

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**A RADIAÇÃO UV-B NA RIA FORMOSA:
INCIDÊNCIA E IMPACTES BIOLÓGICOS**

(Tese para a obtenção do grau de doutor no ramo de
Ciências e Tecnologias do Ambiente, especialidade de Ambiente Aquático)

LÚCIA MORA MACHADO

Orientador: Doutora Maria João da Anunciação Franco Bebianno

Constituição do Júri:

Presidente: Reitor da Universidade do Algarve

Vogais: Doutora Maria João da Anunciação Franco Bebianno, Professora Catedrática da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve;

Doutora Ana Maria Albuquerque Ferreira de Macedo Almeida Mota, Professora Associada com agregação do Instituto Superior Técnico;

Doutora Isabel Maria Lopes Pereira Carlos Peres, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa;

Doutora Alexandra Maria Francisco Cravo, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve;

Licenciado Carlos Alberto Garcia do Vale, Investigador Coordenador do INIAP – Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas.

FARO
(2010)

Para

Pedro, Daniel e Bruno

O PRESENTE TRABALHO FOI, PARCIALMENTE, FINANCIADO PELA
FUNDAÇÃO PARA A CIÊNCIA E A TECNOLOGIA E PELO FUNDO SOCIAL EUROPEU
NO ÂMBITO DO III QUADRO COMUNITÁRIO DE APOIO,
ATRAVÉS DA BOLSA DE DOUTORAMENTO COM A REFERÊNCIA
PRAXIS XXI / BD / 13610 / 97.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora de Doutoramento, Prof. Doutora Maria João Bebianno, e à Prof. Doutora Alice Newton por me terem lançado no presente tema de estudo. À Prof. Doutora Maria João Bebianno agradeço a orientação, que tornou possível a concretização deste trabalho. Agradeço ainda a cuidadosa revisão dos textos que produzi e a sua tolerância pelo ritmo incerto de trabalho durante os últimos anos, devido à minha principal actividade profissional.

Aos amigos e colegas do então grupo de investigação e afins agradeço a partilha de experiências e emotividades. Com vocês sorri, ri, brinquei, trabalhei e ... Cresci. Em especial, ao Miguel Madureira agradeço o apoio nalguns dos dias de amostragem mais difíceis, pela sua duração em contínuo (dias completos), e pela excelente companhia. À Alexandra Cravo e à M.^a Rosário Coelho agradeço o apoio constante e incondicional ao longo do “tempo de UAlg” e a valorosa ajuda nas decisões mais difíceis que tive de tomar. Deixo um agradecimento lato a muitas outras pessoas que, de algum modo, foram importantes nesta jornada, e são muitas (lembro-me, de repente, de alguns colegas BMP e do pessoal da antiga UCTRA, Carla Magalhães, Leonor, Paula e Valentina): muito obrigada! Quero também agradecer ao João Reis pela sua paciência para com as minhas “experiências eléctricas” no edifício do Prodep e ao meu marido pelo apoio constante e logístico durante muitos dos dias que passei em cima da ponte para a Ilha de Faro, fizesse chuva ou sol, semanalmente, durante mais de 4 anos consecutivos.

Agradeço também à empresa de que hoje faço parte – ANA, Aeroportos de Portugal, S.A, por me ter proporcionado as condições necessárias para a concretização da última fase de trabalhos (redacção da tese), querendo aqui evidenciar o enorme apoio e incentivo do meu coordenador, Dr. Henrique Pires, assim como do Director do Aeroporto de Faro, Eng.º António Correia Mendes. Este apoio foi, sem dúvida, decisivo para a concretização de uma fase de vida, até aqui, “não resolvida”.

À minha avó Angélica Palma, cujos ensinamentos de espiritualidade e fé foram para mim a maior fonte de inspiração na vida. Agradeço o primeiro livro ilustrado que recebi: “O Mar”, de Leonard Engel (1969, Livraria José Olympio Ed., Rio de Janeiro), quando ainda nem sequer sabia ler. Ali nasceu o “bichinho” da biologia marinha e afins.

Agradeço à minha família (pais, irmão e cunhada) por nunca terem desistido de acreditar na minha determinação e dedicação para com a “Ciência”. Terem acreditado que eu poderia contribuir para a comunidade, desempenhando algum papel no mundo científico. Agradeço todo o apoio, constante e incondicional, em ocasiões menos fáceis da minha vida. Aos meus sogros e ao meu cunhado, agradeço a disponibilidade e todo o apoio dado aos meus filhos, em alturas cruciais, sobretudo, na última fase do plano de trabalhos.

Ao meu marido, agradeço ainda “tudo”, meu “porto de abrigo nas alturas de tempestade”, espero poder continuar a agradecer, juntamente com os meus filhos, a quem anseio, desesperadamente, por poder compensar o tempo “perdido”.

NOME: Lúcia Mora Machado

FACULDADE: Faculdade de Ciências e Tecnologia

ORIENTADOR: Professora Doutora Maria João Bebianno

DATA: Fevereiro 2010

TÍTULO DA TESE: A radiação UV-B na Ria Formosa: incidência e impactes biológicos.

RESUMO

Estudou-se a incidência da radiação UV-B (280-320 nm) na Ria Formosa, determinou-se o perfil de penetração desta gama de radiação na coluna de água e identificaram-se impactes biológicos associados. Realizaram-se amostragens semanais na Ria Formosa (ponte da Ilha de Faro, 37° 00' N, 7° 59' W), durante 4 anos consecutivos (Janeiro 1996 – Janeiro 2000), de radiação UV-B atmosférica e incidente a diferentes profundidades, e de parâmetros físico-químicos e biológicos. Foi determinada a variabilidade sazonal e ao longo dos anos de alguns factores que caracterizam este sistema costeiro, pouco profundo. Realizaram-se ensaios experimentais (laboratório) com monoculturas de *Isochrysis galbana* exposta a diferentes tratamentos de PAR constante ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e intensidades crescentes de radiação UV-B. A irradiância UV-B mínima testada ($30 \mu\text{W cm}^{-2}$) corresponde à determinada na Ria como limiar de afectação da biomassa fitoplanctónica. *I. galbana* é afectada por esta irradiância (redução da produção de pigmentos fotossintéticos), embora revele crescimento. A radiação UV-B foi significativamente superior na Primavera e no Verão, e em 1999, tendo sido observado um aumento substancial no Inverno deste ano. Utilizaram-se modelos lineares generalizados para, com base nos dados de campo, descrever a variação da biomassa fitoplanctónica em função da radiação UV-B e de outros factores. A radiação UV-B, juntamente com outros factores (bióticos e abióticos) tem efeito significativo na concentração de clorofila *a* na Ria Formosa, que atinge máximos na Primavera ($\approx 7 \mu\text{g l}^{-1}$) e mínimos no Inverno ($< 2 \mu\text{g l}^{-1}$).

Palavras-chave: Biomassa fitoplanctónica, Impactes, *Isochrysis*, Perfil, Ria Formosa, UV-B.

UV-B radiation in Ria Formosa lagoon: incidence and biological impacts

ABSTRACT

A study on UV-B (280-320 nm) radiation on Ria Formosa lagoon was conducted, a contour of penetration in depth down the water column was estimated and biological impacts of UV-B were identified. A weekly sampling scheme was carried out over 4 years in a row (January 1996 – January 2000) on Ria Formosa (*Ilha de Faro* bridge, 37° 00' N, 7° 59' W) on which UV-B atmospheric and in-depth measurements were taken and biological and chemical parameters were estimated from water samples. The seasonal and annual variability of several factors influent upon this low-depth coastal ecosystem were analyzed and described. Laboratory essays were made with *Isochrysis galbana* monocultures exposed to different treatments, with constant PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and increasing UV-B intensities. The minimal UV-B irradiance tested ($30 \mu\text{W cm}^{-2}$) was based upon the equivalent irradiance in the wild considered as threshold for phytoplankton biomass impact. *I. galbana* is impacted by this irradiance (in terms of photosynthetic pigments production) although growth is still observed. UV-B radiation was found to be significantly higher in Winter and Summer, and in 1999, year on which a substantial increase was detected in the Winter. General Linear Models were used on the field data to describe the variation of phytoplankton biomass. UV-B and other biotic and environmental variables were found to be significantly influent upon phytoplankton biomass observed variability which peaks in Spring ($\approx 7 \mu\text{g l}^{-1}$) and presents lowest values in Winter ($< 2 \mu\text{g l}^{-1}$).

Key-words: Impacts, *Isochrysis*, Phytoplankton biomass, Profile, Ria Formosa, UV-B.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
ÍNDICE	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xvii

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 IMPACTES DA EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO UV-B.....	6
1.1.1 Impactes no biota aquático.....	12
1.1.2 Mecanismos de resistência.....	18
1.1.3 Fotoquímica da radiação UV-B.....	21
1.2 SISTEMAS LAGUNARES.....	25
1.2.1 Caracterização da área de estudo	28
1.3 OBJECTIVOS.....	38
2 PERFIL DA RADIAÇÃO UV-B NA COLUNA DE ÁGUA DA RIA FORMOSA.....	41
2.1 INTRODUÇÃO	41
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.2.1 Estratégia de amostragem.....	48
2.2.2 Medição da irradiância UV-B	50
2.2.3 Análise de dados.....	53
2.3 RESULTADOS.....	62
2.3.1 Profundidade 0,0 m	65
2.3.2 Profundidade 0,5 m	66
2.3.3 Profundidade 1,0 m	67
2.3.4 Profundidade 1,5 m	68
2.3.5 Profundidade 2,0 m	69
2.3.6 Profundidade 2,5 m	70
2.3.7 Profundidade 3,0 m	71
2.3.8 Comparação dos melhores modelos estimados, entre profundidades	72
2.4 DISCUSSÃO	76
2.5 CONCLUSÕES	81

3 IMPACTES DA RADIAÇÃO UV-B NA MICROALGA <i>Isochrysis galbana</i>	83
3.1 INTRODUÇÃO	83
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	87
3.2.1 Caracterização da microalga <i>Isochrysis galbana</i>	87
3.2.2 Delineamento experimental.....	88
3.2.3 Determinação dos teores pigmentares.....	93
3.2.4 Determinação das constantes de crescimento	96
3.2.5 Análise de dados.....	98
3.3 RESULTADOS	101
3.3.1 Estudo do crescimento	103
3.3.2 Inibição do crescimento	107
3.4 DISCUSSÃO	117
3.5 CONCLUSÕES	130
4 A RADIAÇÃO UV-B, FACTORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS E A BIOMASSA FITOPLANCTÓNICA NA RIA FORMOSA	131
4.1 INTRODUÇÃO	131
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	135
4.2.1 Programa de amostragem	135
4.2.2 Caracterização físico-química	137
4.2.3 Caracterização biológica	137
4.2.4 Análise de dados.....	140
4.3 RESULTADOS	150
4.3.1 Radiação UV-B: padrões gerais e efeitos de factores abióticos.....	150
4.3.2 Relação da radiação UV-B atmosférica com factores abióticos	161
4.3.3 Variabilidade de factores bióticos e abióticos no pico solar	167
4.3.4 Atenuação da radiação UV-B na coluna de água.....	173
4.3.5 Tendências na Biomassa Fitoplanctónica	176
4.4 DISCUSSÃO	194
4.5 CONCLUSÕES	203
5 CONCLUSÕES FINAIS	205
REFERÊNCIAS	211
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1 – Cadeia trófica típica de sistemas estuarinos, indicando os produtores primários, os consumidores primários e os consumidores secundários e terciários (adaptado de McLusky & Elliot, 2004). 9
- Figura 1.2 – Enquadramento da zona de estudo na costa Sul de Portugal Continental (fonte: (a) Sistema Nacional de Informação Geográfica: <http://snig.igeo.pt>; (b) adaptado de Barbosa, *in press*). 27
- Figura 1.3 – Imagem de satélite com o enquadramento da Ria Formosa (fonte: *Google Earth, Digital Globe, 2009*). 28
- Figura 2.1 – Imagem de satélite com a localização do ponto de amostragem - \odot “Ponte da Ilha de Faro” (37° 00’ N e 7° 59’ W): (a) enquadramento do local de amostragem na Ria Formosa; (b) aproximação do local de amostragem representado em (a). (fonte: *Google Earth, Digital Globe, 2009*). 49
- Figura 2.2 – Representação esquemática do posicionamento do tubo de mergulho em forma de “L”, contendo o detector na extremidade, orientado na direcção do Sol, para medição da irradiância UV-B subaquática. 53
- Figura 2.3 – Variação da irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) incidente na Ria Formosa (Ponte da Ilha de Faro, 37° 00’ N e 7° 59’ W) no dia 21 de Setembro de 1995: a) atmosférica; b) a 1,0 metros de profundidade; c) a 1,5 metros de profundidade; d) a 2,0 metros de profundidade. 63
- Figura 2.4 – Variação da irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) atmosférica na Ria Formosa (Ponte da Ilha de Faro, 37° 00’ N e 7° 59’ W), em função do mês e da hora local, entre Fevereiro de 1996 e Janeiro de 1997, inclusive. 64
- Figura 2.5 – Perfil da irradiância UV-B, expressa em $\mu\text{W cm}^{-2}$ e em percentagem relativa à incidência atmosférica, na coluna de água da Ria Formosa (37° 00’ N e 7° 59’ W), contendo ampliação do perfil de penetração no intervalo 0 a 2% na Ria Formosa. 75
- Figura 2.6 – Perfil da radiação UV-B na costa algarvia (estação 10: 36° 30’ N; 08° 19’ W), obtido no dia 28 de Fevereiro de 1996 (radiação atmosférica de 148 $\mu\text{W cm}^{-2}$): (a) irradiância UV-B em profundidade ($\mu\text{W cm}^{-2}$); (b) atenuação da radiação UV-atmosférica (%) com a profundidade. 77
- Figura 3.1 – Esquema representativo dos ensaios efectuados em laboratório com *Isochrysis galbana*. Legenda: 1 – Duas lâmpadas de PAR; 2 – Cinco lâmpadas que emitem radiação UV-B e 3 – Filtros de acetato de celulose. 91

- Figura 3.2 – Representação esquemática da sequência, em horas de exposição da cultura de *Isochrysis galbana*, ao tratamento diário com a radiação PAR (a verde), PAR e UVB (a verde e roxo) e ausência de iluminação - escuro (a preto). 92
- Figura 3.3 – Variação da concentração celular (número de células / ml) de *Isochrysis galbana* em função do tempo de exposição (dias) à radiação PAR (controlo experimental, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e à radiação PAR com doses crescentes de radiação UV-B (UVB1 = $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). 101
- Figura 3.4 – Variação da concentração celular (percentagem) de *Isochrysis galbana* em função do tempo de exposição (dias) à radiação PAR (controlo experimental, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e à radiação PAR com doses crescentes de radiação UV-B (UVB1 = $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). 102
- Figura 3.5 – Representação gráfica dos modelos estimados para relacionar o aumento da concentração celular (%) de *Isochrysis galbana* com o tempo de exposição a condições artificiais de luminosidade nos tratamentos PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas diárias) e UVB1 ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas diárias de PAR + $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas diárias de UV-B). 103
- Figura 3.6 – Crescimento de *Isochrysis galbana* exposta à radiação PAR (tratamento PAR, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas por dia) e à radiação PAR + UV-B (tratamento UVB1, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas diárias de PAR + $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas diárias de UV-B): (a) variação da razão de crescimento da concentração celular em função do tempo de exposição; (b) Variação do tempo (em dias) necessário para ocorrência de uma divisão celular (T. D.). 104
- Figura 3.7 – Variação da quantidade de pigmentos de *Isochrysis galbana*, representada por produção, em percentagem (%), em função do tempo de exposição nos tratamentos PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas por dia) e UVB1 ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas diárias de PAR + $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas diárias de UV-B): (a) Clorofila a; (b) Carotenóides; (c) Feopigmentos. 106
- Figura 3.8 – Variação, em percentagem (%), da inibição média do crescimento de *Isochrysis galbana*: (a) em função do tempo de exposição, em dias, aos diferentes tratamentos com radiação UV-B (UVB2, UVB3, UVB4, UVB5 e UVB6), em que UVB2 a UVB 5 correspondem a 5 horas de exposição por dia e UVB6 corresponde a 1 hora de exposição por dia, motivo pelo qual a variação obtida neste tratamento é representado à parte dos restantes; (b) em função da dose crescente de radiação UV-B (UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). 107

- Figura 3.9 – Percentagem de inibição do crescimento de *Isochrysis galbana* em função: (a) do logaritmo na base 10 da dose de radiação ($\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$), para determinação de $\text{UVB}_{\text{BE}}(50)$; (b) do logaritmo na base 10 do tempo de exposição em dias, para determinação de $\text{TE}(50)$. A inibição do crescimento de 50% da cultura da microalga, assinalada graficamente por uma recta, corresponde ao valor 5,0 na escala de probits. 108
- Figura 3.10 – Toxicidade da radiação UV-B para *Isochrysis galbana*, ajustada por um modelo exponencial que relaciona as doses biologicamente efectivas de inibição do crescimento de 50% da cultura - $\text{UVB}_{\text{BE}}(50)$, com o tempo de exposição, em dias. 111
- Figura 3.11 – Variação do teor de clorofila *a*, em percentagem, representada por produção ou degradação, em função do tempo de exposição nos tratamentos com doses crescentes de radiação UV-B que revelaram inibição do crescimento de *Isochrysis galbana* ($\text{UVB}_2 = \text{UVB}_6 = 18 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, $\text{UVB}_3 = 36 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, $\text{UVB}_4 = 54 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$ e $\text{UVB}_5 = 90 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$). 112
- Figura 3.12 – Variação do teor de carotenóides, em percentagem, representada por produção ou degradação, em função do tempo de exposição nos tratamentos com doses crescentes de radiação UV-B que revelaram inibição do crescimento de *Isochrysis galbana* ($\text{UVB}_2 = \text{UVB}_6 = 18 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, $\text{UVB}_3 = 36 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, $\text{UVB}_4 = 54 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$ e $\text{UVB}_5 = 90 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$). 114
- Figura 3.13 – Variação da razão entre as concentrações de carotenóides e clorofila *a* de *Isochrysis galbana* exposta a doses crescentes de radiação UV-B ($\text{UVB}_2 = 18 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, $\text{UVB}_3 = 36 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, $\text{UVB}_4 = 54 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$ e $\text{UVB}_5 = 90 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$), ao longo do tempo de exposição (7 dias). 115
- Figura 3.14 – Variação dos teores pigmentares de clorofila *a* e carotenóides nas culturas de *Isochrysis galbana* expostas à dose de radiação UV-B de: (a) $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, irradiância de $100 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 5 horas por dia; (b) $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, irradiância de $500 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 1 hora por dia; (c) $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, irradiância de $500 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 5 horas por dia. 116
- Figura 4.1 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, histogramas da variável “radiação UV-B”: total de observações no período de amostragem (radiação atmosférica e no meio aquático, a diferentes profundidades), radiação atmosférica, radiação no meio aquático (todas as profundidades amostradas) e radiação no meio aquático por profundidade (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 m de profundidade). 153
- Figura 4.2 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, distribuição da frequência de observações (histograma) da variável *hora* (hora do dia): a) histograma, as amplitudes de classe são de 1h, incluindo observações ao limite inferior ($[\text{inf}, \text{sup}]$); b) caixa-de-bigodes (*boxplot*), os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, respectivamente (Zar, 1984). 155

- Figura 4.3 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: distribuição da frequência de observações (gráfico de barras) da variável *estação* (estação do ano). 155
- Figura 4.4 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, distribuição da variável *sechi* (profundidade do disco de *Sechi*): a) histograma – as amplitudes de classe são de 0,5 m, incluindo observações ao limite inferior – [inf,sup[; b) caixa-de-bigodes (*boxplot*) – os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”). 156
- Figura 4.5 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: distribuição da frequência de observações (gráfico de barras) da variável *nuvens* (presença ou ausência de nebulosidade). 157
- Figura 4.6 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: *boxplots* dos valores observados de radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em função da estação do ano. Os limites inferior e superior e a secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”). 158
- Figura 4.7 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em função da estação do ano (eixo das abcissas) e do ano cronológico (variável de agrupamento). A altura das barras denota valores médios (\bar{y}), enquanto que os segmentos de recta verticais representam o intervalo de 95% de confiança para a média respectiva ($\bar{y} \pm t_{0.05(2),v} s/\sqrt{n}$) (Pestana & Velosa, 2006). 159
- Figura 4.8 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, série temporal da radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$) amostrada (dia \times hora de amostragem). A linha de tendência foi ajustada às observações pelo método não-paramétrico *loess – locally-weighted regression* (Hastie & Tibshirani, 1990). As médias mensais são apresentadas a título comparativo, não tendo sido incluídas no ajuste. O eixo das abcissas respeita o dia cronológico (dia cronológico 1 = 1º dia de amostragem – 13/2/1996; dia cronológico 1440 = 74º dia de amostragem – 22/1/2000). As médias mensais são reportadas ao dia cronológico referente ao primeiro dia amostrado em cada mês. Devido a este motivo, a distância entre “meses” é desigual. 161
- Figura 4.9 – Variação da radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$) ao longo das estações do ano e da hora (no intervalo do fotoperíodo máximo), baseada na análise do conjunto de dados “*Semanais*”. 162
- Figura 4.10 – Variação da radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) na coluna de água da Ria Formosa (dados integrados de todas as profundidades amostradas), ao longo das estações do ano e da hora (no intervalo do fotoperíodo máximo), baseada na análise do conjunto de dados “*Semanais*”. 163

- Figura 4.11 – Validação do modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta *radiação UV-B atmosférica*, em função das variáveis *ano*, *estação do ano* e *nuvens*, análise de diagnóstico: a) histograma dos resíduos (padronizados para a distribuição Gama); b) resíduos (padronizados para a distribuição Gama) contra valores estimados. 166
- Figura 4.12 – Efeitos parciais das covariáveis categóricas (*estação do ano*, *ano* e *nebulosidade*) incluídas no modelo linear generalizado ajustado à variável resposta *UV-B atmosférica*, do conjunto de dados “*Semanais*”: valores dos coeficientes para cada nível. O erro padrão de cada coeficiente encontra-se representado pelas bandas verticais. Os primeiros níveis de cada covariável não possuem estimativas de variabilidade separadamente, dado que servem de referência aos restantes níveis e encontram-se “incorporados” na estimativa de β_0 do modelo. Círculos preenchidos denotam coeficientes significativamente diferentes do valor zero de referência (primeiro nível da respectiva variável, representado graficamente à esquerda com um traço a negrito), enquanto que círculos vazios indicam não haver diferença significativa de zero, ou seja, o nível correspondente não difere significativamente do primeiro dos níveis das covariáveis, utilizado como referência. 168
- Figura 4.13 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Pico solar*”, histogramas e *boxplots*, respectivamente, das variáveis: a) e b) Clorofila *a*; c) e d) Feopigmentos; e) e f) Clorofila *c*; g) e h) Carotenóides; i) e j) Clorofila *b*. Nos *boxplots*, os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”). 170
- Figura 4.14 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Pico solar*”, histogramas e *boxplots*, respectivamente, das variáveis: a) e b) Temperatura; c) e d) pH; e) e f) Turbidez; g) e h) Cor; i) e j) Oxigénio dissolvido. Nos *boxplots*, os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”). 171
- Figura 4.15 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Pico solar*”: a) histograma e b) *boxplot* da variável *radiação UV-B no meio aquático* ($\leq 0,5$ m de profundidade); c) gráfico de barras da variável *Profundidade*; d) histograma e e) *boxplot* da variável *Profundidade de Sechi*; f) gráfico de barras da variável *Nebulosidade*. Nos *boxplots*, os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”). 172

- Figura 4.16 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Pico solar*”: matriz de nuvens de pontos da variável *Clorofila a* contra outras variáveis amostradas; no caso de variáveis independentes métricas discretas (*Profundidade*) ou categóricas (*Estação* e *Nuvens*) são utilizados boxplots (largura das caixas é proporcional ao número de observações). As unidades de grandeza de cada variável encontram-se na Tabela 4.1. 174
- Figura 4.17 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Pico solar*”: nuvem de pontos da variável *Carotenóides* contra a variável *radiação UV-B*. 175
- Figura 4.18 – Histograma dos valores estimados do coeficiente de atenuação (K_d) para cada dia de amostragem, referentes ao conjunto de dados “*Pico solar*”. 176
- Figura 4.19 – *Boxplots* dos valores estimados do coeficiente de atenuação da radiação UV-B (K_d) na Ria Formosa para cada estação do ano. Os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”). 177
- Figura 4.20 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: matriz de nuvens de pontos da variável *Clorofila a* contra as outras variáveis amostradas. No caso de variáveis independentes métricas discretas (*Profundidade*) ou categóricas (*Dia*, *Nuvens*) são utilizados *boxplots* (largura das caixas é proporcional ao número de observações). As unidades de grandeza de cada variável encontram-se na Tabela 4.11. 181
- Figura 4.21 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *Temperatura*. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano). 182
- Figura 4.22 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *Feopigmentos*. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano). 182
- Figura 4.23 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *pH*. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano). 183
- Figura 4.24 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”, nuvens de pontos da variável *Clorofila a* contra *hora do dia*: a) pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano); b) linhas de tendência aos pares de valores de cada dia de amostragem (ajustadas através do método não-paramétrico *loess – locally-weighted regression* (Hastie & Tibshirani, 1990). 184

- Figura 4.25 – Variação da radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) na coluna de água da Ria Formosa, ao longo das horas para cada dia amostrado, representativo de cada estação do ano (conjunto de dados “*Dias completos*”). 185
- Figura 4.26 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *radiação UV-B* na coluna de água da Ria Formosa. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem. 186
- Figura 4.27 – Histograma das concentrações de clorofila *a* do conjunto de dados “*Dias completos*”. 189
- Figura 4.28 – Validação do modelo linear generalizado da variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “*Dias completos*”, análise de diagnóstico: a) quantis da amostra (padronizados para a distribuição Gama) contra quantis teóricos; b) resíduos (padronizados para a distribuição Gama) contra valores estimados. 193
- Figura 4.29 – Efeitos parciais dos níveis da covariável categórica *Dia de amostragem* (estação do ano), incluída no modelo linear generalizado final ajustado à variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “*Dias completos*”: valores dos coeficientes para cada nível. O erro padrão de cada coeficiente encontra-se representado pelas bandas verticais. Os primeiros níveis de cada covariável não possuem estimativas de variabilidade separadamente, dado que servem de referência aos restantes níveis e encontram-se “incorporados” na estimativa de β_0 do modelo. Círculos preenchidos denotam coeficientes significativamente diferentes do valor zero de referência (primeiro nível da respectiva variável), enquanto que círculos vazios indicam não haver diferença significativa de zero, ou seja, o nível correspondente não difere significativamente do primeiro dos níveis das covariáveis, utilizado como referência. 194

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Exemplos de foto-degradação de poluentes por exposição à radiação UV-B.	24
Tabela 2.1 – Grandezas e unidades radiométricas (adaptado de Okuno & Vilela, 2005).	51
Tabela 2.2 – Resultados da análise descritiva da variável resposta (irradiância UV-B em $\mu\text{W cm}^{-2}$) para cada profundidade.	65
Tabela 2.3 – Irradiância UV-B total, máxima, média e percentagem de penetração a cada profundidade.	74
Tabela 3.1 – Exposição de <i>Isochrysis galbana</i> a intensidade constante de PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e irradiâncias crescentes de radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$), correspondentes a diferentes doses de exposição diária ($\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$).	93
Tabela 3.2 – Radiação UV-B biologicamente efectiva para a inibição do crescimento de 50% da cultura [$\text{UVB}_{\text{BE}}(50)$] de <i>Isochrysis galbana</i> em cada dia de exposição.	109
Tabela 3.3 – Tempo efectivo necessário para inibição do crescimento de 50% [$\text{TE}(50)$] da cultura de <i>Isochrysis galbana</i> , determinado para cada dose de tratamento com radiação UV-B.	109
Tabela 4.1 – Variáveis em estudo: nome, descrição, escala de medida e unidades.	144
Tabela 4.2 – Variáveis medidas em cada conjunto de dados (“ <i>Semanais</i> ”, “ <i>Pico solar</i> ” e “ <i>Dias completos</i> ”), obtidos nas amostragens de campo, realizadas entre 1996 e 2000.	145
Tabela 4.3 – Valores do coeficiente de assimetria estimado pelo método dos momentos para a variável radiação UV-B: radiação UV-B atmosférica e por profundidade. Conjunto de dados “ <i>Semanais</i> ”.	154
Tabela 4.4 – Passos na análise <i>stepwise backward</i> seguida para a obtenção do melhor modelo linear generalizado ajustado para explicar a resposta <i>radiação UV-B atmosférica</i> , em função das variáveis <i>ano</i> , <i>estação do ano</i> e <i>nuvens</i> , referente ao conjunto de dados “ <i>Semanais</i> ”. “gls” denota graus de liberdade.	164
Tabela 4.5 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta <i>radiação UV-B atmosférica</i> , em função das variáveis <i>ano</i> , <i>estação do ano</i> e <i>nuvens</i> , referente ao conjunto de dados “ <i>Semanais</i> ”: resultados da ANOVA. “gls” denota graus de liberdade.	165

Tabela 4.6 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta <i>radiação UV-B atmosférica</i> , em função das variáveis <i>ano</i> , <i>estação do ano</i> e <i>nuvens</i> , referente ao conjunto de dados “ <i>Semanais</i> ”: sumário com a informação das estimativas para os coeficientes de cada termo \times níveis.	165
Tabela 4.7 – Delineamento resultante do cruzamento das observações dos factores <i>estação do ano</i> e <i>ano</i> na variável resposta <i>radiação UV-B</i> na coluna de água, referente ao conjunto de dados “ <i>Pico solar</i> ”.	176
Tabela 4.8 – Resultados da Análise de Variância a um factor (<i>estação do ano</i>) dos valores do coeficiente de atenuação da radiação UV-B (K_d) estimados para a Ria Formosa.	177
Tabela 4.9 – Resultados do teste à Normalidade das observações da concentração de clorofila <i>a</i> para cada dia de amostragem / estação do ano (grupos), aplicado ao conjunto de dados “ <i>Dias completos</i> ”.	187
Tabela 4.10 – Análise do conjunto de dados “ <i>Dias completos</i> ”: a) resultados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis à diferença entre observações das concentrações de clorofila <i>a</i> por dias de amostragem / estações do ano (grupos); b) ordens médias (<i>ranks</i>) de cada grupo.	188
Tabela 4.11 – Passos da análise <i>stepwise backward</i> seguidos para obtenção do melhor modelo linear generalizado ajustado para explicar a resposta <i>Clorofila a</i> , em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, com base no conjunto de dados “ <i>Dias completos</i> ”. Os valores de AIC referem-se ao modelo obtido após a eliminação da variável na linha respectiva (por exemplo, AIC=139,7 refere-se ao modelo sem a variável <i>temp</i>). “gls” denota graus de liberdade.	190
Tabela 4.12 – Interações testadas no modelo linear generalizado preliminar (de efeitos principais significativos) da variável resposta <i>Clorofila a</i> , em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, com base no conjunto de dados “ <i>Dias completos</i> ”: razões para o teste e decisões. “gls” denota graus de liberdade.	191
Tabela 4.13 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta <i>Clorofila a</i> , em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “ <i>Dias completos</i> ”: resultados da ANOVA. “gls” denota graus de liberdade.	192
Tabela 4.14 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta <i>Clorofila a</i> , em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “ <i>Dias completos</i> ”: sumário com a informação sobre as estimativas dos coeficientes para cada termo \times níveis.	192

INTRODUÇÃO GERAL

A radiação solar constitui um factor natural importante do clima na Terra, influenciando fortemente o ambiente. A componente ultravioleta (UV) do espectro solar desempenha um papel determinante em diversos processos na biosfera, originando efeitos positivos e negativos – impactes. Os impactes negativos surgem quando os mecanismos de defesa, inerentes a cada espécie, se tornam ineficazes. A radiação electromagnética emitida pelo Sol envolve uma vasta gama de comprimentos de onda. A radiação UV, do tipo não-ionizante, corresponde à gama de 100-400 nm. As radiações inferiores a 100 nm correspondem às ionizantes e marcam o limite inferior da região do espectro ultravioleta. A radiação UV pode ser classificada, consoante as gamas de comprimento de onda em: UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) e UV-C (100-280 nm) (WHO, 1994).

No âmbito das alterações climáticas tem havido um forte enfoque no problema da redução da camada de ozono estratosférico, devido aos impactes associados. A Camada de Ozono (O₃) localiza-se a uma distância entre 10 a 50 km sobre a superfície da terra, sendo que cerca de 90% do mesmo se concentra na estratosfera, razão principal para que geralmente seja chamado também de ozono estratosférico. A nível nacional, a camada de ozono tem um papel de tal modo importante para a vida na terra, devido à sua capacidade protectora contra as radiações ultravioletas, que a sua destruição é considerada como um dos maiores problemas ambientais da actualidade (MAOTDR, 2005).

A redução da camada de ozono estratosférico é uma consequência directa da interferência de substâncias produzidas pelo Homem, como os clorofluorcarbonetos (CFC's) (Clyne, 1976) e os hidroclorofluorcarbonetos (HCFCs) (Houghtton, 1996). São vários os produtos químicos com potencial de destruição da camada de ozono, também conhecidos por Substâncias que Empobrecem a Camada de Ozono (*Ozone Depleting Substances* – ODS), os quais são amplamente utilizados nos nosso quotidiano. São diversas as substâncias químicas de origem antropogénica que reagem com o ozono destruindo-o. Os compostos halogenados, nomeadamente os CFC presentes nos solventes, espumas, aerossóis, equipamentos de refrigeração e climatização, e os halons presentes nos extintores, cujo uso destes últimos foi restringido (Regulamento (CE) n.º 2037/2000), são os maiores responsáveis por esse fenómeno.

Associada à redução da espessura da camada ozono podem ocorrer alterações nos fluxos de radiação UV que atingem a superfície da Terra (WHO, 1994). Os fluxos de radiação UV-B que atingem a superfície da Terra têm aumentado ao longo dos anos. A radiação UV-C é completamente absorvida pelo ozono e oxigénio atmosféricos (Gerber & Häder, 1995; McKenzie *et al.*, 2003). As radiações UV-A e PAR (*Photosynthetically Active Radiation*, 400-700 nm) não são, praticamente, afectadas pela variação da espessura da camada de ozono (Nielsen *et al.*, 1995). Problemas biológicos sérios podem advir se ocorrerem mudanças particulares no espectro de luz incidente, o que se tem vindo a verificar com a redução da camada de ozono (Houghtton *et al.*, 1996).

Em termos quantitativos e de uma forma geral, a radiação infra-vermelha (>700 nm) corresponde a 52,8% da radiação extraterrestre, a radiação visível – PAR (400 a 700 nm) corresponde a 38,9%, a radiação UV-A corresponde a 6,3% e a UV-B corresponde apenas a

1,5%. Esta última reduz-se ainda mais à superfície da Terra, variando em proporção ao longo do dia, da estação do ano, da localização geográfica e em função das condições atmosféricas e da superfície terrestre (Mora *et al.*, 2000). A radiação UV adicional que atinge a superfície da Terra, como resultado da redução de 10% do ozono, soma menos de 0,5% de aumento de energia total (Kramer, 1990).

A radiação UV-B é, das gamas de radiação ultravioleta, a mais perigosa, uma vez que é responsável pelo aumento da reactividade química na troposfera, única camada em que os seres vivos podem respirar normalmente e que se estende a partir da superfície da Terra, com cerca de 7 a 17 km de espessura (WHO, 1994). Sem a atenuação da atmosfera terrestre, a intensidade da radiação UV-B que atinge a superfície da Terra corresponde a cerca de 2100 $\mu\text{W cm}^{-2}$ e constitui apenas 1,5% da radiação total incidente, tal como referido anteriormente (Frederick *et al.*, 1989).

Nos últimos 20 anos observou-se uma redução gradual da espessura da camada de ozono, principalmente nas latitudes médias e altas, atribuída à destruição do ozono por compostos químicos resultantes das actividades humanas. Esta redução aumenta, regra geral, na direcção dos pólos e com maior intensidade no chamado Buraco de Ozono da Antárctica (WMO, 1994).

Em Portugal, o estado da camada de ozono não é significativamente diferente das outras regiões situadas à mesma latitude, observando-se uma redução de cerca de 3% por década durante os últimos 30 anos (Santos *et al.*, 2002). De modo a respeitar os compromissos de Portugal no âmbito do Protocolo de Quioto e da partilha de responsabilidades no seio da UE, bem como antecipar os impactes das alterações climáticas e propor as medidas de adaptação

que visam reduzir os aspectos negativos desses impactes foi criado o Programa Nacional para as Alterações Climáticas (PNAC). Este é o primeiro programa nacional desenvolvido com o objectivo específico de controlar as emissões de gases com efeito de estufa (GEE), entre os quais se incluem as substâncias responsáveis pela destruição da camada de ozono (CFCs e HCFCs) (IA, 2002).

Com a efectiva implementação dos compromissos estabelecidos no Protocolo de Montreal e respectivas emendas (Emenda de Londres em 1990, Emenda de Copenhaga em 1992, Emenda de Montreal em 1997 e Emenda de Pequim em 1999) será expectável que em 2050, as concentrações de CFCs e HCFCs sofram uma redução substancial (Houghton *et al.*, 1996), recuperando para níveis similares aos existentes em 1980 (www.appambiente.pt, actualização de 07-09-2009; Haapala *et al.*, 2009; McKenzie *et al.*, 2003).

Com o Projecto SIAM (*Scenarios Impacts and Adaptation Measures*), iniciado em 2000 (Santos *et al.*, 2002), e continuado com o SIAM II (Santos *et al.*, 2006), foram avaliados os impactes de cenários de alterações climáticas em diversos domínios para Portugal, baseados no aumento da temperatura média entre 4 °C e 7 °C (um aumento superior às previsões do Painel Intergovernamental sobre Alterações Climáticas - PIAC) para a temperatura média global à superfície da Terra – 1,4 °C a 5,8 °C). O âmbito deste projecto incide sobre o aumento da temperatura média global, pelo que não inclui impactes de cenários do aumento da incidência de gamas específicas de radiação. Com o presente estudo pretende-se contribuir com informação inovadora sobre o aumento da radiação UV-B em Portugal, designadamente no Sul do país, concretizando, na Ria Formosa, e determinar possíveis impactes provocados pelo aumento desta gama de radiação em ecossistemas costeiros pouco profundos de latitudes médias.

O impacto do aumento da radiação UV-B nos ecossistemas marinhos é considerável, sobretudo, tendo em conta que os oceanos representam cerca de 70% da superfície da Terra (Meadows & Campbell, 1978). Os ecossistemas marinhos dependem fortemente do que se passa nas camadas superiores, até onde a luz penetra, ou seja, da zona eufótica. A radiação UV-B pode constituir perigo para o equilíbrio das comunidades marinhas, na medida em que pode atingir profundidades significativas na coluna de água (Holm-Hansen *et al.*, 1989; Karentz, 1989; UNEP, 1991; Driscoll, 1992), onde proliferam a fauna e flora marinhas. Segundo Smith & Baker (1989), 10% da radiação UV superficial pode penetrar até 5 a 25 m de profundidade na coluna de água. Esta percentagem é confirmada por Buckley & Trodahl (1990), nos estudos realizados no Oceano Antártico, em que cerca de 10% da intensidade de radiação UV-B que atinge a superfície da camada de gelo do Oceano Antártico é transmitida para a coluna de água. De facto, investigações específicas revelaram que a radiação UV-B penetra até à profundidade de 65 m nas águas claras do Oceano Antártico (UNEP, 1991; Driscoll, 1992), apresentando como consequência directa a redução drástica das taxas de sobrevivência do fitoplâncton nos primeiros 10 m de profundidade (Holm-Hansen *et al.*, 1989; Karentz, 1989). Contudo, nos sistemas costeiros, com pouca profundidade e embora a radiação UV-B sofra uma forte filtração com a profundidade, não significa, no entanto, que os impactos da respectiva penetração tenham menor amplitude e significância (Kuhlenkamp *et al.*, 2001; Gómez *et al.*, 2005).

As preocupações resultantes do aumento da radiação UV-B, devido à redução global da espessura da camada de ozono, levaram assim ao aumento no interesse pela medição e previsão da incidência da radiação UV-B e respectivos impactos sobre a biosfera (WMO, 1988, 1995, 1999; UNEP, 1991, 1998).

1.1 IMPACTES DA EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO UV-B

A exposição à radiação UV-B provoca efeitos que variam em função do comprimento de onda. Em geral, a quantidade de energia requerida para produzir um determinado impacto negativo é variável em função do comprimento de onda. Considera-se como um impacto negativo a ocorrência de dano numa dada função biológica, como resposta à exposição à radiação. Em regra, quanto menor o comprimento de onda, mais acentuado será o impacto (Mora *et al.*, 2000).

A reacção biológica é assim resposta à exposição a um determinado comprimento de onda, e a irradiação responsável por essa afectação é considerada como a irradiação biologicamente efectiva. Vários trabalhos foram realizados com vista à determinação de uma função de ponderação ($\epsilon(\lambda)$), dependente do comprimento de onda responsável pela reacção biológica, para vários tipos de impactes. Quando o impacto é resposta da exposição a uma região do espectro (vários comprimentos de onda) importa formular uma função generalizada ou espectro de acção que possa ser utilizada como uma aproximação para todos os organismos (Baker *et al.*, 1980; Voytek, 1990). Contudo, idealmente, a escolha da função do efeito biológico deve ser determinada para cada organismo. Existem alguns trabalhos sobre funções de ponderação espectral para ecossistemas marinhos (Smith & Baker, 1989; Cullen & Neale, 1994; Smith & Cullen, 1995; Lesser *et al.*, 2006; Andreasson & Wängberg, 2007). Exemplos de espectros de acção são:

- o espectro de acção de fotoinibição dos cloroplastos (Jones & Kok, 1966) e da fotossíntese (Cullen *et al.*, 1992);
- o espectro de acção de plantas superiores (Kramer, 1990);

- o espectro de acção do ADN (Setlow *et al.*, 1989; Regan *et al.*, 1992; Setlow *et al.*, 1993).

De âmbito geral, o espectro de acção mais conhecido talvez seja o apresentado por Robertson (Kramer, 1990), o qual propôs um sensor que mede a eficiência biológica da produção de eritema da pele, provocado pela radiação UV-B, ou seja, o espectro de acção do eritema (WHO, 1994). A unidade de medida deste espectro de acção é dada em unidades de queimadura solar (*sunburn unit* – SU).

Qualquer espectro de acção é uma aproximação, de forma que a comparação de diferentes espectros de acção não é elementar. Contudo, podem ser efectuadas comparações entre doses biologicamente efectivas (dose por unidade de tempo), se e só se forem utilizados os mesmos comprimentos de onda na irradiação (Smith & Baker, 1979).

É razoável supor que os organismos normalmente expostos a níveis elevados de radiação UV-B desenvolvem mecanismos de resistência à acção desta gama de radiação, escapando assim dos efeitos destrutivos da mesma. Klugh foi um dos primeiros investigadores que estudou o efeito da componente UV da luz solar sobre certos organismos marinhos, na década de 70 (Kramer, 1990). Este autor encontrou uma relação entre a profundidade e a susceptibilidade à radiação de pequeno comprimento de onda, tendo descoberto que a tolerância e a exposição à radiação UV solar se confundem (Calkins & Thordardottir, 1980). Entre os vários mecanismos de resistência ao UV-B destacam-se a migração (vertical), a produção de matéria orgânica absorvente da radiação na gama do UV e o desenvolvimento da capacidade de reparação dos danos causados pela irradiação.

Os danos causados pela exposição à radiação UV são do tipo directos e indirectos. Nos danos directos ocorre destruição biomolecular, em que algumas moléculas como proteínas ou ácidos nucleicos (presentes no ADN), que absorvem na região do UV, são fotoquimicamente degradadas ou transformadas, resultando num atraso, ou mesmo perda, de uma determinada função biológica. Os danos indirectos ocorrem quando os efeitos tóxicos da exposição à radiação UV advêm de uma série de mecanismos indirectos que são afectados. Neste caso, a radiação UV é absorvida por vários compostos intermediários (agentes fotossensíveis), presentes tanto ao nível interior como exterior da célula, os quais produzem espécies reactivas de oxigénio, resultando assim oxidantes altamente energéticos como o peróxido de hidrogénio, radicais superóxido e hidroxilo, que podem difundir-se e reagir com outros componentes celulares reactivos, implicando um aumento no consumo de energia para protecção e reparação celular (Mora *et al.*, 2000).

A afectação do valor nutricional do fitoplâncton, como consequência da exposição à radiação UV, a nível proteico (Arts & Rai, 1997) e lipídico (Goes *et al.*, 1994; Wang & Chai, 1994; Skerratt *et al.*, 1998) tem repercussão na qualidade nutricional da cadeia alimentar, tendo sido detectado impactes nos níveis tróficos superiores (Hessen *et al.*, 1997; Williamson & Zagarese, 2003). A radiação UV-B tem sido responsável pela redução do consumo de carbono pelo fitoplâncton em águas de regiões temperadas e no Oceano Antártico (Maske, 1984).

De facto, foi verificada uma perda de 10% na produção mundial da biomassa fitoplanctónica, devido ao aumento da incidência da radiação UV-B, o que implica a redução substancial da biomassa nos níveis tróficos superiores, impacte que se tem repercutido por toda a cadeia trófica marinha (WHO, 1994; Williamson & Zagarese, 2003; Sargian *et al.*, 2005) (ver diagrama representativo de uma cadeia trófica típica estuarina apresentado na Figura 1.1).

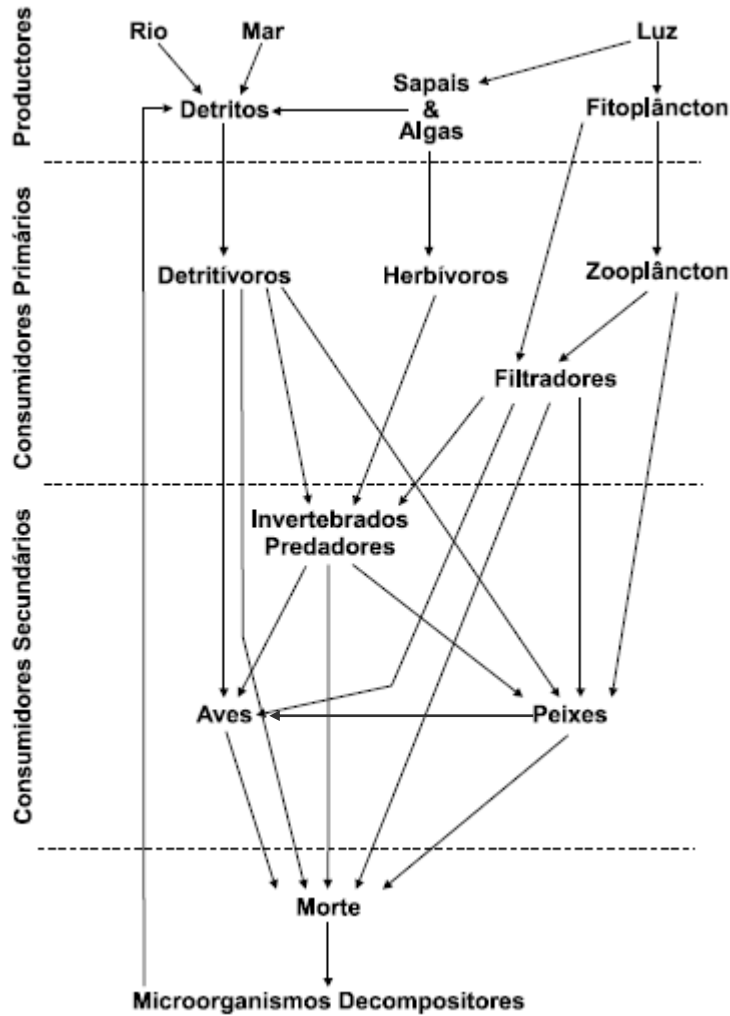


Figura 1.1 – Cadeia trófica típica de sistemas estuarinos, indicando os produtores primários, os consumidores primários e os consumidores secundários e terciários (adaptado de McLusky & Elliot, 2004).

É de salientar que o fitoplâncton (marinho e de água doce) representa mais de metade da biomassa da Terra (Gerber & Häder, 1993; Siegenthaler & Sarmiento, 1993). A redução da biomassa fitoplanctónica está ainda associada ao aumento do efeito de estufa, uma vez que diminui a capacidade de fixação do CO₂ atmosférico (UNEP, 1989, 1991; Holm-Hansen, 1990; Häder & Worrest, 1991), contribuindo assim para a amplificação do efeito de aquecimento global.

Os processos físico-químicos desencadeados pela radiação UV-B podem originar diversos efeitos biológicos nos organismos com consequências relevantes a nível ecológico. Os mais importantes são: inibição da resposta fototática e fotofóbica (Ringelber, 1999), redução da mobilidade e da motilidade, redução da capacidade de fotoreparação (Gómez *et al.*, 2005; Hernández *et al.*, 2007), redução da fecundidade, redução do crescimento e desenvolvimento (Häder & Lebert, 2001; Steeger *et al.*, 2001), inibição da fotossíntese (Wiencke *et al.*, 2000, 2004; Bouchard *et al.*, 2005; Hernando & Ferreyra, 2005; Roleda *et al.*, 2006; Andreasson & Wängberg, 2007), redução das taxas de sobrevivência (Cordi *et al.*, 2001), resposta letal (Weber, 2005; Ruelas *et al.*, 2006) e alterações na composição das espécies (Bischof *et al.*, 2006).

A radiação UV-B afecta as interacções fitoplâncton-zooplâncton na medida em que: a) induz a diminuição da quantidade de alimento (fitoplâncton), por afectação das taxas de crescimento e de produção primária; b) altera a qualidade de alimento, devido às alterações na composição das espécies e na composição bioquímica dos organismos unicelulares; c) altera a taxa de predação do zooplâncton, como resultado do aumento de volume celular do fitoplâncton e/ou da capacidade de filtração e de digestão do zooplâncton (Lange & Lüring, 2003). Estas afectações têm repercussão ao longo da cadeia trófica marinha (Williamson & Zagarese, 2003; Sargian *et al.*, 2005).

Um vasto número de efeitos físico-químicos, provocados pela radiação UV-B, pode ser distinguido, nomeadamente: a absorção pelas proteínas e ácidos nucleicos; a introdução de reacções fotoquímicas nos organismos; a danificação dos tecidos; as alterações genéticas e/ou nos cromossomas e a fototoxicidade (Kramer, 1990), como referido.

A radiação UV-B é absorvida por proteínas e ácidos nucleicos, sendo eficiente em induzir reacções fotoquímicas nas plantas e animais (Görner, 1994). Como resultado, muitos organismos translúcidos (juvenis) sofrem alterações fotoquímicas de enzimas, membranas e do ADN e ARN da célula (Cheng *et al.*, 1978; Zafiriou *et al.*, 1984; Wood *et al.*, 2006). Mutações e aberrações nos cromossomas são efeitos potenciais da absorção da radiação UV-B (Webb, 1977; Katsutoshi *et al.*, 1992).

A radiação UV-B pode danificar os tecidos sob diferentes formas. Pode reduzir a resistência da superfície dos tecidos (pele) dos organismos marinhos, tornando-os susceptíveis à doença, parasitas e à acção de químicos tóxicos. Estes efeitos têm sido estudados, nomeadamente, os patológicos e parasitológicos (Bullock, 1985; Ruelas *et al.*, 2006). Lesões a nível da pele e das guelras de várias espécies de peixes têm sido identificadas e relacionadas com a exposição à radiação UV-B. O desenvolvimento de cancro na pele (melanoma e carcinoma) pode constituir um efeito directo da exposição ao UV-B (Setlow *et al.*, 1989, 1993; Wood *et al.*, 2006). Na década de 70, Porter sintetizou os vários efeitos nos tecidos (Kramer, 1990), sendo de realçar que todos os efeitos detectados podem ocorrer em peixes (Ramos *et al.*, 1994). Alterações drásticas são ainda provocadas nas estruturas dos cloroplastos e das mitocôndrias de macroalgas expostas à radiação UV-B (Bischof *et al.*, 2006).

No que se refere à toxicidade, é de referir que a radiação UV-B pode converter certos contaminantes ambientais em produtos (mais) tóxicos para os organismos. Como exemplos, destacam-se o aumento da toxicidade do benzo-*a*-pireno para as algas verdes (Cody *et al.*, 1984) e estágios larvares de ostras (Lyons *et al.*, 2002), o efeito de foto-oxidação do crude para algas (Karydis, 1982) e o aumento da biodisponibilidade e toxicidade do zinco, em presença de carbono orgânico total (Kashian *et al.*, 2004).

De facto, são inúmeros os impactes da exposição à radiação UV-B nos organismos aquáticos. De seguida, são descritos alguns desses efeitos para cada grupo de organismos de interesse ecológico.

1.1.1 Impactes no biota aquático

Plâncton

Com base nos critérios fisiológicos e taxonómicos, o plâncton pode ser dividido em três grandes grupos: bacterioplâncton, fitoplâncton (incluindo cianobactérias e eucariotas) e zooplâncton (Callieri & Stockner, 2002). Em termos de ecologia aquática, o tamanho (em escala logarítmica) também é utilizado como critério para sub-divisão, dada por: femtoplâncton (0,02 – 0,2 μm), picoplâncton (0,2 – 2 μm), nanoplâncton (2 – 20 μm), microplâncton (20 – 200 μm) e macroplâncton (200 – 2000 μm) (Häder *et al.*, 2007).

Os impactes da exposição à radiação UV-B no bacterioplâncton traduzem-se na inibição do consumo de aminoácidos (Bailey *et al.*, 1983), na redução do crescimento (Sieracki & Sieburth, 1986; Chatila *et al.*, 2001) e, sobretudo, na afectação do ADN, constituindo a radiação UV um papel decisivo na definição da estrutura da comunidade à superfície da água do mar. A redução da actividade dos heterotróficos foi encontrada na microcamada da superfície do mar (Carlucci *et al.*, 1985), e de águas estuarinas (Moehring *et al.*, 1984; Jeffrey *et al.*, 1996), ou seja, parte da coluna de água onde a irradiância UV-B atinge valores máximos. Um estudo recente revela que os impactes negativos provocados pela radiação UV

(A e B) sobre o bacterioplâncton de uma zona costeira do Antártico (Potter Cove) se restringem ao primeiro metro de profundidade, sendo este um sistema estratificado (Hernandez *et al.*, 2009).

Segundo Boelen *et al.* (2001), as bactérias, de um modo geral, parecem ser mais sensíveis à radiação UV-B que outros organismos planctônicos, devido ao seu pequeno tamanho. Contudo, dentro deste grupo, algumas espécies de cianobactérias, que produzem substâncias tóxicas, como neurotoxinas e hepatotoxinas, tóxicas para o homem e os animais em geral, são mais resistentes à radiação UV, estando associadas, por vezes, à formação de *blooms* e altos índices de mortalidade de organismos aquáticos (Häder *et al.*, 2007).

No que se refere aos vírus, existem evidências de que os mesmos não apresentam filtros ao UV, nem capacidade de reparação dos danos provocados pela radiação (Bettarel *et al.*, 2003). De facto, é interessante notar que os contaminantes contendo filtros solares (cosméticos) aumentam a abundância de partículas virais na água (Danovaro & Corialdes, 2003).

Ao nível do fitoplâncton, sendo o marinho dominado por pequenas células com diâmetro inferior a 2 μm (Teira *et al.*, 2005), são inúmeros os estudos realizados no âmbito da determinação dos impactes provocados pela exposição à radiação UV-B. Evidenciam-se alterações de funções biológicas que afectam: a fotossíntese e o crescimento de diversas espécies de fitoplâncton marinho (Lorenzen, 1979; Worrest *et al.*, 1981; Döhler, 1984; Häder & Häder, 1988; Smith *et al.*, 1992; Gerber & Häder, 1993), a motilidade e orientação de flagelados marinhos (Häder, 1986; Häder & Häder, 1988; Buma *et al.*, 1996), o crescimento de algas clorófitas - *Ulva expansa* (Grobe & Murphy, 1994), a síntese de pigmentos fotossintéticos em algas dos géneros *Pavlova* (Döhler & Haas, 1995), *Tetraselmis* (Goes *et*

al., 1994) e *Thalassiosira* (Döhler & Alt, 1989), o consumo de nutrientes (Behrenfeld *et al.*, 1994) e metabolismo do azoto em diatomáceas marinhas (Döhler, 1984, 1990), entre outras.

A alteração da estrutura da comunidade natural de fitoplâncton pode ter impactes evidentes sobre o padrão das sucessões e da dinâmica trófica entre os produtores e os consumidores primários, afectando os ciclos biogeoquímicos (Rech *et al.*, 2005). Esta alteração na composição das espécies é acompanhada por uma forte redução na produção primária bruta (Worrest, 1986; Cordi *et al.*, 2001; Bishof *et al.*, 2006).

O fitoplâncton (marinho e de água doce) representa mais de metade da biomassa da Terra (Gerber & Häder, 1993). Uma consequência da redução da biomassa fitoplanctónica é o aumento do efeito de estufa, dado que a redução desta biomassa induz a redução da fixação de CO₂, como referido anteriormente (UNEP, 1989; 1991; Holm-Hansen, 1990). Com efeito, a redução de biomassa fitoplanctónica, base da cadeia trófica marinha, propaga-se aos diferentes níveis da cadeia, podendo reduzir substancialmente a biomassa em cada nível. Segundo WHO (1994), e tal como já referido, nas últimas décadas assistiu-se a uma perda de 10% da biomassa em cada nível trófico marinho, devido ao aumento global da incidência da radiação UV-B.

O zooplâncton compreende todos os grupos de animais aquáticos, englobando alguma fase de vida de determinadas espécies, ou seja, todos os organismos aquáticos fazem parte do zooplâncton, pelo menos, nos seus estádios primordiais. Note-se que os primeiros estágios de vida de algumas espécies de peixes ocorrem à superfície da água. Alguns zooplanctontes não conseguem contrariar as correntes superficiais, podendo assim estar expostos a doses relativamente elevadas de radiação UV-B. Associadas à exposição à radiação UV-B têm sido

verificadas reduções no número de ovos, de *nauplius*, na sobrevivência e fecundidade de muitos organismos, (Dey *et al.*, 1988; Kramer, 1990; Malloy *et al.*, 1997; Häkkinen & Oikari, 2004), assim como na afectação do ADN (Browman *et al.*, 2003). Também a fertilização dos ovos de muitas espécies marinhas ocorre na camada superficial aquática, uma vez que, quando libertados, tendem a flutuar na coluna de água, onde acabam por estar expostos à radiação UV-B (Dethlefsen *et al.*, 2001). Contudo, muitos zooplânctons conseguem mover-se activamente na coluna de água e algumas espécies são mesmo capazes de detectar a radiação UV-B (Leech & Williamson, 2001; Rhode *et al.*, 2001).

Estudos efectuados com zooplâncton revelam que diferentes organismos apresentam diferentes sensibilidades quando expostos a esta gama de radiação. Por exemplo, determinadas larvas de camarão (*Pandalus platyceros*) morrem quando expostas a doses de radiação UV-B superiores a $15 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, intensidades essas que correspondem a doses naturais encontradas à superfície do mar, nas latitudes médias e em dias de Verão (Damkaer & Dey, 1983), as quais, actualmente, se encontram largamente ultrapassadas (ver terceiro capítulo da presente tese). Em contrapartida, a espécie *Thysanoessa raschii* tolera doses de radiação UV-B superiores às encontradas nos anos 80, acrescidas da quantidade respeitante a uma redução de 16% na camada de ozono (Damkaer & Dey, 1983). Segundo estes autores, esta percentagem de redução na camada de ozono corresponde à dose de radiação letal (50% de mortalidade) em que metade das espécies pelágicas de águas temperadas morre no primeiro metro de profundidade e para um período de exposição inferior a 5 dias.

Corais

No anos 80, descobriu-se que as elevadas mortalidades nos corais estavam associadas à exposição solar destes organismos (Harriot, 1985), tendo-se postulado que o branqueamento e a destruição dos corais eram efeitos da penetração/absorção de níveis elevados de radiação UV na coluna de água (Jokiel, 1980; Drollet *et al.*, 1993). Estas suposições foram testadas nos anos 90, tendo confirmado alguns dos piores impactes, directos e indirectos, da radiação UV-B sobre os corais (afecção do ADN, da reprodução e do desenvolvimento larvar, branqueamento e respectivos mecanismos de defesa – migração e produção de aminoácidos do tipo micosporina) (Banaszak & Lesser, 2009).

Peixes

De uma forma geral, como os efeitos da radiação UV-B são sentidos nos níveis tróficos marinhos de que dependem as larvas (Nairn *et al.*, 1996), estas também serão afectadas e, conseqüentemente, as pescarias também (Strickland *et al.*, 1985), por propagação dos efeitos ao longo da cadeia trófica. As pescarias de bivalves, peixes e crustáceos podem ser afectadas, por redução dos respectivos mananciais, uma vez que a sobrevivência dos ovos e dos estágios larvares e pós-larvares destes organismos são afectados pelo aumento da radiação UV-B atmosférica, dado que estas fases ocorrem próximo da superfície do mar (Hardy, 1982; Dethlefsen *et al.* 2001; Steeger *et al.*, 2001; Browman *et al.*, 2003), onde a exposição a quantidades crescentes de radiação UV-B é substancial (Worrest, 1986; Häder & Lui, 1991).

Dos impactes da radiação UV-B sobre espécies de peixes são evidenciados a indução de melanoma, por afectação do pigmento protector melanina (Wood *et al.*, 2006), a afectação do conteúdo ocular de carpas que habitam zonas costeiras pouco profundas (Formicki & Stawarz, 2006) e a afectação do conteúdo ocular de larvas de lapas (Chiang *et al.*, 2003). Um estudo recente (Jokinen *et al.*, 2008) revela ainda a afectação do crescimento do salmão do Atlântico (*Salmo salar*), no qual demonstram a afectação do crescimento e de resposta à doença por redução da capacidade de imunidade (redução do valor do hematócrito, da concentração de proteína e de imunoglobulina do plasma) de juvenis desta espécie, quando exposta a doses crescentes de radiação UV-B (0 a 33 KJ m⁻²).

Em adição aos estágios larvares (e ovos) dos peixes, têm sido observadas lesões na pele e nas guelras de peixes adultos, provocadas pela radiação UV-B. A título de exemplo referem-se as lesões detectadas em solhas (*Pleuronectes platessa*) expostas a doses de radiação UV-B de 0,6 KJ m⁻² dia⁻¹ (Bullock, 1985).

Macroalgas e plantas marinhas

Têm sido detectados impactes da radiação UV-B nas plantas marinhas, em particular nos sargassos (Trocine *et al.*, 1981; Roleda *et al.*, 2006) e nas algas bênticas (Kramer, 1990; Figueroa & Gómez, 2001). Vários estudos apontam efeitos ao nível molecular, celular, individual e da comunidade de macroalgas marinhas (Häder *et al.*, 2007). No que se refere à capacidade de adaptação, as plantas oceânicas de fundo são, no mínimo, duas vezes mais sensíveis que as costeiras intertidais. Analogamente, macroalgas eulitorais têm-se revelado mais resistentes que as sublitorais (Cordi *et al.*, 1999). Em geral, as algas vermelhas são

menos sensíveis à radiação UV-B que as algas verdes (Kramer, 1990). De uma forma geral, os organismos bentônicos estão mais protegidos, sendo que as macroalgas da zona superior do intertidal estão mais expostas aos efeitos nocivos da radiação UV-B (Dring *et al.*, 2001).

Não obstante à existência de todos estes potenciais efeitos, os organismos possuem mecanismos de defesa que lhes permitem resistir até determinados limites à radiação UV-B. Estes mecanismos são, de seguida, descritos.

1.1.2 Mecanismos de resistência

A capacidade de um organismo se adaptar às mudanças ambientais depende dos sistemas biológicos activos ou induzidos que possui. Qualquer dos mecanismos descritos a seguir, os quais reduzem o efeito biológico da radiação UV-B, serve de mecanismo de adaptação. Contudo, cada tipo de mecanismo de protecção necessita de algum tempo para se tornar efectivo, tempo que pode ser demasiado demorado para responder ao aumento rápido da radiação UV-B (Kramer, 1990).

Migração

Muitos zooplactontes apresentam mecanismos comportamentais de fuga (migração vertical) quando em presença de elevadas doses de irradiação UV-B (Daemkaer & Dey, 1982; Bollens & Frost, 1990; Stephen & Frost, 1990; Leech & Williamson, 2001; Rhode *et al.*, 2001; Lesser *et al.*, 2006). Os movimentos horizontais e verticais de algumas espécies de protozoários e

crustáceos de zonas costeiras revelaram que estes organismos detectam a presença da radiação UV-B (Barcelo & Calkins, 1979). Alguns dinoflagelados nadam para zonas mais profundas durante a hora do dia em que a irradiação UV-B é mais intensa (Björn, 2007). Contudo, a partir de determinados limites alguns mecanismos do fitoplâncton podem ser afectados, tendo como efeito, por exemplo, a redução da velocidade de natação (Ekelund, 1990, 1991), por afectação do conteúdo proteico dos flagelos (Ekelund, 1991; Häder, 1993), afectando a própria resposta de fuga à exposição à radiação UV-B.

Compostos que absorvem radiação UV-B: pigmentos

A protecção mais importante à radiação UV-B nos organismos marinhos consiste na produção de substâncias que absorvem nesta banda do espectro solar, as quais se encontram geralmente próximas da superfície do corpo, de forma a evitar/reduzir a penetração para camadas inferiores (ou no núcleo das células, no caso de organismos unicelulares) (Björn, 2007). Diferentes organismos produzem tipos diferentes de pigmentos com capacidade para absorver a radiação UV (Cockell & Knowland, 1999; Rozema *et al.*, 2002). Franklin *et al.* (2003 *in* Björn, 2007) sintetizou no seu trabalho os principais pigmentos que absorvem na região do UV. De salientar, entre estes, que os carotenóides, pigmentos secundários acessórios à fotossíntese têm sido detectados na maioria dos grupos de algas, incluindo as cianobactérias, como pigmentos que absorvem na região UV do espectro solar (Morris & Subden, 1974; Karsten & Garcia-Pichel, 1996). Os carotenóides possuem capacidade para reagir com espécies de oxigénio reactivas, neutralizando, de certa forma, alguns danos celulares e constituem uma excelente defesa natural aos raios UV (Mora *et al.*, 2000). Nos ambientes aquáticos, especialmente os costeiros, os pigmentos que se apresentam sobre a forma

dissolvida na água constituem ainda um factor importante de protecção à radiação UV-B (Björn, 2007).

O aumento do volume celular de algumas espécies fitoplanctónicas, em resposta ao aumento da produção pigmentar de suporte à fotossíntese (Buma *et al.*, 2000) é um dos efeitos da exposição à radiação UV-B e constitui um mecanismo de defesa de alguns destes organismos.

Também a adaptação batimétrica dos corais parece estar relacionada com a presença de compostos que absorvem radiação UV-B, como é o caso dos aminoácidos do tipo *micosporina* (Dunlap *et al.*, 1986; Karentz *et al.*, 1991b). Shibata (1969 *in* Kramer, 1990) observou que espécies dos géneros *Acropora* e *Pocillopora* contêm grandes quantidades de um composto orgânico solúvel em água que absorve fortemente a 320 nm, conhecido por S-320. A concentração deste composto nos corais *Porites lobata* é uma resposta à exposição de luz incidente à profundidade em que eles se encontram. Esta é a razão pela qual os corais que habitam profundidades entre 1 e 2 m são mais resistentes à exposição UV, comparativamente com os que habitam a 5 e 6 m de profundidade (Kramer, 1990).

Fotoreparação

A capacidade dos organismos para reparar os danos causados pela exposição à radiação UV-B pode constituir um mecanismo de minimização dos efeitos a longo-prazo. De uma forma geral, todos os organismos contêm ADN e, em muitos casos, o dano deste material constitui a lesão mais importante provocada pela radiação UV-B (Weber, 2005; Björn, 2007). Contudo, a maioria dos organismos apresenta alguma capacidade para reparar este dano, quando em presença de luz visível, ou até mesmo da radiação UV-A, através da acção de enzimas

específicas – fotoliases (Björn, 2007). A fotoreparação ou fotoreactivação das lesões provocadas pela radiação UV-B foi identificada em larvas de anchova (Kaupp & Haunter, 1981), e de camarão (Damkaer *et al.*, 1981; Damkaer & Dey, 1983), nos sargassos (Trocine *et al.*, 1981), entre outros (Cullen *et al.*, 1992; Neale, 2000 *in* Mora *et al.*, 2000; Xiong, 2001; Häkkinen & Oikari, 2004). Denote-se que apenas 50% das larvas de anchova sobrevivem a uma dose de radiação UV-B de $1,15 \text{ KJ m}^{-2}$ (ADN) (durante 4 dias), apresentando retardamento do crescimento e desenvolvimento de lesões no cérebro e nos olhos (Hunter *et al.*, 1979). Eufausiáceos adultos têm sido também referidos como exemplo de organismos com capacidade para fotoreparar os danos provocados pela exposição à radiação UV-B (Damkaer *et al.*, 1980; Damkaer & Dey, 1983). Também o ADN do bacterioplâncton, principal grupo responsável pela biomassa fitoplanctónica marinha, é afectado pela radiação UV-B (Hernández *et al.*, 2007).

1.1.3 Fotoquímica da radiação UV-B

A zona eufótica pode ser afectada por diferentes tipos de reacções fotoquímicas. A formação directa ou induzida de novos produtos (orgânicos) podem afectar os sistemas biológicos, resultando em efeitos positivos (desintoxicação) ou negativos (formação de mais compostos tóxicos e/ou resistentes) (Kramer, 1990).

No meio aquático, as reacções fotolíticas directas envolvem entidades absorventes de luz, designadas por cromóforos, os quais apresentam alterações químicas resultantes da absorção de fotões. Apenas é conhecida a estrutura química de alguns cromóforos. Exemplos de cromóforos são os compostos de carbonilo, riboflavina, triptofano, tiamina e vitamina B12.

Exemplos de cromóforos desconhecidos envolvem as substâncias amarelas (Hojerslev, 1978; Davies-Colley & Vant, 1987), a matéria orgânica dissolvida (MOD), ácidos húmicos e fúlvicos, entre outros (Zafiriou *et al.*, 1984; Backlund, 1992).

As fotoreacções directas envolvem a excitação inicial do cromóforo, seguida pela transferência de energia ou pela transferência de electrões ou de átomos de hidrogénio ou de outros componentes. A reacção de transferência de energia é, quantitativamente, a mais importante. Sob condições ambientais, cerca de 1 a 2% dos cromóforos que absorvem a radiação UV-B libertam oxigénio. Estas reacções são particularmente importantes em certos microambientes, extremamente poluídos, onde o oxigénio reage com determinados compostos orgânicos (Frimmel *et al.*, 1987).

As fotoreacções também produzem radicais livres (Zafiriou, 1987) e oxidantes, entre outros compostos. Os oxidantes, como os peróxidos e os hidroperóxidos, participam em reacções, podendo gerar novos radicais livres. Os compostos orgânicos no ambiente marinho, os elementos reactivos (incluindo radicais) e os produtos resultantes de processos fotoquímicos são responsáveis pela formação de compostos com enorme potencial ecológico, apresentando diferentes estabilidades, tempo de vida, toxicidade, etc.

A degradação ou transformação, por processos fotoquímicos, de um vasto número de compostos orgânicos e organometálicos tem sido alvo de estudo nos últimos anos. Têm sido descritas reacções que envolvem a transferência de energia e a oxigenação foto-sensível de um elevado número de compostos orgânicos presentes nos meios aquáticos (Zepp *et al.*, 1981). A quantidade relativamente elevada de matéria orgânica na microcamada superficial do mar (MacIntyre, 1974) e a incidência de elevadas intensidades de radiação UV-B à

superfície do mar originam condições especiais, com particular interesse nos processos fotoquímicos destes microambientes.

Alguns estudos evidenciam que a radiação UV-B é responsável pela decomposição da matéria orgânica dissolvida em componentes de baixo-peso molecular (Lou & Xie, 2006), dissolução de óxidos de manganês insolúveis e fotoredução do ferro, aumentando a sua biodisponibilidade (Rijkenberg *et al.*, 2005). É também responsável pela oxidação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH), pela fotodegradação de compostos de cobre, com a redução de Cu^{2+} a Cu^+ (Ferrandi & Muralidharan, 1981), perda de átomos de cloro em bifenilpoliclorados (PCB), degradação de plásticos (Karen & Gorden, 1993), afectação da biodisponibilidade e toxicidade do zinco (Kashian *et al.*, 2004) e formação de oxiradicaís a partir de substâncias húmicas (Draper & Crosby, 1981; Gjessing & Källqvist, 1991). A radiação UV-B potencia os efeitos tóxicos do ciclo do mercúrio, ao nível da volatilização (fotoredução), solubilidade (fotoxidação) e especiação (Bonzongo & Donkor, 2003) e aumenta a toxicidade do TBT para diferentes organismos pertencentes aos primeiros níveis tróficos, induzindo uma perda de energia ao longo da cadeia alimentar marinha (Sargian *et al.*, 2005).

A fotodegradação e a transformação são processos relatados para vários grupos de xenobióticos e outros poluentes. Alguns exemplos de fotodegradação de poluentes são enunciados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Exemplos de foto-degradação de poluentes por exposição à radiação UV-B.

Grupo	Referência
Pesticidas	Draper & Crosby, 1984
Herbicidas	Wong & Crosby, 1981
Fungicidas	Yumita & Yamamoto, 1982
PAH (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos)	Mill <i>et al.</i> , 1981; Huang <i>et al.</i> , 1993; Ren <i>et al.</i> , 1994; Lyons <i>et al.</i> , 2002; Southerland & Lewitus, 2004
Compostos de gordura: Crude Petróleo	Karydis, 1982; Tjessem <i>et al.</i> , 1983 Tjessem & Aaberg, 1983
Organometálicos: Mercúrio	Inoko, 1981; Bonzongo & Donkor, 2003

De facto, as substâncias antropogénicas potencialmente perigosas podem ser degradadas ou transformadas por acção directa ou indirecta da radiação ultravioleta, não significando, no entanto, que o resultado destes processos seja menos perigoso. Alguns produtos formados podem ser mais tóxicos, mais resistentes e mais lipo-solúveis (Kramer, 1990; Southerland & Lewitus, 2004; Bonzongo & Donkor, 2003).

O aumento da incidência da radiação UV-B atmosférica pode incrementar a concentração de produtos resultantes de fotólises (produtos fragmentados ou recombinados), incluindo substâncias nocivas para os organismos, que afectam, por conseguinte, os ecossistemas marinhos e, em especial, os costeiros (Southerland & Lewitus, 2004; Bonzongo & Donkor, 2003).

Nos sistemas marinhos costeiros, como os lagunares, com profundidades reduzidas, os impactes provocados pelo aumento da radiação UV-B assumem total interesse, dada a importância ecológica destas áreas.

1.2 SISTEMAS LAGUNARES

As zonas costeiras representam uma pequena parte da área e do volume dos oceanos. No entanto, a sua importância como interface entre a terra e o mar é enorme. As zonas costeiras garantem diversos serviços essenciais ao Homem. Mais de 60% da população humana vive a menos de 60 km do mar (Duarte *et al.*, 2007). A característica mais importante dos sistemas lagunares, como zonas de transição entre o meio terrestre e o marinho, é a sua elevada produtividade, fornecendo alimentos através da pesca e aquacultura. Representam cerca de 13% do litoral mundial e distribuem-se desde os pólos até ao equador, numa elevada amplitude de escalas (menos de um hectare a 10000 km²) (Bird, 1994).

Os sistemas lagunares são ambientes usualmente pouco profundos, constituídos por ilhas orientadas paralelamente à costa, parcial ou totalmente separadas do oceano pela formação de uma série de ilhas barreira (areia ou seixo), que comunicam com o mar através de uma ou mais enseadas (Bird, 1994).

As lagoas costeiras são consideradas como sistemas transitórios, com elevado dinamismo, sujeitas a alterações geomorfológicas rápidas, devidas aos processos sedimentares. São sistemas relativamente recentes, formados nos últimos 5000 a 7000 anos (Martim & Landim-Dominguez, 1994; Marques, 2006).

A produtividade nestes sistemas é normalmente superior à das zonas de água doce e salgada adjacentes, permitindo a exportação para o mar de energia excedente. Na realidade, estas zonas constituem meios de recepção de material de origem terrestre, mineral e orgânico, que

aí sofrem complexas transformações conducentes à reciclagem e libertação de nutrientes (Freitas, 1996).

A sua pouca profundidade permite que a luz atinja frequentemente o fundo, determinando uma enorme riqueza e, conseqüentemente, uma actividade acentuada, que envolve tanto os organismos vegetais dependentes do fundo (fitobentos), como as algas de pequenas dimensões que vivem na coluna de água (fitoplâncton) (Freitas, 1996).

As lagunas costeiras são consideradas sistemas sensíveis às variações climáticas, desde as pequenas perturbações (ex. tempestades, ondas de calor) às alterações climáticas sentidas a longo-prazo, como o aquecimento global e o aumento da incidência da radiação UV-B (Cloern *et al.*, 2005; Paerl *et al.*, 2006). Estas alterações terão repercussões ao nível da estrutura e função deste tipo de sistemas (Lloret *et al.*, 2008), como é exemplo a Ria Formosa, sistema que foi classificado como muito vulnerável às alterações climáticas (Barbosa, *in press*).

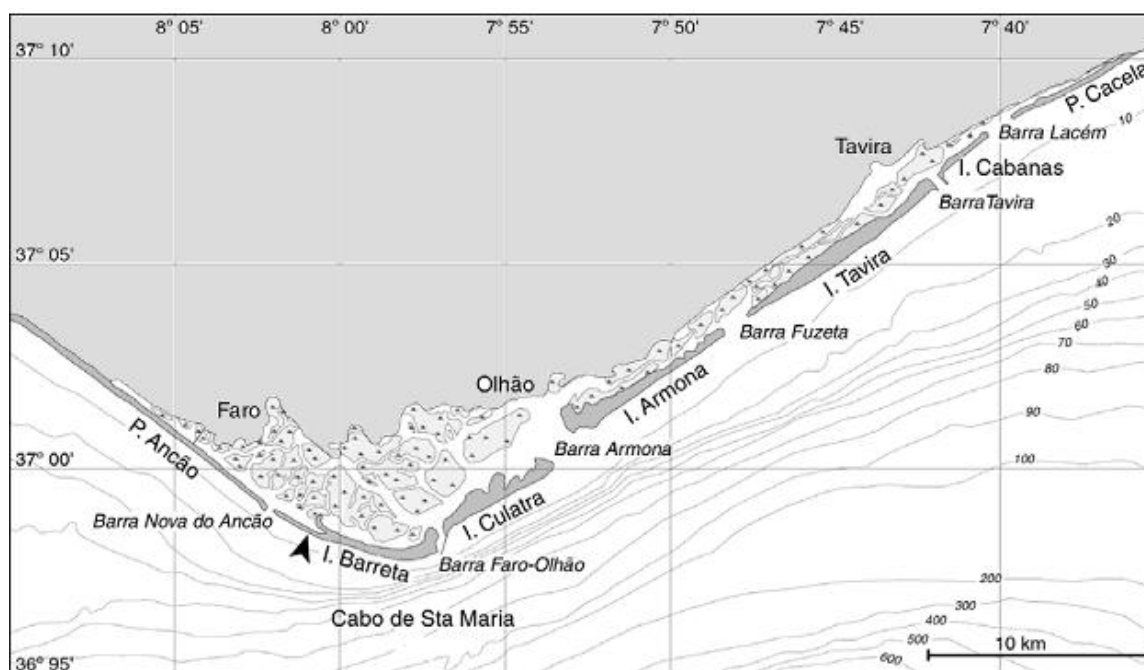
1.2.1 Caracterização da área de estudo

A Ria Formosa é um sistema lagunar mesotidal localizado na costa Sul de Portugal, constituída por sapais, bancos de vasa e areia, e separada do oceano por um conjunto de ilhas-barreira arenosas, que asseguram a protecção de uma vasta área. Com cerca de 18.400 hectares distribuídos ao longo de 60 km de costa, está compreendida entre o Ancão (concelho de Loulé) e a Manta Rota (concelho de Vila Real de Santo António). Tem a sua largura

máxima (N-S) junto à cidade de Faro (cerca de 6 km) e variações nos seus extremos, que a Oeste e Este atingem algumas centenas de metros (MAOTDR, 2005) (Figuras 1.2 e 1.3).



a)



b)

Figura 1.2 – Enquadramento da zona de estudo na costa Sul de Portugal Continental (fonte: (a) Sistema Nacional de Informação Geográfica: <http://snig.igeo.pt>; (b) adaptado de Barbosa, *in press*).

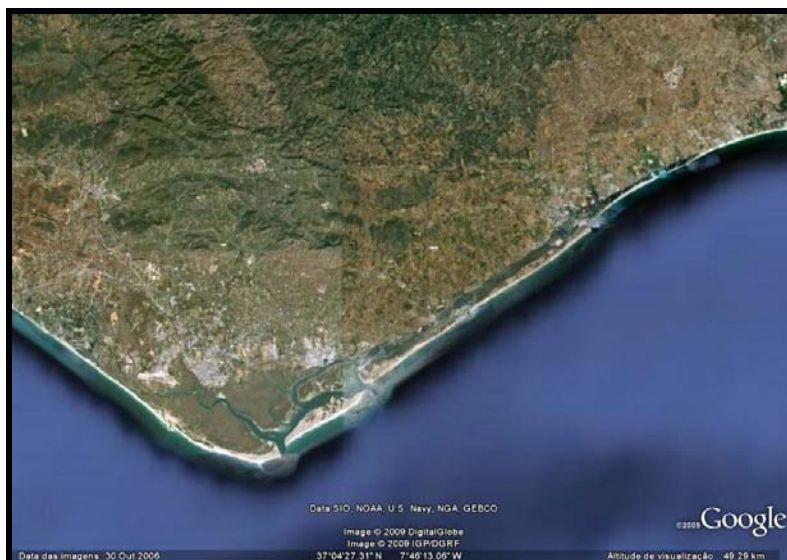


Figura 1.3 – Imagem de satélite com o enquadramento da Ria Formosa (fonte: *Google Earth, Digital Globe, 2009*).

É uma área protegida com o estatuto de Parque Natural (PNRF), atribuído pelo Decreto-lei n.º 373/87, de 9 de Dezembro, e alterado pelo Decreto-lei n.º 99-A/2009, de 29 de Abril. Anteriormente, a Ria Formosa possuía o estatuto de Reserva Natural, criada pelo Decreto n.º 45/78, de 2 de Maio. A sua gestão cabe ao Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade (ICNB), entidade refundada com o Decreto-lei n.º 136/2007, de 27 de Março.

Devido às suas características naturais e à sua localização geográfica, a Ria Formosa atrai milhares de aves, sendo uma área de importância ornitológica nacional e internacional (*Important Bird Area – IBA*), tendo por isso sido inscrita na Convenção de Ramsar, entre outros estatutos. Segundo os critérios desta convenção, a Ria Formosa alberga diversas espécies que a colocam entre as zonas húmidas mais importantes a nível europeu (MAOTDR, 2005), tendo o Governo Português assumido o compromisso de manter as características ecológicas desta zona e promover o seu uso racional. Está também classificada, de acordo com o Decreto-lei n.º 384-B/99, de 23 de Setembro, como Zona de Protecção Especial (ZPE – PTZPE0017), no âmbito da Directiva 79/409/EU, apresentando sobreposição parcial ao sítio

proposto para classificação na Rede Natura 2000. O Parque Natural da Ria Formosa está geminado com *Domaine de Certes – Le Teich*, França, ao abrigo do Programa de Geminação de Áreas Protegidas Costeiras da Europa.

De facto, devido às condições ambientais favoráveis, a Ria Formosa é considerada um sistema de elevada importância ecológica (Calvário, 1986, 1995; Andrade, 1989; Gamito & Gonet, 1997), dado que reúne condições ótimas para o desenvolvimento das diferentes fases de vida de várias espécies de bivalves, crustáceos e peixes, proporcionando-lhes abrigo, elevada concentração de nutrientes, substrato favorável para a fixação de ovos, larvas e formas pós-larvares, oferecendo protecção contra os predadores oceânicos (I.N.I.P., 1979; Calvário, 1986, 1995; Andrade, 1989, 1990, 1992). A fauna da Ria é, devido às suas características, bastante rica e variada, compreendendo representantes de quase todos os grupos animais (Silvestre & Baptista, 1985; Monteiro *et al.*, 1990; Aliaume *et al.*, 1993; Sprung, 1994). As suas zonas pouco profundas de espraiado de maré servem de áreas de cultivo de bivalves e piscicultura, atraindo uma forte actividade turística (Duarte *et al.*, 2007). A produção de bivalves, dominada pela espécie *Ruditapes decussatus* (ameijôa-boia), representa cerca de 90% da produção anual de bivalves em Portugal, o que confere uma valor económico importante para a região (Chícharo & Chícharo, 2001). É nesta zona que ocorre a maior produção de bivalves do país (G.E.P.P., 1990). A Ria Formosa ocupa uma posição de destaque no contexto nacional no que toca à produção aquícola (40%) e, mais ainda, pelo número de estabelecimentos (81%) associados à piscicultura, sobretudo, à moluscicultura. No contexto da região do Algarve essa relevância é ainda mais evidente (73% da produção regional e 96% dos estabelecimentos) (<http://www.polislitoralriiformosa.pt>).

Com a recente Resolução do Conselho de Ministros n.º 78/2009, de 2 de Setembro, foi aprovada a revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa (POPNR), que estabelece regimes de salvaguarda de recursos e valores naturais e fixa o regime de gestão do PNR, com vista a garantir a manutenção e a valorização das características das paisagens naturais e semi-naturais e a biodiversidade desta área.

Caracterização climática

A Ria Formosa insere-se numa região de clima mediterrânico com características semi-áridas. De seguida caracteriza-se o clima desta área, com base nos registos das variáveis climáticas correspondentes às Normais Climatológicas do período 1961-1990 da estação climatológica de Faro/Aeroporto (IM, 2006; Profico, 2008), e que, entre as existentes para o Algarve, é a que melhor pode corresponder à caracterização climática da Ria Formosa e, em especial, do local de estudo pela proximidade a este, dada a sua localização (37° 01' N e 7 °58' O; 8 m de altitude).

A insolação, intervalo de tempo de luz visível, expressa em horas ou em percentagem (quociente entre a insolação observada e a insolação máxima possível no local, dada por tabelas astronómicas) corresponde a um valor médio anual de 3033 horas, correspondendo a 68%. O menor valor regista-se no Inverno, no mês de Dezembro, com 165 horas, que correspondem a 57%. No Verão, em Julho, a insolação atinge 368 horas, o que corresponde a 83% (Profico, 2008).

A temperatura anual média do ar é de cerca de 17,2 °C. O regime mensal médio apresenta valores máximos nos meses de Verão, destacando-se Agosto com 23,4 °C, e mínimos no Inverno, com 11,9 °C em Janeiro, sendo a amplitude térmica média de 11,5 °C. As temperaturas inferiores a 0 °C são praticamente inexistentes. As temperaturas superiores a 25 °C ocorrem, em média anual, em 104,8 dias, repartidos sobretudo pelos meses de Verão, destacando-se Julho e Agosto com cerca de 26,7 e 28,6 dias, respectivamente. As *noites tropicais* (em que a temperatura mínima do ar não desce abaixo de 20 °C) correspondem a cerca de 18 dias por ano, repartidos sobretudo pelos meses de Junho a Outubro, destacando-se Julho e Agosto, com 6,3 e 5,8 dias, respectivamente (Profico, 2008).

Os ventos predominantes são, em média, anualmente, dos rumos Oeste e Noroeste, com a frequência de 21,0% e 16,3%, respectivamente. A velocidade média mais elevada registada é de 17,2 km/h do rumo Este. A velocidade média anual é de 13,3 km/h e as calmas (vento com velocidade igual ou inferior a 1 km/h) são praticamente inexistentes, correspondendo a 3,3%. O vento forte (velocidade igual ou superior a 36 km/h) tem uma expressão muito reduzida, que corresponde à média anual de 11,1 dias, observados nos meses de Novembro a Março. O vento muito forte (velocidade igual ou superior a 55 km/h) não tem praticamente expressão, dado que não atinge sequer, em média, 1 dia. O regime de brisas caracteriza-se por ventos muito fracos, do quadrante Norte, durante a noite, e por ventos fracos, de Sul ou Sudeste, durante o fim da manhã, rodando para Sudoeste com aumento de intensidade, soprando de Oeste ao fim da tarde, com intensidade moderada. Os dois sistemas de brisas são separados pela ocorrência de calma durante o princípio da noite e o princípio da manhã. O Levante é o regime de vento característico do Sotavento algarvio: sopra de Leste ou Sudeste durante a Primavera, o Verão e o princípio do Outono, estando associado a valores muito altos da temperatura do ar durante o Verão. A persistência do Levante chega a atingir vários dias, com

variações diárias características: as maiores velocidades do vento são atingidas durante a manhã, da ordem dos 30 a 40 km/h, decresce durante a tarde e aumenta durante a noite (Profico, 2008).

A precipitação anual média é cerca de 522,8 mm, repartida, em média, por 88,5 dias do ano. O regime mensal de precipitação é caracterizado por um período chuvoso que se estende de Outubro a Abril, e outro seco, de Maio a Setembro. O mês de Dezembro é o mais pluvioso, com uma média de precipitação de 94,1 mm. A partir de Maio assiste-se a uma redução acentuada da precipitação, atingindo-se o mínimo no Verão, em Julho (1,4 mm). A precipitação intensa (superior a 10 mm) ocorre, em média, em cerca de 16,5 dias por ano, sendo os maiores valores sentidos nos meses de Dezembro e Janeiro, meses em que esta situação corresponde a cerca de 3 dias (Profico, 2008).

A humidade relativa do ar é inversamente condicionada pela variação da temperatura do ar e pela natureza das massas de ar no local. A humidade relativa do ar média (diária e anual) às 9 horas (hora local) é de 70%. Os meses de Inverno, chuvosos e com temperaturas do ar reduzidas, são de humidade do ar relativamente elevada, destacando-se o mês de Janeiro com 82%. Nos meses mais quentes a humidade é menor e desce para 58% em Julho e Agosto, também às 9 horas (hora local) (Profico, 2008).

Os nevoeiros são pouco frequentes no litoral algarvio, verificando-se, em média, apenas 5,7 dias por ano em Faro. Os meses em que os nevoeiros são mais frequentes são Dezembro e Fevereiro. A frequência de dias com céu limpo ou pouco nublado é elevada, com cerca de 23 dias, nos meses de Julho a Agosto. Os dias com céu encoberto ou muito nublado são mais frequentes nos meses de Dezembro a Março (Profico, 2008).

Caracterização hidrodinâmica

O regime de marés que afecta a Ria Formosa é do tipo semi-diurno (dois ciclos de maré por dia). A amplitude das marés vivas varia entre 0,6 e 2,8 m (Neves *et al.*, 1996). De acordo com o ICNB (2008), as maiores amplitudes de maré ocorrem na altura das marés vivas (2,77 m em relação ao zero hidrográfico em 2003, na preia-mar). Segundo Andrade (1990), a amplitude de maré pode alcançar, em condições meteorológicas adversas, mais um metro que o valor registado nas marés vivas.

Durante as marés vivas dá-se a entrada de elevadas quantidades de água oceânica no sistema, predominando a água salgada em detrimento da proveniente das linhas de água doce. O fluxo de água doce afluente à Ria Formosa é reduzido e limitado a cursos de água de caudal fraco, com escoamento concentrado nos períodos de maior pluviosidade (Newton & Mudge, 2003). As marés vivas correspondem ao período em que se verifica o maior prisma de maré e o maior coeficiente de renovação. Por outro lado, durante as marés mortas, dominantes, cujos valores de amplitude são bem mais reduzidos, as trocas de água com o oceano sofrem uma redução, assim como o coeficiente de renovação (ICNB, 2008).

O volume de água na Ria varia entre 32,6 milhões de m³ na baixa-mar e 139,3 milhões de m³ na preia-mar, ambas da maré viva, passando para 46,2 milhões de m³ de água na baixa-mar e 92,6 milhões de m³ na preia-mar, ambas da maré morta. A área submersa varia entre 14,1 km² (principais canais) e 63,1 km² da superfície da Ria. A área total alagada, em condições de preia-mar de marés vivas é de cerca de 85 km². Desta superfície submersa, os espriados de maré representam cerca de 80% da área da Ria (ICNB, 2008). Por outro lado, na baixa-mar a

área intertidal fica exposta à atmosfera durante várias horas por dia (Duarte *et al.*, 2006), correspondendo a cerca de 50 km², o que representa cerca de 1/3 da área total da laguna (Brotas *et al.*, 1990).

A hidrografia da Ria é descrita como uma laguna costeira não estratificada, com uma altura média da coluna de água de 3,5 m (Duarte *et al.*, 2006), podendo atingir a profundidade máxima de 14 m (Canal de Faro) (Cristina *et al.*, s/d). A profundidade média dos canais navegáveis é 6 m, mas a profundidade da maior parte da laguna é inferior a 2 m (Newton & Mudge, 2003). A água dentro da laguna tem um tempo de residência que varia de 12 a 48 horas (Neves *et al.*, 1996; Tett *et al.*, 2003).

Devido à pouca profundidade dos canais da Ria, juntamente com o efeito das fortes correntes provocadas pelas marés e o reduzido tempo de residência da água de maré, a turbulência na coluna de água é de tal forma considerável que não permite a criação de uma estratificação das massas de água, sendo, por isso, definida como um sistema não estratificado (Assis *et al.*, 1984), como referido anteriormente. A renovação da água, embora parcial, a cada ciclo de maré induz a que as características químicas da água sejam, de certa forma, semelhantes às da faixa litoral adjacente.

Caracterização da qualidade da água

A salinidade da Ria varia entre 35,5 e 36,9 ppt, sendo a média de 36 ppt, semelhante à da zona costeira adjacente (Brotas *et al.*, 1990; Duarte *et al.*, 2006). Exceptuam-se os períodos esporádicos de curta duração de precipitação intensa, que induzem uma redução da salinidade

na camada superficial da água (Falcão *et al.*, 1985). Em presença de intensa pluviosidade, a salinidade pode baixar até valores que variam entre 13 e 16 ppt (Newton & Mudge, 2003; Ferreira *et al.*, 2003; Loureiro *et al.*, 2006; Cristina *et al.*, s/d).

A temperatura da água do mar na zona adjacente à Ria pode variar entre 14 °C no Inverno a 21 °C no Verão. Contudo, no interior da Ria a temperatura da água pode ultrapassar os 27 °C, sobretudo nas áreas com menor profundidade, nos meses mais quentes (Lima & Vale, 1980; Asmus *et al.*, 2000).

A concentração de nutrientes varia em função da estação do ano e da maré. De acordo com Falcão & Vale (1990), as concentrações de fosfatos aumentam na Primavera/Verão na baixa-mar e as de nitratos aumentam no Inverno/Primavera na preia-mar. As maiores concentrações de silicatos são encontradas na baixa-mar, independentemente da variação sazonal. Com base numa série de dados obtidos entre 1992 a 2001, a média da concentração de nitratos para a Ria Formosa foi inferior a 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ e a de fosfatos foi cerca de 0,5 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Com base nestes valores, constata-se que a água da Ria Formosa é a que apresenta as menores concentrações médias destes nutrientes, sendo, entre as zonas húmidas portuguesas do Continente, a que apresenta a melhor qualidade da água (CCDR Alg, 2005).

As concentrações de clorofila *a* (*Chl a*) variam, em média, entre 1,5 a 3,1 $\mu\text{g l}^{-1}$ (CCDR Alg, 2005), valores semelhantes aos encontrados por Newton *et al.* (2003), em que a concentração média de *Chl a* varia entre 2 e 3 $\mu\text{g l}^{-1}$. Cristina *et al.* (s/d) sugere que as concentrações relativamente reduzidas de *Chl a* na Ria se devem à predação do fitoplâncton pelos bivalves e, em particular, pelas amêijoas, dada a elevada produção destes organismos na presente área, como já referido.

Quanto à oxigenação, a Ria apresenta níveis de saturação de oxigénio elevados, revelando que o sistema é, de uma forma geral, saturado ou mesmo super-saturado (Newton *et al.*, 2003; Nobre *et al.*, 2005), penetrando esta boa oxigenação a profundidades consideráveis no sedimento (Fitzsimons *et al.*, 2005).

De acordo com o IA (2005), tendo em consideração os critérios de eutrofização definidos pelo Instituto Nacional da Água (INAG) para albufeiras e lagoas, a Ria Formosa é classificada como mesotrófica, chegando a apresentar também características de oligotrófica em algumas alturas do ano.

1.3 OBJECTIVOS

O estudo dos efeitos provocados pelo aumento da radiação UV-B na Ria Formosa revela-se de forte interesse nacional. A Ria consiste num sistema costeiro de pouca profundidade (Calvário, 1986, 1995), onde segundo Trocine *et al.* (1981), os organismos não podem “fugir” à exposição à radiação UV-B, pelo menos, não como em zonas de mar aberto.

A nível internacional, estudos realizados na latitude de Portugal Continental podem revestir-se de forte interesse, uma vez que, nas latitudes médias, a intensidade da radiação UV-B incidente tem vindo a aumentar nas últimas décadas (cerca de 10%), sobretudo nos meses de Inverno (Nielsen *et al.*, 1995), não se conhecendo, em concreto, quais as implicações deste fenómeno. Por outro lado, também na Primavera, as intensidades da radiação UV-B têm aumentado (Karentz, 1991) e de uma forma repentina, à qual os organismos adaptados às intensidades de Inverno podem ser surpreendidos, sob o ponto de vista adaptativo e na escala de evolução. A acrescentar ainda que na Primavera tem lugar a reprodução e os primeiros estágios de vida de muitas espécies marinhas, as quais têm se revelado mais sensíveis à radiação UV-B que as formas adultas (Cordi *et al.*, 2001; Kulemkamp *et al.*, 2001).

Sob um ponto de vista quantitativo, pouco se sabe acerca dos processos que afectam a abundância dos recursos. Por estas razões, não é possível quantificar os efeitos da radiação UV-B nos ecossistemas, mesmo que os efeitos directos sobre uma determinada espécie sejam conhecidos. No entanto, um inventário sobre os efeitos da radiação UV-B sobre diferentes espécies e a afectação do próprio meio podem resultar num melhor conhecimento dos efeitos ecológicos e na estimação dos seus impactes.

Segundo Kramer (1990), o estudo dos efeitos da radiação UV-B solar sobre um dado ecossistema marinho deve incluir a quantificação dos valores de irradiância UV-B solar à superfície da água e sua atenuação na coluna de água, a sensibilidade à radiação UV-B de espécies existentes no ecossistema e a sua capacidade para reparar os danos causados pela exposição à mesma.

Considerando a Ria um sistema costeiro de pouca profundidade, não estratificado, tal como fundamentado anteriormente, onde segundo Trocine *et al.* (1981), os organismos não podem “fugir” da exposição à radiação UV-B e considerando que as intensidades desta gama de radiação têm vindo a aumentar nas latitudes médias, foi seleccionado um local na Ria – “Ponte da Ilha de Faro” (Latitude: 37° 00’ N e Longitude: 7° 59’ W) para estudar a incidência desta gama de radiação e acompanhar a respectiva variação no tempo e em profundidade. Este local foi seleccionado por ser de fácil acesso, ter uma profundidade máxima na preia-mar de cerca de 3,5 m (Duarte *et al.*, 2006), ou seja, pouco profundo, e por possuir, devido à proximidade da barra artificial de Faro, um hidrodinamismo considerável.

Os principais objectivos desta dissertação consistiram em:

1. Estudar a irradiância UV-B na Ria Formosa e sua atenuação na coluna de água;
2. Analisar os impactes do aumento da radiação UV-B sobre o crescimento de uma espécie fitoplanctónica da Ria Formosa, *Isochrysis galbana*, com interesse para a aquacultura;
3. Explicar a atenuação da incidência da radiação UV-B na coluna de água da Ria Formosa, em função de factores bióticos e abióticos.

4. Predizer a variação da incidência da radiação UV-B na Ria Formosa, em função de diferentes parâmetros abióticos e bióticos.

A presente tese encontra-se estruturada em sete capítulos principais, incluindo o presente capítulo de introdução geral sobre o tema de estudo. No segundo capítulo (“Perfil da radiação UV-B na coluna de água da Ria Formosa”) é endereçado o primeiro objectivo principal da tese. A informação resultante deste capítulo foi indispensável ao delineamento do plano de trabalhos seguinte, ou seja, a realização de ensaios laboratoriais envolvendo a exposição de um fitoplâncton a doses de radiação UV-B iguais e superiores às detectadas na área de estudo (Ria Formosa). Neste capítulo, o terceiro (“Impactes da radiação UV-B na microalga *Isochrysis galbana*”), é dada resposta ao segundo dos objectivos principais da tese. Os terceiro e quarto objectivos da presente tese são endereçados ao quarto capítulo (“A Radiação UV-B, os Factores Bióticos e Abióticos e a Produtividade Primária na Ria Formosa”), no qual foi tratada e analisada a informação obtida pela presente com o desenvolvimento da componente de campo, que envolveu a realização de campanhas de amostragem semanais durante 4 anos consecutivos. Com esta abordagem pretendeu-se complementar o estudo dos impactes da radiação UV-B, tentando explicar a atenuação da radiação UV-B na coluna de água e sua relação com alguns factores bióticos e abióticos naturais. No quinto capítulo (“Conclusões finais”) apresentam-se as principais conclusões da tese e, por fim, apresenta-se a listagem da bibliografia referenciada ao longo do texto, seguida dos anexos.

PERFIL DA RADIAÇÃO UV-B NA COLUNA DE ÁGUA DA RIA FORMOSA

2

2.1 INTRODUÇÃO

A atenuação da radiação solar na coluna de água inicia-se quando a luz atravessa a camada superficial. A penetração da luz reduz-se consideravelmente à superfície da água devido ao processo de reflexão da radiação, o qual depende do ângulo da luz incidente (90° corresponde à elevação solar máxima) e do índice relativo de refração da água (Mora *et al.*, 2000).

A penetração superficial da radiação solar pode ser afectada por vários factores, através da alteração do ângulo de incidência da radiação, como são a presença de ondulação e as alterações na interface ar-água devidas à formação de bolhas de ar e de pequenas gotículas de água de cor esbranquiçada (espuma) (Kirk, 1983). A influência da interface ar-água na transmitância da qualidade do espectro da luz ainda é pouco conhecida. Contudo, sabe-se que a percentagem de radiação total que incide à superfície da água é influenciada pela elevação do Sol, pela claridade atmosférica e pela presença de nuvens (Estupinan *et al.*, 1996; Booth *et al.*, 1997; Mora *et al.*, 2000). As propriedades ópticas das nuvens e seus impactes sobre a incidência da radiação UV à superfície da Terra têm sido alvos de investigação (Booth *et al.*, 1997; Mimms & Frederick, 1997), tendo sido desenvolvidas relações simples para explicar a atenuação desta radiação na atmosfera

terrestre, em função da nebulosidade (Ilyas, 1987). De facto, alguns factores temporais, geográficos e meteorológicos são responsáveis pela variação da irradiância espectral dos raios UV na superfície da Terra, dos quais os principais são, para além da nebulosidade: a hora do dia (70 a 80% da radiação UV total diária atinge a Terra entre as 9 e as 15 horas), a estação do ano (nas latitudes temperadas, $\approx 40^\circ\text{N}$, a irradiância UV apresenta variação sazonal de +70% no Verão e -70% no Inverno, em relação à Primavera/Outono), a latitude geográfica (o fluxo de radiação diminui com o aumento da distância ao equador), a altitude (em geral, a cada 1 km de aumento da altitude, o fluxo de radiação UV aumenta cerca de 6%), a reflexão à superfície (neve e areia reflectem cerca de 30% e 25%, respectivamente, enquanto que as superfícies marítimas e terrestres reflectem menos de 7%) e a concentração de ozono estratosférico, este último já desenvolvido no capítulo anterior (Halnet *et al.*, 2001; Okuno & Vilela, 2005).

Quando a radiação, directa (de feixe) e difusa (atmosférica), penetra na massa de água é submetida a dois processos físicos distintos, designadamente, reflexão e absorção. Estes dois processos são dependentes das propriedades ópticas da água, sendo função da capacidade de reflexão e absorção da própria água e da capacidade de reflexão e absorção das partículas e substâncias que nela estão presentes. A atenuação da radiação solar na água é pouco afectada pela presença de sais inorgânicos dissolvidos ou gases presentes na água do mar. As propriedades ópticas da água do mar pura (contendo todos os sais inorgânicos, mas não partículas suspensas e compostos orgânicos dissolvidos) não variam com a salinidade. Contudo, são fortemente influenciadas pela temperatura e pela pressão. Tanto a água doce como a marinha têm uma forte capacidade de absorção da luz no espectro infra-vermelho (700 nm – 1 mm), contrariamente ao encontrado para o espectro UV (100 – 400 nm), sendo o coeficiente de atenuação natural para este último de $0,01\text{ m}^{-1}$

(Kirk, 1983). A transmissão da radiação solar no meio aquático e os conceitos de hidrologia óptica são explicados em detalhe por Kirk (1983).

Existe uma ampla variabilidade das características ópticas da água, consoante o seu tipo, nomeadamente, para habitats de água doce (Scully & Lean, 1994), águas de zonas húmidas (Arts *et al.*, 2000) ou pequenos charcos (Crump *et al.*, 1999). Parece existir menor variabilidade em sistemas marinhos. No entanto, são ainda encontradas variações consideráveis entre águas oceânicas claras do Antártico (Neale *et al.* 1998), do Ártico (Aas & Hokedal, 1996), tropicais (Dunne & Brown, 1996), de regiões costeiras do Norte da Europa (Aas & Hojerslev, 2001) e de águas de lagoas costeiras com níveis elevados de turbidez, em que a atenuação vertical da penetração da radiação UV é fortemente sentida (Piazena & Häder, 1994; Conde *et al.*, 2000). As propriedades ópticas da água são espacial e temporalmente variáveis, dependendo das condições locais. A entrada de água doce nos sistemas, maré ou a movimentação horizontal provocada pela acção do vento, são factores responsáveis pela formação de massas de água totalmente homogéneas (misturadas) a completamente estratificadas (Kjeldstad *et al.*, 2003).

No processo de atenuação da luz na água, Kirk (1983) determinou a seguinte relação, tendo em consideração que a irradiância medida num determinado ponto (E_0) será sempre superior à irradiância medida num qualquer ponto mais profundo (E_d), devido à influência da reflexão da radiação:

$$E_{d\lambda}(z) = E_{d\lambda}(0) e^{-K_{d\lambda}z} \quad (2.1)$$

em que $E_{d\lambda}(z)$ é a irradiância num determinado comprimento de onda (λ) à profundidade z , $E_{d\lambda}(0)$ é a irradiância no mesmo λ logo abaixo da superfície da água, $K_{d\lambda}$ é o coeficiente de atenuação vertical para esse λ à profundidade z em m^{-1} .

O parâmetro K_d é o parâmetro óptico mais importante na determinação da penetração vertical da radiação na coluna de água. Resulta de todos os processos de transmissão da radiação na coluna de água e é determinado, principalmente, pelas propriedades ópticas inerentes. Uma vez determinado ou estimado o valor de K_d para uma determinada massa de água é possível estimar a irradiância a qualquer profundidade (E_d), através da equação 2.1.

O valor do coeficiente de atenuação vertical K_d serve para comparar a penetração UV em diferentes massas de água. A gama de variação deste coeficiente é relativamente elevada. Os valores obtidos para águas claras oceânicas chegam a ser 3 ordens de grandeza inferiores aos obtidos para lagos turvos (Booth *et al.*, 1997; Kuhn *et al.*, 1999; Gunn *et al.*, 2001).

De forma a facilitar a visualização do coeficiente de atenuação vertical, Whitehead *et al.* (2000) propôs a utilização da relação com a profundidade de penetração de 10% da radiação atmosférica, dada pela seguinte expressão:

$$Prof. (10\% UV_{atm}) = 2,3 / K_d \quad (2.2)$$

A distribuição do espectro de luz na água é variável em função da profundidade, como se pode depreender, pois K_d depende do comprimento de onda (Bricaud *et al.*, 1981; Piazena & Häder, 1994). O limite superior do espectro UV é atenuado mais acentuadamente na coluna de água que o correspondente à região do visível (PAR - *Photosynthetic Active*

Radiation, 400 a 700 nm), especialmente em águas costeiras, com elevadas concentrações de carbono orgânico dissolvido (Kramer, 1979; Lee & Wakeham, 1992; Miller & Zepp, 1995). Como consequência, as intensidades de radiação UV reduzem-se a valores vestigiais em massas de água costeiras pouco profundas, com níveis elevados de matéria orgânica dissolvida, a qual constitui um forte componente de absorção da luz na água (Hojerslev, 1978; Kjeldstad *et al.*, 2003). Contudo, mesmo em quantidades reduzidas, a radiação UV pode provocar efeitos negativos sobre a vida nestes sistemas e, em particular, a radiação UV-B, devido ao aumento das respectivas intensidades associado à redução das concentrações de ozono estratosférico (Häder & Worrest, 1991).

Entre 1994 e 1997 assistiu-se a uma redução de 4% na abundância de ozono no hemisfério Norte, nas latitudes médias (25° a 60°), tendo este valor chegado a 5% no hemisfério Sul, percentagens essas relativas aos respectivos valores detectados em 1979 (WMO, 1999). Alguns estudos sugerem que a redução da produção primária marinha, devido ao aumento das irradiâncias UV-B, provocado pela redução do ozono estratosférico, reduzirá a habilidade dos oceanos para sequestro do carbono (Häder & Worrest, 1991), traçando um cenário ampliador dos efeitos do aquecimento global.

Desde a suposição inicial de Molina e Rowland, em 1974, da destruição do ozono atmosférico pelos CFC, à confirmação, em 1995, na Antártica, que a presente temática (UV-B no meio aquático) tem ganho interesse de investigação, sobretudo, no âmbito da determinação dos possíveis impactes negativos. Conhecer a penetração da radiação UV e, em particular de UV-B, é, deste modo, fundamental para avaliar os impactes biológicos e ecológicos provocados por esta gama de radiação (Kjeldstad *et al.*, 2003).

A determinação da irradiância UV-B, por sua vez, reveste-se de particular importância, dado que fornece um valor a partir do qual é possível comparar efeitos em diferentes organismos de diversas áreas geográficas e determinar a radiação UV-B biologicamente efectiva - UVB_{BE} , ou seja, que, de facto, produz efeito nos organismos marinhos, isto é, dano em uma ou mais funções biológicas.

Em 1996, ano de início deste estudo, eram conhecidos da literatura alguns valores de irradiância UV-B incidentes em águas frias (Antártico) (Karentz, 1989; Smith & Baker, 1989; Buckley & Trodahl, 1990; UNEP, 1991; Driscoll, 1992), zona em que o pico de irradiância UV-B atmosférica diária poderia atingir, no máximo, cerca de $500 \mu W cm^{-2}$ (Booth *et al.*, 1997). A literatura apresentava uma enorme variação nos resultados, dada pela variação dos equipamentos de medição da radiação utilizados, integrando vários e distintos comprimentos de onda. Como referência, para além do valor de pico referido para o Antártico, era conhecida uma irradiância UV-B máxima detectada em Inglaterra (50 a 59 °N) nos anos 80, no Verão e em situação de céu limpo, a qual correspondeu a cerca de $200 \mu W cm^{-2}$ (Diffey, 1989).

Face o exposto, a obtenção da informação resultante da presente abordagem metodológica era fundamental para o delineamento da fase seguinte de trabalhos. Esta fase envolveu o delineamento de estudos experimentais com simulação artificial de irradiâncias UV-B crescentes, traçando cenários pessimistas para latitudes médias, ou seja, a que corresponde o Sul de Portugal (37°N).

Assim, neste capítulo é dada resposta ao primeiro dos objectivos desta tese, o qual consistiu em determinar a irradiância UV-B na Ria Formosa e a sua atenuação na coluna de água.

Com este fim, foram definidos os seguintes sub-objectivos:

1. Determinar a relação da variável de resposta – irradiância UV-B, em função das variáveis *mês* e *hora*;
2. Determinar a irradiância UV-B média para cada profundidade da Ria Formosa;
3. Determinar o perfil de atenuação da radiação UV-B na coluna de água da Ria;
4. Determinar o coeficiente de atenuação da radiação UV-B na coluna de água deste sistema.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Estratégia de amostragem

Dada a ausência de dados sobre a incidência da radiação UV-B em massas de água portuguesas procurou estabelecer-se um programa de estudo e amostragens num local da Ria – “Ponte da Ilha de Faro” (Latitude: 37° 00’ N e Longitude: 7° 59’ W) (Fig. 2.1), com vista a obterem-se os primeiros dados sobre a radiação UV-B incidente à superfície e na coluna de água de um ecossistema costeiro português pouco profundo e com enorme riqueza ecológica.

Este ponto de amostragem foi seleccionado por ser de fácil acesso, ter uma profundidade máxima na preia-mar de cerca de 3,5 m (Duarte *et al.*, 2006), ou seja, pouco profundo, e por possuir, devido à proximidade da barra artificial de Faro, um hidrodinamismo considerável. O presente estudo foi iniciado e desenvolvido, em parte, no âmbito do projecto de investigação PRAXIS/2/2.1/MAR/27/94 (“Alterações ambientais não naturais em ecossistemas costeiros: efeitos e constrangimentos”).

A fim de se estabelecer o programa de amostragem para determinar a variação da radiação UV-B na área de estudo, foram efectuadas medições preliminares da irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em Setembro de 1995, das 10:00 às 18:30, com intervalos de 15 minutos.

Foram efectuadas medições da irradiância UV-B na interface marinha (ar-água) e em diferentes profundidades da coluna de água do local de amostragem da Ria (Fig.2.1).

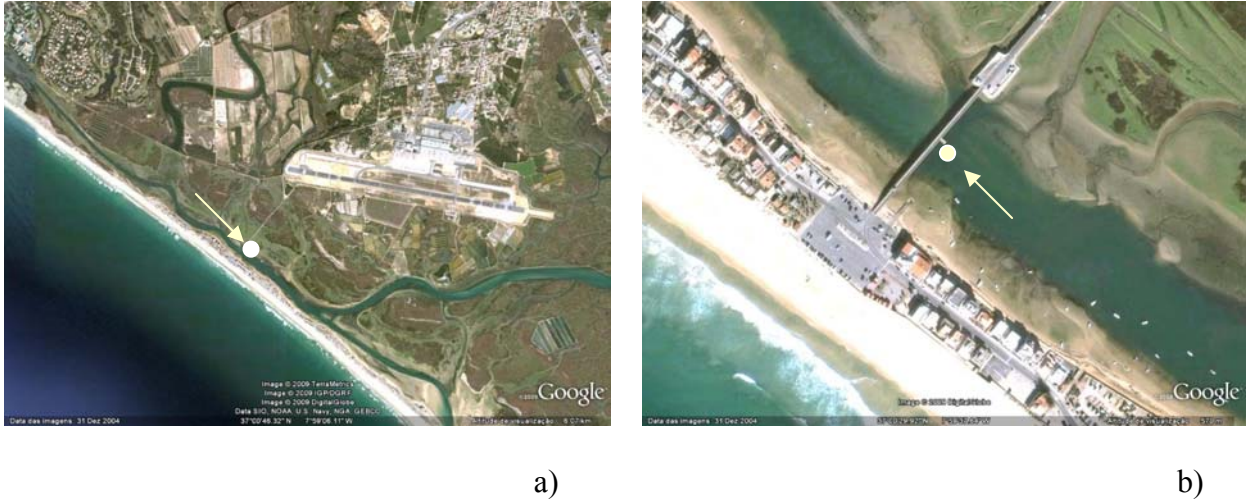


Figura 2.1 – Imagem de satélite com a localização do ponto de amostragem - \odot “Ponte da Ilha de Faro” (37° 00’ N e 7 ° 59’ W): (a) enquadramento do local de amostragem na Ria Formosa; (b) aproximação do local de amostragem representado em (a).
(fonte: *Google Earth, Digital Globe, 2009*).

Face aos resultados obtidos (ver Figuras 2.2 e 2.3), o programa de amostragem foi ajustado, tendo sido então alargado o intervalo de tempo entre amostragens para 30 minutos e reduzido o período total de tempo para o intervalo das 11:30 às 15:30 (horas locais), o qual corresponde ao período de radiação máxima, tal como adaptado em estudos similares para outras áreas geográficas (Bracchini *et al.*, 2005).

Foram realizadas amostragens semanais para medição da irradiância UV-B atmosférica e incidente a diferentes profundidades da coluna de água no local de amostragem, com intervalos de 0,5 m até ao fundo, sendo as seguintes as profundidades amostradas: 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 m. A radiação medida a 0,0 m de profundidade corresponde à irradiância UV-B atmosférica e, portanto, difere das restantes observações, no sentido em que estas últimas foram efectuadas na coluna de água da Ria.

Estas determinações foram efectuadas no período de irradiância UV-B máxima, com intervalos de 30 minutos, tal como referido, e, semanalmente, de Fevereiro de 1996 a Janeiro de 2000, inclusive, somando uma série de 4 anos de observações.

Este capítulo incide sobre o estudo do primeiro ano completo do conjunto de dados, dado que a informação resultante seria fundamental para a concretização da fase seguinte do plano de trabalhos da presente tese (estudo experimental, terceiro capítulo).

2.2.2 Medição da irradiância UV-B

A exposição contínua à radiação UV-B é quantificada em termos de irradiância \mathcal{E} , ou seja, do fluxo radiante que atinge uma superfície dividido pela área dessa superfície. É também designada por densidade de fluxo radiante e é medida em $W m^{-2}$ ou $\mu W cm^{-2}$. Na Tabela 2.1 apresentam-se as grandezas e unidades radiométricas, utilizadas em estudos para quantificação da radiação UV.

A energia radiante Q é a quantidade de energia emitida, transferida ou recebida sob a forma de radiação. É transportada por uma onda electromagnética e é medida em joule (J). O fluxo radiante Φ é a potência emitida, transferida ou recebida por unidade de tempo sob a forma de radiação, em watt (W, sendo $1 W = 1 J s^{-1}$). A intensidade radiante I é o fluxo radiante por unidade de ângulo sólido e é medida em $W sr^{-1}$. A radiância L é o fluxo radiante por unidade de área projectada do radiador (emissor) por unidade de ângulo sólido, expressa em $W m^{-2} sr^{-1}$.

Tabela 2.1 – Grandezas e unidades radiométricas (adaptado de Okuno & Vilela, 2005).

Grandeza	Símbolo	Definição	Unidade
Energia radiante	Q		J
Fluxo radiante	Φ	dQ/dt	W
Intensidade radiante	I	$d\Phi/d\Omega$	W sr ⁻¹
Radiância	L	$d\Phi/(d\Omega dA \cos\theta)$	W m ⁻² sr ⁻¹
Irradiância (densidade de fluxo radiante)	\mathcal{E}	$d\Phi/dA$	W m ⁻²
Exposição radiante	H	E_t	J m ⁻²

Em estudos de fotobiologia poderá fazer mais sentido utilizar a expressão do número de fótons por segundo sobre uma determinada superfície, do que utilizar watts. Sendo a energia de um fóton ε , expressa em joules, uma função do comprimento de onda (quanto menor o comprimento de onda, maior é a energia do fóton) dada por:

(2.3)

$$\varepsilon = hc/\lambda$$

em que,

h é a constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34}$ J s),

c é a velocidade da luz ($2,998 \times 10^8$ m s⁻¹),

λ é o comprimento de onda (m).

O fluxo radiante (em watts) será então dado pela seguinte expressão:

(2.4)

$$\Phi = (1,98\Phi_q/\lambda) \times 10^{-25}$$

em que Φ_q é expresso em quanta s⁻¹.

Note-se que esta conversão está dependente do comprimento de onda. A conversão de unidades de quanta para unidades radiométricas só é efectuada quando se conhece toda a distribuição espectral. De acordo com a literatura, existe ainda uma outra medida, Einstein E , definido como uma mole de quanta, em que $1 E s^{-1}$ é igual a $6,022 \times 10^{23}$ quanta s^{-1} (Diffey, 1989; Okuno & Vilela, 2005).

No presente trabalho utiliza-se a irradiância expressa em $\mu W cm^{-2}$ e a medida de dose de radiação UV-B, expressa em $KJ d^{-1}$.

A irradiância UV-B foi medida com um radiómetro *Macam Photometrics Ltd*, modelo UV-103X, munido de um detector modelo SD 105Bcos, sendo expressa em irradiância ($\mu W cm^{-2}$). A resposta espectral é dada, em função do filtro incorporado, para um pico de absorção a 313 ± 2 nm, com metade da largura total máxima do espectro (*full-width-half-max FWHM*) de 29 ± 2 nm, abrangendo toda a banda do UV-B. O detector SD 105Bcos corrige a resposta em função do cosseno do ângulo de zénite solar (ângulo compreendido entre o raio do Sol e a normal à superfície horizontal), de acordo com a lei de Lambert-Beer, sendo fundamental na integração da radiação de fontes com um ângulo de incidência inferior a 180° . Desta forma é integrada na resposta de medição – irradiância, as componentes directa (em feixe) e difusa da radiação, ponderadas pelo ângulo de incidência da radiação (ver Diffey, 1989).

Para medição a nível subaquático o detector do radiómetro é encaixado na extremidade inferior de um tubo (em pvc) em forma de “L” marcado, metricamente, sendo este introduzido verticalmente na coluna de água e direccionado horizontalmente no sentido da

iluminação natural, de forma a evitar o efeito do sombreamento do tubo na quantificação da irradiância UV-B (Figura 2.2).

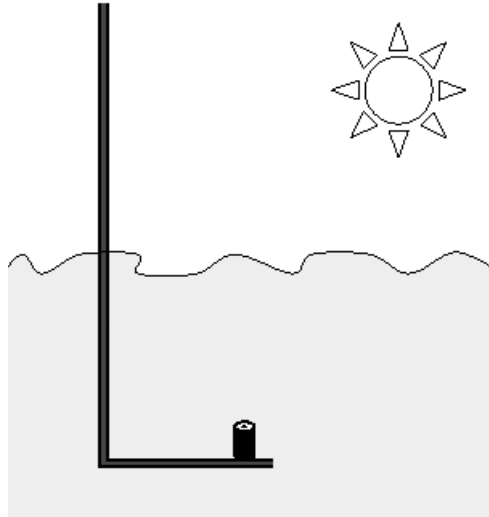


Figura 2.2 – Representação esquemática do posicionamento do tubo de mergulho em forma de “L”, contendo o detector na extremidade, orientado na direcção do Sol, para medição da irradiância UV-B subaquática.

2.2.3 Análise de dados

Procedeu-se à análise do primeiro ano do conjunto de dados obtidos com o programa de amostragem semanal, ou seja, que corresponde ao período de Fevereiro de 1996 a Janeiro de 1997, inclusive. Os dados em análise consistem nos registos das observações semanais das irradiâncias UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) obtidas a diferentes horas do dia, nomeadamente, entre as 11:30 e as 15:30 horas, com intervalos de 30 minutos, nas diferentes profundidades da coluna de água amostradas na “Ponte da Ilha de Faro” (Lat.: 37° 00’ N e Long.: 7° 59’ W; Fig. 2.1), nomeadamente, de 0,0 a 3,0 m de profundidade, com intervalos de 0,5 m.

Os dados obtidos foram tratados separadamente para cada profundidade, a fim de se determinar a quantidade de radiação UV-B incidente e se conhecer o perfil de atenuação na coluna de água da Ria durante o período do dia de irradiação máxima. Procedeu-se então, para cada profundidade, ao ajuste de modelos polinomiais, através da regressão linear múltipla, para melhor explicar a relação da variável de resposta com as duas variáveis em estudo, *mês* e *hora* (local).

Inicialmente, a fim de se conhecer a natureza da variável resposta (irradiância UV-B) obtida para cada profundidade, foi efectuada uma análise descritiva desta variável (indicadores de localização e dispersão: média, desvio padrão, máximo, mínimo, mediana, 1º e 3º quartis).

Por uma questão computacional, a variável *mês* foi transformada numa variável numérica, discreta, assumindo valores de 1 – correspondente ao mês de Fevereiro de 1996, a 12 - correspondente ao último mês amostrado, ou seja, Janeiro de 1997. Analogamente, a variável *hora* foi transformada, correspondendo cada 30 minutos ao valor 0,5. Desta forma, as horas amostradas são representadas por 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, e 15,5, respectivamente. Utilizaram-se as médias da irradiância UV-B como única observação ou valor de entrada em cada célula formada do cruzamento de cada nível do factor *hora* com cada nível do factor *mês*, resultando assim um delineamento do tipo factorial completo.

As variáveis independentes (*mês* e *hora*) foram codificadas pela transformação proposta por Khuri & Cornell (1996) para estudos em que se conhece a região de interesse do sistema, dada por:

$$x_i = \frac{2 X_i - (X_{iM} + X_{im})}{X_{iM} - X_{im}} \quad (2.5)$$

onde X_{iM} e X_{im} são os valores máximo e mínimo observados de X_i , respectivamente, sendo $i = 1, 2, \dots, K$ variáveis.

No presente trabalho, esta região é delimitada pelo intervalo de valores compreendido entre 11,5 e 15,5 para o factor *hora* e entre 1 e 12 para o factor *mês*. Assim, a variável *mês* codificada, representada por x_1 é obtida pela expressão:

$$x_1 = (2 X_1 - 13) / 11 \quad (2.6)$$

e a variável *hora* codificada, representada por x_2 é dada pela seguinte expressão:

$$x_2 = (2 X_2 - 27) / 4 \quad (2.7)$$

Para as profundidades 2,5 e 3,0 m, a transformação da variável *mês* difere da expressão da equação 2.6, dado que o intervalo de meses em que foram obtidas observações a estas profundidades é menor. Por outro lado, não só existe menor número de meses amostrados nestas profundidades, como também existe menor número de observações por hora em cada mês amostrado. Esta redução está relacionada com a profundidade, dado que a Ria Formosa é um sistema que sofre a influência do regime de marés, variando, portanto, a altura da coluna de água em função da hora e do dia. Desta forma, para as profundidades 2,5 e 3,0 m, a equação 2.6 passa a ser expressa por:

$$x_1 = (2 X_1 - 14) / 10 \quad (2.8)$$

São muitas as vantagens da utilização de variáveis codificadas no ajuste de modelos polinomiais. A facilidade computacional, o aumento da precisão da estimação dos parâmetros do modelo e o aumento da capacidade de interpretação dos estimadores dos coeficientes do modelo são as mais evidentes (Khuri & Cornell, 1996). A utilidade das variáveis codificadas, no lugar das variáveis naturais, é também evidenciada pela facilidade na construção do delineamento experimental.

Uma vez que era previamente conhecida a existência de curvatura na representação gráfica da resposta (*irradiância UV-B a cada profundidade*) em função dos dois factores em estudo, ou seja, *mês e hora* (ver Figura 2.4), procedeu-se ao ajuste directo de modelos polinomiais de segunda ordem, tal como efectuado em estudos análogos desenvolvidos na América do Sul (Okuno & Vilela, 2005). De acordo com Myers & Montgomery (1995), quando uma superfície de resposta é representada tri-dimensionalmente e a interacção das duas variáveis independentes é revelada por uma curvatura suficientemente forte, como a do presente caso, o ajuste de um modelo polinomial de primeira ordem (mesmo com o termo de interacção incluído) torna-se, frequentemente, inadequado, sendo, nesses casos, mais adequado o modelo de segunda ordem. Este modelo (segunda ordem), para o caso de duas variáveis (presente estudo), é dado pela expressão:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (2.9)$$

em que os parâmetros β 's são desconhecidos e são estimados a partir dos dados, pelo *método dos mínimos quadrados*, o qual consiste em minimizar a soma dos quadrados dos

resíduos (*SQE*) (Box & Draper, 1987; Montgomery, 1991; Myers & Montgomery, 1995; Khuri & Cornell, 1996).

Os dados obtidos, referentes ao período já mencionado, foram tratados separadamente para cada profundidade, a fim de se ajustar o melhor modelo polinomial de segunda ordem aos dados relativos às irradiâncias observadas em cada profundidade amostrada.

Testou-se então a significância do ajustamento de cada modelo, através do cálculo do coeficiente de determinação R^2 e/ou do coeficiente de determinação ajustado R_{aj}^2 , que é muitas vezes mais realista que o primeiro, dado que o valor de R^2 aumenta com o número de factores no modelo, sem que estes sejam necessariamente significativos. Esta última forma do coeficiente de determinação está intimamente relacionada com a estatística:

$$F = (SQR/K) / (SQE/n-K-1) \quad (2.10)$$

Em que SQR = soma de quadrados do modelo, SQE = soma de quadrados do erro e K = nº de variáveis independentes. Esta estatística é utilizada para testar a significância do ajustamento do modelo aos dados. O modelo ajustado é significativo se a estatística calculada fôr superior ao valor tabelado de $F_{(K, n-K-1; \alpha)}$ (Ryan, 1990; Chatterjee, 1991; Myers & Montgomery, 1995).

Também se efectuaram testes de hipóteses aos coeficientes de regressão individuais e a grupos de coeficientes, a fim de se constatar a contribuição de cada variável para explicar o modelo ajustado.

Nos testes aos coeficientes individuais é utilizada uma estatística com distribuição de *t-Student*, dada por:

$$t = [(\hat{\beta}_i - b_i^*) / (\text{var}(\hat{\beta}_i))^{1/2}] \quad (2.11)$$

onde $\hat{\beta}_i$ é o estimador de mínimos quadrados de β_i e b_i^* é uma constante escolhida pelo investigador para termo de comparação. A decisão deste teste consiste em rejeitar H_0 ($H_0: \beta_i = b_i^*$) quando a estatística calculada é superior em módulo ao valor tabelado de $t_{(\alpha/2; n-K-1)}$ (Chatterjee, 1991). Quando $b_i^* = 0$, este teste permite identificar factores não significativos no modelo, isto é, factores para os quais se admite que o respectivo coeficiente, β_i , seja nulo, caso em que o factor poderia ser omitido do modelo.

O teste efectuado a grupos de coeficientes, também conhecido por teste dos modelos encaixados, envolve o cálculo de estatísticas que têm uma distribuição *F*. Este teste também permite aferir a significância do ajustamento de cada modelo, permitindo evidenciar qual deles o melhor. A estatística *F* é dada por:

$$F = \frac{(SQE_s - SQE_o) / (gl(SQE_s) - gl(SQE_o))}{SQE_o / gl(SQE_o)} \quad (2.12)$$

em que $gl(SQE_s)$ e $gl(SQE_o)$ são o número de graus de liberdade de SQE_s (do submodelo ou modelo reduzido) e SQE_o (do modelo original), respectivamente. A decisão deste teste, cuja hipótese nula é a de que o melhor modelo é o submodelo (vs. H_1 : modelo original é melhor) consiste em rejeitar H_0 se a estatística *F* calculada na equação 2.12 for superior a $F_{a,b}(\alpha)$, sendo $a = gl(SQE_s) - gl(SQE_o)$ e $b = gl(SQE_o)$ (Fonseca, 1992).

Uma extensão do teste descrito anteriormente consiste na sua aplicação efectuada simultaneamente a grupos de coeficientes, permitindo diagnosticar se dois ou mais modelos, constituídos por subgrupos de observações, diferem significativamente. A aplicação destes testes envolve a construção de uma hipótese alternativa, referente a um modelo constituído pelo número total de parâmetros a serem comparados, em que se testa a desigualdade de grupos de coeficientes ($H_1: \beta_1$ do modelo1 $\neq \beta_1$ do modelo 2 $\neq \dots \neq \beta_1$ do modelo m) contra a hipótese nula de igualdade dos mesmos ($H_0: \beta_1$ do modelo1 = β_1 do modelo 2 = $\dots = \beta_1$ do modelo m). Na hipótese nula, a igualdade a zero de grupos de coeficientes reduz o número de parâmetros do modelo. A estatística do teste é dada por :

$$F = \frac{(SQE_{H_0} - SQE_{H_1}) / (gl(SQE_{H_0}) - gl(SQE_{H_1}))}{SQE_{H_1} / gl(SQE_{H_1})} \quad (2.13)$$

em que SQE_{H_0} e SQE_{H_1} são os graus de liberdade de SQE , obtidos nos modelos hipotizados em H_0 e H_1 , respectivamente. A decisão do teste consiste em rejeitar H_0 se a estatística F obtida for superior a $F_{a,b}(\alpha)$, sendo $a = (gl(SQE_{H_0}) - gl(SQE_{H_1}))$ e $b = gl(SQE_{H_1})$ (Draper & Smith, 1981; Dunteman, 1984; Daniel, 1987; Wittink, 1988).

Além dos testes de hipóteses referidos e, quando em presença de vários factores deve ainda proceder-se à análise dos resíduos, com vista a verificar os pressupostos dos métodos. Desta análise obtem-se informação quanto à distribuição dos erros aleatórios e, conseqüentemente, quanto à necessidade de transformação das variáveis que fazem parte do modelo. De facto, para que seja possível aplicar testes de hipóteses e criar intervalos de confiança, baseados nas distribuições de *t-Student* ou *F*, exige-se a normalidade dos resíduos. No entanto, esta condição não é necessária para estimar os parâmetros do modelo

(Dunteman, 1984; Berry & Feldman, 1985). A análise dos resíduos também permite estudar a existência de observações atípicas (*outliers*). Os *outliers* devem ser examinados com especial atenção, uma vez que podem representar algo simples, como um erro associado aos dados, ou algo mais complexo, como o facto do modelo ajustado constituir uma fraca aproximação à verdadeira resposta numa região do espaço das variáveis regressoras (Fonseca, 1992). Existem várias abordagens possíveis para análise de *outliers*, destacando-se o cálculo das distâncias de Cook, como uma boa metodologia para verificar a existência de pontos influentes, capazes de alterar fortemente as estimativas dos parâmetros quando são removidos do modelo (Cook & Weisberg, 1982). Machado (1998) apresenta uma descrição mais pormenorizada do tipo de análises dos resíduos e sua aplicabilidade ao presente estudo (presente conjunto de dados em análise).

No presente trabalho procedeu-se assim à análise de regressão da resposta em função dos factores em estudo, tendo-se obtido um modelo – melhor modelo ajustado de segunda ordem para cada profundidade amostrada. Procedeu-se à aferição da qualidade de ajuste pelos métodos referidos anteriormente, tendo sido determinadas as variáveis significativas em cada modelo e apenas com estas, ajustados novos modelos – modelos encaixados. Para cada profundidade, aplicou-se a estatística F expressa na equação 2.12 para evidenciar o melhor modelo ajustado.

Uma vez obtido o melhor modelo ajustado para cada profundidade, procedeu-se à comparação dos modelos ajustados para as diferentes profundidades, com o intuito de verificar se os modelos obtidos para cada profundidade são significativamente diferentes. Procedeu-se assim à comparação de grupos de coeficientes, utilizando a estatística F da

equação 2.13. Foram aplicados três testes de comparação a grupos de coeficientes, designadamente:

- *Comparação 1*, aplicado aos coeficientes dos melhores modelos obtidos para as profundidades 0,0 e 0,5 m;
- *Comparação 2*), aplicado aos grupos de coeficientes dos melhores modelos estimados para as profundidades 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 m;
- *Comparação 3*, aplicado aos grupos de coeficientes dos melhores modelos obtidos para as profundidades 2,5 e 3,0 m.

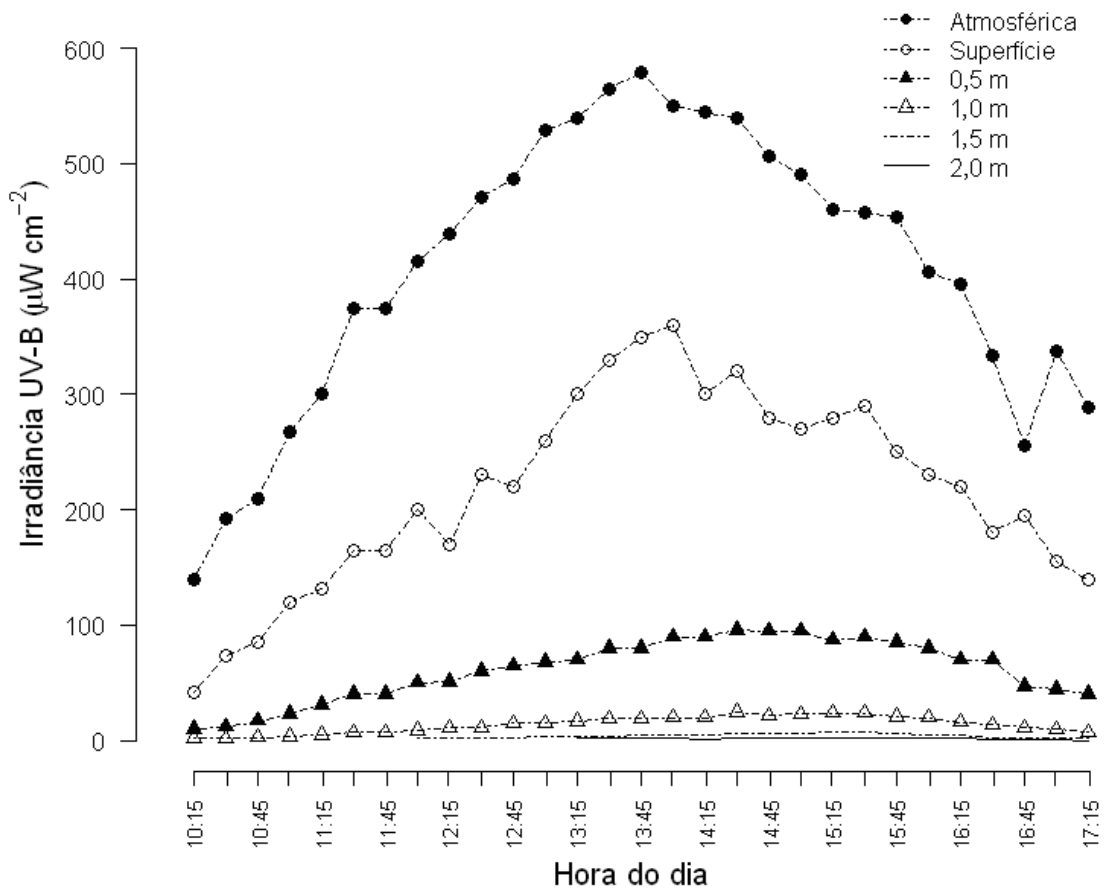
A fim de se determinar a quantidade total e média de irradiância UV-B para cada profundidade e as percentagens de radiação UV-B atmosférica que incidem em cada profundidade, efectuou-se o cálculo do integral do melhor modelo obtido (nas variáveis naturais) para cada profundidade, no intervalo de integração das variáveis independentes. Este procedimento foi efectuado no programa *Mathematica* (*Wolfram Research, Inc.*). O procedimento efectuado com a utilização deste programa encontra-se descrito em Machado (1998). O procedimento de análise da regressão foi efectuado no programa *Statistica* (*StatSoft, Inc.*).

Com base nos valores obtidos no procedimento anterior foi ainda calculado o coeficiente de atenuação vertical da radiação UV-B para a água da Ria Formosa, utilizando-se a expressão dada na equação 2.2.

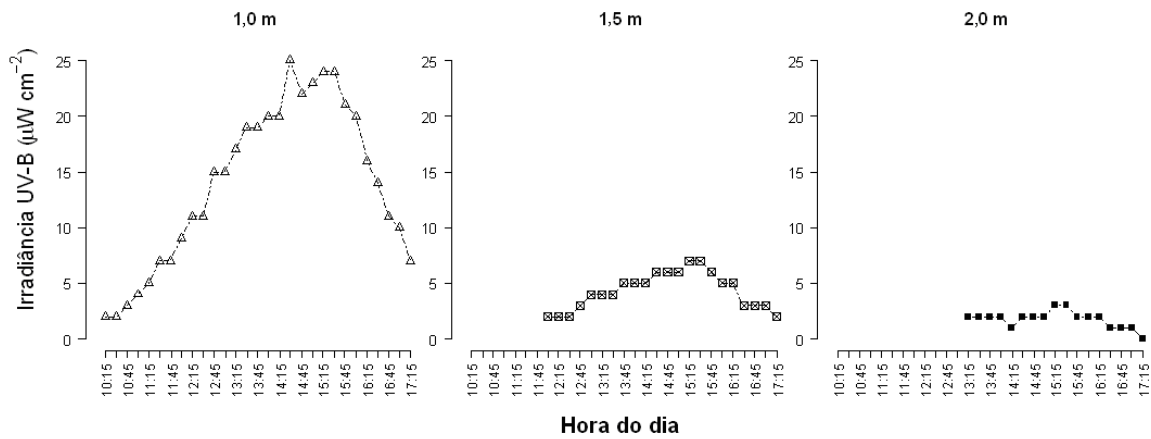
2.3 RESULTADOS

Os primeiros dados obtidos com as medições das irradiâncias UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) na Ria Formosa (Ponte da Ilha de Faro) são referentes ao dia 21 de Setembro de 1995 (Fig. 2.3). A análise desta figura revela a variação ao longo do dia da irradiância UV-B, em função da hora local e da profundidade de amostragem. A distribuição da irradiância UV-B atmosférica é semelhante a uma distribuição do tipo normal, com picos por volta das 14:00 (hora local), situando-se o fotoperíodo de irradiação máxima entre as 11:30 e as 15:30. A variação da irradiância UV-B “Superfície” corresponde às medições realizadas na camada superficial da água (interface ar-água), para as quais as leituras do radiómetro apresentaram dificuldade na estabilização de um valor final, assumindo, à partida, um carácter errático na determinação do mesmo. Com a profundidade, o número de observações reduz-se, sendo a profundidade máxima dependente da situação de preia-mar. Nesse dia de amostragem (21/09/95), e durante o período amostrado, a profundidade máxima amostrada foi de 2,0 m.

Na Figura 2.4 é representada graficamente a variação das irradiâncias UV-B atmosféricas ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em função da hora e do mês, para o conjunto de dados em análise, a qual revela a existência de curvatura em ambos os eixos (em função do mês e da hora), denotando-se um pico de irradiância ($637 \mu\text{W cm}^{-2}$), atingido às 14:00 (hora local) no dia 22 de Maio de 1996.



a)



b)

c)

d)

Figura 2.3 – Variação da irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) incidente na Ria Formosa (Ponte da Ilha de Faro, $37^{\circ} 00' \text{ N}$ e $7^{\circ} 59' \text{ W}$) no dia 21 de Setembro de 1995:

a) atmosférica; b) a 1,0 m de profundidade; c) a 1,5 m de profundidade; d) a 2,0 m de profundidade.

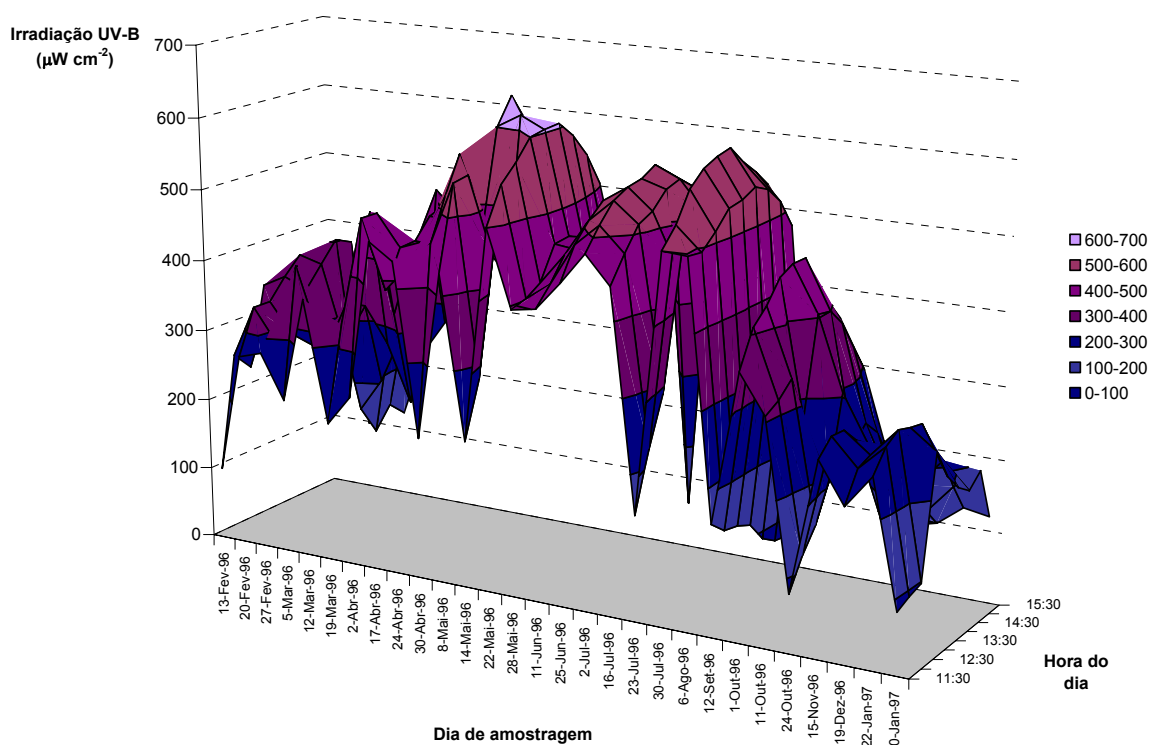


Figura 2.4 – Variação da irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) atmosférica na Ria Formosa (Ponte da Ilha de Faro, $37^{\circ} 00' \text{ N}$ e $7^{\circ} 59' \text{ W}$), em função do mês e da hora local, entre Fevereiro de 1996 e Janeiro de 1997, inclusive.

Os resultados da análise exploratória/descritiva da variável de resposta (média, desvio padrão, máximo, mínimo, mediana, 1º e 3º quartis) para cada profundidade são apresentados na Tabela 2.2.

Da observação desta tabela, salienta-se que os valores de resposta (irradiância UV-B) apresentam maior variação na atmosfera (profundidade 0,0 m), comparativamente com os valores obtidos para cada profundidade da coluna de água da Ria. Repare-se que esta variação diminui na coluna de água. A dispersão dos valores observados da irradiância UV-B diminui com o aumento da profundidade.

Tabela 2.2 – Resultados da análise descritiva da variável resposta (irradiância UV-B em $\mu\text{W cm}^{-2}$) para cada profundidade.

Profundidade	Média \pm desvio padrão	Máximo	Mínimo	Mediana	1° Quartil	3° Quartil
0,0 m	362,2 \pm 147,1	637,0	67,0	384,0	245,0	480,0
0,5 m	32,0 \pm 21,5	110,0	0,4	30,0	15,3	45,0
1,0 m	5,7 \pm 4,7	26,0	0,0	4,1	2,4	8,0
1,5 m	1,7 \pm 1,2	7,0	0,1	1,4	0,8	2,2
2,0 m	0,7 \pm 0,4	2,0	0,1	0,7	0,3	1,0
2,5 m	0,4 \pm 0,2	0,9	0,0	0,4	0,2	0,6
3,0 m	0,2 \pm 0,2	0,5	0,0	0,2	0,1	0,4

De seguida são apresentados sequencialmente os resultados obtidos da aplicação da análise de regressão para cada profundidade, referentes aos melhores ajustes obtidos – modelos de segunda ordem. Maior detalhe na aplicação da metodologia referida aos dados em estudo, incluindo a análise de resíduos, e a exploração de outras metodologias aqui não referidas, é dado por Machado (1998).

2.3.1 Profundidade 0,0 m

O melhor ajuste para a variável resposta irradiância UV-B atmosférica é dado, em função das variáveis codificadas, pela seguinte expressão:

$$\text{UVB}_{0,0} = 435,862 - 105,459x_1 - 188,715x_1^2 - 73,500x_2^2 \quad (2.14)$$

sendo x_1 a variável *mês* codificada e x_2 , a variável *hora* codificada. O submodelo ajustado não é significativamente pior na explicação da relação da variável resposta com as variáveis *mês* e *hora*, dado que o valor de F calculado (1,0527), dado pela equação 2.12, é

inferior ao valor de F tabelado ($F_{(2, 102, p<0,05)} \approx 3,83$). As parcelas em x_2 e x_1x_2 não desempenham papel relevante na precisão da variável resposta.

A expressão do melhor modelo ajustado (eq. 2.14) nas variáveis naturais, após a descodificação, é dada por:

$$UVB_{0,0} = -3051,93 + 61,93X_1 + 496,13 X_2 - 6,24X_1^2 - 18,38X_2^2 \quad (2.15)$$

Sendo X_1 a variável *mês* e X_2 , a variável *hora*, originais. Nos anexos são apresentados os principais resultados obtidos nas análises dos modelos ajustados para cada profundidade, sendo que a informação referente aos ajustes dos modelos referentes às irradiâncias UV-B atmosféricas (profundidade 0,0 m) são apresentadas nas Tabelas 2 a 5 dos mesmos. Integrando a função obtida nos seus intervalos de integração obtém-se a quantidade de irradiância UV-B atmosférica anual (1996) para o fotoperíodo de radiação máxima de $15332 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo a irradiância UV-B média de $319 \mu\text{W cm}^{-2}$.

2.3.2 Profundidade 0,5 m

O melhor ajuste para a variável resposta irradiância UV-B a 0,5 m de profundidade é dado, em função das variáveis codificadas, pela seguinte expressão:

$$UVB_{0,5} = 47,106 - 7,148x_1 - 34,812x_1^2 - 7,905x_2^2 \quad (2.16)$$

Este resultado é dado pela aplicação do teste de comparação dos modelos encaixados, em que o valor de F calculado (eq. 2.12) = 1,0457 é inferior ao valor de F tabelado ($F_{(2, 102, p<0,05)} \approx 3,83$). Os resultados dos modelos testados encontram-se em anexos (Tabelas 6 a 9).

A expressão do melhor modelo ajustado para 0,5 m de profundidade, dada nas variáveis naturais, é a seguinte:

$$UVB_{0,5} = -353,254 + 13,661X_1 + 53,361 X_2 - 1,151X_1^2 - 1,976X_2^2 \quad (2.17)$$

A irradiância UV-B anual (1996) para o fotoperíodo de radiação máxima a 0,5 m de profundidade é de $1446 \mu W \text{ cm}^{-2}$, sendo a radiação média de $30,13 \mu W \text{ cm}^{-2}$, que é cerca de 10 vezes menos que a estimada para a superfície (0,0 m). Cerca de 9,4% da intensidade de radiação UV-B atmosférica que incidiu na Ria Formosa, durante o fotoperíodo de radiação máxima em 1996, atingiu a profundidade 0,5 m da coluna de água.

2.3.3 Profundidade 1,0 m

O melhor ajuste para a variável resposta irradiância UV-B a 1,0 m de profundidade é dado, em função das variáveis codificadas, pela seguinte expressão:

(2.18)

$$UVB_{1,0} = 8,077 - 1,224x_1 - 6,579x_1^2$$

O valor de F calculado (1,2486) é inferior ao valor de F tabelado ($F_{(3, 102, p<0,05)} \approx 3,25$), concluindo-se assim que o submodelo não explica de forma significativamente pior a

relação da irradiância UV-B a 1,0 m com as variáveis independentes em estudo. Os resultados dos modelos testados encontram-se em anexos (Tabelas 10 a 13).

O modelo da equação 2.18, dado nas variáveis naturais, é expresso por:

$$UVB_{1,0} = 0,334 + 2,605X_1 - 0,217X_1^2 \quad (2.19)$$

É de realçar que a variável X_2 (*hora*) não desempenha qualquer papel neste modelo, ou seja, a incidência da radiação UV-B nesta profundidade já não é função da hora do dia, mais precisamente, não no intervalo de tempo amostrado.

A irradiância UV-B anual (1996) para o fotoperíodo de radiação máxima, incidente a 1,0 m de profundidade é de $259 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo a irradiância UV-B média de $5,39 \mu\text{W cm}^{-2}$. Cerca de 1,7% da radiação UV-B atmosférica atingiu esta profundidade durante o fotoperíodo de radiação máxima no período de tempo em análise (Fevereiro de 1996 a Janeiro de 1997, inclusive).

2.3.4 Profundidade 1,5 m

O melhor ajuste para a variável resposta irradiância UV-B a 1,5 m de profundidade é, em função das variáveis codificadas, o seguinte:

$$UVB_{1,5} = 2,182 - 0,323x_1 - 1,682x_1^2 \quad (2.20)$$

Este resultado é dado pela aplicação do teste de comparação, em que o valor de F calculado (0,982) é inferior ao valor de F tabelado ($F_{(3, 101, p<0,05)} \approx 3,25$). Os resultados dos modelos testados encontram-se em anexos (Tabelas 14 a 17).

A expressão do melhor modelo ajustado para 1,5 m de profundidade, dada nas variáveis naturais, é a seguinte:

$$\text{UVB}_{1,5} = 0,214 + 0,664X_1 - 0,056X_1^2 \quad (2.21)$$

À semelhança do melhor ajuste obtido para a profundidade anterior, também a variável X_2 não é relevante no melhor modelo estimado para 1,5 m de profundidade.

A irradiância UV-B anual (1996), para o fotoperíodo de radiação máxima, a 1,5 m de profundidade é de $71,3 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo a radiação média igual a $1,49 \mu\text{W cm}^{-2}$. Constatou-se assim que cerca de 0,5% da radiação UV-B atmosférica atingiu esta profundidade na Ria durante o período em análise.

2.3.5 Profundidade 2,0 m

O melhor ajuste para a variável irradiância UV-B a 2,0 m de profundidade é dado, em função das variáveis codificadas, pela seguinte expressão:

$$\text{UVB}_{2,0} = 0,730 - 0,147x_1 - 0,524x_1^2 \quad (2.22)$$

Esta expressão resulta da aplicação do teste de comparação, em que o valor de F calculado (0,452) é inferior ao valor de F tabelado ($F_{(3, 102, p<0,05)} \approx 3,25$). Os resultados dos modelos testados encontram-se em anexos (Tabelas 18 a 21).

A expressão do melhor modelo ajustado para 2,0 m de profundidade, dada nas variáveis naturais, é a seguinte:

$$\text{UVB}_{2,0} = 0,171 + 0,198X_1 - 0,017X_1^2 \quad (2.23)$$

Repare-se que, à semelhança dos melhores modelos ajustados para as profundidades anteriores (1,0 m e 1,5 m), este modelo não incorpora a variável X_2 .

A irradiância UV-B anual (1996), para o fotoperíodo de radiação máxima, que atinge os 2,0 m de profundidade na Ria Formosa é de $24,4 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo a radiação média de $0,51 \mu\text{W cm}^{-2}$ e a percentagem da radiação UV-B atmosférica incidente a esta profundidade cerca de 0,2%.

2.3.6 Profundidade 2,5 m

O melhor ajuste para a variável irradiância UV-B a 2,5 m de profundidade é dado, em função das variáveis codificadas, pela seguinte expressão:

$$\text{UVB}_{2,5} = 0,490 - 0,110x_1 - 0,346x_1^2 \quad (2.24)$$

Esta expressão resulta da aplicação do teste de comparação, sendo o valor de F calculado (1,438) inferior ao valor de F tabelado ($F_{(3, 52, p<0,05)} \approx 3,39$). Os resultados dos modelos testados encontram-se em anexos (Tabelas 22 a 25).

A expressão do melhor modelo ajustado para 2,5 m de profundidade, dada nas variáveis naturais, é a seguinte:

$$\text{UVB}_{2,5} = -0,035 + 0,172X_1 - 0,014X_1^2 \quad (2.25)$$

A irradiância UV-B anual (1996) que incide a 2,5 m de profundidade é de $15,0 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo a radiação média de $0,34 \mu\text{W cm}^{-2}$. Constatou-se que apenas cerca de 0,1% da radiação UV-B atmosférica atinge esta profundidade.

2.3.7 Profundidade 3,0 m

O melhor ajuste para a variável irradiância UV-B a 3,0 m de profundidade é dado, em função das variáveis codificadas, pela seguinte expressão:

$$\text{UVB}_{3,0} = 0,297 - 0,055 x_1 - 0,191x_1^2 \quad (2.26)$$

Da aplicação do teste de comparação dos modelos encaixados resultou um valor de F calculado (0,772), também inferior ao valor de F tabelado ($F_{(3, 29, p<0,05)} \approx 3,61$). Os resultados dos modelos testados encontram-se em anexos (Tabelas 26 a 29).

A expressão do melhor modelo ajustado para 2,5 m de profundidade, dada nas variáveis naturais, é a seguinte:

$$\text{UVB}_{3,0} = -0,003 + 0,096X_1 - 0,008X_1^2 \quad (2.27)$$

A irradiância UV-B anual para o fotoperíodo de radiação máxima a 3,0 m de profundidade é de $9,27 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo a radiação média de $0,21 \mu\text{W cm}^{-2}$. A 3,0 m de profundidade na Ria chegaram cerca 0,06% da radiação UV-B atmosférica.

2.3.8 Comparação dos melhores modelos estimados, entre profundidades

O valor de F da equação 2.13 ($=44,63$) é superior ao valor de F tabelado ($F_{(4, 207, p<0,05)} \approx 2,85$), referente à *Comparação 1* (aplicada aos coeficientes dos melhores modelos obtidos para as profundidades 0,0 e 0,5 m), de forma que a decisão do teste consistiu em rejeitar H_0 . Assim, concluiu-se que o melhor modelo estimado para a profundidade 0,0 m difere significativamente do melhor modelo estimado para a profundidade 0,5 m. Os resultados obtidos do ajuste do modelo elaborado para testar a igualdade e a desigualdade dos melhores modelos estimados para as profundidades 0,0 e 0,5 m (*Comparação 1*) são apresentados em anexos (Tabelas 30 e 31).

Analogamente, os resultados obtidos do ajustamento do modelo construído para testar a igualdade e a desigualdade dos melhores modelos estimados para as profundidades 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 m, definida, no presente trabalho, por *Comparação 2*, são apresentados nos anexos (Tabelas 32 e 33). Também para esta comparação, o valor de F ($=11,514$) é superior ao valor tabelado ($F_{(6, 373, p<0,05)} \approx 2,45$), consistindo a decisão do teste em rejeitar H_0 . Assim, conclui-se que também os melhores modelos estimados para as profundidades 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 são significativamente diferentes.

Por último, os resultados obtidos do ajustamento do modelo construído para comparar os melhores modelos estimados para as profundidades 2,5 e 3,0 m, definida por *Comparação 3*, são apresentados nos anexos (Tabelas 34 e 35). Para esta comparação, o valor de F da equação 2.13 é igual a 5,129, valor que é superior ao tabelado ($F_{(2, 88, p<0,05)} \approx 3,84$), consistindo a decisão do teste em rejeitar H_0 . Assim, conclui-se que também os melhores modelos estimados para as duas maiores profundidades são significativamente diferentes.

Resumindo, os melhores modelos, significativamente diferentes, obtidos para cada profundidade, expressos nas variáveis naturais ($X_1 - \text{mês}$ e $X_2 - \text{hora}$), são os seguintes:

$$\text{UVB}_{0,0} = -3051,93 + 61,93X_1 + 496,13 X_2 - 6,24X_1^2 - 18,38X_2^2 \quad (2.15)$$

$$\text{UVB}_{0,5} = -353,254 + 13,661X_1 + 53,361 X_2 - 1,151X_1^2 - 1,976X_2^2 \quad (2.17)$$

$$\text{UVB}_{1,0} = 0,334 + 2,605X_1 - 0,217X_1^2 \quad (2.19)$$

$$\text{UVB}_{1,5} = 0,214 + 0,664X_1 - 0,056X_1^2 \quad (2.21)$$

$$\text{UVB}_{2,0} = 0,171 + 0,198X_1 - 0,017X_1^2 \quad (2.23)$$

$$\text{UVB}_{2,5} = -0,035 + 0,172X_1 - 0,014X_1^2 \quad (2.25)$$

$$\text{UVB}_{3,0} = -0,003 + 0,096X_1 - 0,008X_1^2 \quad (2.27)$$

Como referido anteriormente, a partir da profundidade de 1,0 m para maiores profundidades a variável *hora* deixa de ser significativa nos modelos ajustados.

Na Tabela 2.3 são apresentados os valores de irradiância UV-B máxima, total e média estimadas para cada profundidade e as respectivas percentagens de penetração, usando os melhores modelos ajustados aos dados resultantes das observações das irradiâncias UV-B referentes ao período em análise (Fevereiro de 1996 a Janeiro de 1997, inclusive).

Tabela 2.3 – Irradiância UV-B total, máxima, média e percentagem de penetração a cada profundidade.

Profundidade	Irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$)			Penetração da radiação UV-B (%)
	Total	Máximo	Média	
0,0 m	15332,10	451,00	319,42	100,00
0,5 m	1446,10	47,47	30,13	9,43
1,0 m	258,90	8,13	5,39	1,69
1,5 m	71,30	2,20	1,49	0,47
2,0 m	24,40	0,74	0,51	0,16
2,5 m	15,00	0,50	0,34	0,10
3,0 m	9,30	0,35	0,21	0,06

Na Figura 2.5 é apresentado o perfil de penetração da irradiância UV-B, em $\mu\text{W cm}^{-2}$ e em percentagem relativa da radiação UV-B atmosférica, na coluna de água da Ria Formosa. Este perfil revela que a irradiância UV-B diminui com a profundidade da coluna de água da Ria, sentindo-se uma forte redução nos primeiros 0,5 m de profundidade ($\approx 91\%$), em que apenas 9,4% da radiação UV-B atmosférica atinge essa profundidade. No entanto, a irradiância UV-B junto ao fundo não é nula, atingindo à superfície do sedimento cerca de 0,06%. O fundo corresponde neste caso à profundidade de 3,0 m na preia-mar. A 1,0 metro de profundidade a irradiância UV-B é menos de 1,7% da irradiância atmosférica. Note-se que em situação de baixa-mar, a coluna de água no local de amostragem tem 0,5 m ou menos, durante cerca de 1 hora, sobretudo em situação de marés vivas, e apresenta à volta

de 1 m durante cerca de 2 horas por dia. Quando estas marés ocorrem durante o fotoperíodo de radiação máxima, a intensidade de radiação a que os organismos estão expostos é considerável.

Dado que cerca de 100% da irradiância UV-B atmosférica média na Ria atinge a profundidade 0,5 m, de acordo com a equação 2.2, o coeficiente de atenuação da radiação UV-B para este sistema é de $4,6 \text{ m}^{-1}$, semelhante ao obtido em estudos realizados em águas costeiras da Noruega (Kjeldstad *et al.*, 2003).

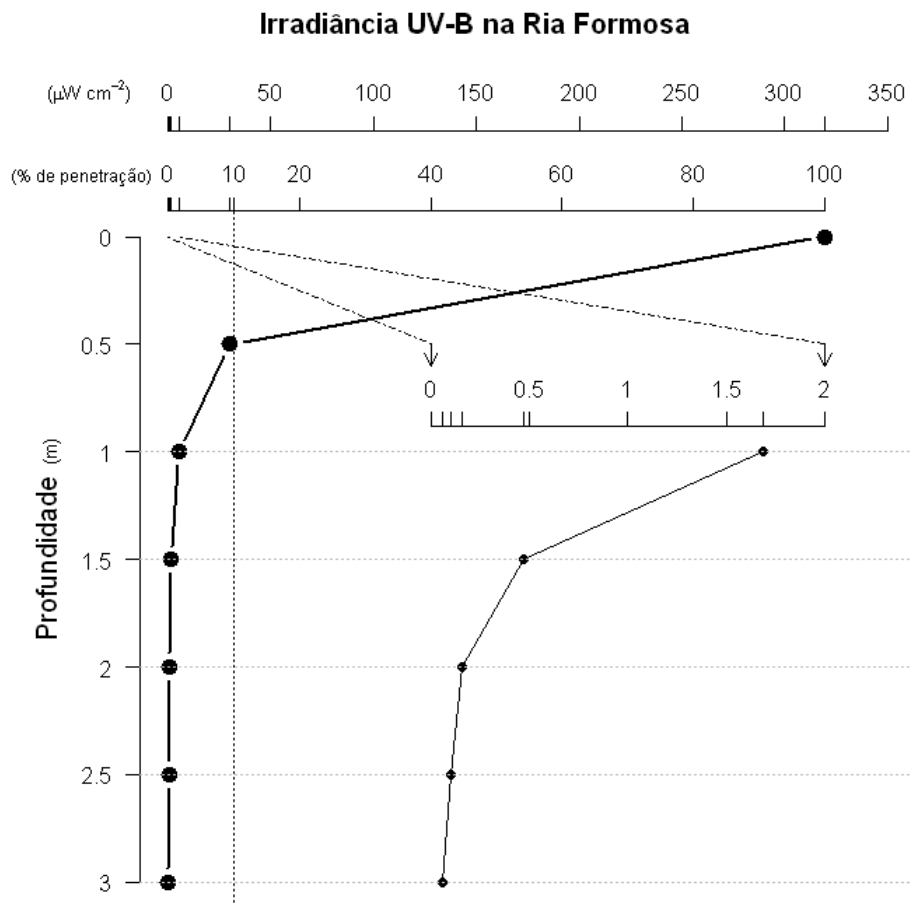


Figura 2.5 – Perfil da irradiância UV-B, expressa em $\mu\text{W cm}^{-2}$ e em percentagem relativa à incidência atmosférica, na coluna de água da Ria Formosa ($37^{\circ} 00' \text{ N}$ e $7^{\circ} 59' \text{ W}$), contendo ampliação do perfil de penetração no intervalo 0 a 2% na Ria Formosa.

2.4 DISCUSSÃO

As medições de irradiância UV-B na camada superficial da água (interface ar-água) foram abandonadas do programa de amostragem, dada a incerteza na leitura dos valores pelo radiômetro, devido à instabilidade dos mesmos. Esta incerteza deve-se à própria instabilidade do meio, devida a alterações induzidas pela formação de bolhas de ar e de espuma (Kirk, 1983).

Foi verificada uma forte redução na irradiância UV-B na coluna de água com a profundidade da Ria Formosa, ou seja, é evidenciada a existência de um perfil de atenuação da radiação na coluna de água deste sistema. Esta redução é mais fortemente sentida nos primeiros 0,5 m de profundidade, em que é absorvida cerca de 91% da radiação UV-B atmosférica. De acordo com os dados obtidos pelo IPIMAR ao largo da costa algarvia, num ponto adjacente à Ria (*estação 10*, 36° 30' N; 08° 19' W), durante um cruzeiro de investigação a bordo da embarcação “Capricórnio” (dia 28 de Fevereiro de 1996), o perfil de atenuação da radiação da radiação UV-B em mar aberto pode atingir profundidades consideráveis, dado que os 90% de atenuação da radiação UV-B ocorrem a cerca de 18 m de profundidade (Figura 2.6).

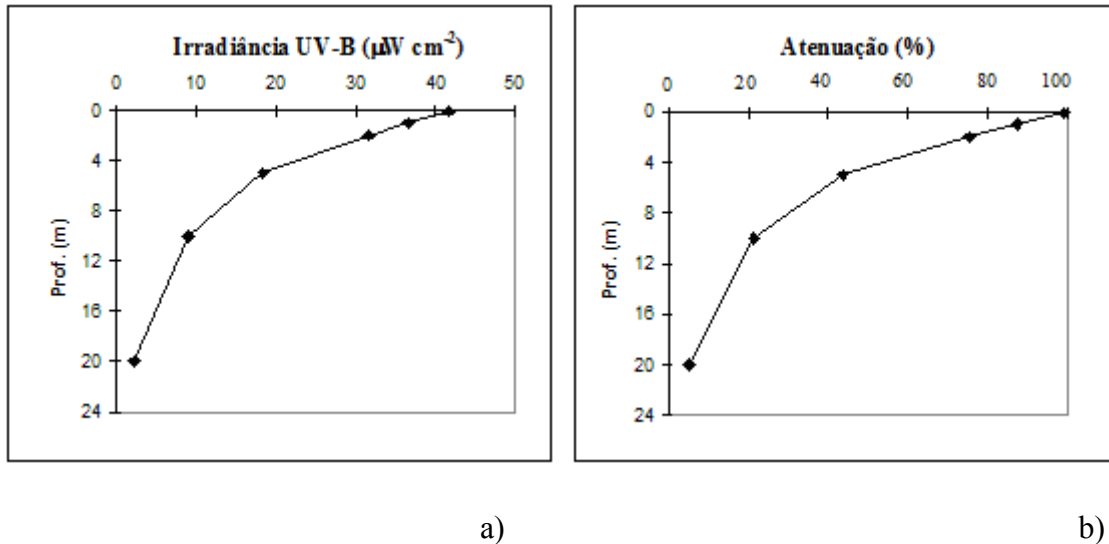


Figura 2.6 – Perfil da radiação UV-B na costa algarvia (*estação 10*: 36° 30' N; 08° 19' W), obtido no dia 28 de Fevereiro de 1996 (radiação atmosférica de 148 $\mu\text{W cm}^{-2}$):
 (a) irradiância UV-B em profundidade ($\mu\text{W cm}^{-2}$);
 (b) atenuação da radiação UV-atmosférica (%) com a profundidade.
 (A profundidade 0 m corresponde à medição efectuada na superfície da água).

De facto, em águas oceânicas, a profundidade de incidência de 1% da radiação emitida a 305 nm pode ser detectada a profundidades igual ou superiores a 20 m (Wilhelm *et al.*, 1998), enquanto que em águas costeiras esta profundidade pode limitar-se à camada superficial. Gómez *et al.* (2005) detectaram, para o estuário do Rio Quempillen no Sul do Chile, que a profundidade de penetração de 1% da radiação UV-B é de 1,8 m na preia-mar. Analogamente, no Mar do Norte, numa zona costeira (Ilha de Helgoland, Alemanha), a percentagem de penetração de 10% da radiação UV-B é detectada entre 1 a 2 m de profundidade (Kuhlenkamp *et al.*, 2001).

A penetração da radiação UV-B na coluna de água depende de alguns factores, nomeadamente, da actividade biológica, da concentração da matéria orgânica dissolvida e de pigmentos que absorvem nesta região do espectro (Smith & Baker, 1978), da variação espacial e sazonal, entre outros (Nielsen *et al.*, 1995). De facto, os valores relativamente

reduzidos de R^2 nos modelos e submodelos (melhores modelos) estimados para as diferentes profundidades da Ria Formosa (Machado, 1998) sugerem que a incorporação desta informação pode ser relevante. Estes valores revelam que os modelos ajustados explicam cerca de metade da relação da variável de resposta (*irradiância UV-B a cada profundidade amostrada*) com as variáveis que fazem parte de cada modelo (*mês e hora*).

Esta relativamente reduzida capacidade de explicação dos modelos parece assim estar relacionada com a influência de outros factores sobre a resposta em estudo. A presença de tais factores pode também ser a explicação para o facto da variável *hora* não figurar nos modelos ajustados às profundidades igual e superiores a 1,0 m, ou seja, esta variável deixa de ser preponderante face à existência de outros factores, possivelmente, relacionados com a penetração da radiação e que melhor explicariam o perfil de atenuação obtido. Daqui resulta a necessidade de incluir, nos programas de amostragem semanais referidos, a monitorização de alguns desses factores, como sendo, por exemplo, a turbidez, a concentração de clorofilas e feopigmentos, os quais absorvem radiação UV-B (Nielsen *et al.*, 1995), como será abordado no quarto capítulo desta tese.

Note-se que o número de observações diminui consideravelmente a partir dos 2,5 m, o que está relacionado com a influência do regime de marés existente na Ria Formosa, sendo necessário realçar que, em boa parte dos dias de amostragem e dentro do intervalo de tempo amostrado, a coluna de água não possuía uma altura superior a 2,0 m, que corresponde à preia-mar em situação de marés mortas - predominantes.

O coeficiente de atenuação da radiação UV-B obtido na Ponte da Ilha de Faro, ou seja, de $4,6 \text{ m}^{-1}$, é superior ao menor valor de referência, correspondente a águas claras oceânicas

(0,20 m⁻¹) e inferior ao maior valor de referência dado para águas com elevada turbidez (20 m⁻¹) (Díaz *et al.*, 2000).

Perante o perfil obtido de penetração da radiação UV-B na Ria Formosa supõe-se que os organismos estejam expostos a quantidades consideráveis desta gama de radiação, sobretudo, na baixa-mar, coincidente com a hora de pico solar. Note-se que, com base nos registos obtidos com o presente trabalho, a coluna de água na Ponte da Ilha de Faro (37° 00' N; 7° 59' W) mantém uma altura igual ou inferior a 1 m durante cerca de 2 horas por dia e igual ou inferior a 0,5 m durante, aproximadamente, 1 hora por dia. Duração de tempos esses a que os organismos não conseguem “fugir” à exposição à irradiância UV-B.

Considera-se assim como prévia a abordagem realizada neste capítulo, no que se refere à explicação da atenuação da radiação UV-B na coluna de água da Ria, dado que a análise aqui efectuada cingiu-se a um ano de dados (o primeiro obtido) e não teve em consideração alguns dos factores que podem influenciar a variação da irradiância UV-B, tal como referido. No quarto capítulo proceder-se-á à análise do conjunto de dados obtidos durante os 4 anos de amostragem, incluindo os factores físico-químicos e biológicos observados, assim como de amostragens diárias completas – do nascer do Sol ao crepúsculo.

Pretendeu-se com a presente abordagem colmatar uma lacuna primária de conhecimento, sobre a determinação da incidência da radiação UV-B na Ria Formosa, dado que, em 1996, eram desconhecidos os níveis de incidência desta gama de radiação em Portugal. A obtenção da informação resultante da presente abordagem metodológica era fundamental para o delineamento da fase seguinte do plano de trabalhos.

Esta fase consistia no desenvolvimento de ensaios laboratoriais envolvendo a simulação de irradiâncias UV-B crescentes, a par da tendência global de aumento das mesmas, devido à destruição do ozono estratosférico (próximo capítulo).

A determinação da radiação UV-B média reveste-se de particular importância no que se refere ao delineamento de estudos experimentais, com simulação artificial da exposição à radiação UV-B, dado que fornece um valor a partir do qual é possível comparar efeitos em diferentes organismos de diversas áreas geográficas. A partir deste valor é possível determinar a radiação UV-B biologicamente efectiva – UVB_{BE} , ou seja, que produz efeito nos organismos marinhos, como será descrito no capítulo a seguir.

2.5 CONCLUSÕES

Com a abordagem realizada no presente capítulo foram estimados modelos que explicam cerca de metade da variação da irradiância UV-B, em função do mês e da hora, podendo concluir-se que:

- a irradiância UV-B média a 0,5 m de profundidade da Ria corresponde a $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, a 1,0 m corresponde a cerca de $5 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo de $1,5 \mu\text{W cm}^{-2}$ a 1,5 m de profundidade e inferior a $1 \mu\text{W cm}^{-2}$ abaixo desta profundidade;
- 91% da irradiância UV-B atmosférica é absorvida nos primeiros 0,5 m de profundidade da coluna de água da Ria Formosa, correspondendo, junto ao fundo, a 0,06%;
- a água da Ria Formosa na Ponte da Ilha de Faro ($37^{\circ} 00' \text{ N}$ e $7^{\circ} 59' \text{ W}$) tem um coeficiente de atenuação natural de $4,6 \text{ m}^{-1}$, semelhante ao de outras águas costeiras não turvas.
- os organismos da Ria Formosa estão expostos a níveis de irradiância UV-B consideráveis durante a baixa-mar, sobretudo, quando esta situação coincide com a hora de pico solar.

IMPACTES DA RADIAÇÃO UV-B NA MICROALGA *Isochrysis galbana*

3

3.1 INTRODUÇÃO

Os estudos sobre impactes da exposição à radiação ultravioleta têm incidido, particularmente, sobre a gama da radiação UV-B, dado o aumento dos fluxos de incidência nesta região do espectro solar devido à depleção do ozono estratosférico (Crutzen, 1992). A penetração da radiação UV-B na coluna de água também tem aumentado, em parte, devido à acidificação de lagos e ao aquecimento global do planeta (Schindler *et al.*, 1996).

À escala mundial, verificou-se uma redução de 10% na produção mundial da biomassa fitoplanctónica, devido ao aumento na incidência da radiação UV-B, o que implica a redução substancial da biomassa nos níveis tróficos seguintes, impacte que se tem repercutido a toda a cadeia trófica marinha (WHO, 1994). O fitoplâncton (marinho e de água doce) representa mais de metade da biomassa da Terra (Gerber & Häder, 1993), sendo que a redução da respectiva biomassa induz a redução da capacidade de fixação do CO₂ atmosférico (UNEP, 1989; 1991; Holm-Hansen, 1990), contribuindo assim para o aumento do efeito de estufa e conseqüente ampliação do efeito de aquecimento global, como já referido.

Esta gama de radiação é responsável pela indução de uma série de efeitos nos organismos marinhos. Existem evidências da afectação a curto-prazo do material genético – ADN (Karentz *et al.*, 1991a), da inibição da fotossíntese (Cullen *et al.*, 1992; Smith *et al.*, 1992), com redução das taxas de produção primária (Smith, 1989; Cullen & Neale, 1994; Smith & Cullen, 1995), decréscimo do consumo de nutrientes (Döhler *et al.*, 1991) e inibição do consumo de carbono, como acontece em águas de regiões temperadas e no Antártico (Maske, 1984). Vários trabalhos revelam que a radiação UV-B causa fotoinibição do crescimento de organismos marinhos, sobretudo, em várias espécies de fitoplâncton e bactérias (Bailey *et al.*, 1983; Smith & Baker, 1989; Cullen & Lesser, 1991; Häder & Worrest, 1991; Karentz, 1991; Paerl, 1991; Smith *et al.*, 1992; Williamson, 1995; Neale *et al.*, 1998; Sinha & Häder, 2002). Os estudos incidentes sobre os efeitos da radiação UV-B em algas, sobretudo, microalgas, são abundantes. Alguns trabalhos recentes constituem uma boa revisão e compilação desta informação (Xue *et al.*, 2005; Holzinger and Lütz, 2006).

A sensibilidade diferenciada das espécies à exposição, a curto e longo-prazo, à radiação UV-B, é responsável pela indução de alterações na estrutura das comunidades e sucessão das espécies (Dobretsov *et al.*, 2005), favorecendo as espécies mais resistentes (Calkins & Thordardottir, 1980). O efeito da radiação UV-B no fitoplâncton marinho é variável em função da espécie, tanto nos trópicos como em águas de regiões temperadas (Calkins & Thordardottir, 1980; Jokiel & York, 1984), assim como no Antártico (Karentz *et al.*, 1991b). Esta variabilidade existe não só entre os diferentes taxa (Villafañe *et al.*, 1995; Lesser & Barry, 2003), como entre espécies pertencentes ao mesmo taxa (Karentz *et al.*, 1991a).

Contudo, os organismos possuem mecanismos de defesa natural para filtrar a própria radiação incidente e reparar os danos provocados pela respectiva absorção (Vincent & Roy, 1993). Os mecanismos de reparação são variáveis e também específicos para cada espécie e para cada taxa. Para cada organismo existe uma dose de radiação UV-B a partir da qual é manifestado um efeito – impacte. Esta dose (produto do fluxo de radiação pelo tempo de exposição) é conhecida na literatura por radiação UV-B biologicamente efectiva (UVB_{BE}) (Mora *et al.*, 2000).

Face ao exposto, pressupõe-se que qualquer alteração na constituição da base das cadeias tróficas da Ria Formosa, nomeadamente, do fitoplâncton, representado neste estudo por uma espécie da Ria Formosa com interesse na indústria da aquacultura - *Isochrysis galbana* (Parke, 1949), poderá induzir alterações nas comunidades fitoplanctónicas, com possibilidade de eventual repercussão nos níveis tróficos superiores (Lange & Lüring, 2003; Williamson & Zagarese, 2003; Sargian *et al.*, 2005). De um estudo realizado com sete microalgas marinhas, *I. galbana* foi a espécie que se revelou mais sensível à radiação UV-B, tendo revelado um decréscimo evidente na relação carotenóides/clorofila *a*, o que evidencia uma redução na capacidade de reparação do dano provocado pela exposição à radiação (Montero *et al.*, 2002). Contraditoriamente, um outro estudo realizado com seis fitoplanctontes marinhos (Hannach & Sigleo, 1998) revelou que *Isochrysis* sp., juntamente com uma outra prymnesiófita (*Pavlova gyrans*), é a mais resistente à irradiação UV-B.

É de referir que embora a percentagem da irradiância UV-B que atinge 0,5 m de profundidade na coluna de água da Ria seja relativamente reduzida, em média, cerca de $30 \mu W \text{ cm}^{-2}$, pode ser suficiente para originar efeitos negativos neste ecossistema. Segundo Nielsen *et al.* (1995), bastam cerca de $15 \mu W \text{ cm}^{-2}$ para que alguns fitoplanctontes,

nomeadamente, algumas espécies de dinoflagelados marinhos (*P. minimum*, *G. aureolum*, *H. triquetra* e *A. carterae*) não revelem crescimento, ou seja, não se reproduzam. É necessário referir que, em situação natural, estes organismos movem-se na coluna de água, tendo capacidade para evitar, sempre que possível, a exposição a irradiâncias UV-B mais intensas. No caso da Ria Formosa, dada a pouca profundidade da coluna de água, tornando-se, na baixa-mar e, sobretudo, nas marés vivas, ainda mais reduzida, os organismos acabam por poder estar expostos a níveis consideráveis de irradiância UV-B.

Com o presente trabalho pretendeu-se estudar, sob condições controladas em laboratório, o efeito no crescimento de *Isochrysis galbana* (Parke) exposta a diferentes valores de irradiância UV-B, com valores igual e superiores aos detectadas nos primeiros 0,5 m da coluna de água da Ria, durante pequenos intervalos de tempo. A duração diária de irradiação máxima (fotoperíodo) foi simulada com base em observações registadas na Ria Formosa.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada consistiu no estudo do efeito da radiação UV-B sobre o crescimento e a sua inibição, acompanhado da determinação dos teores pigmentares, da microalga *Isochrysis galbana*, exposta a doses crescentes de radiação UV-B e em presença da radiação PAR, sobre condições laboratoriais controladas.

3.2.1 Caracterização da microalga *Isochrysis galbana*

A espécie *Isochrysis galbana* (Parke) é uma microalga marinha originária do grupo de algas *Chrysophyta*, pertencendo, actualmente, ao filo designado por *Haptophyta* (classe *Prymnesiophyceae* ou *Haptophyceae*), ordem *Isochrysidales*, família *Isochrysidaceae*, Género *Isochrysis*.

Esta espécie foi identificada por Parke (1949). É uma microalga unicelular redonda ou ovóide com 5 a 6 μm , apresenta dois flagelos que lhe atribuem a propriedade de locomoção e um heptonema vestigial. Encontra-se coberta por escamas circulares. Os cloroplastos, de coloração que pode variar entre o amarelo e o castanho, contêm clorofila *a* e *c*, β -caroteno e xantofilas. As substâncias de reserva são crisolaminarina, lípidos e paramido. A reprodução é assexuada, podendo a cultura destas células atingir concentrações da ordem dos 10^7 células/ml a uma temperatura de 20 – 22 °C (Walne, 1974).

I. galbana possui um elevado conteúdo lipídico (Parke, 1949), o que a torna um alimento atractivo para diversas larvas de bivalves, sendo amplamente utilizada na indústria de aquacultura.

3.2.2 Delineamento experimental

Os ensaios laboratoriais foram realizados com culturas monoespecíficas de *I. galbana* em fase de crescimento exponencial ($\times 10^5$ células / ml) em aquários rectangulares de *plexiglass* transparente (ref^a 1137-20, Cole Parmer) com capacidade de 30 litros. Os ensaios foram realizados com três aquários em simultâneo, constituindo assim três replicados.

O material dos aquários (*plexiglass* transparente) praticamente não absorve as radiações UV-B, UV-A e PAR, filtrando apenas 8% da radiação com comprimento de onda compreendido entre 280 e 700 nm (Häder & Häder, 1990; Cullen & Neale, 1994).

O método de produção utilizado segue o das culturas em volume limitado, ou seja, *batch*. O processo de crescimento utilizado consiste no auxotrófico, uma vez que o meio foi enriquecido com nutrientes e vitaminas. Para o enriquecimento foi utilizado o meio f/2 (Bougis, 1974).

Todo o material utilizado foi previamente lavado e esterilizado. A água salgada utilizada nas experiências pertence ao sistema de abastecimento da Universidade do Algarve, sendo

a água salgada de origem natural. A água utilizada foi filtrada e esterilizada num esterilizador de água salgada MINIREX (ref^a Min 1000 – ¾, REX).

Em todos os aquários o arejamento foi mantido constante, de forma a permitir atingir maiores densidades celulares e maior rapidez no crescimento (Stein, 1988). O arejamento constante permite ainda manter a cultura, de certa forma, homogeneizada, uma vez que provoca a circulação da água no interior do aquário. Desta forma, promove-se a recirculação das células, minimizando o efeito de sombreamento parcial da cultura, ou seja, permitindo que a cultura seja igualmente exposta à radiação. O volume ocupado pela cultura de algas em cada aquário foi de 15 litros, o que correspondeu a uma coluna de água com cerca de 10 cm de altura.

Durante os ensaios foram colhidas amostras diárias (20 ml) em cada aquário para contagem do número de células e determinação dos teores pigmentares. Diariamente, foram controlados, em cada aquário, a temperatura (≈ 20 °C), a salinidade (≈ 35 ppt), o pH (7,8 – 8,2) e a percentagem de saturação de oxigénio ($>70\%$) (Burgt *et al.*, 1980).

Os ensaios foram realizados em condições de luminosidade artificial. Foram efectuadas sete séries de ensaios, referentes a sete tratamentos distintos. Um dos ensaios referiu-se à exposição à radiação PAR, que constituiu o controlo experimental. A radiação PAR foi medida com um radiómetro Modelo LI-COR *Underwater Radiation Sensors, Type SA* e foi simulada por duas lâmpadas fluorescentes de 25W cada (SUN-GLO e FLORA-GLO, Hagen). A energia emitida por estas lâmpadas soma $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, valor pertencente à gama utilizada por vários autores em estudos de crescimento de fitoplâncton em condições de luz artificial constante (Lesser *et al.*, 1994; Beardall *et al.*, 1997; Lange & Lüring,

2003; Phoenix *et al.*, 2006) e dentro do intervalo necessário (50 a $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para promover a actividade fotossintética máxima (Ibelings & Maberly, 1998; Litchman, 2000; Litchman *et al.*, 2004). A radiação PAR promove a reparação dos danos causados pela radiação UV, motivo pelo qual a irradiação foi mantida constante, em ciclos diários de iluminação e escuro, variando apenas as doses de radiação UV-B (Cullen *et al.*, 1992; Cullen & Neale, 1994; Mora *et al.*, 2000).

Nos tratamentos seguintes foram adicionadas irradiâncias UV-B crescentes, identificadas no presente trabalho por UVB1, UVB2, UVB3, UVB4 e UVB5, correspondendo, respectivamente, às irradiâncias 30 , 100 , 200 , 300 e $500 \mu\text{W cm}^{-2}$. A irradiância UV-B simulada em cada tratamento foi baseada nos valores de irradiância UV-B observados na Ria Formosa e nas médias estimadas para cada profundidade, ou seja, no perfil de atenuação na coluna de água. O tratamento UVB1 corresponde à irradiância de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, valor médio estimado para $0,5$ m de profundidade da coluna de água da Ria Formosa (segundo capítulo). Repare-se que a Ria sofre periodicamente o regime de marés, havendo formação de piscinas naturais na baixa-mar, denotando-se uma redução substancial na altura da coluna de água, que por vezes, não ultrapassa $0,5$ m de profundidade. Desta forma, torna-se importante simular irradiâncias superiores às encontradas nesta profundidade, o que consubstancia a simulação das irradiâncias referidas (100 , 200 , 300 , e $500 \mu\text{W cm}^{-2}$, dos tratamentos UVB2, UVB3, UVB4 e UVB5, respectivamente).

A radiação UV-B foi emitida por lâmpadas fluorescentes de 40W (TL, Phillips), que não simulam o espectro natural da luz (Kirk, 1983; Ekelund, 1994; Nielsen *et al.*, 1995). Como tal, emitem uma determinada irradiância constante ao longo do tempo em que a lâmpada se

encontra acesa. As medições da irradiância UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) foram controladas com um radiómetro Modelo MACAM UV-103X, com sensor SD 105B cos, com correcção do cosseno, sendo o pico de leitura correspondente a 313 ± 2 nm e a amplitude da banda para cada lado do espectro de 29 ± 2 nm.

As lâmpadas foram posicionadas a cerca de 1 metro de distância dos aquários e, por cima destes, foram colocados filtros de tri-acetato de celulose (ref^o A04SPO, MSJ), como representado na Figura 3.1.

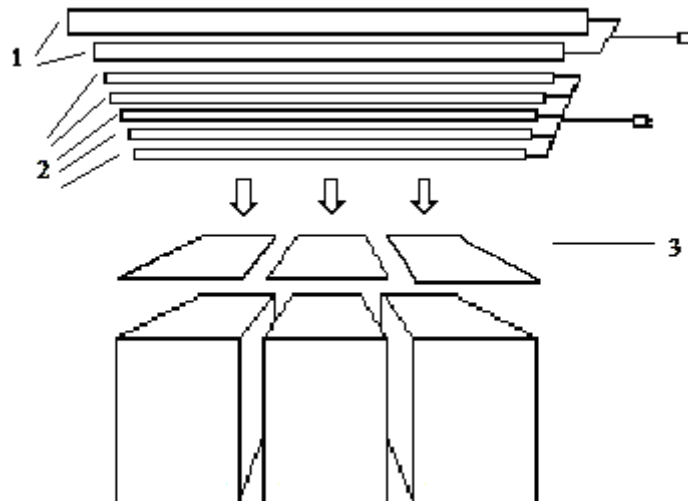


Figura 3.1– Esquema representativo dos ensaios efectuados em laboratório com *Isochrysis galbana*. Legenda: 1 – Duas lâmpadas de PAR; 2 – Cinco lâmpadas que emitem radiação UV-B e 3 – Filtros de acetato de celulose.

Os filtros serviram para filtrar a radiação de pequeno comprimento de onda emitida pelas lâmpadas, que não se encontra na natureza (UV-C, 100 a 280 nm) (Cullen & Neale, 1994) e foram substituídos a cada 72 horas de utilização (Ekelund, 1994; Nielsen *et al.*, 1995), dado que as propriedades dos filtros variam e podem alterar-se com a exposição à radiação (Karentz *et al.*, 1990).

Dado que cada lâmpada de UV-B é responsável pela emissão de $100 \mu\text{W cm}^{-2}$, foi também necessário utilizar um filtro especial – *Mylar* (ref^a K04CP04700, MSJ) para filtrar a própria radiação UV-B, de forma a se obter a irradiação de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$ (tratamento UVB1).

Numa tentativa de simular o espectro da luz natural em condições artificiais de laboratório, o ciclo de luz diário simulado consistiu no fotoperíodo de 16h luz : 8h escuro, à semelhança do utilizado em estudos análogos (Mora *et al.*, 2000; Lange & Lüring, 2003). Após as primeiras 5h de iluminação de PAR iniciou-se a irradiação de UV-B, que teve uma duração de 5h / dia. Após este período, continuou a ser emitida a radiação PAR até completar as 16h de luz que simulam o período de insolação diário (ver representação esquemática na Figura 3.2). Desta forma, é simulado o período a meio do dia em que a irradiância UV-B é mais intensa (Ostrander, 1996). É necessário referir ainda que ao longo destes ensaios a temperatura foi mantida constante a $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

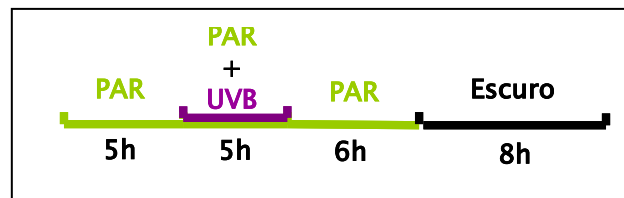


Figura 3.2 – Representação esquemática da sequência, em horas de exposição da cultura de *Isochrysis galbana*, ao tratamento diário com a radiação PAR (a verde), PAR e UVB (a verde e roxo) e ausência de iluminação - escuro (a preto).

Visando ainda avaliar o efeito no crescimento de *I. galbana* exposta à mesma irradiância UV-B ($500 \mu\text{W cm}^{-2}$), considerada elevada, durante um menor período de exposição (1 hora), testou-se um tratamento adicional, designado por UVB6. Neste caso, o tratamento corresponde a uma dose de $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, a qual coincide com a dose testada no tratamento UVB2. Os tratamentos UVB2 e UVB6 apresentam assim a mesma dose diária da radiação

UV-B, provenientes de irradiâncias diferentes. A irradiância do tratamento UVB2 é 100 $\mu\text{W cm}^{-2}$. As irradiâncias UV-B testadas, referidas anteriormente, correspondem às doses de irradiância apresentadas na Tabela 3.1.

O estudo do crescimento teve a duração de 7 dias (Nielsen & Ekelund, 1993). Para contagem do número de células foram colhidos cerca de 20 ml de amostra, como já referido, e para a determinação dos teores pigmentares foram colhidos 50 ml de amostra em cada aquário.

Tabela 3.1 – Exposição de *Isochrysis galbana* a intensidade constante de PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e irradiâncias crescentes de radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$), correspondentes a diferentes doses de exposição diária ($\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$).

Tratamentos	PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$)	UVB _{BE} ($\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	Duração da exposição diária (horas)	
				PAR	UV-B
Controlo (PAR)	55	0	0	16	0
UVB1	55	30	5,4	16	5
UVB2	55	100	18	16	5
UVB3	55	200	36	16	5
UVB4	55	300	54	16	5
UVB5	55	500	90	16	5
UVB6	55	500	18	16	1

3.2.3 Determinação dos teores pigmentares

A clorofila *a* constitui o principal pigmento fotossintético (Pérez & Romero, 2001). Os pigmentos secundários / acessórios à fotossíntese – carotenóides, por sua vez, absorvem

luz em comprimentos de onda distintos dos das clorofilas. Têm como função principal ampliar o espectro de absorção da luz/energia e transferi-la para a clorofila *a*, garantindo protecção e estabilização para o fotossistema II – fotossíntese (Falkowski & Raven, 1997). A clorofila *a* absorve maioritariamente comprimentos de onda do espectro electromagnético superiores a 600 nm, enquanto os pigmentos acessórios absorvem a comprimentos de onda inferiores, constituindo uma defesa natural à exposição à radiação UV. Os pigmentos acessórios são anti-oxidantes lipo-solúveis com forte capacidade para reagir e neutralizar as espécies reactivas de oxigénio, as quais apresentam uma forte capacidade de induzir danos a nível celular (Dunlap & Yammamoto, 1995). Por este motivo, a concentração de carotenóides aumenta nas células algais com a exposição à radiação (Quesada & Vincent, 1997).

Os feopigmentos, por sua vez, são resultantes da degradação das clorofilas, por acção da luz (Pérez & Romero, 2001). Geralmente, quando a concentração de clorofila *a* diminui, aumenta a de feopigmentos (Parsons *et al.*, 1984).

O método de análise dos pigmentos consistiu na espectrofotometria de absorção molecular. A concentração dos pigmentos fotossintéticos foi determinada após a filtração de 1 litro de amostra de água em filtros de fibra de vidro GF/F (Whatman), com dimensão nominal de poro de 0,7 µm. Após a filtração, os filtros foram colocados em tubos de ensaio fechados e protegidos da luz e armazenados a -20 °C, por um período inferior a 1 mês. Os filtros foram macerados e a extracção dos pigmentos foi efectuada com acetona refrigerada a 90% (10 a 12 ml/amostra) durante 24 horas, à temperatura ambiente e sob condições de total ausência de luz. Após a extracção, os filtros foram homogeneizados mecanicamente e

centrifugados (5000 rpm, 10 minutos), de modo a reduzir a turbidez e o valor de absorvância medido a 750 nm.

As concentrações de clorofila *a* e feopigmentos são dadas pelas seguintes expressões (Lorenzen, 1967):

$$\text{Clorofila } a (\mu\text{g} / \text{L}) = \frac{26,7 (A665_o - A665_a) \times v}{V \times l} \quad (3.1)$$

$$\text{Feopigmentos } (\mu\text{g} / \text{L}) = \frac{26,7 (1,7 (A665_a) - A665_o) \times v}{V \times l} \quad (3.2)$$

em que,

$A665_o$ - valor da absorvância a 665 nm (subtraído ao valor da absorvância a 750 nm) antes da acidificação;

$A665_a$ - valor da absorvância 665 nm (subtraído ao valor da absorvância a 750 nm) depois da acidificação;

v - volume de acetona usado em ml;

V - volume da amostra em litros (L);

l - percurso da luz na célula em cm.

A concentração de carotenóides é dada pela seguinte expressão (Jeffrey & Humphrey, 1975):

$$\text{Carotenóides } (\mu\text{g} / \text{L}) = \frac{7,6 (A480 - 1,49 A510) \times v}{V \times l} \quad (3.3)$$

em que $A480$, $A510$, $A630$, $A664$ e $A667$ correspondem aos valores das absorvâncias a 480, 510, 630, 664 e 667 nm, respectivamente.

Procedeu-se assim à determinação das concentrações de clorofila *a*, feopigmentos e carotenóides, pelos métodos anteriormente descritos. Procedeu-se ainda à determinação da razão entre a concentração de carotenóides e clorofila *a*, e da percentagem de degradação dos pigmentos, ao longo do tempo de exposição às diferentes doses de radiação testadas, de forma a verificar a resposta de adaptação / reparação aos danos causados pela exposição à radiação UV-B (Mora *et al.*, 2000).

3.2.4 Determinação das constantes de crescimento

Uma das medidas mais utilizadas no estudo do crescimento de uma cultura de microalgas é o aumento do número de células ao longo do tempo, ou seja, a concentração celular (Stein, 1988). No presente estudo a concentração celular foi determinada por contagem do número de células ao microscópio óptico e com o auxílio de uma câmara de contagem, um hemacitómetro com reticulado de Búker de 0,1 mm de profundidade.

A amostra colhida é fixada com três gotas de lugol e homogeneizada. Seguidamente, é introduzida uma pequena quantidade na câmara de contagem com o auxílio de uma pipeta Pasteur. A câmara e a lamela são previamente lavadas com água destilada e álcool a 90% e secas com papel absorvente, de modo a evitar eventuais resíduos, especialmente de gordura, que podem prejudicar a distribuição aleatória das células no reticulado (Stein, 1988).

Qualquer cultura de microorganismos cresce de modo que o incremento de células jovens é proporcional ao número de células que lhe deu origem, apresentando um crescimento do tipo exponencial (Stein, 1988). O desenvolvimento da população é traduzido pela equação diferencial:

$$dN / dt = K N \quad (3.4)$$

em que N é o número de células num determinado instante e K é a constante de crescimento ou razão de crescimento. K pode tomar o valor de K_{10} ou K_e , consoante a solução da equação anterior seja calculada em função dos logaritmos de base e ou base 10:

$$K_{10} = \frac{\log(N_t / N_0)}{t - t_0} \quad (3.5)$$

$$K_e = \frac{\ln(N_t / N_0)}{t - t_0} \quad (3.6)$$

K_{10} ou K_e exprimem o aumento do número de células num determinado período de tempo, ou seja, o acréscimo de substância celular por unidade de tempo.

A constante de crescimento pode ser também representada na escala logarítmica de base 2, que é a utilizada neste trabalho por ser considerada a mais correcta em culturas algais (Fogg, 1975). Esta constante, representada por K_2 , exprime o número de divisões por dia. Para maior compreensão, K_2 é calculada da seguinte forma:

$$K_2 \text{ (div./dia)} = 3,3322 \times K_{10} \quad (3.7)$$

A partir de K_2 é calculado o tempo de duplicação (T.D.) da cultura algal, o qual exprime o tempo necessário em dias para que ocorra uma divisão celular:

$$\text{T.D. (dias/div.)} = 1/K_2 \quad (3.8)$$

A constante de crescimento (K_2) e o tempo de duplicação da cultura (T.D.) permitem inferir sobre o estado fisiológico da mesma.

No presente estudo procedeu-se assim à determinação da concentração celular (número de células) ao longo do tempo de exposição aos diferentes tratamentos com radiação PAR e UV-B (Tabela 3.1). Procedeu-se também à determinação da constante de crescimento (eq. 3.7), a fim de se determinar a variação diária do número de divisões celulares e a partir deste valor calculou-se o tempo de duplicação - T.D. (eq. 3.8) da cultura, ou seja, o tempo necessário em dias para a ocorrência de uma nova divisão celular. Estes parâmetros permitem aferir o estado de crescimento da cultura.

O estudo do crescimento foi acompanhado da determinação dos teores pigmentares (clorofila *a*, carotenóides e feopigmentos), anteriormente descritos, procedimento aconselhável em estudos de crescimento de microalgas (Stein, 1988), tendo como intuito verificar a afectação fisiológica da cultura e a resposta de reparação aos danos resultantes da exposição à radiação.

3.2.5 Análise de dados

No estudo do crescimento, referente aos tratamentos com radiação PAR e PAR + UVB1 (irradiância UV-B de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$ constante durante 5 horas diárias), foram ajustados

modelos polinomiais de segunda ordem aos valores de concentração celular obtidos ao longo do tempo de exposição, utilizando o método dos mínimos quadrados para estimação dos parâmetros do modelo (Draper & Smith, 1981; Wittink, 1988). Efectuou-se a comparação dos modelos obtidos para cada um destes tratamentos, designadamente, PAR e PAR + UVB1, para aferir quanto à igualdade estatística dos mesmos. Para tal, foi utilizado o teste dos modelos encaixados, já descrito no segundo capítulo. Este teste é efectuado a grupos de coeficientes e envolve o cálculo de uma estatística que tem uma distribuição F , permitindo diagnosticar se dois ou mais modelos, constituídos por subgrupos de observações, diferem significativamente. A aplicação deste teste envolve a construção de uma hipótese alternativa, referente a um modelo constituído pelo número total de parâmetros a serem comparados, em que se testa a desigualdade de grupos de coeficientes (H_0 : β_1 do modelo1 \neq β_1 do modelo 2) contra a hipótese nula de igualdade dos mesmos (H_1 : β_1 do modelo1 = β_1 do modelo 2). A estatística do teste é dada pela equação 2.12, apresentada no capítulo anterior. A decisão do teste consiste em rejeitar H_0 se a estatística F obtida for superior a $F_{a,b}(\alpha)$, sendo $a = (gl(SQE_{H_0}) - gl(SQE_{H_1}))$ e $b = SQE_{H_1}$ (Draper & Smith, 1981; Dunteman, 1984; Daniel, 1987; Wittink, 1988), tal como já descrito. Todo o procedimento estatístico foi efectuado no programa *Statistica* para *Windows* (StatSoft, Inc).

Nos tratamentos com doses crescentes de irradiância UV-B que não revelaram crescimento da cultura algal, procedeu-se ao estudo da inibição do crescimento. Neste caso, procedeu-se ao estudo de toxicidade da radiação UV-B em *I. galbana*. Pretendeu estimar-se uma curva de toxicidade da radiação UV-B para a espécie em estudo. Para tal, foram aplicados conceitos e técnicas utilizados nos estudos de toxicologia aquática. Neste contexto, foi determinada a dose de radiação biologicamente efectiva – UVB_{BE} responsável pela

inibição do crescimento de 50% da cultura de *I. galbana* em cada dia de exposição, a qual é representada por $UVB_{BE}(50)$.

Analogamente, foi determinado o tempo efectivo necessário em cada tratamento (cada dose testada) para que se verifique 50% de inibição do crescimento da alga, representado por $TE(50)$. Este estudo foi também acompanhado da determinação dos teores pigmentares, anteriormente referidos.

No estudo da toxicidade da radiação UV-B para *I. galbana* foi necessário utilizar a transformação das variáveis em estudo, tendo-se utilizado o *probit* da inibição do crescimento da microalga (%) *versus* o logaritmo na base 10 da dose de radiação. Esta aplicação está descrita em Abel & Axiak (1991) e Newman (1995) e as vantagens que dela advêm foram devidamente estudadas por Bliss (1935).

Os valores de $UVB_{BE}(50)$ e $TE(50)$ foram estimados com a aplicação de técnicas da regressão linear simples, tendo sido ajustado um modelo exponencial negativo para explicar a curva de toxicidade de $UVB_{BE}(50)$. Este procedimento foi efectuado numa folha de cálculo do programa *Excel* para *Windows* (Microsoft®).

3.3 RESULTADOS

A variação da concentração celular, expressa em número de células / ml e em percentagem, de *I. galbana* em função do tempo de exposição (em dias), para cada tratamento alvo de estudo (ver Tabela 3.1) é apresentada, respectivamente, nas Figura 3.3 e 3.4.

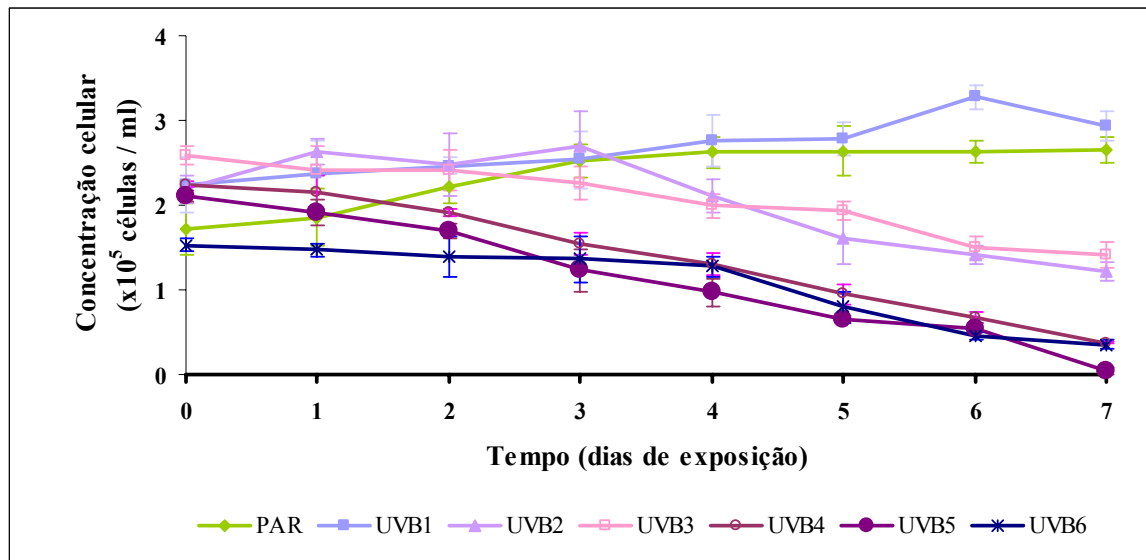


Figura 3.3 – Variação da concentração celular (número de células / ml) de *Isochrysis galbana* em função do tempo de exposição (dias) à radiação PAR (controlo experimental, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e à radiação PAR com doses crescentes de radiação UV-B (UVB1 = $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$).

Da observação desta figura verifica-se o crescimento de *I. galbana* quando exposta aos tratamentos PAR e UVB1. Em contrapartida, nos restantes tratamentos, com doses crescentes de radiação UV-B, incluindo o tratamento UVB6 (mesma irradiância de UVB5, mas irradiada apenas durante 1 hora), as culturas de *I. galbana* não revelam crescimento após o primeiro dia de exposição.

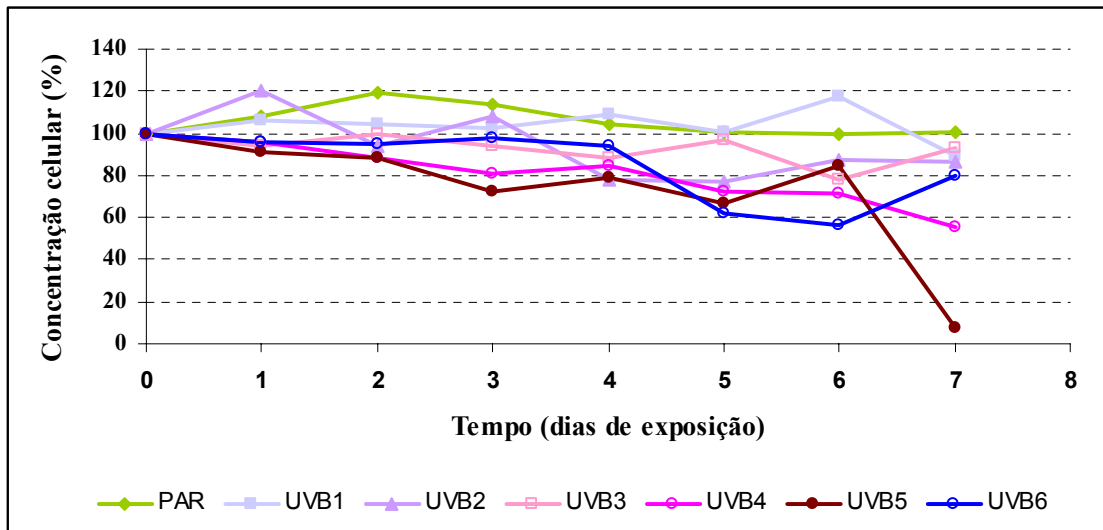


Figura 3.4 – Variação da concentração celular (percentagem) de *Isochrysis galbana* em função do tempo de exposição (dias) à radiação PAR (controlo experimental, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e à radiação PAR com doses crescentes de radiação UV-B (UVB1 = $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$).

A fim de facilitar a interpretação dos resultados procede-se à divisão do estudo do crescimento de *I. galbana* em duas vertentes, uma referente aos tratamentos em que foi verificado crescimento da cultura (PAR e UVB1) e outra, referente aos tratamentos em que não foi verificado crescimento (UVB2, UVB3, UVB4, UVB5 e UVB6). Nestes últimos procedeu-se ao estudo da inibição do crescimento de *I. galbana* exposta às diferentes doses de radiação UV-B (referidas anteriormente), sendo a menor dose testada a correspondente aos tratamentos UVB2 e UVB6 (ambas correspondem a $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) e a maior dose correspondente ao tratamento UVB5 ($90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), tal como exposto na Tabela 3.1.

3.3.1 Estudo do crescimento

A fim de facilitar a comparação do crescimento da cultura de *I. galbana* exposta à dose de radiação UV-B de $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (tratamento UVB1) com a exposta apenas à radiação PAR, transformaram-se as concentrações celulares, expressas em número de células / ml, em crescimento celular expresso em percentagem. A variação ao longo do tempo de exposição (em dias) está representada na Figura 3.5.

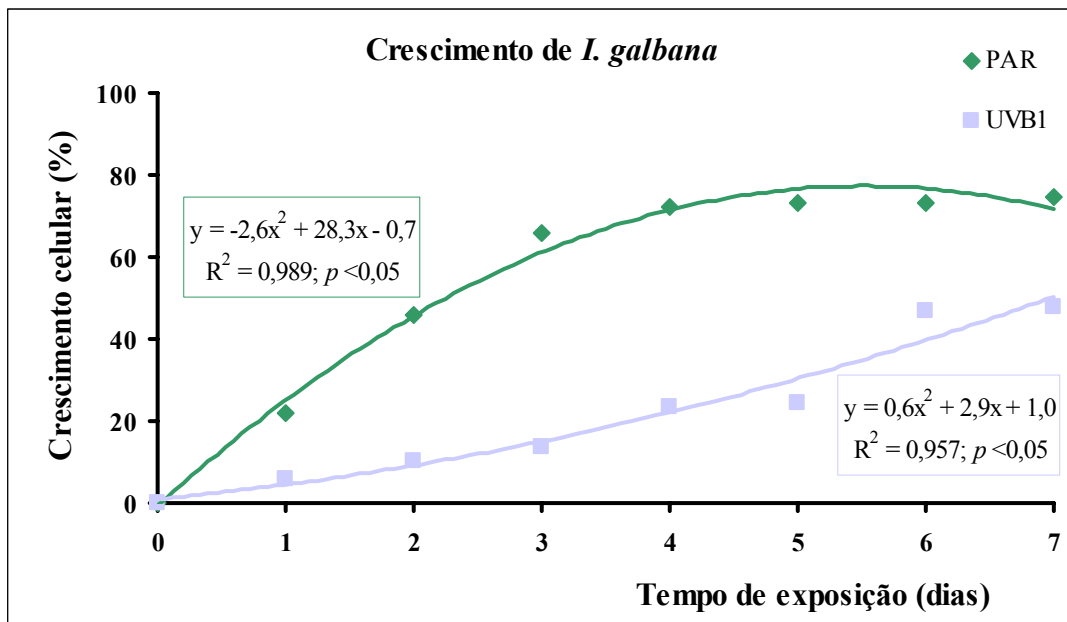


Figura 3.5 – Representação gráfica dos modelos estimados para relacionar o aumento da concentração celular (%) de *Isochrysis galbana* com o tempo de exposição a condições artificiais de luminosidade nos tratamentos PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, durante 16 horas diárias) e UVB1 ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, durante 16 horas diárias de PAR + $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas diárias de UV-B).

Nesta figura estão também representadas as curvas ajustadas pelos modelos polinomiais de segunda ordem estimados para relacionar o crescimento celular (em percentagem) com o tempo de exposição (em dias) para cada tratamento. Com vista a aferir quanto à igualdade

estatística destes dois modelos foi utilizado o teste dos modelos encaixados. Da sua aplicação obteve-se o valor de $F = 355,96$. Como este valor é superior ao valor de F tabelado ($F_{2,11} (p<0,05) = 5,26$), rejeitou-se a hipótese nula do teste, concluindo-se então que os modelos estimados são significativamente diferentes. Por comparação das curvas ajustadas por estes modelos, confirma-se que o crescimento de *I. galbana* sofre, desde o primeiro dia de exposição, uma ligeira redução no crescimento quando exposta à dose de radiação UV-B testada no tratamento UVB1 ($5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), comparativamente com a razão de crescimento obtida na cultura exposta apenas à radiação PAR (Fig. 3.5).

A diferença no crescimento de *I. galbana* na ausência da radiação UV-B (tratamento PAR) e em presença desta gama de radiação (tratamento UVB1) é evidenciada na Figura 3.6, onde estão representadas as variações das razões de crescimento em função do tempo de exposição (K_2) (Fig. 3.6a) e do tempo necessário para a ocorrência de uma nova divisão celular (T.D.) (Fig. 3.6b).

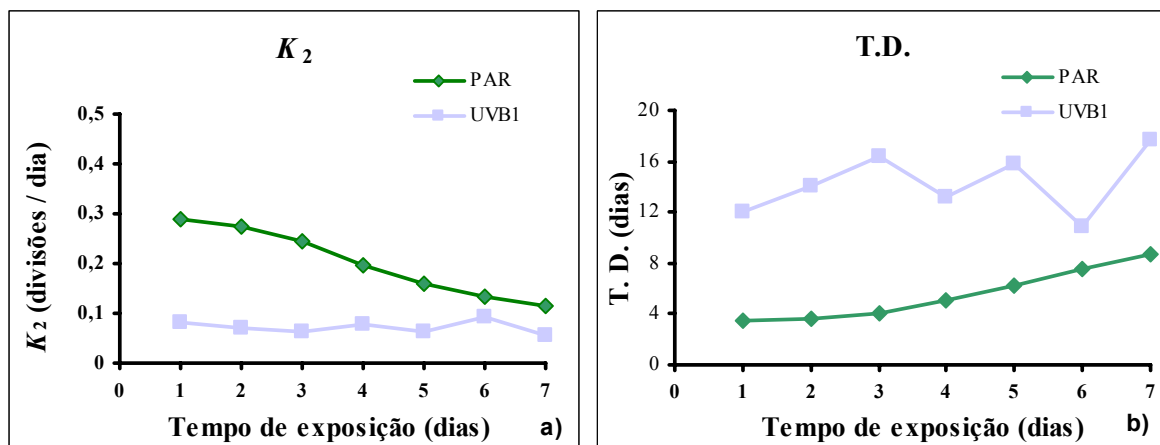


Figura 3.6 – Crescimento de *Isochrysis galbana* exposta à radiação PAR (tratamento PAR, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, durante 16 horas por dia) e à radiação PAR + UV-B (tratamento UVB1, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, durante 16 horas diárias de PAR + $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas diárias de UV-B): (a) variação da razão de crescimento da concentração celular em função do tempo de exposição; (b) Variação do tempo (em dias) necessário para ocorrência de uma divisão celular (T. D.).

Na Figura 3.6a verifica-se que a razão de crescimento (K_2) da cultura exposta unicamente à radiação PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas por dia) é sempre superior à da cultura exposta conjuntamente à menor irradiância UV-B testada ($30 \mu\text{W cm}^{-2}$), cuja dose é de $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ – tratamento UVB1. No tratamento só com PAR esta razão diminui gradualmente ao longo do tempo de exposição. Em contrapartida, no tratamento UVB1, K_2 parece manter-se constante ao longo do tempo de exposição. Na Figura 3.6b verifica-se que T.D. é cerca de 3 vezes superior no tratamento UVB1, relativamente ao tratamento só com PAR. Repare-se que T.D. aumenta continuamente ao longo do tempo de exposição da cultura no tratamento com PAR e até ao 3º dia de exposição na cultura do tratamento UVB1. Neste tratamento T.D. sofre oscilações crescentes a partir do 3º dia de exposição.

Na Figura 3.7 são apresentadas as variações dos teores pigmentares de *I. galbana* em função do tempo de exposição (em dias) para cada tratamento (PAR e UVB1). No tratamento PAR, ao fim do 3º dia de exposição, a produção de clorofila *a* triplica (Fig. 3.7a) e de carotenóides quadruplica (Fig. 3.7b), continuando a aumentar a produção destes pigmentos (em percentagem) até ao fim do tempo total de exposição (7 dias).

Comparativamente ao tratamento PAR, no tratamento UVB1 é detectada uma forte redução na produção da clorofila *a* (Fig. 3.7a) e de carotenóides (Fig. 3.7b). Repare-se na ligeira degradação de carotenóides logo a partir do 1º dia de exposição. De facto, a degradação dos pigmentos fotossintéticos é comprovada pela produção de feopigmentos a partir do 1º dia de ensaio (Fig. 3.7c). A cultura revela cerca de 80% de degradação dos pigmentos fotossintéticos logo no 1º dia de exposição a esta dose de radiação ($5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Necessário será realçar que embora a produção de clorofila *a* e carotenóides seja relativamente reduzida no tratamento UVB1, a cultura de *I. galbana* continua a revelar

crescimento neste tratamento (Fig. 3.3 e 3.4). No tratamento exclusivo com radiação PAR, não houve produção de feopigmentos e a produção dos pigmentos fotossintéticos, ou seja, tanto de clorofila *a* como de carotenóides, foi crescente ao longo dos dias de exposição.

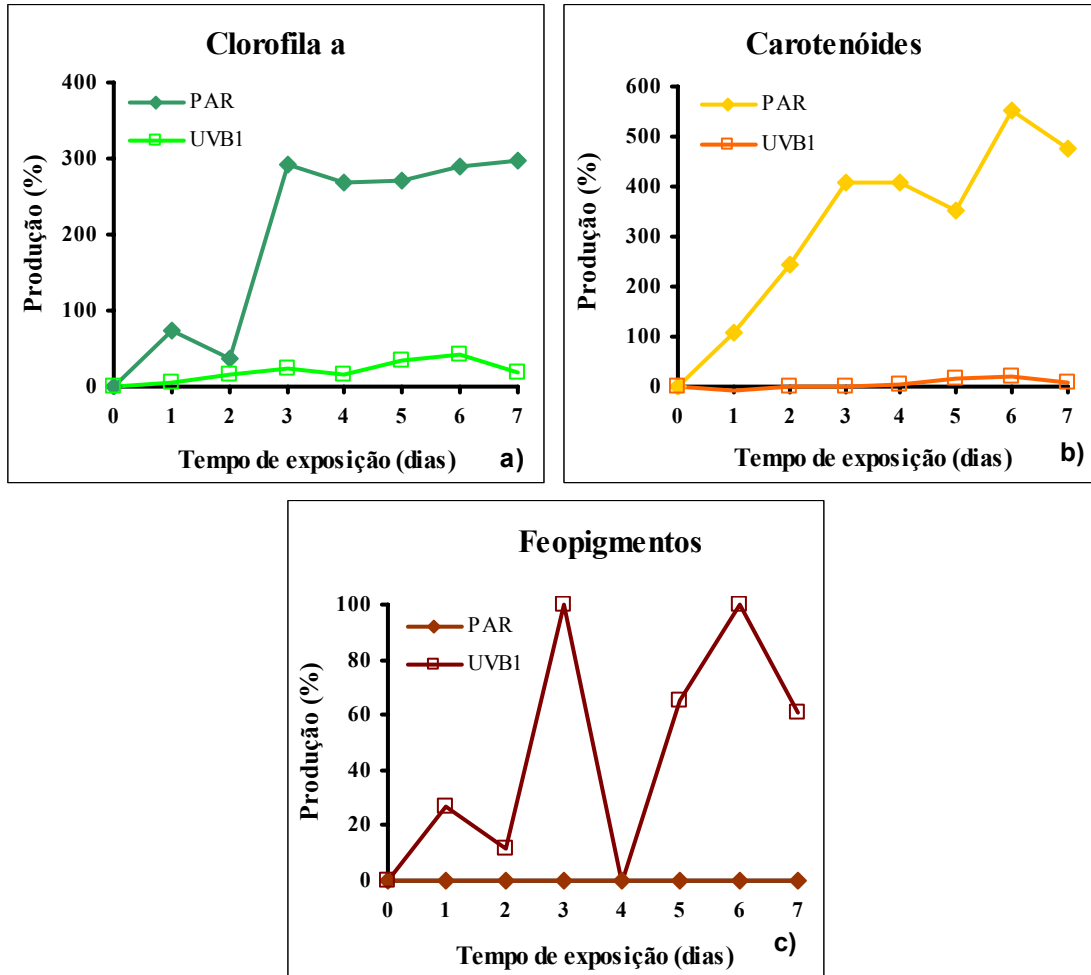


Figura 3.7 – Variação da quantidade de pigmentos de *Isochrysis galbana*, representada por produção, em percentagem (%), em função do tempo de exposição nos tratamentos PAR ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas por dia) e UVB1 ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante 16 horas diárias de PAR + $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas diárias de UV-B): (a) Clorofila *a*; (b) Carotenóides; (c) Feopigmentos.

3.3.2 Inibição do crescimento

Analogamente ao procedimento anterior, utilizaram-se as percentagens de inibição do crescimento (mortalidade) de *I. galbana* exposta a diferentes doses de radiação UV-B ao longo do tempo de exposição. Esta transformação visou facilitar a interpretação dos resultados obtidos. Desta forma, na Figura 3.8 é apresentada a variação, em percentagem, da inibição do crescimento em função do tempo de exposição (Fig. 3.8a) e da dose de radiação UV-B (Fig. 3.8b).

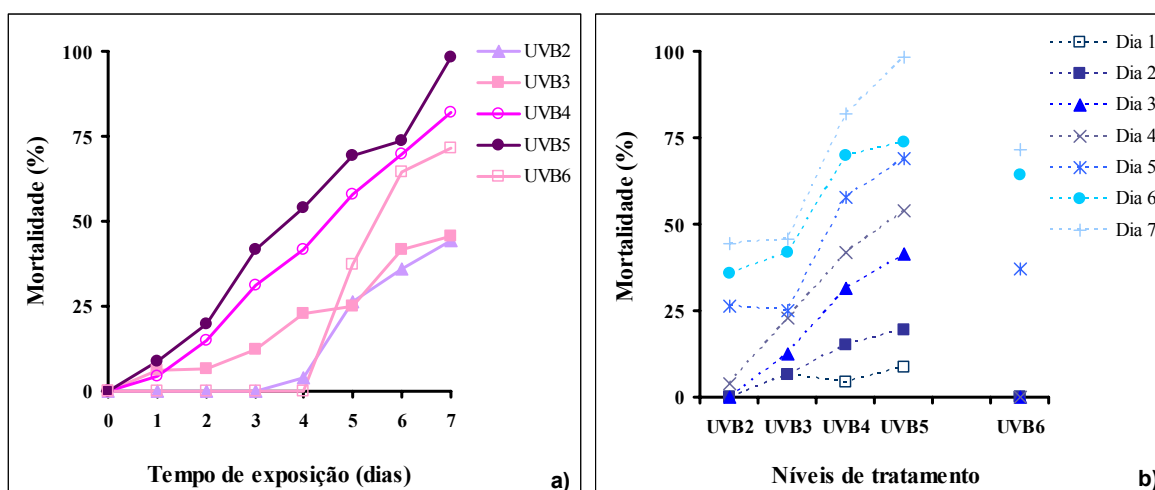


Figura 3.8 – Variação, em percentagem (%), da inibição média do crescimento de *Isochrysis galbana*: (a) em função do tempo de exposição, em dias, aos diferentes tratamentos com radiação UV-B (UVB2, UVB3, UVB4, UVB5 e UVB6), em que UVB2 a UVB5 correspondem a 5 horas de exposição por dia e UVB6 corresponde a 1 hora de exposição por dia, motivo pelo qual a variação obtida neste tratamento é representado à parte dos restantes; (b) em função da dose crescente de radiação UV-B (UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$).

Na Figura 3.8a verifica-se que a inibição do crescimento (em percentagem) de *I. galbana* aumenta com o tempo de exposição e com a irradiância testada. No entanto, a variação da inibição do crescimento ao longo do tempo nos tratamentos UVB2 e UVB6 parece diferir dos restantes tratamentos. Nos tratamentos UVB2 e UVB6 a inibição do crescimento

(mortalidade) só começa a ser detectada a partir do 4º dia de ensaio, sendo a inibição no tratamento UVB6 mais acentuada que a observada no tratamento UVB2. Neste último tratamento, a cultura apresenta crescimento até ao 3º dia de exposição, se bem que relativamente reduzido. Na Figura 3.8b é confirmado o aumento gradual da mortalidade de *I. galbana* em função do tempo de exposição para cada dose de radiação UV-B testada. Note-se que a percentagem de mortalidade de *I. galbana* no tratamento UVB6 é sempre superior, a partir do 5º dia de exposição, inclusive, à obtida no tratamento UVB3, ou seja, a percentagem de mortalidade desta microalga é superior na exposição a $500 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 1 hora por dia, que a obtida com a exposição de $200 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 5 horas por dia.

A inibição do crescimento desta espécie, provocada pela exposição a diferentes irradiancias UV-B, é evidenciada na Figura 3.9.

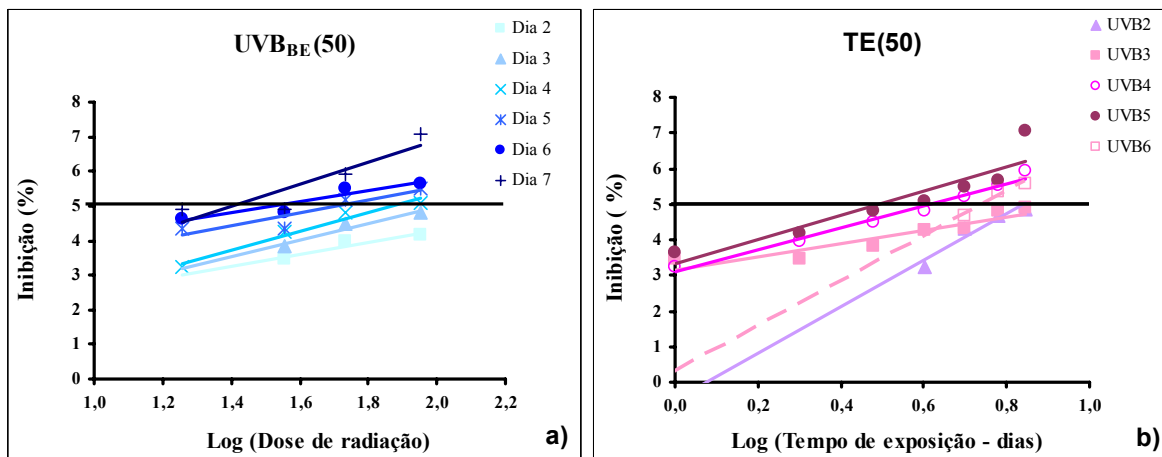


Figura 3.9 – Percentagem de inibição do crescimento de *Isochrysis galbana* em função: (a) do logaritmo na base 10 da dose de radiação ($\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$), para determinação de $\text{UVB}_{\text{BE}}(50)$; (b) do logaritmo na base 10 do tempo de exposição em dias, para determinação de $\text{TE}(50)$. A inibição do crescimento de 50% da cultura da microalga, assinalada graficamente, corresponde ao valor 5,0 na escala de *probits*.

Nesta figura é apresentada a transformação *probit* da inibição do crescimento, em percentagem, em função do logaritmo (base 10) das irradiâncias testadas (Fig. 3.9a) e do logaritmo (base 10) do tempo de exposição em dias (Fig. 3.9b). Nas Figuras 3.9a e 3.9b estão representadas rectas ajustadas pela aplicação da regressão linear simples aos dados mencionados anteriormente. Todas as rectas são significativas com valores de R^2 relativamente elevados ($R^2 \geq 0,79$, $p < 0,05$). A aplicação da regressão linear simples permite estimar a dose $UVB_{BE}(50)$ para cada dia de exposição (Fig. 3.9a) e o valor de T.E. (50) para cada dose testada (Fig. 3.9b). Os respectivos valores estimados de $UVB_{BE}(50)$ e $TE(50)$ são apresentados nas Tabela 3.2 e Tabela 3.3, respectivamente.

Tabela 3.2 – Radiação UV-B biologicamente efectiva para a inibição do crescimento de 50% da cultura [$UVB_{BE}(50)$] de *Isochrysis galbana* em cada dia de exposição.

Tempo de exposição (dias)	$UVB_{BE}(50)$ ($KJ\ m^{-2}\ d^{-1}$)
1	—
2	251,4
3	101,9
4	67,1
5	51,4
6	33,8
7	25,6

Tabela 3.3 – Tempo efectivo necessário para inibição do crescimento de 50% [$TE(50)$] da cultura de *Isochrysis galbana*, determinado para cada dose de tratamento com radiação UV-B.

Dose de radiação UV-B ($KJ\ m^{-2}\ d^{-1}$)	$TE(50)$
UVB2 – 18	5
UVB3 – 36	7
UVB4 – 54	4
UVB5 – 90	3
UVB6 – 18*	6
* durante 1 hora de exposição	

As doses $UVB_{BE}(50)$ estimadas diminuem com o tempo de exposição, correspondendo a dose $UVB_{BE}(50)$ de $25,6 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ a 7 dias de exposição de *I. galbana* (Tabela 3.2). Também os valores de $TE(50)$ diminuem com o tempo de exposição (Tabela 3.3). No entanto, o valor estimado de $TE(50)$ para a dose do tratamento UVB3 – 7 dias, é superior ao valor estimado de $TE(50)$ para uma dose inferior, do tratamento UVB2 – 5 dias. Também o valor de $TE(50)$ para a dose do tratamento UVB6 (6 dias) é inferior ao $TE(50)$ obtido com a dose do tratamento UVB3 – 7 dias, e é superior ao valor de $TE(50)$ obtido com a dose do tratamento UVB4 – 4 dias. Note-se que o valor de $TE(50)$ do tratamento UVB6 acresce 1 dia ao obtido para o tratamento UVB2, ambos correspondem à dose de $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ de radiação UV-B, diferindo o tempo diário de tratamento (UVB2 – 5 horas por dia e UVB6 – 1 hora por dia).

A partir dos dados apresentados na Tabela 3.2 foi ajustada uma curva de toxicidade da dose de UVB_{BE} para a espécie em estudo, utilizando um modelo exponencial (Figura 3.10). Da análise deste modelo resulta uma dose limite acima da qual é verificada a inibição mínima de 50% da cultura desta espécie em apenas 1 dia de exposição (durante 5 horas). Esta dose corresponde a $790,7 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. A dose de $25,9 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ é capaz de induzir a inibição de 50% da população de *I. galbana* ao fim de 7 dias de exposição. Verifica-se que ao fim de 4 dias de exposição (durante 5 horas por dia) a $69 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ocorre 50% de inibição do crescimento. De uma forma geral, poder-se-á sugerir que as doses testadas de radiação UV-B inibem o crescimento de *I. galbana*, podendo mesmo levar a espécie à “extinção” num único dia de exposição, quando em presença de doses superiores a $790,7 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

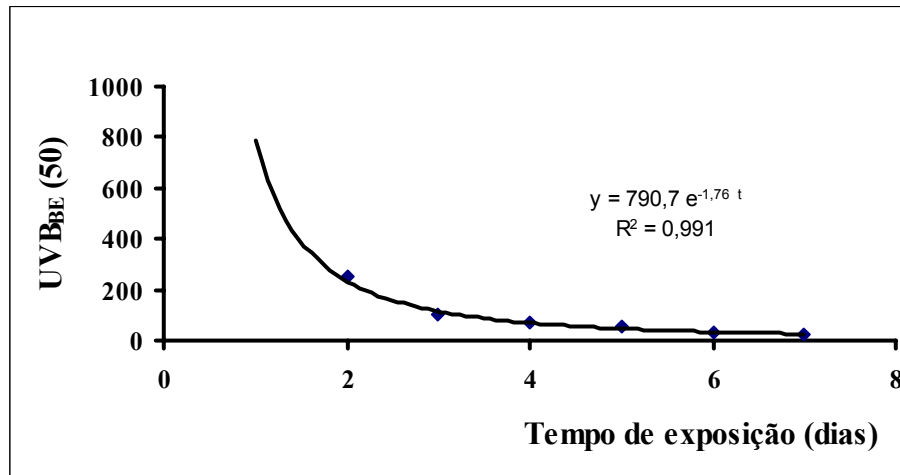


Figura 3.10 – Curva de toxicidade da radiação UV-B para *Isochrysis galbana*, ajustada por um modelo exponencial que relaciona as doses biologicamente efectivas de inibição do crescimento de 50% da cultura – UVB_{BE}(50), com o tempo de exposição, em dias.

Na Figura 3.11 é apresentada a variação da produção *versus* degradação, em percentagem, de clorofila *a* das culturas de *I. galbana* expostas às diferentes doses de radiação em ensaios que manifestaram inibição do crescimento desta microalga (UVB2 – UVB6). De uma forma geral, constata-se a destruição da clorofila *a* em todos os tratamentos com a exposição à radiação UV-B, ao fim do tempo de exposição dos ensaios (7 dias). No fim do 1º dia de ensaio e em todos os tratamentos e até ao fim do 2º dia nos tratamentos com doses de radiação mais reduzidas, nomeadamente, nos tratamentos UVB2, UVB3 e UVB6, ocorre produção de clorofilas, sendo a produção tanto maior quanto menor é a dose testada.

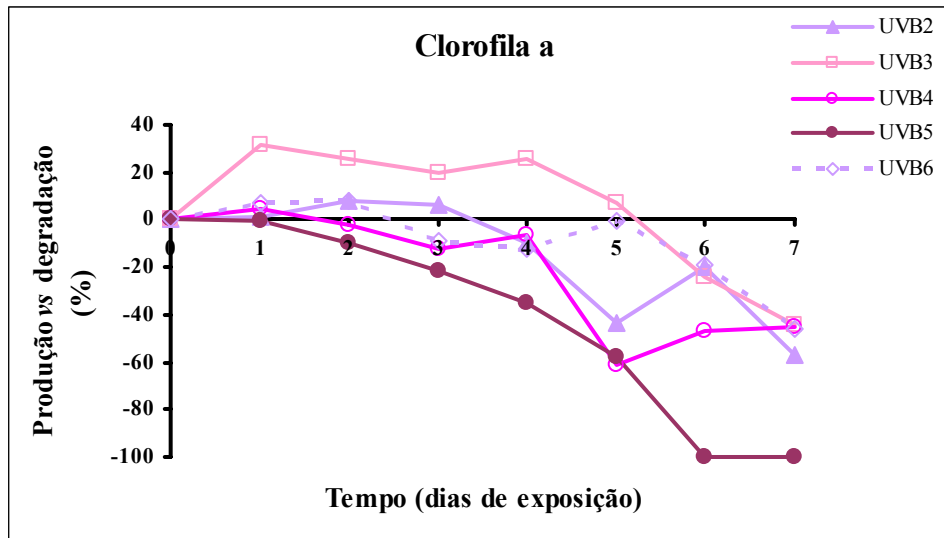


Figura 3.11 – Variação do teor de clorofila *a*, em percentagem, representada por produção ou degradação, em função do tempo de exposição nos tratamentos com doses crescentes de radiação UV-B que revelaram inibição do crescimento de *Isochrysis galbana* (UVB2 = UVB6 = 18 KJ m⁻² d⁻¹, UVB3 = 36 KJ m⁻² d⁻¹, UVB4 = 54 KJ m⁻² d⁻¹ e UVB5 = 90 KJ m⁻² d⁻¹).

Ao longo dos dias de exposição e com o aumento da dose de radiação UV-B, a produção de clorofila *a* deixa de existir. Nos tratamentos UVB4 e UVB5 a clorofila *a* é degradada mais rapidamente que nos restantes tratamentos, visto que começa a ser degradada logo no 2º dia de exposição. O tratamento UVB2 revela produção de clorofila *a* até ao 3º dia de exposição, inclusive. A partir do 4º dia de exposição, a clorofila começa a ser degradada neste tratamento, recuperando ligeiramente ao fim do 6º dia, e voltando a reduzir no 7º dia. A cultura exposta ao tratamento UVB3 destaca-se das restantes, por apresentar produção de clorofila *a* até ao 5º dia de exposição. Contudo, este padrão é inverso ao obtido para os carotenóides (Fig. 3.11), pois no 2º dia de exposição a respectiva degradação destes pigmentos é superior à do tratamento UVB4. A produção de clorofila *a* no tratamento UVB3 foi a maior detectada nos tratamentos com inibição do crescimento de *I. galbana*.

No que se refere aos carotenóides (Fig. 3.12), e à semelhança da clorofila *a*, todos os tratamentos com inibição do crescimento de *I. galbana* apresentam produção de pigmento

ao fim do 1º dia de exposição dependente das respectivas doses. No 2º dia de exposição apenas os tratamentos UVB2 e UVB6 continuam a apresentar produção. Os restantes tratamentos com a radiação UV-B apresentam destruição dos carotenóides a partir do 2º dia de exposição, sendo esta destruição também mais acentuada no tratamento com a maior dose de radiação UV-B testada – UVB5. Neste tratamento, a concentração de carotenóides é nula ao fim do 6º dia de exposição. Nos restantes tratamentos os carotenóides ainda estão presentes ao fim do 7º dia de exposição, embora em quantidades mínimas, comparativamente às obtidas, respectivamente, ao longo dos ensaios.

Ao fim dos 7 dias de exposição é assim notória a forte degradação dos pigmentos, sobretudo no tratamento UVB5, em que ambos os pigmentos (clorofilas *a* e carotenóides) estão completamente degradadas, sendo as respectivas concentrações nulas logo desde o fim do 6º dia de exposição.

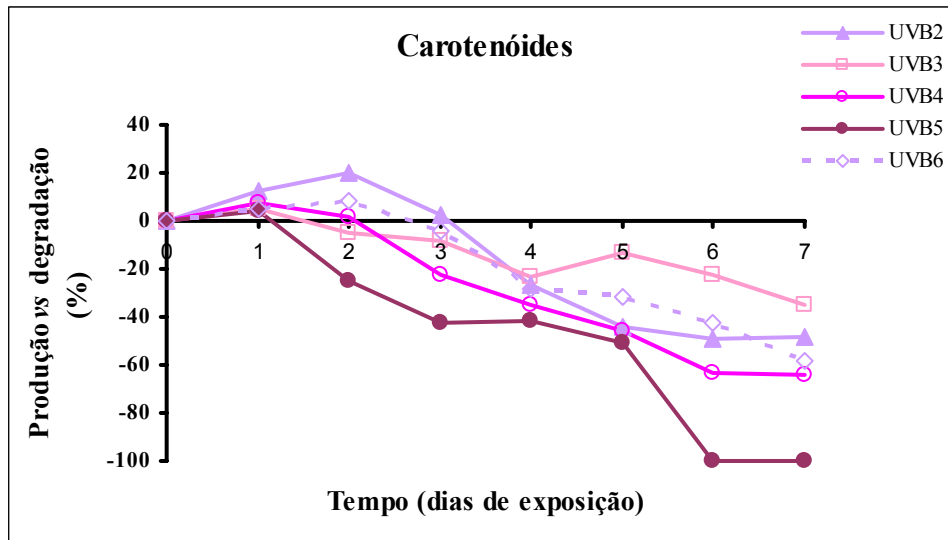


Figura 3.12 – Variação do teor de carotenóides, em percentagem, representada por produção ou degradação, em função do tempo de exposição nos tratamentos com doses crescentes de radiação UV-B que revelaram inibição do crescimento de *Isochrysis galbana* (UVB2 = UVB6 = $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB3 = $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, UVB4 = $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e UVB5 = $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$).

Quanto à razão entre as concentrações de carotenóides e clorofila *a* (Fig. 3.13), constata-se um aumento ao fim do 7º dia de exposição, o qual dispara no tratamento UVB4. Relembre-se que no tratamento com a maior dose de radiação testada – UVB5 a concentração de carotenóides foi nula ao fim do 6º dia de exposição.

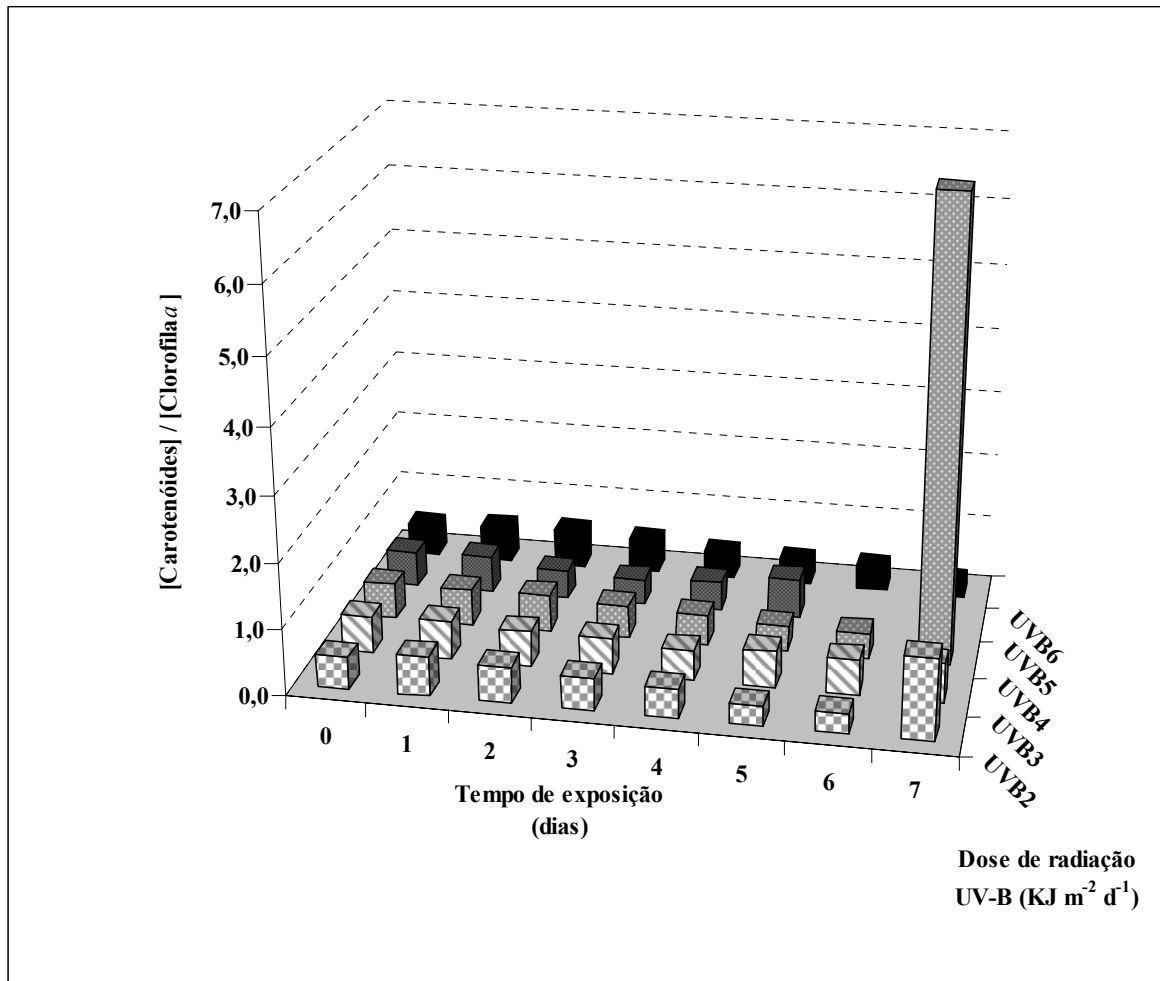


Figura 3.13 – Variação da razão entre as concentrações de carotenóides e clorofila *a* de *Isochrysis galbana* exposta a doses crescentes de radiação UV-B (UVB2 = 18 KJ m⁻² d⁻¹, UVB3 = 36 KJ m⁻² d⁻¹, UVB4 = 54 KJ m⁻² d⁻¹ e UVB5 = 90 KJ m⁻² d⁻¹), ao longo do tempo de exposição (7 dias).

Numa análise comparativa são apresentadas as variações das concentrações de clorofila *a* e carotenóides obtidas nos tratamentos UVB5, UVB6 e UVB2 (Fig. 3.14). Pretende-se comparar os resultados obtidos com a exposição à mesma irradiância, que é máxima no presente trabalho (500 μW cm⁻²), variando a duração diária do tempo de exposição, através da comparação dos resultados obtidos em UVB5 (5 horas) e UVB6 (1 hora). Analogamente, pretendeu-se comparar os resultados obtidos da exposição à mesma dose de radiação UV-B (18 KJ m⁻² d⁻¹), com origem em irradiâncias e duração de tempo de exposição diferentes, UVB 2 e UVB6.

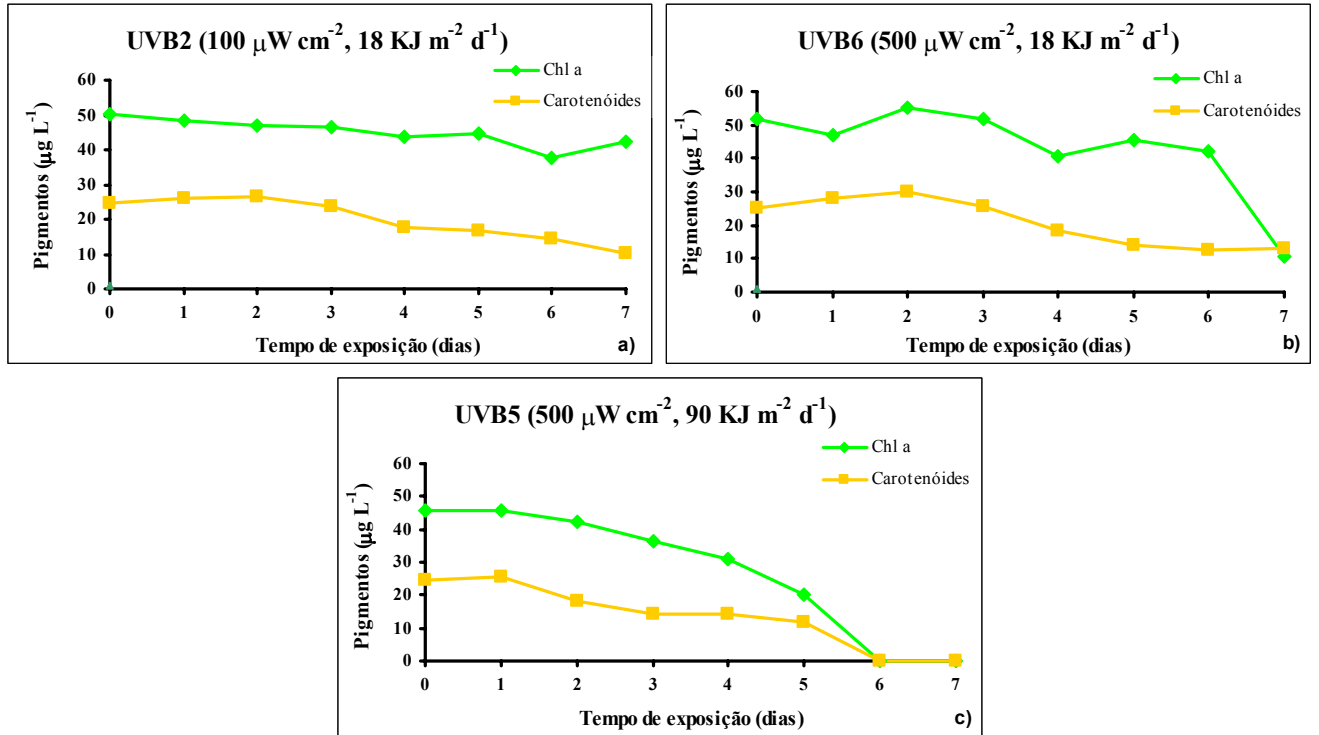


Figura 3.14 – Variação dos teores pigmentares de clorofila *a* e carotenóides nas culturas de *Isochrysis galbana* expostas à dose de radiação UV-B de: (a) 18 $\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, irradiância de 100 $\mu\text{W cm}^{-2}$ durante 5 horas por dia; (b) 18 $\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, irradiância de 500 $\mu\text{W cm}^{-2}$ durante 1 hora por dia; (c) 90 $\text{KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, irradiância de 500 $\mu\text{W cm}^{-2}$ durante 5 horas por dia.

Da observação das Figuras 3.14a e 3.14b, verifica-se que nos tratamentos UVB5 e UVB6 a concentração de clorofila *a* na cultura de *I. galbana* decresce com o tempo de exposição, aumentando a concentração de carotenóides, embora ligeiramente, até ao fim do 2º dia de exposição no tratamento UVB6. No tratamento UVB2 a produção de clorofila *a* mantém-se até ao fim do 7º dia de exposição (Fig. 3.14a). No tratamento UVB6, com maior irradiância incidente durante 1/5 do tempo de UVB2, esta produção decresce substancialmente no 7º dia de exposição. No tratamento UVB5 ocorre degradação total dos pigmentos ao fim de 6 dias de ensaio (Fig. 3.14c).

3.4 DISCUSSÃO

A radiação UV-B é um factor importante de regulação da vida aquática (Mora *et al.*, 2000). O fitoplâncton marinho constitui a componente principal dos maiores ecossistemas, constituindo a base das cadeias tróficas marinhas. Qualquer redução, por pequena que seja, da capacidade fotossintética do fitoplâncton, devido ao aumento de incidência da radiação UV-B, pode ser propagada aos níveis tróficos superiores (Hessen *et al.*, 1997; Williamson & Zagarese, 2003).

Em condições naturais, o fitoplâncton necessita de estar junto à superfície da água para receber a energia solar necessária para a fotossíntese. No entanto, muitas espécies não conseguem tolerar a radiação ultravioleta e a luz visível que atingem a superfície da água e são rapidamente danificadas pela acção destas radiações. Para evitarem os excessos de radiação, algumas espécies migram na coluna de água. Por vezes, esta fuga acaba por não resultar em benefício, dado que a radiação afecta também a motilidade, a mobilidade, a velocidade de natação e a orientação de alguns organismos fitoplanctónicos (Häder & Häder, 1988; Ekelund, 1992; Gerber & Häder, 1995). Este cenário dá origem à fotoinibição da produtividade primária, base das cadeias tróficas marinhas. Em sistemas costeiros pouco profundos, a probabilidade de ocorrência de impactes negativos sobre as espécies pode ser ainda maior, devido à eventual redução da possibilidade de fuga.

A espécie fitoplanctónica *I. galbana* foi alvo de estudo por ser uma espécie com interesse na indústria de aquacultura e por ser representativa de um grupo de organismos que constituem a base das cadeias tróficas da Ria Formosa. Tal como outros autores (DuRand

& Olson, 1996; Ohi *et al.*, 2006), considera-se pertinente a realização de ensaios com células de tamanho similares de nanoplâncton, as quais contribuem fortemente para a caracterização das propriedades ópticas da água. Pretendeu-se com o presente estudo avaliar o efeito da exposição desta espécie a intensidades crescentes de radiação UV-B, incluindo a irradiância média detectada nos primeiros centímetros (até 50 cm) de profundidade deste sistema lagunar. Os valores da irradiância UV-B testados estão dentro do intervalo de valores utilizados em ensaios laboratoriais que visam determinar os impactes da radiação UV-B sobre espécies de fitoplâncton marinho, associado ao fenómeno da redução do ozono estratosférico (Cordi *et al.*, 2001; Lnage & Lüring, 2003; Poppe *et al.*, 2003; Schönwälder *et al.*, 2003; Holzinger *et al.*, 2004; Holzinger & Lütz, 2006; Holzinger *et al.*, 2006), sendo as doses de exposição também semelhantes às utilizadas em estudos análogos, realizados no estuário do Rio Quempillen, no Chile (Gómez *et al.*, 2005). De acordo com este estudo, doses diárias de irradiância UV-B entre 44 e 48 KJ m⁻² d⁻¹ são responsáveis pela afectação da capacidade fotossintética de algas vermelhas do género *Gracilaria*, afectando mesmo a capacidade de reparação do dano após o período de exposição.

Constatou-se que nos tratamentos com PAR e UVB1 a cultura de *I. galbana* cresceu. Nos tratamentos UVB2 a UVB6 houve inibição do crescimento desta espécie (Figs. 3.3 e 3.4). O crescimento de *I. galbana* exposta apenas à radiação PAR, que constituiu o controlo experimental, revelou ser do tipo hiperbólico, caracterizado por um crescimento relativamente acelerado nos primeiros dias, tendendo para a saturação da cultura a partir do 4º dia de ensaio (Fig. 3.5). Neste tratamento são encontradas as maiores razões de crescimento, dado que ocorre um rápido aumento no número de células, resultante da produção de mais material celular, capaz de se duplicar em intervalos de tempo sucessivos

(Stein, 1988). A cultura cresce assim rapidamente nos primeiros dias e tende para uma fase estacionária ao fim do 4º dia de exposição, o que é evidenciado pela variação da razão de crescimento com o tempo de exposição (Fig. 3.6).

Quando exposta à menor dose de radiação UV-B testada, ou seja, de $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (tratamento UVB1), a cultura de *I. galbana* não apresenta o mesmo tipo de crescimento que o encontrado no tratamento realizado apenas com a radiação PAR. Em presença desta dose de radiação UV-B o crescimento não é tão acelerado como o obtido no tratamento exclusivo com a radiação PAR (controlo). No tratamento UVB1 (PAR durante 16 horas por dia + UV-B a $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ durante 5 horas por dia) verificou-se que a partir do 4º dia de ensaio, a razão de crescimento da cultura sofre um ligeiro acréscimo (Fig. 3.5). Estes resultados podem indicar que a cultura oferece uma certa resistência/adaptação à radiação UV-B. Acrescente-se, de acordo com Beardall *et al.* (1997), que a própria radiação PAR poderá influenciar a recuperação pigmentar após a exposição à radiação ultravioleta, tal como procedido.

Acompanhando o estudo do crescimento de *I. galbana* com a determinação dos teores pigmentares, constatou-se que, na cultura exposta apenas à radiação PAR, o crescimento evoluiu em função da produção pigmentar, ou seja, as concentrações de clorofila *a* e carotenóides aumentam com o tempo de exposição (Figs. 3.7a e 3.7b). O acréscimo nas concentrações destes pigmentos, a par da razão de crescimento obtida (Fig. 3.6a), revela que a cultura está em boas condições fotossintéticas e reprodutivas.

Porém, com a exposição a uma dose de $5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (UVB1), denota-se uma forte redução na produção pigmentar (clorofila *a* e carotenóides) (Figs. 3.7a e 3.7b), passando

mesmo a existir degradação de pigmentos, a qual é expressa pela produção de feopigmentos (Fig. 3.7c). No entanto, apesar desta afectação, a cultura exposta a UVB1 revelou crescimento (Figs. 3.5 e 3.6a). Perante estes resultados, torna-se evidente que a menor dose de radiação testada no presente estudo ($5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, durante 5 horas) tem uma influência directa na degradação dos pigmentos de *I. galbana*, reduzindo, consequentemente, a sua capacidade fotossintética.

Vários estudos revelam a degradação de pigmentos em diferentes organismos marinhos, como resposta a diferentes intensidades e tempos de exposição à radiação UV-B, designadamente, diatomáceas (Buma *et al.*, 1996), cianobactérias (Quesada *et al.*, 1995; Araoz & Häder, 1997; Quesada & Vincent, 1997), dinoflagelados (Häder & Häder, 1990; Döhler & Buchmann, 1995) e macroalgas (Döhler *et al.*, 1995). Até determinados limites de irradiância / dose, variável em função da espécie e dos tempos de exposição, algumas espécies fitoplanctónicas apresentam um aumento da concentração pigmentar, como resposta de reparação/adaptação à radiação UV-B (Buma *et al.*, 1997), ao qual está associado o aumento do volume celular (Döhler, 1985; Behrenfeld *et al.*, 1992; Veen *et al.*, 1992). Malone (1980) considera esta a razão principal pela qual as águas costeiras apresentam maior proporção de organismos com células de maiores dimensões, que as águas oceânicas, comparativamente, sendo o fitoplâncton destas últimas considerado mais sensível à radiação UV-B (Fiala & Delille, 1992). Os mecanismos de reparação são tão variáveis como os processos de danificação, variando em função da espécie e dos diferentes *taxa* (Mora *et al.*, 2000).

O presente trabalho evidencia diferenças na resposta pigmentar e no crescimento de *I. galbana* quando exposta aos tratamentos com PAR e PAR+UV-B. Este resultado difere do

obtido por Ohi *et al.* (2006), em que não foram detectadas diferenças significativas entre os dois tratamentos (PAR e PAR+UV-B). Importa referir que o estudo realizado por estes autores, embora apresente um delineamento semelhante ao do presente estudo no que se refere aos ciclos de exposição luminosa (12 h luz: 12 h escuro), difere nas doses testadas, sendo a intensidade de PAR quase 10 vezes ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) superior à intensidade utilizada no presente trabalho ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). De acordo com esses autores, não foram detectadas diferenças na resposta pigmentar entre a exposição exclusiva à radiação PAR e à radiação PAR+UV-B. Relativamente à resposta da exposição de *I. galbana* a intensidades crescentes da radiação UV-B não é possível estabelecerem-se comparações entre estes dois estudos, dado que a metodologia de cálculo das doses de radiação UV-B difere. As doses de radiação UV-B são calculadas, por Ohi *et al.* (2006), com base na medição da irradiância com um pico de absorção a 320 nm. No presente caso, a resposta espectral é dada para um pico de absorção a 313 ± 2 nm, com metade da largura total máxima do espectro (*full-width-half-max* FWHM) de 29 ± 2 nm, abrangendo toda a banda do UV-B (ver secção 2.2.2).

O aumento da dose de radiação UV-B para $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, que corresponde ao tratamento UVB2, induz uma forte redução no crescimento da cultura, o qual se mantém até ao 3º dia de exposição (Fig. 3.8a). A partir do 4º dia verifica-se inibição do crescimento, ou seja, mortalidade da cultura. Esta dose parece incutir um efeito de transição entre o crescimento e a inibição do mesmo. Com esta dose, a cultura não parece conseguir adaptar-se, dado que ao fim do 4º dia de ensaio apresenta mortalidade. Dos resultados obtidos para os teores pigmentares é evidente a degradação pigmentar após o 4º dia de exposição (Fig. 3.11). Neste tratamento, a cultura de *I. galbana* revela uma ligeira produção pigmentar até ao 3º dia, sendo os carotenóides os pigmentos mais produzidos, o que revela uma resposta de

adaptação/reparação aos danos causados pela irradiação UV-B na dose testada. Resultados semelhantes foram obtidos por Gómez *et al.* (2005). A produção de carotenóides confere capacidade de protecção à radiação UV-B (Krinsky, 1978), dado que estes pigmentos têm forte capacidade de absorver a energia nesta banda do espectro electromagnético (Dunlap & Yamamoto, 1995).

Com o aumento para o dobro da dose do tratamento UVB2, ou seja, com $36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, que corresponde ao tratamento UVB3, já a cultura não cresce, registando-se inibição desde o primeiro dia de exposição (Fig. 3.8). Estes resultados mostram que esta dose de radiação afecta substancialmente o desenvolvimento desta espécie, embora, comparativamente aos restantes tratamentos, os pigmentos fotossintéticos pareçam conseguir oferecer maior resistência (Figs. 3.11 e 3.12).

Verifica-se assim que a inibição do crescimento aumenta com a exposição a doses crescentes de radiação UV-B (Fig. 3.8). Ao fim de 7 dias de exposição a $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (tratamento UVB2) foi verificada uma inibição no crescimento de 44% da cultura de *I. galbana*. Com o aumento desta dose para o dobro ($36 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ - tratamento UVB3), esta percentagem sobe, ligeiramente, para 46%. Continuando a aumentar a dose para $54 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (tratamento UVB4), a percentagem de inibição do crescimento da espécie continua a aumentar, atingindo 82%. Com a dose mais forte testada, de $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (tratamento UVB5), é atingida quase a totalidade de inibição do crescimento da cultura (98%). Note-se que, no que se refere ao conteúdo pigmentar, tanto a clorofila *a* como os carotenóides são completamente degradados ao fim do 6º dia de exposição à dose de radiação UV-B de $90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ durante 5 horas por dia (Figs. 3.11 e 3.12).

O acréscimo relativamente reduzido na percentagem de inibição do crescimento da cultura exposta à dose do tratamento UVB3 é acompanhado de uma certa discrepância no valor de TE (50) obtido para este tratamento (7 dias), dado que foi superior ao obtido para o tratamento UVB2 (5 dias) (Tab. 3.3). Este resultado significa que são necessários mais dias de exposição a uma dose mais forte para que ocorra 50% de inibição de crescimento de *I. galbana*. A razão para esta contradição está no ajuste da recta de regressão linear simples a partir da qual se obtém o valor de TE (50) para a dose do tratamento UVB2 (Fig. 3.9b). Esta discrepância poderá dever-se à condição fisiológica inicial da cultura no tratamento UVB3, a qual parece conferir maior capacidade de reparação/adaptação à respectiva irradiação, dado que, sobretudo nos primeiros dias, as concentrações pigmentares foram superiores às obtidas na cultura do tratamento UVB2 (Figs. 3.11 e 3.12). Desconhece-se o motivo para esta diferença na resposta esperada, pressupondo que a mesma possa estar relacionada com aspectos intrínsecos do cultivo de *I. galbana* (aqui não explorados).

Com a dose de $18 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ irradiada apenas durante 1 hora por dia (tratamento UVB6) durante 7 dias consecutivos, a percentagem de inibição do crescimento da cultura situa-se entre os valores obtidos nos tratamentos UVB3 (46%) e UVB4 (82%), ocorrendo 72% de inibição (Fig. 3.8a). Esta percentagem é quase o dobro da obtida com o tratamento UVB2, no qual a irradiância é 1/5 da irradiância testada no tratamento UVB6, ou seja, de $100 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo o tempo de exposição superior ao deste último, ou seja, de 5 horas por dia. Em contrapartida, ao serem comparados os resultados obtidos nos tratamentos UVB5 e UVB6 é evidenciado o efeito do tempo de exposição diário a uma determinada irradiância ($500 \mu\text{W cm}^{-2}$). Aumentando 5 vezes o tempo de exposição diário à mesma irradiância (tratamento UVB5), os pigmentos são completamente degradados ao fim de 6 dias de exposição (Fig. 3.14c).

À semelhança de outros autores (Nielsen *et al.*, 1995), com o presente trabalho constatou-se que pequenas exposições a fortes irradiâncias UV-B (tratamento UVB6) têm maior efeito sobre o crescimento de determinadas espécies de microalgas (no caso presente, de *I. galbana*) que longas exposições a irradiâncias menores (tratamento UVB2) (Figs. 3.8 e 3.14, Tab. 3.3). De salientar que este efeito tem particular interesse no caso da Ria Formosa, uma vez que, diariamente, uma grande extensão deste sistema apresenta uma profundidade não superior a 50 cm durante a baixa-mar, podendo manter-se durante 1 hora. Este aspecto assume extrema importância quando a baixa-mar ocorre durante o fotoperíodo máximo, sobretudo, quando à baixa-mar se adiciona um regime de marés vivas, dado que nestas condições os organismos podem estar expostos a intensidades consideráveis de radiação UV-B.

Assim sendo, e à semelhança do já referido por outros autores (Holzinger & Lütz, 2006), propõe-se que em qualquer estudo com o objectivo de avaliar o efeito da exposição de uma determinada espécie à radiação UV-B se determine conjuntamente a dose de radiação UV-B e a irradiância que lhe deu origem. Esta informação é, por vezes, de difícil obtenção na literatura disponível, o que dificulta a comparação da resposta de diferentes espécies expostas a uma determinada irradiância / dose de radiação.

A sensibilidade diferencial de muitas espécies fitoplanctónicas ao aumento da radiação UV-B pode originar mudanças na composição do fitoplâncton, podendo, conseqüentemente, alterar a biodiversidade das cadeias tróficas. Estudos de crescimento realizados com dinoflagelados, diatomáceas e flagelados de água doce, revelaram que a irradiância de $80 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 4 horas por dia é considerada fraca e $120 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante o mesmo tempo de exposição é considerada forte (Ekelund, 1994). Analogamente

aos resultados obtidos no presente trabalho, poder-se-á afirmar que a irradiância de $100 \mu\text{W cm}^{-2}$ irradiada durante as primeiras 5 horas é considerada forte para a espécie *I. galbana*, uma vez que esta deixa de se reproduzir (Fig. 3.8) e apresenta degradação do pigmento fotossintético principal, a clorofila *a* (Fig. 3.11). Num estudo realizado com culturas unialgais de *Iridaea cordata* (Rodófito), envolvendo um delineamento experimental (ciclo de 12 horas de luz : 12 horas de escuro, 3 horas de irradiação UV-B por dia e intensidade de PAR de $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) não muito diferente ao do presente estudo, verificou-se a afectação do crescimento algal, de forma mais pronunciada, nos tratamentos com doses resultantes da exposição à irradiância UV-B de $50 \mu\text{W cm}^{-2}$ (Navarro *et al.*, 2009).

De acordo com a literatura sobre os impactes da radiação UV-B no fitoplâncton marinho, as diatomáceas são consideradas como o grupo mais resistente, seguido das prymnesiófitas e outros flagelados, como as criptomonas (Mora *et al.*, 2000). As algas verdes e as cianobactérias são usualmente consideradas tão resistentes como as diatomáceas. Esta sensibilidade variável é resposta da variabilidade dos processos celulares, consumo de azoto (Döhler, 1992), consumo de carbono (Villafañe *et al.*, 1995; Beardall *et al.*, 1997; Gieskes & Buma, 1997), razão específica de crescimento (Worrest *et al.*, 1981; Villafañe, 1995) e abundância celular nas populações naturais (Karentz & Spero, 1995). No entanto, de acordo com um estudo de mesocosmo realizado na costa Oeste sueca, as diatomáceas revelaram ser as mais sensíveis à radiação UV-B, sendo substituídas (sucessão) por crisófitas, quando expostas à irradiância UV-B de $64 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante 6 horas diárias (Wänberg *et al.*, 1996).

Refira-se, no entanto, que esta sensibilidade diferencial não se restringe às diferenças taxonómicas. Até para a mesma espécie são encontradas sensibilidades distintas para diferentes estirpes. Num estudo laboratorial com culturas monoalgais de *Alexandrium pseudomona* (dinoflagelado) foi verificado que a estirpe espanhola é mais resistente e adaptável a intensidades crescentes de radiação UV-B, que a estirpe inglesa, comparativamente (Laurion & Roy, 2009). De facto, de acordo com as análises realizadas por Bancroft *et al.* (2007), envolvendo uma abordagem de meta-análise, ressalta que os efeitos da radiação UV-B nos sistemas aquáticos são amplos e negativos, mas altamente variáveis entre organismos. Estes autores referem ainda que a variação desta sensibilidade diferencial tem implicações importantes na estrutura das populações e das comunidades.

De uma forma geral, foi verificado que a reprodução da espécie em estudo é afectada pela exposição à radiação UV-B. Dos resultados obtidos com a dose de radiação UV-B mais intensa ($90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), verificou-se mortalidade desde o primeiro momento em que a cultura de *I. galbana* é irradiada, bastando 3 dias de exposição (5 horas/dia) a esta intensidade de radiação para que ocorra 50% de mortalidade da cultura (Tab. 3.3). A fotodegradação dos pigmentos foi a mais rápida de todos os tratamentos testados. Com a dose mais forte, os pigmentos são totalmente fotodegradados ao fim de 6 dias de exposição (Fig. 3.14c), sendo a inibição do crescimento quase total (98%), ou seja, a quase totalidade da mortalidade celular ao fim dos 7 dias de exposição (Fig. 3.8).

Com a dose de radiação UV-B mais elevada ($90 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) é também mais pronunciada a fotodegradação inicial dos carotenóides, comparativamente à das clorofilas (Fig. 3.14c). Os carotenóides, que servem como foto-protecção e transmitem energia para as clorofilas, são danificados antes destas últimas. As clorofilas são os últimos pigmentos a serem

degradados, tanto pela radiação visível, como pela acção da radiação UV-B (Häder & Häder, 1990; Häder & Häder, 1991; Gerber & Häder, 1993). De facto, a clorofila *a* absorve radiação em zonas bem definidas do espectro (> 600 nm). Os restantes pigmentos, denominados acessórios, têm por função concentrar a radiação que absorvem noutros comprimentos de onda (< 600 nm) e transmiti-la à clorofila *a*. Exercem assim um efeito protector sobre a clorofila *a* em condições de luminosidade excessiva (Bougis, 1974; Dawes, 1986; Margalef, 1986). À semelhança do estudo realizado com cianobactérias *Nodularia spumigena* oriundas do Mar Báltico, expostas a intensidades crescentes de radiação UV-B em condições laboratoriais controladas durante 8 dias consecutivos, não foi encontrada, no presente trabalho, uma relação consistente entre carotenóides e clorofila *a* (Wulff *et al.*, 2007). No entanto, os valores obtidos no presente estudo da razão entre estes pigmentos (Fig. 3.13) são semelhantes aos encontrados no estudo de inibição da fotossíntese de *I. galbana* exposta à irradiância de $250 \mu\text{W cm}^{-2}$ (0,4 a 0,5) (Montero *et al.*, 2002).

Da curva de toxicidade ajustada pelo modelo exponencial negativo (Fig. 3.10) estimou-se uma dose de radiação $\text{UVB}_{\text{BE}}(50)$ de $2 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para 30 dias de exposição de *I. galbana*. Esta dose é semelhante à citada na literatura como responsável pela inibição do crescimento de dinoflagelados marinhos (*Prorocentrum minimum*, *Gyrodinium aureolum*, *Heterocapsa triquetra* e *Amphidinium carterae*), correspondendo neste último à dose de $2,72 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, irradiada durante 4 horas por dia (Ekelund, 1994).

No estudo do crescimento o tempo total de exposição foi de 7 dias, ao qual correspondeu uma dose $\text{UVB}_{\text{BE}}(50)$ de $25,6 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Tab. 3.2). Porém, é certo que a dose de $790,7 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ irradiada apenas durante 5 horas poderá ter efeitos nocivos na espécie *I. galbana*

num único dia de exposição (Fig. 3.10). No entanto, substituindo o valor de y do modelo pela menor dose testada ($5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) os resultados indicam que, ao fim de 17 dias de exposição, a inibição do crescimento da cultura será 50% (Fig. 3.10). Este resultado está em conformidade com os obtidos na determinação dos teores pigmentares da cultura exposta à menor dose de radiação testada (tratamento UVB1), uma vez que revela que a cultura não teria condições para resistir durante muito mais tempo a esta dose de radiação UV-B, dado que não há produção pigmentar (Fig. 3.7). O presente estudo revela, à semelhança do obtido por Montero *et al.* (2002), a indução de danos cumulativos no aparato fotossintético de *I. galbana* quando exposta a intensidades crescentes de radiação UV-B.

A presença da radiação UV-B na menor dose testada ($5,4 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) pode assim afectar significativamente a produção pigmentar da espécie *I. galbana*, sendo os carotenóides os primeiros pigmentos a serem afectados por esta gama de radiação ultravioleta (Fig. 3.7). O crescimento desta espécie é tanto mais afectado quanto maior a dose de radiação a que é exposta (Fig. 3.8). Foram obtidas doses biologicamente efectivas para diferentes dias de exposição desta espécie à radiação UV-B (Tab. 3.2). É apontada a dose biologicamente efectiva de $25,9 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ como responsável pela mortalidade de 50% de *I. galbana* ao fim de 7 dias de exposição. Os resultados obtidos confirmam ainda que fortes irradiâncias UV-B durante pequenos intervalos de tempo (1 hora diária) induzem maior efeito ao nível dos pigmentos fotossintéticos (Fig. 3.14b) e, conseqüentemente, no crescimento de *I. galbana* (Fig. 3.8), que exposições durante intervalos de tempo superiores (5 horas diárias) a menores irradiâncias (Fig. 3.14a).

Considera-se, em estudos futuros, importante investigar os impactes da exposição conjunta à radiação UV-A, isto é, realizar ensaios de exposição às radiações PAR + UV-A + UV-B e procurar avaliar os impactes que podem resultar da alteração das razões de incidência UVA:UV-B, uma vez que esta razão tem vindo a mudar, devido ao aumento da incidência da radiação UV-B (Mora *et al.*, 2000). Em algumas populações, a radiação UV-A apresenta o dobro da capacidade inibitória provocada pela radiação UV-B (Holm-Hansen *et al.*, 1997), enquanto noutras, a sensibilidade é maior à radiação UV-B (Boucher & Prézelin, 1996; Mora *et al.*, 2000). Por outro lado, a radiação UV-A penetra a maiores profundidades na coluna de água que a radiação UV-B (Mora *et al.*, 2000)

Também os efeitos de interacção com outros factores (poluentes, nutrientes, entre outros) constituem um universo a investigar. Por outro lado, deverão também ser realizados ensaios em situação natural de luminosidade, de forma a avaliar os impactes do aumento da radiação UV, considerando as oscilações naturais do espectro solar, o que não acontece em condições laboratoriais controladas, em que as intensidades de radiação simuladas são constantes ao longo do tempo (emitidas por lâmpadas).

3.5 CONCLUSÕES

A capacidade fotossintética de *I. galbana* é afectada pela exposição à radiação UV-B correspondente à irradiância média detectada a meio metro de profundidade da coluna de água da Ria Formosa ($30 \mu\text{W cm}^{-2}$, durante 5 horas), embora a espécie continue a reproduzir-se nesta condição. Acima desta irradiância a reprodução é também afectada e função da dose de exposição. A dose de radiação UVB_{BE} (50) de inibição do crescimento de *I. galbana* é de $2 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para 30 dias.

Constatou-se que pequenas exposições de *I. galbana*, durante curtos períodos de tempo (1 hora por dia) a fortes irradiâncias UV-B têm maior efeito de inibição do crescimento da espécie, que exposições a irradiâncias menores durante maior período de tempo (5 horas por dia). Este aspecto assume particular importância, tendo em consideração a exposição natural da espécie na situação de pico solar, altura do dia em que a irradiância UV-B é máxima e dura cerca de 1 a 3 horas por dia, sobretudo, no Verão. Pior cenário é ainda definido quando o pico solar coincide com a situação de baixa-mar. Aliás, este é um risco potencial para os organismos, em geral, dado que uma grande extensão da coluna de água da Ria não apresenta mais do que cerca de meio metro de profundidade nesta situação, havendo mesmo formação de charcos em várias áreas.

Neste contexto, e sendo a espécie fortemente utilizada na aquacultura, depreende-se que a sua utilização, em tanques expostos à radiação natural no Algarve, poderá não conferir a qualidade nutricional adequada para alimentar os seus predadores, pelo menos, no que toca ao conteúdo pigmentar.

A RADIAÇÃO UV-B, FACTORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS E A BIOMASSA FITOPLANCTÓNICA NA RIA FORMOSA

4

4.1 INTRODUÇÃO

Os estudos de impactes sobre a vida na Terra induzidos pelo aumento da incidência da radiação UV-B são relativamente recentes, sendo posteriores à descoberta da redução da concentração do ozono estratosférico devido à presença de CFCs, suposição inicial de Mário Molina e F. Sherwood Rowland, que data de 1974. Juntamente com Paul Crutzen, o desenvolvimento dos trabalhos de investigação assentes nesta suposição mereceu a atribuição do Prémio Nobel da Química em 1995. Em 1985 foi descoberto, pela primeira vez, o buraco na camada de ozono no Antártico (Mora *et al.*, 2000).

Desde a década de 80 que têm então sido desenvolvidos estudos nesta área, dirigidos tanto ao meio aquático, como ao terrestre. Constituindo os oceanos cerca de 70% da superfície da Terra (Meadows & Campbell, 1978), entende-se que o conhecimento dos impactes provocados pelo aumento da incidência da radiação UV-B no meio aquático assumam total interesse.

O fitoplâncton (marinho e de água doce), o qual representa mais de metade da biomassa da Terra (Gerber & Häder, 1993; Siegenthaler & Sarmiento, 1993), exerce um papel preponderante na captação do carbono atmosférico (UNEP, 1989, 1991; Holm-Hansen, 1990; Häder & Worrest, 1991) contrariando, deste modo, o aquecimento global do planeta. Dado o papel do fitoplâncton na transmissão de energia ao longo das cadeias tróficas – produtividade, o enfoque em estudos sobre a afectação deste grupo de organismos tornou-se inevitável.

Os riscos associados à exposição à radiação UV-B são superiores em organismos aquáticos que vivem na camada superficial da água. Alguns estudos têm sugerido que a alteração na estrutura das comunidades e níveis tróficos, assim como nos ciclos biogeoquímicos subsequentes, são impactes mais pronunciados que a afectação da biomassa nos ecossistemas aquáticos (Ferrero *et al.*, 2006; Roy *et al.*, 2006).

Os estudos que têm sido realizados a nível internacional permitem inferir sobre os tipos de impactes induzidos pelo aumento da incidência da radiação UV-B. O interesse nos impactes provocados pela radiação UV tem aumentado nos últimos anos, devido não só à redução do ozono estratosférico, como também às modificações induzidas nos ambientes aquáticos por fenómenos de poluição local e regional (Yan *et al.*, 1996; Schindler *et al.*, 1996; Pienitz & Vincent, 2000; Bracchini *et al.*, 2004b). Como resposta, têm sido detectados impactes bióticos e abióticos relevantes (Smith & Baker, 1978; Hakkinen *et al.*, 2001; Bracchini *et al.*, 2005).

Estudos recentes continuam a revelar impactes negativos em muitas espécies, populações, comunidades e ecossistemas aquáticos (lagos, rios, sapais, lagoas, estuários e oceanos). A

radiação UV-B pode penetrar a profundidades consideráveis, afectando a riqueza ecológica destas áreas, propagando-se ao longo da cadeia trófica desde a biomassa produtora (fitoplâncton) até aos consumidores (p.e., zooplâncton, peixes, etc.).

A penetração da radiação UV-B nos ecossistemas aquáticos é fortemente influenciada pelas propriedades ópticas das massas de água, sendo importante determinar a respectiva irradiância na coluna de água em estudos de impactes associados ao aumento da incidência desta gama de radiação (Halnet *et al.*, 2001). A radiação que atinge a superfície da água depende de vários factores, como a latitude e a longitude, a elevação do Sol, a estação do ano, a hora do dia, as condições climatéricas (nebulosidade) e as concentrações de ozono e aerossóis. A transmissão da irradiância superficial para as camadas inferiores da coluna de água, ou seja, a penetração da radiação UV-B a nível subaquático depende ainda de outros factores, nomeadamente, da qualidade da água, da actividade biológica, da concentração de matéria orgânica dissolvida e particulada, em especial, de substâncias húmicas, variação espacial e sazonal, entre outros (Green *et al.*, 1974; Karabashev, 1977; Hojerslev & Aas, 1991; Nielsen *et al.*, 1995; Bracchini *et al.*, 2004a).

A matéria orgânica dissolvida (DOM) constitui uma forte componente de absorção da luz na água do mar, especialmente, nas zonas costeiras, e possui um papel determinante nos processos marinhos fotoquímicos e fotofísicos (Kirk, 1983; Zafirou *et al.*, 1984; Zika, 1987; Morris *et al.*, 1995; Moran & Zepp, 1997), os quais, por sua vez, têm impactes sobre o ciclo biogeoquímico dos elementos na água do mar (Kieber *et al.*, 1989; Kieber *et al.*, 1990; Mopper *et al.*, 1991; Bushaw *et al.*, 1996; Miller & Moran, 1997). Nas zonas costeiras, os principais *inputs* de matéria orgânica são provenientes dos ecossistemas terrestres, sobretudo, nas alturas de forte pluviosidade (Bischof *et al.*, 2006).

A exposição à radiação UV-B tem efeitos sobre a produtividade, a reprodução, a distribuição vertical das espécies, a competição e as interacções entre os diferentes níveis tróficos e a diversidade e sucessão das comunidades (Bischof *et al.*, 2006; Bancroft *et al.*, 2007). A protecção mais importante à radiação UV-B consiste na produção de substâncias que absorvem na gama UV do espectro solar. Estas substâncias encontram-se geralmente à superfície do corpo, de forma a evitar/reduzir a penetração para camadas inferiores do mesmo (no núcleo das células, no caso de organismos unicelulares) (Björn, 2007). Diferentes organismos produzem tipos distintos de pigmentos com capacidade para absorver a radiação UV (Cockell & Knowland, 1999; Rozema *et al.*, 2002).

Os riscos associados à exposição à radiação UV-B são, provavelmente, superiores em organismos aquáticos que vivem na camada superficial da água. Alguns estudos têm sugerido que a alteração na estrutura das comunidades e níveis tróficos, assim como nos ciclos biogeoquímicos subsequentes, são impactes provocados pelo aumento da radiação UV-B nos ecossistemas aquáticos mais pronunciados que a expressão da afectação única da biomassa (Ferrero *et al.*, 2006; Roy *et al.*, 2006).

Segundo Molis & Wahl (2009), espera-se que as intensidades da radiação UV-B incidentes na água aumentem, indirectamente, devido à redução das concentrações de ozono estratosférico e ao aquecimento global, provocando, por sua vez, alterações nas concentrações do carbono orgânico dissolvido e, conseqüentemente, alterações nas interacções tróficas no plâncton e/ou reduzindo os fenómenos de eutrofização dos ecossistemas.

A nível internacional, estudos realizados na nossa latitude podem revestir-se de forte interesse, uma vez que, nas latitudes médias, a intensidade da radiação UV-B incidente tem aumentado nas últimas décadas (cerca de 10%), sobretudo nos meses de Inverno (Nielsen *et al.*, 1995), não se conhecendo, em concreto, quais as implicações deste fenómeno. Por outro lado, também na Primavera, as intensidades da radiação UV-B têm aumentado (Karentz, 1991) e de uma forma repentina, à qual os organismos adaptados às intensidades de Inverno podem ser surpreendidos, sob o ponto de vista adaptativo, na escala da evolução. A acrescentar ainda que na Primavera tem lugar a reprodução e os primeiros estágios de vida de muitas espécies marinhas (Cordi *et al.*, 2001).

Assim, dado o desconhecimento dos níveis de radiação UV-B incidentes em Portugal ao fim da primeira metade da década de 90 e, em particular, a relação dos mesmos com outros factores ambientais determinantes nos ecossistemas aquáticos, foi delineado o presente estudo.

Com base na análise da informação obtida na componente de campo desenvolvida ao longo dos anos em estudo (Janeiro 1996 – Janeiro 2000) (segundo capítulo), pretendeu-se determinar a variação da incidência da radiação UV-B na Ria Formosa, em função de diferentes factores abióticos e bióticos. De forma a atingir este objectivo foram definidos os seguintes sub-objectivos:

1. Determinar a variação da radiação UV-B atmosférica na Ria Formosa ao longo dos anos em estudo, em função da sazonalidade (estação do ano) e de outras variáveis ambientais e suas eventuais interacções.

2. Determinar o coeficiente de atenuação da radiação UV-B na Ria Formosa e sua variabilidade ao longo das estações do ano e verificar a existência de alguma tendência ao longo dos anos.
3. Determinar a variação da biomassa fitoplanctónica e sua relação com a radiação UV-B e outros factores ambientais, visando a identificação de eventuais impactes ambientais/biológicos, no âmbito das alterações climáticas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Programa de amostragem

Tal como referido no segundo capítulo, foram realizadas amostragens semanais para medição da irradiância UV-B atmosférica e incidente a diferentes profundidades da coluna de água da Ria Formosa (“Ponte da Ilha de Faro” - 37° 00’ N e 7 ° 59’ W”, ver Fig. 2.1), com intervalos de 0,5 m até ao fundo, tendo sido amostradas as seguintes profundidades: 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 m.

Estas determinações foram efectuadas no período de irradiância UV-B máxima, com intervalos de 30 minutos. As amostragens semanais foram realizadas entre Fevereiro de 1996 e Janeiro de 2000, inclusive, somando uma série de 4 anos de observações. As medições da radiação UV-B foram acompanhadas da determinação da transparência da água – Profundidade do Disco de *Secchi* e pela variável binária “Nebulosidade”, dada pela expressão presença (1) ou ausência de nuvens (0).

Na hora do pico solar, entre 12:30 e 14:30 (hora local, variável em função da época do ano), procedeu-se à recolha de amostras de água a meio da coluna de água existente, com o auxílio de uma garrafa do tipo *Niskin* (que permite amostrar 0,5 m da coluna de água, considerando-se a profundidade amostrada, para fins de análise e modelação, correspondente à profundidade de toque do limite inferior da garrafa), para determinação de parâmetros físico-químicos (cor, turbidez, oxigénio dissolvido, pH, salinidade e temperatura) e biológicos (clorofilas *a*, *b* e *c*, feopigmentos e carotenóides). Destes,

importa referir a determinação da clorofila *a*, enquanto indicador da biomassa fitoplanctónica (ver ponto 3.2.3). De acordo com Barbosa (*in press*), existe uma correlação positiva significativa entre a concentração desta clorofila e a biomassa fitoplanctónica da Ria Formosa.

A fim de conhecer a variação diária, isto é, ao longo do tempo durante o período total de insolação diária e, conseqüentemente, da irradiância UV-B na Ria, assim como eventuais relações com alguns factores bióticos e abióticos, procedeu-se à realização de 4 dias de amostragem completos, do nascer do Sol ao crepúsculo, em diferentes estações do ano, entre Maio de 1996 e Fevereiro de 1997. Nestas amostragens procedeu-se à colheita de amostras de água a meio da coluna de água (considerando-se que a água da Ria não apresenta estratificação, sendo homogénea em profundidade, como referido anteriormente; ver ponto 1.2.1) para análise dos parâmetros físico-químicos e biológicos referidos, com intervalos de 1 hora.

A partir de Janeiro de 1998 foi introduzida uma alteração ao plano de amostragem semanal. A recolha de água passou a acompanhar as medições da radiação UV-B em profundidade, tendo-se recolhido amostras de água para a análise posterior dos parâmetros referidos nas diferentes profundidades amostradas, ou seja, da superfície até ao fundo, com intervalos de 0,5 m. Pretendeu-se verificar a relação da variável resposta em função dos parâmetros abióticos e bióticos (de seguida descritos, com a caracterização dos parâmetros físico-químicos e biológicos, respectivamente), com a profundidade.

4.2.2 Caracterização físico-química

A transparência da água ou coeficiente de extinção da luz foi medido com um disco de *Secchi* (disco de madeira pintado de branco, com cerca de 30 cm de diâmetro, lastrado e fixado a um cabo marcado a cada 10 cm). A cor das amostras de água foi determinada pelo método de comparação visual ou fotométrico com padrões de platina-cobalto – Método Hazen (1896). A turbidez foi medida com um turbidímetro modelo HI 93703, marca HANNA *Instruments*. Os parâmetros: oxigénio dissolvido, salinidade, temperatura e pH foram medidos com uma sonda modelo MultiLine F/SET-3 da marca WTW (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten), equipada com diferentes acessórios (Sen Tix 41, CellOx 325, OxiCal[®]-SL e TetraCon[®] 325).

A radiação UV-B (atmosférica e subaquática) foi medida com um radiómetro *Macam Photometrics Ltd*, modelo UV-103X, munido de um detector modelo SD 105Bcos, sendo expressa em irradiância ($\mu\text{W cm}^{-2}$) (ver secção 2.2.2).

4.2.3 Caracterização biológica

A biomassa fitoplanctónica foi determinada, indirectamente, através da concentração de pigmentos fotossintéticos, na qual a determinação da concentração de clorofila *a* assume preponderância, dado que está presente em todos os organismos autotróficos, constituindo o principal pigmento fotossintético. As outras clorofilas, *b* e *c*, têm uma função directa na fotossíntese, melhorando a absorção de luz, através da transferência de electrões para a

clorofila *a*. A relação entre as distintas classes de pigmentos é indicadora tanto da composição taxonómica, como do estado fisiológico da comunidade fitoplanctónica (Pérez & Romero, 2001).

A determinação das clorofilas está amplamente difundida nos estudos de oceanografia e limnologia, por constituir um indicador da biomassa do fitoplâncton, sua produtividade e seu estado fisiológico. A determinação da clorofila *a* foi considerada pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico – OCDE como um parâmetro essencial a incluir nos programas de monitorização da eutrofização de águas interiores, devendo ser escolhido como parâmetro padrão para aferição da biomassa fitoplanctónica e como indicador do estado trófico de um sistema (DGA, 2000).

Os pigmentos secundários / acessórios à fotossíntese – carotenóides, por sua vez, absorvem luz em comprimentos de onda distintos dos das clorofilas. Têm como função principal ampliar o espectro de absorção da luz/energia e transferi-la para a clorofila *a*, garantindo protecção e estabilização para o fotossistema II – fotossíntese (Falkowski & Raven, 1997). A clorofila *a* absorve maioritariamente comprimentos de onda do espectro electromagnético superiores a 600 nm, enquanto os pigmentos acessórios absorvem a comprimentos de onda inferiores. Como a maioria da luz que penetra em profundidade na coluna de água corresponde à banda do espectro entre 400 e 600 nm, torna-se clara a importância dos pigmentos acessórios na absorção de energia necessária ao processo fotossintético, com a profundidade. De tal forma, é esperado que com o aumento da profundidade diminua o desempenho da função clorofila e aumente a dos carotenóides, passando estes últimos pigmentos a assumir um papel importante na fotossíntese (Parsons *et al.*, 1984). Os carotenóides constituem uma defesa natural contra a radiação UV, dado

que absorvem nesta banda do espectro, tal como já referido. Por este motivo, a concentração de carotenóides aumenta nas células algais com a exposição à radiação (Quesada & Vincent, 1997). São anti-oxidantes lipo-solúveis com forte capacidade para reagir e neutralizar as espécies reactivas de oxigénio, as quais apresentam uma forte capacidade de induzir danos a nível celular (Dunlap & Yammamoto, 1995).

Os feopigmentos, por sua vez, são resultantes da degradação das clorofilas, por acção da luz ou como resultado da digestão do zooplâncton (Pérez & Romero, 2001). Geralmente, quando a concentração de clorofila *a* diminui, aumenta a de feopigmentos (Parsons *et al.*, 1984).

As concentrações de clorofila *a* e feopigmentos foram determinadas, no presente trabalho, pelo método de Lorenzen (1967), descrito no terceiro capítulo (ver ponto 3.2.3, eqs. 3.1 e 3.2, respectivamente). Esta técnica é recomendada para sistemas estuarinos ou costeiros com intensa ressuspensão e elevada concentração de feopigmentos (Barbosa, 2006). As restantes concentrações de clorofilas, *b* e *c*, descritas a seguir, e de carotenóides (ver ponto 3.2.3, eq. 3.3), foram determinadas através do método de Jeffrey & Humphrey (1975).

As concentrações das clorofilas *b* e *c* são dadas pelas seguintes expressões (Jeffrey & Humphrey, 1975):

$$\text{Clorofila } b (\mu\text{g} / L) = \frac{(-5,43 A_{664} + 21,0 A_{667} - 2,66 A_{630}) \times v}{V \times l} \quad (4.1)$$

$$\text{Clorofila } c (\mu\text{g} / L) = \frac{(-1,67 A_{664} - 7,60 A_{667} + 24,52 A_{630}) \times v}{V \times l} \quad (4.2)$$

em que A_{630} , A_{664} e A_{667} correspondem aos valores das absorvâncias a 630, 664 e 667 nm, respectivamente, sendo:

v - volume de acetona usado em ml;

V - volume da amostra em litros (L);

l - percurso da luz na célula em cm.

O método de análise dos pigmentos consistiu na espectrofotometria de absorção molecular e a metodologia adoptada segue o procedimento descrito no terceiro capítulo (ponto 3.2.3).

4.2.4 Análise de dados

Procedeu-se à análise pormenorizada dos dados obtidos no estudo de campo, os quais resultaram das amostragens realizadas, semanalmente, entre as 10:00 e as 16:00, incidindo com maior frequência entre as 11:30 e as 15:30 (fotoperíodo máximo), na Ponte da Ilha de Faro, como já referido. Da realização deste programa de amostragem resultaram quatro anos consecutivos de registos semanais (1996 – 2000). No último ano (2000) a amostragem de campo apenas foi realizada num único dia (em Janeiro). Este conjunto de dados é designado a título de simplificação por “*Semanais*” e contém os registos das medições de radiação UV-B atmosférica e incidente nas diferentes profundidades da coluna de água, medida a intervalos de 0,5 m, com registo da profundidade do disco de *Secchi* e a presença / ausência de nuvens.

Na hora do pico solar (hora local) procedeu-se ainda à recolha de água a meio da coluna para posterior análise laboratorial dos parâmetros físico-químicos e biológicos, anteriormente referidos. Este conjunto de dado é designado por “*Pico solar*”.

Para além destes dois conjuntos de dados procedeu-se à análise de um terceiro conjunto, composto pelas mesmas variáveis observadas nos conjuntos de dados anteriores, abrangendo, no entanto, neste último, todo o dia, ou seja, do nascer ao pôr do Sol, com intervalos de hora a hora, procedendo-se a colheitas de amostras de água a meio da coluna a todas as horas para realização de análises laboratoriais (determinação dos parâmetros físico-químicos e biológicos). Este conjunto de dados é designado por “*Dias completos*” e contém as observações de quatro dias distintos de amostragens, sendo cada um representativo de cada estação do ano. Estes quatro dias de amostragem correspondem, de forma geral, às mesmas situações de maré, em que às 14:00 a profundidade máxima foi cerca de 2,0 m, o que corresponde, por sua vez, à situação intermédia entre a preia-mar e a baixa-mar.

Na Tabela 4.1 apresentam-se, de uma forma resumida, as variáveis medidas e as respectivas unidades de medição e na Tabela 4.2 são discriminadas as variáveis mensuradas em cada um dos três conjunto de dados.

Para os conjuntos de dados “*Pico solar*” e “*Dias completos*” derivaram-se ainda as variáveis discretas “estação” (estação do ano: 1 – primavera, 2 – Verão, 3 – Outono, 4 – Inverno) e “ano” (1996-2000).

A metodologia adoptada para análise dos três conjuntos de dados é apresentada a seguir, a qual dada a especificidade, obriga a subdivisões que visam conferir um melhor entendimento.

Tabela 4.1 – Variáveis em estudo: nome, descrição, escala de medida e unidades.

Variáveis	Descrição	Escala de medida	Unidades
“Radiação UVB” (variável-resposta)	Irradiância UV-B	Contínua	$\mu\text{W cm}^{-2}$
“Rad_atm”	Irradiância UVB atmosférica	Contínua.	$\mu\text{W cm}^{-2}$
“DataAM”	Data de amostragem	Data	(dia-mês-ano)
“Hora”	Hora de amostragem	Contínua	(Hora: minutos)
“Prof”	Profundidade de amostragem	Discreta: 0,0 (atmosférica), 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0.	m
“Sechi”	Profundidade do Disco de Sechi (profundidade da zona eufótica)	Contínua	m
“Nuvens”	Indicador da presença/ausência de nebulosidade	Qualitativa, ordinal: 0 – ausência, 1 – presença.	–
“Cor”	Cor da água	Contínua	UH
“O2 diss”	Oxigénio dissolvido	Contínua	mg L^{-1}
“pH”	pH	Contínua	
“Temp”	Temperatura (água)	Contínua	$^{\circ}\text{C}$
“Turbidez”	Turbidez da água	Contínua	NTU
“Salinidade”	Salinidade	Contínua	ppt
“Chl_a”	Concentração de clorofila <i>a</i>	Contínua	$\mu\text{g L}^{-1}$
“Chl_b”	Concentração de clorofila <i>b</i>	Contínua	$\mu\text{g L}^{-1}$
“Chl_c”	Concentração de clorofila <i>c</i>	Contínua	$\mu\text{g L}^{-1}$
“Carot”	Concentração de carotenóides	Contínua	$\mu\text{g L}^{-1}$
“Feop”	Concentração de feopigmentos	Contínua	$\mu\text{g L}^{-1}$

Tabela 4.2 – Variáveis medidas em cada conjunto de dados (“*Semanais*”, “*Pico solar*” e “*Dias completos*”), obtidos nas amostragens de campo, realizadas entre 1996 e 2000.

Variáveis	Conjuntos de dados resultantes da amostragem		
	<i>Semanais</i> dia × hora × profundidade (inclui <i>Pico solar</i>) <i>n</i> = 3458	<i>Pico solar</i> (subconjunto de <i>semanais</i> , apenas à hora do pico solar) <i>n</i> = 112	<i>Dias completos</i> <i>n</i> = 52
UV-B	✓	✓	✓
Dia	✓	✓	✓
Hora	✓	(fixo)	✓
Prof	✓	✓	✓
Secchi	✓	✓	✓
Nuvens	✓	✓	✓
Cor		✓	✓
O ₂		✓	✓
pH		✓	✓
Salinidade		✓	✓
Temp		✓	✓
Turbidez		✓	✓
Chl_a		✓	✓
Chl_b		✓	
Chl_c		✓	
Carot		✓	
Feop		✓	✓

Radiação UV-B: padrões gerais e efeitos de factores abióticos

As amostragens semanais (conjunto de dados “*Semanais*”) decorreram ao longo de um total de 74 dias, compreendidos entre 13 de Fevereiro de 1996 e 22 de Janeiro de 2000. O número total de registos de radiação UV-B durante o período de amostragem foi 3458, distribuídos pelos diferentes níveis das variáveis independentes no delineamento, nomeadamente, para cada dia de amostragem (*dia*), hora do dia (*hora*) e profundidade (*prof*). A profundidade de *Secchi* e a presença / ausência de nuvens foram registados ao nível da interacção *dia* × *hora* (ou seja, constante para todas as profundidades amostradas).

A análise de dados incluiu, numa primeira fase, uma abordagem estatística exploratória, tendo sido elaborados histogramas e *boxplots* de todas as variáveis quantitativas nos dados, e gráficos de barras para variáveis qualitativas / categóricas, bem como outros indicadores estatísticos, incluindo a assimetria das distribuições, estimada pelo método dos momentos (Abramowitz and Stegun, 1972). Procurou-se ainda detectar, a nível exploratório, padrões gerais de variabilidade e tendências nas variáveis e no cruzamento entre variáveis cuja relação se afigurou, à partida, verosímil, através de gráficos de dados agrupados. Esta primeira fase metodológica incluiu ainda uma abordagem temporal referente à radiação UV-B atmosférica e o ajuste de tendências não lineares pelo método não-paramétrico *loess* – *locally weighted regression* (Hastie & Tibshirani, 1990).

Numa segunda fase, e com base nas tendências de variabilidade observadas na fase anterior, procurou-se relacionar a variação da radiação UV-B atmosférica com os factores ambientais em estudo, identificando efeitos significativos e descrevendo o modo como as

covariáveis contribuem para explicar o total de variabilidade das observações. Para tal, utilizaram-se Modelos Lineares Generalizados – MLG (McCullagh, & Nelder, 1989). Esta fase consistiu numa abordagem adaptativa, com decisões tomadas sobre métodos adequados a utilizar de acordo com a verificação de determinadas características nos dados, por exemplo, tipo de distribuição da variável resposta – radiação UV-B atmosférica. Esta série de etapas, descritas ao nível dos resultados, conduziu à adopção de um modelo Gama (Turkman & Silva, 2000).

Na selecção do melhor modelo utilizou-se uma estratégia *stepwise backward*, tal como indicado por Turkman & Silva (2000), começando, numa primeira fase, por ajustar o modelo saturado (todas as variáveis incluídas, apenas com efeitos principais – hora do dia, estação do ano, nebulosidade e ano) e depois, em cada passo, excluiu-se a variável do modelo para a qual a significância (*p*-value) é maior (variável não significativa no modelo), ajustando-se então novo modelo com as covariáveis retidas. Para além da análise da significância dos termos individuais, adoptou-se a metodologia de minimização do Critério de Informação de Akaike – AIC (Akaike, 1974) na comparação entre modelos.

Um dos aspectos mais importantes na validação de um MLG passa pela transformação e utilização adequada dos resíduos do modelo (Pierce & Schafer, 1986; McCullagh & Nelder, 1989). De acordo com Turkman e Silva (2000), a distribuição dos habituais resíduos de Pearson é bastante assimétrica para modelos não-Normais. No caso do modelo Gama os resíduos de Pearson têm problemas de não-Normalidade. Deste modo, na validação do modelo ajustado à resposta radiação UV-B atmosférica em função de factores abióticos, utilizaram-se *quantile residuals* específicos para a distribuição Gama (Dunn & Smyth, 1996).

Na abordagem metodológica utilizaram-se os programas R (*R Development Core Team*, 2009 – análise exploratória e modelação) e *Statistica* (*StatSoft Inc.* – análise exploratória). Na análise exploratória foi também utilizado o pacote *fBasics* para R (*Wuertz et al.*, 2009). O pacote *statmod* (*Smyth et al.*, 2009) foi utilizado também na modelação (*quantile residuals*).

Variabilidade de factores bióticos e abióticos no *pico solar*

Na hora do pico solar (hora local que corresponde à irradiância UV-B máxima), procedeu-se à recolha de água a meio da coluna de água da Ria para determinação dos parâmetros biológicos (Clorofilas *a*, *b* e *c*, Carotenóides e Feopigmentos) e físico-químicos (Cor, Oxigénio dissolvido, pH, profundidade do disco de *Secchi*, Temperatura e Turbidez), anteriormente mencionados, visando relacioná-los com a penetração da radiação UV-B. A partir de 1998, a amostragem passou a incorporar as diferentes profundidades, com intervalos de 0,5 m, como referido. Assim, o conjunto de dados em análise consistiu num subgrupo de observações do conjunto de dados “Semanais”, registadas à hora do pico solar – conjunto de dados “*Pico solar*”.

Deste modo, o número de colunas da matriz de dados para análise foi substancialmente maior, embora o número de observações seja mais reduzido, comparativamente ao conjunto de dados “Semanais” completo.

Com base no conjunto de dados “*Pico solar*” pretendeu-se investigar a variação da biomassa fitoplanctónica, medida através da concentração de clorofila *a*, e de outras variáveis amostradas ou estimadas (caso da estação do ano), incidindo sobre o meio aquático (profundidades inferiores ou igual a 0,5 m). Foram elaborados histogramas e *boxplots* de todas as variáveis quantitativas em estudo neste conjunto de dados, e gráficos de barras para as variáveis qualitativas / categóricas, bem como nuvens de pontos entre a variável *Clorofila a* e as outras variáveis presentes nos dados.

Numa segunda fase de análise pretendeu-se investigar tendências temporais e sazonais do coeficiente de atenuação de radiação UV-B na coluna de água (K_d), calculado com base na expressão dada pela equação 2.1 (ver segundo capítulo, ponto 2.1), à hora do pico solar. Para cada um dos dias de amostragem foi ajustado um modelo de regressão linear simples da variável *radiação UV-B* (variável resposta) contra a *profundidade* (variável independente). Uma vez que a atenuação obedece a um modelo exponencial negativo (eq. 2.1) e não a um modelo linear, procedeu-se à logaritmização prévia dos dados da variável resposta (*radiação UV-B*). Este procedimento visou simplificar o processo de obtenção da taxa instantânea de variação do modelo exponencial, designadamente, o coeficiente de atenuação K_d , o qual consiste, no modelo linear, no declive da recta ajustada – β_1 .

Com vista a proceder a uma Análise de Variância (Zar, 1984; Faraway, 2002) dos valores de K_d a dois factores (estação do ano e ano) para verificar a igualdade estatística deste coeficiente ao longo das estações do ano, efectuou-se em primeiro lugar o teste de Normalidade de Shapiro-Wilk (Conover, 1980) à amostra de valores de K_d . Na abordagem metodológica utilizou-se uma folha de cálculo e o programa R (*R Development Core Team*, 2009).

Tendências na Biomassa Fitoplanctónica

A presente abordagem consistiu na análise do conjunto de dados “*Dias completos*”, os quais consistiram em quatro dias de amostragem completos (do nascer do Sol ao crepúsculo), cada um representativo de uma estação do ano e coincidentes em regimes e horários das marés, como referido. A amostragem para determinação das variáveis em estudo (Tab. 4.2) foi efectuada a meio da coluna de água, também já referido. Pretendeu-se explorar e identificar os principais padrões de variabilidade dos dados, numa perspectiva relacionada com a variável *Clorofila a*, indicador da biomassa fitoplanctónica e, portanto, considerada como a variável resposta nesta abordagem.

Numa primeira fase procedeu-se, como já referido, a uma análise estatística exploratória, tendo também sido elaborados histogramas e *boxplots* de todas as variáveis quantitativas nos dados, e gráficos de barras para variáveis qualitativas / categóricas. Procurou-se também detectar, a nível exploratório, a existência de padrões gerais de variabilidade e tendências nas variáveis e no cruzamento entre variáveis cuja relação se afigurou, à partida, verosímil, por exemplo, através de gráficos do tipo *waffle*.

Numa segunda fase procurou-se relacionar, a nível inferencial, o dia de amostragem (cada um de quatro dias amostrados numa estação do ano diferente) com a variabilidade da concentração de clorofila *a*. Uma vez que a variável *dia* consiste num factor com quatro níveis, investigou-se, em primeiro lugar, o teste de Normalidade de Shapiro-Wilk (Conover, 1980) à normalidade da distribuição dos valores de Clorofila *a* dentro de cada nível do factor *dia*. Este teste levou à adopção de uma alternativa não-paramétrica à

Análise de Variância a 1 factor, nomeadamente, o teste de Kruskal-Wallis (Conover, 1980).

Na terceira fase de análise, e com base nas tendências de variabilidade observadas na fase correspondente à análise exploratória (primeira fase) e na sequência da segunda fase, procurou-se relacionar a variação da concentração de clorofila *a* em função dos factores bióticos e abióticos (Tab. 4.2), anteriormente descritos, identificando efeitos significativos e descrevendo o modo como covariáveis contribuem para explicar o total de variabilidade das observações. Com este fim utilizaram-se também Modelos Lineares Generalizados – MLG (McCullagh, & Nelder, 1989). Nesta fase foi adoptado o procedimento adaptativo descrito anteriormente, tendo sido adoptado o modelo Gama para explicar a distribuição da variável resposta (Turkman & Silva, 2000). A estratégia *stepwise backward* (Turkman & Silva, 2000) na selecção do melhor modelo e o Critério de Informação de Akaike (AIC) na comparação entre modelos foram também aqui procedimentos adoptados, bem como a utilização de *quantile residuals* específicos para a distribuição Gama (Dunn & Smyth, 1996).

Na abordagem metodológica utilizaram-se os programas R (*R Development Core Team*, 2009 – análise exploratória e modelação) e *Statistica* (*StatSoft Inc.* – análise exploratória). O pacote *statmod* (Smyth *et al.*, 2009) foi também utilizado na modelação (*quantile residuals*).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Radiação UV-B: padrões gerais e efeitos de factores abióticos

Na Figura 4.1 apresentam-se os histogramas da variável “radiação UV-B” (irradiância UV-B, expressa em $\mu\text{W cm}^{-2}$) para o total de observações (radiação atmosférica e no meio aquático, a diferentes profundidades; radiação atmosférica; radiação no meio aquático, incluindo todas as profundidades amostradas; e radiação no meio aquático por profundidade amostrada).

A distribuição dos valores de radiação UV-B amostrados no meio aquático apresenta uma forte assimetria positiva, estando a maioria dos valores observados localizada à esquerda dos histogramas (valores relativamente reduzidos de radiação UV-B), com relativamente reduzido número de observações ocupando o extremo direito da distribuição (valores relativamente elevados de radiação UV-B) (Fig. 4.1).

Na Tabela 4.3 apresentam-se os valores do coeficiente de assimetria estimada pelo método dos momentos (Abramowitz and Stegun, 1972; Rohatgi, 1976). Note-se que o valor de referência – zero – corresponde a uma distribuição perfeitamente simétrica (distribuição Normal), enquanto que valores positivos e negativos denotam, respectivamente, a existência de assimetria positiva e negativa. De um modo geral, e não existindo nenhum limite de referência fixo, coeficientes de assimetria, em módulo, acima de 0,5 revelam a presença de assimetria considerável na amostra em questão. No caso da variável radiação

UV-B por profundidade, os valores do coeficiente de assimetria são relativamente elevados, sobretudo, para as profundidades 1,0 m, 1,5 m e 2,0 m (Tab. 4.3).

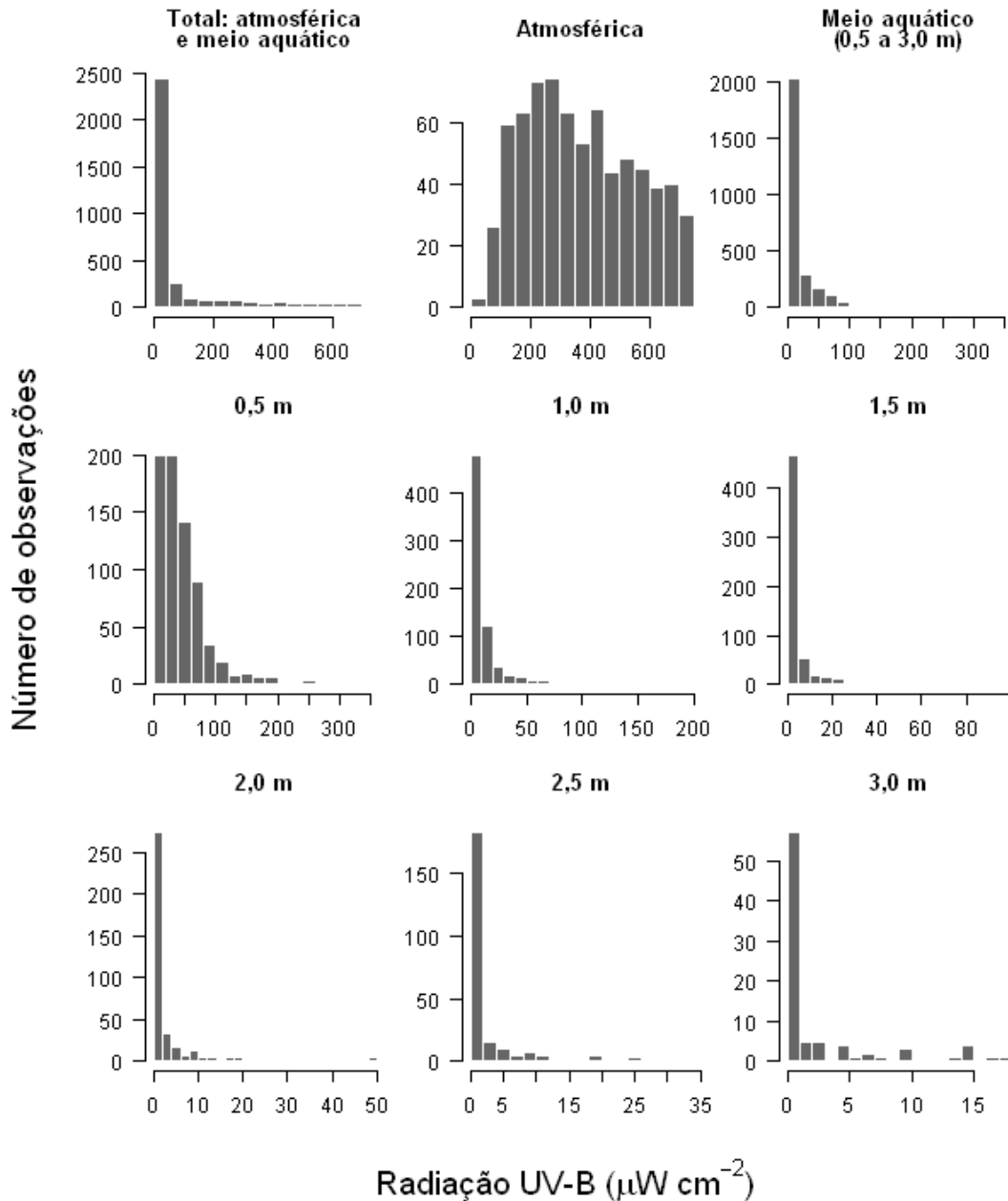


Figura 4.1 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, histogramas da variável “radiação UV-B”: total de observações no período de amostragem (radiação atmosférica e no meio aquático, a diferentes profundidades), radiação atmosférica, radiação no meio aquático (todas as profundidades amostradas) e radiação no meio aquático por profundidade (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 m de profundidade).

Tabela 4.3 – Valores do coeficiente de assimetria estimado pelo método dos momentos para a variável radiação UV-B: radiação UV-B atmosférica e por profundidade. Conjunto de dados “*Semanais*”.

UV-B	Atmosférica	0,5 m	1,0 m	1,5 m	2,0 m	2,5 m	3,0 m
Coef. de assimetria	0,25	2,42	4,00	4,35	3,76	3,13	2,02

Nas Figuras 4.2 a 4.5 apresentam-se as distribuições das variáveis *hora* (hora de amostragem), *estação* (estação do ano), *sechi* (profundidade do disco de Sechi) e *nuvens* (presença / ausência de nuvens), respectivamente.

À excepção das classes horárias [10,11h[e [16,17h[, que apresentam poucas observações devido à amostragem se ter focado sobretudo entre as 11:00 e as 15:30 (fotoperíodo de radiação UV-B máxima) inclusive, a distribuição do total de observações pelas classes é consideravelmente homogénea (Fig. 4.2).

No Inverno, a intensidade de amostragem (dia × hora × profundidade) foi ligeiramente superior (30%) à observada nas outras estações do ano – Outono (28%), Verão (22%) e Primavera (20%), por ordem decrescente de número de observações (Fig. 4.3).

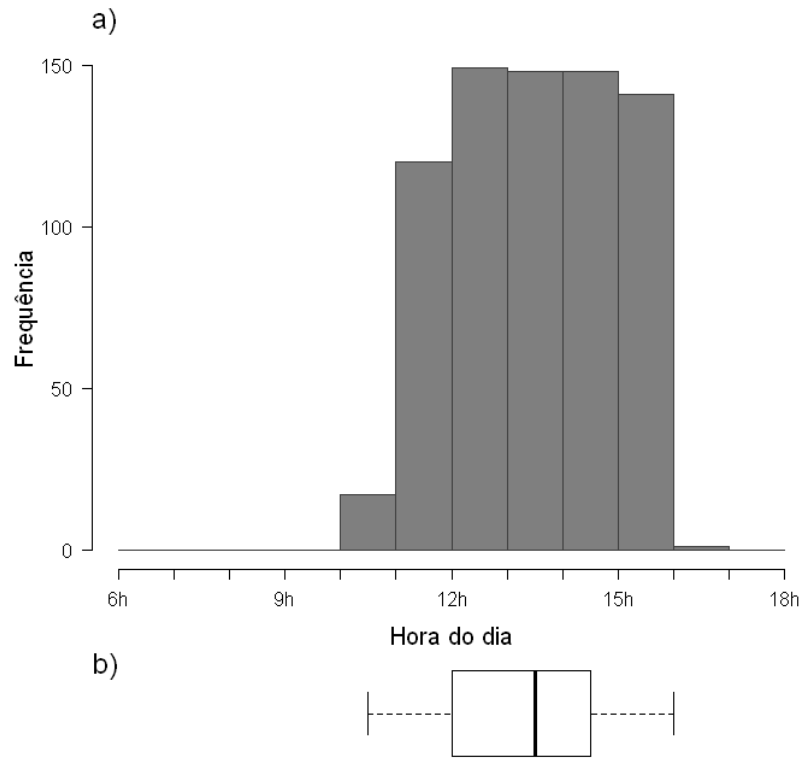


Figura 4.2 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, distribuição da frequência de observações (histograma) da variável *hora* (hora do dia): a) histograma, as amplitudes de classe são de 1h, incluindo observações ao limite inferior ([inf,sup]); b) caixa-de-bigodes (*boxplot*), os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, respectivamente (Zar, 1984).

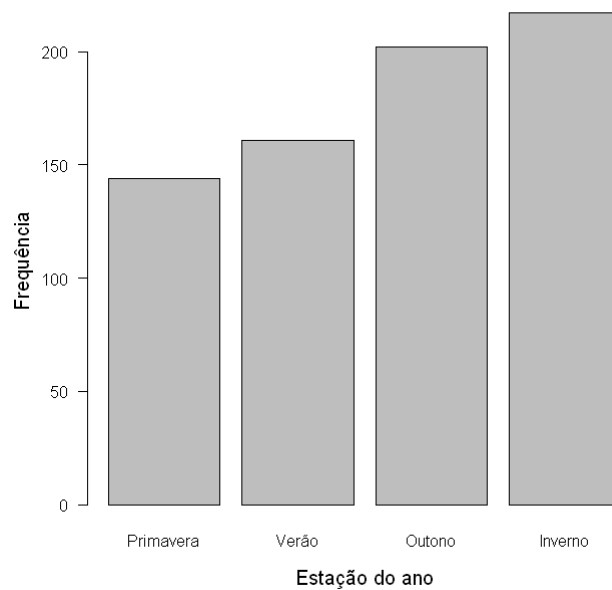


Figura 4.3 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: distribuição da frequência de observações (gráfico de barras) da variável *estação* (estação do ano).

A distribuição dos valores observados da profundidade do disco de *Secchi* revelou uma ligeira assimetria positiva, devido à influência de *outliers* (Fig. 4.4b). Os valores mais observados situaram-se nas classes [1,0, 1,5 m[e [1,5, 2,0 m[. No que se refere à nebulosidade, a maioria das observações corresponde a condições de céu limpo (76%) (Fig. 4.5).

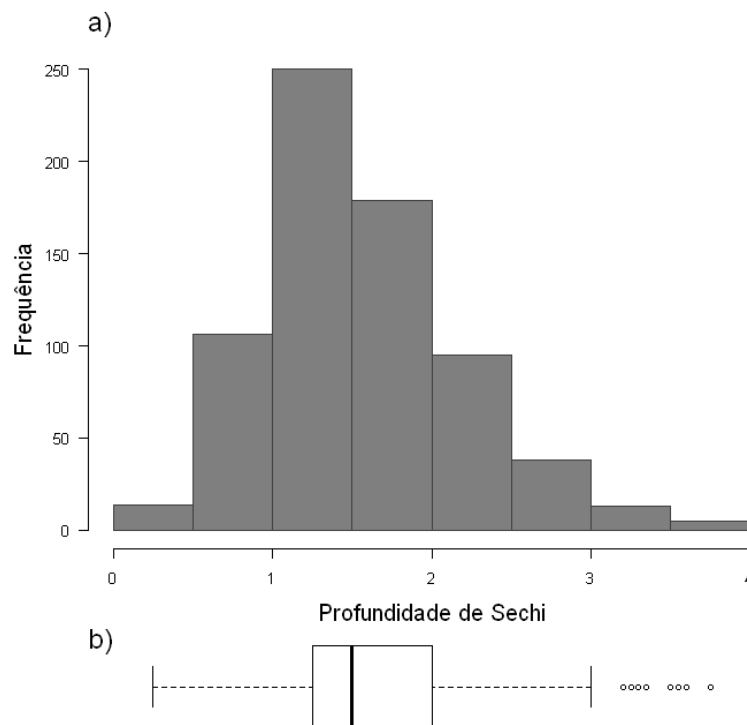


Figura 4.4 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, distribuição da variável *sechi* (profundidade do disco de *Secchi*): a) histograma – as amplitudes de classe são de 0,5 m, incluindo observações ao limite inferior – [inf,sup[; b) caixa-de-bigodes (*boxplot*) – os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”).

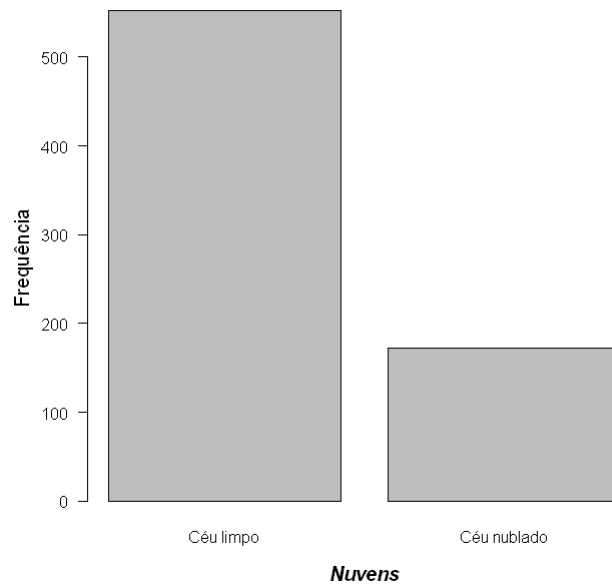


Figura 4.5 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: distribuição da frequência de observações (gráfico de barras) da variável *nuvens* (presença ou ausência de nebulosidade).

De modo a tentar perceber, a nível exploratório, se os dados sugerem relações entre a variável radiação UV-B atmosférica e a estação do ano, hora, e o ano cronológico, efectuaram-se *boxplots* das observações da radiação UV-B por estação do ano (Fig. 4.6), e um gráfico de barras *clustered* (agrupados) (Fig. 4.7), discriminando os valores da radiação UV-B atmosférica por estação do ano, ao longo dos anos de amostragem.

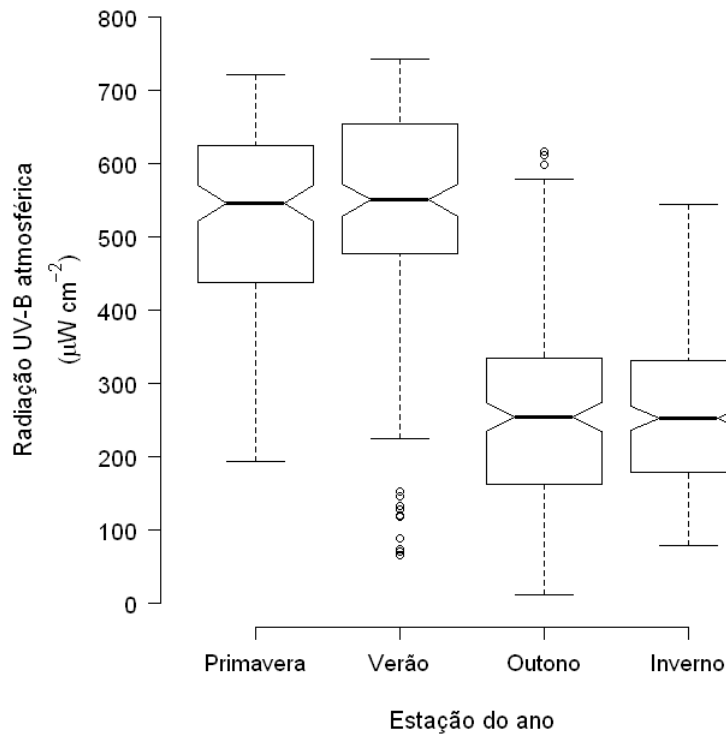


Figura 4.6 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: *boxplots* dos valores observados de radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em função da estação do ano. Os limites inferior e superior e a secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“^{oo}”).

De acordo com Chambers *et al.* (1983), o entalhe (*notch*) ao nível da mediana (Fig. 4.6) pode ser utilizado para deduzir, com fiabilidade, a existência de diferença significativa entre medianas, no caso de não existir sobreposição entre dois entalhes adjacentes. Utilizando esta regra, parece não existir diferenças na radiação UV-B atmosférica entre a Primavera e o Verão e entre o Outono e o Inverno. No entanto, utilizando esta mesma regra, a radiação no primeiro caso (Primavera e Verão) parece ser significativamente superior ao segundo (Outono e Inverno), atingindo valores máximos acima de $700 \mu\text{W cm}^{-2}$ na Primavera e no Verão.

Ao analisar a variação da radiação UV-B média ao longo das estações do ano entre 1996 e 2000 (Fig. 4.7), verifica-se um aumento expressivo da intensidade de radiação UV-B na Primavera e no Verão nos últimos 3 anos, face às médias obtidas em 1996. A radiação UV-B média aumentou substancialmente no Outono e no Inverno de 1999, ultrapassando o patamar dos $400 \mu\text{W cm}^{-2}$ nesta última estação. A radiação UV-B média do Inverno de 2000 foi obtida com base num único dia de amostragens (várias horas de observações e registos), motivo pelo qual este valor não é utilizado para fins comparativos com os restantes anos.

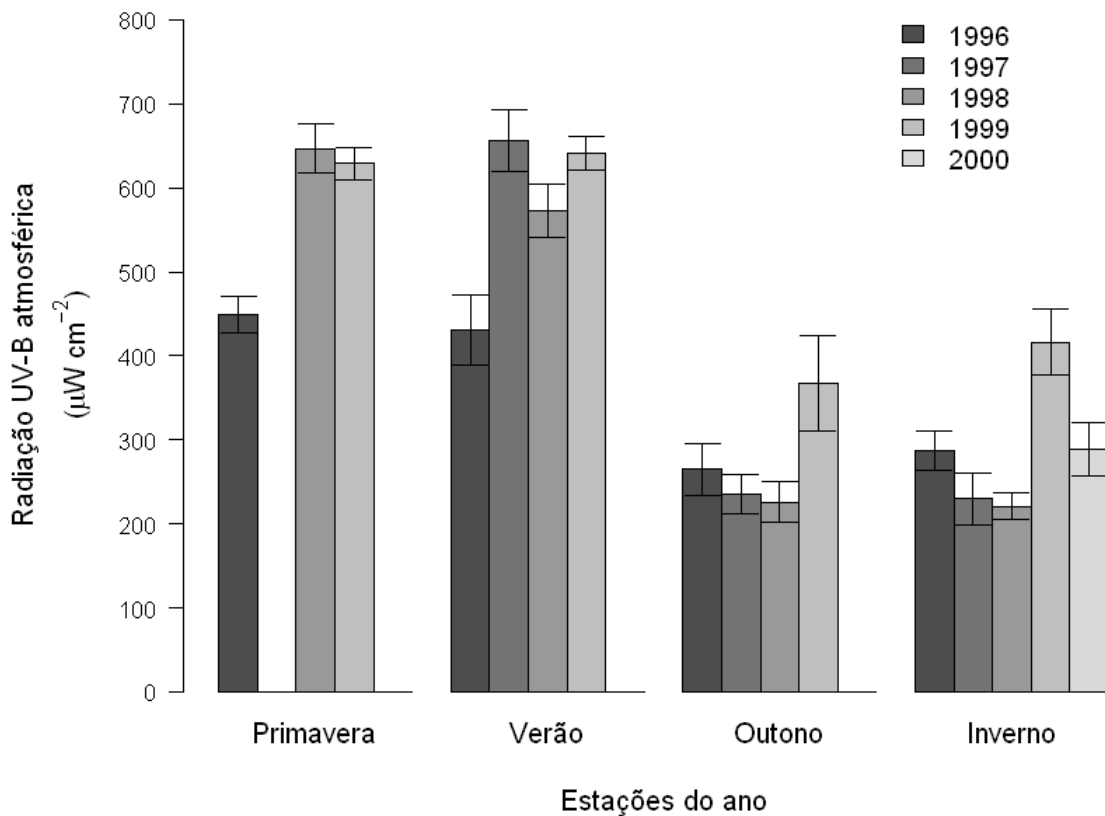


Figura 4.7 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em função da estação do ano (eixo das abcissas) e do ano cronológico (variável de agrupamento). A altura das barras denota valores médios (\bar{y}), enquanto que os segmentos de recta verticais representam o intervalo de 95% de confiança para a média respectiva ($\bar{y} \pm t_{0.05(2),v} s/\sqrt{n}$) (Pestana & Velosa, 2006).

Na Figura 4.8 apresentam-se os resultados da análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”, consistindo na apresentação de uma série temporal da radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$) amostrada ao longo das horas, dias e anos. A linha de tendência foi ajustada às observações pelo método não-paramétrico *loess – locally-weighted regression* e revela a oscilação ajustada nos valores obtidos ao longo das horas, dias e anos amostrados. As médias mensais são apresentadas a título comparativo, não tendo sido incluídas no ajuste. O eixo das abcissas respeita o dia cronológico (dia cronológico 1 = 1º dia de amostragem – 13/2/1996; dia cronológico 1440 = 74º dia de amostragem – 22/1/2000). As médias mensais são reportadas ao dia cronológico referente ao primeiro dia amostrado em cada mês. Devido a este motivo, a distância entre “meses” representada na escala é desigual.

Da análise da Figura 4.8 verifica-se que as irradiâncias UV-B observadas nos meses de Inverno do último ano (1999) são superiores às dos anos anteriores e as irradiâncias observadas nos meses do Verão de 1996 são relativamente inferiores às observadas nos anos seguintes. Entre Fevereiro e Julho de 1997 não foram realizadas amostragens. Do ajuste da linha de tendência torna-se mais fácil a interpretação e visualização do exposto.

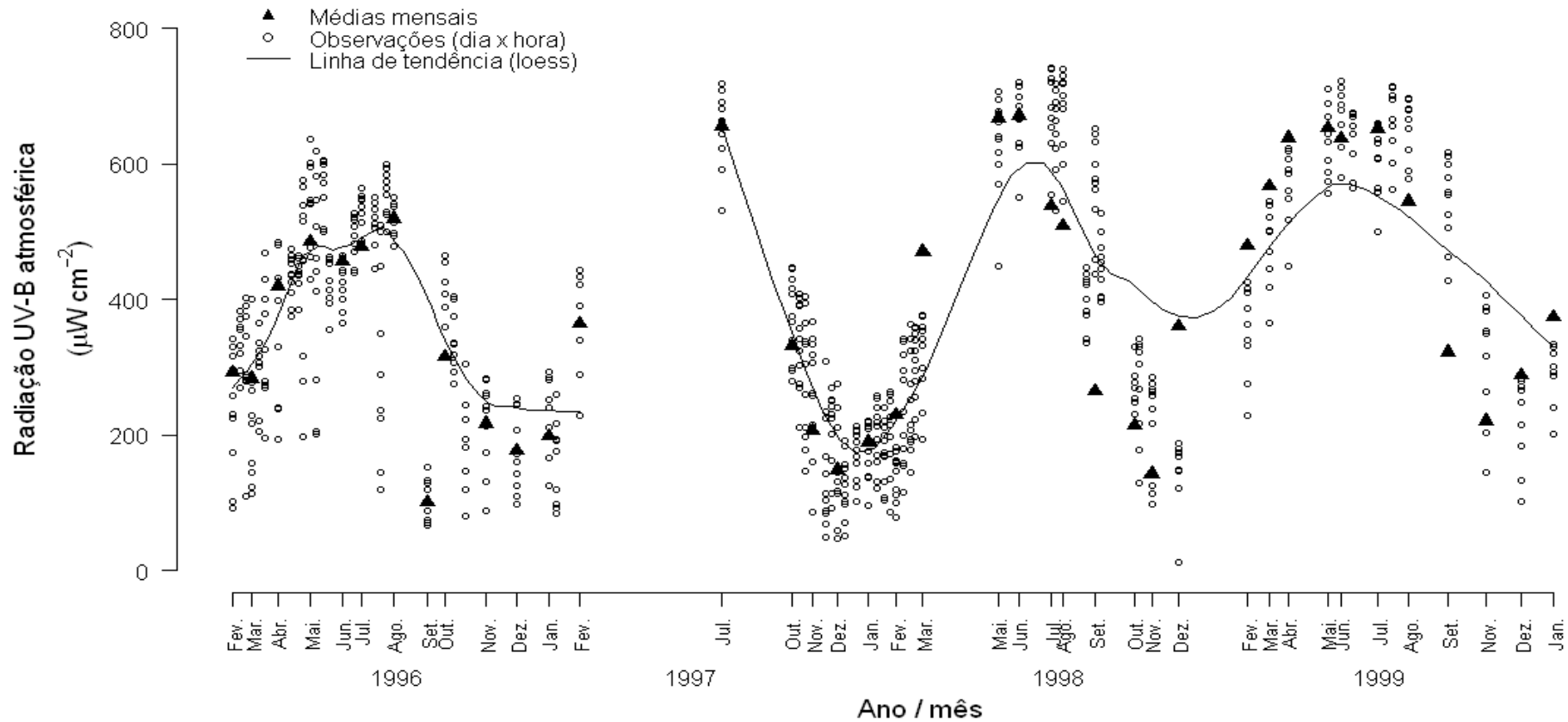


Figura 4.8 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Semanais*”: série temporal da radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$) amostrada (dia \times hora de amostragem). A linha de tendência foi ajustada às observações pelo método não-paramétrico *loess* – *locally-weighted regression* (Hastie & Tibshirani, 1990). As médias mensais são apresentadas a título comparativo, não tendo sido incluídas no ajuste. O eixo das abcissas respeita o dia cronológico (dia cronológico 1 = 1º dia de amostragem – 13/2/1996; dia cronológico 1440 = 74º dia de amostragem – 22/1/2000). As médias mensais são reportadas ao dia cronológico referente ao primeiro dia amostrado em cada mês. Devido a este motivo, a distância entre “meses” é desigual.

Na Figura 4.9 é apresentada a variação dos valores de radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$), em função da hora e da estação do ano, sendo apresentada na Figura 4.10 a variação referente à radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) na coluna de água da Ria, em função das mesmas variáveis. Da análise da Figura 4.8 verifica-se que os valores mais elevados da radiação UV-B ($> 460 \mu\text{W cm}^{-2}$) são detectados entre as 10:45 e as 15:45 (hora local) na Primavera e no Verão.

Na coluna de água (Figura 4.10), os valores mais elevados da radiação UV-B ($> 30 \mu\text{W cm}^{-2}$) são detectados entre as 12:15 e as 15:30 (hora local) no Verão (Fig. 4.10). Na Primavera, a radiação UV-B na água atinge valores no intervalo 20 - 30 $\mu\text{W cm}^{-2}$ entre as 10:45 e as 14:15. Apenas no Inverno são detectadas irradiâncias abaixo de 10 $\mu\text{W cm}^{-2}$ durante o fotoperíodo máximo.

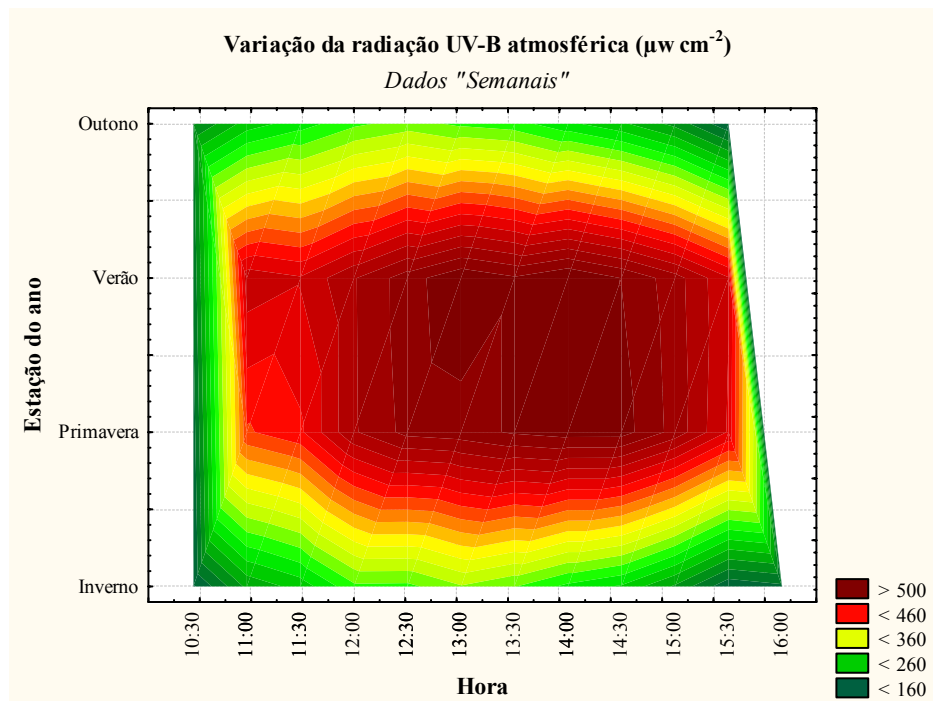


Figura 4.9 – Variação da radiação UV-B atmosférica ($\mu\text{W cm}^{-2}$) ao longo das estações do ano e da hora (no intervalo do fotoperíodo máximo), baseada na análise do conjunto de dados “Semanais”.

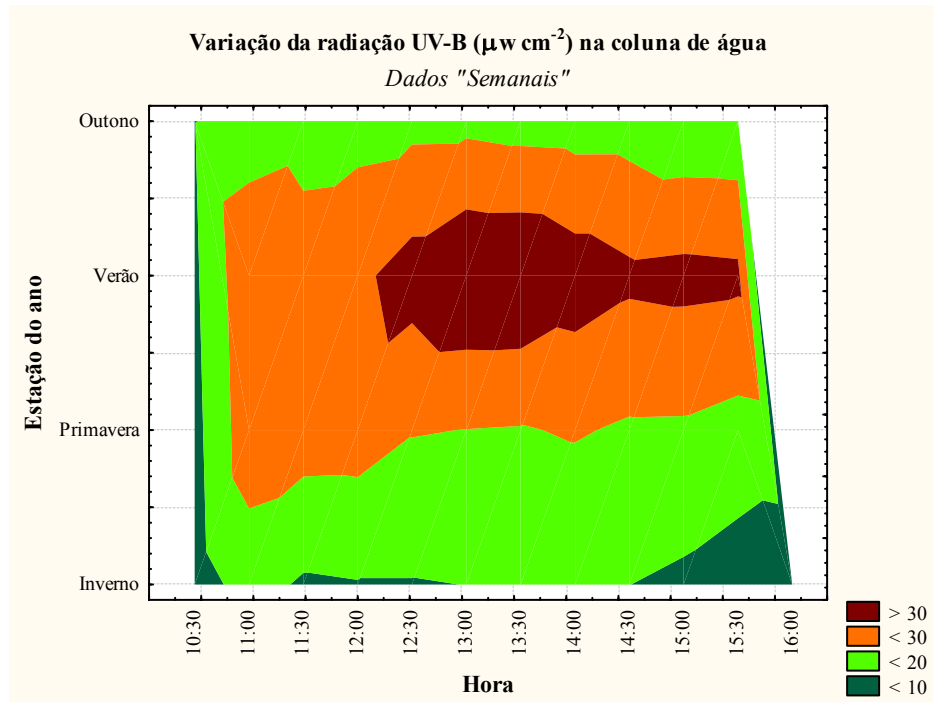


Figura 4.10 – Variação da radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) na coluna de água da Ria Formosa (dados integrados de todas as profundidades amostradas), ao longo das estações do ano e da hora (no intervalo do fotoperíodo máximo), baseada na análise do conjunto de dados “Semanais”.

4.3.2 Relação da radiação UV-B atmosférica com factores abióticos

Com vista a relacionar a variação da radiação UV-B atmosférica em função de factores ambientais, identificar efeitos significativos e descrever o modo como as covariáveis contribuem para explicar o total de variabilidade das observações da radiação UV-B atmosférica, utilizaram-se Modelos Lineares Generalizados – MLG (McCullagh, & Nelder, 1989). A distribuição da variável resposta (“UV-B atmosférica”) apresenta assimetria positiva (Fig. 4.1, Tab. 4.1) e consiste apenas de valores positivos. Para além destes motivos é de supor que o desvio padrão aumenta com a média. Neste sentido utilizou-se o modelo Gama para a distribuição da resposta (Turkman & Silva, 2000), tendo sido

utilizada a função de ligação *log*, assumindo assim que as covariáveis interagem de uma forma multiplicativa (McCullagh, & Nelder, 1989).

Seleccção do melhor modelo

Na Tabela 4.4 encontram-se sintetizados os passos efectuados na obtenção do melhor modelo ajustado para explicar a variação da radiação UV-B atmosférica, em função das variáveis *ano*, *estação do ano* e *nuvens*.

Tabela 4.4 – Passos na análise *stepwise backward* seguida para a obtenção do melhor modelo linear generalizado ajustado para explicar a resposta *radiação UV-B atmosférica*, em função das variáveis *ano*, *estação do ano* e *nuvens*, referente ao conjunto de dados “*Semanais*”. “gls” denota graus de liberdade.

Passo	Covariável eliminada	AIC	Desvio	gls	p-value
1 (modelo saturado)		9006			
2	<i>Hora do dia</i>	9006	0,02	1	0,683

Após a exclusão da variável *hora do dia* obteve-se um modelo com efeitos principais todos significativos ($p < 0,05$). Procurou testar-se a significância da interacção entre o *ano* e a *estação do ano*, com o objectivo de tentar perceber se o efeito da estação do ano diferiria ao longo dos anos. No entanto, esta abordagem conduziu a um problema de multicolinearidade, isto é, a existência de correlação entre estas covariáveis, indicando que o modelo seria inadequado (Draper & Smith, 1981). Deste modo, adoptou-se o modelo contendo apenas efeitos principais como o modelo final (eq. 4.3), expresso da seguinte forma:

$$\text{UV-B atmosférica} \sim \text{factor(ano)} + \text{factor(estação)} + \text{factor(nuvens)} \quad (4.3)$$

Os resultados da ANOVA deste modelo são apresentados na Tabela 4.5, sendo apresentado na Tabela 4.6 o sumário contendo as estimativas dos parâmetros (coeficientes) para cada nível das covariáveis. Para fins de simplificação, na equação 4.3 não se explicitam a função de ligação para a resposta, o preditor linear e a componente não explicada – residual.

Tabela 4.5 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta *radiação UV-B atmosférica*, em função das variáveis *ano*, *estação do ano* e *nuvens*, referente ao conjunto de dados “*Semanais*”: resultados da ANOVA. “gls” denota graus de liberdade.

Covariável	gls	Desvio	gls residual	Desvio residual	p-value	Var. explicada (%)
Mod. nulo			715	211,3		
<i>factor(estação)</i>	3	91,4	712	119,9	$<2,2e^{-16}$	43,1
<i>factor(ano)</i>	1	12,6	709	107,4	$<2,2e^{-16}$	6,0
<i>factor(nuvens)</i>	1	1,4	708	106,0	$\sim 0,0006$	0,7
Modelo final		105,4				49,8%

Tabela 4.6 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta *radiação UV-B atmosférica*, em função das variáveis *ano*, *estação do ano* e *nuvens*, referente ao conjunto de dados “*Semanais*”: sumário com a informação das estimativas para os coeficientes de cada termo \times níveis.

Covariável	Coefficiente estimado	Erro padrão	valor de t	p-value
(<i>Intercept</i>)	6,231	0,038	163,463	$< 2e^{-16}$
<i>factor(estacao)2</i>	0,021	0,041	0,514	0,608
<i>factor(estacao)3</i>	-0,662	0,042	-15,827	$< 2e^{-16}$
<i>factor(estacao)4</i>	-0,643	0,040	-15,912	$< 2e^{-16}$
<i>factor(ano)2</i>	-0,060	0,043	-1,397	0,163
<i>factor(ano)3</i>	-0,042	0,039	-1,088	0,277
<i>factor(ano)4</i>	0,288	0,044	6,616	$7,3e^{-11}$
<i>factor(nuvens)2</i>	-0,130	0,037	-3,459	0,0006

Tal como pode ser observado na equação 4.3, o modelo final consiste num modelo de ANOVA, uma vez que as covariáveis retidas são todas categóricas. Da tabela 4.5 pode

observar-se que o modelo explica cerca de 50% da variabilidade total nos dados, ou seja, metade da variabilidade da radiação UV-B atmosférica na Ilha de Faro é função da estação, do ano e da presença ou ausência de nuvens.

Validação do modelo

Na validação do modelo (Fig. 4.11), utilizaram-se *quantile residuals* específicos para a distribuição Gama (Dunn & Smyth, 1996), tal como referido anteriormente. A Figura 4.11 revela que não existem violações importantes aos pressupostos do modelo, dado que se verifica Normalidade dos resíduos (Fig. 4.11a) e um padrão incaracterístico na nuvem de pontos entre resíduos e valores estimados (Fig. 4.11b).

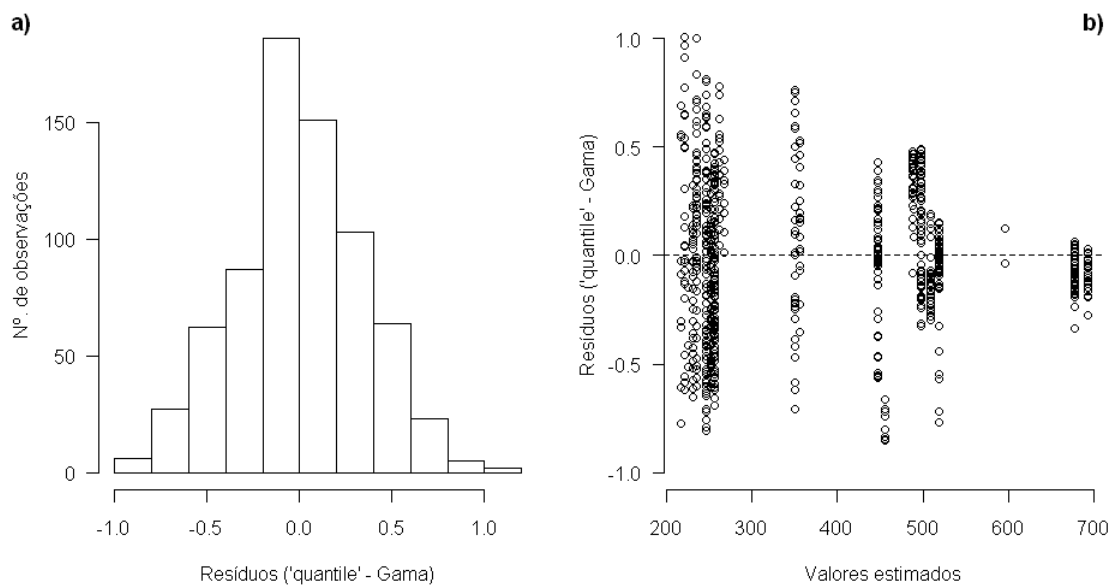


Figura 4.11 – Validação do modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta *radiação UV-B atmosférica*, em função das variáveis *ano*, *estação do ano* e *nuvens*, análise de diagnóstico: a) histograma dos resíduos (padronizados para a distribuição Gama); b) resíduos (padronizados para a distribuição Gama) contra valores estimados.

Efeitos parciais das covariáveis

Na Figura 4.12 são apresentados os efeitos parciais das covariáveis retidas no modelo final – *estação do ano*, *ano*, e *nuvens*, através de gráficos dos valores dos coeficientes estimados (ordenadas) contra níveis das variáveis (abscissas). Os coeficientes representados com pontos preenchidos denotam que os mesmos são significativos, ou seja, que o nível respectivo (por exemplo, Outono) é significativamente diferente (neste caso, inferior) que o primeiro nível da variável tido como referência no modelo (Primavera). Os efeitos *Inverno* e *céu nublado* são também significativamente inferiores aos *Primavera* e *céu limpo*, respectivamente (Fig. 4.12). Por outro lado, o efeito *1999* é, de entre os níveis da variável *ano* significativamente superior ao primeiro dos níveis desta variável (*1996*).

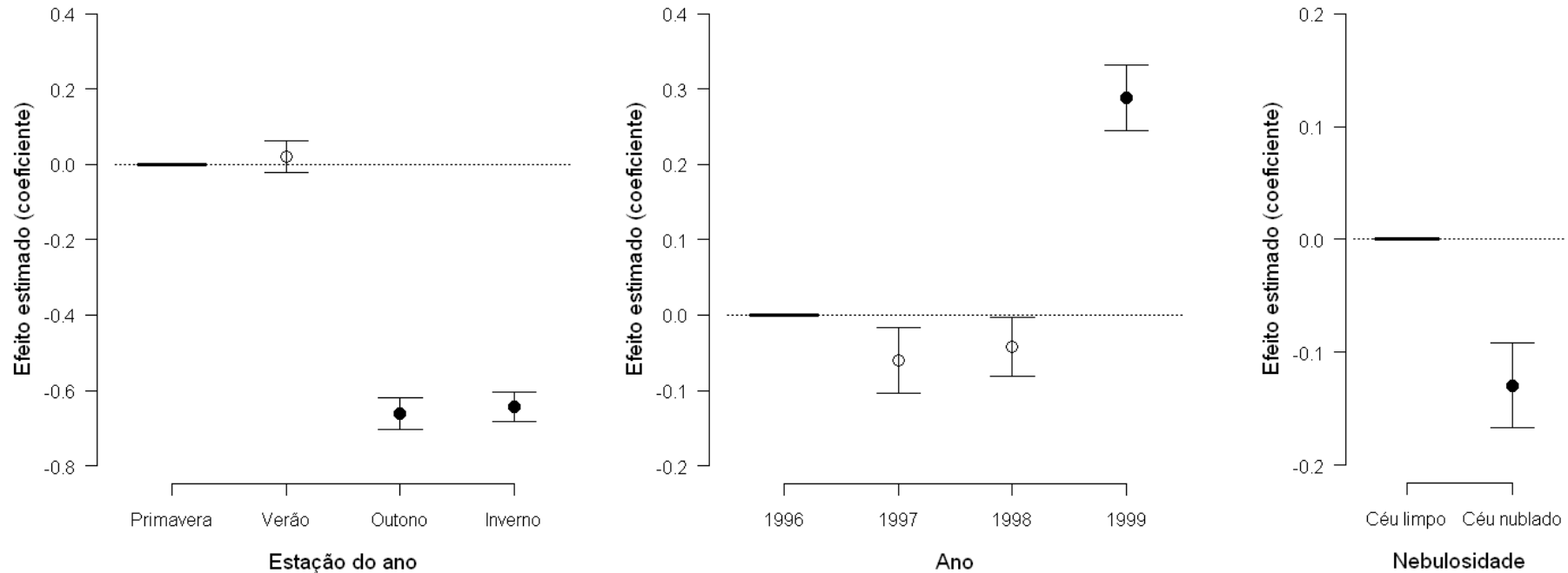


Figura 4.12 – Efeitos parciais das covariáveis categóricas (*estação do ano*, *ano* e *nebulosidade*) incluídas no modelo linear generalizado ajustado à variável resposta *UV-B atmosférica*, do conjunto de dados “*Semanais*”: valores dos coeficientes para cada nível. O erro padrão de cada coeficiente encontra-se representado pelas bandas verticais. Os primeiros níveis de cada covariável não possuem estimativas de variabilidade separadamente, dado que servem de referência aos restantes níveis e encontram-se “incorporados” na estimativa de β_0 do modelo. Círculos preenchidos denotam coeficientes significativamente diferentes do valor zero de referência (primeiro nível da respectiva variável, representado graficamente à esquerda com um traço a negrito), enquanto que círculos vazios indicam não haver diferença significativa de zero, ou seja, o nível correspondente não difere significativamente do primeiro dos níveis das covariáveis, utilizado como referência.

4.3.3 Variabilidade de factores bióticos e abióticos no *pico solar*

Nas Figuras 4.13 a 4.16 são apresentados os histogramas das variáveis analisadas no conjunto de dados “*Pico solar*”. Da observação da Figura 4.13 denota-se uma assimetria positiva em todos os gráficos representados, sendo mais pronunciada na Clorofila *a*, com a maior frequência de observações correspondente a valores inferiores a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 4.13a) e Clorofila *c*, com a maior frequência de observações com valores inferiores a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 4.13e). A Clorofila *b*, cujas concentrações são iguais ou inferiores a $4 \mu\text{g L}^{-1}$, apresenta uma maior frequência de concentrações com valores inferiores a $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$, com uma segunda moda na gama de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 4.13i). A maior frequência de concentrações de Feopigmentos corresponde a concentrações inferiores a $15 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 4.13c). A distribuição da variável Carotenóides é de algum modo incaracterística, com um pico modal marcado no extremo esquerdo da distribuição, abaixo de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$, e uma segunda moda evidente na gama de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e outra, na gama de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 4.13g).

Analogamente, na Figura 4.14 são apresentados os histogramas para as variáveis Temperatura, pH, Turbidez, Cor e Oxigénio dissolvido. Verifica-se que a temperatura varia entre 12 e 28 °C (Fig. 4.14a), a maior frequência dos valores de pH corresponde a valores entre 8,0 e 8,5 (Fig. 4.14c) e os valores de Turbidez são inferiores a 13 NTU, correspondendo a maior frequência de observações a valores entre 5 e 7 NTU (Fig. 4.14e). Para a Cor, a maior frequência das observações corresponde a valores inferiores a 30 UH (Fig. 4.14g). As concentrações de Oxigénio dissolvido com valores entre 8,0 e 8,5 mg L^{-1} correspondem também à maior frequência de observações (Fig. 4.14i).

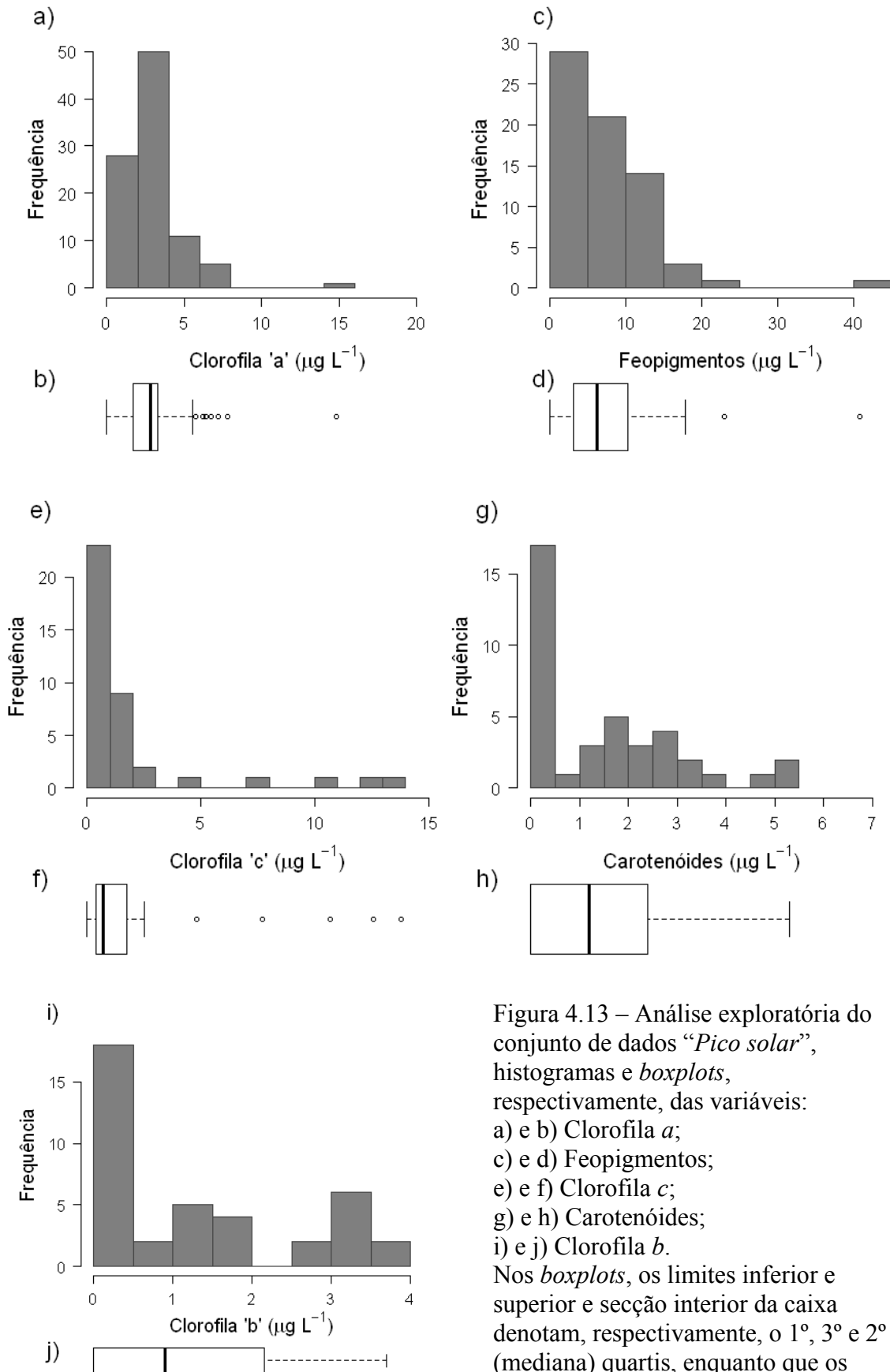


Figura 4.13 – Análise exploratória do conjunto de dados “Pico solar”, histogramas e *boxplots*, respectivamente, das variáveis:

- a) e b) Clorofila a;
- c) e d) Feopigmentos;
- e) e f) Clorofila c;
- g) e h) Carotenóides;
- i) e j) Clorofila b.

Nos *boxplots*, os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”).

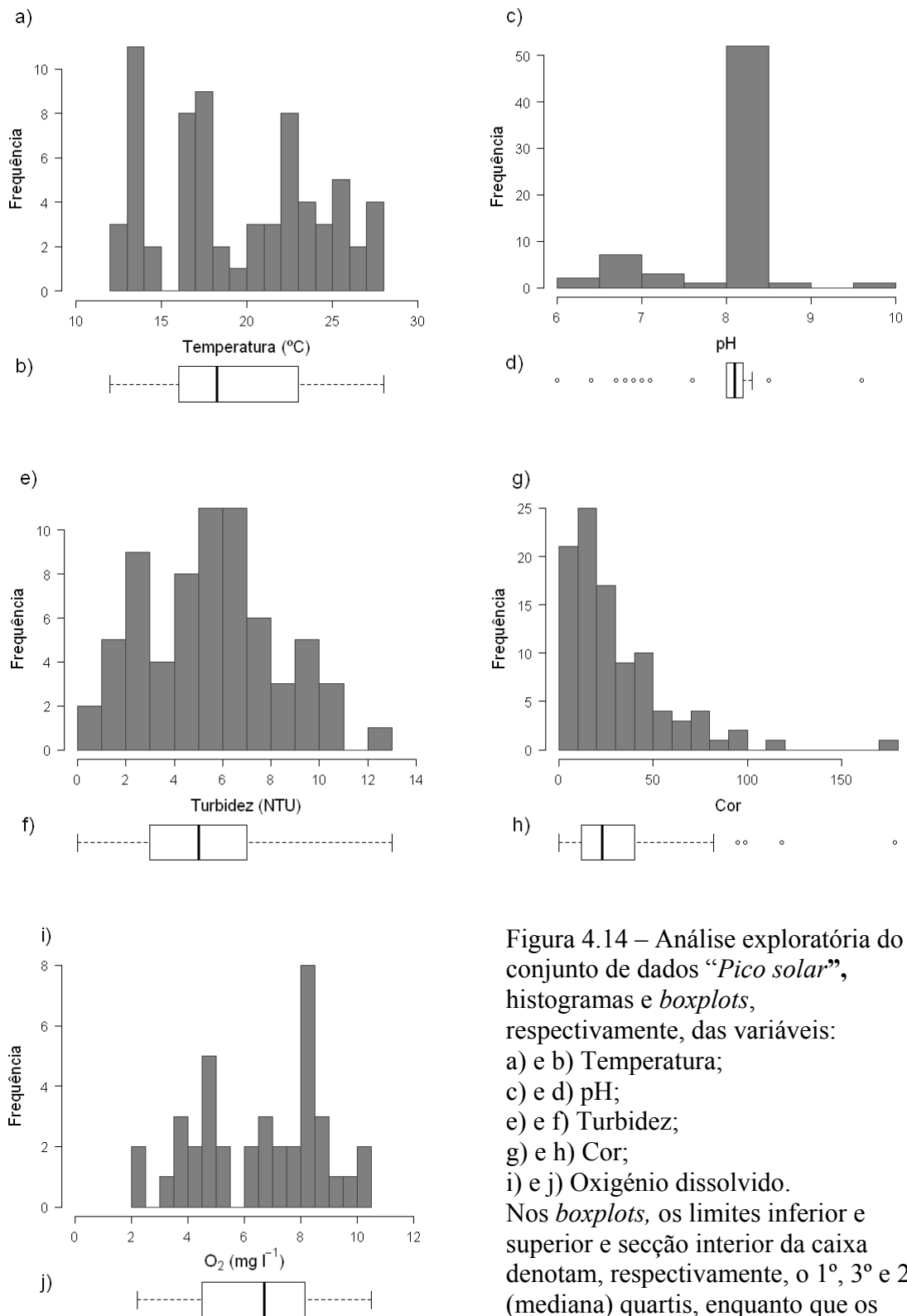


Figura 4.14 – Análise exploratória do conjunto de dados “Pico solar”, histogramas e *boxplots*, respectivamente, das variáveis: a) e b) Temperatura; c) e d) pH; e) e f) Turbidez; g) e h) Cor; i) e j) Oxigénio dissolvido.

Nos *boxplots*, os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”).

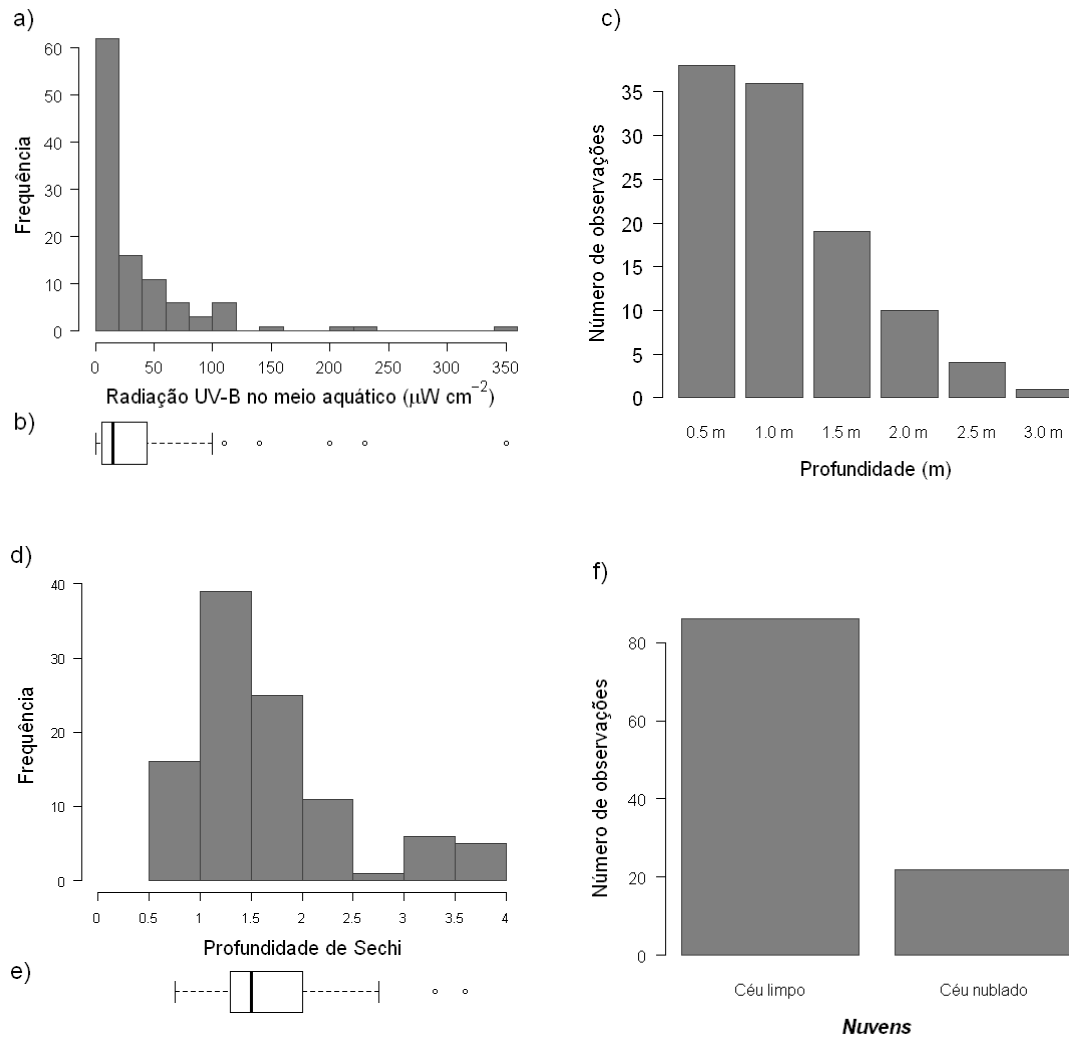


Figura 4.15 – Análise exploratória do conjunto de dados “Pico solar”: a) histograma e b) *boxplot* da variável *radiação UV-B no meio aquático* ($\leq 0,5$ m de profundidade); c) gráfico de barras da variável *Profundidade*; d) histograma e e) *boxplot* da variável *Profundidade de Sechi*; f) gráfico de barras da variável *Nebulosidade*.

Nos *boxplots*, os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”).

No que se refere à radiação UV-B na coluna de água, a maior frequência das observações corresponde à irradiância igual ou inferior a $20 \mu\text{W cm}^{-2}$ (Fig. 4.15a). A frequência das observações reduz-se com a profundidade (Fig. 4.15c). Para a profundidade do disco de *Sechi*, o maior número de observações corresponde à profundidade igual ou inferior a 1,5

m (Fig. 4.15d). A maioria das observações foi realizada sobre condições de céu limpo (80%) (Fig. 4.15f).

Na Figura 4.16 é apresentada a matriz de nuvens de pontos da variável *Clorofila a*, a qual é representativa da biomassa fitoplanctónica, contra as outras variáveis amostradas. No caso de variáveis independentes métricas discretas (*Profundidade*) ou categóricas (*Estação*, *Nuvens*) são utilizados *boxplots* (largura das caixas é proporcional ao número de observações). As unidades de grandeza de cada variável são discriminadas na Tabela 4.1. Note-se que a matriz original de dados possui alguns valores em falta, de forma que existem observações nesta figura que não são visíveis em todos os gráficos. Por exemplo, o valor atípico de cerca de $14 \mu\text{g L}^{-1}$ de concentração da clorofila *a* não é observável com o cruzamento com a variável Temperatura ou O_2 (oxigénio dissolvido).

Da análise da Figura 4.16 verifica-se que a concentração de clorofila *a* na Ria parece reduzir-se no Outono e aumentar a partir de uma certa temperatura da água (entre 22 e 28 °C). Não parece existir uma relação entre a *Clorofila a* e as variáveis *Clorofila b*, *Clorofila c*, *pH*, *Oxigénio dissolvido*, *Cor*, *Nuvens*, *Carotenóides* e *Secchi* (profundidade do disco de *Secchi*). Por sua vez, a concentração de Clorofila *a* parece reduzir-se com o aumento da radiação UV-B e da profundidade. A concentração de clorofila *a* parece ainda ser proporcional à concentração de feopigmentos na Ria e parece aumentar, embora de forma ligeira, com o aumento da turbidez e da concentração de carotenóides.

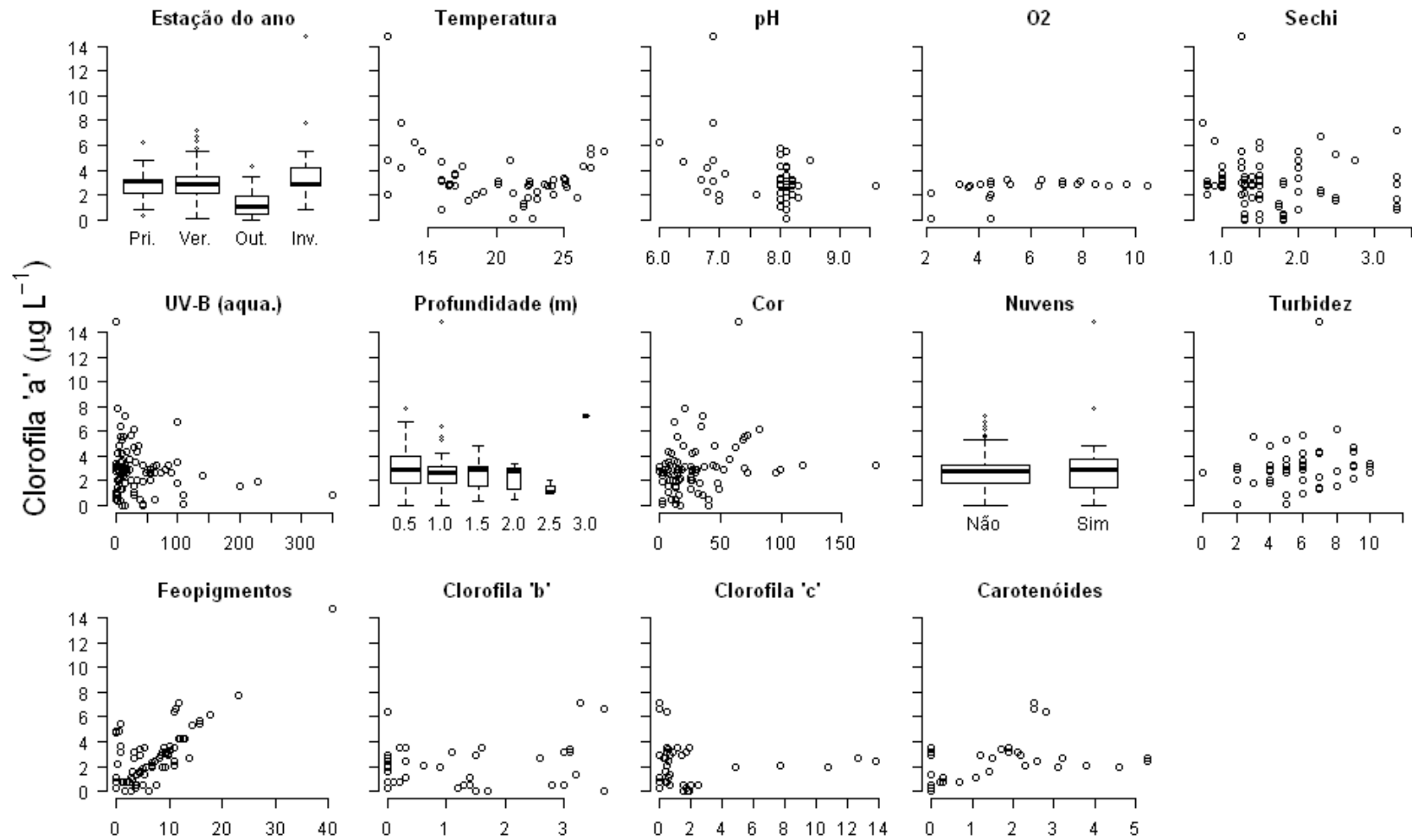


Figura 4.16 – Análise exploratória do conjunto de dados “Pico solar”: matriz de nuvens de pontos da variável *Clorofila a* contra outras variáveis amostradas; no caso de variáveis independentes métricas discretas (*Profundidade*) ou categóricas (*Estação* e *Nuvens*) são utilizados *boxplots* (largura das caixas é proporcional ao número de observações). As unidades de grandeza de cada variável encontram-se na Tabela 4.1.

De facto ao representar a distribuição da concentração de Carotenóides em função da radiação UV-B (Fig. 4.17), verifica-se o aumento na concentração destes pigmentos na Ria com o aumento da incidência desta gama de radiação na coluna de água.

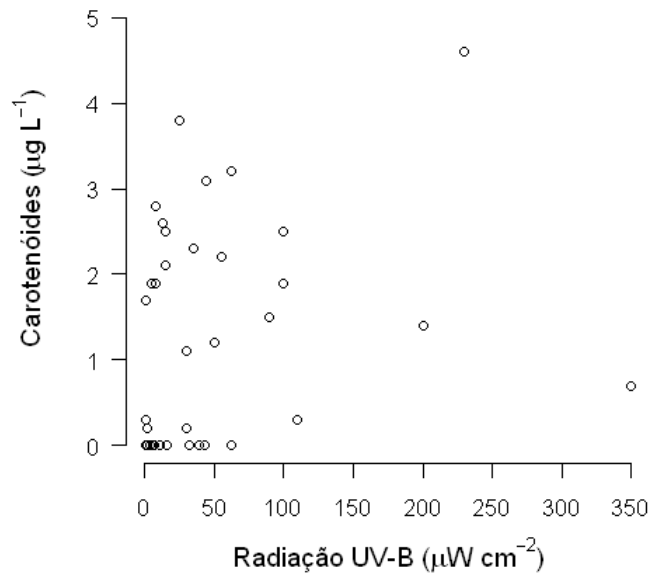


Figura 4.17 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Pico solar*”: nuvem de pontos da variável *Carotenóides* contra a variável *radiação UV-B*.

4.3.4 Atenuação da radiação UV-B na coluna de água

Com base nas amostragens efectuadas na hora de pico solar investigou-se ainda a existência de padrões espaciais e temporais na atenuação da radiação UV-B na coluna de água, medida pelo coeficiente de atenuação (K_d). A Figura 4.18 apresenta o histograma dos valores de coeficiente de atenuação obtidos.

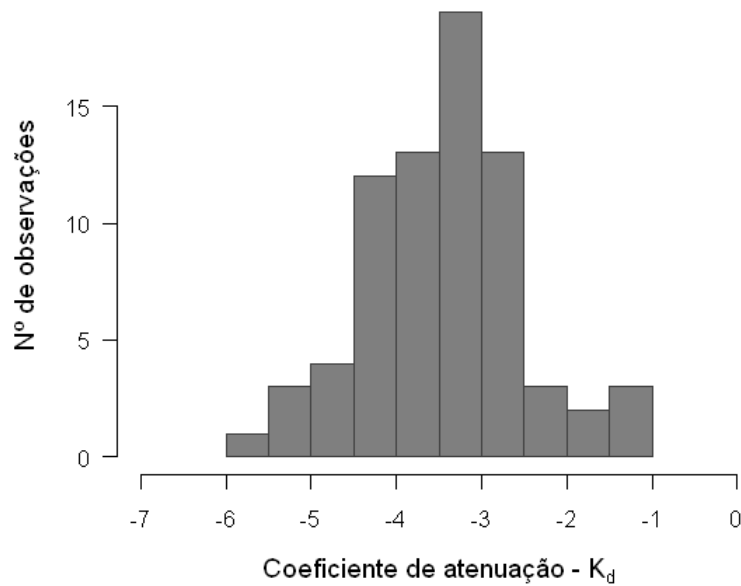


Figura 4.18 – Histograma dos valores estimados do coeficiente de atenuação (K_d) para cada dia de amostragem, referentes ao conjunto de dados “*Pico solar*”.

O padrão Normal sugerido pela Figura 4.18 foi confirmado pelo teste de Shapiro-Wilk, pela não rejeição da hipótese nula do mesmo ($W=0,98$; $p\sim 0,35$). No entanto, após investigar o delineamento resultante do cruzamento dos dois factores (*estação do ano* e *ano*) verificou-se uma elevada heterogeneidade na distribuição do número de observações pelo cruzamento dos níveis das covariáveis (Tab. 4.7).

Tabela 4.7 – Delineamento resultante do cruzamento das observações dos factores *estação do ano* e *ano* na variável resposta *radiação UV-B* na coluna de água, referente ao conjunto de dados “*Pico solar*”.

Estação \ ano	1996	1997	1998	1999
Primavera	9	0	2	4
Verão	7	0	5	3
Outono	5	12	5	3
Inverno	6	1	9	2

Uma vez que este padrão inviabilizou uma Análise de Variância a dois factores aplicou-se este método apenas a um factor, nomeadamente, à *estação do ano*, a fim de investigar a variabilidade sazonal, considerada como a mais relevante. Neste sentido, efectuaram-se, em primeiro lugar, *boxplots* para cada nível da variável, ou seja, para cada estação do ano (Fig. 4.19) e, posteriormente, a análise de variância, sendo os resultados apresentados na Tabela 4.8.

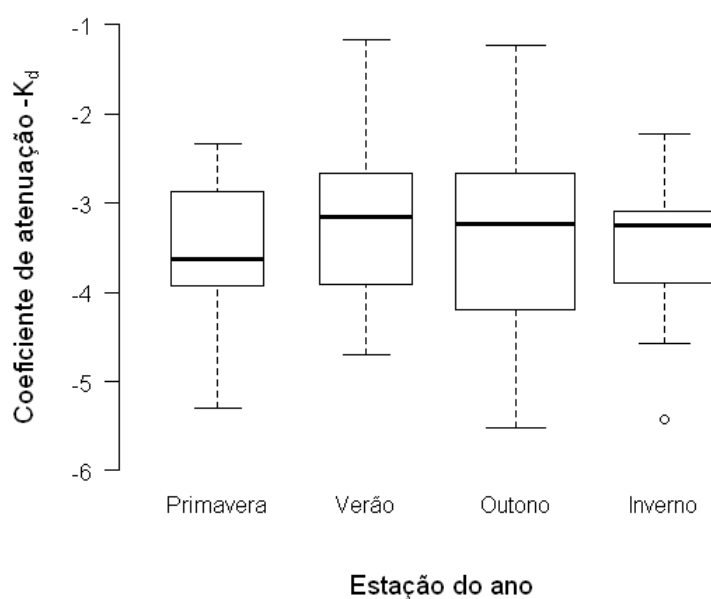


Figura 4.19 – *Boxplots* dos valores estimados do coeficiente de atenuação da radiação UV-B (K_d) na Ria Formosa para cada estação do ano. Os limites inferior e superior e secção interior da caixa denotam, respectivamente, o 1º, 3º e 2º (mediana) quartis, enquanto que os bigodes representam as observações mínima e máxima, excluindo *outliers* ou extremos (“o”).

Tabela 4.8 – Resultados da Análise de Variância a um factor (*estação do ano*) dos valores do coeficiente de atenuação da radiação UV-B (K_d) estimados para a Ria Formosa.

Fonte de variação	<i>gls.</i>	Soma de quadrados	Quadrados Médios	$F_{\text{calculado}}$	$Pr(>F)$
Estacao	1	0,057	0,057	0,0614	0,805
<i>Residual</i>	71	65,77	0,926		

Da análise da Tabela 4.8 conclui-se que não existem diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores do coeficiente de atenuação entre estações do ano ($p \sim 0,81$), tendo sido confirmado o padrão sugerido pelos *boxplots* (Fig. 4.19). A maior frequência de K_d corresponde a valores, em módulo, entre 3,0 e 3,5 m^{-1} , sendo a amplitude dos valores obtidos de 1,0 a 6,0 m^{-1} .

4.3.5 Tendências na Biomassa Fitoplanctónica

Com o objectivo de tentar identificar os principais padrões nos dados da concentração de clorofila *a* (considerada como variável resposta) e das restantes variáveis em estudo efectuou-se, analogamente ao procedimento anterior, uma matriz de nuvens de pontos (Fig. 4.20), com base no conjunto de dados “*Dias completos*”.

Da observação da Figura 4.20 ressalta que a concentração de clorofila *a* parece atingir valores máximos na Primavera, reduzindo-se gradualmente ao longo das estações (> Verão > Outono > Inverno), tendo atingido mínimos no Inverno e correspondendo a maior frequência de valores ao intervalo de 2 a 6 $\mu g L^{-1}$. As concentrações de clorofila *a* parecem ter aumentado ao longo do dia e com o aumento do valor da turbidez. Também parece existir alguma proporcionalidade entre as concentrações de clorofila *a* e as de feopigmentos. Tal como no caso do “*Pico solar*”, não parece existir uma relação entre a concentração de Clorofila *a* com: pH, Oxigénio dissolvido, Cor e Profundidade do disco de *Secchi*.

As nuvens de pontos da Clorofila *a* contra as variáveis Temperatura, Hora do dia e Feopigmentos parecem sugerir relações que, no entanto, poderão estar a ser condicionadas, pelo menos, por um segundo factor. Por exemplo, as duas nuvens de pontos no gráfico Clorofila *a* × Temperatura (Fig. 4.20). Neste contexto, para se tentar perceber se o dia de amostragem é sugerido como esse “segundo” factor elaboraram-se nuvens de pontos de Clorofila *a* contra a Temperatura (Fig. 4.21), Feopigmentos (Fig. 4.22), pH (Fig. 4.23), hora do dia (Fig. 4.24) e radiação UV-B (Fig. 4.26), identificando os diferentes dias de amostragem nos pares de valores, cada um representativo de uma estação do ano, a fim de verificar a existência de alguma relação com a sazonalidade.

Na Figura 4.21 verifica-se que os dois grupos referem-se, um, às concentrações de clorofila *a* no Outono e no Inverno, correspondendo a temperaturas entre 16 e 18 °C e outro, às concentrações detectadas na Primavera e no Verão, cujas temperaturas variaram entre 25 e 28 °C.

No que se refere à relação da Clorofila *a* com os Feopigmentos (Fig. 4.22) constata-se também a existência de dois grupos de observações. Um em que a concentração de clorofila *a* aumenta (dentro do intervalo: $3,5 \mu\text{g L}^{-1} < \text{Chl } a < 6,5 \mu\text{g L}^{-1}$), com a concentração de feopigmentos constante e relativamente reduzida ($< 2 \mu\text{g L}^{-1}$), situação encontrada, exclusivamente, na Primavera. Outro, em que o aumento da concentração de clorofila *a* é proporcional ao aumento da concentração de feopigmentos, com mínimos na concentração destes últimos detectados no Outono e no Inverno ($\approx 5 \mu\text{g L}^{-1}$) e máximos detectados na Primavera ($\approx 20 \mu\text{g L}^{-1}$). A estes correspondem, proporcional e respectivamente, mínimos ($< 2 \mu\text{g L}^{-1}$) e máximos ($\approx 7 \mu\text{g L}^{-1}$) na concentração de clorofila *a*.

Relativamente ao pH, não parece, à partida, que a concentração de clorofila *a* se relacione com esta variável (Fig. 4.23). A maior parte das observações correspondem a valores de pH entre 8,0 e 8,5. No entanto, foram detectadas algumas observações que correspondem a valores fora deste intervalo, sobretudo, entre 7,25 e 8,0, as quais foram encontradas apenas no Inverno e correspondem a valores relativamente reduzidos de clorofila *a* ($< 2,5 \mu\text{g L}^{-1}$).

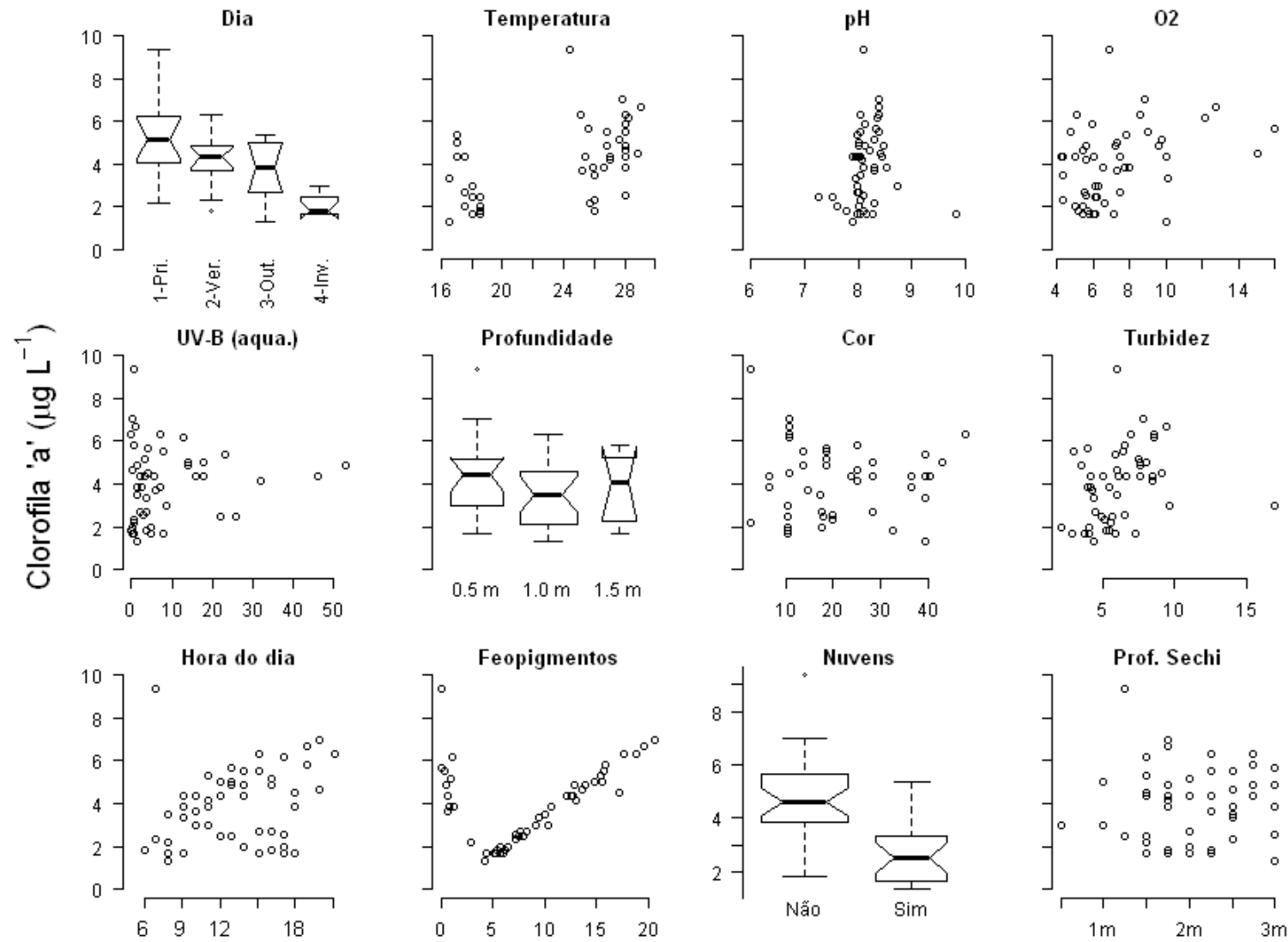


Figura 4.20 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: matriz de nuvens de pontos da variável *Clorofila a* contra as outras variáveis amostradas. No caso de variáveis independentes métricas discretas (*Profundidade*) ou categóricas (*Dia*, *Nuvens*) são utilizados *boxplots* (largura das caixas é proporcional ao número de observações). As unidades de grandeza de cada variável encontram-se na Tabela 4.1.

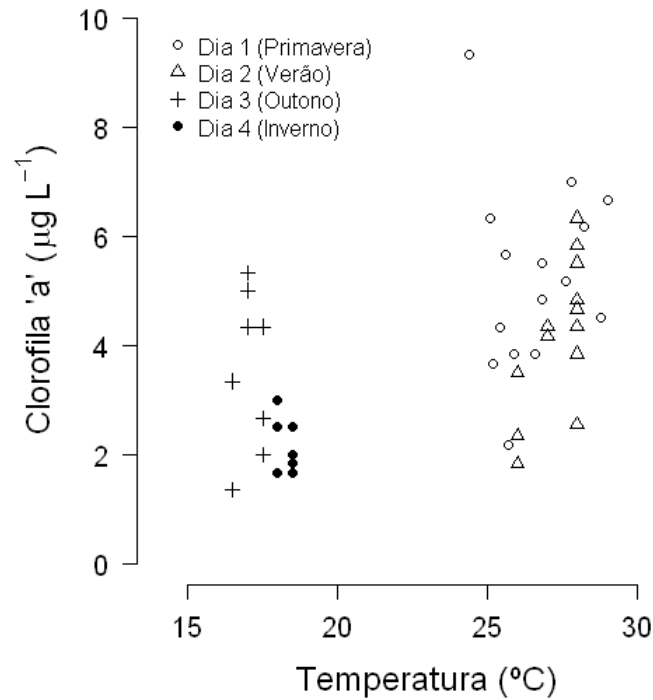


Figura 4.21 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *Temperatura*. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano).

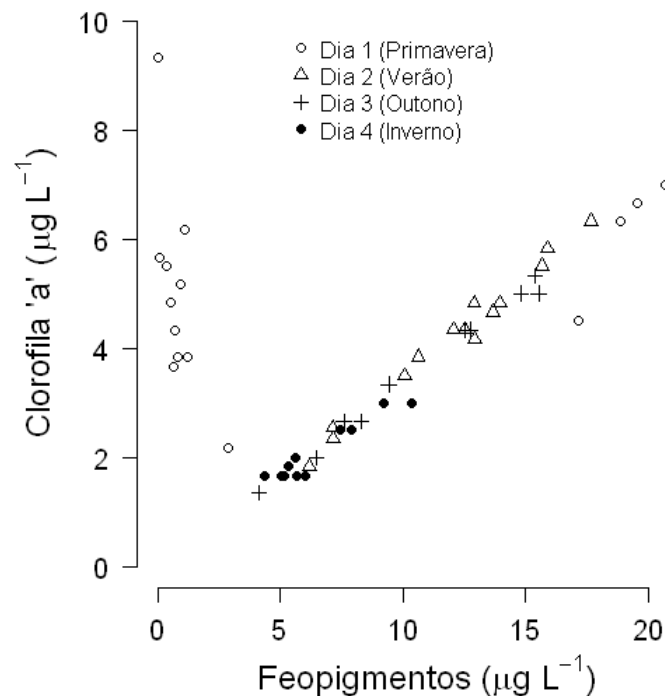


Figura 4.22 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *Feopigmentos*. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano).

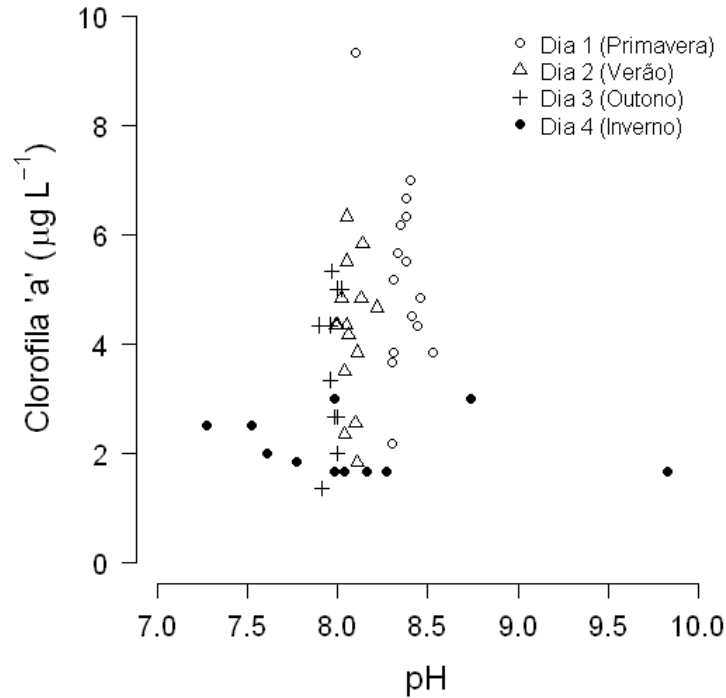


Figura 4.23 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *pH*. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano).

A distribuição da concentração de clorofila *a* ao longo do dia parece revelar padrões distintos ao longo dos quatro dias, que representam as diferentes estações do ano (Fig. 4.24). Na Primavera a concentração de clorofila *a* aumenta gradualmente ao longo do dia, atingindo um máximo ao fim do dia. No Verão, este aumento ocorre até à hora do pico solar, mantendo-se a partir daqui até ao fim do dia, quando ocorre um ligeiro decréscimo. No Outono, a distribuição da concentração de clorofila *a* é semelhante a uma normal, atingindo um máximo na hora do pico solar. No Inverno, o padrão é semelhante ao do Outono, embora menos pronunciado, sendo o pico de concentração de clorofila *a* o menor de todos os obtidos (restantes estações do ano). De grosso modo, a biomassa fitoplanctónica é maior na Primavera, revelando o seguinte gradiente, em ordem decrescente, de concentração de clorofila *a*: Primavera > Verão > Outono > Inverno.

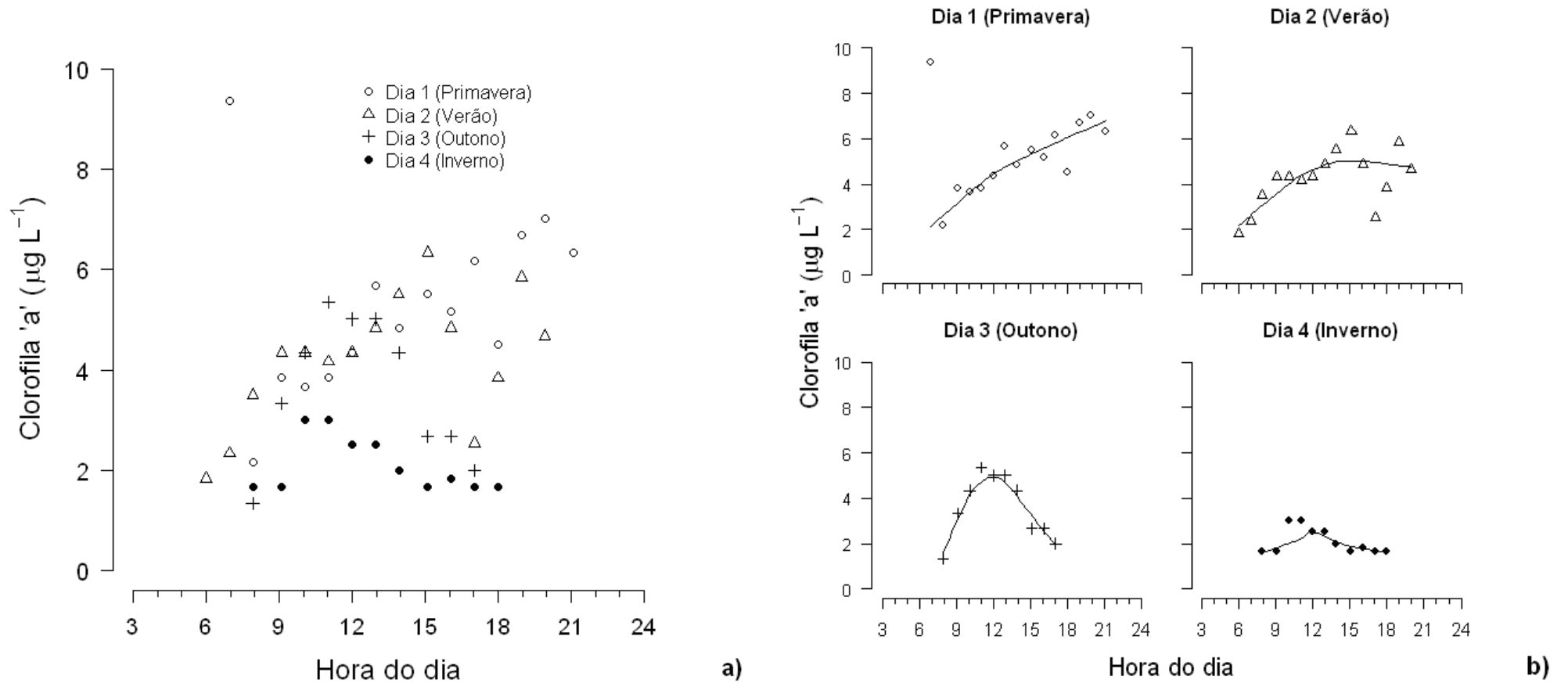


Figura 4.24 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”, nuvens de pontos da variável *Clorofila a* contra *hora do dia*: a) pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem (estações do ano); b) linhas de tendência aos pares de valores de cada dia de amostragem (ajustadas através do método não-paramétrico *loess – locally-weighted regression* (Hastie & Tibshirani, 1990).

A distribuição das concentrações da clorofila *a* parece, de algum modo, ser resposta da exposição à radiação UV-B, dadas as intensidades obtidas em função da hora do dia nos diferentes dias amostrados, as quais são apresentadas na Figura 4.25. Na Primavera a irradiância mantém-se entre 12 e 30 $\mu\text{W cm}^{-2}$ durante maior número de horas (9:00 às 18:00). No Outono, o pico de radiação UV-B que é atingido nesta estação do ano, entre 20 e 30 $\mu\text{W cm}^{-2}$, ocorre entre as 10:30 e as 13:30. Padrão não muito distinto deste é também encontrado no Inverno, correspondendo o pico da radiação ao intervalo horário entre 11:30 e 13:30. No Verão, nesta faixa horária a irradiância UV-B atinge valores máximos na coluna de água da Ria, superiores a 50 $\mu\text{W cm}^{-2}$ (durante 2 horas consecutivas), sendo superior a 30 $\mu\text{W cm}^{-2}$ entre as 10:30 e as 14:00 (durante 3:30 horas consecutivas).

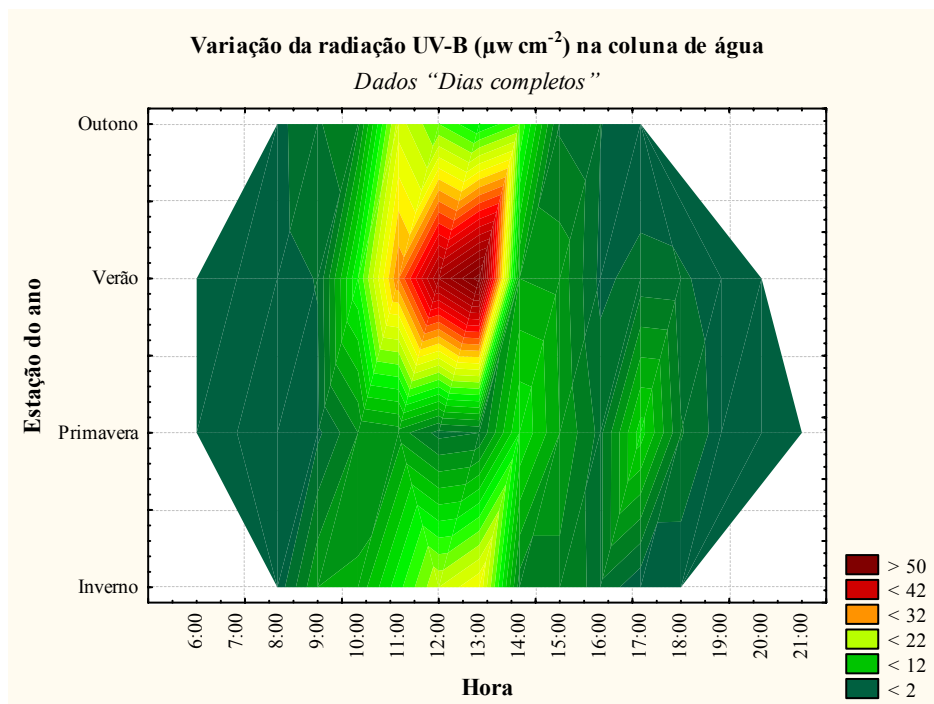


Figura 4.25 – Variação da radiação UV-B ($\mu\text{W cm}^{-2}$) na coluna de água da Ria Formosa, ao longo das horas para cada dia amostrado, representativo de cada estação do ano (conjunto de dados "Dias completos").

A concentração de clorofila *a* parece revelar uma certa associação a determinados intervalos de intensidades desta gama de radiação (Figura 4.26). A concentração de clorofila *a* parece aumentar ao longo do dia com o aumento da irradiância UV-B no Outono e no Inverno, até atingir o pico de irradiância máxima. De facto, à excepção do Verão, a concentração de clorofila *a* parece aumentar gradualmente com o aumento da incidência da radiação UV-B na massa de água da Ria ao longo do dia. Nota-se ainda que a maior produção de biomassa fitoplanctónica ($> 4 \mu\text{g L}^{-1}$) corresponde a irradiâncias UV-B que não ultrapassam $25 \mu\text{W cm}^{-2}$ na Primavera, Verão e Outono. Acima do valor desta irradiância ($25 \mu\text{W cm}^{-2}$), apenas no Verão foram encontradas concentrações de clorofila superiores a $4 \mu\text{g L}^{-1}$.

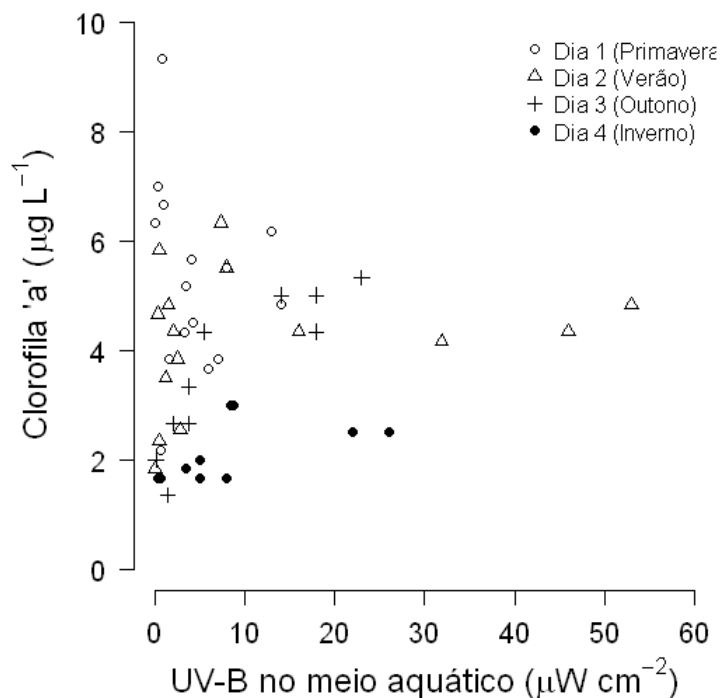


Figura 4.26 – Análise exploratória do conjunto de dados “*Dias completos*”: nuvem de pontos da variável *Clorofila a* contra a variável *radiação UV-B* na coluna de água da Ria Formosa. Os pares de valores encontram-se discriminados pelos diferentes dias de amostragem.

Influência da sazonalidade sobre a biomassa fitoplanctónica

O dia de amostragem, correspondente a uma estação do ano diferente, parece exercer uma influência substancial na variável *Clorofila a*. Em particular, verifica-se, através da comparação dos “entalhes” (*notch*) dos *boxplots* (Fig. 4.20) que a mediana dos valores de clorofila *a* no Inverno parece ser significativamente inferior à dos restantes dias.

Com o objectivo de verificar se as diferenças sugeridas na Figura 4.20 são significativas ($p < 0,05$) testou-se, em primeiro lugar, o pressuposto de Normalidade das observações (*Clorofila a*) em cada um dos grupos (*Dia de amostragem*), através do teste de Shapiro-Wilk (Conover, 1980). Os resultados encontram-se expostos na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 – Resultados do teste à Normalidade das observações da concentração de clorofila *a* para cada dia de amostragem / estação do ano (grupos), aplicado ao conjunto de dados “*Dias completos*”.

Dia de amostragem	Estatística <i>W</i> de Shapiro-Wilk	Significância (<i>p</i>-value)
1 (Primavera)	0,969	0,84
2 (Verão)	0,960	0,70
3 (Outono)	0,926	0,41
4 (Inverno)	0,780	0,005

As hipóteses nulas, consistindo na Normalidade das observações, não foram rejeitadas para os dias 1, 2 e 3 ($p > 0,05$), ou seja, assume-se a Normalidade nestes casos, mas foi rejeitada para o dia 4 – Inverno ($p < 0,05$), havendo evidência que a distribuição não é normal neste caso. A rejeição de pelo menos uma das hipóteses nulas inviabiliza a aplicação posterior de qualquer teste paramétrico, nomeadamente para o efeito, a Análise de Variância a 1 factor. A transformação de dados poderia ser uma alternativa

neste caso, no entanto, preferiu-se optar pela aplicação do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, tal como já referido. Os resultados da aplicação deste teste são apresentados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 – Análise do conjunto de dados “*Dias completos*”: a) resultados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis à diferença entre observações das concentrações de clorofila *a* por dias de amostragem / estações do ano (grupos); b) ordens médias (*rank*s) de cada grupo.

Estatística χ^2 de Kruskal-Wallis	Graus de liberdade	Significância (<i>p</i>-value)	
22,52	3	$5,1e^{-5}$	a)

Dia (grupo)	Ordem média (<i>rank</i>)	
1 (Primavera)	36,6	
2 (Verão)	29,0	
3 (Outono)	24,1	b)
4 (Inverno)	9,2	

A hipótese nula da não existência de diferenças entre grupos (dias) de observações de clorofila *a* foi rejeitada ($p \sim 5e^{-5}$) (Tab. 4.10a). Da Tabela 4.10b pode confirmar-se a tendência observada na Figura 4.20, ou seja, pode concluir-se que os valores de clorofila *a* no dia 4 (Inverno), grupo que apresenta a menor ordem média, são significativamente menores que, pelo menos, as observações registadas no dia 1 (Primavera), grupo que apresenta a maior ordem média (e, portanto, valores originais mais elevados). O método de Kruskal-Wallis não permite, contudo, estabelecer diferenças significativas entre outros pares possíveis de grupos (dias de amostragem). A concentração de clorofila *a* na Ria é significativamente inferior no Inverno.

Influência de outros factores sobre a biomassa fitoplanctónica

Com o objectivo de investigar se para além da variável *Dia de amostragem* (estação do ano) – resultados do teste de Kruskal-Wallis (Tabs. 4.10a e 4.10b), o efeito de outras covariáveis é significativo ($p < 0,05$) na variação da biomassa fitoplanctónica (medida através da concentração de clorofila *a*), recorreu-se ao ajuste de modelos lineares generalizados.

A variável resposta (*Clorofila a*) possui uma distribuição bastante assimétrica (Figura 4.27). Por outro lado, esta variável é majorada, ou seja, o seu domínio é positivo. Por estes dois motivos optou-se por testar o modelo Gama para a distribuição da resposta, tendo sido utilizada a função de ligação *log*. Posteriormente, na análise, optou-se por excluir a observação atípica, por excesso, de $9,35 \mu\text{g L}^{-1}$, registada às 6:00, e considerada como improvável (representada na Figura 4.20, 1ª nuvem de pontos da 3ª linha de gráficos).

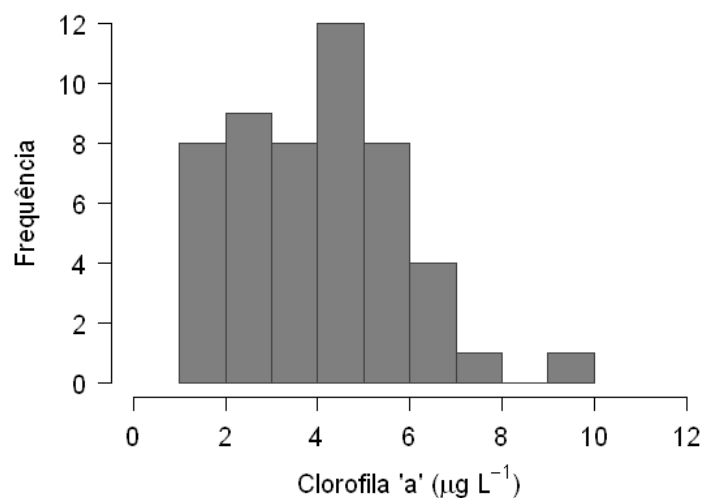


Figura 4.27 – Histograma das concentrações de clorofila *a* do conjunto de dados “Dias completos”.

Seleção do melhor modelo

Na Tabela 4.11 encontram-se os passos efectuados para obtenção do melhor modelo ajustado à resposta concentração de clorofila *a* na Ria Formosa, em função de parâmetros bióticos e abióticos.

É de referir que no sétimo passo da análise, após a exclusão da variável radiação UV-B, se observou um aumento substancial do valor de AIC, denotando que o modelo sem esta variável é substancialmente *pior* que o modelo incluindo a mesma. Por este motivo, e pelo facto da exclusão da variável radiação UV-B ter sido inicialmente tangencial ($p \sim 0,075$) decidiu-se mantê-la no modelo. Deste modo, retiveram-se como significativas as seguintes covariáveis: *dia*, *hora*, *profundidade*, *UV-B*, *cor* e *feopigmentos*.

Tabela 4.11 – Passos da análise *stepwise backward* seguidos para obtenção do melhor modelo linear generalizado ajustado para explicar a resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, com base no conjunto de dados “*Dias completos*”. Os valores de AIC referem-se ao modelo obtido após a eliminação da variável na linha respectiva (por exemplo, AIC=139,7 refere-se ao modelo sem a variável *temp*). “gls” denota graus de liberdade.

Passo	Covariável eliminada	AIC	Desvio	gls	p-value
1 (modelo saturado)		141,6			
2	<i>temp</i> (temperatura)	139,7	0,0015	1	0,868
3	pH	138,0	0,0163	1	0,582
4	<i>turb</i> (turbidez)	136,5	0,1177	1	0,136
5	O ₂ (oxigénio diss.)	135,2	0,1497	1	0,090
6	Secchi (prof. de Secchi)	135,6	0,1620	1	0,079
7	UV-B	140,2	0,1724	1	0,075

Numa segunda fase, após se ter obtido o modelo final de efeitos principais (variáveis acima), testou-se a significância de interações de acordo com a informação relevante da análise exploratória / preliminar (Fig. 4.20).

Tabela 4.12 – Interações testadas no modelo linear generalizado preliminar (de efeitos principais significativos) da variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, com base no conjunto de dados “*Dias completos*”: razões para o teste e decisões. “gls” denota graus de liberdade.

Passo	teste	Base do teste	Resultados			
			AIC	gls	p	Decisão
8	<i>dia*hora</i>	Figura 4.24b: variação da clorofila <i>a</i> ao longo das horas é diferenciada pelo dia.	137,7	3	0,355	$p \gg 0,05$, a interacção não é significativa
9	<i>UVB*prof</i>	Diminuição da radiação UV-B com a profundidade (ver análise exploratória) poderá significar que à mesma profundidade, com valores de UV-B diferentes, a clorofila <i>a</i> poderá variar.	133,2	1	0,053	$p \sim 0,05$ (marginamente significativa) + AIC menor da série incluindo primeira fase de obtenção do modelo => reter interacção no modelo final
10	<i>UVB*hora</i>	Variação da radiação UV-B ao longo do dia (horas) (análise exploratória).	135,1	1	0,818	$p \gg 0,05$, a interacção não é significativa

Após esta fase obteve-se então o modelo final (Tabs. 4.13 e 4.14,) o qual, extraído em linguagem *R*, consiste na expressão dada pela equação 4.4. Para fins de simplificação, nesta equação não se explicitam a função de ligação para a resposta, o preditor linear e a componente não explicada – residual (para pormenores consultar a secção dos métodos). Importa expressar o modelo final de resposta da *Clorofila a*, como uma função das seguintes variáveis:

$$\text{Clorofila } a \sim \text{factor(dia)} + \text{hora} + \text{prof} + \text{UVB} + \text{cor} + \text{feop} + \text{prof:UVB} \quad (4.4)$$

(“:” denota termo de interacção)

Tabela 4.13 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “*Dias completos*”: resultados da ANOVA. “gls” denota graus de liberdade.

Covariável	gls	Desvio	gls residual	Desvio residual	p-value	Var. explicada (%)
Mod. Nulo				9,4366		
<i>factor(dia)</i>	3	4,48	46	4,9522	< 2,2e ⁻¹⁶	47,4
<i>hora_n</i>	1	0,57	45	4,3836	0,0011	6,0
<i>prof</i>	1	0,75	44	3,6317	0,0002	7,9
<i>UVB</i>	1	0,17	43	3,4593	0,0718	1,8
<i>cor</i>	1	0,25	42	3,2081	0,0297	2,6
<i>feop</i>	1	0,82	41	2,3915	8,9e-05	8,7
<i>prof:UVB</i>	1	0,20	40	2,1924	0,0530	2,1
Modelo final	9	7,24				76,7

Tabela 4.14 – Modelo linear generalizado final ajustado para a variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “*Dias completos*”: sumário com a informação sobre as estimativas dos coeficientes para cada termo × níveis.

Covariável	Coefficiente estimado	Erro padrão	valor de t	p-value
(Intercept)	0,996	0,191	5,211	6,04e ⁻⁰⁶
<i>factor(dia)2</i>	-0,475	0,132	-3,596	8,77e ⁻⁰⁴
<i>factor(dia)3</i>	-0,605	0,148	-4,077	2,11e ⁻⁰⁴
<i>factor(dia)4</i>	-0,818	0,099	-8,274	3,38e ⁻¹⁰
<i>hora_n</i>	0,368	0,261	1,409	1,67e ⁻⁰¹
<i>prof</i>	-0,071	0,152	-0,464	6,45e ⁻⁰¹
<i>UVB</i>	-0,019	0,015	-1,263	2,14e ⁻⁰¹
<i>cor</i>	0,006	0,005	1,163	2,52e ⁻⁰¹
<i>feop</i>	0,037	0,009	4,164	1,62e ⁻⁰⁴
<i>prof:UVB</i>	0,055	0,028	1,951	5,81e ⁻⁰²

Na Tabela 4.13 pode observar-se que o modelo explica uma elevada proporção da variabilidade total nos dados, nomeadamente, em percentagem, 77% da variação total,

dada por: $100 \times (DN-DR)/DN$, onde DN é igual ao desvio nulo e DR é o desvio residual não explicado pelo modelo.

Validação do modelo

Na validação do modelo (Figura 4.28) utilizaram-se *quantile residuals* específicos para a distribuição Gama.

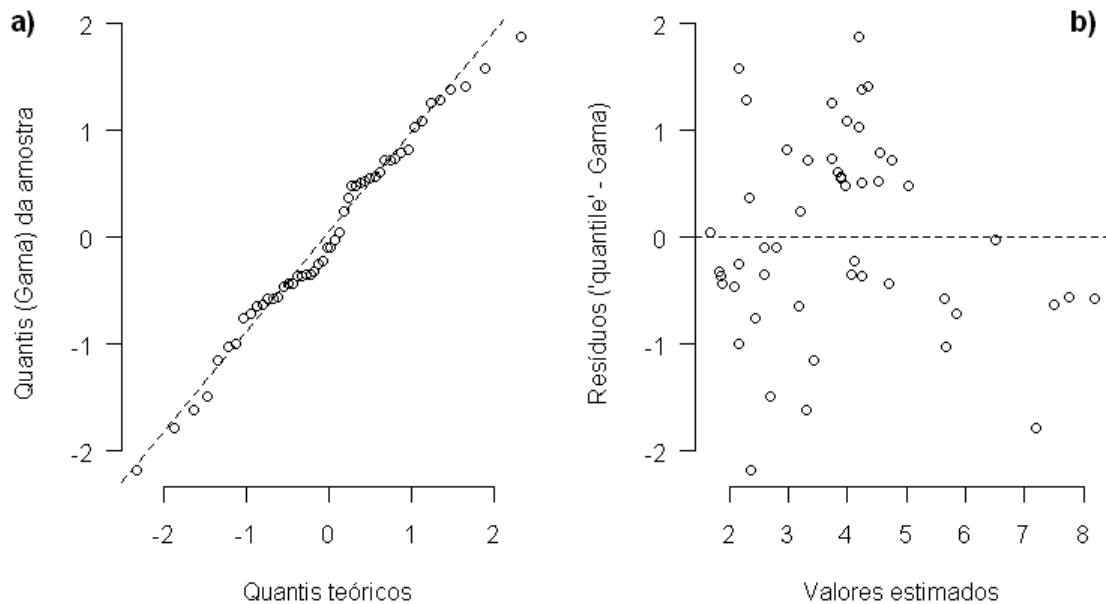


Figura 4.28 – Validação do modelo linear generalizado da variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “*Dias completos*”, análise de diagnóstico: a) quantis da amostra (padronizados para a distribuição Gama) contra quantis teóricos; b) resíduos (padronizados para a distribuição Gama) contra valores estimados.

A Figura 4.28 revela que as violações aos pressupostos do modelo são bastante moderadas, incluindo pequenos desvios à Normalidade dos resíduos transformados para a distribuição Gama – *quantile residuals* (Fig. 4.28a).

Efeitos parciais da covariável “dia de amostragem”

Cerca de 47% da variabilidade total nos dados é explicada pela variável *Dia de amostragem* (1 – Primavera, 2 – Verão, 3 – Outono, 4 – Inverno) (Tab. 4.13), a qual foi incluída no modelo como factor (variável categórica). O efeito parcial desta variável encontra-se representado na Figura 4.29, através da representação gráfica dos valores dos coeficientes estimados (ordenadas) contra níveis da variável (abcissas).

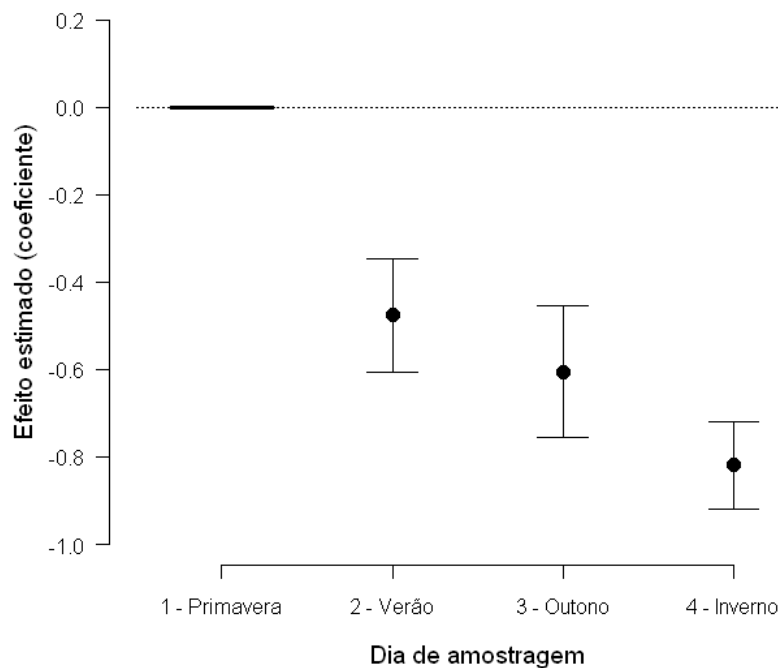


Figura 4.29 – Efeitos parciais dos níveis da covariável categórica *Dia de amostragem* (estação do ano), incluída no modelo linear generalizado final ajustado à variável resposta *Clorofila a*, em função de factores bióticos e abióticos na Ria Formosa, referente ao conjunto de dados “Dias completos”: valores dos coeficientes para cada nível. O erro padrão de cada coeficiente encontra-se representado pelas bandas verticais. O primeiro nível da covariável não possui estimativa de variabilidade separadamente, dado que serve de referência aos restantes níveis e encontra-se “incorporado” na estimativa de β_0 do modelo. Círculos preenchidos denotam coeficientes significativamente diferentes do valor zero de referência (primeiro nível da respectiva variável), enquanto que círculos vazios indicam não haver diferença significativa de zero, ou seja, o nível correspondente não difere significativamente do primeiro dos níveis das covariáveis, utilizado como referência.

Os coeficientes representados com pontos preenchidos denotam que os mesmos são significativos, ou seja, que o nível respectivo é significativamente diferente do primeiro nível da variável, tido como referência no modelo (1 – Primavera). Da análise da Figura 4.29 observa-se uma tendência decrescente dos dias 1 a 4, sendo que os dias 2 (Verão), 3 (Outono) e 4 (Inverno) são significativamente inferiores ao dia 1 (Primavera).

A título conclusivo constata-se que a concentração de clorofila *a* é significativamente superior na Primavera, comparativamente às restantes estações do ano, confirmando o seguinte gradiente de concentração, tal como referido anteriormente: Primavera > Verão > Outono > Inverno.

4.4 DISCUSSÃO

O presente estudo envolveu o delineamento da amostragem, a amostragem em si, e o tratamento e análise dos dados obtidos semanalmente na Ria Formosa entre 1996 e 2000, tendo permitido responder aos objectivos inicialmente traçados. A abordagem realizada no presente capítulo incidiu numa perspectiva de médio/longo-prazo, complementar à vertente laboratorial anteriormente descrita (terceiro capítulo), tendo integrado as componentes ambientais naturais. A informação resultante é inovadora e constitui uma referência para estudos e análises de tendência futuros, no âmbito das alterações climáticas.

Verificou-se, com base nas irradiâncias UV-B detectadas ao longo dos anos em estudo, que existem duas grandes estações no ano, as quais diferem estatisticamente. Uma engloba o Outono e o Inverno, e a outra, a Primavera e o Verão juntas (Fig. 4.6), sendo as irradiâncias UV-B significativamente superiores nestas últimas, as quais atingiram valores máximos que ultrapassaram os $700 \mu\text{W cm}^{-2}$.

Mais de metade da variabilidade natural da radiação UV-B atmosférica (incidente à superfície da Ria Formosa) é explicada pelas variáveis: ano, estação do ano e presença ou ausência de nuvens. Confirmou-se que a presença de nuvens reduz significativamente a incidência desta gama de radiação (Fig. 4.12), tal como referido noutros trabalhos (Mora *et al.*, 2000).

Constatou-se o aumento significativo da incidência desta gama de radiação no último ano amostrado (completo) - 1999, tendo a irradiância UV-B média sido substancialmente superior no Outono e no Inverno deste ano, comparativamente ao dos restantes anos, sobretudo, no Inverno, em que o valor da irradiância média chegou a ultrapassar o do Outono (Fig. 4.7). Este resultado é uma confirmação do já constatado nas latitudes médias (Nielsen *et al.*, 1995), a intensidade da radiação UV-B incidente tem aumentado nas últimas décadas, sobretudo nos meses de Inverno (Fig. 4.12). Um estudo recente (Stick *et al.*, 2005) revelou que, na Europa, foram detectados valores máximos de redução nas concentrações de ozono estratosférico na Alemanha em Maio de 2005, tendo correspondido a um novo pico na incidência da radiação UV-B.

Na coluna de água da Ria, a variabilidade da irradiância UV-B é menor que a atmosférica. No Verão, das 12:15 às 15:30 horas, a irradiância UV-B na água da Ria mantém-se acima de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, o que corresponde a uma dose de $3,5 \text{ KJ dia}^{-1}$. Note-se que no total de horas de insolação a dose de radiação UV-B é superior a este valor. Na Primavera, a irradiância UV-B na água da Ria mantém-se entre 20 e $30 \mu\text{W cm}^{-2}$ no intervalo das 10:45 às 14:15 horas, o que corresponde, analogamente, a uma dose que varia entre $2,7$ e $4,0 \text{ KJ dia}^{-1}$. No Inverno a irradiância UV-B na água reduz-se para valores inferiores a $10 \mu\text{W cm}^{-2}$ durante o fotoperíodo máximo.

Com base nos registos obtidos durante a hora de maior incidência da radiação UV-B (“*Pico solar*”) verificou-se que a biomassa fitoplanctónica da Ria, expressa pela concentração de clorofila *a*, parece ser afectada pela radiação UV-B (Fig. 4.16). Sendo o fitoplâncton marinho o componente principal dos maiores ecossistemas, depreende-se que qualquer redução na capacidade fotossintética deste grupo de organismos na Ria

devido ao aumento da radiação UV-B, possa afectar negativamente os níveis tróficos superiores (Kjeldstad *et al.*, 2003).

A concentração de clorofila *a* reduz-se com a profundidade na coluna de água da Ria (Fig. 4.16), sugerindo a predominância de espécies fitoplanctónicas nas camadas superiores da massa de água deste sistema. Este resultado constitui uma evidência da necessidade de exposição das espécies autotróficas à energia solar para garantia do seu metabolismo / fotossíntese (Helbling *et al.*, 2008). Note-se que os riscos associados à exposição à radiação UV-B são superiores em organismos aquáticos que vivem na camada superficial da água. Alguns estudos têm sugerido que a alteração na estrutura das comunidades fitoplanctónicas, assim como nos ciclos biogeoquímicos subsequentes, são impactes mais pronunciados que os obtidos pela expressão da afectação da biomassa fitoplanctónica total, provocados pelo aumento da incidência da radiação UV-B nos ecossistemas aquáticos (Ferrero *et al.*, 2006; Roy *et al.*, 2006).

De acordo com Falcão & Fonseca (2008), a clorofila *a* vai sendo degradada com a profundidade na Ria e convertida em feopigmentos. De facto, com o presente estudo confirmou-se que o aumento das concentrações de clorofila *a* é proporcional ao aumento das concentrações de feopigmentos (Figs. 4.17, 4.20 e 4.22). Verificou-se também que o aumento da concentração de clorofila *a* acompanha o aumento da turbidez na Ria (Fig. 4.16), o que parece estar associado, indirectamente, ao papel da matéria orgânica de “filtro/absorvente” da radiação UV-B, conferindo, consequentemente, protecção ao fitoplâncton. Por outro lado, o aumento de turbidez pode traduzir um incremento na biodisponibilidade de alimento (matéria orgânica) para

o fitoplâncton, o que favorece a sua reprodução / crescimento, aumentando assim a respectiva biomassa.

De facto, a matéria orgânica dissolvida e particulada constitui a componente mais importante no papel da atenuação da radiação UV-B com a profundidade (Kirk *et al.*, 1994; Morris *et al.*, 1995; Bracchini *et al.*, 2004). Curiosamente, de acordo com Molot *et al.* (2004) espera-se que as concentrações de matéria orgânica dissolvida diminuam com o aumento da temperatura atmosférica, no âmbito das alterações climáticas, o que permitirá, por sua vez, a penetração da radiação UV-B (K_d) a maiores profundidades nas massas de água, aumentando assim o risco de exposição dos organismos aquáticos.

Pretendeu-se verificar a existência de alguma tendência na penetração da radiação UV-B na Ria, a qual revelou valores semelhantes aos detectados em águas com níveis de turbidez relativamente reduzidos, embora típicos de zonas costeiras, onde o aporte em matéria orgânica é considerável. Constatou-se que o coeficiente de atenuação da radiação UV-B na Ria Formosa não variou significativamente entre as diferentes estações do ano. Este coeficiente varia entre 1,0 e 6,0 m^{-1} , correspondendo a maior frequência observada a valores no intervalo 3,0 a 3,5 m^{-1} , semelhantes aos encontrados na literatura para sistemas costeiros (Kjeldstad *et al.*, 2003). Note-se que os valores do coeficiente de atenuação da radiação UV-B na água podem variar entre 20 m^{-1} e cerca de 0,2 m^{-1} , sendo este último um valor de referência para águas oceânicas claras (Mora *et al.*, 2000). Estes resultados constituem uma referência para estudos futuros, no âmbito das alterações climáticas, tal como já referido, sobretudo relacionados com a dinâmica dos ciclos biogeoquímicos na Ria Formosa.

Com o presente trabalho constatou-se ainda que as concentrações de carotenóides (Fig. 4.17), pigmentos que absorvem na gama do UV, aumentam com o aumento da irradiância UV-B, o que comprova *in situ* os resultados obtidos em estudos laboratoriais, de que a produção destes pigmentos é uma resposta adaptativa ao aumento da incidência da radiação UV-B (Mora *et al.*, 2000). Importa referir que estes resultados não foram evidenciados nos ensaios laboratoriais realizados com *I. galbana*. De facto, os resultados obtidos com as análises dos dados de campo integram a variabilidade natural inter e intra-específica das diferentes comunidades fitoplanctónicas da Ria em condições naturais, ao passo que os resultados obtidos com os ensaios laboratoriais são a resposta de uma única espécie fitoplanctónica estudada em condições artificiais controladas (*I. galbana*).

De acordo com o padrão de distribuição das concentrações de clorofila *a*, constatou-se que a biomassa fitoplanctónica na Ria atinge mínimos no Outono e no Inverno ($< 2 \mu\text{g L}^{-1}$ de clorofila *a*), acompanhado de mínimos na concentração de feopigmentos, o que revela a relativamente reduzida biomassa primária e respectiva repercussão no nível trófico seguinte nestas estações do ano, dado que os feopigmentos resultam da degradação da própria clorofila e do metabolismo do zooplâncton. O pico na biomassa fitoplanctónica da Ria é atingido na Primavera ($\approx 7 \mu\text{g L}^{-1}$ de clorofila *a*), o qual, analogamente ao referido acima, parece repercutir-se no nível trófico superior, dada a correspondência à concentração máxima de feopigmentos ($20 \mu\text{g L}^{-1}$), que é também detectada nesta estação do ano.

Analogamente, Joint & Jordan (2008) detectaram em águas costeiras de Inglaterra picos de concentração de clorofila no fim do Inverno / início da Primavera, os quais associam

à mudança na intensidade da radiação UV-B sentida nessa altura. Referem ainda que é também nessa altura que o fitoplâncton parece ser mais sensível à radiação UV-B, facto que sugerem que pode, potencialmente, levar ao domínio futuro de espécies mais tolerantes, induzindo alterações na sucessão das mesmas. Os resultados das análises realizadas por Bancroft *et al.* (2007), num estudo que incidiu em meta-análises, sugerem que os efeitos da radiação UV-B nos sistemas aquáticos são amplos e negativos, mas altamente variáveis entre organismos. Estes autores referem que a variação desta sensibilidade tem implicações importantes na estrutura das populações e das comunidades.

De uma forma geral, de acordo com a maior frequência obtida dos valores das variáveis bióticas (Clorofila *a*: 0 – 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Feopigmentos: 0 – 10 $\mu\text{g L}^{-1}$) e abióticas (pH: 8,0 – 8,5, cor: < 30 UH, turbidez: 5 – 7 NTU, oxigénio dissolvido: 8,0 – 8,5 mg L^{-1}), constata-se que a água da Ria Formosa, no canal sobre a ponte da Ilha de Faro, apresenta boa qualidade, não revelando, de forma alguma, sinais de eutrofização, de acordo com os valores de referência definidos pelo Instituto do Ambiente (DGA, 2000). No entanto, no Inverno foram detectados valores de pH fora do intervalo 8,0 a 8,5 (típico da água do mar), sobretudo, entre 7,3 e 8,0, os quais corresponderam a concentrações reduzidas de clorofila *a*. Este resultado parece estar relacionado com a forte influência da pluviosidade nesta altura do ano sobre a Ria Formosa, facto também referido e fundamentado por Barbosa (*in press*).

De acordo com a análise realizada ao conjunto de dados “*Dias completos*” detectou-se quatro padrões distintos na variação diária (ao longo das horas de insolação) da concentração de clorofila *a* (Fig. 4.24), tendo-se confirmado o gradiente, por ordem

decrecente, da biomassa fitoplanctónica na Ria, em função da estação do ano (também verificado no horário do fotoperíodo máximo, resultante da análise do conjunto de dados “*Pico solar*”, o qual inclui as observações semanais realizadas durante 4 anos consecutivos): Primavera > Verão > Outono > Inverno (Figs. 4.20 e 4.29).

De acordo com as irradiâncias UV-B detectadas na água da Ria ao longo dos anos estudados verificou-se que a irradiância de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$ parece constituir um patamar de transição entre a Primavera e o Verão. Verifica-se que os valores detectados no Verão entre as 10:30 e as 14:00 horas ultrapassam este patamar, chegando a ultrapassar, a partir das 11:00 horas, o patamar dos $50 \mu\text{W cm}^{-2}$. Na Primavera, durante o horário do fotoperíodo máximo as irradiâncias detectadas na água da Ria mantêm-se entre 20 e $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, as quais correspondem aos valores de biomassa fitoplanctónica máximos obtidos durante todo o ano, e que são crescentes ao longo do dia (horas de exposição solar). Supõe-se que valores de irradiância UV-B superiores a $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, possam constituir um factor de afectação do fitoplâncton natural da Ria, dado o decréscimo verificado da biomassa fitoplanctónica no Verão. Esta suposição foi alvo de investigação nos ensaios experimentais com a microalga *I. galbana* (terceiro capítulo), tendo-se confirmado, a nível laboratorial e para esta espécie, tal suspeição, uma vez que a partir de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, irradiada durante 5 horas por dia, a produção de pigmentos fotossintéticos desta microalga é afectada.

A maior produção de biomassa fitoplanctónica na área estudada ($>> 4 \mu\text{g L}^{-1}$) corresponde a irradiâncias UV-B que não ultrapassam $25 - 30 \mu\text{W cm}^{-2}$ na Primavera, Verão e Outono (Fig. 4.26). Acima do valor de irradiância de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, apenas foram encontradas concentrações de clorofila *a* superiores a $4 \mu\text{g L}^{-1}$ no Verão.

Foi estimado um modelo com uma forte capacidade de explicação da variabilidade da concentração de clorofila *a*, em função de algumas variáveis ambientais, sobretudo, tratando-se de dados reais (obtidos *in situ*). O modelo estimado revela que 77% da variabilidade da concentração de clorofila *a* na Ria é explicada pelo efeito da estação do ano, da hora, da profundidade, da irradiância UV-B, do valor da cor, da concentração de feopigmentos e da interacção entre a profundidade e a irradiância UV-B. Este resultado confirma que a biomassa fitoplanctónica da Ria é afectada pelos referidos factores, bióticos (feopigmentos, os quais, indirectamente, fornecem informação sobre a actividade metabólica do zooplâncton, já que constituem um produto final do metabolismo dos mesmos) e abióticos (radiação UV-B, cor, e outros, indirectamente representados pela variação horária e a profundidade), exercendo a radiação UV-B, juntamente com a interacção da profundidade uma influência significativa neste sistema. Este resultado comprova que a radiação UV-B tem, de facto, um impacte biológico na Ria Formosa, exercendo uma influência sobre a biomassa fitoplanctónica deste sistema.

A dinâmica da exposição à radiação UV-B nos sistemas aquáticos naturais e os impactes sobre os organismos são complexos. Os impactes da radiação UV-B podem ser potenciados por factores ambientais diversos, tal como comprovado no presente estudo. Estes factores podem interagir entre si, podendo resultar respostas antagónicas (Christensen *et al.*, 2006) ou de sinergismo (Häder *et al.*, 2003; Pelletier *et al.*, 2006), o que amplifica a natureza e diversidade dos impactes provocados pela exposição dos organismos à radiação UV-B.

Tendo em consideração a natureza dos impactes provocados por fenómenos de poluição nos sistemas costeiros, supõe-se que a interacção / potenciação dos efeitos induzidos pelo aumento da incidência da radiação UV-B sejam ainda mais evidentes que os obtidos no presente estudo. Em estudos futuros considera-se pertinente investigar a interacção de contaminantes e poluentes traço na Ria Formosa com o aumento da exposição à radiação UV-B.

Acrescente-se ainda a importância de incluir, em estudos a desenvolver no âmbito das alterações climáticas e do aquecimento global, a investigação de impactes biológicos provocados pela alteração na incidência das razões entre as gamas de radiação UV-A : UV-B, dado que com o aumento da incidência da radiação UV-B, esta razão parece sofrer alterações (Smith *et al.*, 1992). A radiação UV-A também é nociva para os organismos aquáticos (Mora *et al.*, 2000; Southerland & Lewitus, 2004; Gómez *et al.*, 2005), podendo mesmo induzir impactes mais pronunciados que os induzidos pela exposição à radiação UV-B em alguns grupos do biota aquático, como verificado em algumas macroalgas (*Dictyota dichotoma*) do Mar do Norte (Kuhlenkamp *et al.*, 2001).

4.5 CONCLUSÕES

A radiação UV-B incidente na Ria Formosa aumentou significativamente no último ano de observações (1999) e, substancialmente, no Inverno. A radiação UV-B incidente na Ria é significativamente superior na Primavera e no Verão, relativamente ao Outono e ao Inverno.

Metade da variabilidade observada da radiação UV-B incidente à superfície da Ria Formosa é explicada pela variação anual, sazonalidade e presença ou ausência de nuvens. A presença de nuvens reduz significativamente a incidência desta gama de radiação à superfície da Ria.

A penetração da radiação UV-B na coluna de água da Ria Formosa depende de factores bióticos e abióticos presentes no meio aquático. O coeficiente de atenuação da radiação UV-B na coluna de água da Ria não varia significativamente ao longo das estações do ano e assume valores entre 1,0 e 6,0 m^{-1} , com maior frequência entre 3,0 e 3,5 m^{-1} , correspondendo a um sistema costeiro com forte influência oceânica.

A água da Ria Formosa, no local estudado (37° 00' N e 7° 59' W), apresenta boa qualidade, não tendo revelado sinais de eutrofização ao longo do tempo de estudo.

A biomassa fitoplanctónica na Ria Formosa é maior na Primavera (atingindo cerca de 7 $\mu g L^{-1}$) e reduz-se gradualmente ao longo das estações do ano, assumindo o seguinte gradiente: Primavera > Verão > Outono > Inverno.

A irradiância UV-B de $30 \mu\text{W cm}^{-2}$ constitui um limiar a partir do qual a biomassa fitoplanctónica da Ria é afectada ($< 4 \mu\text{g L}^{-1}$ de clorofila *a*), com excepção do Verão. A maior variabilidade nas concentrações de clorofila *a* na Ria Formosa é explicada pela presença de factores bióticos (feopigmentos – zooplâncton) e abióticos (radiação UV-B, cor e outros, directa e indirectamente, traduzidos pela variabilidade ao longo do dia – hora, sazonal – estação do ano e profundidade). A radiação UV-B, juntamente com a interacção da profundidade (na qual se encontram representados os mecanismos de defesa dos organismos à radiação UV-B, tais como, por exemplo, a distribuição vertical) têm efeito significativo na concentração de clorofila *a*, isto é, na biomassa fitoplanctónica da Ria Formosa.

O fitoplâncton da Ria Formosa parece apresentar mecanismos de defesa natural à radiação UV-B (produção de carotenóides) e capacidade adaptativa à exposição crescente da radiação UV-B (distribuição vertical / zonação, dada pela redução da concentração de clorofila *a* com a profundidade).

Em zonas da Ria Formosa com menor hidrodinamismo que o local estudado, durante o regime de baixa-mar e, sobretudo, em situação de maré viva, considera-se que os organismos possam estar expostos a valores consideráveis de irradiância UV-B, sendo expectável que ocorram impactes negativos no biota aquático.

Com a presente tese pretendeu-se contribuir com informação inovadora nesta temática em Portugal, fornecendo referências para estudos futuros e constituindo um complemento à informação existente. Do presente trabalho, cujos dados referem-se ao período de Setembro de 1995 a Janeiro de 2000, resultam as seguintes conclusões:

1. A irradiância UV-B reduz-se fortemente (redução de 91% da irradiância UV-B atmosférica) nos primeiros 0,5 m de profundidade da Ria Formosa, não sendo, no entanto, nula junto ao fundo (0,06% da irradiância UV-B atmosférica).
2. A irradiância UV-B média a 0,5 metros de profundidade na coluna de água da Ria corresponde a $30 \mu\text{W cm}^{-2}$, a 1,0 m corresponde a cerca de $5 \mu\text{W cm}^{-2}$, sendo de $1,5 \mu\text{W cm}^{-2}$ a 1,5 m de profundidade e inferior a $1 \mu\text{W cm}^{-2}$ abaixo desta profundidade.
3. A espécie *Isochrysis galbana* é afectada (na produção de pigmentos fotossintéticos) pela exposição à radiação UV-B correspondente à irradiância média detectada a meio metro de profundidade da coluna de água da Ria Formosa ($30 \mu\text{W cm}^{-2}$, durante 5 horas), embora a espécie continue a reproduzir-se. Acima do valor desta irradiância a reprodução é afectada e função da dose de exposição. A dose de radiação UVB_{BE} (50) de inibição do crescimento de *I. galbana* é de $2 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para 30 dias.

4. Exposições de *I. galbana* durante curtos períodos de tempo (1 hora por dia) a fortes irradiâncias UV-B têm maior efeito de inibição do crescimento da espécie, que exposições a irradiâncias mais fracas durante maior período de tempo (5 horas por dia). Este aspecto assume particular importância, tendo em consideração a exposição natural da espécie na situação de pico solar, altura do dia em que a irradiação UV-B é máxima e dura cerca de 1 a 3 horas, sobretudo, no Verão. Pior cenário é ainda definido quando o pico solar coincide com a situação de baixa-mar. Este é um risco potencial para os organismos da Ria, em geral, dado que uma grande extensão deste ecossistema não apresenta mais do que cerca de meio metro de profundidade na baixa-mar, havendo mesmo formação de charcos em várias áreas.
5. Sendo a espécie *I. galbana* fortemente utilizada na aquacultura, depreende-se que a sua utilização em tanques expostos à radiação natural no Algarve, em particular, no Verão, poderá não conferir a qualidade nutricional adequada para alimentar os seus predadores, pelo menos, no que toca ao conteúdo pigmentar, a qual poderá ter repercussão na propagação aos níveis tróficos seguintes.
6. A radiação UV-B incidente na Ria Formosa aumentou significativamente no último ano de observações (1999) e, substancialmente, no Inverno.
7. A quantidade de radiação UV-B incidente na Ria divide-se ao longo do ano em dois grandes grupos: Primavera–Verão e Outono–Inverno, com valores significativamente superiores no primeiro.

8. Metade da variabilidade da radiação UV-B incidente à superfície da Ria Formosa é explicada pelos factores ano, sazonalidade e presença ou ausência de nuvens. A presença de nuvens reduz significativamente a incidência desta gama de radiação à superfície da Ria.
9. A penetração da radiação UV-B na coluna de água da Ria Formosa depende de factores bióticos e abióticos presentes no meio aquático. O coeficiente de atenuação da radiação UV-B na coluna de água da Ria não varia significativamente ao longo das estações do ano e assume valores entre 1,0 e 6,0 m⁻¹, com maior frequência entre 3,0 e 3,5 m⁻¹, indicando a forte influência oceânica.
10. A água da Ria Formosa, no local estudado (37° 00' N e 7° 59' W), apresenta boa qualidade, não tendo revelado sinais de eutrofização ao longo do tempo.
11. A biomassa fitoplanctónica da Ria Formosa é maior na Primavera (atingindo cerca de 7 µg L⁻¹) e reduz-se gradualmente ao longo das estações do ano, assumindo o seguinte gradiente: Primavera > Verão > Outono > Inverno.
12. A irradiância UV-B de 30 µW cm⁻² constitui um limiar a partir do qual a biomassa fitoplanctónica da Ria é afectada (< 4 µg L⁻¹), com excepção do Verão.
13. A maior variabilidade nas concentrações de clorofila *a* na Ria Formosa é explicada pela variação dos factores bióticos (feopigmentos) e abióticos (radiação UV-B, cor e outros, directa e indirectamente, traduzidos pela variabilidade ao longo do dia –

hora, sazonalidade – estação do ano e profundidade). A radiação UV-B, juntamente com a interacção da profundidade (na qual estão representados os mecanismos de defesa dos organismos à radiação UV-B, tais como, por exemplo, a distribuição vertical) afectam significativamente a concentração de clorofila *a*, isto é, a biomassa fitoplanctónica na Ria Formosa.

14. O fitoplâncton da Ria Formosa parece apresentar mecanismos de defesa natural à radiação UV-B (produção de carotenóides) e capacidade adaptativa à exposição crescente da radiação UV-B (distribuição vertical / zonação, dada pela redução da concentração de clorofila *a* com a profundidade).
15. Em zonas da Ria Formosa com menor hidrodinamismo que o local estudado, durante o regime de baixa-mar e, sobretudo, em situação de maré viva, considera-se que os organismos possam estar expostos a valores consideráveis de irradiância UV-B, sendo expectável que ocorram impactes graves no biota aquático.

Perspectivas futuras

Constituindo o presente estudo uma abordagem prévia e pioneira em Portugal sobre a problemática do aumento de incidência da radiação UV-B, associado à redução do ozono estratosférico numa latitude média, entende-se que esta deverá constituir uma temática a explorar em estudos futuros.

No âmbito de novos estudos entende-se como oportuna a realização de estudos de avaliação de impactes nos níveis tróficos superiores da Ria Formosa, provocados pelo

aumento da incidência da radiação UV-B. Considera-se também pertinente investigar os impactes da interacção de outros factores ambientais, incluindo contaminantes e poluentes traço na Ria Formosa.

Considera-se ainda importante incluir, em estudos a desenvolver no âmbito das alterações climáticas e do aquecimento global, a determinação de impactes biológicos provocados pela alteração na incidência das razões entre as gamas de radiação UV-A : UV-B, dado que com o aumento da incidência da radiação UV-B na latitude portuguesa, esta razão poderá estar a sofrer alterações, desconhecendo-se a resposta biológica, entre muitas outras, nos sistemas costeiros.

REFERÊNCIAS

- Aas, E. & Hokedal, J. (1996). Penetration of ultraviolet B, blue and quanta irradiance into Svalbard waters. *Polar Research*, 15: 127-138.
- Aas, E. & Hokerslev, N. K. (2001). Attenuation of ultraviolet irradiance in north European coastal waters. *Oceanologia*, 43: 139-168.
- Abel, P. D. & Axiak, V. (1991). *Ecotoxicology and the Marine Environment*. Hellis Horwood Ltd. London. 269.
- Abramowitz, M. & Stegun, I.A. (1972). *Handbook of Mathematical Functions: with Formulas, Graphs, and Mathematical Tables*, 10th printing. National Bureau of Standards Applied Mathematics Series – 55. Endereço electrónico: <http://www.math.ucla.edu/~cbm/aands/intro.htm>.
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, AC-19: 716-723.
- Aliaume, C.; Monteiro, C.; Louis, M.; Lam-Hoai, T. & Lassere, G. (1993). Spatial and temporal organization of lagoon fish communities (Ria Formosa in Portugal and Grand Cul de Sac Marin in Guadalupe). *Oceanologica Acta*, 16 (3): 291-301.
- Andrade, J. P. (1989). The flatfishes of the Ria Formosa, southern Portugal: results of a three-year survey. Topics in Marine Biology. Proceedings of the 22nd European Marine Biology Symposium. Ros, J. (ed.). Barcelona. Spain. *Institute de Ciencias del Mar*, 53 (2-3): 671-676.

- Andrade, J. P. (1990). *A importância da Ria Formosa no ciclo biológico da Solea senegalensis (Kaup, 1858), Solea vulgaris (Quensel, 1806), Solea lascaris (Risso, 1810) e Microchirus azevia (Capello, 1868)*. Dissertação apresentada à Universidade do Algarve para a obtenção do grau de Doutor. Universidade do Algarve, Faro, 405 p.
- Andrade, J. P. (1992). Age, growth and population structure of *Solea senegalensis* Kaup, 1858 (Pisces, Soleidae) in the Ria Formosa (Algarve, Portugal). *Scientia Marina, Barcelona*, 56 (1): 35-41.
- Andreasson, K. I. M. & Wångberg, S. –A. (2007). Reduction in growth rate in *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae) and *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) induced by UV-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 86: 227-233.
- Araoz, R. & Häder, D. –P. (1997). Ultraviolet radiation induces both degradation and synthesis of phycobilisomes in *Nostoc* sp.: a spectroscopic and biochemical approach. *FEMS Microbiological Ecology*, 23: 301-313.
- Arts, M. T. & Rai, H. (1997). Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on the production of lipid, polysaccharide and protein in three freshwater algal species. *Freshwater Biology*, 38: 597 – 610.
- Arts, M. T.; Robarts, R. D.; Kasai, F.; Waiser, M. J.; Tumber, V. P.; Plante, A. J.; Rai, H. & de Lange, H. J. (2000). The attenuation of ultraviolet radiation in high dissolved organic carbon waters of wetlands and lakes on the northern Great Plains. *Limnology and Oceanography*, 45: 292-299.
- Asmus, R. M.; Sprung, M. & Asmus, H. (2000). Nutrient fluxes in intertidal communities of a South European lagoon (Ria Formosa) - similarities and differences with a northern Wadden Sea Bay (Sylt- Romo Bay). *Hydrobiologia*, 436: 217-235.
- Assis, M. E.; Sampayo, M. A. & Vilela, M. H. (1984). Ria de Faro-Olhão. I-Pigmentos e formas planctónicas predominantes. *Cuadernos da Area de Ciencias Mariñas, Seminario de Estudos Galegos*, 1: 217-236.

-
- Backlund, P. (1992). Degradation of aquatic humic material by ultraviolet light. *Chemosphere*, 25: 1869-1878.
- Bailey, C. A.; Neihof, R. A. & Tabor, P. S. (1983). Inhibitory effect of solar radiation on amino acid uptake in Chesapeake Bay bacteria. *Applied Environment and Microbiology*, 46: 44-69.
- Baker, K. S. ; Smith, R. C. & Green, A. E. S. (1980). Middle ultraviolet radiation reaching the ocean surface. *Photochemistry and Photobiology*, 32: 367-374.
- Banaszak, A. T. & Lesser, M. P. (2009). Effects of solar ultraviolet radiation on coral reef organisms. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 8: 1267-1294.
- Bancroft, B.; Baker, N. J. & Blaustein, A. R. (2007). Effects of UVB radiation on marine and freshwater organisms: a synthesis through meta-analysis. *Ecology Letters*, 10: 332-345.
- Barbosa, A. B. (*in press*). Seasonal and interannual variability of planktonic microbes in a mesotidal coastal lagoon (Ria Formosa, SE Portugal): impact of climatic changes and local-human influences. In: Paerl, H. & M. Kennish (Eds.). *Coastal Lagoons: critical habitats of environmental change*. Marine Science Book Series. CRC Press.
- Barcelo, J. A. & Calkins, J. (1979). Positioning of aquatic microorganisms in response to visible light and simulated solar shortwave UV-B irradiation. *Photochemistry and Photobiology*, 29: 75-84.
- Barcelo, J. A. & Calkins, J. (1980). The relative importance of various environmental factors on the vertical distribution of the aquatic protozoan *Coleps spiralis*. *Photochemistry and Photobiology*, 31: 67-73.
- Beardall, J.; Berman, T.; Markager, S.; Martinez, R. & Montecino, V. (1997). The effects of ultraviolet radiation on respiration and photosynthesis in two species of microalgae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54: 687-696.

-
- Behrenfeld, M. J.; Hardy, J. & Li, III, H. (1992). Chronic effects of ultraviolet-B radiation on growth and cell volume of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 28: 757-760.
- Behrenfeld, M. J., Lee II, H. & Small, L. F. (1994). Interactions between nutritional status and long-term responses to ultraviolet-B radiation stress in a marine diatom. *Marine Biology*, 118: 523-530.
- Bettarel, Y.; Sime-Ngando, T.; Amblard, C.; Carrias, J. & Portelli, C. (2003). Virioplankton and microbial communities in aquatic systems: a seasonal study in two lakes of differing trophic. *Freshwater Biology*, 48: 810-822.
- Bird, E.C.F. (1994). Physical setting and geomorphology of coastal lagoons. In Coastal Lagoon Processes. Edited by B. Kjerfve, *Elsevier Oceanography Series*, 60: 9-39.
- Bischof, K.; Gómez, I.; Molis, M.; Halnet, D.; Karsten, U.; Lüder, U.; Roleda, M.; Zacher, K. & Wiencke, C. (2006). Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Reviews in Environmental Sciences and Biotechnology*, 5: 141-166.
- Björn, L. O. (2007). Stratospheric ozone, ultraviolet radiation, and cryptogams. *Biological Conservation*, 135: 326-333.
- Bliss, C. I. (1935). The calculation of the Dosage-Mortality Curve. *Annals of Applied Biology*, 22: 134-307.
- Boelen, P.; Vernet, M. J. & Buma, A. G. (2001). Accumulation and removal of UVBR-induced DNA damage in marine tropical plankton subjected to mixed and simulated non-mixed conditions. *Aquatic Microbial Ecology*, 24: 265-274.
- Bollens, S. M. & Frost, B. W. (1990). UV light and vertical distribution of the marine planktonic copepod *Acartia hudsonica pinhey*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 137: 89-93.

- Bonzongo, J. –C. J. & Donkor, A. (2003). Increasing UV-B radiation at the earth's surface and potential effects on aqueous mercury cycling and toxicity. *Chemosphere*, 52: 1263-1273.
- Booth, C. R. & Morrow, J. H. (1997). The penetration of natural UV into natural waters. *Photochemistry and Photobiology*, 65: 254-257.
- Booth, C.; Morrow, J.; Coohill, T.; Cullen, J. J.; Frederick, J.; Häder, D. -P.; Holm-Halsen, O.; Jeffery, W.; Mitchell, D.; Neale, P. J.; Sobolev, I.; Leun, J. & Worrest, C. (1997). Impacts of solar UVR on aquatic microorganisms. *Photochemistry and Photobiology*, 65: 252-269.
- Bouchard, J. N.; Roy, S.; Ferreyra, G.; Campbell, D. A. & Curtosi, A. (2005). Ultraviolet-B effects on photosystem II efficiency of natural phytoplankton communities from Antarctica. *Polar Biology*, 28: 607-618.
- Boucher, N. P. & Prézelin, B.B. (1996). An in situ biological weighting function for UV inhibition of phytoplankton carbon fixation in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 144: 223-236.
- Bougis, P. (1974). *Ecologie du plancton marin. I – Le phytoplancton*. 1ª Edição. Paris. 196 p.
- Box, G. E. P. & Draper, N. R. (1987). *Empirical Model Building and Response Surfaces*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 669 p.
- Bracchini, L.; Cozar, A.; Dattilo, A. M.; Falcucci, M.; Gonzales, R.; Loiselle, S. & Hull, V. (2004a). Analysis of extinction in ultraviolet and visible spectra of water bodies of the Paraguay and Brazil wetlands. *Chemosphere*, 57: 1245-1255.
- Bracchini, L.; Cózar, A.; Dattilo, A. M.; Picchi, M. P.; Arena, C.; Mazzuoli, S. & Loiselle, A. (2005). Modelling the components of the vertical attenuation of ultraviolet radiation in a wetland lake ecosystem. *Ecological Modelling*, 186: 43-54.

-
- Bracchini, L.; Loiselle, S.A.; Dattilo, A. M.; Mazzuoli, S.; Cozar, A & Rossim C. (2004b). The spatial distribution of the optical properties in the UV and visible in an aquatic ecosystem. *Photochemistry and Photobiology*, 80 (1): 139-149.
- Bricaud, A., Morel, A. & Prieur, L. (1981). Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. *Limnology and Oceanography*, 26: 43-53
- Brotas, V.; Ferreira, A. A.; Vale, C. & Catarino, F. (1990). Oxygen profiles in intertidal sediments of Ria Formosa (S. Portugal). *Hydrobiologia*, 207: 123.129.
- Browman, H. I.; Vetter, R. D.; Rodriguez, C. A.; Cullen, J. J.; Davis, R. F.; Lynn, E. & Pierre, F. –F. St. (2003). Ultraviolet (280-400 nm)-induced DNA damage in the eggs and larvae of *Calanus finmarchicus* G. (Copepoda) and Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *Photochemistry and Photobiology*, 77 (4): 397-404.
- Buckley, R. G. & Trodahl, H. J. (1990). Radiation risks. *Nature*, 346: 24
- Bullock, A. M. (1985). The effect of UV-B radiation upon the skin of plaice *Pleuronectes platessa* infested with the bodonid ectoparasite *Ichtyobodo necator*. *Journal of Fish Diseases*, 8: 547-550.
- Buma, A. G.; Engeen, A. H. & Gieskes, W. W. C. (1997). Wavelength-dependent induction of thymine dimmers and growth rate reduction in the marine diatom *Cyclotella* sp. Exposed to ultraviolet radiation. *Marine Ecology Progress Series*, 153: 91-97.
- Buma, A. G. J.; van Oijen, T.; van de Poll, W.; Veldhuis, M. J. W.; Gieskes, W. W. C. (2000). The sensitivity of *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) to ultraviolet-B radiation. *Journal of Phycology*, 36 (2): 296-303.
- Buma, A. G. J.; Zemmeling, H. J.; Sjollema, K. & Gieskes, W. W. C. (1996). UVB radiation modifies protein, photosynthetic pigment content, volume and ultrastructure of marine diatoms. *Marine Ecological Progress Series*, 141: 47 – 54.

-
- Burgt, C.; Pas, E. H.; Logten, M. J.; Meyer, C. L.; Parmentier, J. H. Schors, A.; Spijker, N. J.; Zijlstra, K. C.; Esch, G. J.; Korringa, P. & Tromp, D. (1980). *Degradability, Ecotoxicity and bio-accumulation: the determination of the possible effects of chemicals and wastes on the aquatic environment*. Staatsuitgeverij. Government Publishing Office. The Hague. Netherlands.
- Bushaw, W. L.; Zepp, R. G.; Tarr, M. A.; Schultz-Jander, D.; Bourbonniere, R. A.; Hodson, R. E.; Miller, W. L.; Bronk, D. A. & Moran, M. A. (1996). Photochemical release of biologically available nitrogen from aquatic dissolved organic matter. *Nature*, 381: 404 – 407.
- Calkins, J. & Thordardottir, T. (1980). The ecological significance of solar UV radiation on aquatic organisms. *Nature*, 283: 563-566.
- Callieri, C. & Stockner, J. G. (2002). Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *Journal of Limnology*, 61: 1-14.
- Calvário, J. R. O. (1986). *Contribuição para o estudo ecológico do sistema lagunar Ria Formosa*. Trabalho de síntese apresentado à Universidade do Algarve no âmbito da prestação de provas de capacidade e aptidão científico-pedagógica. Universidade do Algarve, Faro, 204 p.
- Calvário, J. R. O. (1995). *Estrutura e dinâmica das comunidades macrobênticas da Ria Formosa (Ria Faro-Olhão)*. Dissertação apresentada à Universidade do Algarve para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas na especialidade de Ecologia Marinha. Universidade do Algarve, Faro, 337 p.
- Carlucci, A. F.; Craven, D. B. & Henrichs, S. M. (1985). Surface film microheterotrophs amino acid metabolism and solar radiation effects on their activities. *Marine Biology*, 85: 13-22.
- Chambers, J. M., Cleveland, W. S., Kleiner, B. and Tukey, P. A. (1983) *Graphical Methods for Data Analysis*. Wadsworth & Brooks/Cole.

-
- Chatila, K.; Deners, S.; Mostajir, B.M Gosselin, M.; Chanut, J. -P; Monfort, P. & Bird, D. (2001). The responses of a natural bacterioplankton community to different levels of ultraviolet-B radiation: a food web perspective. *Microbial Ecology*, 41: 56-68.
- Cheng, L.; Douek, M. & Goring, D. (1978). UV absorption by gerrid cuticles. *Limnology and Oceanography*, 23: 554-556.
- Chiang, W. L.; Au, D. W. .; Yu, P. K. . & Wu, R. S. (2003). UV-B damages eyes of barnacle larvae and impairs their photoresponses and settlement success. *Environmental Science & Technology*, 37: 1089-1092.
- Chícharo, L.M.Z. & Chícharo, M.A. (2001). Effects of environmental conditions on planktonic abundances, benthic recruitment and growth rates of the bivalve mollusc *Ruditapes decussatus* in a Portuguese coastal lagoon. *Fisheries Research.*, 53: 235-250.
- Christensen, M. R.; Graham, M. D.; Vinebrooke, R. D.; Findlay, D. L.; Paterson, M. J. & Turner, M. A. (2006). Multiple anthropogenic stressors cause ecological surprises in boreal lakes. *Global Change Biology*, 12: 2316-2322.
- Cloern, J. E. & Dufford, R. (2005). Phytoplankton community ecology: principles applied in San Francisco. *Marine Ecology Progress Series*, 285: 11-28.
- Clyne, M. (1976). Destruction of stratospheric ozone? *Nature*, 263: 723-726.
- Cockell, C. S. & Knowland, J. (1999). Ultraviolet screening compounds. *Biological Reviews*, 74: 311-345.
- Cody, T. E.; Radike, M. J. & Warshawsky, D. (1984). The phototoxicity of benzo(a)pyrene in the green alga *Selenastrum capricornutum*. *Environmental Research*, 35: 122-132.
- Comissão Coordenação e Desenvolvimento Regional do Algarve (2005). *Relatório do Estado do Ambiente do Algarve 2003*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Gráfica Maiadouro, S.A. 66 p.

-
- Conde, D.; Aubriot, L. & Sommaruga (2000). Changes in UV penetration associated with marine intrusions and freshwater discharge in a shallow coastal lagoon of the Southern Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 207: 19-31.
- Conover, W.J. (1980). *Practical Nonparametric Statistics*. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York. 493 p.
- Cordi, B.; Donkin, M. E.; Peloquin, J.; Price, D. N. & Depledge, M. H. (2001). The influence of UV-B radiation on the reproductive cells of the intertidal macroalga, *Enteromorpha intestinalis*. *Aquatic Toxicology*, 56: 1-11.
- Cordi, B.; Hyde, P.; Donkin, M. E.; Price, D. N. & Depledge, M. H. (1999). Evaluation of in vivo thallus absorptance and chlorophyll fluorescence as biomarkers of UV-B exposure and effects in marine macroalgae from different tidal levels. *Marine Environmental Research*, 48: 193-212.
- Cristina, S.; Sequeira, A.; Newton, A.; Ferreira, J. G. & Icely, J. (s/d). *ECASA – Study site report, Ria Formosa coastal lagoon, Portugal*. IMAR. 48 p.
- Crump, D.; Lean, D.M.; Berril, M.; Coulson, D. & Toy, L. (1999). Spectral irradiance in pond water: influence of water chemistry. *Photochemistry and Photobiology*, 70: 893-901.
- Crutzen, P. J. (1992). Ultraviolet on the increase. *Nature*, 356: 104-105.
- Cullen, J. J. & Lesser, M. P. (1991). Inhibition of photosynthesis by ultraviolet radiation as a function of dose and dosage rate: results for a marine diatom. *Marine Biology*, 111: 183–190.
- Cullen, J. C.; Neale, P. J. & Lesser, M. P. (1992). Biological weighting function for the inhibition of phytoplankton photosynthesis by ultraviolet radiation. *Science*, 258: 646-650.
- Cullen, J. J. & Neale, P. J. (1994). Ultraviolet radiation, ozone depletion and marine photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 39: 303–320.

-
- Daalgaard, P. (2002). *Introductory Statistics with R*. Springer, Statistics and Computing Series. 267 p.
- Daniel, W. W. (1987). *Biostatistics: A Foundation for analysis in the health sciences*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 740 p.
- Damkaer, D. M. & Dey, D. B. (1983). UV damage and photo-reactivation potentials of larval shrimp, *Pandalus platyceros*, and adults euphausiids, *Thysanoessa raschi*. *Oecologia*, 60: 169-175.
- Damkaer, D. M.; Dey, D. B. & Heron, G. A. (1981). Dose/dose-rate response of shrimp larvae to UV-B radiation. *Oecologia*, 48: 178-182.
- Damkaer, D. M.; Dey, D. B.; Heron, G. A. & Prentice, E. F. (1980). Effects of UV-B radiation on near-surface zooplankton of Pugged Sound. *Oecologia*, 44: 149-158.
- Davies-Colley, R. J. & Vant, W. N. (1987). Absorption of light by yellow substance in freshwater lakes. *Limnology and Oceanography*, 32 (2): 416-425.
- Dawes, C. (1986). *Botanica marina*. Editorial Limusa, S.A. Mexico. 673 p.
- Decreto-lei n.º 45/78. Diário da República n.º 100, Série I, de 2 de Maio de 1978.
- Decreto-lei n.º 373/87. Diário da República n.º 282, Série I, de 9 de Dezembro de 1997.
- Decreto-lei n.º 384-B/99. Diário da República n.º 223, Série I-A, de 23 de Setembro de 1999.
- Decreto-lei n.º 136/2007. Diário da República n.º 82, Série I-A, de 27 de Abril de 2007.
- Decreto-lei n.º 99-A/2009. Diário da República n.º 83, Suplemento, Série I-A, de 29 de Abril de 2009.

- Dethlefsen, V.; Westernhagen; Tüg, H.; Hansen, P. D. & Dizer, H. (2001). Influence of solar ultraviolet-B on pelagic fish embryos: osmolality, mortality and viable hatch. *Helgoland Marine Research*, 55: 45-55.
- Dey, D. B.; Damkaer, D. M. & Heron, G. A. (1988). UV-B dose/dose-rate responses of seasonally abundant copepods of Puget Sound. *Oecologia*, 76: 321-329.
- Díaz, S. B.; Morrow, J. H. & Booth, C. R. (2000). *UV physics and optics*. In: Mora, S.; Demers, S. & Vernet, M. (Eds.). *The effects of UV radiation in the marine environment*. Cambridge environmental chemistry series, 10. Cambridge University Press, UK. Pp. 35-71.
- DGA (Direcção-Geral do Ambiente) (2000). *Relatório do Estado do Ambiente – 1999*. Lisboa. 415 p.
- Diffey, B. L. (1989). *Radiation Measurement in photobiology*. Academic Press Ltd., London. 230 p.
- Dobretsov, S. V.; Qian, P. Y. & Wahl, M. (2005). Effect of solar ultraviolet radiation on the formation of shallow, early successional biofouling communities in Hong Kong. *Marine Ecology Progress Series*, 290: 55-65.
- Döhler, G. (1984). Effect of UV-B radiation on the marine diatoms *Lauderia annulata* and *Thalassiosira rotula* grown in different salinities. *Marine Biology*, 83: 247-254.
- Döhler, G. (1985). Effect of UV-B radiation (290 - 320 nm) on the nitrogen metabolism of several marine diatoms. *Journal of Plant Physiology*, 118: 391-400.
- Döhler, G. (1990). *Effect of UVB (290-320 nm) radiation on uptake of ¹⁵N-nitrate by marine diatoms*. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, pp. 354-359.
- Döhler, G. (1992). Impact of UV-B radiation on uptake of ¹⁵N-ammonia and ¹⁵N-nitrate by phytoplankton of the Wadden Sea. *Marine Biology*, 112: 485-489.

- Döhler, G. & Alt, M. R. (1989). Assimilation of ^{15}N -ammonia during irradiance with ultraviolet-B and monochromatic light by *Thalassiosira rotula*. *C.R. Acad. Sci. Paris*, D308: 513-518.
- Döhler, G. & Buchmann, T. (1995). Effects of UV-A and UV-B irradiance on pigments and ^{15}N -assimilation of the haptophycean *Pavlova*. *Journal of Plant Physiology*, 146: 29-34.
- Döhler, G. & Haas, F. T. (1995). UV effects on chlorophylls and carotenoids of the haptophycean alga *Pavlova*. *Photosynthetica*, 31 (1): 157-160.
- Döhler, G.; Hagmeier, E. & David, C. (1995). Effects of solar and artificial UV radiation on pigments and assimilation of ^{15}N ammonium and ^{15}N nitrate by macroalgae. *Journal of Photochemistry and Photobiology B. Biology*, 30:179-187.
- Döhler, G.; Hagmeier, E.; Grigoleit, E. & Krause, K. D. (1991). Impact of solar UV radiation on uptake of ^{15}N -nitrate by marine diatoms and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 187: 293–303.
- Donavaro, R. & Corinaldesi, C. (2003). Sunscreen products increase virus production through prophage induction in marine bacterioplankton. *Microbial Ecology*, 45: 109-118.
- Draper, W. M. & Crosby, D. G. (1981). Hydrogen peroxide and hydroxyl radical. Intermediates in indirect photolysis reactions in water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29: 699-702.
- Draper, W. M. & Crosby, D. G. (1984). Solar photo oxidation of pesticides in dilute hydrogen peroxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32: 231-237.
- Draper, N. R. & Smith, H. (1981). *Applied Regression Analysis*. John Wiley & Sons. New York. 610 p.

- Dring, M. J.; Wagner, A.; Franklin, L. A.; Kuhlenskamp, R. & Lüning, K. (2001). Seasonal and diurnal variations in ultraviolet-B and ultraviolet-A irradiances at and below the sea surface at Helgoland (North Sea) over a 6-year period. *Helgoland Marine Research*, 55: 3-11.
- Driscoll, C. M. H. (1992). Solar UV trends and distributions. *National Radiological Protection Board*, 137: 7-13.
- Drollet, J. M.; Glaziou, P. M. & Martin, P. M. (1993). A study of mucus from the solitary coral *Fungia fungites* (Scleractinia: Fungiidae) in relation to photobiological UV adaptation. *Marine Biology*, 115: 263-266.
- Duarte, P.; Guerreiro, M. J.; Reia, J.; Fonseca, L. C.; Pereira, A.; Azevedo, B.; Falcão, M.; Serpa, D. (2007). Gestão de zonas costeiras: aplicação à Ria Formosa (Sul de Portugal). *Revista Ciência Agronômica*, 38 (1): 118-128.
- Duarte, P.; Pereira, A.; Falcão, M.; Serpa, D.; Ribeiro, C.; Bandeira, R. & Azevedo, B. (2006). *Biogeochemical Modelling of Ria Formosa (South Coast of Portugal) with EcoDynamo Model description*. DITTY (Development of an information technology tool for the management of Southern European lagoons under the influence of river-basin runoff). EESD Project EVK3-CT-2002-00084. Universidade Fernando Pessoa. Porto. 46 p.
- Dunlap, W. C.; Chalker, B. E. & Oliver, J. K. (1986). Bathymetric adaptations of reef building corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 104: 239-248.
- Dunlap, W. C. & Yamamoto, Y. (1995). Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine: *Comparative Biochemistry and Physiology*: 112B: 105–114.
- Dunn, P.K. & Smyth, G.K., 1996. Randomized quantile residuals. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5: 1-10.

-
- Dunne, R. P. & Brown, B. E. (1996). Penetration of solar UVB radiation in shallow tropical waters and its potential biological effects on coral reefs: results from the central Indian Ocean and Andaman Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 144: 109-118.
- Dunteman, G. H. (1984). *Linear Models*. Sage Publications, Inc. London. 357 p.
- DuRand, M. D. & Olson, R. J. (1996). Contributions of phytoplankton light scattering and cell concentration changes to diel variations in beam attenuation in the equatorial Pacific from flow cytometric measurements of pico-, ultra- and nanoplankton. *Deep Sea Research*, II(43): 891-906.
- Ekelund, N. G. (1992). Studies on the effects of UV-B radiation on phytoplankton of sub-antarctic levels and ponds. *Polar Biology*, 12: 533–537.
- Ekelund, N. G. (1994). Influence of UV-B radiation on photosynthetic light-response curves, absorption spectra and motility of four phytoplankton species. *Physiologia Plantarum*, 91: 696–702.
- Estupinan, J. G.; Raman, S.; Crescenti, G. H.; Streitcher, J. J. & Barnard, W. F. (1996). The effects of clouds and haze on UV-B radiation. *Journal of Geophysical Research*, 101: 807-816.
- Falcão, M. & Fonseca, L. C. (2008). Caracterização das comunidades de anelídeos poliquetas ao longo de um gradiente de profundidade na região do Ancão (Algarve – Portugal). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3 (3): 214-231.
- Falcão, M.; Pissarra, J. & Cavaco, M. (1985). Características físicas e químicas da Ria Faro-Olhão: 1984. *Relatório Técnico do Instituto Nacional de Investigação das Pescas*, 61: 1-24.
- Falcão, M. & Vale, C. (1990). Study of the Ria Formosa ecosystem: benthic nutrient remineralization and tidal variability of nutrients in water. *Hydrobiologia*, 207: 137-146.

-
- Falkowski, P. & Raven, P. E. (1997). *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell Science. Malden, Ma.
- Faraway, J.J. (2002). Practical Regression and Anova using R. 212 p. Disponível em: <http://www.cran.r-project.org/doc/contrib/Faraway-PRA.pdf>
- Ferrandi, G. & Muralidharan, S. (1981). Photochemical properties of copper complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 36: 45-88.
- Ferrero, E.; Eöry, M.; Ferreyra, G.; Schloss, I.; Zagarese, H.; Vernet, M. & Momo, F. (2006). Vertical mixing and ecological effects of ultraviolet radiation in planktonic communities. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 898-902.
- Fiala, M. & Delille, D. (1992). Variability and interactions of phytoplankton and bacterioplankton in the Antarctic neritic area. *Marine Ecology Progress Series*, 89: 135-146.
- Figueroa, F. L. & Gómez, I. (2001). Photosynthetic acclimation to solar UV radiation of marine red algae from the warm-temperate coast of the southern Spain: A review. *Journal of Applied Phycology*, 13: 235-248.
- Fitzsimons, M. F.; Dawit, M.; Revitt, D. M. & Rocha, C. (2005). Effects of early tidal inundation on the cycling of methylamines in inter-tidal sediments. *Marine Ecology Progress Series*, 294: 51-61.
- Formicki, G. & Stawarz, R. (2006). Ultraviolet influence on catalase activity and mineral content in eyeballs of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Science of the Total Environment*, 369: 447-450.
- Frederick, J. E.; Snell, H. E. & Haywood, E. K. (1989). Solar ultraviolet radiation at the earth's surface. *Photochemistry and Photobiology*, 51: 443-450.

-
- Freitas, M. C. (1996). O que é uma laguna costeiras? *Comunicação apresentada no "Seminário sobre lagunas costeiras e ilhas-barreira da zona costeira portuguesa"*. Associação Eurocoast de Portugal. Aveiro.
- Frimmel, F. H.; Bauer, H.; Putzien, J.; Murasecco, P. & Braun, A. M. (1987). Laser flash photolysis of dissolved aquatic humic material and the sensitised production of singlet oxygen. *Environmental Science & Technology*, 21: 541-545.
- Gamito, S. & Gonce, I. E. (1997). Sustainable management of a coastal lagoon system (Ria Formosa, Portugal): an ecological model for extensive aquaculture. *International Journal of Salt Lake Research*, 6 (2): 205.
- G.E.P.P. (1990). *Recursos da pesca*. Ministério do Mar. Secretaria do Estado das Pescas. Série Estatística. vol. 4 A-B. Lisboa. pp.
- Gerber, S. & Häder, D. (1993). Effects of solar irradiation on motility and pigmentation on three species of phytoplankton. *Environmental and Experimental Botany*, 33 (4): 515-521.
- Gerber, S. & Häder, D. (1995). Effects of enhanced solar irradiation on chlorophyll fluorescence and photosynthetic oxygen production of five species of phytoplankton. *FEMS Microbiology Ecology*, 16: 33-42.
- Gieskes, W. W. & Buma, A. G. J. (1997). UV damage to plant life in a photobiologically dynamic environment: the case of the marine phytoplankton. *Plant Ecology*, 128: 16-25.
- Gjessing, E. T. & Källqvist, T. (1991). Algicidal and chemical effect of u.v.-radiation of water containing humic substances. *Water Research*, 25 (4): 491-494.
- Goes, J. I.; Hand, N.; Taguchi, S. & Hama, T. (1994). Effect of UV-B radiation on the fatty acid composition of the marine phytoplankter *Tetraselmis* sp.: relationship to cellular pigments. *Marine Ecology Progress Series*, 114: 259-274.

-
- Gómez, I.; Figueroa, F. L.; Huovinen, P.; Ulloa, N. & Morales, V. (2005). Photosynthesis of the red alga *Gracilaria chilensis* under natural solar radiation in an estuary in southern Chile. *Aquaculture*, 244: 369-382.
- Görner, H. (1994). Photochemistry of DNA and related biomolecules: quantum yields and consequences of photoionization. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 26: 117 – 139.
- Green, A.; Sawada, T. & Shettle, E. (1974). The middle ultraviolet reaching the ground. *Photochemistry and Photobiology*, 19: 251-259.
- Grobe, C. W. & Murphy, T. M. (1994). Inhibition of growth of *Ulva expansa* (Chlorophyta) by ultraviolet-B radiation. *Journal of Phycology*, 30: 783-790.
- Gunn, J. M.; Snucins, E.; Yan, N. D. & Arts, M. T. (2001). Use of water clarity to monitor the effects of climate change and other stressors on oligotrophic lakes. *Environmental Monitoring and Assessment*, 67: 69-88.
- Haapala, J.; Mörsky, S.; Saarnio, S.; Rinnan, R.; Suokanervas, H.; Kyrö, E.; Latola, K.; Martikainen, P.; Holopainen, T. & Silvola, J. (2009). Carbon dioxide balance of a fen ecosystem in northern Finland under elevated UV-B radiation. *Global Change Biology*, 15: 943-954.
- Häder, D. (1986). Effects of solar and artificial UV irradiation on motility and phototaxis in the flagellate *Euglena gracilis*. *Photochemistry and Photobiology*, 44(5): 651-656.
- Häder, D. & Häder, M. (1988). Inhibition of motility and phototaxis in the green flagellate, *Euglena gracilis*, by UV-B radiation. *Archives of Microbiology*, 150: 20-25.
- Häder, D. & Häder, M. (1990). Effects of solar radiation on motility, photomovements and pigmentation in two strains of the cyanobacterium *Phormidium uncinatum*. *Acta Protozoologica* 29 (4): 291 – 303.

-
- Häder, D.; Kumar, H. D.; Smith, R. C. & Worrest, R. C. (2003). Aquatic ecosystems: effects of solar ultraviolet radiation and interactions with other climatic change factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2: 39-50.
- Häder, D.; Kumar, H. D.; Smith, R. C. & Worrest, R. C. (2007). Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6: 267-285.
- Häder, D. & Lui, S. M. (1991). Effects of enhanced solar radiation on aquatic ecosystems. *Photochemistry and Photobiology*, 53: 717-725.
- Häder, D. & Worrest, R. (1991). Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Photochemistry and Photobiology*, 53: 717-725.
- Häkkinen, J. & Oikari, A. (2004). A field methodology to study effects of UV radiation on fish larvae. *Water Research*, 38: 2891-2897.
- Häkkinen, J.; Pasanen, S. & Kukkonen, J. (2001). The effect of solar UV-B radiation on embryonic mortality and development in three boreal anurans (*Rana temporaria*, *Rana arvalis* and *Bufo bufo*). *Chemosphere*, 44: 441-446.
- Halnet, D.; Tüg, H.; Bischof, K.; Gross, C.; Lippert, H.; Sawall, T.; Karsten, U. & Wiencke, C. (2001). Light regime in an Arctic fjord: a study related to stratospheric ozone depletion as a basis for determination of UV effects on algal growth. *Marine Biology*, 138: 649-658.
- Hardy, J. T. (1982). The sea surface microlayer: biology, chemistry and anthropogenic enrichment. *Progress in Oceanography*, 11: 307-328.
- Harriot, V. J. (1985). Mortality rates of scleractinian corals before and during a mass bleaching event. *Marine Ecology Progress Series*, 21: 119-132.
- Harvey, G. R.; Boran, D. A.; Chesal, L. A. & Tokar, J. M. (1983). The structure of marine fulvic acid and humic acids. *Marine Chemistry*, 12: 119-132.

-
- Hastie, T.J. & Tibshirani, R.J. (1990). *Generalized Additive Models*. Chapman & Hall. Monographs on Statistics and Applied Probability, 43. 335 p.
- Hazen, A. (1896). The measurement of the colors of natural waters. *Journal of the American Chemical Society*, 18: 264p.
- Helbling, E. W.; Buma, A. G.; Willem, V.; Zenoff, M. & Villafañe, V. E. (2008). UVR-induced photosynthesis inhibition dominates over DNA damage in marine dinoflagellates exposed to fluctuating solar radiation regimes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 365: 96-102.
- Hernández, E. A.; Ferreyra, G. A.; Ruberto, L. A. & Cormack, W. P. (2009). The water column as an attenuating factor of the UVR effects on bacteria from a coastal Antarctic marine environment. *Polar Research (published online: April 2009)*: 9 p.
- Hernández, K. L.; Quiñones, R. A.; Daneri, G.; Farias, M. E. & Helbling, E. W. (2007). Solar UV radiation modulates daily production and DNA damage of marine bacterioplankton from a productive upwelling zone (36°S), Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 343: 82-95.
- Hernando, M. P. & Ferreyra, G. A. (2005). The effects of UV radiation on photosynthesis in an Antarctic diatom (*Thalassiosira* sp.): Does vertical mixing matter? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 325: 35-45.
- Hessen, D. O.; Lange, H. J. -D.; Van Donk, E. (1997). UV-induced changes in phytoplankton cells and its effects on grazers. *Freshwater Biology*, 38: 513-524.
- Hojerslev, N. K. (1978). Solar middle UV-B measurement in coastal waters rich in yellow substance. *Limnology and Oceanography*, 23: 1076-1079.
- Hojerslev, N. K. & Aas, E. (1991). A relationship for the penetration of ultraviolet B radiation into the Norwegian Sea. *Journal of Geophysical Research*, 96 (C9): 17003-17005.

-
- Holm-Hansen, O. (1990). *UV radiation in Antarctic waters: effects on rates of primary production* (Appendix G). La Jolla, CA, USA, Scripps Institution of Oceanography, pp. 1-17.
- Holm-Hansen, O.; Mitchell, B. & Vernet, M. (1989). Ultraviolet radiation in the Antarctic waters: effects on rates of primary production. *Antarct. J.U.S.*, 24: 177-178.
- Holm-Hansen, O.; Villafañe, V. E. & Helbling, E. W. (1997). Effects of solar ultraviolet radiation on primary production in Antarctic waters. In *Antarctic Communities: Species, Structures and Survival*, ed. Battaglia, B.; Valencia, J. & Walton, D. W. H. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 375-380.
- Holzinger, A. & Lütz, C. (2006). Algae and UV irradiation: effects on ultrastructure and related metabolic functions. *Micron*, 37: 190-207.
- Holzinger, A; Lütz, C.; Karsten, U.; Wiencke, C. (2004). The effect of ultraviolet radiation on ultrastructure and photosynthesis in the red macroalgae *Palmaria palmate* and *Odonthalia dentata* from Arctic waters. *Plant Biology*, 6 (5): 568-577.
- Holzinger, A; Lütz, C.; Karsten, U.; Wiencke, C. (2006). Ultrastructures and photosynthesis in the supralittoral green macroalga *Prasiola crispa* from Spitsbergen (Norway) under UV exposure. *Phycologia*, 45 (2): 168-177.
- Houghton, J. T.; Filho, L. G. M.; Callander, B. A.; Harris, N.; Kattenberg, A. & Maskell, K. (1996). *Climate change 1995, the science of climate change, contribution of working group I to the second assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Ed. Lakeman, J.A. Cambridge University Press. 572 p.
- Huang, X. D.; Dixon, D. G. & Greenberg, B. M. (1993). Impacts of UV radiation and photomodification on the toxicity of PAHs to the higher plant *Lemna gibba* (Duckweed). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1067-1077.

- Hunter, J. R.; Taylor, J. H. & Moser, H. G. (1979). Effect of ultraviolet irradiation on eggs and larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax*, and the Pacific mackerel, *Scomber japonicus*, during the embryotic stage. *Photochemistry and Photobiology*, 29: 325-338.
- IA (Instituto do Ambiente) (2002). *Programa Nacional para as Alterações Climáticas*. Comissão para as Alterações Climáticas, criada pela RCN n.º 72/98. Versão 1. 80 p.
- IA (Instituto de Ambiente) (2005). *Relatório do estado do Ambiente 2003*. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território. Amadora. 238 p.
- Ibelings, B. W. & Maberly, S. C. (1998). Photoinhibition in the availability of inorganic carbon restrict photosynthesis by surface blooms of cyanobacteria. *Limnology and Oceanography*, 43: 408-419.
- ICNB (Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade) (2008). *Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa, Estudos de caracterização*. Parque Natural da Ria Formosa. Olhão. 655 p.
- Ilyas, M. (1987). Effect of cloudiness on solar ultraviolet radiation reaching the surface. *Atmospheric Environment*, 21: 1483-1484.
- IM (Instituto de Meteorologia) (2006). Normais climatológicas (1961 – 1990), Faro (554), Latitude: 37°01'N; Longitude: 07°58'W; Alt.: 8 m. Endereço electrónico: http://www.meteo.pt/resources/im/pdfs/clim_ac_61_90_Faro.pdf, última actualização Agosto 2009.
- INIP (Instituto Nacional de Investigação das Pescas) (1979). Projecto de trabalho para o conhecimento de alguns aspectos do ciclo biológico da Ria de Faro-Olhão, sobretudo visando o seu aproveitamento no sentido da aquacultura, particularmente da piscicultura. Relatório final da primeira fase. *Relat. Tec. Adm. INIP*, 2, 101 p.
- Ionoko, M. (1981). Photochemical decomposition of organo mercurials methyl mercury II chloride. *Environmental Pollution Serie B*, 2: 3-10.

- Jeffrey, W. H.; Aas, P.; Lyons, M. M.; Coffin, R. B.; Pledger, R. J. & Mitchell, D. L. (1996). Ambient solar radiation-induced photodamage in marine bacterioplankton. *Photochemistry and Photobiology*, 64: 419–427.
- Jeffrey, S.W. & Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, c_1 , and c_2 in higher plants, algae and Natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167, p. 191-194.
- Join, I. & Jordan, M. B. (2008). Effect of short-term exposure to UVA and UVB on potential phytoplankton production in UK coastal waters. *Journal of Plankton Research*, 30 (2). 199-210.
- Jokiel, P. L. (1980). Solar ultraviolet radiation and coral reef epifauna. *Science*, 207: 1069-1071.
- Jokinen, I.; Markkula, E. S.; Salo, H.; Jun, P.; Nokoskelainen, S.; Arts, M. & Browman, H. (2008). Exposure to increase ambient ultraviolet B radiation has negative effects on growth, condition and immune function of juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Photochemistry and Photobiology*, 84: 1265-1271.
- Jones, L. W. & Kok, B. (1966). Photoinhibition of chloroplast reactions. *Plant Physiology*, 41: 1037-1043.
- Karabashev, G. S. (1977). Influence of phytoplankton on the attenuation of short-wave solar radiation in the Baltic Sea. *Oceanologia.*, 17: 283-286.
- Karen, K.L. & Gorden, R. W. (1993). An accelerated laboratory study evaluating the disintegration rates of plastic films in simulated aquatic environments. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 1(1): 45-51.
- Karentz, D. (1989). Report on studies related to the ecological implications of ozone depletion on the Antarctic environment. *Antarct. J.U.S.*, 24: 175-176.

- Karentz, D. (1991). Ecological considerations of Antarctic ozone depletion. *Antarctic Science*, 3: 3 – 11.
- Karentz, D.; Bothwell, M. L.; Coffin, R. B.; Hanson, A.; Herndl, G. J.; Kilham, S.S.; Lesser, M. P.; Lindell, M.; Moeller, R. E.; Morris, D. P.; Neale, P. J.; Sanders, R. W.; Weiler, C. S. & Wetzel, R. G. (1994). Impact of UV-B radiation on pelagic freshwater ecosystems: report of working group on bacteria and phytoplankton. *Ergebnisse der Limnologie (Archiv für Hydrobiologie. Beiheft)*, 43: 31-69.
- Karentz, D.; Cleaver, J. E. & Mitchell, D. L. (1991a). Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *Journal of Phycology*, 27: 326 – 341.
- Karentz, D.; McEuen, F. S.; Land, M. C. & Dunlap, W. C. (1991b). Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Marine Biology*, 108: 157-166.
- Karentz, D. & Spero, H. J. (1995). Response of natural *Phaeocystis* population to ambient fluctuations of UVB radiation caused by Antarctic ozone depletion. *Journal of Plankton Research*, 17: 1771- 1789.
- Karsten, U. & Garcia-Pichel, F. (1996). Carotenoids and mycosporine-like amino acid compounds in members of the genus *Microcoleus* (Cyanobacteria): a chemosystematic study. *Systematic and Applied Microbiology*, 19 (3): 285-294.
- Karydis, M. (1982). Toxicity of a photo oxidized crude oil on 2 marine micro algae. *Botanica Marina*, 25: 25-30.
- Kashian, D.; Prusha, B. A. & Clements, W. H. (2004). Influence of total organic carbon and UV-B radiation on zinc toxicity and bioaccumulation in aquatic communities. *Environmental Science & Technology*, 38: 6371-6376.
- Katsutoshi, A.; Tetsuji, M. & Suzuki, R. (1992). Optimum conditions of UV ray irradiation for genetic inactivation of loach eggs. *Nippon Suuisan Gakkaishi*, 58 (7): 1197-1201.

-
- Kaupp, S. E.; & Hunter, J. R. (1981). Photorepair in larval anchovy, *Engraulis mordax*. *Photochemistry and Photobiology*, 33: 253-256.
- Khuri, A. I. & Cornell, J. A. (1996). *Response Surfaces: Designs and Analyses*. Marcel Dekker, Inc. New York. 510 p.
- Kieber, D. J.; McDaniel, J. A. & Mopper, J. (1989). Photochemical source of biological substrates in seawater: implications of carbon cycling. *Nature*, 341: 637-639.
- Kieber, R. J.; Zhou, X. & Moper, K. (1990). Formation of carbonyl compounds from UV-induced photodegradation of humic substances in natural waters: fate of riverine carbon in the sea. *Limnology and Oceanography*, 35: 1503 – 1515.
- Kirk, J. T. (1983). *Light and photosynthesis in aquatic environments*. Cambridge University Press. Cambridge. 391 p.
- Kjeldstad, B.; Frette, O.; Erga, S. R.; Browman, H. I.; Kuhn, P.; Davis, R.; Miller, W. & Stamnes, J. J. (2003). UV (280 to 400 nm) optical properties in a Norwegian fjord system and in comparison of underwaters radiometers. *Marine Ecology Progress Series*, 256: 1-11.
- Kramer, C. J. M. (1979). Degradation by sunlight of dissolved fluorescing substances in the upper layers of the eastern Atlantic Ocean. *Netherlands Journal of Sea Research*, 19: 125-128.
- Kramer, K. J. M. (1990). Effects of increased solar UV-B radiation on coastal marine ecosystems: an overview. In: Beukema, J. J. et al. (Eds). *Expected effects of climatic change on marine coastal ecosystems*. Klumer Academic Publishers. Netherlands. Pp 195-210.
- Kuhlenkamp, R.; Franklin, L. A. & Lüning, K. (2001). Effect of solar ultraviolet radiation on growth in the marine macroalga *Dictyota dichotoma* (Phaeophyceae) at Helgoland and its ecological consequences. *Helgoland Marine Research*, 55: 77-86.

-
- Kuhn, P.; Browman, H. I.; McArthur, B. & St-Pierre, J. F. (1999). Penetration of ultraviolet radiation in the waters of the estuary and Gulf of St. Lawrence. *Limnology and Oceanography*, 44: 710-716.
- Lange, H. J. -D. & Lüring, M. (2003). Effects of UV-B irradiated algae on zooplankton grazing. *Hydrobiologia*, 491: 133-144.
- Laurion, I. & Roy, S. (2009). Growth and photoprotection in three dinoflagellates (including two strains of *Alexandrium tamarense*) and one diatom exposed to four weeks of natural and enhanced ultraviolet-b radiation. *Journal of Phycology*, 45: 16-33.
- Lee, C. & Wakeham, S. (1992). Organic matter in the water column: future research challenges. *Marine Chemistry*, 39: 95-118.
- Leech, D. M. & Williamson (2001). *In situ* exposure to ultraviolet radiation alters the depth distribution of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 46: 416-420.
- Lesser, M. P. & Barry, T. M. (2003). Survivorship, DNA damage, and development in echinoderm embryos and larvae exposed to ultraviolet radiation (290-400 nm). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 292: 75-91.
- Lesser, M. P.; Cullen, J. J. & Neale, P. J. (1994). Carbon uptake in a marine diatom during acute exposure to ultraviolet B radiation: relative importance of damage and repair. *Journal of Phycology*, 30: 183-192.
- Lesser, M. P.; Thomas, M. B.; Lamare, M. D. & Barker, M. F. (2006). Biological weighting functions for DNA damage in sea urchin embryos exposed to ultraviolet radiation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 328: 10-21.
- Lima, C. & Vale, C. (1980). Alguns dados físicos, químicos e bacteriológicos sobre a Ria Formosa. *Boletim do Instituto Nacional de Investigação das Pescas*, 3: 5-25.
- Litchman, E. (2000). Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. *Freshwater Biology*, 44: 233-235.

- Litchman, E.; Steiner, D. & Bossard, P. (2003). Photosynthetic and growth responses of three freshwater algae to phosphorus limitation and daylength. *Freshwater Biology*, 48: 2141-2148.
- Lloret, J.; Marín, A. & Marín-Guirao, L. (2008). Is coastal lagoon eutrophication likely to be aggravated by global climate change? *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 78: 403-412.
- Lorenzen, C. J. (1967). Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography*, 12 (2): 343-346.
- Lorenzen, C. J. (1979). Ultraviolet radiation and phytoplankton photosynthesis. *Limnology and Oceanography*, 24: 1117-1120.
- Lou, T. & Xie, H. (2006). Photochemical alteration of the molecular weight of dissolved organic matter. *Chemosphere*, 65: 2333-2342.
- Loureiro, S.; Newton, A. & Icely, J. (2006). Boundary conditions for the European Framework Directive in the Ria Formosa lagoon, Portugal (physico-chemical and phytoplankton quality elements). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*: 382-398.
- Lyons, B. P.; Pascoe, C. K. & McFadzen, I.R.B. (2002). Phototoxicity of pyrene and benzo[a]pyrene to embryo-larval stages of the pacific oyster *Crassostera gigas*. *Marine Environmental Research*, 54: 627-631.
- Machado (1998). Modelação da radiação UVB incidente a diferentes profundidades da coluna de água da Ria Formosa. *Dissertação apresentada na Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, para efeitos de obtenção do grau de Mestre*. 82 p.
- MacIntyre, F. (1974). The top millimetre of the ocean. *Scientific American*, 230: 62-77.
- Malloy, K. D.; Holman, M. A.; Mitchell, D. & Detrich, H. W. (1997). Solar UVB-induced DNA damage and photoenzymatic DNA repair in Antarctic zooplankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 94: 1258-1263.

-
- Malone, T. C. (1980). Size-fractioned primary productivity of marine phytoplankton. *In*: Falkowski, P. G. (Ed.). *Primary Productivity in the Sea*. Plenum Press, New York, Pp. 301-319.
- MAOTDR (Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional) (2005). *Relatório do Estado do Ambiente do Algarve 2003*. Ed. Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Algarve (CCDR Algarve). Gráfica Maiadouro, S.A. 66p.
- Margalef, R. (1986). *Ecologia*. Ediciones Omega. Barcelona. 951 p.
- Marques, A. J. S. (2006). *Distribution of the plankton community in the Ria Formosa, a coastal lagoon in South Eastern Portugal*. Philosophy Doctor Thesis submitted to the University of Wales. School of Ocean Sciences, University of Wales, Bangor, UK. 212 p.
- Martim, L. & Landim-Dominguez, J. M. (1994). Geological history of coastal lagoons. *In* Coastal lagoon processes. Ed. Kjerfve, B. *Elsevier Oceanography Series*, 60: 41-68.
- Maske, H. (1984). Daylight ultraviolet radiation and the photoinhibition of phytoplankton carbon uptake. *Journal of Plankton Research*, 6: 351-357.
- McCullagh, P. & Nelder, J.A. (1989). *Generalized Linear Models*. 2nd. ed. Chapman & Hall. Monographs on Statistics and Applied Probability, 37. 511 p.
- McLusky, D.S. & Elliot, M. (2004). *The estuarine ecosystem*. Oxford University Press. 214 p.
- Meadows, P. S. & Campbell, J. I. (1978). *An Introduction to Marine Science. Tertiary Level Biology*. Blackie. Glasgow and London. 176 p.
- Mill, T.; Mabey, W. R.; Lan, B. Y. & Baraze, A. (1981). Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Chemosphere*, 10: 1281-1290.

- Miller, W. L. & Moran, M. A. (1997). Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment. *Limnology and Oceanography*, 42: 63-77.
- Mimms, F. M. & Frederick, J. E. (1994). Cumulus clouds and UV-B. *Nature*, 371: 291.
- Molis, M. & Wahl, M. (2009). Comparison of the impacts of consumers, ambient UV, and future UVB irradiance on mid-latitude macrobenthic assemblages. *Global Change Biology*, 15: 1833-1845.
- Molot, L. A.; Keller, W.; Leavitt, P. R.; Robarts, R. D.; Waiser, M. J.; Arts, M. T.; Clair, T. A.; Pienitz, R.; Yan, N. D.; McNicol, D. K.; Prairie, Y. T.; Dillon, P. J.; Macrae, M.; Bello, R.; Nordin, R. N.; Curtis, P. J.; Smol, J. P. & Douglas, S. V. (2004). Risk analysis of dissolved organic matter-mediated ultraviolet B exposure in Canadian inland waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61: 2511-2521.
- Monteiro, C.; Lassere, G. & Lam-Hoai, T. (1990). Spatial organization of the ichthyological community in the Ria Formosa lagoon (Portugal). *Oceanologica Acta*, 13 (1): 76-96.
- Montero, O.; Klisch, M.; Häder, D. -P & Lubian, L. M. (2002). Comparative sensitivity of seven marine microalgae to cumulative exposure to ultraviolet-B radiation with daily increasing doses. *Botanica Marina*, 45(4): 305-315.
- Montgomery, D. C. (1991). *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 649 p.
- Mopper, K.; Zhou, X.; Kieber, R. J.; Kieber, D. J.; Siroski, R. J. & Jones, R. D. (1991). Photochemical degradation of dissolved organic carbon and its impact on the oceanic carbon cycle. *Nature*, 353: 60-62.
- Mora, S.; Demers, S. & Vernet, M. (2000). *The effects of UV radiation in the marine environment*. Cambridge environmental chemistry series, 10. Cambridge University Press, UK. 324 p.

-
- Moran, M. A. & Zepp, R. G. (1997). Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, 42: 1307-1316.
- Morris, S. A. & Subden, R.E. (1974). Effects of ultraviolet radiation on carotenoid-containing and albino strains of *Neurospora crassa*. *Mutation Res.*, 22 (2): 105-109.
- Morris, D. P.; Zagarese, H.; Williamson, C. E.; Balseiro, E.G.; Hargreaves, B. R.; Modenutti, B.; Moller, R. & Quimalinos, C. (1995). The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography*, 40 (8): 1381-1391.
- Myers, R. H. & Montgomery, D. C. (1995). *Response Surface Methodology*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 700 p.
- Nairn, R. S.; Morizot, D. C.; Kazianis, S.; Woodhead, A. D. & Setlow, R. B. (1996). Nonmammalian models for sunlight carcinogenesis: genetic analysis of melanoma formation in *Xiphophorus* hybrid fish. *Photochemistry and Photobiology*, 64: 440-448.
- Navarro, N. P.; Mansilla, A. & Plastino, E. M. (2009). *Iridaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta): responses to artificial UVB radiation. *Journal of Applied Phycology* (published online: Sept 2009), 9p.
- Neale, P. J.; Davis, R. F. & Cullen, J. J. (1998). Interactive effects of ozone depletion and vertical mixing on photosynthesis of Antarctic phytoplankton. *Nature*, 392: 585-589.
- Neves, R.; Leitão, P. C. & Coelho, H. (1996). Hydrodynamic characterization of Ria Formosa with the MOHID system. *3º Congresso da Água, APRH 2*: 447-458.
- Newman, M. C. (1995). *Quantitative methods in aquatic ecotoxicology: advances in trace substances research*. Lewis Publishers. Boca Raton. 426p.

-
- Newton, A.; Icely, J. D.; Falcão, M.; Nobre, A.; Nunes, J. P.; Ferreira, J. G. & Vale, C. (2003). Evaluation of eutrophication in the Ria Formosa Coastal lagoon, Portugal. *Continental Shelf Research*, 23: 1945-1961.
- Newton, A. & Mudge, S. M. (2003). Temperature and salinity regimes in a shallow, mesotidal lagoon, the Ria Formosa, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57: 73-85.
- Nielsen, T.; Bjord, L. O. & Ekelund, N. G. (1995). Impact of natural and artificial UVB radiation on motility and growth rate of marine dinoflagellates. *Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology*, 27: 73-79.
- Nielsen, T. & Ekelund, N. G. (1993). Effect of UV-B radiation and humic substances on growth and motility of *Gyrodinium aureolum*. *Limnology and Oceanography*, 38 (7): 1570-1575.
- Nobre, A. M.; Ferreira, J. G.; Newton, A.; Simas, T.; Icely, J. D. & Neves, R. (2005). Management of coastal eutrophication: integration of field data, ecosystem-scale simulations and screening models. *Journal of Marine Systems*, 56: 375-390.
- Ohi, N.; Mizobuchi, A. & Taguchi, S. (2006). Light absorption of *Isochrysis galbana* (Prymnesiophyceae) under day-night cycle with ultraviolet radiation. *Marine Ecology Progress Series*, 316: 85-93.
- Okuno, E. & Vilela, M. A. (2005). *Radiação ultravioleta: características e efeitos*. Ed. Marinho, J. R. Livraria da Física. Sociedade Brasileira do Livro. SP, Brasil. 76 p.
- Ostrander, G. K. (1996). *Techniques in aquatic toxicology*. Lewis Publishers. New York. 686 p.
- Paerl, H. W. (1991). Ecophysiological and trophic implications of light-stimulated amino acid utilization in marine picoplankton. *Applied Environmental Microbiology*, 57: 473 – 479.

-
- Paerl, H. W.; Valdes, L. M.; Adolf, J. E. & Harding, L. W. (2006). Anthropogenic and climatic influences on the eutrophication of large estuarine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 51; 448-462.
- Parke, M. (1949). Studies on marine flagellates. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 28: 255-288.
- Parsons, T. R.; Takahashi, M. & Hargrave, B. (1984). *Biological Oceanographic Processes*. 3th ed. Pergamon Press, G.B. 330 p.
- Pelletier, E.; Sargian, P.; Payet, J. & Demers, S. (2006). Ecotoxicological effects of combined UVB and organic contaminants in coastal waters: a review. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 981-993.
- Pérez; M. & Romero, J. (2001). *Prácticas de Ecología Oceánica*. Textos docents de Universidade de Barcelona. Ed. Edicions Universitat Barcelona, Volume 234, 104 p.
- Pestana, D. D. & Velosa, S.F. (2006). *Introdução à Probabilidade e à Estatística, vol. 1. 2ª Ed.* Fundação Calouste Gulbenkian. 1164 p.
- Phoenix, V. R.; Bennet, P. C.; Engel, A. S.; Tyler, S. W. & Ferris, F. G. (2006). Chilean high-altitude hot-spring sinters: a model system for UV screening mechanisms by early Precambrian cyanobacteria. *Geobiology*, 4: 15-28.
- Piazena, H. & Häder, D. -P. (1994). Penetration of solar UV irradiation in coastal lagoons of the Southern Baltic Sea and its effect on phytoplankton communities. *Photochemistry and Photobiology*, 60: 463-469.
- Pienitz, R. & Vincent, W. F. (2000). Effect of climate change relative to ozone depletion on UV exposure in subarctic lakes. *Nature*, 404: 484-487.
- Pierce, D.A. & Schafer, D.W. (1986). Residuals in Generalized Linear Models. *Journal of the American Statistical Association*, 81 (396): 977-986.

- Poppe, F.; Schmidt, R. A. M.; Hanelt, D.; Wiencke, C. (2003). Effects of UV radiation on the ultrastructure of several red algae. *Phycological Reserach*, 51 (1): 11-19.
- Profico (2008). *Estudo de Impacte Ambiental do Projecto de Infra-estrutura para ILS e Linha de Aproximação da Pista 10, Ampliação de Plataformas e Caminhos de Circulação e Ampliação e Remodelação da Aerogare do Aeroporto de Faro*. 617 p.
- Quesada, A.; Mouget, J. -L. & Vincent, W. F. (1995). Growth of Antarctic cyanobacteria under ultraviolet radiation: UVA counteracts UVB radiation. *Journal of Phycology*, 31: 242-248.
- Quesada, A. & Vincent, W. F. (1997). Strategies of adaptation by Antarctic cyanobacteria to ultraviolet radiation. *European Journal of Phycology*, 32: 335-342.
- R Development Core Team (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, - Austria. ISBN 3-900051-07-0, Endereço Electrónico: <http://www.R-project.org>.
- Ramos, K. T.; Fries, L. T.; Berkhouse, C. S. & Fries, J. N. (1994). Apparent sunburn of juvenile paddlefish. *Progressive Fish Culturist*, 56: 214-216.
- Rech, M.; Mouget, J.; Morant-Manceau, A.; Rosa, P. & Tremblim, G. (2005). Long-term acclimation to UV radiation: effects on growth, photosynthesis and carbonic anhydrase activity in marine diatoms. *Botanica Marina*, 48: 407-420.
- Regan, J. D.; Carrier, W. L.; Gucinski, H.; Olla, B. L.; Yoshida, H.; Fujimura, R. K. & Wicklund, R. I. (1992). DNA as a solar dosimeter in the ocean. *Photochemistry and Photobiology*, 56 (1): 35-42.
- Regulamento (CE) n.º 2037/2000 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Junho de 2000, relativo às substâncias que empobrecem a camada de ozono. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* L244/1, de 29 de Setembro de 2000.

-
- Ren, L.; Huang, X. D.; McConkey, B. J.; Dixon, D. G. & Greenberg, B. M. (1994). Photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons (fluoranthene, pyrene and naphthalene) to the Duckweed *Lemna gibba* L. G-3. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 28: 160-171.
- Resolução do Conselho de Ministros n.º 78/2009. Diário da República, I Série, n.º 170, de 2 de Setembro de 2009.
- Rhode, S. C.; Pawlowski, M. & Tollrian, R. (2001). The impact of ultraviolet radiation on the vertical distribution of zooplankton of the genus *Daphnia*. *Nature*, 412: 69-72.
- Rijkenberg, M. J. A.; Fischer, A. C.; Kronn, J. J.; Gerringa, L. J. A.; Timmermans, K. R.; Wolterbeek, H. T. & Baar, H. J. W. (2005). The influence of UV irradiation on the photoreduction of iron in the Southern Ocean. *Marine Chemistry*, 93: 119-129.
- Ringelberg, J. (1999). The photobehaviour of *Daphnia* spp. As a model to explain diel vertical migration on zooplankton. *Biological Reviews*, 74: 397-423.
- Rohatgi, V.K. (1976). *An Introduction to Probability Theory and Mathematical Statistics*. John Wiley and Sons, New York. 684 p.
- Roleda, M. Y.; Hanelt, D. & Wiencke, C. (2006). Exposure to ultraviolet radiation delays photosynthetic recovery in Arctic kelp zoospores. *Photosynthesis Research*, 88: 311-322.
- Roy, S.; Mohovic, B.; Ganesella, S. M.; Schloss, I.; Ferrario, M. & Demers, S. (2006). Effects of enhanced UV-B on pigment-based phytoplankton biomass and composition of mesocosm-enclosed natural marine communities from three latitudes. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 909-922.

- Rozema, J.; Björn, L. O.; Bornman, J. F.; Gaberscik, A.; Häder, D. -P.; Trost, T.; Germ, M.; Klisch, M.; Gröniger, A.; Sinha, R. P.; Lebert, M.; He, Y. Y.; Buffoni-Hall, R.; Bakker, N. V. J. -D.; van de Staaij, J. & Meijkamp, B. B. (2002). The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems – an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 66: 2-12.
- Ruelas, D. S.; Karentz, D. & Sullivan, J. T. (2006). Lethal and sub-lethal effects of UVB on juvenile *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Journal of Invertebrate Pathology*, 93: 192-200.
- Santos, F. D.; Forbes, K & Moita, R. (2002). *Climate change in Portugal, scenarios, impacts and adaptation measures - SIAM Project*. Gradiva. Lisbon. 454 p.
- Santos, F. D. & Miranda, P. (2006). *Alterações climáticas em Portugal, cenários, impactos e medidas de adaptação – Projecto SIAM II*. Gradiva. Lisbon. 506 p.
- Sargian, P.; Pelletier, É.; Mostajir, B.; Ferreyra, G. A. & Demers, S. (2005). TBT toxicity on a natural planktonic assemblage exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Aquatic Toxicology*, 73: 299-314.
- Schindler, D. W.; Curtis, P. J.; Parker, B. R. & Stainton, M. P. (1996). Consequences of climate warming and lake acidification for UV-B penetration on North American boreal lakes. *Nature*, 379: 705-708.
- Schönwälder, M. E. A.; Wiencke, C.; Clayton, M. N. & Glombitza, K. W. (2003). The effect of elevated UV radiation on *Fucus* spp. (Fucales, Phaeophyta) zygote and embryo development. *Plant Biology*, 5 (4): 366-377.
- Scully, N. M. & Lean, D. R. S. (1994). The attenuation of ultraviolet radiation in temperate lakes. *Archives of Hydrobiology*, 43: 135-144.

-
- Setlow, R. B.; Grist, E.; Thompson, K. & Woodhead, A. D. (1993). Wavelengths effective in induction of malignant melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 90: 6666-6670.
- Setlow, R. B.; Woodhead, A. D. & Grist, E. (1989). Animal model for ultraviolet radiation – induced melanoma: platyfish-swordtail hybrid. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 86: 8922-8926.
- Siegenthaler, U. & Sarmiento, J. L. (1993). Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature*, 365: 119-125.
- Sieracki, M. E. & Sieburth, J. M. (1986). Sunlight-induced growth delay of planktonic marine-bacteria in filtered seawater. *Marine Ecology Progress Series*, 33: 19-27.
- Silvestre, F. C. & Baptista, J. A. (1985). *Contribuição para o estudo do sistema lagunar da “Ria de Faro”*. Universidade do Algarve, Faro, 57 p.
- Sinha, R.P & Häder, D. (2002). Life under solar UV radiation in aquatic organisms. *Advances in Space Research*, 30 (6), 1547-1556.
- Skerratt, J. H.; Davidson, A. D.; Nichols, P. & McMeekin, T. A. (1998). Effect of UV-B on lipid content of three Antarctic marine phytoplankton. *Phytochemistry*, 49 (4): 999-1007.
- Smith, R. C. (1989). Ozone, middle ultraviolet radiation and the aquatic environment. *Photochemistry and Photobiology*, 50: 459-468.
- Smith, R. C. & Baker, K. S. (1978). Optical classification of natural waters. *Limnology and Oceanography*, 23: 260-267.
- Smith, R. C. & Baker, K. S. (1979). Penetration of UV-B and biologically effective dose-rates in natural waters. *Photochemistry and Photobiology*, 29: 311-323.

-
- Smith, R. C. & Baker, K. S. (1989). Stratospheric ozone, middle ultraviolet radiation and phytoplankton productivity. *Oceanography*, 2: 4-10.
- Smith, R. C.; & Cullen, J. J. (1995). Effects of UV radiation on phytoplankton. *Review of Geophysics*, 33: 1211-1223.
- Smith, R. C.; Prézelin, B. B.; Baker, K. S.; Bidigare, R. R.; Boucher, N. P.; Coley, T.; Karentz, D.; MacIntyre, S.; Matlick, H. A.; Menzies, D.; Ondrusek, M.; Wan, Z. & Waters, K. J. (1992). Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science*, 255: 952-959.
- Smyth, G; with contributions from Yifang Hu and Peter Dunn (2009). statmod: Statistical Modeling. R package version 1.4.1. Endereço electrónico: <http://CRAN.R-project.org/package=statmod>.
- Southerland, H. A. & Lewitus, A. J. (2004). Physiological responses of estuarine phytoplankton to ultraviolet light-induced fluoranthene toxicity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 298: 303-322.
- Sprung, M. (1994). High larval abundances in the Ria Formosa (Southern Portugal) – methodological or local effect? *Journal of Plankton Research*, 16 (2): 151-160.
- Steeger, H. –U.; Freitag, J. F.; Michl, S.; Wiemer, M. & Paul, R. J. (2001). Effects of UV-B radiation on embryonic, larval and juvenile stages of North Sea plaice (*Pleuronectes platessa*) under simulated ozone-hole conditions. *Helgoland Marine Research*, 55: 56-66.
- Stein, J. R. (1988). *Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements*. Cambridge University Press. London. 448 p.
- Strasburger, E. (1988). *Tratado de botânica*. Editora Omega. Barcelona. 1098 p.

- Stephen, M. B. & Frost, B. W. (1990). UV light and vertical distribution of the marine planktonic copepod *Acartia hudsonica pinhey*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 137: 89-93.
- Stick, C.; Krüger, K.; Schade, N. H.; Sandmann, H. & Macke, A. (2005). Episode of unusual high solar ultraviolet radiation in central Europe due to dynamical reduced stratospheric ozone in May 2005. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, 5: 10409-10420.
- Strickland, R. M.; Grosse, D. J.; Stubin, A. I.; Ostrander, G. K. & Sibley, T. H. (1985). *Definition and characterization of data needs to describe the potential effects of increased atmospheric CO₂ on marine fisheries from the Northeast Pacific Ocean*. Report to U.S. Department of Energy (DOE/NBB-0075), contract No. W-7405-ENG-48. School of Fisheries, University of Washington, Seattle. 139 p.
- Tett, P.; Gilpin, L.; Svendsen, H.; Erlandsson, C. P.; Larsson, U.; Kratzer, S.; Fouilland, E.; Janzen, C.; Lee, J. -Y.; Grenz, C.; Newton, A.; Ferreira, J. G.; Fernandes, T. & Scory, S. (2003). Eutrophication and some European waters of restricted exchange. *Continental Shelf Research*, 23: 1635-1671.
- Tjessem, K. & Aaberg, A. (1983). Photochemical transformation and degradation of petroleum residues in the marine environment. *Chemosphere*, 12: 1373-1394.
- Tjessem, K.; Kobberstad, O. & Aaberg, A. (1983). Photochemically induced interactions in Ecofisk crude oil. *Chemosphere*, 12: 1395-1406.
- Trocine, R. P.; Rice, J. D. & Wells, G. N. (1981). Inhibition of seagrass photosynthesis by ultraviolet-B radiation. *Plant Physiology*, 68: 74-81.
- Turkman, M.A.A. & Silva, G.L. (2000). *Modelos Lineares Generalizados, da teoria à prática*. VIII Congresso Anual da Sociedade Portuguesa de Estatística, Lisboa. 151 p.
- UNEP (United Nations Environment Programme) (1989). *Environmental effects Panel Report*. Van der Lun, JC, Tevini, M. eds. United Nations Environment Programme, Nairobi, Kenya.

-
- UNEP (United Nations Environment Programme) (1991). *Environment effects of ozone depletion: 1991 Update*. United Nations Environment Programme, Nairobi, Kenya.
- UNEP (United Nations Environment Programme) (1998). *Environmental effects of ozone depletion: 1998*. United Nations Environmental Program, Nairobi, Kenya.
- Veen, A.; Reuvers, M. & Ronçak, P. (1997). Effects of acute and chronic UV-B exposure on a green alga: a continuous culture study using a computer-controlled dynamic light regime. *Plant Ecology*, 128: 29-40.
- Villafañe, V. E.; Helbling, E. W.; Holm-Hansen, O. & Chalker, B. E. (1995). Acclimatization of Antarctic natural phytoplankton assemblages when exposed to solar ultraviolet radiation. *Journal of Plankton Research*, 17: 2295-2306.
- Vincent, W. F. & Roy, S. (1993). Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection and recovery. *Environmental Reviews*, 1: 1-12.
- Voytek, M. A. (1990). Addressing the biological effects of decreased ozone on the Antarctic environment. *Ambio*, 19 (2): 52-61.
- Walne, P. R. (1974). *Cultivo de moluscos bivalves: 50 años de experiencia en Conwy*. Editorial Acribia. Zaragoza. 206 p.
- Wang, K. S.; & Chai, T. -J. (1994). Reduction in omega-3 fatty acids by UV-B radiation in microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 6: 415-421.
- Wängber, S. -A.; Selmer, J. -S. & Gustavson, K. (1996). Effects of UV-B radiation on biomass and composition in marine phytoplankton communities. *Scientia Marina*, 60 (Supplement 1): 81-88.
- Webb, R. B. (1977). Lethal and mutagenic effects of near-ultraviolet radiation. *Photochemistry and Photobiology*, 2: 169-261.

- Weber, S. (2005). Light-driven enzymatic catalysis of DNA repair: a review of recent biophysical studies on photolyase. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1707: 1-23.
- Whitehead, R. F.; Mora, S. J.; Demers, S. (2000). *Enhanced UV radiation – a new problem for the marine environment*. In: Mora, S.; Demers, S. & Vernet, M. (Eds.). *The effects of UV radiation in the marine environment*. Cambridge environmental chemistry series, 10. Cambridge University Press, UK. Pp. 1-34.
- WHO (World Health Organization) (1994). *Ultraviolet Radiation: Environment Health Criteria 160*. World Health Organization, Geneva. 352 p.
- Wilhelm, S. W.; Weinbauer, M. G.; Suttle, C. A. & Jeffrey, W. H. (1998). The role of sunlight in the removal and repair of viruses in the sea. *Limnology and Oceanography*, 43: 586-592.
- Williamson, C. E. (1995). What role does UV-B radiation play in freshwater ecosystem? *Limnology and Oceanography*, 40: 386-392.
- Williamson, C. E. & Zagarese, H. (2003). UVR effects on aquatic ecosystems: a changing perspective. In: Helbling, E. W.; Zagares, H. E. (Eds.). *UV effects in aquatic organisms and ecosystems*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. Pp. 547-567.
- Winckie, C.; Clayton, M. N. & Schöwälder, M. (2004). Sensitivity and acclimation to UV radiation zoospore from five species of *Laminariales* from the Arctic. *Marine Biology*, 145 (1): 31-39.
- Winckie, C.; Gómez, I.; Pakker, H.; Flores-Moya, A.; Altamirano, M.; HAlnet, D.; Bischof, K. & Figueroa, F. L. (2000). Impact of UV-radiation on viability, photosynthetic characteristics and DNA of brown algal zoospores: implications for depth zonation. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 217-229.
- Wittink, D. R. (1988). *The application of Regression Analysis*. Allyn & Bacon, Inc. London. 323 p.

-
- WMO (World Meteorological Organization) (1988). *International Ozone Trends Panel Report: 1988*. World Meteorological Organization, Global Ozone Research and Monitoring Project, Report n.º 18.
- WMO (World Meteorological Organization) (1995). *Scientific Assessment of Ozone Depletion: 1994*. United Nations Environment Program, Global Ozone Research and Monitoring Project. Report n.º37.
- WMO (World Meteorological Organization) (1995). *Scientific Assessment of Ozone Depletion: 1998*. United Nations Environmental Program, World Meteorological Organization.
- Wong, A. S. & Crosby, D. G. (1981). Photo decomposition of pentachlorophenol in water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29: 125-130.
- Wood, S. R.; Berwick, M.; Ley, R. -D; Walter, R. B.; Setlow, R. B. & Timmins, G. S. (2006). UV causation of melanoma in *Xiphophorus* is dominated by melanin photosensitized oxidant production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, PNAS*, 103: 4111-4115.
- Worrest, R. C. (1986). *The effect of solar UV-B radiation on aquatic systems: an overview. Effects of Changes in Stratospheric Ozone and Global Climate*. Vol. 1. Overview, J.G. Titus, ed. U.S. Environmental Protection Agency and United Nations Environment Programme, pp. 175-191.
- Worrest, R. C.; Wolniakowski, K. U.; Scott, J. D.; Brooker, D. L.; Thomson, B. E. & Van Dyke, H. (1981). Sensitivity of marine phytoplankton to UV-B radiation impact upon a model ecosystem. *Photochemistry and Photobiology*, 33: 223-228.
- Wuertz, D.; many others and see the SOURCE file (2009). fBasics: Rmetrics - Markets and Basic Statistics. R package version 2100.78. <http://CRAN.R-project.org/package=fBasics>.

-
- Wulff, A.; Mohlin, M. & Sundbäck, K. (2007). Intraspecific variation in the response of the cyanobacterium *Nodularia spumigena* to moderate UV-B radiation. *Harmful Algae*, 6: 388-399.
- Xiong, F. (2001). Evidence that UV-B tolerance of the photosynthetic apparatus in microalgae is related to the D1-turnover mediated repair cycle *in vivo*. *Journal of Plant Physiology*, 158: 285-294.
- Xue, L.; Zhang, Y. Zhang, T.; An, L. & Wang, X. (2005). Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on algae and cyanobacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 31: 79-89.
- Yan, N. D.; Keller, W.; Scully, N. M.; Lean, D. R. S. & Dillon, P. J. (1996). Increased UV-B penetration in lake owing to drought-induced acidification. *Nature*, 381: 141-143.
- Yumita, T. & Yamamoto, I. (1982). Photodegradation of mepronil. *Journal of Pesticide Science*, 7: 125-132.
- Zafiriou, O. C. (1987). Marine photochemistry: is seawater a radical solution? *Nature*, 325: 481-482.
- Zafiriou, O. C.; Joussiot-Dubien, J.; Zepp, R. G. & Zika, R. G. (1984). Photochemistry of natural waters. *Environmental Science & Technology*, 18: 358A-371A.
- Zar, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis*. 2nd. Ed. Prentice-Hall, New Jersey. 718 p.
- Zepp, R. G.; Baughman, G. L. & Scholtzhauer, P. F. (1981). Comparison of photochemical behaviour of various humic substances in water: I. Sunlight induced reactions of aquatic pollutants photosensitized by humic substances. *Chemosphere*, 10: 109-117.
- Zika, R. G. (1987). Advances in marine photochemistry 1983-1987. *Reviews of Geophysics*, 25: 1390-1394.

ANEXOS

Tabela 1 – Resumo da apresentação dos resultados obtidos com o ajuste de modelos polinomiais de segunda-ordem às irradiâncias UV-B detectadas para cada profundidade.

Profundidade	Modelo	Submodelo
0 m	Tabelas n.ºs 2 e 3	Tabelas n.ºs 4 e 5
0.5 m	Tabelas n.ºs 6 e 7	Tabelas n.ºs 8 e 9
1.0 m	Tabelas n.ºs 10 e 11	Tabelas n.ºs 12 e 13
1.5 m	Tabelas n.ºs 14 e 15	Tabelas n.ºs 16 e 17
2.0 m	Tabelas n.ºs 18 e 19	Tabelas n.ºs 20 e 21
2.5 m	Tabelas n.ºs 22 e 23	Tabelas n.ºs 24 e 25
3.0 m	Tabelas n.ºs 26 e 27	Tabelas n.ºs 28 e 29

Profundidade 0,0 metros

Tabela 2 - Sumário da Regressão Múltipla (0,0 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB incidente à superfície

$R = 0,687$, $R^2 = 0,473$ e R^2 ajustado = 0,447

$F(5,102) = 18,282$ $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: 106,80

	b_i	Erro padrão de b_i	$t(102)$	Significância
Constante	435,862	19,433	22,430	0,0000
x_1	-105,459	16,374	-6,441	0,0000
x_2	-11,899	15,921	-0,747	0,4566
x_1^2	-188,715	29,478	-6,402	0,0000
x_2^2	-73,500	28,108	-2,615	0,0103
x_1x_2	-31,548	25,366	-1,244	0,2165

Tabela 3 - Análise de Variância (0,0 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	1042676	5	208535	18,282	0,0000
Residual	1163451	102	11406		
Total	2206127				

Tabela 4 - Sumário da Regressão Múltipla (0,0 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB incidente à superfície
 $R = 0,680$, $R^2 = 0,462$ e R^2 ajustado = $0,446$
 $F(3,104) = 29,739$ $p < 0,0000$; Erro padrão do estimador: 106,85

	b_i	Erro padrão		Significância
		$de b_i$	$t(104)$	
Constante	435,862	19,442	22,418	0,0000
x_1	-105,459	16,382	-6,437	0,0000
x_1^2	-188,715	29,493	-6,399	0,0000
x_2^2	-73,500	28,122	-2,614	0,0103

Tabela 5 - Análise de Variância (0,0 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	1 018 662	3	339 554	29,739	0,0000
Residual	1 187 465	104	11 418		
Total	2 206 127				

Profundidade 0,5 metros

Tabela 6 - Sumário da Regressão Múltipla (0,5 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB a 0,5 metros de profundidade
 $R = 0,778$, $R^2 = 0,605$ e R^2 ajustado = $0,586$
 $F(5,102) = 31,296$ $p < 0,0000$; Erro padrão do estimador: 11,089

	b_i	Erro padrão		Significância
		$de b_i$	$t(102)$	
Constante	47,106	2,018	23,347	0,0000
x_1	-7,148	1,700	-4,205	0,0000
x_2	-0,693	1,653	-0,419	0,6759
x_1^2	-34,812	3,061	-11,374	0,0000
x_2^2	-7,905	2,918	-2,709	0,0079
x_1x_2	-3,645	2,634	-1,384	0,1694

Tabela 7 - Análise de Variância (0,5 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	19 242	5	3 848	31,296	0,0000
Residual	12 542	102	123		
Total	31 784				

Tabela 8 - Sumário da Regressão Múltipla (0,5 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB a 0,5 metros de profundidade

 $R = 0,773$, $R^2 = 0,597$ e R^2 ajustado = 0,586 $F(3,104) = 51,418$, $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: 11,094

	b_i	Erro padrão		Significância
		$de b_i$	$t(104)$	
Constante	47,106	2,019	23,337	0,0000
x_1	-7,148	1,701	-4,203	0,0000
x_1^2	-34,812	3,062	-11,369	0,0000
x_2^2	-7,905	2,920	-2,708	0,0079

Tabela 9 - Análise de Variância (0,5 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	18985	3	6 328	51,418	0,0000
Residual	12800	104	123		
Total	31784				

Profundidade 1,0 metros

Tabela 10 - Sumário da Regressão Múltipla (1,0 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB a 1,0 metros de profundidade

 $R = 0,711$, $R^2 = 0,506$ e R^2 ajustado = 0,482 $F(5,102) = 20,902$ $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: 2,504

	b_i	Erro padrão		Significância
		$de b_i$	$t(102)$	
Constante	8,601	0,456	18,876	0,0000
x_1	-1,224	0,384	-3,188	0,0019
x_2	0,085	0,373	0,229	0,8196
x_1^2	-6,579	0,691	-9,519	0,0000
x_2^2	-1,257	0,659	-1,907	0,0594
x_1x_2	-0,143	0,595	-0,241	0,8102

Tabela 11 - Análise de Variância (1,0 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	655,44	5	131,088	20,902	0,0000
Residual	639,71	102	6,272		
Total	1 295,15				

Tabela 12 - Sumário da Regressão Múltipla (1,0 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB a 1,0 metros de profundidade

 $R = 0,699$, $R^2 = 0,488$ e R^2 ajustado = $0,478$ $F(2,105) = 50,026$, $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: 2,513

	b_i	Erro padrão <i>de</i> b_i	$t(103)$	Significância
Constante	8,077	0,365	22,136	0,0000
x_1	-1,224	0,385	-3,176	0,0020
x_1^2	-6,579	0,694	-9,485	0,0000

Tabela 13 - Análise de Variância (1,0 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	631,948	2	315,974	50,026	0,0000
Residual	663,198	105	6,316		
Total	1 295,146				

Profundidade 1,5 metros

Tabela 14 - Sumário da Regressão Múltipla (1,5 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB a 1,5 metros de profundidade

 $R = 0,679$, $R^2 = 0,461$ e R^2 ajustado = $0,435$ $F(5,102) = 17,464$ $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: 0,733

	b_i	Erro padrão <i>de</i> b_i	$t(102)$	Significância
Constante	2,391	0,133	17,941	0,0000
x_1	-0,358	0,112	-3,184	0,0000
x_2	0,010	0,109	0,095	0,9244
x_1^2	-1,728	0,202	-8,546	0,0000
x_2^2	-0,388	0,193	-2,014	0,0466
x_1x_2	0,051	0,174	0,292	0,7706

Tabela 15 - Análise de Variância (1,5 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	46,854	5	9,371	17,464	0,0000
Residual	54,733	102	0,537		
Total	101,587				

Tabela 16 - Sumário da Regressão Múltipla (1,5 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB a 1,5 metros de profundidade
 $R = 0,685$, $R^2 = 0,469$ e R^2 ajustado = $0,459$
 $F(2,104) = 45,982$ $p < 0,0000$; Erro padrão do estimador: $0,671$

	b_i	Erro padrão		Significância
		$de b_i$	$t(101)$	
Constante	2,182	0,098	22,286	0,000
x_1	-0,323	0,103	-3,135	0,002
x_1^2	-1,682	0,185	-9,074	0,000

Tabela 17 - Análise de Variância (1,5 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	41,359	2	20,68	45,982	0,0000
Residual	46,772	104	0,450		
Total	88,132				

Profundidade 2,0 metros

Tabela 18 - Sumário da Regressão Múltipla (2,0 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB a 2,0 metros de profundidade
 $R = 0,489$, $R^2 = 0,239$ e R^2 ajustado = $0,202$
 $F(5,102) = 6,424$ $p < 0,00003$; Erro padrão do estimador: $0,383$

	b_i	Erro padrão		Significância
		$de b_i$	$t(102)$	
Constante	0,768	0,070	11,019	0,0000
x_1	-0,147	0,059	-2,497	0,0141
x_2	0,013	0,057	0,236	0,8141
x_1^2	-0,524	0,106	-4,095	0,0000
x_2^2	-0,093	0,101	-0,922	0,3588
x_1x_2	0,061	0,091	0,672	0,5032

Tabela 19 - Análise de Variância (2,0 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	4,718	5	0,944	6,424	0,0000
Residual	14,984	102	0,147		
Total	19,702				

Tabela 20 - Sumário da Regressão Múltipla (2,0 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB a 2,0 metros de profundidade
 $R = 0,479$, $R^2 = 0,229$ e R^2 ajustado = $0,215$
 $F(2,105) = 15,626$, $p < 0,0000$; Erro padrão do estimador: $0,380$

	Erro padrão			
	b_i	$de\ b_i$	$t(106)$	Significância
Constante	0,730	0,0552	13,216	0,0000
x_1	-0,147	0,0583	-2,516	0,0134
x_1^2	-0,524	0,1050	-4,992	0,0000

Tabela 21 - Análise de Variância (2,0 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	4,519	2	2,260	15,626	0,0000
Residual	15,183	105	0,145		
Total	19,702				

Profundidade 2,5 metros

Tabela 22 - Sumário da Regressão Múltipla (2,5 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB a 2,5 metros de profundidade
 $R = 0,691$, $R^2 = 0,477$ e R^2 ajustado = $0,427$
 $F(5,52) = 9,498$, $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: $0,156$

	Erro padrão			
	b_i	$de\ b_i$	$t(52)$	Significância
Constante	0,531	0,042	12,628	0,0000
x_1	-0,115	0,033	-3,487	0,0010
x_2	-0,038	0,031	-1,219	0,2283
x_1^2	-0,365	0,068	-5,340	0,0000
x_2^2	-0,080	0,056	-1,434	0,1576
x_1x_2	-0,049	0,050	-0,990	0,3267

Tabela 23 - Análise de Variância (2,5 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	1,1524	5	0,230	9,498	0,0000
Residual	1,2618	52	0,024		
Total	2,4142				

Tabela 24 - Sumário da Regressão Múltipla (2,5 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB a 2,5 metros de profundidade
 $R = 0,659$, $R^2 = 0,434$ e R^2 ajustado = 0,413
 $F(2,55) = 21,084$ $p < 0,00000$; Erro padrão do estimador: 0,158

	Erro padrão			
	b_i	de b_i	$t(55)$	Significância
Constante	0,490	0,035	14,183	0,0000
x_1	-0,110	0,033	-3,341	0,0015
x_1^2	-0,346	0,065	-5,322	0,0000

Tabela 25 - Análise de Variância (2,5 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	1,048	2	0,524	21,084	0,0000
Residual	1,367	55	0,025		
Total	2,414				

Profundidade 3,0 metros

Tabela 26 - Sumário da Regressão Múltipla (3,0 metros): Modelo Original

Resposta: Radiação UVB a 3,0 metros de profundidade
 $R = 0,636$, $R^2 = 0,404$ e R^2 ajustado = 0,301
 $F(5,29) = 3,935$ $p < 0,00761$; Erro padrão do estimador: 0,102

	Erro padrão			
	b_i	de b_i	$t(29)$	Significância
Constante	0,301	0,036	8,375	0,0000
x_1	-0,098	0,051	-1,910	0,0661
x_2	0,035	0,057	0,612	0,5453
x_1^2	-0,184	0,056	-3,287	0,0027
x_2^2	-0,071	0,060	-1,193	0,2424
x_1x_2	0,078	0,077	1,004	0,3235

Tabela 27 - Análise de Variância (3,0 metros): Modelo Original

	SQ	df	QM	F	Significância
Regressão	0,205	5	0,041	3,935	0,0076
Residual	0,302	29	0,010		
Total	0,507				

Tabela 28 - Sumário da Regressão Múltipla (3,0 metros): Submodelo

Resposta: Radiação UVB a 3,0 metros de profundidade

 $R = 0,597$, $R^2 = 0,357$ e R^2 ajustado = 0,316 $F(2,32) = 8,868$, $p < 0,00086$; Erro padrão do estimador: 0,101

	b_i	Erro padrão $de b_i$	$t(32)$	Significância
Constante	0,296	0,030	9,853	0,0000
x_1	-0,055	0,028	-1,958	0,0590
x_1^2	-0,191	0,054	-3,535	0,0013

Tabela 29 - Análise de Variância (3,0 metros): Submodelo

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	0,181	2	0,090	8,868	0,0009
<i>Residual</i>	0,326	32	0,010		
<i>Total</i>	0,507				

Comparação dos melhores modelos estimados, entre profundidades

Comparação 1

Tabela 30 - Análise de Variância - Comparação 1: Hipótese nula

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	649090	4	162273	5,288	0,0004
<i>Residual</i>	6474683	211	30686		
<i>Total</i>	7123773				

Tabela 31 - Análise de Variância - Comparação 1: Hipótese alternativa

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	3 647 383	8	455 923	27,148	0,0000
<i>Residual</i>	3 476 390	207	16 794		
<i>Total</i>	7 123 773				

Comparação 2

Tabela 32 - Análise de variância - Comparação 2: Hipótese nula

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	343.1	2	171.56	23,330	0,0000
<i>Residual</i>	2 787.1	379	7.35		
<i>Total</i>	3 130.2				

Tabela 33 - Análise de Variância - Comparação 2: Hipótese alternativa

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	778.66	8	97.33	15,439	0,0000
<i>Residual</i>	2351.55	373	6.30		
<i>Total</i>	3130.20				

Comparação 3

Tabela 34 - Análise de variância - Comparação 3: Hipótese nula

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	1.113	2	0,56	22,782	0,0000
<i>Residual</i>	2.199	90	0,02		
<i>Total</i>	3.312				

Tabela 35 - Análise de Variância - Comparação 3: Hipótese alternativa

	SQ	df	QM	F	Significância
<i>Regressão</i>	1,34	4	0,34	15,001	0,0000
<i>Residual</i>	1,97	88	0,02		
<i>Total</i>	3,31				