

João Miguel Sousa da Silva

Ecofisiologia de *Gelidium sesquipedale*: efeitos da temperatura e intensidade luminosa na fotossíntese

Relatório da tese de Mestrado em Aquacultura

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Unidade de Ciências e Tecnologias dos Recursos Aquáticos

Faro, 1998



UNIVERSIDADE DO ALGARVE
SERVIÇO DE DOCUMENTAÇÃO

30 110 600	32962
639.37.6	
SIL x Lcc	

15 de Fevereiro de 1978

João Miguel Silva

Agradecimentos

Terminado este trabalho, é com um especial prazer que tenho o privilégio de poder agradecer a todos os que, das mais diversas formas, contribuíram para a sua concretização. Obrigado especialmente:

Ao Prof. Doutor Rui Santos, pela oportunidade que me apresentou e pela forma próxima e disponível como sempre orientou este trabalho, proporcionando-me sempre as melhores condições para a sua execução e os incentivos necessários a uma constante motivação. Tudo isto se acabou por traduzir na continuação assegurada de uma relação de trabalho e amizade.

Ao Prof. Doutor Ricardo Melo, pela colaboração directa na segunda parte deste trabalho e também pelo valioso acréscimo de ideias e pelas enriquecedoras discussões.

Às Prof. Doutoras Maria João Correia, Manuela David e Filomena Fonseca, pela disponibilização do seu laboratório de Fisiologia Vegetal da UCTA, onde foi realizado todo o trabalho com o eléctrodo de oxigénio. Em particular, quero também agradecer à Prof. Doutora Manuela David a preciosa ajuda prestada no início dos trabalhos experimentais.

Ao Dr. João Serôdio, cuja participação directa na segunda parte deste trabalho foi decisiva para a sua concretização, e também pelas lições de fluorescência.

Ao Filipe Alberto e ao Nuno Magalhães, companheiros de mergulho, que bastante ajudaram nas várias saídas de campo.

Ao Prof. Doutor Abílio Marques da Silva e ao Dr. Hélio Martins, pela realização das análises de carbono e azoto.

À Dra. Christiane Werner, pela cedência do seu aparelho de fluorescência modulada, utilizado na segunda parte deste trabalho.

A título inteiramente particular, não quero deixar de agradecer à minha mãe por todo o apoio pessoal e incentivo que sempre me deu e pela confiança em mim depositada. Quero também expressar um agradecimento sincero aos avós maternos da Beatriz e da Matilde, cuja presença em muito facilitou momentos mais intensivos deste trabalho.

Esta lista não poderia ser concluída sem um agradecimento muito especial à minha mulher Isabel, por tudo aquilo que não se pode enumerar.

Este trabalho foi financeiramente apoiado pelo Sub-Programa Ciência e Tecnologia do 2º Quadro Comunitário de Apoio (Bolsa PRAXIS XXI/BM/7239/95).

Às minhas filhas Beatriz e Matilde

Resumo

Numa primeira experiência, procurou-se determinar o efeito da aclimação de frondes erectas e de eixos do sistema prostrado da alga agarófita *Gelidium sesquipedale* a diferentes temperaturas (10, 15, 20 e 25°C), em termos de resposta da taxa fotossintética à luz, dos teores em pigmentos e dos conteúdos em carbono e azoto. Após o período de aclimação (9 dias), a resposta fotossintética foi sempre inferior à obtida em frondes não aclimatadas. Os teores em pigmentos determinados após aclimação foram superiores em relação aos das frondes não aclimatadas, sendo maiores a 25°C. Não foi possível obter qualquer resposta fotossintética por parte dos eixos do sistema prostrado. Estes evidenciaram uma menor quebra na razão C:N comparativamente com as porções apicais, entre o início e o fim do período de aclimação às várias temperaturas.

Numa segunda parte deste trabalho, comparou-se o método da fluorescência da clorofila *a* com medições da produção de O₂, efectuadas com um eléctrodo de oxigénio, na determinação de curvas de resposta da fotossíntese de *G. sesquipedale* à luz, a várias profundidades (3, 10, 15 e 22 m). De um modo geral, os dois métodos mostraram padrões idênticos de resposta da fotossíntese à luz. A capacidade fotossintética de *G. sesquipedale* diminuiu com a profundidade, revelando um padrão de aclimação a situações de altas e baixas intensidades luminosas. Os teores dos pigmentos acessórios R-ficoeritrina e R-ficocianina aumentaram em profundidade, sugerindo um processo de fotoaclimação compensatório do sistema de captação de energia luminosa para irradiâncias reduzidas.

Abstract

In a first experiment, both erect fronds and prostrate system axis of *Gelidium sesquipedale* were acclimated for 9 days at four different temperatures (10, 15, 20 and 25°C) in order to assess the effects on photosynthetic light responses. Oxygen production, pigment content, organic carbon and nitrogen were also determined before and after the acclimation period. After the acclimation, photosynthetic rates were always lower than before, while pigments increased with acclimation. No photosynthetic response was obtained for the prostrate system axis. These showed a smaller drop on C:N ratio after the acclimation compared with the apical portions.

As well, photosynthesis-light (P-I) response curves of *Gelidium sesquipedale* were determined at four different depths, 3, 10, 15 and 22 m. Photosynthetic efficiency assessed by chlorophyll *a* fluorescence was compared with O₂ production measured with an oxygen electrode. In general, light response curves obtained for *G. sesquipedale* showed a similar pattern whether determined by the chlorophyll fluorescence method or by oxygen evolution. The photosynthetic capacity of *G. sesquipedale* decreased with depth, revealing a "sun" and "shade" acclimation pattern, between shallow and deeper waters. Accessory pigments R-phycoerythrin and R-phyocyanin increased with depth, suggesting photoacclimation to depth changes in light intensity.

Índice

	pág.
1. Introdução	1
2. Termoaclimatação de <i>Gelidium sesquipedale</i>	5
2.1. Material e métodos	5
2.1.1. Instalação da experiência	5
2.1.2. Fotossíntese e respiração	5
2.1.3. Ajuste de curvas e estimação de parâmetros	6
2.1.4. Pigmentos fotossintéticos	8
2.1.5. Carbono e azoto	8
2.2. Resultados	10
2.2.1. Fotossíntese e respiração	10
2.2.2. Pigmentos fotossintéticos	16
2.2.3. Carbono, azoto e razão C:N	18
2.3. Discussão	20
3. Fotofisiologia de <i>G. sesquipedale</i> : variações em profundidade	26
3.1. Material e métodos	26
3.1.1. Fluorescência da clorofila e taxa relativa de transporte de electrões	26
3.1.2. Fotossíntese e respiração	27
3.1.3. Ajuste de curvas e estimação de parâmetros	27
3.1.4. Pigmentos fotossintéticos	28
3.2. Resultados	29
3.3. Discussão	32
4. Considerações finais	38
5. Referências	40

1. Introdução

A alga vermelha *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta, Gelidiaceae) é utilizada como matéria prima para a produção industrial de agar, sendo explorada no Atlântico Nordeste, desde França até Marrocos (Santos e Duarte, 1991; Melo, *in press*). Comparativamente com outras algas agarófitas, *G. sesquipedale* detém uma posição importante no mercado, devido à qualidade do agar que dele é extraído. Entre um terço e metade da produção mundial de *Gelidium* provém das populações existentes em Portugal e Espanha (Santelices, 1991), o que torna particularmente importante o estudo deste género e em particular da espécie *Gelidium sesquipedale*. A espécie tem sido explorada na costa portuguesa desde a década de 40, altura em que se iniciou a produção industrial de agar no nosso país (Santos e Duarte, 1991).

Como em qualquer população natural, os mananciais de *G. sesquipedale* estão sujeitos a variações temporais, o que associado a um processo de colheita marcadamente sazonal torna o fornecimento desta espécie à indústria transformadora altamente irregular. Desde os anos 70, várias tentativas têm sido feitas no sentido de produzir algumas espécies de Gelidiáceas em cultura, embora sem resultados definitivos, sobretudo por falta de informação sobre vários aspectos da fisiologia destas algas (ver revisão por Macler e Zupan, 1991). O conhecimento dos parâmetros que controlam o crescimento da alga e a produção de agar são fundamentais, quer na gestão das populações naturais de *Gelidium*, quer no eventual cultivo deste importante grupo de algas agarófitas (Santelices, 1991).

O ciclo de vida das Gelidiales é bastante complexo, com três fases distintas: a fase tetraesporófitas (ciclo assexuado), a fase gametófitas (ciclo sexuado) e a fase carposporófitas (Hawkes, 1990). Ocorre ainda um outro ciclo assexuado, a reprodução vegetativa, que consiste na emissão de novas frondes (eixos erectos) a partir do sistema de eixos prostrados. As frondes erectas de *G. sesquipedale* desenvolvem-se a partir de um sistema de eixos prostrados, que se fixam ao

substrato através de rizóides (Dixon, 1958). Estes eixos prostrados são responsáveis pela reposição das frondes destruídas por tempestades, herbivoria ou outros factores (Santelices, 1991), permitindo assim a perenação das populações, inclusive nas áreas exploradas comercialmente (Santos, 1994).

Uma particularidade importante nas Gelidiáceas consiste na refixação das frondes ao substrato após fragmentação (Santelices, 1991). Este fenómeno, descrito por Felicini e Perrone (1970) para o género *Pterocladia*, foi posteriormente alvo de investigação em *Gelidium sesquipedale* (Salinas, 1991; Salinas e Valdés, 1993; Juanes e Puente, 1993) e *Gelidium chilense* (Santelices e Varela, 1994). O conhecimento deste processo de refixação é importante por dois motivos: por um lado, constituindo um mecanismo de propagação através de regeneração, permite uma melhor interpretação dos padrões de dispersão, processo reprodutivo e ciclo de vida da alga; por outro lado, dado que o *Gelidium* tem crescimento lento e a obtenção de plantas comerciais a partir de esporos consome tempo excessivo em termos de cultivo, a possibilidade de se utilizarem fragmentos de frondes para iniciar culturas tem uma importância económica considerável (Santelices, 1991).

Em geral, o crescimento de *Gelidium* é influenciado pela interacção de um alargado conjunto de factores externos, sendo a irradiância, a temperatura, a disponibilidade de nutrientes e o hidrodinamismo os mais importantes (Santelices, 1978). A interacção da irradiância com a disponibilidade de nutrientes, sobretudo de azoto, parece ser particularmente significativa, tendo sido demonstrada por Frederiksen e Rueness (1989) na espécie *Gelidium latifolium* cultivada em condições controladas. No entanto, nada se sabe em relação ao crescimento e fisiologia do sistema de eixos prostrados.

A ecofisiologia das frondes erectas de *Gelidium* tem sido abordada em diversos trabalhos, nomeadamente em termos de respostas fotossintéticas a variações no espectro da radiação luminosa incidente (Torres *et al.*, 1991, 1995), entre fases gametófitas e esporófitas (Sosa *et al.*, 1993) e no fluxo de nutrientes,

nomeadamente de azoto (Vergara *et al.*, 1993). Do mesmo modo, em termos de ecologia e biologia populacional, vários têm sido os trabalhos publicados relativos a *Gelidium sesquipedale* (Duarte e Ferreira, 1993, 1997; Gorostiaga, 1994, 1995; Santos, 1993a, 1993b, 1994, 1995, Santos e Duarte, 1996). No entanto, estes trabalhos têm-se debruçado apenas sobre as frondes erectas da alga, não existindo informação disponível sobre o desenvolvimento e comportamento do sistema de eixos prostrados de *G. sesquipedale*. De facto, apesar da importância que este sistema de eixos tem na recuperação e manutenção das populações de *G. sesquipedale*, a sua ecofisiologia nunca foi objecto de estudo. Neste trabalho é feita uma primeira abordagem à fisiologia dos eixos prostrados, nomeadamente através da análise dos seus teores pigmentares e conteúdo em carbono e azoto.

As curvas de resposta da fotossíntese à luz, amplamente utilizadas no estudo deste processo fisiológico, são normalmente obtidas através da medição de trocas gasosas, quer por intermédio de eléctrodos de oxigénio, quer por processos mais clássicos como o método de Winkler (Geider e Osborne, 1992). Alternativamente, métodos utilizando isótopos estáveis como o ^{18}O ou radioactivos como o ^{14}C têm sido também usados, especialmente este último, que é actualmente o método mais difundido (Falkowski e Raven, 1997). No entanto, após a descrição por Genty *et al.* (1989) de uma relação entre o parâmetro de fluorescência da clorofila a e o rendimento quântico da fotossíntese, a determinação da assimilação fotossintética de carbono tornou-se possível sem o recurso às trocas gasosas (Seaton e Walker, 1990). Desde então, o método da fluorescência tem sido amplamente utilizado e melhorado em plantas vasculares (Schreiber *et al.*, 1995) e também em algas (Häder e Figueroa, 1997; Hanelt *et al.*, 1997; Serôdio *et al.*, 1997), especialmente desde o desenvolvimento de sistemas portáteis para medições no campo, que permitem a determinação de curvas de resposta à luz de uma forma simples e eficaz (Schreiber *et al.*, 1995).

Neste trabalho procurou-se, numa primeira experiência, determinar o efeito da aclimação de frondes de *G. sesquipedale* a diferentes temperaturas, em termos

de resposta da fotossíntese à luz, de teores pigmentares e de conteúdo em carbono e azoto. Numa segunda parte, o método da fluorescência da clorofila a foi comparado com medições efectuadas num eléctrodo de oxigénio na determinação de curvas de resposta da fotossíntese à luz em *G. sesquipedale*, a várias profundidades.

2. Termoaclimatação de *Gelidium sesquipedale*

2.1. Material e métodos

2.1.1. Instalação da experiência

Numa câmara de crescimento vegetal Fitoclima 750 E (Aralab, Lisboa, Portugal) foram instalados quatro contentores horizontais em PVC (vol. = 12 l), cheios com água do mar filtrada. A todos os contentores foi fornecida aerificação constante com o objectivo de manter a homogeneidade do meio. Cada contentor continha uma resistência com termostato, o que permitiu o estabelecimento de quatro temperaturas diferentes de aclimatação, uma por contentor: 10, 15, 20 e 25 °C. A intensidade luminosa na câmara de crescimento foi regulada para fornecer uma iluminação idêntica a todos os contentores (aproximadamente 75 $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ao nível da água, luz branca, fornecida por lâmpadas Osram Lumilux Plus L18W/21-840). O fotoperíodo programado foi 14:10.

Fronde de *G. sesquipedale* oriundas da população natural de S. Rafael (Albufeira, sul de Portugal) foram colhidas intactas e transportadas em ambiente refrigerado e húmido para o laboratório. As algas foram alvo de uma limpeza que incidiu sobretudo na remoção de espécies epífitas, após o que se procedeu à separação de eixos do sistema prostrado e de porções apicais. Foram introduzidas 20 porções apicais e 15 eixos do sistema prostrado em cada contentor, em alvéolos submersos. O nível de água nos contentores foi mantido através da adição de água destilada, com o objectivo de estabilizar a variação de salinidade provocada pela evaporação da água dos contentores. A experiência foi mantida durante 9 dias.

2.1.2. Fotossíntese e respiração

Antes e após o período de aclimatação, foram efectuadas medições de taxas fotossintéticas a vários níveis de intensidade luminosa, tanto nas frondes erectas como nos eixos do sistema prostrado de *Gelidium sesquipedale*. Foram

determinadas curvas de resposta da fotossíntese à luz, vulgarmente designadas por curvas P-I. Estas curvas foram determinadas em algas sem aclimação e em algas aclimatadas às temperaturas acima descritas. As algas sem aclimação foram mantidas à temperatura de 17 °C (temperatura do local da colheita) desde o campo até às medições das taxas fotossintéticas, realizadas à mesma temperatura. As algas mantidas em aclimação foram retiradas da câmara de crescimento imediatamente antes de serem utilizadas. Para estas últimas, as taxas fotossintéticas foram medidas às respectivas temperaturas de aclimação.

Porções apicais (3 replicados, 150-200 mg peso seco cada) de *G. sesquipedale* foram incubadas em 15 ml de água do mar previamente esterilizada e enriquecida com NaHCO₃ (10 mM, concentração final) numa câmara escurecida de medição Hansatech DW3 montada num eléctrodo de oxigénio do tipo Clark (Hansatech Instruments, Norfolk, Reino Unido). A câmara foi por sua vez acoplada a um agitador magnético que garantia a homogeneização da água no interior do vaso de reacção. A iluminação foi assegurada por uma fonte de luz branca Hansatech LS2 (lâmpada Osram Xenophot HLX 64610 12V 50W). Os diferentes níveis de irradiância utilizados foram regulados através de um conjunto de filtros de vidro de densidade neutra Hansatech A5, com diferentes níveis de transmitância. A temperatura do vaso de reacção foi mantida aos diferentes níveis pretendidos por intermédio de um banho-maria exterior com sistema de recirculação (Julabo HC, Julabo Labortechnik, Seelbach, Alemanha). As taxas fotossintéticas (mg O₂ g ps⁻¹ h⁻¹) foram medidas para um conjunto de irradiâncias entre 0 (medição da respiração no escuro, R_d) e 950 μmol quanta m⁻²s⁻¹, medidos com um sensor quântico planar Li-190 SA PAR acoplado a um registador Li-1000 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EUA).

2.1.3. Ajuste de curvas e estimação de parâmetros

Uma série de modelos matemáticos normalmente utilizados para a expressão gráfica das curvas P-I e para a estimação dos principais parâmetros que as definem (Henley, 1993) foram aplicados e testados por forma a determinar quais

as equações que melhor se ajustavam aos dados obtidos. Através de regressões não lineares, foram testadas as seguintes equações:

$$(1) \quad P = P_m [\alpha I / (P_m + \alpha I)],$$

referida por Henley (1993) e designada equação da hipérbole rectangular, em que P é a taxa fotossintética bruta a um nível de irradiância I , P_m é a taxa fotossintética em condições de luz saturante e α é o declive inicial para irradiâncias limitantes. Esta equação utiliza um índice de convexidade intrínseco fixo e reduzido, o que a torna pouco versátil, para além de normalmente sobrestimar o valor de α .

$$(2) \quad P = P_m [\alpha I / (P_m^2 + (\alpha I)^2)^{1/2}],$$

descrita por Smith (1936) e por Talling (1957). Esta equação utiliza também um índice de convexidade de valor fixo, mas mais elevado que a equação (1), o que permite normalmente um melhor ajuste à generalidade dos dados P-I observados em algas.

$$(3) \quad P = P_m \tanh (\alpha I / P_m),$$

a equação da tangente hiperbólica de Jassby e Platt (1976), que à semelhança da equação anterior, apresenta uma elevada convexidade intrínseca e na maioria dos casos também se ajusta bem a pontos P-I determinados em algas.

$$(4) \quad P = P_m [\alpha I / (P_m^c + (\alpha I)^c)^{1/c}],$$

referida por Bannister (1979), esta equação introduz um parâmetro de convexidade variável c , o que a torna bastante versátil, estando no entanto a sua aplicabilidade condicionada a uma baixa dispersão dos dados P-I. Esta equação transforma-se na equação (1) quando $c = 1$ e na equação (2) quando $c = 2$.

$$(5) \quad P = P_s [1 - \exp(-\alpha I / P_s)] \exp(-\beta I / P_s),$$

o modelo de fotoinibição de Platt *et al.* (1980) utilizado também por Coutinho e Yoneshigue (1988). Este modelo contém um parâmetro de fotoinibição β , que traduz a taxa de declínio da fotossíntese a irradiâncias saturantes. Embora genericamente designado como fotoinibição, esse declínio pode também incluir mecanismos de fotoregulação ou fotoproteção (Krause e Weis, 1991; Demmig-Adams e Adams, 1992). Nesta equação, P_s é equivalente ao P_m das anteriores equações, sendo numericamente igual a este quando $\beta = 0$.

A escolha da equação que melhor ajuste proporcionou em cada tratamento foi determinada em função do valor do coeficiente de correlação (R). Nos casos em que o melhor coeficiente foi idêntico para mais do que um dos modelos testados, foi utilizado também o valor do erro padrão da estimativa e ainda a estatística Durbin-Watson. Esta estatística testa a independência dos valores residuais entre si, fornecendo um parâmetro que indica a existência e o grau de uma eventual autocorrelação dos resíduos. Na ausência de qualquer autocorrelação, o parâmetro de Durbin-Watson será igual a 2. O desvio deste valor, para valores inferiores ou superiores, indica o grau de correlação, respectivamente positiva ou negativa, entre os residuais. Através das equações seleccionadas foram estimados os parâmetros fundamentais das curvas P-I, como o declive inicial para irradiâncias limitantes, α , e a taxa fotossintética bruta máxima, P_m . Foram ainda determinados os pontos de compensação da fotossíntese, $I_c = R_d / \alpha$, e de saturação luminosa, $I_k = P_m / \alpha$ (Henley, 1993). O primeiro destes parâmetros, I_c , indica a intensidade luminosa para a qual a produção de oxigénio pela fotossíntese iguala o seu consumo pela respiração, enquanto o segundo parâmetro, I_k , define uma zona de transição nas curvas P-I, na qual a evolução da taxa fotossintética deixa gradualmente de ser controlada pelo transporte de electrões, passando a ser controlada pela assimilação de carbono (Henley, 1993).

2.1.4. Pigmentos fotossintéticos

Amostras de *G. sesquipedale* (eixos do sistema prostrado e porções apicais) foram pesadas em fresco no início e no fim do período de aclimação e congeladas a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ para posterior determinação de pigmentos fotossintéticos. Conjuntamente com o material colhido para as aclimações, foram também colhidas e congeladas porções basais das frondes erectas, para análise comparativa dos teores em pigmentos ao longo do talo.

Antes da extracção, as amostras foram maceradas em azoto líquido num almofariz de porcelana com pilão, o que facilita a acção do solvente e torna mais efectiva a extracção dos pigmentos (Duarte e Ferreira, 1995). A clorofila a e os carotenóides foram extraídos em acetona a 100% e as ficobiliproteínas numa

solução tampão de fosfato de sódio (pH = 6.9) (Rowan, 1989). Os extractos foram centrifugados a 15000 g numa centrífuga de bancada Heraeus Biofuge A (Heraeus Sepatech, Alemanha) e os sobrenadantes retirados para leitura espectrofotométrica. As concentrações dos diferentes pigmentos foram determinadas num espectrofotómetro (UV-160A, Shimadzu, Kyoto, Japão). A equação de Talling e Driver (1963) foi utilizada para a determinação da concentração de clorofila *a*. O teor em carotenóides foi estimado de acordo com Strickland e Parsons (1968). As concentrações de ficoeritrina e ficocianina foram calculadas pelas equações de Beer e Eshel (1985).

2.1.5. Carbono e azoto

Ao início e no fim do período de aclimação, amostras de *G. sesquipedale* foram secas em estufa a 60 °C durante 48 horas para posterior determinação dos teores em carbono e azoto. Foram também colhidas e secas porções basais das frondes erectas, para análise comparativa dos teores em carbono e azoto ao longo do talo.

As amostras foram processadas num aparelho de análise elemental Carlo Erba CHNS-O, EA 1108 (Carlo Erba, Itália) e os resultados expressos em percentagem de peso seco.

2.2. Resultados

2.2.1. Fotossíntese e respiração

Por dificuldades técnicas na afinação do eléctrodo de oxigénio, não foi possível obter valores das taxas fotossintéticas para os eixos do sistema prostrado. Relativamente às frondes erectas, os modelos testados para cada tratamento produziram diferentes estimativas dos principais parâmetros fotossintéticos (Taxa fotossintética máxima, P_m ou P_s , e declive ascendente inicial, α) (Tabela I), de acordo com as características intrínsecas de cada equação e a sua maior ou menor adequação aos pontos observados em cada caso.

Tabela I. Médias e erros padrão dos parâmetros estimados pelas equações (1), (2), (3), (4) e (5), para *G. sesquipedale* sujeito aos diferentes tratamentos, erros padrão de cada estimação e estatística Durbin-Watson. Unidades: mg O₂ g ps⁻¹h⁻¹ para P_m e P_s ; mg O₂ g ps⁻¹ h⁻¹ (μmol quanta m⁻² s⁻¹)⁻¹ para α e β . * parâmetro não existente na equação.

Tratamento	Equação	P_m	α	P_s	β	R	Erro padrão	Durbin Watson
Sem Aclimação (17°C)	(1)	6.503 ± 0.152	0.112 ± 0.007	*	*	0.99	0.327	2.175
	(2)	5.740 ± 0.121	0.070 ± 0.004	*	*	0.99	0.366	1.584
	(3)	5.565 ± 0.127	0.064 ± 0.004	*	*	0.98	0.418	1.190
	(4)	6.233 ± 0.247	0.097 ± 0.013	*	*	0.99	0.326	2.192
Aclimação a 10°C	(1)	2.263 ± 0.154	2.482 ± 2.111	*	*	0.72	0.651	1.544
	(2)	2.211 ± 0.136	0.910 ± 0.505	*	*	0.71	0.656	1.527
	(3)	2.183 ± 0.131	0.818 ± 0.376	*	*	0.70	0.662	1.522
	(4)	2.290 ± 0.289	0.762 ± 1.634	*	*	0.72	0.662	1.551
	(5)	*	1.051 ± 0.503	2.221 ± 0.173	0.0001 ± 0.0006	0.71	0.671	1.507
Aclimação a 15°C	(1)	3.111 ± 0.177	0.114 ± 0.022	*	*	0.90	0.510	2.407
	(2)	2.832 ± 0.138	0.067 ± 0.011	*	*	0.90	0.527	2.239
	(3)	2.759 ± 0.133	0.061 ± 0.009	*	*	0.90	0.543	2.116
	(4)	3.100 ± 0.328	0.112 ± 0.053	*	*	0.90	0.516	2.406
	(5)	*	0.076 ± 0.013	2.819 ± 0.271	0.0000 ± 0.0006	0.90	0.529	2.285
Aclimação a 20°C	(1)	2.148 ± 0.101	0.161 ± 0.034	*	*	0.88	0.384	2.308
	(2)	2.035 ± 0.080	0.084 ± 0.012	*	*	0.90	0.368	2.502
	(3)	2.007 ± 0.075	0.075 ± 0.010	*	*	0.91	0.366	2.526
	(4)	2.025 ± 0.094	0.078 ± 0.019	*	*	0.91	0.371	2.505
	(5)	*	0.092 ± 0.013	2.226 ± 0.141	0.0007 ± 0.0004	0.91	0.352	2.781
Aclimação a 25°C	(1)	3.806 ± 0.140	0.205 ± 0.030	*	*	0.93	0.510	0.688
	(2)	3.591 ± 0.101	0.106 ± 0.011	*	*	0.95	0.456	0.852
	(3)	3.537 ± 0.094	0.093 ± 0.009	*	*	0.95	0.448	0.893
	(4)	3.569 ± 0.118	0.098 ± 0.015	*	*	0.95	0.459	0.863
	(5)	*	0.100 ± 0.006	4.574 ± 0.197	0.0028 ± 0.0005	0.98	0.309	1.717

Para além dos parâmetros referidos acima, a Tabela I apresenta também o valor do parâmetro de fotoinibição, β , estimado pelo modelo de Platt *et al.* (1980) e os valores das estatísticas determinadas para cada ajuste (R, erro padrão da estimação e Durbin-Watson).

Todas as equações proporcionaram um bom ajuste aos dados P-I obtidos para *G. sesquipedale* imediatamente após colheita, apesar de alguma diferença nos valores absolutos dos parâmetros estimados (Tabela I). De facto, as equações (2) e (3) estimaram valores de P_m e de α significativamente inferiores aos estimados pelas equações (1) e (4), embora todos os modelos tivessem apresentado coeficientes de correlação idênticos. Estas equações apresentaram no entanto os maiores erros padrão e também o maior desvio do valor de referência 2 da estatística Durbin-Watson. As equações (1) e (4) produziram estimativas muito semelhantes de P_m e de α , com erros de estimativa também muito idênticos. A escolha da equação da hipérbole rectangular (1) foi assim baseada nos menores erros padrão apresentados para P_m e α .

A Fig. 1 evidencia o bom ajuste do modelo, devido em grande parte à reduzida dispersão dos valores das taxas fotossintéticas dos diferentes replicados para cada valor de irradiância. A curva mostrou um declive inicial acentuado (0.112 ± 0.007) e uma reduzida convexidade na transição para irradiâncias saturantes, o que se traduziu num ponto de saturação elevado ($I_k = 64.258 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (Tabela II). O valor máximo da taxa fotossintética (P_m) foi $6.503 \pm 0.152 \text{ mg O}_2 \text{ g ps}^{-1}\text{h}^{-1}$.

Nenhuma das equações utilizadas forneceu um ajuste aceitável aos pontos P-I obtidos após aclimação a 10°C (Tabela I). De facto, os pontos apresentaram uma tal dispersão que todos os modelos ensaiados, apesar de estimarem um valor de P_m consensual, produziram valores de α bastante díspares e incongruentes, o que levou a que nenhum deles traçasse uma curva de ajuste gráfico aos pontos observados (Fig. 2).

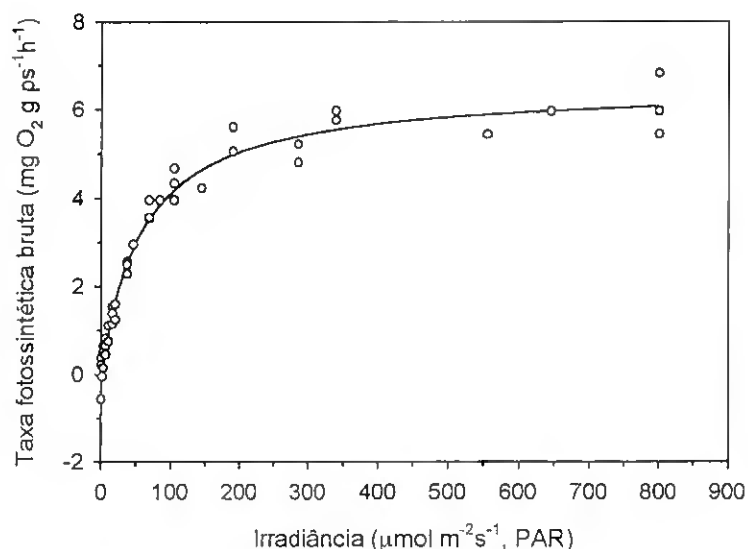


Fig. 1. Curva de resposta da fotossíntese à luz para *G. sesquipedale*, obtida imediatamente após colheita. Medições efectuadas com um eléctrodo de oxigénio do tipo Clark, à temperatura de incubação de 17°C. Aos pontos observados foi ajustada a equação (1) correspondente ao modelo da hipérbole rectangular ($n = 40$).

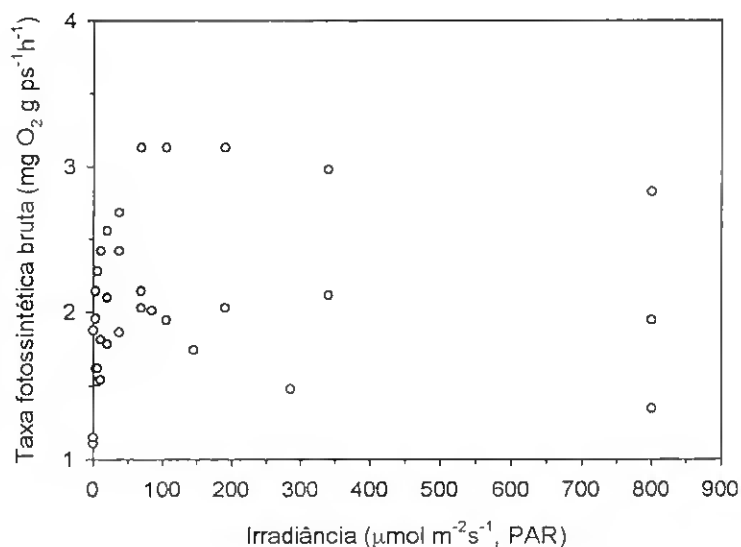


Fig. 2. Taxas fotossintéticas determinadas em *G. sesquipedale* a diversos valores de irradiância, após aclimação a 10°C. Medições efectuadas com um eléctrodo de oxigénio do tipo Clark, à temperatura de incubação de 10°C ($n = 33$).

Com os pontos P-I obtidos para *G. sesquipedale* após aclimação a 15°C observou-se, à semelhança do que já se tinha verificado para os resultados obtidos sem aclimação, que os modelos (2) e (3) tendiam a subestimar os valores de P_m e α , apesar de fornecerem um ajuste tão bom aos pontos

observados como qualquer um dos outros modelos (Tabela I). Neste conjunto de dados foi testado também o modelo de fotoinibição de Platt *et al.* (1980) (5), o qual subestimou igualmente o valor de P_s e de α . A equação da hipérbole rectangular (1) foi escolhida para a estimação de parâmetros e ajuste gráfico da curva P-I (Fig. 3), dado que em relação à equação (4) apresentou menores erros padrão na estimação de P_m e α . Os pontos observados evidenciaram alguma dispersão a partir da zona de transição para irradiâncias saturantes, o que implicou um ajuste menos bom ($R = 0.90$ para todos os modelos). A curva mostrou um declive inicial acentuado ($\alpha = 0.114 \pm 0.022$) e alguma convexidade, pelo que o ponto de saturação (I_k) foi encontrado a $27.289 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabela II). A taxa fotossintética máxima (P_m) foi de $3.111 \pm 0.177 \text{ mg O}_2 \text{ g ps}^{-1}\text{h}^{-1}$.

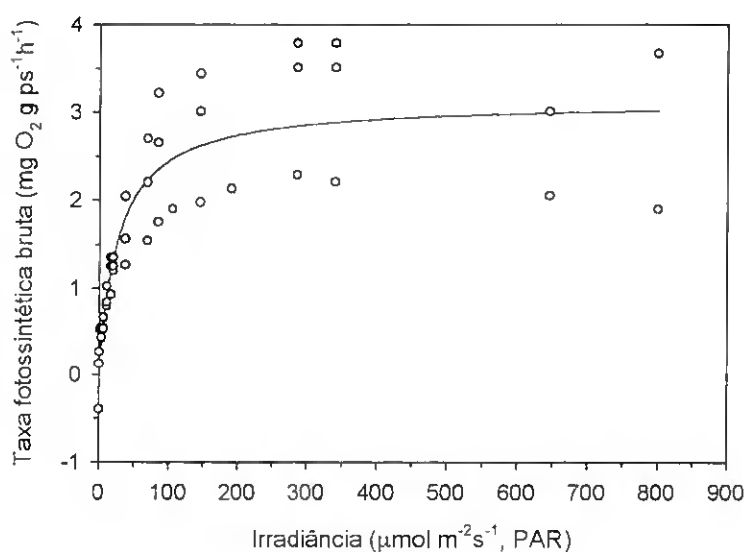


Fig. 3. Curva de resposta da fotossíntese à luz para *G. sesquipedale*, obtida após aclimação a 15°C . Medições efectuadas com um eléctrodo de oxigénio do tipo Clark, à temperatura de incubação de 15°C . Aos pontos observados foi ajustada a equação (1) correspondente ao modelo da hipérbole rectangular ($n = 43$).

Quando graficados os pontos P-I obtidos após aclimação a 20°C (Fig. 4), tornou-se evidente a existência de uma tendência para o declínio das taxas fotossintéticas a irradiâncias saturantes, confirmada pelo ajuste do modelo de Platt *et al.* (1980) (5), concebido para respostas fotossintéticas que envolvem fotoinibição (Tabela I). De facto, este modelo apresentou o melhor ajuste aos pontos P-I observados, pelo que foi utilizado na estimação dos parâmetros fotossintéticos e no ajuste gráfico da curva P-I. A curva (Fig. 4) mostrou um

declive inicial, α , de 0.092 ± 0.013 e uma taxa fotossintética máxima relativamente reduzida ($P_s = 2.226 \pm 0.141$ mg O₂ g ps⁻¹h⁻¹). A existência de fotoinibição ($\beta = 0.0007 \pm 0.0004$), traduzida graficamente no declínio da curva P-I a partir aproximadamente das 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, implicou naturalmente a existência de uma convexidade acentuada. O valor do parâmetro de saturação, I_k , foi de 24.196 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabela II).

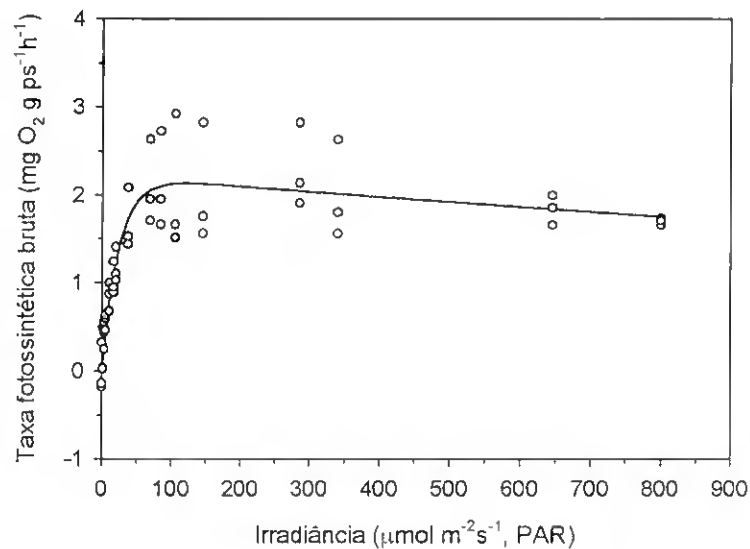


Fig. 4. Curva de resposta da fotossíntese à luz para *G. sesquipedale*, obtida após aclimação a 20°C. Medições efectuadas com um eléctrodo de oxigénio do tipo Clark, à temperatura de incubação de 20°C. Aos pontos observados foi ajustada a equação (5) de Platt *et al.* (1980) ($n = 48$).

De forma ainda mais nítida que no caso anterior, também os pontos P-I obtidos após aclimação a 25°C apresentaram uma forte tendência para o declínio nas taxas fotossintéticas para irradiâncias saturantes. Assim, também neste caso o modelo de fotoinibição de Platt *et al.* (1980) forneceu claramente o melhor ajuste aos pontos observados, o que foi bem demonstrado por todos os parâmetros (Tabela I). Com um declive inicial de 0.100 ± 0.006 , a curva (Fig. 5) atinge um máximo elevado de taxa fotossintética ($P_s = 4.574 \pm 0.197$ mg O₂ g ps⁻¹h⁻¹), decaindo depois de uma forma mais acentuada que a curva anterior, mostrando uma clara tendência de fotoinibição ($\beta = 0.0028 \pm 0.005$) a partir sensivelmente das 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. O parâmetro de saturação luminosa foi também atingido a

uma intensidade luminosa bastante superior que a curva anterior ($I_k = 45.740 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

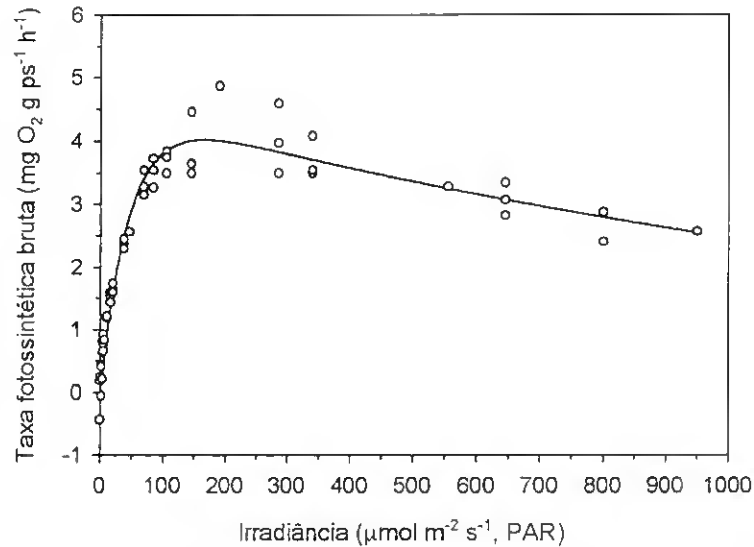


Fig. 5. Curva de resposta da fotossíntese à luz para *G. sesquipedale*, obtida após aclimação a 25°C. Medições efectuadas com um eléctrodo de oxigénio do tipo Clark, à temperatura de incubação de 25°C. Aos pontos observados foi ajustada a equação (5) de Platt *et al.* (1980) ($n = 52$).

De uma forma global, verificou-se que em todas as curvas obtidas após aclimação, os valores da taxa fotossintética máxima foram sempre inferiores aos obtidos sem qualquer aclimação (Tabela II). Também o parâmetro de saturação I_k foi sempre inferior após as aclimações (Tabela II). Comparando entre si os resultados obtidos após as diferentes aclimações (15, 20 e 25°C), verificou-se que a respiração no escuro (R_d), o ponto de compensação luminosa (I_c) e a fotoinibição (β) aumentaram todos com a temperatura de aclimação. A taxa fotossintética máxima (P_m ou P_s) e o parâmetro de saturação (I_k), não apresentaram um padrão de evolução com a temperatura, tendo sido mais elevados a 25°C do que a qualquer uma das outras temperaturas, registando os valores mais baixos a 20°C (Tabela II). O declive inicial (α) não apresentou uma variação significativa com a temperatura, apesar de também aqui o valor estimado a 25°C ser o mais elevado e o estimado a 20°C o mais baixo (Tabela II).

Tabela II. Parâmetros estimados e calculados para *G. sesquipedale* sujeito aos diferentes tratamentos. Unidades: mg O₂ g ps⁻¹h⁻¹ para P_m, P_s e Rd; mg O₂ g ps⁻¹ h⁻¹ (μmol quanta m⁻² s⁻¹)⁻¹ para α e β; μmol quanta m⁻² s⁻¹ para I_c e I_k. * parâmetro não existente na equação.

Tratamento	Equação	P _m ou P _s ⁽¹⁾	α	β	R _d	I _c	I _k
Sem aclimação (17°C)	(1)	6.503 ± 0.152	0.112 ± 0.007	*	0.647	6.670	64.258
Aclimação a 15°C	(1)	3.111 ± 0.177	0.114 ± 0.022	*	0.532	4.667	27.289
Aclimação a 20°C	(5)	2.226 ± 0.141 ⁽¹⁾	0.092 ± 0.013	0.0007 ± 0.0004	0.672	7.304	24.196
Aclimação a 25°C	(5)	4.574 ± 0.197 ⁽¹⁾	0.100 ± 0.006	0.0028 ± 0.0005	0.923	9.230	45.740

2.2.2. Pigmentos fotossintéticos

De um modo geral, todos os pigmentos determinados em *G. sesquipedale* apresentaram valores mais elevados nas algas que foram sujeitas às diferentes condições de aclimação do que quando quantificados imediatamente após a colheita das algas (Fig. 6). Entre as diferentes temperaturas, as algas aclimatadas a 25°C apresentaram sempre os mais elevados teores em qualquer dos pigmentos, apesar de apenas no caso da R-ficoeritrina e da R-ficocianina a diferença para qualquer das outras temperaturas ser estatisticamente significativa ($P < 0.05$). Entre as outras temperaturas de aclimação não houve diferenças significativas nos teores de nenhum dos pigmentos ($P > 0.05$) (Fig. 6).

Quando comparados os conteúdos em pigmentos dos eixos prostrados e erectos (porções basais e apicais) de *G. sesquipedale*, determinados imediatamente após colheita, verificou-se que todos os pigmentos aumentaram ao longo do talo, no sentido ascendente (Fig. 7). Para todos os pigmentos, as diferenças encontradas entre as várias partes da fronde foram significativamente diferentes ($P < 0.05$), excepto nos casos da R-ficoeritrina entre as porções basais e apicais e da R-ficocianina entre os eixos prostrados e as porções basais dos eixos erectos.

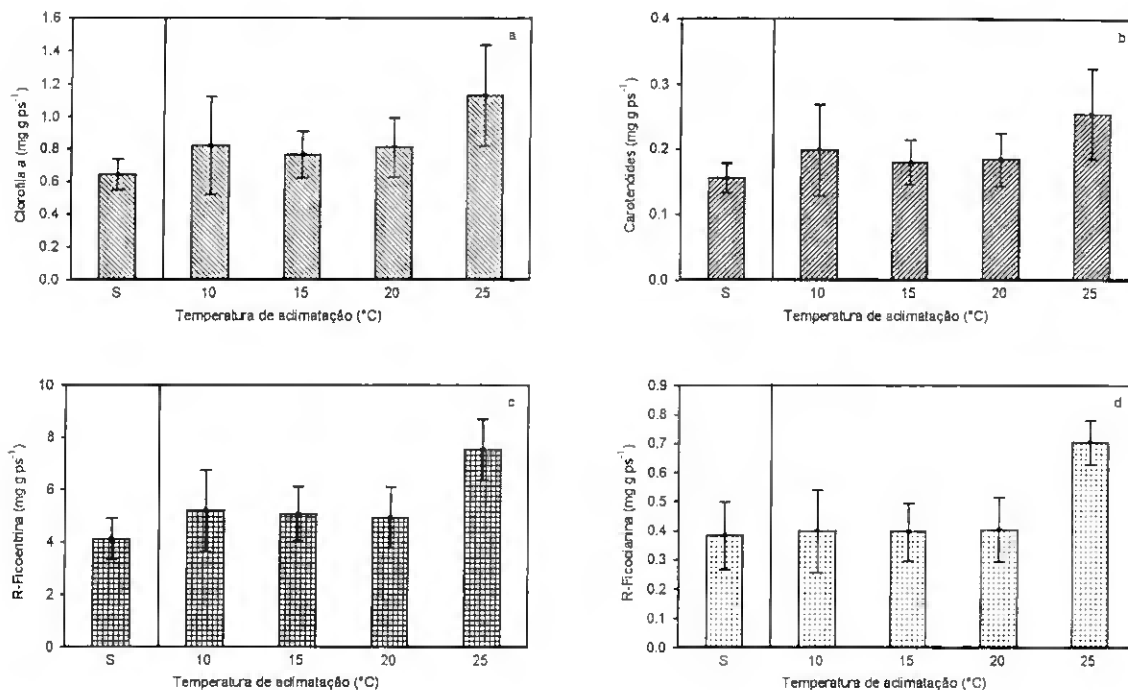


Fig. 6. Teores em clorofila a (a), carotenóides (b), R-ficoeritrina (c) e R-ficocianina (d), determinados em *G. sesquipedale* antes (S) e após aclimação às diferentes temperaturas ($n = 6 \pm$ erro padrão).

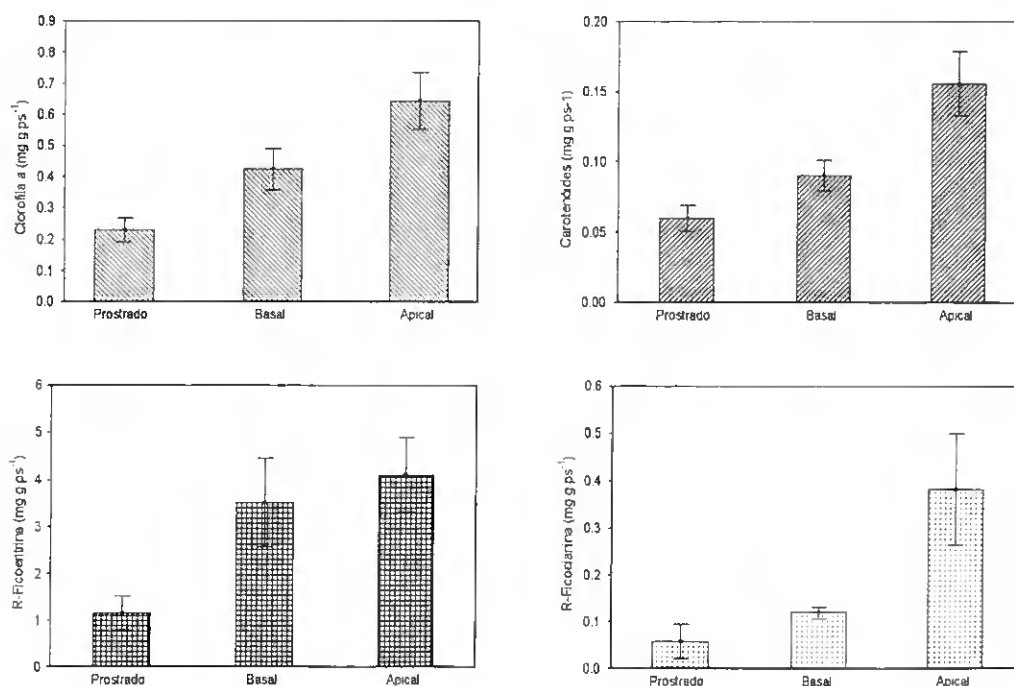


Fig. 7. Teores em clorofila a (a), carotenóides (b), R-ficoeritrina (c) e R-ficocianina (d), determinados comparativamente em eixos do sistema prostrado e do sistema erecto (porções basais e apicais) de *G. sesquipedale*, imediatamente após colheita ($n = 6 \pm$ erro padrão).

2.2.3. Carbono, azoto e razão C:N

O teor em carbono não sofreu alterações significativas em função de qualquer aclimação, tanto nas porções apicais como nos eixos prostrados de *G. sesquipedale* (Fig. 8), excepto nas porções apicais aclimatadas a 25°C, nas quais diminuiu significativamente em relação às porções apicais aclimatadas a 10 e 20°C. Um padrão semelhante verificou-se em relação aos eixos prostrados (Fig. 8), os quais, apesar de uma aparente diminuição nos 25°C, não evidenciaram nenhuma diferença significativa. Em relação ao teor em azoto (Fig. 8), verificou-se um aumento significativo ao fim de todas as aclimações, tanto nos eixos prostrados como nas porções apicais. No entanto, entre as diferentes temperaturas de aclimação não se registaram diferenças significativas, quer nos eixos prostrados quer nas porções apicais dos eixos erectos ($P > 0.05$).

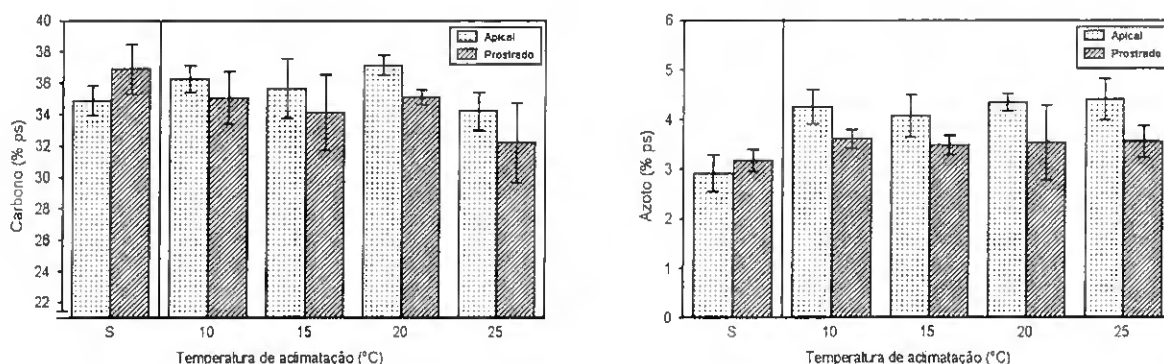


Fig. 8. Conteúdos em carbono e azoto de porções apicais e eixos prostrados de *G. sesquipedale* antes (S) e após aclimação às diferentes temperaturas ($n = 5 \pm$ erro padrão) (ps = peso seco).

A razão C:N apresentou valores significativamente mais elevados nas frondes de *G. sesquipedale* não sujeitas a qualquer aclimação, tanto nas porções apicais como nos eixos prostrados (Fig. 9). Entre as frondes sujeitas às diferentes aclimações não se registaram diferenças significativas na razão C:N ($P > 0.05$), quer nas porções apicais quer nos eixos prostrados. Verificou-se no entanto que nas frondes sem aclimação a razão C:N era idêntica nas porções apicais e nos eixos prostrados, ao passo que após qualquer uma das aclimações os eixos prostrados mantiveram melhores valores do que as porções apicais.

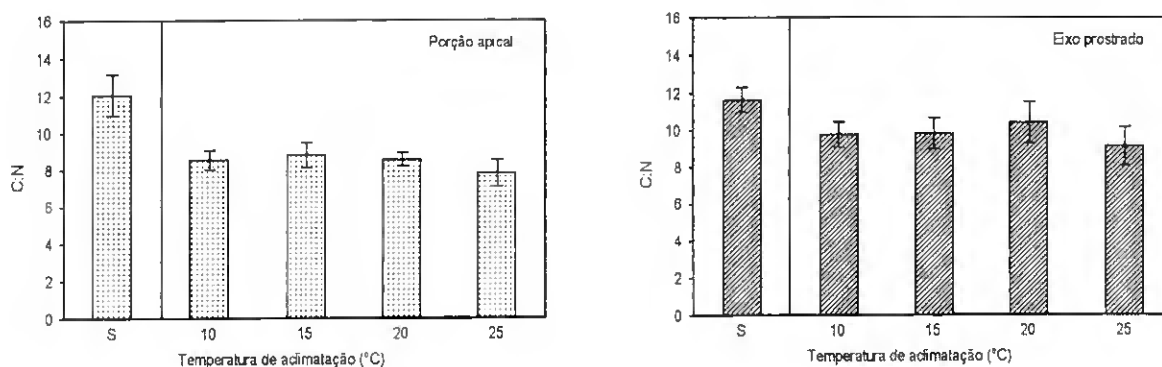


Fig. 9. Valores da razão C:N em porções apicais e eixos prostrados de *G. sesquipedale* antes (S) e após aclimação às diferentes temperaturas ($n = 5 \pm$ erro padrão).

Comparados os teores em carbono e azoto e ainda a razão C:N entre os eixos prostrados e erectos (porções basais e apicais) de *G. sesquipedale*, determinados imediatamente após colheita (Fig. 10), verificou-se que os eixos prostrados continham uma percentagem significativamente diferente ($P < 0.05$) de carbono em relação com ambas as componentes dos eixos erectos. Os teores em azoto e a razão C:N não apresentaram no entanto diferenças significativas ($P > 0.05$) entre as três componentes das frondes.

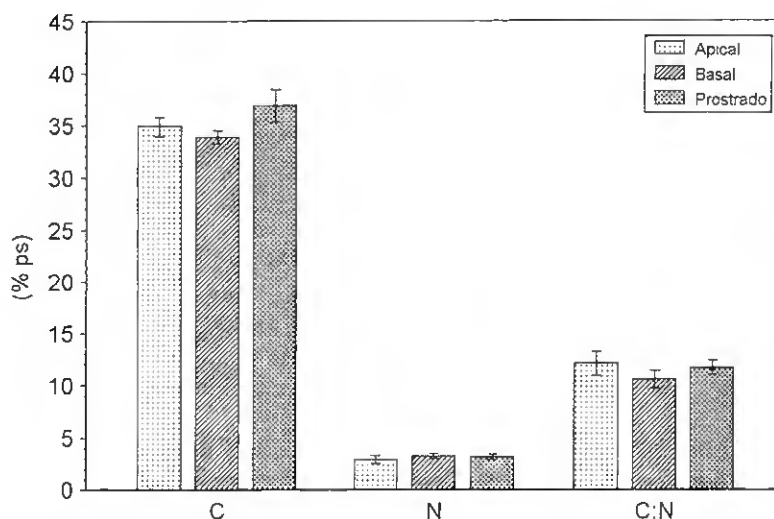


Fig. 10. Conteúdos em carbono e azoto e valores da razão C:N determinados comparativamente em eixos do sistema prostrado e do sistema erecto (porções basais e apicais) de *G. sesquipedale*, imediatamente após colheita ($n = 5 \pm$ erro padrão) (ps = peso seco).

2. 3. Discussão

A curva de resposta da fotossíntese à luz obtida em frondes de *G. sesquipedale* logo após a sua colheita apresentou uma série de diferenças significativas quando comparada com as curvas obtidas após as diferentes aclimações, consideradas no seu conjunto. Conforme evidenciado nas Figs. 1 a 5, a dispersão nas medidas obtidas para os vários replicados foi muito menor na primeira situação, o que para além de permitir um melhor e mais fidedigno ajuste de uma curva padrão, permitiu ainda que da sua interpretação se pudessem extrair algumas conclusões relativas à ecofisiologia da alga em condições naturais.

Os parâmetros estimados para estas amostras sem aclimação não se encaixaram na tendência geral dos parâmetros estimados para *G. sesquipedale* após as aclimações. De facto, o valor da taxa fotossintética máxima, P_m , registada sem aclimação foi significativamente mais elevado do que o verificado após qualquer das aclimações, quando poderia ser esperado que se inserisse na gama de valores obtidos após as aclimações, dado que foi determinado a uma temperatura (17°C) de valor intermédio em relação aquelas (10 a 25°C). Também a convexidade da curva se mostrou bastante menos acentuada que a das restantes, o que se traduziu na estimação de um ponto de saturação, I_k , significativamente mais elevado que todos os outros. Por outro lado, o declive inicial da curva, α , não diferiu significativamente de nenhum dos outros e a respiração no escuro, R_d , situou-se precisamente entre os valores estimados após as aclimações a 15 e 20°C (Tabela II).

O conjunto de diferenças acima referido, associado ainda ao facto de a razão C:N encontrada em *G. sesquipedale* (eixos prostrados e erectos) sem aclimação ter sido significativamente superior à verificada após as experiências de aclimação (Fig. 9), faz supor que este tipo de processo induz alterações fisiológicas significativas nas frondes aclimatadas. As estas alterações não será por certo alheio o facto de nas aclimações terem sido utilizadas porções cortadas das frondes, as quais se sabe terem respostas fotossintéticas diferentes das obtidas para plantas inteiras ou porções cortadas e utilizadas logo após colheita (Henley, 1993). Adicionalmente, o facto de as condições de luz (quantidade e qualidade)

impostas durante a termoaclimatação não reproduzirem exactamente as do meio natural poderá ter concorrido para o estabelecimento de uma situação de fotoaclimatação (Duarte e Ferreira, 1995), colocando as frondes aclimatadas num patamar fisiológico não directamente comparável com o de frondes sem qualquer aclimatação. Isto explicaria, por exemplo, as diferenças bastante significativas nos valores de P_m e I_k entre as frondes sem aclimatação e todas as outras, uma vez que as frondes aclimatadas estiveram durante 9 dias sujeitas a uma intensidade luminosa bastante mais baixa do que a registada no local de colheita, podendo por isso ter desenvolvido um padrão de aclimatação a luminosidade reduzida, que as teria impedido de atingir os valores de P_m e I_k demonstrados antes das aclimações. Esta suposição é ainda reforçada pela ocorrência de fotoinibição da fotossíntese nas curvas traçadas após as aclimações a 20 e 25°C, o que não acontece de todo na curva obtida com frondes pré-aclimatadas. A utilização comparativa das curvas obtidas com e sem aclimatação das frondes de *G. sesquipedale* deverá assim ser efectuada com precaução, o mesmo acontecendo com os teores pigmentares, conteúdos em carbono e azoto e razão C:N.



O aumento da respiração no escuro (R_d) com a temperatura, encontrado nas curvas obtidas após as aclimações, corresponde a um padrão normal (Kirk, 1994; Lobban e Harrison, 1997). De igual modo, seria de esperar que a taxa fotossintética máxima (P_m ou P_s) tivesse também aumentado com a temperatura, o que aliás já foi observado em *G. sesquipedale* por Torres *et al.* (1991) e Duarte e Ferreira (1995), em *G. canariensis* por Sosa *et al.* (1993), em *Pterocladia capillacea* por Rosenberg *et al.* (1995) e também em *Chondrus crispus* por Brechignac e Furbank (1987). No presente trabalho, apesar de o valor de P_s determinado após a aclimatação a 25°C ter sido mais elevado do que às outras temperaturas, a quebra verificada entre os 15 e os 20°C não permite estabelecer um padrão de aumento directo. O ponto de compensação luminosa (I_c) seguiu a mesma tendência da respiração, uma vez que foi calculado directamente em função desta. Este resultado foi também verificado em *G. sesquipedale* nos trabalhos de Torres *et al.* (1991) e Carmona *et al.* (1996), embora com valores absolutos significativamente mais elevados, provavelmente porque as algas utilizadas por estes autores eram provenientes de zonas intertidais sujeitas a

temperaturas e irradiâncias elevadas, e por isso naturalmente adaptadas a condições ambientais mais extremas do que as frondes utilizadas no presente trabalho.

O valor de P_m encontrado nas frondes de *G. sesquipedale* sem aclimação ($6.503 \text{ mg O}_2 \text{ g ps}^{-1}\text{h}^{-1}$) foi idêntico ao determinado por Carmona *et al.* (1996) em *G. sesquipedale* a 17°C e por Torres *et al.* (1995) a 16°C , sendo no entanto significativamente superior ao registado por Silva *et al.* (in press) ($4.793 \text{ mg O}_2 \text{ g ps}^{-1}\text{h}^{-1}$), em frondes de *G. sesquipedale* colhidas a uma profundidade idêntica noutro local da costa portuguesa (Cabo Espichel, Sesimbra), embora noutra altura do ano (Setembro contra Março no presente trabalho). Para além de eventuais diferenças geográficas, é de considerar a possível existência de variações sazonais neste e noutros parâmetros fotossintéticos que têm de ser levadas em conta na análise comparativa de resultados e na compreensão da ecofisiologia desta espécie. Duarte e Ferreira (1995), numa experiência realizada com *G. sesquipedale*, em que foram simuladas condições de Inverno e de Verão, encontraram diferenças significativas entre os dois tratamentos, ao nível da eficiência fotossintética, a qual foi mais elevada na simulação das condições de Verão.

O declínio na taxa fotossintética encontrado nas curvas obtidas após as aclimações a 20° e 25°C constituiu uma observação curiosa. Esta mesma situação foi descrita por Torres *et al.* (1991), que encontrou taxas fotossintéticas mais elevadas a 22°C do que a 12°C , mas enquanto a 12°C não houve fotoinibição, a 22°C esta verificou-se a partir de $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Embora seja geralmente aceite que existe uma relação directa entre a temperatura e a ocorrência de fotoinibição (Henley, 1993; Hanelt e Nultsch, 1995; Ögren, 1994; Falkowski e Raven, 1997), nem sempre o conceito é completamente esclarecedor. De facto, a existência de um declive negativo numa curva P-I apenas indica que no momento da medição a capacidade de transporte de electrões do fotossistema II excede a capacidade de carboxilação (Henley, 1993; Falkowski e Raven, 1997). Isto pode ser uma situação transitória e recuperável (fotoinibição dinâmica) que normalmente está associada a mecanismos de

fotoprotecção ou, por outro lado, ser consequência de danos permanentes ao nível dos centros de reacção do fotossistema II, provocados normalmente por uma associação de factores externos presentes na história recente da planta (no caso, as aclimações) (Ögren, 1991; Ögren, 1994; Häder e Figueroa, 1997). Apesar de ainda não serem completamente claros os mecanismos envolvidos aos vários níveis no processo de fotoinibição, só a utilização da técnica de fluorescência modulada poderá permitir o estudo dos mecanismos de dissipação de energia ao nível do fotossistema II (Ögren, 1991). Por outro lado, o papel de outros mecanismos envolvidos no processo de fotoprotecção, como o ciclo das xantófilas, também não é completamente conhecido (Henley, 1993).

Segundo Kirk (1994) e Falkowski e Raven (1997), a temperatura não influencia de forma significativa o declive inicial das curvas de resposta da fotossíntese à luz. De acordo com os autores, esta constatação sugere que, na zona limitada pela luz, a evolução do processo fotossintético é controlada por reacções eminentemente luminosas, independentes da temperatura. De facto, são a absorção luminosa e a separação primária de cargas que determinam o valor de α , e não a taxa de transporte de electrões entre os fotossistemas, a qual é fortemente dependente da temperatura. Assim, a reduzida e não significativa diferença encontrada nos declives iniciais das diferentes curvas obtidas após as aclimações, poderá provavelmente ter correspondido a este fenómeno.

O aumento nos conteúdos pigmentares das frondes aclimatadas deverá ter estado relacionado com a quebra de intensidade luminosa já referida do que com as variações térmicas. De facto, as algas possuem um mecanismo de compensação que lhes permite a síntese de pigmentos em situações de transição para baixas intensidades luminosas (Ramus, 1981; Falkowski e Raven, 1997). Em *G. sesquipedale*, este processo de aclimação foi observado por Carmona *et al.* (1996) e por Silva *et al.* (in press), que verificaram um aumento, sobretudo das ficobiliproteínas, em algas sujeitas a regimes luminosos de fraca intensidade. As diferenças nos teores pigmentares entre as diferentes temperaturas acompanharam a tendência evidenciada pelas taxas fotossintéticas, como seria de esperar, tendo um resultado idêntico sido encontrado por Torres *et al.* (1991),

que encontraram teores mais elevados de todos os pigmentos a 22°C do que a 12°C. Quando comparados os teores pigmentares ao longo do talo de frondes sem aclimação, observa-se que todos os pigmentos aumentam no sentido ascendente, desde os eixos do sistema prostrado até às extremidades apicais, o que tem a ver naturalmente com o grau de exposição à luz e a natural maior aptidão fotossintética das porções apicais.

A imposição de qualquer uma das aclimações não provocou alterações significativas no conteúdo em carbono, quer ao nível dos eixos prostrados quer das porções apicais. A inexistência de dados relativos ao crescimento e aos teores em polissacarídeos não permite extrair indicações quanto ao destino do carbono estrutural encontrado. Quanto ao azoto, verificou-se um aumento significativo entre as algas antes e após aclimação, evidenciando estas últimas teores mais elevados, tanto nos eixos prostrados como nas porções apicais. Segundo Lobban e Harrison (1997), uma situação deste género pode ser consequência da já referida quebra na intensidade luminosa verificada nas aclimações, uma vez que nestas condições é favorecida a síntese de R-ficoeritrina e logo a incorporação de azoto, o que se verificou no caso presente. Ainda de acordo com Lobban e Harrison (1997), percentagens de azoto acima de 2% constituem reservas, já que a relação entre o crescimento e o conteúdo em azoto aumenta directamente até esse valor, acima do qual a taxa de crescimento é independente da percentagem de azoto. De igual modo, este aumento no teor em azoto orgânico implicou também a diminuição da razão C:N com a imposição das aclimações, tanto nos eixos prostrados como nas porções apicais.

Os eixos do sistema prostrado de *G. sesquipedale* evidenciaram uma maior tolerância aos processos de aclimação do que os eixos erectos. Esta observação é suportada pela menor quebra verificada na razão C:N após as aclimações. Estes eixos, para além de serem responsáveis pela regeneração das frondes erectas colhidas ou destruídas por tempestades (Santelices, 1991), garantindo assim a perenação das populações (Santos, 1994), parecem ter também uma função de acumulação de reservas, sob a forma de azoto. Esta suposição tem a ver com o facto de estes eixos apresentarem um conteúdo em

azoto similar ao dos eixos erectos, enquanto que o teor em ficobiliproteínas é significativamente mais baixo. Isto indica a presença nestes eixos de outras substâncias contendo azoto, muito provavelmente amido florideano. Sabe-se também que o sistema prostrado contém maior quantidade de rizinas do que o sistema erecto (Santos, com. pess.).

3. Eficiência fotossintética de *G. sesquipedale*: variação em profundidade

3.1. Material e métodos

Fronde de *Gelidium sesquipedale* foram colhidas ao largo do Cabo Espichel (Sesimbra, Portugal), uma área caracterizada por forte hidrodinamismo onde a profundidade aumenta rapidamente até cerca dos 30 m e onde a população natural de *G. sesquipedale* se distribui ao longo de praticamente todo o gradiente de profundidade (Santos, 1993a). As frondes foram colhidas através de mergulho com escafandro autónomo às profundidades de 3, 10, 15 e 22 metros e transportadas para a costa em ambiente de semi-obscuridade para as medições de fluorescência.

3.1.1. Fluorescência da clorofila a e taxa relativa de transporte de electrões

As emissões de fluorescência da clorofila a foram medidas através de um aparelho de fluorescência modulada (PAM-2000 Chlorophyll Fluorometer, Heinz Walz, Effeltrich, Alemanha). Porções apicais de *G. sesquipedale* (3 replicados) foram colocadas no suporte de material vegetal do aparelho, a uma distância de 7 mm da fibra óptica e expostas a uma série crescente de valores de irradiância, entre 18 e 900 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$, luz branca, fornecida por uma lâmpada de halogénio. Cada nível de irradiância foi mantido até se atingir o nível estável de emissão de fluorescência, F_s , o qual era gravado. Nestas condições de estabilidade, as amostras foram sujeitas a um pulso de luz de intensidade saturante, por forma a determinar o nível máximo de fluorescência F_m' . Para cada nível de irradiância, foi calculado o rendimento quântico efectivo do fotossistema II [$Y = (F_m' - F_s) / F_m' = (\Delta F / F_m')$] (Genty *et al.*, 1989) e a taxa relativa de transporte de electrões ($rETR = Y \times \text{Irradiância} \times K$) (Schreiber *et al.*, 1995). O parâmetro K representa a absorvância do material vegetal e também o facto de que apenas cerca de 50% da energia quântica absorvida é distribuída ao fotossistema II. Neste estudo, dado que a absorvância das frondes de *G. sesquipedale* não foi determinada, K foi sempre considerado como sendo igual a 0.5.

3.1.2. Fotossíntese e respiração

Fronde de *G. sesquipedale* foram transportadas para o laboratório em ambiente escuro, húmido e refrigerado (5-6°C), por forma a minimizar a actividade metabólica. Antes das medições no eléctrodo de oxigénio, as frondes foram pré-equilibradas à temperatura de 20°C durante cerca de 2 horas. Porções apicais (3 replicados, 150-200 mg peso seco) foram incubadas em 15 ml de água do mar previamente esterilizada e enriquecida com NaHCO₃ (20 mM, concentração final) numa câmara escurecida de medição Hansatech DW3 montada num eléctrodo de oxigénio do tipo Clark (Hansatech Instruments, Norfolk, Reino Unido). Todo o processo de determinação das taxas fotossintéticas foi idêntico ao descrito no ponto 2.1.2., com excepção da temperatura da câmara de reacção, que neste caso foi mantida a 20°C.

3.1.3. Ajuste de curvas e estimação de parâmetros

Os valores das taxas fotossintéticas obtidas para cada irradiância (P-I) foram graficados para 3, 15 e 22 m, dado que as frondes de *G. sesquipedale* provenientes dos 10 m não responderam de nenhuma forma quando sujeitas ao processo de incubação e medição no eléctrodo de oxigénio. As taxas relativas de transporte de electrões a cada irradiância (rETR-I) foram apenas graficadas para os 10, 15 e 22 m, já que os dados obtidos para a profundidade de 3 m foram considerados pouco fiáveis, devido a uma falha temporária no equipamento de leitura que forçou as frondes a uma excessiva exposição ao ar e conseqüente dessecação.

Os modelos matemáticos referidos em 2.1.3. foram aplicados e testados (χ^2 , $p > 0.05$) nos dados da fotossíntese e também nos da fluorescência, por forma a determinar as equações que melhor se ajustavam aos dados obtidos pelos dois métodos. Em função do melhor ajuste possível, foram utilizadas equações diferentes para a estimação dos parâmetros de cada um dos tipos de curva. Assim, os parâmetros fundamentais das curvas P-I, como o declive inicial para

irradiâncias limitantes, α , e a taxa fotossintética máxima, P_m , foram estimados através de uma regressão não-linear, utilizando a equação

$$(3) \quad P = P_m \tanh (\alpha I / P_m),$$

da tangente hiperbólica de Jassby e Platt (1976). Foram ainda determinados os pontos de compensação, $I_c = R_d / \alpha$, e de saturação luminosa, $I_k = P_m / \alpha$. Os parâmetros das curvas rETR-I, declive inicial (α na equação 1) e taxa relativa máxima de transporte de electrões, rETR_m (P_m na equação 1), foram estimados através de regressão não-linear utilizando a equação da hipérbole rectangular

$$(1) \quad P = P_m [\alpha I / (P_m + \alpha I)],$$

em que neste caso P representa a taxa relativa de transporte de electrões a um dado nível de irradiância I. O ponto de saturação luminosa foi calculado como $I_k = rETR_m / \text{declive inicial}$. Nas curvas rETR-I, o ponto de compensação I_c não foi determinado, uma vez que o método da fluorescência está relacionado com a fotossíntese bruta e não é possível estimar taxas respiratórias. Os parâmetros P_m e α foram comparados respectivamente com rETR_m e com o declive inicial das curvas rETR-I. Para as profundidades de 15 e 22 m, as curvas P-I e rETR-I foram comparadas através do teste estatístico não-paramétrico de Smirnov (Conover, 1980), de modo a averiguar se ambos os métodos de obtenção de curvas de resposta da fotossíntese à luz exprimiram funções de distribuição idênticas, relativamente aos dados em análise.

3.1.4. Pigmentos fotossintéticos

Amostras de *G. sesquipedale* de todas as profundidades foram pesadas em fresco à chegada ao laboratório e congeladas a -80°C para posterior determinação de pigmentos fotossintéticos. Todo o procedimento seguido para a extracção e determinação espectrofotométrica dos pigmentos foi idêntico ao descrito em 2.1.4..

3.2. Resultados

As curvas de resposta da fotossíntese de *G. sesquipedale* à luz obtidas através do método de fluorescência (Fig. 11) evidenciaram um decréscimo de $rETR_m$ com a profundidade (valores na Tabela III). As frondes colhidas a menor profundidade revelaram uma capacidade fotossintética mais elevada para irradiâncias saturantes. O declive inicial das curvas de resposta diminuiu ligeiramente com a profundidade, embora de forma não significativa (Tabela III). A variação no parâmetro de saturação luminosa (I_k) (Tabela III) também não se mostrou significativa, o que provavelmente terá ficado a dever-se à falta de replicados, particularmente na parte inicial da curva, limitada pela luz. De um modo geral, todas as curvas apresentaram um bom ajuste aos pontos observados (χ^2 , $p > 0.05$).

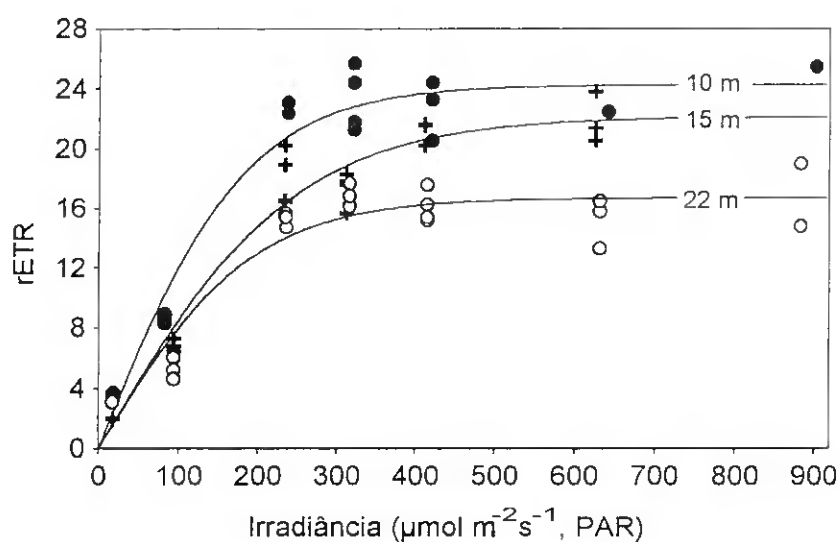


Fig. 11. Curvas de resposta da fotossíntese à luz para *G. sesquipedale* colhido a 10, 15 e 22 m, obtidas através de fluorescência modulada. rETR é a taxa relativa de transporte de electrões, expressa em função da irradiância ($\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Tabela III. Parâmetros estimados das curvas de resposta da fotossíntese à luz obtidas através do método de fluorescência da clorofila *a*. Unidades: arbitrárias para o declive inicial das curvas rETR-I e para rETR_m; $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para I_k .

Profundidade	Declive inicial	rETR _{max}	$I_k = \text{rETR}_m / \text{Declive inicial}$
10 m	0.132	24.270	183.864
15 m	0.090	22.168	246.311
22 m	0.087	16.742	192.437

Os valores de P_m estimados para *G. sesquipedale* (Tabela IV) através das curvas de resposta à luz obtidas com o eléctrodo de oxigénio (Fig. 12), mostraram uma evolução em profundidade semelhante à do parâmetro rETR_m, estimado através do método da fluorescência.

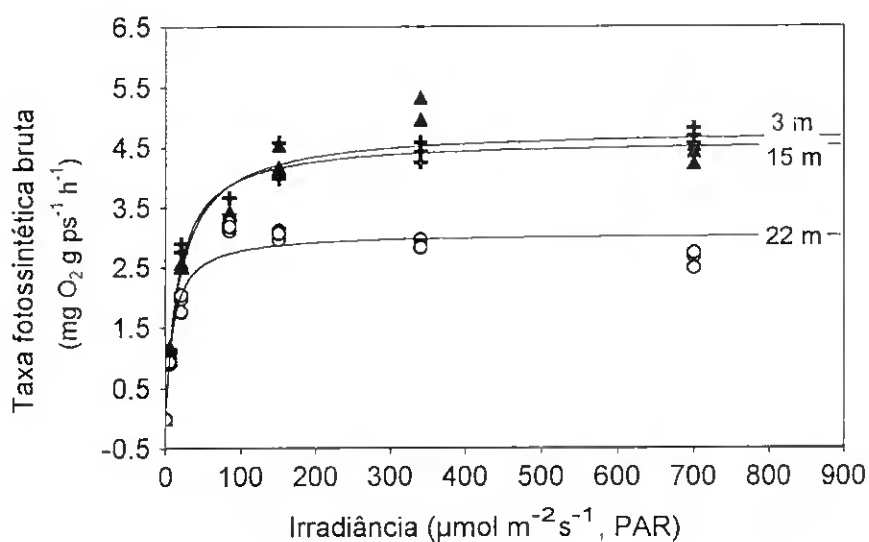


Fig. 12. Curvas de resposta da fotossíntese à luz para *G. sesquipedale* colhido a 3, 15 e 22 m, obtidas com um eléctrodo de oxigénio do tipo Clark. A fotossíntese bruta ($\text{mg O}_2 \text{ g ps}^{-1} \text{ h}^{-1}$) é expressa em função da irradiância ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

O declive ascendente para irradiâncias limitantes, α , aumentou de forma não significativa com a profundidade, enquanto que a respiração no escuro, R_d , e os parâmetros dela derivados, I_k e I_0 , diminuíram com a profundidade (Tabela IV). Também neste caso, as algas aclimatadas a intensidades luminosas mais baixas evidenciaram menor capacidade fotossintética. No entanto, o valor de P_m a 3 m

foi apenas ligeiramente superior que a 15 m, apesar de a curva correspondente à menor profundidade ter apresentado o mais baixo declive ascendente inicial, o que acompanha a tendência revelada por todos os outros parâmetros.

Tabela IV. Parâmetros estimados das curvas de resposta da fotossíntese à luz obtidas com o eléctrodo de oxigénio. Unidades: mg O₂ g ps⁻¹ h⁻¹ (μmol quanta m⁻² s⁻¹)⁻¹ para α, mg O₂ g ps⁻¹ h⁻¹ para P_m e R_d; μmol quanta m⁻² s⁻¹ para I_c e I_k.

Profundidades	α	P _m	R _d	I _c = R _d /α	I _k = P _m /α
3 m	0.239	4.793	3.190	13.347	20.054
15 m	0.284	4.621	2.764	9.732	16.271
22 m	0.301	3.072	1.274	4.232	10.206

Todas as curvas mostraram um bom ajuste (χ^2 , $p > 0.05$) aos pontos observados. O teste estatístico não-paramétrico de Smirnov, aplicado às curvas obtidas pelos dois métodos, fluorescência e produção de oxigénio, para 15 e 22 m, mostrou que, para ambas as profundidades, os dois métodos expressaram idênticas distribuições dos dados ($T < T_{crit}$, *two-sided test table*, *0.95 quantile*).

A Fig. 13 (a-d) mostra os teores dos diferentes pigmentos fotossintéticos quantificados para as quatro profundidades. Apesar de as diferenças entre profundidades não serem significativas em nenhum dos casos (Anova, $p > 0.05$), os teores médios de clorofila *a* e de carotenóides diminuíram em profundidade, enquanto que as ficobiliproteínas aumentaram, excepto para as algas colhidas a 3 m.

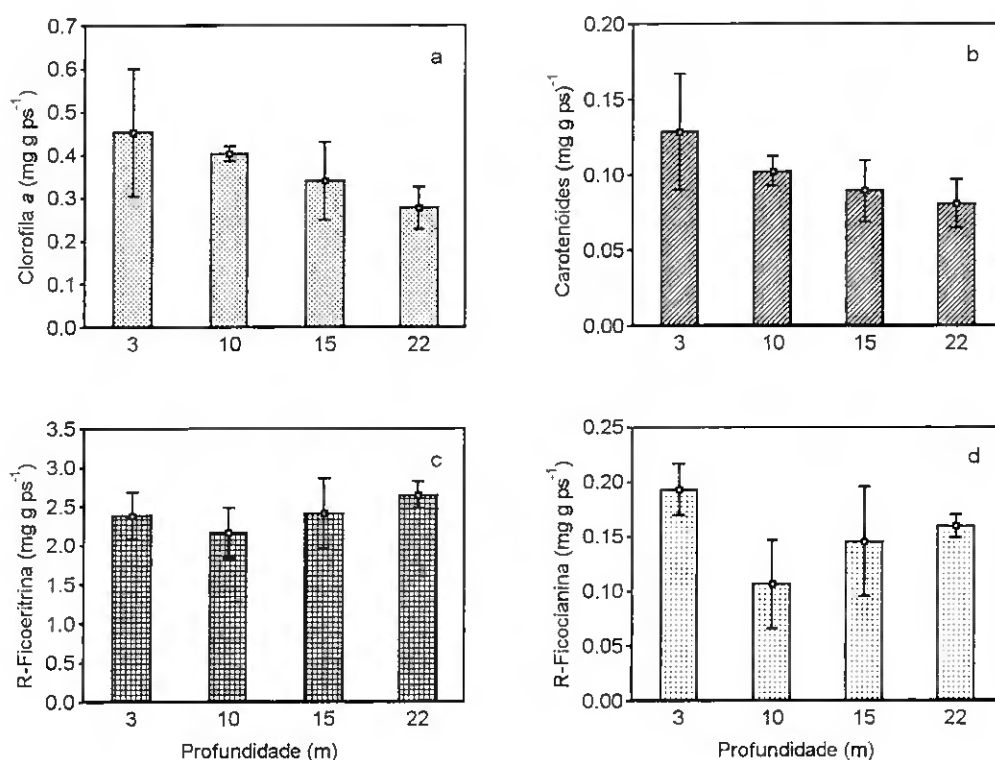


Fig. 13. Concentrações de clorofila a (a), carotenóides (b), R-ficoeritrina (c) e R-ficocianina (d) em *G. sesquipedale* colhido a diferentes profundidades, expressas em mg g ps⁻¹.

3.3. Discussão

As curvas de resposta da fotossíntese de *G. sesquipedale* à luz para as profundidades de 15 e 22 m revelaram um padrão idêntico quando obtidas por qualquer um dos dois métodos ensaiados, o que foi confirmado pelo teste estatístico de Smirnov. Em ambos os casos, P_m , $rETR_m$, e I_k diminuíram com a profundidade, evidenciando uma menor capacidade fotossintética das algas provenientes da maior profundidade. A variação dos declives ascendentes a irradiâncias limitantes foi muito pequena, apesar de o reduzido número de pontos existentes na região das curvas limitada pela luz tornar estas estimativas pouco fidedignas (Henley, 1993). Os valores absolutos tanto de α como do declive inicial diferiram bastante entre métodos. As curvas obtidas com o eléctrodo de oxigénio apresentaram um declive bastante mais acentuado na região limitada pela luz. Em consequência, nestas curvas o ponto de saturação (parâmetro I_k) foi

sempre atingido a irradiâncias mais baixas do que nas curvas determinadas pelo método da fluorescência. Diferenças entre as cinéticas da fluorescência e as medições no eléctrodo de oxigénio foram anteriormente descritas para as algas vermelhas *Polyneura hilliae* e *Phyllophora truncata* (Hanelt *et al.*, 1992), *Palmaria palmata* (Hanelt & Nultsch, 1995) e *Pantoneura plocamioides* (Hanelt *et al.*, 1997), em estudos dirigidos ao estabelecimento e recuperação da fotoinibição da fotossíntese. Os diferentes autores referiram uma reduzida cinética da reacção da fluorescência, em contraste com a ausência de fotoinibição na produção de oxigénio para o mesmo tempo de recuperação. Investigação adicional é necessária por forma a determinar se estas diferenças entre fluorescência e produção de oxigénio são ou não padronizáveis e se esta questão é ou não exclusiva das algas vermelhas em geral ou de alguns subgrupos das Rodófitas em particular.

A maior vantagem do método da fluorescência na determinação de curvas de resposta da fotossíntese em macroalgas é sem dúvida a possibilidade de realizar medições no campo. Para além de permitir a repetição de medições no mesmo material, os dados são obtidos de forma muito mais rápida e mais perto dos locais de colheita, o que reduz bastante a manipulação das algas. Isto resulta num aumento da fiabilidade dos resultados, sobretudo quando se pretende estudar condições naturais, uma vez que o transporte pode induzir alterações fisiológicas decorrentes de stress térmico, luminoso ou salino (Häder e Figueroa, 1997). Por outro lado, um controlo rigoroso da temperatura das amostras durante as medições exige o uso de uma câmara de incubação, o que limita o trabalho de campo. Adicionalmente, a fluorometria não permite a obtenção dos valores absolutos de capacidade fotossintética, respiração e ponto de compensação. Neste trabalho, as diferenças nas respostas fotossintéticas associadas com a profundidade foram estabelecidas com sucesso através da fluorescência da clorofila *a*, o que abre caminho para investigações futuras utilizando este método em *G. sesquipedale*.

Neste trabalho foi pela primeira vez efectuada a determinação de curvas de resposta da fotossíntese à luz através da estimação da taxa relativa de transporte de electrões ao longo de um conjunto de valores de irradiância pré-definidos. Os resultados sugerem a existência de algas adaptadas a condições de “sol” e de “sombra”, com base essencialmente no decréscimo da capacidade fotossintética com a profundidade. Esta observação encontra paralelo no trabalho de Duarte e Ferreira (1995) com *G. sesquipedale* colhido na mesma área e é também concordante com os resultados de Coutinho e Yoneshigue (1988) em *Pterocladia capillacea*, recolhida a diferentes profundidades em Cabo Frio, Brasil. O decréscimo observado na respiração no escuro com a profundidade é também referido por Duarte & Ferreira (1995). De acordo com estes autores, a redução da taxa respiratória apresentada pelas algas de maior profundidade constitui uma importante adaptação, permitindo-lhes sobreviver em condições de reduzida intensidade luminosa, através de uma redução nas perdas energéticas por respiração. Dados apresentados por Hanelt *et al.* (1997), referentes a diversas espécies de algas polares, mostram claramente que os efeitos do stress provocado por altas intensidades luminosas é bastante mais evidente nas algas provenientes de maiores profundidades, em consequência da sua aclimação a um ambiente de luminosidade reduzida. No mesmo trabalho, é também demonstrado que após a imposição de fotoinibição, as algas vermelhas apresentam de modo geral uma cinética de recuperação mais baixa do que as algas verdes e castanhas. Por forma a validar os resultados obtidos e a clarificar a variação em profundidade de alguns parâmetros, nomeadamente α e I_c , torna-se necessária a obtenção de alguns dados adicionais. Cumulativamente, torna-se necessário controlar a altura do dia em que os dados são recolhidos, devido à necessidade de correcção para as alterações no espectro da radiação solar incidente e as alterações daí decorrentes nos conteúdos e proporções dos diferentes pigmentos fotossintéticos (Figuerola, 1996).

De uma forma geral, as concentrações dos pigmentos dos complexos antena e a razão entre pigmentos acessórios e primários aumenta de forma inversa com a densidade do fluxo quântico, o que constitui uma adaptação fenotípica bem

conhecida das algas a ambientes de diferentes intensidades luminosas (Ramus, 1981). Este mecanismo é por vezes designado adaptação cromática complementar, uma expressão originalmente utilizada por Engelmann para designar a sua teoria da distribuição vertical das macroalgas, a qual foi refutada por Ramus (1981). Kirk (1994) utilizou esta expressão para descrever um aumento na proporção dos pigmentos que melhor absorvem a luz à qual as células estão expostas. Alterações na composição em ficobilissomas de algumas cianobactérias foram associadas a variações na composição espectral da luz ambiente por Grossman *et al.* (1993). Na alga vermelha *Porphyra yezoensis*, Abe *et al.* (1994) sugeriram a ocorrência de adaptação cromática complementar (*sensu* Kirk, 1994), em plantas expostas a regimes luminosos que excitavam preferencialmente o fotossistema I ou o fotossistema II, com base em alterações registadas na estequiometria PS I/PS II e também na composição em ficobiliproteínas. Sagert e Schubert (1995) observaram a mesma condição na rodófito *Palmaria palmata*, em termos de um aumento na razão R-ficoeritrina/R-ficocianina, quando a alga era mantida sob luz verde.

As variações observadas nos teores pigmentares podem ser interpretadas como uma possível aclimação à alteração na intensidade luminosa decorrente da profundidade. Nas algas vermelhas, a R-ficoeritrina é o principal pigmento dos complexos captadores de luz do fotossistema II, com um pico de absorção nos 559 nm, ou seja, na zona do verde (Sagert e Schubert, 1995). Este facto pode ser a base para justificar o aumento da R-ficoeritrina em profundidade, onde a luz azul (< 470 nm) (absorvida principalmente pela clorofila *a*, o principal pigmento captador de luz no fotossistema I) é predominante, devido à necessidade fisiológica de equilibrar o funcionamento do aparelho fotossintético, que de outra forma receberia um excesso de energia no fotossistema I relativamente ao fotossistema II.

Os valores dos parâmetros fotossintéticos obtidos para as frondes de *G. sesquipedale* colhidas a 3 m apresentam um padrão ligeiramente diferente do observado para as outras profundidades. Em algas colhidas tão próximo da

superfície, em princípio com uma adaptação característica de plantas de “sol” (Coutinho e Yoneshigue, 1988), seria de esperar um valor muito mais elevado de P_m , especialmente em comparação com as algas de 15 e 22 m, que tinham um teor de clorofila *a* bastante mais baixo. Por outro lado, a forma da curva P-I é típica de uma planta adaptada a irradiâncias elevadas, evidenciando uma resposta lenta da fotossíntese ao aumento da intensidade luminosa, confirmada pelos parâmetros α , I_k e I_c . A possibilidade de erros de medição é desacreditada pelo bom ajuste do modelo. Os conteúdos de R-ficoeritrina e especialmente de R-ficocianina também não seguiram a tendência geral registada para as outras profundidades. Parece pois razoável admitir a hipótese de que algum tipo de diferença fisiológica de base possa existir entre as frondes colhidas a 3 m e as frondes de outras profundidades, o que em parte é suportado por outras duas observações: (i) a morfologia das frondes era algo diferente, sendo estas mais finas e ramificadas, com ramificações mais curtas e um aspecto geral menos robusto; (ii) testes RAPD (*Random Amplified Polymerase DNA*) executados em *G. sesquipedale* colhido nos mesmos pontos, revelaram a existência de alguma diferença genética entre as amostras provenientes de 3 m e todas as outras, que entre si eram bastante próximas (Santos, dados não publicados). Aspectos ambientais, tais como o elevado hidrodinamismo verificado a 3 m ou mesmo as diferenças de temperatura entre locais de colheita, são também factores ecofisiológicos bastante importantes que deverão futuramente ser levados em conta.

Os resultados deste trabalho indicam que o método da fluorescência de pulso modulado pode constituir uma via útil e fiável de estudar diferenças na aclimação à luz em *G. sesquipedale* e outras espécies relacionadas, o que permite perspectivar o seu uso em futuros trabalhos de campo, onde para além das aplicações mais clássicas deste método, também a determinação de curvas de resposta da fotossíntese à luz possa ser efectuada. No entanto, as medições de fluorescência têm ainda de ser aferidas com a evolução na produção de oxigénio e na fixação de dióxido de carbono, especialmente porque as correlações entre métodos podem ser alteradas em função de diferentes

condições experimentais e também porque os dados existentes até à data são ainda muito poucos (Franklin e Forster, 1997).

4. Considerações finais

As experiências efectuadas com *G. sesquipedale* demonstraram a existência de respostas bem definidas por parte do aparelho fotossintético, quer relativamente às experiências de aclimação térmica quer às variações em profundidade, relacionadas aqui com a intensidade luminosa. Apesar de alguns trabalhos atrás referidos terem apresentado resultados indicadores do comportamento fotossintético de *G. sesquipedale* em diferentes situações, com a excepção das experiências de Duarte (1994) todos eles são fruto de experiências laboratoriais com algum grau de artificialismo e que por isso não traduzem da melhor forma as relações entre a fisiologia fotossintética das algas e as condições ambientais a que estão sujeitas.

Na primeira parte do presente trabalho ficou patente que experiências como as termoacclimações induzem sempre algumas alterações em relação às condições naturais, que tornam os resultados difíceis de transpor para as situações reais. Neste trabalho, por exemplo verificou-se que o facto de se utilizarem frondes cortadas terá afectado as respostas das algas, mas situações eventualmente mais importantes poder-se-ão verificar sobretudo ao nível da reprodução das condições de luz ambiente. Embora a intensidade e qualidade espectral da luz utilizada seja relativamente fácil de reproduzir, o mesmo já não acontece com algumas particularidades da sua forma de incidência no meio natural. De facto, no meio marinho, as algas não recebem a luz de forma constante e uniforme como normalmente acontece nas experiências de laboratório, mas de uma forma mais dinâmica, quer devido ao constante movimento da superfície da água quer devido ao próprio ondular das frondes sob o efeito das ondas e correntes. Estas diferenças na forma como a luz atinge as frondes são bastante importantes, condicionando as respostas fotossintéticas e levando por vezes ao estabelecimento de relações P-I bastante dúbias. Kübler e Raven (1996) demonstraram que na alga vermelha *Palmaria palmata* as taxas fotossintéticas determinadas sob um regime de iluminação dinâmica podem ser o dobro das determinadas sob luz estática, para a mesma densidade de fluxo quântico.

Este tipo de situações coloca uma série de obstáculos na transposição dos resultados obtidos em experiências laboratoriais para situações reais, mas também constitui um incentivo ao desenvolvimento e utilização de métodos menos intrusivos, que permitam a obtenção de resultados em condições mais próximas das reais. Um desses métodos é a fluorescência de pulso modulado, que possibilita a aquisição de inúmeros parâmetros fotossintéticos e que, graças à portabilidade já alcançada nestes aparelhos, pode ser aplicado no campo, inclusive no meio subaquático, sendo assim o menos intrusivo possível. Este método foi aliás utilizado no presente trabalho, com bons resultados, deixando antever a intensificação da sua utilização em trabalho futuros.

No presente trabalho fica também patente o interesse do sistema de eixos prostrados de *G. sesquipedale*, quer pelo seu papel na ecologia e perenação da espécie, quer pelas suas características de resistência e capacidades de reserva, que justificam futuras investigações com o objectivo de clarificar os mecanismos envolvidos nestas funções e as relações entre este sistema e o sistema de eixos erectos.

As experiências levadas a cabo com *G. sesquipedale* constituem também mais um passo no sentido do domínio das condições de cultivo ideais para esta espécie, uma vez que só o conhecimento da sua fisiologia permitirá desenvolver uma estratégia de cultivo completa em todas as suas vertentes (Macler e Zupan, 1991).

5. Referências

- Abe, S., Murakami, A., Ohki, K., Aruga, Y. e Fujita, Y., 1994. Changes in stoichiometry among PS I, PS II and cyt b_6-f complexes in response to chromatic light for cell growth observed with the red alga *Porphyra yezoensis*. *Plant Cell Physiol.* **35**: 901-906.
- Bannister, T. T., 1979. Quantitative description of steady state, nutrient-saturated algal growth, including adaptation. *Limnol. Oceanogr.* **24**: 76-96.
- Beer, S. e Eshel, A., 1985. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extract of red algae. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* **36**: 785-792.
- Brechignac, F. e Furbank, R. T., 1987. On the nature of the oxygen uptake in the light by *Chondrus crispus*. Effects of inhibitors, temperature and light intensity. *Photosynth. Res.* **11**: 45-59.
- Carmona, R., Vergara, J. J., Pérez-Lloréns, J. L., Figueroa, F. L. e Niell, F. X., 1996. Photosynthetic acclimation and biochemical responses of *Gelidium sesquipedale* cultured in chemostats under different qualities of light. *Mar. Biol.* **127**: 25-34.
- Conover, W. J., 1980. *Practical nonparametric statistics*, 2ª edição. John Wiley & Sons, New York, 493 p.
- Coutinho, R. e Yoneshigue, Y., 1988. Diurnal variation in photosynthesis vs. irradiance curves from "sun" and "shade" plants of *Pterocladia capillacea* (Gmelin) Bornet et Thuret (Gelidiaceae: Rhodophyta) from Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brazil. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **118**: 217-228.
- Demmig-Adams, B. e Adams III, W. W., 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**: 599-626.
- Dixon, P. S., 1958. The structure and development of the reproductive organs and carposporophyte in two British species of *Gelidium* and *Pterocladia*. *Ann. Bot.* **22**: 397-407.
- Duarte, P., 1994. Ecologia da alga agarófita *Gelidium sesquipedale*. Modelação matemática da produtividade e dinâmica populacional. Tese de Doutoramento, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 280 p.
- Duarte, P. e Ferreira, J. G., 1993. A methodology for parameter estimation in seaweed productivity modelling. *Hydrobiologia* **260/261**: 183-189.
- Duarte, P. e Ferreira, J. G., 1995. Seasonal adaptation and short-term metabolic responses of *Gelidium sesquipedale* to varying light and temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **121**: 289-300.

- Duarte, P. e Ferreira, J. G., 1997. A model for the simulation of macroalgal population dynamics and productivity. *Ecol. Model.* **98**: 199-214.
- Falkowski, P. G. e Raven, J. A., 1997. *Aquatic photosynthesis*. Blackwell Science, Malden, 375 p.
- Felicini, G. P. e Perrone, C., 1970. Germinazione «in vitro» di carpospore di *Petroglossum nicaeense* (Duby) Schotter. *Giorn. Bot. Ital.* **104**: 413-426.
- Figuerola, F. L., 1996. Underwater light signals: Role of algal photoreceptors in the natural environment. *Giorn. Bot. Ital.* **130**: 608-623.
- Franklin, L. A. e Forster, R. M., 1997. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *Eur. J. Phycol.* **32**: 207-232.
- Fredriksen, S. e Rueness, J., 1989. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. *Bot. Mar.* **32**: 539-546.
- Geider, R. J. e Osborne, B. A., 1992. *Algal photosynthesis: the measurement of algal gas exchange*. Chapman & Hall, Inc., New York, 256 p.
- Genty, B., Briantais, J. e Baker, N., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* **990**: 87-92.
- Gorostiaga, J. M., 1994. Growth and production of the red alga *Gelidium sesquipedale* off the Basque coast (northern Spain). *Mar. Biol.* **120**: 311-322.
- Gorostiaga, J. M., 1995. Sublittoral seaweed vegetation of a very exposed shore on the Basque coast (N. Spain). *Bot. Mar.* **38**: 9-16.
- Grossman, A. R., Schaefer, M. R., Chiang, G. G. e Collier, J. L., 1993. The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol. Rev.* **57**: 725-749.
- Häder, D.-P. e Figuerola, F. L., 1997. Photoecophysiology of marine macroalgae. *Photochem. Photobiol.* **66**: 1-14.
- Hanelt, D., Huppertz, K. e Nultsch, W., 1992. Photoinhibition of photosynthesis and its recovery in red algae. *Bot. Acta* **105**: 278-284.
- Hanelt, D. e Nultsch, W., 1995. Field studies of photoinhibition show non-correlations between oxygen and fluorescence measurements in the arctic red alga *Palmaria palmata*. *J. Plant Physiol.* **145**: 31-38.

- Hanelt, D., Wiencke, C., Karsten, U. e Nultsch, W., 1997. Photoinhibition and recovery after high light stress in different developmental and life-history stages of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta). *J. Phycol.* **33**: 387-395.
- Hawkes, M. W., 1990. Reproductive strategies. *In: Biology of the red algae*, K. M. Cole e R. G. Sheath (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, pp 455-476.
- Henley, W. J., 1993. Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes. *J. Phycol.* **29**: 729-739.
- Jassby, A. D. e Platt, T., 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **21**: 540-547.
- Juanes, J. A. e Puente, A., 1993. Differential reattachment capacity of isomorphic life history phases of *Gelidium sesquipedale*. *Hydrobiologia* **260/261**: 139-144.
- Kirk, J. T. O., 1994. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*, 2ª edição. Cambridge University Press, Cambridge, 509 p.
- Krause, G. H. e Weis, E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**: 313-349.
- Kübler, J. E. e Raven, J. A., 1996. Nonequilibrium rates of photosynthesis and respiration under dynamic light supply. *J. Phycol.* **32**: 963-969.
- Lobban, C. S. e Harrison, P. J., 1997. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, 366 p.
- Macler, B. A. e Zupan, J. R., 1991. Physiological basis for the cultivation of the Gelidiaceae. *Hydrobiologia* **221**: 83-90.
- Melo, R., in press. *Gelidium* commercial exploitation: natural resources and cultivation. *J. Appl. Phycol.* .
- Ögren, E., 1991. Prediction of photoinhibition of photosynthesis from measurements of fluorescence quenching components. *Planta* **184**: 538-544.
- Ögren, E., 1994. The significance of photoinhibition for photosynthetic productivity. *In: Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field*, N. R. B. e J. R. Bowyer (eds.), BIOS Scientific Publishers, Oxford, pp 433-447.
- Platt, T., Gallegos, C. L. e Harrison, W. G., 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* **38**: 687-701.
- Ramus, J., 1981. The capture and transduction of light energy. *In: The biology of the seaweeds*, C. S. Lobban e M. J. Wynne (eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 786 p.

- Rosenberg, G., Littler, D. S., Littler, M. M. e Oliveira, E. C., 1995. Primary production and photosynthetic quotients of seaweeds from Sao Paulo State, Brazil. *Bot. Mar.* **38**: 369-377.
- Rowan, S., 1989. *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge University Press, Cambridge, 334 p.
- Sagert, S. e Schubert, H., 1995. Acclimation of the photosynthetic apparatus of *Palmaria palmata* (Rhodophyta) to light qualities that preferentially excite photosystem I or photosystem II. *J. Phycol.* **31**: 547-554.
- Salinas, J. M., 1991. Spray system for re-attachment of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thur. (Gelidiales: Rhodophyta). *Hydrobiologia* **221**: 107-117.
- Salinas, J. M. e Valdés, L., 1993. Influence of temperature and photoperiod on the re-attachment process of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thur. (Gelidiales: Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* **5**: 317-326.
- Santelices, B., 1978. Multiple interaction of factors in the distribution of some hawaiian Gelidiales (Rhodophyta). *Pacific Science* **32**: 119-147.
- Santelices, B., 1991. Production ecology of *Gelidium*. *Hydrobiologia* **221**: 31-44.
- Santelices, B. e Varela, D., 1994. Abiotic control of reattachment in *Gelidium chilense* (Montagne) Santelices & Montalva (Gelidiales: Rhodophyta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **177**: 145-155.
- Santos, R., 1993a. A multivariate study of biotic and abiotic relationships in a subtidal algal stand. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **94**: 181-190.
- Santos, R., 1993b. Plucking or cutting *Gelidium sesquipedale*? A demographic simulation of harvest impact using a projection matrix model. *Hydrobiologia* **260/261**: 269-276.
- Santos, R., 1994. Frond dynamics of the commercial seaweed *Gelidium sesquipedale*: effects of size and of frond history. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **107**: 295-305.
- Santos, R., 1995. Size structure and inequality in a commercial stand of the seaweed *Gelidium sesquipedale*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **119**: 253-263.
- Santos, R. e Duarte, P., 1991. Marine plant harvest in Portugal. *J. Appl. Phycol.* **3**: 11-18.
- Santos, R. e Duarte, P., 1996. Fecundity, spore recruitment and size in *Gelidium sesquipedale* (Gelidiales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* **326/327**: 223-228.
- Schreiber, U., Bilger, W. e Neubauer, C., 1995. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. *In*:

Ecophysiology of Photosynthesis, E.-D. Schulze e M. M. Caldwell (eds.), Springer-Verlag, Berlin, pp 49-70.

Seaton, G. e Walker, D., 1990. Chlorophyll fluorescence as a measure of photosynthetic carbon assimilation. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **242**: 29-35.

Serôdio, J., Silva, J. M. e Catarino, F., 1997. Nondestructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence. *J. Phycol.* **33**: 542-553.

Silva, J., Santos, R., Serôdio, J. e Melo, R., in press. Light response curves for *Gelidium sesquipedale* from different depths, determined by two methods: O₂ evolution and chlorophyll fluorescence. *J. Appl. Phycol.* .

Smith, E. L., 1936. Photosynthesis in relation to light and carbon dioxide. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **22**: 504-511.

Sosa, P. A., Jiménez del Rio, M. e García-Reina, G., 1993. Physiological comparison between gametophytes and tetrasporophytes of *Gelidium canariensis* (Gelidiaceae: Rhodophyta). *Hydrobiologia* **260/261**: 445-449.

Strickland, J. e Parsons, T., 1968. A practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Bd. Can., Bulletin 167, Ottawa, 310 p..

Talling, J. F., 1957. Photosynthetic characteristics of some freshwater plankton diatoms in relation to underwater radiation. *New Phytol.* **56**: 29-50.

Talling, J. F. e Driver, D., 1963. Some problems in the estimation of chlorophyll in phytoplankton. *In*: Proceedings of Conference of Primary Productivities Measurements, Atomic Energy, Hawaii, USA, pp. 142-166.

Torres, M., Niell, F. X. e Algarra, P., 1991. Photosynthesis of *Gelidium sesquipedale*: effects of temperature and light on pigment concentration, C/N ratio and cell-wall polysaccharides. *Hydrobiologia* **221**: 77-82.

Torres, M., Niell, F. X. e Figueroa, F. L., 1995. Photosynthetic metabolism and cell-wall polysaccharide accumulation in *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thur. under different light qualities. *J. Appl. Phycol.* **7**: 167-174.

Vergara, J. J., Niell, F. X. e Torres, M., 1993. Culture of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thur. in a chemostat system. Biomass production and metabolic responses affected by N flow. *J. Appl. Phycol.* **5**: 405-415.

