/algaeindez.htm>

## Bibliografia Aulas Teórico-Práticas e Aulas Práticas

- Bolhàr-Nordenkamp, H. R. & Öquist, G., 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research in Hall, D. O., Scurlock, J. M. O., Bolhàr-Nordenkamp, H. R., Leegood, R. C. & Long, S. P. (eds). *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual*, 12. Chapman & Hall.
- Bose, S., Herbert, S. K., & Fork, D. C., 1988. Fluorescence characteristics of photoinhibition and recovery in a sun and a shade species of the red algal genus *Porphyra*. *Plant Physiology* 86: 946-950.
- Dring, M. J. & Brown, F. A., 1982. Photosynthesis of intertidal bawn algae during and after periods of emersion: a renewed search for physiological causes of zonation. *Marine Ecology Progress Series* 8: 301-308.
- Dromgoole, F. I., 1980. Desiccation resistance of intertidal and subtidal algae. *Botanica Marina* 23: 149-159.
- Henley, W. J., Levavasseur, G., Franklin, L. A., Lindley, S. T., Ramus, J. & Osmond, C. B., 1991. Diurnal responses of photosynthesis and fluorescence in *Ulva rotundata* acclimated to sun and shade in outdoor culture. *Marine Ecology Progress Series* 75: 19-28.
- Jones, A., Reed, R. & Weyers, J., 1998. *Practical Skills in Biology*, 292pp. Longman.
- Little, C. & Kitching, J. A., 1996. *The Biology of Rocky Shores*, 240pp. Oxford University Press.
- Parsons, T. R., Maita, Y. & Lalli, C. M., 1994. *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*, 173pp. Pergamon Press.
- Poole, R. W., 1974. *An introduction to quantitative ecology*, 532pp. Mc Graw-Hill.
- Raffaelli, D. & Hawkins, S., 1999. *Intertidal Ecology*, 356pp. Kluwer Academic Publishers.
- Rosenberg, G. & Ramus, J., 1982. Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracillaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): photosynthesis and antenna composition. *Marine Ecology Progress Series* 8(233): 241.
- Schonbeck, M. W. & Norton, T. A., 1980. The effects on intertidal fucoid algae of exposure to air under various conditions. *Botanica Marina* 23: 141-147.
- Schreiber, U., 1997. Chlorophyll fluorescence and photosynthetic energy conversion: Simple introductory experiments with the Teaching-PAM chlorophyll fluorometer, 73 pp. Walz.



## **Anexo 1. Protocolo para determinação da fluorescência da Clorofila *a* como indicadora da eficiência fotossintética, através da utilização do PAM**

O processo de fotossíntese inicia-se com a absorção de luz e transferência da sua energia para estruturas especiais, designadas por centros de reacção, onde a energia é usada para separação de cargas eléctricas.

Estes três processos, absorção, transferência de energia e separação de cargas, constituem as reacções luminosas da fotossíntese.

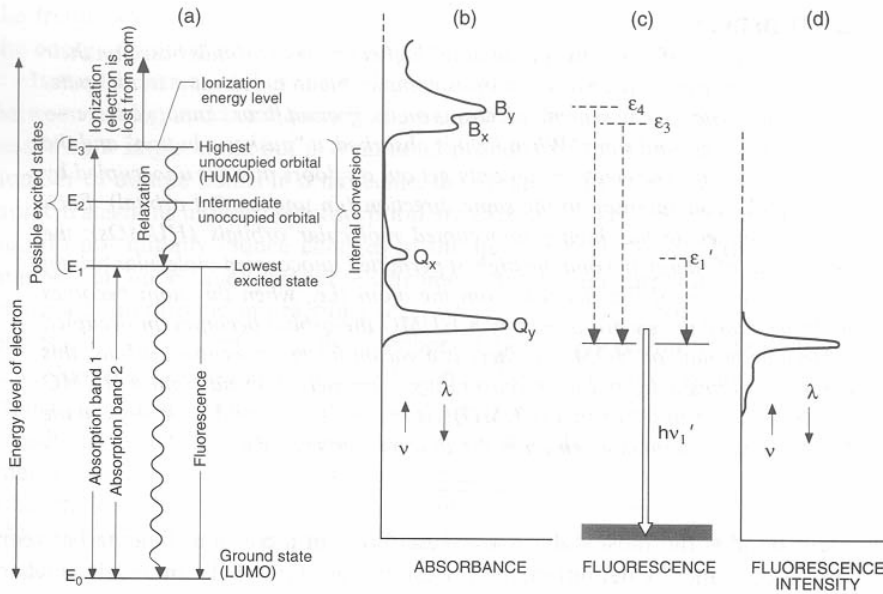
A absorção da luz altera o estado de energia dos átomos e moléculas. Quando um fóton ou quantum de luz atinge um átomo ou uma molécula, a energia do fóton é transmitida a determinados electrões. Considere-se agora um electrão na sua orbita,  $E_0$ . Este pode ser movido para uma orbita com energia superior, por acção dos fótons luminosos,  $E_1$ . O relaxamento do electrão de  $E_1$ , estado excitado, para  $E_0$ , estado “estável” é acompanhado de uma emissão de energia. Esta transição (de  $E_1$  para  $E_0$ ) pode ou não ser acompanhada de uma mudança da direcção spin (movimento de rotação) do electrão.

A transição de um estado excitado para um estado de menor energia sem que haja mudança de spin induz a re-emissão da luz. Este fenómeno designa-se por fluorescência. A Figura 1 esquematiza este fenómeno.

Recentemente, a medição da fluorescência da clorofila *a* tem sido considerada uma alternativa ou um complemento, aos métodos convencionais de determinação da fotossíntese. Existe uma relação simples entre a fluorescência da clorofila *a* e a eficiência da conversão da energia fotossintética no PSII (fotosistema II). Ver Figura 2

Com efeito, a fluorescência tem origem no diferencial de energia criada pela absorção de luz que, em alternativa, poderia ser convertido em energia fotoquímica (ou ainda dissipado em calor).

Deste modo, foi desenvolvido um equipamento, o PAM (Pulse Amplitude Modulation) Fluorometer, que, através da aplicação de um pulso de luz saturante, suprime completamente a energia fotoquímica, induzindo a fluorescência máxima. Dado que a energia fotoquímica se encontra reduzida a zero, a fluorescência medida corresponde exactamente à eficiência fotossintética da amostra, naquele momento.



**Figure 2.3** Energy-level diagram showing excited states of an electron. Upon absorption of a photon, an electron populates an unoccupied orbital to form an excited state. There are numerous possible excited states ( $\epsilon_1, \epsilon_2, \epsilon_3$ , etc.); the specific one induced is dictated by the energy of the absorbed photon ( $h\nu_1, h\nu_2, h\nu_3$ , etc.). Absorption of a photon with energy in excess of nuclear attraction leads to a loss of the electron, in a process called *ionization*. Electrons brought to higher excited states but retained within the atom or molecule return to lower excited states via nonradiative relaxation processes, where the energy is lost as heat. Electrons may return from the lowest excited state to the ground state via the emission of a photon. If the spin direction of the electron is maintained from the ground state to the excited state, the photon emission is called *fluorescence*. If the spin direction is reversed, the electron must “flip” its spin state before it can return to the ground state. The spin reversal takes more time than that for a direct return, but, as with fluorescence, may be accompanied by the emission of a photon; this process is called *luminescence* or *phosphorescence*.

Assim, o “quantum yield” do PSII é estimado através de um equação simples:

$$\text{Yield} = (F_m - F_0) / F_m$$

Em que  $F_0$  é a fluorescência base, antes da aplicação do impulso de luz saturante, e  $F_m$  é o valor de fluorescência depois desse impulso.

**Bibliografia**

Bolhàr-Nordenkamp, H. R. & Öquist, G., 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research in Hall, D. O., Scurlock, J. M. O., Bolhàr-Nordenkamp, H. R., Leegood, R. C. & Long, S. P. (eds). *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual*, 12. Chapman & Hall.

Falkowski, P. G. & Raven, J. A., 1997. *Aquatic Photosynthesis*, 375pp. Blackwell Science.

Schreiber, U., 1997. Chlorophyll fluorescence and photosynthetic energy conversion: Simple introductory experiments with the Teaching-PAM chlorophyll fluorometer, 73 pp. Walz.

Figura 1 – in Falkowski & Raven (1997)

## 2 Chlorophyll fluorescence: An indicator of photosynthetic energy conversion

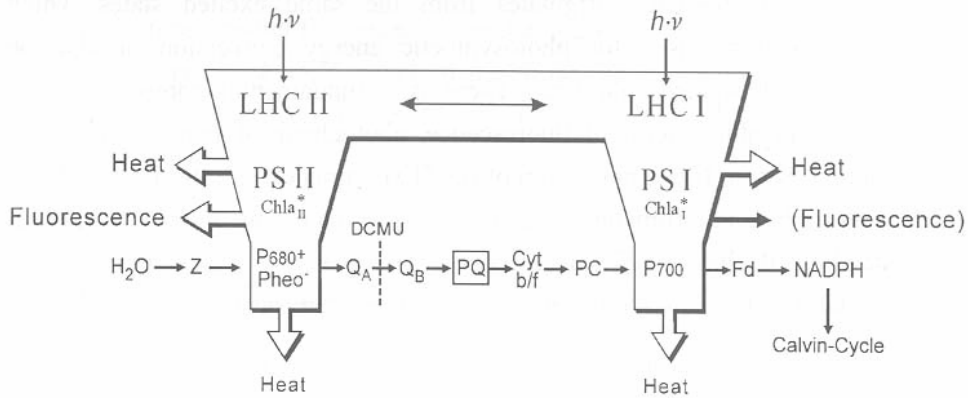


Fig. 1: Schematic view of primary energy conversion and primary electron transport in photosynthesis. LHC, light harvesting pigment-protein complex; Pheo, pheophytin; DCMU, PSII inhibitor (diuron); PQ, plastoquinone; PC, plastocyanin

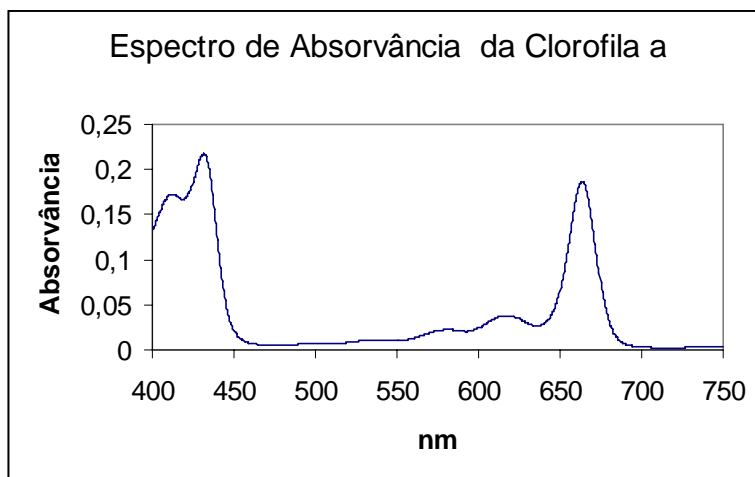
Figura 2  
– in  
Schreiber  
(1997)

## Anexo 2. Protocolo para determinação da Clorofila *a* e feopigmentos para o microfitobentos por espectrofotometria

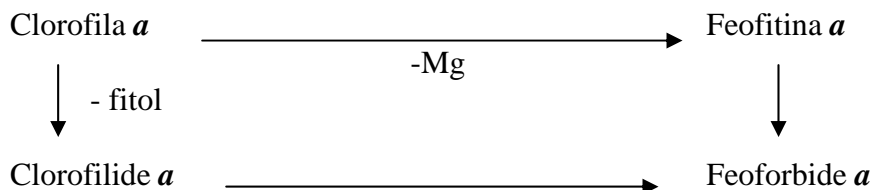
A clorofila *a*, pigmento universalmente presente em todos os grupos taxonômicos de algas, pode ser utilizado como índice de biomassa, tanto para fitoplâncton como para o microfitobentos.

O método espectrofotométrico para detecção dos pigmentos, foi desenvolvido por RICHARD e THOMPSON, 1952, e normalizado pela SCOR-UNESCO (UNESCO,1966). Este método tem sofrido algumas modificações, nomeadamente no que se refere aos valores dos coeficientes de absorção específica dos pigmentos (ou seja, quantidade de luz absorvida por unidade de peso).

Embora a acetona a 90% seja o solvente mais utilizado para as microalgas marinhas, podem-se utilizar outros, tais como metanol, exano, dietiléter. A Figura seguinte apresenta o espectro de absorvância da clorofila *a* em acetona a 90%.



A estrutura química da clorofila *a* é alterada por diversos processos biológicos e físicoquímicos que conduzem a derivados fotossinteticamente inativos, mas que absorvem luz no mesmo c.d.o. que a molécula-mãe, de acordo com o esquema seguinte:



Todos estes compostos apresentam um espectro de absorção muito semelhante (em acetona a 90%, os picos da clorofila *a* são 664 e 430 nm e a feofitina *a* e feoforbide *a* a 667 e 410 nm); no entanto, a clorofila *a* tem um coeficiente específico de absorção superior ou seja, absorve maior quantidade de luz por unidade de peso. Baseando-se nesta característica, Lorenzen (1967) desenvolveu um método simples de distinguir, por espectrofotometria, a clorofila *a* dos seus derivados. Adicionando ácido diluído a uma solução contendo clorofila *a*, esta perde o átomo de Mg e transforma-se em feofitina *a*. A solução sofre uma redução na absorvância, que é proporcional à relação “clorofila *a* / feofitina *a* “ pré-existente; a redução tem o valor máximo de 0.56, ausência de feofitina *a*, e mínimo de 1, ausência de clorofila.

Note-se que com este método se podem distinguir os compostos com Mg, clorofila *a* e clorofilide *a*, dos compostos sem Mg, feofitina *a* e feoforbide *a*, os quais se designam globalmente por feopigmentos. Não existe nenhum método que, por espectrofotometria, isole a clorofilide *a* (Lorenzen & Jeffrey, 1980). O único método para separar todos estes compostos é por cromatografia. Note-se também que a designação feoforbide *a* engloba vários compostos (distinguíveis apenas por cromatografia), que se vão transformando uns nos outros, até finalizarem num composto incolor.

Apesar desta desvantagem, Lorenzen & Jeffrey (1980) aconselham este método para amostras em que a percentagem de formas degradadas da clorofila *a* seja elevada, nomeadamente para amostras de sedimento.

Assim, a maior parte dos autores que trabalham com microfítobentos, as microalgas que colonizam a superfície dos sedimentos, seguem o método de acidificação de Lorenzen (1967). A extração dos pigmentos é realizada em acetona aquosa a 90%, a frio, no escuro, durante 18 a 24 horas. A absorvância do extracto é lida a 664 nm (pico da clorofila *a*) e a 750 nm (representa o valor da turbidez), antes e depois da adição de 12 µl de HCl a 0.5M.

O método de Lorenzen (1967) foi desenvolvido para amostras de fitoplâncton. Plante-Cuny (1974) propôs algumas alterações para adaptar o método a amostras de sedimento: indica como indispensável o conhecimento prévio sobre o teor em água do sedimento e a adição de acetona a 100% em volume tal que, diluída com a água do sedimento, fique a 90%. O volume final de solvente é assim a soma do volume de acetona introduzido e do volume de água do sedimento. Os resultados são expressos por peso seco de sedimento, ou unidade de área (neste caso, área de sedimento húmido).

O volume de amostra e o volume de acetona devem ser de modo a permitir que a absorvância do extracto a 664 nm se situe entre os limites de absorvância 0.05 e 0.8.

## Procedimento experimental

### Colheita de amostras:

Material: Frascos de vidro, papel de alumínio, balança com precisão de 0.00g, estufa.

### *Antes da saída de campo:*

- Numerar e pesar os frascos de vidro e as caixas de papel de alumínio que irão conter as amostras de sedimento. (Escolheram-se frascos de vidro com 100 ml de capacidade, 3.2 cm de diâmetro de boca e 9.5 cm de altura, em função do diâmetro do “corer” e do volume de acetona a utilizar).
- Cada amostra de sedimento recolhida é dividida em 2 sub-amostras, uma para análise dos pigmentos e outra para medição do teor em água.

### *À chegada ao laboratório:*

- Pesar frasco + amostra para determinação do peso húmido (PH).
- Proteger as amostras da luz, envolvendo os frascos em papel de alumínio. Colocar no congelador (onde podem ficar durante semanas ou meses até ao processo de extracção).
- Pesar caixa de papel de alumínio + amostra. Colocar na estufa a 60° - 80°C, durante 18-24h. Pesar de novo, após arrefecimento em excicador. Calcular peso húmido (PH), peso seco (PS), e volume de água do sedimento (PH – PS). Devem fazer-se pelo menos 3 replicados, e calcular o valor médio do teor em água (PH – PS) / PH.
- O teor em água do sedimento tem que ser tomado em conta para ajustar a diluição da acetona que é adicionada à amostra de sedimento onde vão ser analisados os pigmentos fotossintéticos. Assim, se o teor de água for por exemplo 0.60, e se o peso húmido da amostra for 6 g, a quantidade de água no sedimento será  $0.60 \times 6 = 3.6$  g, ou seja, 3.6 ml de água. Dado que se pretende que a diluição final da acetona seja de 90%, o volume de acetona a 100% a adicionar à amostra seria de  $3.6 \times 9 = 32.4$  ml.

•

### *Extracção:*

Material: Acetona a 100%, distribuidor automático ou pipetas, vareta de vidro.

As operações seguintes deverão ser realizadas em semi-obscuridade, para evitar a degradação da clorofila *a*.

- Após o descongelamento da amostra, adicionar, de acordo com os cálculos já efectuados, -X- volume de acetona a 100%, de modo a que a sua concentração na amostra fique a 90%.
- Agitar a amostra com a vareta de vidro durante 0.5 min.
- Colocar a amostra no frigorífico durante 24h. Agitar os frascos uma ou duas vezes nesse período.

•

Leitura no Espectrofotómetro:

Material: Espectrofotómetro; “cuvettes” de vidro de 1ml de capacidade e 1cm de passo; esguicho com acetona a 90%; esguicho com água destilada; pipeta de precisão; HCl a 0.5M e pipeta de Pasteur com tetina.

- Utilizar como branco acetona a 90%; acertar o zero do espectrofotómetro a 750nm.
- Depois de agitar os frascos, retirar 5 a 10 ml do extracto acetónico para um tubo de centrifugadora. Fazer uma centrifugação a 3500 rpm, durante 15 minutos.
- Sem agitar o tubo de centrifugadora, retirar 1 ml do sobrenadante para a “cuvette” com a pipeta de precisão.
- Ler a absorvância a 750 nm. Esta leitura poderia ser suprimida, acertando-se o zero a 664 nm; no entanto, a leitura a 750 nm serve de teste em relação à existência de poeiras em suspensão: se o valor obtido é superior a 0.015-0.020, deve fazer-se nova pipetagem ou centrifugar de novo o extracto.
- Adicionar 12 µl de HCL a 0.5M, agitando em seguida.
- Ler de novo a absorvância a 664 e 750 nm.
- Entre cada amostra lavar as “cuvettes” com acetona, água destilada e algumas gotas da amostra seguinte.
- Deitar fora o excedente de acetona que ficou no frasco, de modo a ficar só sedimento.
- Colocar frasco + sedimento na estufa, a 60° - 80°C, durante 18- 24h.
- Pesar. Calcular PS e PH-PS.

Cálculos:

$$\text{Clor. a } \mu\text{g/g} = \frac{A \times K [(664 - 750) - (664_a - 750_a)] \times (\text{PH} - \text{PS} + v)}{\text{PS} \times L}$$

$$\text{PS} \times L$$

$$\text{Feop. a } \mu\text{g/g} = \frac{A \times K [R (664_a - 750_a) - (664 - 750)] \times (\text{PH} - \text{PS} + v)}{\text{PS} \times L}$$

$$\text{PS} \times L$$

Em que:

664 e 750 = valores de absorvância antes da acidificação

664<sub>a</sub> e 750<sub>a</sub> = valores de absorvância depois da acidificação

A = 11.4 (L<sup>-1</sup> g cm), o que corresponde ao inverso de E (sendo E o coeficiente de extinção para a clorofila a em acetona a 90%, a 664 nm, 87.67 Lg<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)

R = valor máximo da razão  $664/664_a$ , na ausência de feopigmentos, 1.8. (Note-se que este valor varia ligeiramente segundo os autores, devendo ser determinado experimentalmente, com clorofila *a* pura)

K = factor destinado a restabelecer a concentração inicial em clorofila *a* a partir da redução da absorvância,  $= R / (R-1)$ , ou seja, 2.25

v = volume de acetona adicionado, em ml

PH-PS = volume de água do sedimento, em ml

PS = peso seco do sedimento, em g

L = passo da “cuvette”, em cm.

Para que os resultados venham expressos por unidade de área, em vez de, no denominador constar o Peso Seco da amostra, PS, deve constar a área de sedimento amostrada.

### **Bibliografia**

- Brotas, V., 1987. Avaliação dos pigmentos fotossintéticos das microalgas epibênticas do Estuário do Tejo. Provas de aptidão pedagógica e capacidade científica. F.C.U.L. 44pp.
- Lorenzen, C.J. 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12 (2): 343-346.
- Lorenzen, C. J. & Jeffrey, S.W. 1980. Determination of chlorophyll in seawater. Report of intercalibration tests. *Unesco Technical papers in marine science*, 35, 21p.
- Unesco, 1966. Determination of photosynthetic pigments in seawater. Report of the SCOR-UNESCO working group 17. *Monographs on Oceanographic Methodology*, 69p.
- Plante-Cuny, M.R. 1974. Evaluation par spectrophotométrie des teneurs en chlorophylle *a* fonctionnelle et en phéopigments des substrats meubles marins. *Doc. Sci. Mission O.R.S.T.O.M. Nosy-Bé*, 45: 1-76



### **Anexo 3. Regras para escrever um relatório ou um artigo científico.**

Formato geral - Escreva o seu relatório seguindo o formato geral de um artigo científico numa revista. Deve ter um título informativo, nome dos autores, um sumário, uma introdução, materiais e métodos, resultados, discussão e referências.

Para além deste formato, e porque se trata de um relatório de uma disciplina, podem existir anexos com, por exemplo, a descrição de uma metodologia de forma mais detalhada ou tabelas de dados “brutos”.

Sumário - Deve ser conciso e preciso de forma a que o leitor compreenda as linhas gerais do trabalho, assim como as suas conclusões principais, sem ler o texto completo.

Introdução - Esta deve descrever a base do trabalho, citando referências chave, fazendo o ponto da situação, na bibliografia, em relação a este assunto. Deve explicar-se a relevância de fazer esse trabalho, e definir bem os seus objectivos.

Materiais e métodos - Descrição concisa, mas informativa das técnicas utilizadas. Deve incluir a descrição do material e equipamento utilizados. O objectivo é permitir ao leitor repetir o trabalho em condições semelhantes. Pode estar dividida em secções como: Programa de amostragem, descrição do local, metodologia de laboratório, etc. Preste atenção às unidades, considere em que forma devem ser.

Resultados - **Descrição** clara e exaustiva dos resultados, acompanhada de tabelas, gráficos e dados originais seleccionados (traçados, cromatogramas, etc...). Qualquer Figura ou Tabela apresentada **tem que ser** comentada no texto. Todos os resultados mencionados no texto devem estar apresentados em Figuras ou Tabelas. Se possível, os resultados devem ser quantificados usando testes estatísticos apropriados. É importante que os resultados sejam registados correctamente. Porém, se tiver uma grande quantidade de dados primários, os mesmos devem ser colocados em anexo e resumidos na secção dos resultados, sob a forma de gráficos ou tabelas mais convenientes. Durante a elaboração do trabalho prático, é necessário manter um “diário” onde se registre os dados originais numa forma cronológica, dia a dia. Não use rascunhos em folhas soltas, pois podem ser perdidas ou danificadas durante o trabalho.

Discussão - Esta não deve ser uma repetição dos resultados: enquanto a secção Resultados constitui uma leitura dos dados, o objectivo desta secção é **interpretar** os resultados e comentar o seu significado à luz do que é conhecido na literatura. Deve evitar a tentação de fazer especulações exageradas baseadas em resultados isolados, por mais genial que lhe pareça a teoria desenvolvida. Tente identificar as falhas do seu trabalho - serão algumas, depois do seu curto projecto - e sugira o que poderia ser feito para estender, ou confirmar os seus resultados. Tente tirar algumas conclusões do seu estudo e diga até que ponto os seus objectivos foram concretizados.

Referências - A lista de todas as referências mencionadas no texto, tem de ser afixada no fim da discussão. Existem inúmeras formas citar referências (verifique como são feitas nas revistas que cita), e uma é mais correcta que as outras. É normalmente convincente, colocar o título, o(s) autor(es), a revista, o volume, o número de páginas e o ano. Os capítulos de livros devem ser identificados com o autor, número de páginas, título do capítulo, título do livro, editor (se existe), publicador, ano e lugar de publicação. No texto, cite sempre o autor(s), (primeiro autor *et al*, se forem três ou mais), e o ano.

Anexos – Podem incluir a descrição de uma metodologia de forma mais detalhada ou tabelas de dados “brutos”, que poderão ser importantes para a avaliação do trabalho, e para a sua realização no ano seguinte.

**Quando se escreve um relatório devem ainda tomar-se em conta as seguintes convenções:**

1 - Os nomes latinos dos géneros e espécies são sempre sublinhados ou em itálico. O nome do género começa sempre com maiúscula e o restritivo específico com minúscula.

2 - Todas as ilustrações, tabelas, etc. devem ser numeradas (e.g. Fig. 1, Tabela 1) e devem ser referidas no texto. A numeração deve ser em algarismos árabes. Só há duas categorias: Tabelas ou Figuras (mapas, fotografias, graficos **são Figuras**). As Tabelas são numeradas de 1 a.....n e as Figuras de 1 a...n.

3 - Todas as figuras ou tabelas devem possuir uma legenda, que descreva o seu conteúdo.

4 - **Referencias citadas no texto** devem conter o nome do autor juntamente com a data de publicação. A data é sempre entre parênteses e o nome do autor é normalmente incluído nos parênteses quando não faz parte do texto, e.g.: (Larsen, 1991), ou então, ...Larsen (1991) demonstrou...

Uma referência individual atribuída a mais de dois autores deve ser escrita com o nome do primeiro autor seguido de *et al.* e.g. Larsen *et al.* (1991). Quando se trata de dois autores, os dois têm que ser mencionados e.g. Costa & Larsen (1993).

5 - As referências bibliográficas no fim do texto devem ser listadas por ordem alfabética, sendo os formatos recomendados os seguintes:

i - Artigo de revista

Borowitzcka, M.A. 1982. Mechanisms in algal calcification. *Progress in Phycological Research* 1(3): 137-177.

i.e.: vol da revista e número (entre parênteses), dois pontos, página inicial e página final.

ii - Capitulo de livro editado

Simkiss, K. 1986. The processes of biomineralization in lower plants and animals - An overview, *in: Biomineralization in Lower Plants and Animals*, eds. Leadbeater, B.S.C. and Riding, R. pp, 19-37, Clarendon Press, Oxford.

iii - Livro escrito por um ou mais autores

Jeffrey, D.W., 1987. *Soil-Plant relationships*, 400pp. Croom Helm, London.