**Nelso Patricio Navarro Martínez**

# EFEITOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA SOLAR EM ALGAS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA REGIÃO SUBANTÁRTICA DO CHILE DURANTE A PRIMAVERA.

EFFECTS OF SOLAR ULTRAVIOLET RADIATION ON ECONOMICALLY IMPORTANT ALGAE FROM CHILEAN SUB-ANTARCTIC REGION DURING SPRING

**São Paulo 2011**

**Nelso Patricio Navarro Martínez**

# EFEITOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA SOLAR EM ALGAS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA REGIÃO SUBANTÁRTICA DO CHILE DURANTE A PRIMAVERA.

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências, na Área de Botânica.
Orientadora: Estela Maria Plastino
Coorientador: Andrés Mansilla Muñoz

São Paulo 2011

# Ficha Catalográfica

Navarro, Nelso
Efeitos da radiação ultravioleta solar em algas de importância econômica da região subantártica do Chile durante a primavera /Nelso Patricio Navarro Matínez. São Paulo: N.P. Navarro, 2011.
210pp

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica, 2011

1. UV-B 2. MAAs 3. Estreito de Magallanes 4. Nitrato I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica

## Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Estela Maria Plastino
(orientadora)

# Capítulo 1

## Introdução Geral

### 1. Radiação solar e seu impacto em organismos fotossintetizantes

### 1.1. Radiação solar e camada de Ozônio

O sol irradia energia em um espetro eletromagnético amplo de comprimentos de onda que vão desde os raios gama até ondas de radio, embora esse espetro eletromagnético seja definido como infinito. A faixa mais importante desse espectro para a vida na Terra é a que denominamos como luz visível ou radiação fotossinteticamente ativa (em inglês PAR, 400 até 700 nm).

A radiação ultravioleta faz parte do espectro eletromagnético e compreende ondas eletromagnéticas mais energéticas com comprimentos de 100 a 400 nm. É classificada pela Comissão Internacional de Iluminação em três tipos: UV-C (190-280 nm), UV-B (280-315 nm) e UV-A (315-400 nm) (OKUNO *et al.*, 1996). Porém, muitos fotobiologistas ambientais aceitam 320 nm como o limite entre a radiação UV-A e UV-B (FRANKLIN & FORSTER, 1997).

A energia característica de cada comprimento de onda é determinada pela relação:

$$E = hc / \lambda$$

onde, *h* é a constante de Planck ($6.6*10^{-34}$ $W.s^{-2}$ ), *c* a velocidade da luz ($3*10^{17}$ $nm.s^{-1}$) e $\lambda$ o comprimento de onda. Quando se trata de sistemas biológicos ou químicos, a unidade mais comumente usada é o mol de fótons, o qual contém *N* fótons (onde *N* é o número de Avogadro =6,023 x $10^{23}$). A energia de um mol de fótons é definida pela seguinte equação:

$$E = hc / \lambda = 1.19629 \times 10^{8} \ J/\lambda$$

Assim, a energia de um mol de fóton varia inversamente com o comprimento de onda. Por exemplo, a energia de um mol de fóton a 300 nm é 398 kJ. Entretanto, a energia de um mol de fóton a 700 nm é somente 171 kJ. Essa relação tem implicações químicas e biológicas importantes quando estamos considerando sistemas sob mudanças na distribuição espectral solar (WHITEHEAD *et al.*, 2000)

Em termos gerais, a distribuição espectral solar fora da atmosfera corresponde a 51% de radiação infravermelha, 41% de PAR e 8% de UV (WHITEHEAD *et al.*, 2000).

Durante a passagem através da atmosfera, a radiação está sujeita à absorção e dispersão (por parte de gases e nuvens e partículas) reduzindo sua intensidade aproximadamente em 35% antes de atingir a superfície da Terra. Como resultado do processo de dispersão e absorção, a distribuição espectral que atinge a superfície da Terra é diferente daquela registrada na borda da atmosfera.

A radiação UV-C é fortemente mutagênica e letal para muitos organismos, mas, é completamente absorvida antes de atingir a superfície da Terra por partículas e gases presentes na atmosfera, como o oxigênio ($O_2$) e o ozônio ($O_3$). A radiação UV-B é parcialmente absorvida pela camada de ozônio. Porém, os níveis de PAR e UV-A são relativamente insensíveis às mudanças na concentração de ozônio.

O ozônio compõe a atmosfera em quantidades mínimas (uma molécula de $O_3$ para cada 2,5 milhões de moléculas presentes na atmosfera), concentrando-se principalmente na estratosfera, entre 15 e 40 km acima da superfície terrestre. Essa região é conhecida como ozonosfera, sendo responsável pela absorção de parte da radiação UV solar incidente, sendo fundamental para a manutenção da vida na superfície terrestre. Existe ozônio também no nível do solo, porém nessa região esse gás não apresenta os efeitos benéficos na absorção de UV, e ao contrário, é um poluente muito tóxico aos organismos (WMO, 2006).

O ozônio é formado constantemente na estratosfera e corresponde à união química de uma molécula de $O_2$ com um átomo de oxigênio, este último proveniente da fotodissociação do $O_2$ por um fóton de radiação UV-C, com comprimento de onda inferior a 242nm. O ozônio, por sua vez, pode também ser dissociado em $O_2 + O$ por um fóton de radiação UV-B com comprimento de onda inferior a 320nm. Desta forma, a camada de $O_3$ funciona como um filtro de parte da radiação ultravioleta, principalmente da radiação UV-B e UV-C (OKUNO, 1996), mantendo assim, os níveis de ozônio estratosférico através do balanço dinâmico entre a produção e destruição fotoquímica.

O ozônio não está uniformemente distribuído ao redor da Terra. Intuitivamente, seria lógico encontrar maior concentração de ozônio estratosférico nas baixas latitudes (exemplo, no Equador) e em maiores altitudes onde as irradiâncias são mais elevadas. Contrariamente, os níveis de ozônio são mais altos na estratosfera média em altas latitudes e menores sobre o Equador (WMO, 2002). De fato, o nível de ozônio sobre o equador é relativamente constante em 260 Unidades Dobson (UD), entretanto, os níveis de ozônio nas altas latitudes no hemisfério sul podem atingir 350 UD (uma camada de ozônio de 1 mm de espessura a 0°C e 1 atmosfera de pressão corresponde a 100 UD).

Uma alta produção de ozônio ocorre sobre o equador e os trópicos, mas os ventos estratosféricos transportam esse gás para as regiões polares aumentando sua concentração em altas latitudes (WHITEHEAD *et al.*, 2000). Por outro lado, a variação em altitude da camada de ozônio resulta da lenta circulação que leva o ar pobre em $O_3$ da troposfera até a estratosfera. Uma vez que esse ar sobe lentamente nos trópicos, o ozônio é produzido pela fotólise das moléculas de oxigênio. Posteriormente, o ar rico em ozônio é transportado desde a estratosfera media das regiões tropicais para a estratosfera inferior nas latitudes mais altas. A alta concentração de ozônio nas altas latitudes é devido ao acúmulo desse composto a menores altitudes (Fig. 1).

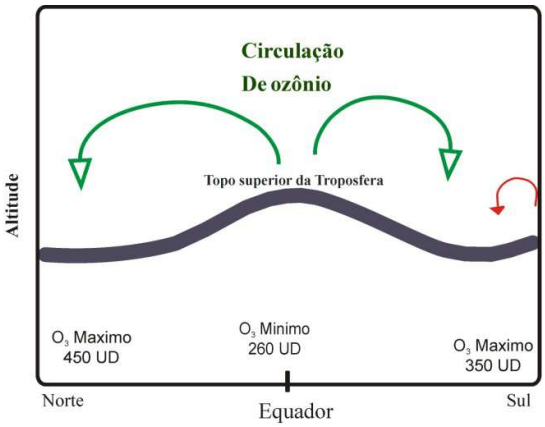


Fig. 1. Produção e circulação de ozônio desconsiderando-se a influência da diminuição da camada de ozônio (modificado de STOLARSKI, 1988 e WHITEHEAD *et al.*, 2000).

O ciclo natural do ozônio pode ser perturbado pela interação com compostos antropogênicos, comumente chamados CFC´s (WMO, 1994). Os íons de cloro ($Cl^-$) transportados pelos CFCs e os óxidos nítricos ($NO_x$) são apontados como os principais responsáveis pela redução da camada de $O_3$ (MOLINA *et al.*, 1987; BORNMAN, 1996). Após 50 anos da introdução dos CFC´s, suas concentrações têm aumentado na atmosfera. Os CFC´s são estáveis e inertes na troposfera, mas quando se encontram na estratosfera, esses compostos são expostos à UV com suficiente energia para quebrar as ligações carbono-cloro. O íon cloro, quando exposto à radiação ultravioleta, apresenta elevada reatividade com as moléculas de ozônio de acordo com as seguintes reações, causando a destruição das mesmas (MOLINA *et al.*, 1987):

$$Cl + O_3 \longrightarrow ClO + O_2$$
$$ClO_2 + ClO \longrightarrow Cl_2O_2$$
$$Cl_2O_2 + hv \longrightarrow Cl + ClOO$$
$$ClOO + O \longrightarrow ClO + O_2$$
$$2 \times (Cl + O_3 \longrightarrow ClO + O_2)$$

Essas reações podem ocorrer em qualquer parte na estratosfera, mas as taxas de ocorrência não são suficientemente rápidas para explicar o grande "buraco" na camada de ozônio que tem sido observado em cada primavera austral na Antártica desde meados dos anos 80 (FARMAN *et al*., 1985; STOLARSKI *et al*., 1986).

Pesquisas recentes têm demonstrado que a redução na camada de ozônio parece depender também de uma série de processos químicos iniciados pela formação de nuvens polares estratosféricas (em inglês, PSCs), compostas de água congelada e de ácido nítrico triidratado, formadas durante as noites do inverno polar. Essas nuvens atuam como uma superfície catalítica para a liberação de clorina e bromina a partir de moléculas quimicamente inertes. Quando a estratosfera começa a esquentar novamente, esses compostos liberados podem reagir com as moléculas de ozônio causando a sua destruição (BORNMAN, 1996). Com o aumento progressivo das temperaturas no final da primavera e começos do verão, as PSCs diminuem e com isso o período de diminuição da camada de ozônio termina, e os valores de ozônio voltam a ser normais (WMO, 2002).

Os primeiros registros referentes à diminuição da camada de ozônio na Antártida indicam uma redução desse composto na primavera nos anos 80 (FARMAN *et al*, 1985; STOLARSKI *et al*., 1986; SMITH, 1992), com uma diminuição significativa até meados dos anos 90s (WEATHERHEAD & ANDERSEN, 2006). Como essa redução foi restrita à região da Antártida, foi denominada de "buraco" na camada de ozônio sobre a Antártida (Antarctic Ozone Hole- AHO). A definição clássica para AOH em termos quantitativos é a área geográfica na qual a coluna de ozônio é igual ou menor a 220 UD (CASICCIA *et al*., 2003). Essa diminuição apresentou curta duração e foi seguida por um rápido reestabelecimento. No entanto, a partir da década de 90, o aumento do "buraco" de $O_3$ e conseqüentemente da quantidade de radiação UV-B na superfície da Terra alcançaram níveis incomuns, atingindo não apenas o continente antártico, mas também o continente americano até a latitude de 38° Sul (Chile e Argentina) (FARMAN *et al*., 1985; ORCE & HELBLING, 1997; BIANCIOTTO *et al*., 2003; DIAZ *et al*., 2006). Em 1994, o "buraco" sobre o continente antártico atingiu 24 milhões de $km^2$ (WMO, 1994), aumentando para 30 milhões de $km^2$

na primavera do ano 2000 (HELBLING *et al*., 2001). Atualmente, esses valores têm sido registrados até o início do verão (WMO, 2002). Alguns estudos indicam ainda que a diminuição da camada de $O_3$ ocorre também no hemisfério Norte, sobre o Ártico (PEARCE, 1996).

Durante a primavera, quando a área do "buraco" de $O_3$ aumenta de tamanho, a ponta sul da América do Sul fica muitas vezes sob sua influência. Essa área é mais afetada pelos baixos níveis de ozônio do que qualquer outra região (WMO, 1999).

A dinâmica da camada de ozônio no extremo sul da América tem sido estudada por meio de quatro estratégias; i) lançamento de balões em regiões específicas, como Punta Arenas no Chile (KIRCHHOFF *et al*., 1997); ii) uso de espectroradiômetros Brewer (CASICCIA *et al*., 2003); iii) obtenção de dados da NASA através de satélites (Total Ozone Mapping Spectrometer (TOMS)-http://toms.gsfc.nasa.gov/ozone/ozone_v8.html) (KIRCHHOFF *et al*., 1997; ORCE & HELBLING, 1997; CASICCIA *et al*., 2003); e iv) medições da radiação UV feitas em terra (ORCE & HELBLING, 1997; CASICCIA *et al*., 2003). Muitas dessas pesquisas confirmam que massas de ar debilitadas em ozônio provenientes das regiões polares atingem o extremo austral da América do Sul em eventos de duração variável durante setembro e novembro (ORCE & HELBLING, 1997; DIAZ *et al*., 2006; CASICCIA *et al*., 2003).

Sobre a cidade de Punta Arenas (53°S; 70,9°W) no Chile, CASICCIA *et al*. (2003) registraram 7 eventos de diminuição de ozônio entre agosto e outubro de 2000. Esses eventos totalizaram 17 dias com diminuição desse gás, que correspondeu ao período mais longo registrado até então. Cada evento teve uma duração de um e quatro dias com uma diminuição de ozônio entre 20 e 49%. Por outro lado, registrou-se uma correlação inversa entre aqueles dias com a diminuição de ozônio e o aumento da radiação UV-B.

A radiação UV-B que atinge a superfície da Terra pode aumentar até três vezes como decorrência da redução dos níveis de ozônio na estratosfera (CALDWELL *et al*., 1989). Uma diminuição de 10% da camada de ozônio pode causar um aumento de 5% na radiação UV-B a 320 nm. Porém, essa mesma diminuição poderia aumentar em 100% a radiação a 300 nm que atinge a superfície terrestre (FREDERICK *et al*., 1989). Estudos feitos em Punta Arenas mostram que o maior aumento relativo da radiação UV-B, durante um evento de destruição do ozônio, ocorre entre 296-297 nm, com a irradiância espectral em 297 nm sendo pelo menos 10 vezes maior do que durante um dia normal (KIRCHHOFF *et al*., 1997). Já na cidade de Ushuaia (54,5° S, 68° W), FREDERICK *et al*. (1993) estimaram que os maiores níveis de radiação em 306,5 nm ao meio-dia durante

um evento de destruição de ozônio foi equivalente ao esperado no solstício de verão em Buenos Aires, 20 graus de latitude para o norte. BOJKOV *et al*. (1995), trabalhando também em Ushuaia, reportaram incrementos de 80% e 35% a 300 e 305 nm, respectivamente, durante um declínio de 15% na camada de ozônio em outubro. A irradiância medida a 300 nm foi semelhante ao valor registado no mesmo local, no solstício de verão.

Finalmente, uma diminuição na concentração de ozônio pode promover diferentes valores no aumento da radiação UV-B dependendo da sazonalidade. Assim, 48% de redução na camada de ozônio promoveu um aumento de 95% na radiação UV-B em setembro de 2000. Entretanto, no mês de outubro de 2000, o mesmo valor de redução de ozônio promoveu um aumento de 111% de radiação UV-B (CASICCIA *et al*., 2003).

## 1.2. A radiação que chega à Terra

Parte da radiação que chega à superfície terrestre é essencial para a vida uma vez que é utilizada pelos organismos fotossintetizantes. Esses organismos absorvem a energia na faixa da PAR para fixar quimicamente o carbono em compostos altamente energéticos, necessários para a produção de biomassa. Como conseqüência desse processo é produzido o oxigênio molecular o qual é importante para a vida dos organismos heterótrofos (BISCHOF *et al*., 2006).

A quantidade e qualidade da radiação estão sujeitas a mudanças diárias, sazonais e globais (latitude e altitude). Essa radiação varia com o horário e com as condições meteorológicas do dia (incluindo chuva, nuvem e neblina). Varia também com a concentração de aerosóis (BISCHOF *et al*., 2006). Já, na coluna de água, a penetração da radiação solar, incluindo UV e PAR, pode variar de acordo com o ângulo de incidência solar e propriedades óticas, inerentes ao corpo de água, como a absorção e o coeficiente de atenuação (KIRK, 1994; FRANKLIN & FOSTER, 1997). Essas propriedades variam com a presença de plâncton, matéria particulada em suspensão e matéria orgânica dissolvida, que absorvem fortemente a radiação UV (FRANKLIN & FOSTER, 1997; TALARICO & MARANZANA, 2000).

A penetração da radiação em águas costeiras, diferentemente da penetração em águas oceânicas, é mais variável, uma vez que recebe material dos ecossistemas terrestres via deságüe dos rios, atividades antropogênicas, suspensão de sedimentos e produção de exudatos por macrófitas, aumentando a concentração de materiais que dispersam e absorvem a radiação (FRANKLIN & FORSTER, 1997).

Embora os organismos fotossintetizantes aquáticos tenham mecanismos de proteção próprios, um aumento da radiação UV-B decorrente da diminuição da camada de ozônio pode promover efeitos deletérios. A coluna de água atua como uma proteção natural contra a radiação UV-B, embora essa radiação possa penetrar até 60 metros (SMITH *et al*., 1992; GARDE & GUSTAVSON, 1999), provocando efeitos negativos em organismos ou ecossistemas localizados em até 30 metros (HÄDER e*t al*., 1998; TALARICO & MARANZANA, 2000; HOYER *et al*., 2001).

## 2. Efeitos da radiação ultravioleta em organismos fotossintetizantes

Os efeitos da radiação UV podem ser perceptíveis em células ou até em ecossistemas, afetando ainda ciclos biogeoquímicos importantes (ZEPP *et al*., 1998). O impacto do aumento da radiação UV na superfície da Terra tem sido investigado por vários grupos de pesquisadores, avaliando-se o efeito natural e artificial dessa radiação no crescimento e nos demais aspectos fisiológicos dos organismos fotossintetizantes. Os efeitos danosos da radiação UV seriam causados principalmente pela UV-B. A radiação UV-A, que atinge a superfície da Terra em quantidade comparativamente maior do que a UV-B, contribuiria para processos de reparo dos danos causados pela UV-B (Kim & SANCAR, 1993; BRIT, 1995). Muitas pesquisas revisam e descrevem os efeitos produzidos pela UV em plantas vasculares (TEVINI & TERAMURA, 1989; BARNES *et al.*, 1990; STAPLETON, 1992; REUBER *et al.*, 1993; CUADRA & HARBORNE, 1996; CUADRA *et al.*, 1997; PAL *et al.*, 1997; JANSEN *et al.*, 1998; GAO *et al.*, 2003), líquens (BUFFONI *et al.*, 2002) e algas marinhas (FRANKLIN & FOSTER, 1997; HÄDER *et al*., 1998; VAN DE POLL *et al*., 2001, BISCHOF *et al*., 2006; KARSTEN *et al*., 2009). Esses estudos indicam de forma geral, que a maioria dos organismos expostos com freqüência à radiação solar apresenta mecanismos de defesa para minimizar os danos causados pela radiação UV. Embora essa radiação venha sendo apontada como indutora de efeitos estressantes, outros estudos têm demonstrado a inexistência desses, ou até a indução de efeitos positivos (FISCUS & BOOKER, 1995; FRANKLIN & FOSTER, 1997; HANELT & ROLEDA, 2009)

### 2.1. Efeitos diretos

O processo relacionado aos efeitos biológicos da radiação UV-B é iniciado com a absorção fotoquímica por parte de biomoléculas importantes. Essas biomoléculas podem ser danificadas pela absorção direta da radiação UV-B ou indiretamente por meio de reações fotoquímicas induzidas por esse tipo de radiação. A energia contida num fóton é

inversamente proporcional ao comprimento de onda, podendo ser suficiente para quebrar ligações químicas. Fótons altamente energéticos da faixa da radiação UV-B podem ser absorvidos por ácidos nucléicos, aminoácidos, clorofilas e carotenóides (HARM, 1980; DIFFEY, 1991; FRANKLIN & FOSTER, 1997). O principal alvo celular da UV-B são o DNA e os aminoácidos devido à presença de resíduos aromáticos. Quando essas moléculas são afetadas, numerosas conseqüências biológicas e ecológicas podem ocorrer (KARSTEN *et al*., 2009).

A exposição aos comprimentos de onda curtos (UV-B e UV-C) pode modificar o pareamento normal das bases de DNA pela formação de lesões entre moléculas de pirimidina adjacentes, resultando em dímeros de pirimidina ciclubutano (CPDs) e fotoprodutos pirimidina 6-4 pirimidona (fotoprodutos (6-4)) (Fig. 2) (SANCAR & SANCAR, 1988; STRID *et al.*, 1994; BRITT, 1995; FRIEDBERG *et al*., 1995; FRANKLIN & FORSTER, 1997, PAKKER *et al*., 2000a). Dímeros de TT são os mais comuns dos CPD´s, entretanto, dímeros TC, CT e CC podem também ser verificados. A principal conseqüência desses danos é a incapacidade das enzimas RNA e DNA polimerases em reconhecerem esses dímeros danificados, provocando a interrupção na transcrição de genes e replicação do DNA (BRITT, 1995), e conseqüentemente, promovendo modificações no metabolismo e na divisão celular (BUMA *et al*., 1995, 2000).

A formação de CPDs tem sido verificada nas macroalgas vermelhas *Rhodymenia pseudopalmata* e *Palmaria palmata* submetidas a altas doses biologicamente efetivas de radiação UV-B (3,9 $KJ.m^{-2}$ e 3,2 $KJ.m^{-2}$, respetivamente) (PAKKER *et al*., 2000a, 2000b). Outro trabalho relacionado à formação de lesões no DNA em macroalgas foi o realizado por VAN DE POLL *et al*. (2001). Esses autores verificaram que espécies de zonas mais altas no costão, como *Chondrus crispus* e *P. palmata*, quando expostas a tratamentos de PAR+UV-A+UV-B apresentaram quantidades despresíveis de lesões no DNA e o crescimento não foi afetado. Contrariamente, aquelas espécies que ocorrem no infralitoral, como *Polyneura hiliae*, *Phyllophora pseudoceranoides*, *R. pseudopalmata* e *Phycodrys rubens* apresentaram maior formação de CPDs no tratamento com UV-B, resultando num menor crescimento. A produção de dano no DNA não tem sido relacionada à temperatura e sim com o espectro de radiação incidente (PAKKER *et al*., 2000b; VAN POLL *et al*., 2002, 2003). Esses danos também têm sido reportados em carposporos de *Chondrus crispus* e *Mastocarpus stellatus*, sendo que a indução dessas lesões no DNA foi maior com o aumento da intensidade de UV-B aplicada (ROLEDA *et al*., 2004).

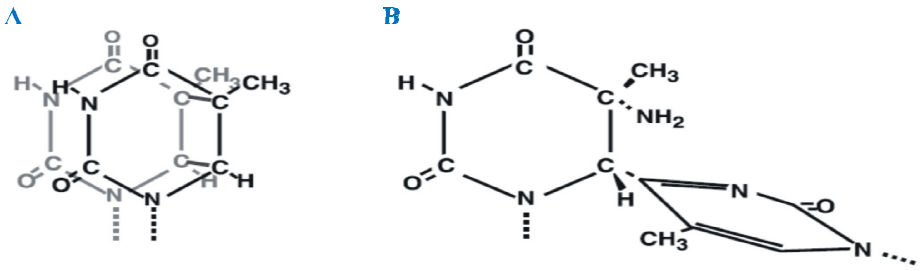


Fig. 2. Danos no DNA ocasionados pela radiação ultravioleta: A, CPD (dímero de pirimidinas ciclobutano ou "cyclobutane pyrimidin dimmers"), representado por uma ligação entre duas timinas, e B, fotoproduto (6-4) ou dímero de pirimidina (6-4) pirimidinona (figura modificada de BRITT, 2004).

As proteínas são outro alvo direto e importante da UV-B em organismos fotossintetizantes, uma vez que são constituídas de aminoácidos, entre eles alguns com resíduos aromáticos que absorvem UV-B (tirosina, fenilalanina e triptófano). Por exemplo, o triptófano e tirosina absorvem radiação UV-B em 305 nm e podem ser fotooxidados levando à quebra da cadeia polipeptídica, mudanças estruturais ou inativação de enzimas (WILSON *et al*., 1995). Como as proteínas ocorrem em numerosas réplicas nas células, o dano produzido pela UV-B é menos severo do que no DNA. Nas células, as proteínas cumprem várias funções específicas como enzimas, hormônios, componentes estruturais, etc. Por essa razão, qualquer mudança na sua estrutura terciária poderia se refletir na perda da vitalidade e viabilidade da célula (KARSTEN *et al*., 2006). As principais proteínas afetadas são aquelas associadas à plasmalema e ao processo da fotossíntese, tais como a proteína D1 do PSII e a enzima Rubisco no ciclo de Calvin (BISCHOF *et al*., 2000, 2002c).

O PSII é um complexo proteína-pigmento que está localizado nas membranas dos tilacóides de organismos fotossintetizantes e catalisa a transferência de elétrons provenientes da água para a plastoquinona a (Qa). O centro do complexo PSII é um heterodímero de dois polipetídeos homólogos, as proteínas D1 e D2 (Fig. 3). A radiação UV-B afetaria o complexo protéico D1/D2 (RICHTER *et al*., 1990), fragmentando principalmente a proteína D1 (VASS, 1997; BISCHOF *et al*., 2006). Essa degradação se explicaria pela presença de cromóforos UV-ativos tanto no lado doador quanto no lado aceptor dessa proteína (BOUCHARD *et al*., 2006). O alvo da UV-B no lado doador seria a tirosina (GREENBERG *et al*., 1989; RENGER *et al*., 1989; BOUCHARD *et al*., 2006), entretanto, no lado aceptor o principal alvo seria a plastoquinona (GREENBERG *et al*.,

1989; MELIS *et al.*, 1992; JANSEN *et al.*, 1994; BOUCHARD *et al.*, 2006). Outro alvo sensível da UV-B seria o complexo de clivagem da água localizado no lado doador (BISCHOF *et al.*, 2006).

Por outro lado, tem se reportado também que a proteína D2 pode ser degradada em presença de radiação UV (GREENBERG *et al.*, 1989; FRANKLIN & FORSTER, 1997). Além disso, tem sido sugerido que a UV-B possa afetar o complexo antena através do desligamento funcional do fotossistema, resultando em um fracasso na transferência de energia ao centro de reação (LORENZ *et al.*, 1997; BISCHOF *et al.*, 2006). A degradação das proteínas D1 e D2 e a inativação do PSII são processos diferentes, provocados por comprimentos de onda distintos. O último processo é acelerado por comprimentos de ondas curtos (UV-C) (JANSEN *et al.*, 1996).

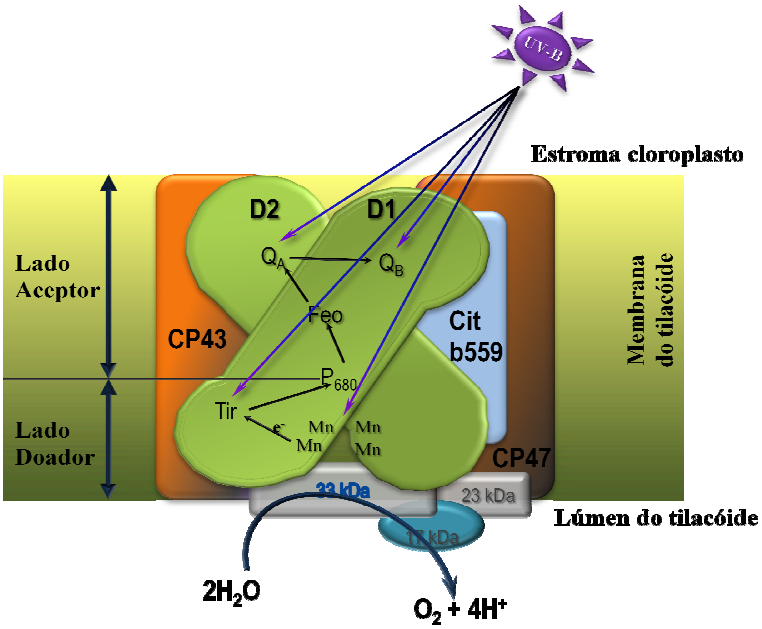


Fig. 3. Esquema da organização do PSII no cloroplasto. As proteínas D1 e D2 formam um heterodímero no centro do PSII. As setas pretas indicam a via de transferência de elétrons. Tirosina (Tir) na proteína D1 transfere elétrons do complexo Mn para a molécula de clorofila chamada $P_{680}$. A $P_{680}$ transfere os elétrons para a feofitina (Feo), a qual os transfere para o aceptor primário (Quinona A: $Q_A$) e logo para o aceptor secundário (Quinona B: $Q_B$) (Modificado de BOUCHARD *et al.*, 2006)

A proteína D1 tem a propriedade de ser substituída mais rapidamente do que qualquer outra proteína do tilacóide ou do cloroplasto (MATTOO *et al.*, 1984). Essa propriedade, a qual é parte de um complexo ciclo de dano e reparo é essencial para manter a função do PSII sob condições de estresse (ARO *et al.*, 1993a,b) (Fig. 4). A

substituição de qualquer proteína danificada pela UV-B através da biossíntese *de novo* contribui para neutralizar os danos ocasionados pela UV (KARSTEN *et al.*, 2009). O mecanismo molecular desse ciclo tem sido estudado nas cianobacterias *Synechocystis* sp. e *Synechococcus* sp. Nesses organismos, a exposição a doses moderadas de UV-B resulta em uma taxa de reposição maior das subunidades D1 e D2 do centro de reação do PS II, substituindo rapidamente proteínas danificadas por polipeptídeos recém sintetizados (CAMPBELL *et al.*, 1998; MÁTÉ *et al.*, 1998).

Um passo fundamental no processo de reparo é a transcrição diferencial de genes que codificam para proteínas do centro de reação do PSII. MÁTÉ *et al.* (1998) reportam que a UV-B induz a transcrição de genes *psbA*, que codificam a proteína D1 do centro de reação do PSII. No entanto, esse mecanismo só pode ser bem sucedido enquanto a exposição à UV-B não induz fortes danos ao DNA, prejudicando assim a expressão do gene. Estudos comparáveis desse mecanismo em macroalgas são insuficientes, porém, as respostas poderiam ser similares (KARSTEN *et al.*, 2009), o que explicaria o aumento da taxa de recuperação em espécies de algas pardas (BISCHOF *et al.*, 2006).

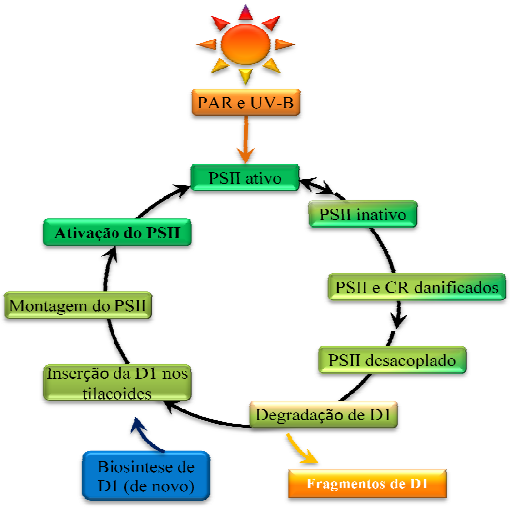


Fig. 4. Esquema do ciclo de reparação do PSII envolvendo a síntese *de novo* da proteína D1 (Modificado de BOUCHARD *et al.*, 2006).

Tanto a degradação quanto a substituição das proteínas danificadas pela UV-B requerem síntese *de novo* de proteínas, e por sua vez, a síntese de proteínas é dependente do ATP. Por essa razão, tem-se sugerido que a presença de luz visível é necessária para permitir a fotossíntese e assim produzir ATP, o que finalmente se traduzirá em síntese de proteínas (SHELLY *et al.*, 2003). Esse processo foi confirmado em um estudo realizado

em *Synechocystis*, mostrando que a taxa de reparo do PSII foi reduzida quando a síntese de ATP foi inibida. Contrariamente, a síntese da proteína D1 foi estimulada pela síntese de ATP. Esses resultados ressaltam a necessidade de considerar todo o espectro solar no momento de analisar os efeitos produzidos pela UV-B em organismos fotossintetizantes. Cabe ressaltar que, a energia resultante da fotossíntese é fundamental também para os demais processos celulares, como a reparação do DNA.

A radiação UV pode afetar ainda enzimas importantes no processo da fotossíntese como a ribulose 1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco) (VU *et al*., 1984; STRID *et al*., 1990; BISCHOF *et al*., 2000, 2002c), a ATP-ase, a violaxantina de-epoxidase (PFUNDEL *et al*., 1992) e gliceraldeido-3-fosfato deidrogenase (G3PDH) (Bischof *et al*., 2000). Dentre essas enzimas, a Rubisco vem sendo reportada como um dos principais alvos da UV-B em plantas vasculares, fitoplâncton e macroalgas (STRID *et al*., 1990; JORDAN *et al*., 1992; NOGUÉS & Baker 1995; LESSER *et al*., 1996ab; ALLEN *et al*., 1997; BISCHOF *et al*., 2000).

Estudos realizados na planta vascular *Pisum sativum* mostraram que a atividade da Rubisco, assim como o conteúdo de subunidade polipetídicas dessa enzima, diminuiu gradativamente de um a três dias de exposição à UV-B (JORDAN *et al*., 1992). Diminuição na atividade da Rubisco e da G3PDH também tem sido verificada nas macroalgas *Phycodrys rubens*, *Laminaria solidungula*, *Monostroma arcticum* e *Alaria esculenta* quando expostas à radiação UV artificial (UV-A +UV-B) por 72 horas (BISCHOF *et al*., 2000). Em *A. esculenta* observou-se ainda a formação de polipeptídeos de alto peso molecular, os quais poderiam ser originados a partir da Rubisco, como previamente descrito em estudos na plantas vascular *Brassica napus* (GREENBERG *et al*., 1996). *Chondrus crispus* exposta à UV apresentou 70% menos Rubisco do que quando cultivada em PAR num experimento com 15 dias de duração (VAN DE POOL, 2003). Todos esses resultados concordam com aqueles obtidos por BISCHOF *et al*. (2002c), no qual a exclusão da radiação UV do espectro solar resultou em um incremento na atividade total e na concentração da Rubisco em *Ulva lactuca.* Por outro lado, uma comunidade de *U. rotundata* mostrou uma perda significativa da Rubisco quando expostas à PAR+UV-A+UV-B, entretanto quando expostas apenas à UV não foi observada a redução dessa enzima. Isso confirmaria que populações naturais somente a combinação de UV-B e PAR elevada poderiam prejudicar a Rubisco e consequentemente a fotossíntese (BISCHOF *et al*., 2002d)

A sensibilidade da Rubisco à UV pode ser explicada da seguinte forma: i) as subunidades da Rubisco poderiam ser degradadas sob radiação UV-B (GREENBERG *et al*., 1996; BISCHOF *et al*., 2000, 2002c); ii) comprimentos de onda efetivos na supressão da expressão de genes que codificam as subunidades da Rubisco poderiam não se expresar por ação de determinados comprimentos de onda (JORDAN *et al*., 1992; MACKERNESS *et al*., 1999). Verificou-se que os níveis de mRNA transcritos para as subunidades pequenas e grande da Rubisco diminuíram drasticamente nas primeiras horas de exposição à UV-B, embora esse efeito nos mRNA transcritos tenha sido uma resposta reversível (JORDAN *et al*., 1992). A redução de mRNA transcriptomas que codificam para a Rubisco é uma etapa muito rápida durante a exposição a UV, mesmo antes que qualquer outro efeito fisiológico da UV-B seja evidente, e poderia assim representar um indicador sensível para a iniciação do estresse induzido pela UV-B (JORDAN *et al*., 1992; MACKERNESS *et al*., 1999). A concentração de Rubisco observada sob UV poderia então ser o resultado do equilíbrio entre a síntese e destruição induzida pela UV, ou mesmo da mudança na expressão de genes (BISCHOF *et al*., 2002c). Porém, ainda não está claro se a exposição à UV causa uma redução temporal ou permanente na atividade da Rubisco. Portanto, as implicações da redução no conteúdo dessa enzima são atualmente difíceis de estimar.

Outras proteínas que podem ser possíveis alvos da radiação UV são aquelas que compõem o citoesqueleto das células de plantas. Dentre essas, a tubulina pode ser particularmente sensível, se apresentar um alto conteúdo de aminoácidos com cadeias aromáticas com forte absorção na banda dessa radiação (ZAREMBA *et al*., 1984; HOLLÓSY, 2002).

## 2.2. Efeitos da UV-B na em pigmentos fotossintetizantes

As algas vermelhas apresentam como pigmentos responsáveis pela absorção da radiação solar a clorofila-*a* (*Cl a*), carotenóides e ficobiliproteínas. Estas últimas são pigmentos-antena capazes de absorver os comprimentos de onda entre 450 a 660nm, que não são eficientemente absorvidos pela clorofila (GANTT, 1990; SINHA *et al*., 1995). As ficobiliproteínas estão organizadas em estruturas denominadas ficobilissomos (GANTT, 1981; ZUBER, 1986). São descritos três tipos de ficobiliproteínas: ficoeritrina (FE), ficocianina (FC) e aloficocianina (AFC). Esses pigmentos têm como função primária absorver energia transferindo-a em seqüência a partir da FE, FC e AFC, para o centro de reação do PSII, onde a *Cl-a* é excitada, possibilitando assim o estabelecimento de um fluxo de elétrons (GANTT, 1981; TALARICO, 1996). A FE apresenta uma importante

função no mecanismo de aclimatação das algas vermelhas à luz, devido a sua localização mais externa nos ficobilissomos e suas características espectrais (TALARICO, 1996).

A degradação dos pigmentos fotossintetizantes é um processo natural reportado para algas (FIGUEROA *et al*., 1997a) e está relacionado à diminuição nas taxas da fotossíntese que ocorre em resposta à radiação solar elevada. Modificações no conteúdo pigmentar podem alterar a transferência de energia que ocorre dos pigmentos acessórios até os centros de reação, dificultando a síntese de carboidrato, essencial para a produção da energia necessária para o crescimento e para ativar os mecanismos de proteção e reparo dos efeitos induzidos pela radiação UV-B. Assim, tem sido sugerido que a concentração de pigmentos é um parâmetro que pode ser utilizado como um importante biomarcador dos efeitos da radiação UV-B (CORDI *et al*., 1997).

A radiação UV danifica os pigmentos e reduz seu conteúdo, possivelmente por duas razões: i) os pigmentos sofrem fotodegradação quando absorvem a energia da radiação UV diretamente, e ii) por efeito indireto de radicais livres de oxigênio (ROLEDA *et al*., 2004a).

Assim como muitos dos efeitos da UV-B sobre alvos moleculares e processos fisiológicos, a sensibilidade dos pigmentos fotossintetizantes à UV-B é espécie-específico (ROLEDA *et al*., 2007). Dessa maneira, é possível encontrar respostas variadas à UV-B dependendo do organismo estudado.

Em diversas espécies de Rhodophyta, têm-se observado que a concentração de pigmentos é alterada com um aumento na radiação UV. A concentração de *Cl a* diminuiu na presença de radiação UV em *Chondrus crispus* (AGUIRRE-VON-WOBESER *et al*., 2000; YAKOVLEVA & TITLYANOV, 2001). Resultados similares foram obtidos em *Palmaria palmata* e *Phycodrys rubens* (BISCHOF *et al*., 2000). Já em *Eucheuma strictum*, a diminuição na concentração de *Cl-a* foi acompanhada de um aumento na concentração de aminoácidos tipo micosporinas (WOOD, 1989), sustâncias relacionadas à proteção contra radiação UV-B (GRÖNIGER *et al*., 2000). Em *Gracilaria edulis*, a exposição por 24 horas à UV-B promoveu uma diminuição do conteudo de *Cl-a* e ficobiliproteínas, em relação ao controle (PAR) (ESWARAN *et al*., 2002). Em *Iridaea cordata* apenas a FE e a FC diminuíram em conseqüência da exposição a altos níveis de UV-B ($0{,}13 W.m^{-2}$ ), enquanto que em baixos níveis de radiação a concentração desses pigmentos não variou (NAVARRO *et al*., 2010c). Nessa espécie, a FE foi o pigmento que sofreu maiores alterações na sua concentração, enquanto que a *Cl-a* não teve suas concentrações alteradas. Houve, por tanto, uma degradação dos pigmentos de forma diferencial, de

acordo com sua distribuição nos ficobilissomos. Esse padrão de destruição de pigmentos está de acordo com o observado em *Porphyra umbilicalis*, na qual, dentre os pigmentos fotossintetizantes, a FE foi primeiramente afetada quando as algas foram expostas à radiação UV, e a *Cl-a* foi mais resistente (AGUILERA *et al.*, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos também em algas azuis (SINHA *et al.*, 1995).

A proporção entre os pigmentos presentes em algas submetidas à radiação UV-B vem sendo analizado visando uma melhor compreção do seu papel. Em *Iridaea cordata* exposta à altas irradiâncias de UV-B (NAVARRO *et al*. 2010c) o aumento da proporção FE/FC foi relacionado a: i) uma maior sensibilidade da FC à radiação UV-B quando comparado a FE, ocorrendo uma inibição na sua síntese e acúmulo, como sugerido para *Kappaphycus alvarezii* (ESWARAN *et al*., 2001); ou ii) a um restabelecimiento nas concentrações de FE de forma mais rápida do que a de FC durante a noite, aumentando a proporção FE/FC, como sugerido para *Ahnfeltiopsis concinna* (BEACH *et al*., 2000). Essas duas possibilidades poderiam estar ocorrendo simultaneamente em *I. cordata*, uma vez que FE e FC sofreram alterações de concentração sob altas irradiâncias de UV-B. Entretanto, no caso de *I. cordata*, como a proporção FE/AFC não foi alterada, o mais provável seria a maior sensibilidade da FC à radiação UV-B do que a FE e a AFC (NAVARRO *et al*., 2010c).

Por outro lado, GÓMEZ *et al*. (2005) mostraram que a concentração dos pigmentos pode variar com a profundidade, o tipo de radiação utilizada e com o tempo de exposição. As concentrações de *Cl a* de *Gracilaria chilensis* cultivada em duas profundidades distintas e em três tratamentos de radiação solar (PAR, PAR+UV-A e PA+UV-A+UV-B) não variou após um dia de cultivo. Já, após três dias nas mesmas condições, um incremento no conteúdo desse pigmento foi observado em amostras da superfície e tratadas com PAB. Em relação às ficobiliproteínas (FE e FC), a concentração das mesmas foi afetada por todos os tratamentos, mas sem uma tendência clara. Máximas concentrações de FE foram observadas após três dias em algas cultivadas na superfície, enquanto que a menor concentração foi observada durante o primeiro dia em algas mantidas mais ao fundo. Em geral, menores concentrações foram observadas quando a radiação UV foi excluída do espectro de radiação solar. Um estímulo à síntese de *Cl-a* e carotenóides em tratamentos contendo radiação UV-B foi também reportado para *Ulva rígida* (ALTAMIRANO *et al*., 2000a). Entretanto, em *U. lactuca* observou-se uma diminuição do conteúdo de clorofila total após 5 horas de exposição à radiação UV-B (DÖHLER *et al*., 1995). Já, no caso de estádios jovens e maduros de *Mastocarpus stellatus*

e *Chondrus crispus*, o tratamento com PAR+UVA+UVB causou aumento no total de carotenóides e não no conteúdo de clorofilas, possivelmente pelo papel fotoprotetor desses pigmentos na dissipação de energia da radiação UV (ROLEDA *et al*., 2004a).

O estímulo à síntese de pigmentos tem sido relacionado ao fotoestimulação do transporte de $NO_3$ e à ativação da enzima nitrato redutase (NR) (LÓPEZ-FIGUEROA & RÜDIGER, 1991). Assim, o controle da síntese de pigmentos estaria intimamente relacionado com o controle do metabolismo de N (RÜDIGER & LÓPEZ-FIGUEROA, 1992; FIGUEROA *et al*., 1995). Neste contexto, BONOMI *et al*. (2011) reportou que os pigmentos de *Gracilaria tenuistipitata* diminuíram durante período experimental principalmente em baixas concentrações de nitrogênio e UV. Entretanto, a incubação sob altas concentrações de nitrato (0,5 mM) atenuaram significativamente o efeito negativo da UV-B no conteúdo pigmentar. A diminuição na concentração de pigmentos poderia estar relacionada à falta de nitrogênio celular disponível para síntese e reposição de aminoácidos e proteínas importantes ao metabolismo. Esse elemento poderia ser obtido a partir de pigmentos como as ficobiliproteínas, que têm sido consideradas como reservas alternativas de nitrogênio (LAPOINTE, 1981). Enzimas responsáveis pela captação desse elemento têm sido apontadas como sensíveis à radiação UV-B (DÖHLER *et al*., 1995), o que prejudicaria indiretamente a síntese e reposição dos pigmentos fotossintetizantes.

A fotodestruição de pigmentos parece ser um processo natural, envolvido na proteção dos sistemas fotossintetizantes em relação a mudanças bruscas de irradiância de curta duração (TALARICO, 1996; FIGUEROA *et al*., 1997a; ROLEDA *et al*., 2004a). FIGUEROA *et al*. (1997a) reportaram que alterações no conteúdo pigmentar ocorrem diariamente, como descrito para *Porphyra leucosticta*, em que a FE e a FC, assim como a *Cl-a*, são danificadas em condições de excesso de radiação solar (PAR+UV-A+UV-B), podendo ser recuperadas no decorrer do dia (FIGUEROA *et al*., 1997a). Esses autores verificaram que as concentrações de FE e FC diminuíram fortemente durante o período de 12:00-13:30 horas, quando os níveis de radiação solar eram elevados, enquanto que no início da manhã e finais de tarde, as concentrações eram maiores.

A FE apresenta uma importante função no mecanismo de aclimatação das algas vermelhas à luz, devido a sua localização mais externa nos ficobilissomos e suas características espectrais (TALARICO, 1996). Observações feitas em *Ahnfeltiopsis concinna* exposta a altos níveis de radiação solar revelaram que, embora a FE seja o pigmento mais degradado, é também o mais rapidamente sintetizado quando comparado

aos demais pigmentos (BEACH *et al*., 2000). Segundo ALGARRA & RÜDIGER (1993), a síntese e a reposição de FE, além da sua capacidade de dissociação, favorece a aclimatação dos ficobilisomos às mudanças de irradiâncias, sugerindo-se uma função fotoprotetora desse pigmento (SINHA *et al.*, 1995), uma vez que as proporções FE/FC e FE/AFC podem ser restabelecidas em curtos períodos de tempo (BEACH *et al*., 2000). As ficobiliproteínas poderiam sofrer ainda um reagrupamento nos tilacóides, como sugerido para *Porphyra umbilicalis* (AGUILERA *et al*., 1999). Nessa espécie, observou-se que, em condições de radiação UV-B, a absorção dos pigmentos diminuiu, porém a concentração não foi alterada. AGUILERA *et al*. (1999) sugerem que essa radiação pode produzir um efeito de "empacotamento" dos pigmentos prejudicando a fotossíntese, porém a concentração de pigmentos não é alterada. Esse empacotamento, causado por alterações no fluxo de energia entre as ficobiliproteínas e a Cl *a*, poderia ser uma maneira de fotoproteção (AGUILERA *et al*., 1999), como já sugerido em cianobactérias (SINHA *et al*., 1995). Alternativamente, uma dissociação dos ficobilissomos de cianobactérias foi relatada prejudicando sua função como pigmentos acessórios (SINHA *et al*., 1995). Esse processo seria causado pela destruição das proteínas de ligação dos componentes do ficobilissomo (SINHA *et al*., 1995). Esse desacoplamento dos pigmentos antena do aparato fotossintetizante pode ser uma estratégia de fotoadaptação para proteger o fotossistema II de danos quando exposto às altas intensidades de PAR e UV (AGUIRRE-VON-WOBESER *et al*., 2000)

Em decorrência dos efeitos moleculares promovidos pela radiação UV-B, muitas conseqüências fisiológicas e biológicas poderiam ocorrer como uma cascata de eventos. Por outro lado, essas conseqüências, assim como os efeitos moleculares podem também ser decorrentes da formação de espécies reativas de oxigênio (do inglês, reactive oxigen species: ROS)

## 2.3. Formação de espécies reativas de oxigênio (ROS)

As ROS são normalmente produzidas em organismos fotossintetizantes em algumas vias metabólicas, incluindo a fotossíntese (ASADA, 1999) e a respiração (DAT *et al*., 2003). As ROS são produzidas diretamente pela excitação de $O_2$ e a conseqüente formação de oxigênio singlete ($O_2(^1\Delta_g)$), ou pela transferência de um, dois ou três elétrons para o $O_2$, resultando na formação de radicais superóxidos ($O_2^{\bullet -}$), peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) e radicais hidroxila ($HO^{\bullet}$), respectivamente (BOWLER *et al.*, 1992;

BAKER & ORLANDI 1995; MITTLER, 2002). Esse processo pode ser estimulado na presença de fatores ambientais estressantes, como altos níveis de radiação UV (MALANGA & PUNTAROLO, 1995; PAPADAKIS & ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2002; LEE & SHIU, 2009), temperatura (ASADA, 1997), dessecação e alta irradiância (CULLEN & DAVISON, 1999a,b; BURRIT *et al*., 2002) e metais pesados (CONTRERAS *et al*., 2005). Além dos processos internos, a formação de ROS induzida pela UV-B pode ocorrer também no ambiente pela fotoativação da matéria orgânica dissolvida, degradação fotoquímica e liberação de elétrons exitados que iniciam a redução do oxigênio molecular, resultando em radicais ânion superóxido (COOPER & ZIKA, 1983). Um segundo passo de redução de radicais superóxido seguido de protonação produz peróxido de hidrogênio, que é um oxidante poderoso devido a sua relativa longa vida que permite a difusão a longas distâncias (KARSTEN *et al*., 2009). Quando a produção de ROS é excessiva e favorece o estado pró-oxidante (desbalanço metabólico), o estresse oxidativo é desencadeado, provocando danos às estruturas celulares (SIES, 1993). Esses danos resultam da capacidade das ROS em reagir e oxidar biomoléculas fundamentais como proteínas, clorofilas, DNA e lipídeos de membranas, podendo alterar funções biológicas e até levar à morte celular (BOWLER *et al*., 1992).

Indução da produção excessiva de ROS e o estresse oxidativo promovido pela UV-B tem sido observado em plantas vasculares, micro e macroalgas (FOYER *et al*., 1994; LESSER, 1996ab; MALANGA *et al*., 1997; HE *et al*., 2002; RIJSTENBIL, 2002; GERHARDT *et al*., 2005; SHIU & LEE, 2005; LEE & SHIU, 2009). Como exemplo, LEE & SHIU (2009) reportaram que a UV-B promoveu altos níveis de peroxidação lipídica e produção de $H_2O_2$ em *Ptercladiella capillacea* e *Gelidium amansii*. Verificou-se que o estresse oxidativo foi maior em *G. amansii* do que *P. capillacea* uma vez que a primeira ocorre no médiolitoral inferior e a segunda ocorre no médiolitoral superior.

Em plantas vasculares, as ROS parecem desempenhar um papel importante na sinalização de vias de transdução de sinal, como respostas à exposição UV-B (MACKERNESS *et al*., 1999; GERHARDT *et al*., 2005). GERHARDT *et al*. (2005) utilizaram duas abordagens para pesquisar a possível participação das ROS nas respostas morfologicas e de aclimatação à UV-B em *Brassica napus*. Os antioxidantes ascorbato e cisteina foram usados para testar se podem afetar a resposta morfológica (curvamento da planta). Por outro lado, o efeito do $H_2O_2$ foi usado para testar se as ROS podem promover uma resposta morfológica similar. A aplicação de ascorcato ao tecido de *B. napus* diminuiu a resposta morfológica (curvamento), enquanto que a cisteina impediu essa

resposta. Assim, a adição de antioxidante diminui a magnitude da resposta e é possível que as ROS estejam envolvidas nessa resposta. Contrariamente, a aplicação de $H_2O_2$ resultou na indução do curvamento na ausência de UV-B. Assim, $H_2O_2$ pode ser um dos mensageiros secundários na transdução do sinal da UV-B, ou pode ser convertido em ROS que desencadeia respostas para UV-B. Embora, elevados níveis de $H_2O_2$ são freqüentemente observados em plantas expostas à UV-B, o papel exato do $H_2O_2$ como um mensageiro secundário nas respostas mediadas pela UV-B é atualmente desconhecida (MACKERNESS *et al*., 2001; DESIKAN *et al*., 2001). Por outro lado, demonstrou-se que a transcrição induzida pela UV-B de alguns genes de *Arabidopsis thaliana* envolve ROS gerados a partir de múltiplas fontes celulares, e que as ROS são vias precoces de sinalização de uma variedade de respostas à UV-B (MACKERNESS *et al*., 2001).

## 2.4. Mecanismos de defesa: fotoproteção e reparação

Diferentemente das algas bentônicas, as microalgas podem evitar a radiação UV-B por migração e movimento vertical, o que representa uma das estratégias de prevenção mais eficaz (WULFF *et al*., 2008). Entretanto, a coluna d'água pode ter un efeito protetor às macroalgas que crescem a determinadas profundidades, contrariamente ao que ocorrem na zona entremarés, que estão sujeitas a altos níveis de UV-B (KARSTEN *et al*., 2001). Nesses locais, algumas algas podem evitar o excesso de radiação formando densos tufos, como no caso de *Ulva*, *Acrosiphonia*, *Chaetomorpha* ou *Urospora*. As porções dos talos localizados externamente ficam expostas à radiação elevada, enquanto que as porções internas ficam permanentemente em condições de baixa radiação ou até mesmo permanecer no escuro (BISCHOF *et al*., 2002d, 2006; ROLEDA *et al*., 2009). Algumas macroalgas podem crescer sob a proteção de outras espécies ou até mesmo sob a proteção de adultos da sua espécie, promovendo uma atenuação dos efeitos da radiação UV-B (NAVARRO *et al*., 2008). Outras algas podem crescer sob a proteção de grandes algas pardas (ZAMORANO & WESTERMEIER, 1996), evitando assim a exposição a altos níveis de UV-B.

Outros fatores como a estrutura do talo, densidade celular, espessura da parede celular e densidade de cloroplastos podem atenuar os efeitos da UV-B em algas marinhas. O aumento da espessura do talo poderia minimizar os danos no DNA promovidos pela UV-B, uma vez que as camadas externas de células podem filtrar essa radiação impediendo que atinja porções mais internas (FRANKLIN & FORSTER, 1997; ROLEDA *et al*., 2007). Em diatomáceas da Antártica, a diferença no tamanho das células explicaria

em grande parte a variabilidade na acumulação de CPDs e os efeitos da UV na sobrevivência (KARENTZ *et al*., 1991b).

As algas e as plantas vasculares desenvolveram várias estratégias de defesa contra os danos induzidos pela UV-B, dentre essas incluem-se: i) a fotorreparação do DNA mediado pela PAR e UV (MITCHELL & KARENTZ, 1993; PAKKER *et al*., 2000a,b); ii) o acúmulo de antioxidantes e a ativação de enzimas antioxidantes (COCKELL & KOWLAND, 1999); iii) o acúmulo de compostos fotoprotetores, como os aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) em algas vermelhas (KARSTEN *et al.*, 1998ab; KORBEE-PEINADO *et al.*, 2004; KORBEE *et al.*, 2005a,b), os compostos fenólicos em algas pardas (PAVIA *et al.*, 1997; CONNAN *et al.*, 2004; ABDALA-DÍAZ *et al.*, 2006) e em *Ulva pertusa* (HAN & HAN, 2005), e as trihidroxicumarinas na alga verde *Dasycladus vermicularis* (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2001).

## 2.5. Reparação do DNA

Continuamente, enzimas reparadoras do DNA atuam no genoma reconhecendo lesões (HÄDER & SINHA, 2005). Uma vez encontrada uma lesão, uma eficiente reparação do DNA é iniciada, a qual em muitos casos leva a restauração da informação genética (CARELL & EPPLE, 1998). Os danos no DNA podem ser reparados por enzimas fotossensíveis, entre elas as fotoliases. Essas enzimas são talvez um dos mais simples e antigos sistemas de reparação do DNA (HÄDER & SINHA, 2005). Têm sido reportadas em muitos organismos terrestres e aquáticos desde bactérias até vertebrados (BRITT, 1995; SINHA & HÄDER 2002; HÄDER & SINHA, 2005; RASTOGI *et al*., 2010). São consideradas antigas proteínas de reparação, e possívelmente tiveram papel importante na evolução dos primeiros organismos da Terra (CARELL & EPPLE, 1998).

As fotoliases se ligam aos CPDs (CPD-fotoliase) ou 6-4 Fotoproduto (6-4-fotoliase) e revertem os dímeros à forma monomérica normal na presença de radiação UV-A e PAR (luz azul e branca), processo conhecido como fotoreativação (KIM & SCANDAR, 1993; TODO *et al*., 1993; CHEN *et al*., 1994; STRID *et al*., 1994; BRITT, 1995; VAN DE POLL *et al*., 2002; HÄDER &SINHA, 2005). As CPD-fotoliases têm sido reportadas em diversos grupos, tais como archaea, bactérias, fungos, vírus, plantas, invertebrados e vertebrados (SINHA & HÄDER, 2002; RASTOGI *et al*., 2010). Por outro lado, 6-4 fotoliases foram identificadas apenas em *Drosophila* (TODO *et al*., 1993), *Arabidopsis thaliana* (PANG & HAYS, 1991) e no bicho-da-seda *Xenopus laevis* (TODO *et al*., 1997). O mecanismo de fotorreativação da 6-4 fotoliase e CPD-fotoliase poderia ser similar, uma

vez que ambas possuem o cofator flavina adenina dinucleotídeo (FAD) (CARELL *et al*., 2001). Esse mecanismo implicaria na transferência de elétrons a partir da FAD reduzida para o substrato, para proceder ao reparo do dímero (ZHAO *et al*., 1997).

Os trabalhos sobre fotorreativação dos dímeros de pirimidina em algas marinhas são recentes. CPDs detectados em *Rhodymenia pseudopalmata* e *Palmaria palmata* foram rápidamente reparados em presença de PAR e UV-A (PAKKER *et al*., 2000a,b). Verificou-se que esse reparo pode ocorrer no escuro, como observado em *P. palmata* (PAKKER *et al*., 2000b), mas não em *R. pseudopalmata* (PAKKER *et al*., 2000a). Adicionalmente, demonstrou-se que o processo de fotorreativação é dependente da temperatura em *P. palmata* (PAKKER *et al*., 2000b). Esse fato torna-se importante, uma vez que a temperatura atua no crescimento e na sobrevivência das algas, tendo papel fundamental em processos enzimáticos (PAKKER *et al*., 2000 a,b). Os 6-4 fotoprodutos detectados em *P. palmata* foram também reparados em presença de PAR e UV-A e o ótimo de eficiência ocorreu temperatura distinta da observada para o reparo de CPDs (PAKKER *et al*., 2000b). Esses autores sugerem a presença de dois processos de reparo independentes nessa espécie**.**

A baixa presença de dímeros de pirimidina em *Palmaria palmata* e *Chondrus crispus* quando expostas à PAR+UV-A+UV-B por 15 dias fez com que VAN DE POLL *et al*. (2001) sugerissem a presença de enzimas fotoliases. Por outro lado, à ausência de reparo no DNA de *Odonthalia dentata*, *Coccotylus truncatus* e *Monostroma arcticum* poderia indicar a ausência de fotoliases (VAN DE POLL *et al*., 2002).

Outro processo de reparo independente da presença de luz é a excisão de nucleotídeos danificados e a substituição deles por um novo fragmento (MITCHELL & KARENTZ, 1993; KARENTZ, 1994; BRITT, 1995). Esse processo foi demonstrado em microalgas (KARENTZ *et al*., 1991b; BUMA *et al*., 1995) e plantas vasculares (PANG & HAYS, 1991; QUAITE *et al*., 1994). O DNA danificado pode também ser reparado após a replicação, considerando como base a informação contida na fita não danificada (ROY, 2000).

Além da temperatura e da luz desempenharem papel importante nos processos relacionados ao reparo do DNA, a disponibilidade de nutrientes pode influenciar a expressão de genes ligados às vias de reparo, como a excisão de nucleotídeos (VAN DE POLL *et al*., 2002).

## 2.6. Sistema Antioxidante (neutralizadores de ROS)

Dois sistemas complexos de defesa antioxidante contra as ROS em organismos fotosintetizantes têm sido reportados: enzimáticos e não enzimáticos. Dentre esses últimos, estão sistemas que incluem a presença de ácido ascórbico (AA), α-tocoferol, carotenóides (β-caroteno, peridinina, astaxantina e zeaxantina), glutationa reduzida (GSH) e poliaminas ou flavonóides (BUCHANAN *et al*., 2000; PINTO *et al*., 2003).

Glutatina e AA são agentes redutores que combatem as ROS, e podem também absorver diretamente a UV-B, uma vez que sua absorção máxima é na região UV (200-300 nm), protegendo diretamente a célula (XUE *et al*., 2005). A concentração de AA e glutationa sofreram um aumento como resultado da exposição de *Dunaliella salina* a UV-B, conferindo uma maior proteção ao estresse oxidativo (EL-BAKY *et al*., 2004). Similarmente, o conteúdo de glutationa em *Thalassiosira pseudonana* aumentou em resposta à UV-B (RIJSTENBIL, 2002). Compostos como AA, α-tocoferol e β-caroteno são antioxidantes bem reconhecidos em algas marinhas (DUMMERMUTH *et al*., 2003).

Os carotenóides podem desempenhar a função de fotoprotetores pela dissipação do excesso de energia (HAVAUX & NIYOGI, 1999) e como antioxidantes (EDGE *et al*., 1997). Esses compostos podem prevenir a formação de espécies reativas do oxigênio no cloroplasto através da extinção de moléculas de clorofila em estado triplete e de oxigênio singlete (YOUNG, 1991). Em *Dunaliella bardawil* o acúmulo de β-caroteno impediu danos fotossintetizantes relacionados à UV através da absorção da luz azul e UV-A (WHITE *et al*., 2002). Por outro lado, sugere-se que o aumento da zeaxantina na presença do ciclo das xantofilas contribui para a proteção contra a UV e prevenção de danos promovidos por essa radiação (GÖTZ *et al*., 2002). Além dessa atividade, os carotenóides podem ainda inibir a entrada de substâncias oxidativas e íons metálicos nas células, e dessa forma, retardar o processo de peroxidação lipídica (WISNIEWSKA & SUBCYNSKI, 1998), como observado para a peridinina (BARROS *et al*., 2001). Esses autores também verificaram forte atividade antioxidante de astaxantina em lipossomos marcados com $Fe^{2+}$.

Os carotenóides podem ser acumulados em grandes quantidades (10% do peso seco) em microalgas do gênero *Dunaliella* como resposta a situações de estresse, tais como alta intensidade de luz, alta concentração de sal e limitação de nutrientes (BEN-AMOTZ & AVRON 1988; BAR *et al*., 1995; EL-BAZ *et al*., 2002). Grandes quantidades de carotenóides, principalmente de β-caroteno, astaxantina e zeanxantina, poderiam ser

usadas para eliminar ou reduzir ROS (RISE *et al.*, 1994; EL-BAZ *et al.*, 2002). Nesse contexto, cultivos de *D. salina* expostos à radiação UV-B apresentaram um aumento significativo no conteúdo de carotenóides principalmente, astaxantina e criptoxantina quando comparado a um cultivo sem UV-B (EL-BAKY *et al.*, 2004). Astaxantina e zeaxantina têm sido apontadas como as mais eficáz na proteção contra a UV-B em alguns organismos, impedindo o processo de peroxidação muito mais do que o β-caroteno (GÖTZ *et al.*, 1999).

Em macroalgas, também tem sido observado um incremento de carotenóides em resposta a radiação UV-B (LEE & SHIU, 2009). Esses autores sugerem que os carotenóides estão envolvidos na proteção contra a radiação UV-B em *Ptercladiella capillacea*, uma vez que sua concentração aumentou quando essa alga foi exposta a 1,5–3,0 $Wm^{-2}$ de UV-B. Contrariamente, em *Gelidium amansii*, não houve acúmulo de carotenóides quando exposta à 0,5–3,0 $Wm^{-2}$ de UV-B. Essa diferença foi atribuída à posição dessas espécies no costão: a primeira ocorre no infralitoral inferior e a segunda no infralitoral superior. Por outro lado, espécies coexistindo num mesmo ambiente podem apresentar diferenças na sensibilidade ao estresse oxidativo promovido pela UV-B (CHOO *et al.*, 2005). Esses autores reportaram que *Cladophora glomerata* investiu mais em carotenóides frente a uma situação de estresse (UV-B), incluindo uma alta proporção entre carotenóides/clorofila e um ciclo violaxantina xantofila funcional. Contrariamente, *Ulva procera* foi mais sensível à UV-B, apresentando uma baixa proporção entre carotenóides/clorofila e nessa espécie não foi observado o ciclo das xantofilas.

O sistema antioxidante enzimático em organismos fotossintetizantes é constituído pelas enzimas superoxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatione peroxidase (GPX) e enzimas envolvidas no ciclo Ascorbato-Glutationa, tais como ascorbato peroxidase (APX), mono-dehidroascorbato reductase (MDHAR), dehidroascorbato reductase (DHAR) e glutatione reductase (GR), além da violaxantina de-epoxidase (VdEP) (AGUILERA *et al.*, 2002; DUMMERMUTH *et al.*, 2003; KARSTEN *et al.*, 2009).

A SOD é a primeira linha de enzimas de detoxificação que converte o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em uma ROS menos tóxica, o $H_2O_2$. Três tipos de SOD têm sido reportadas em algas, de acordo com suas isoformas, ligadas a diferentes metais: MnSOD, CuZnSOD e FeSOD. Essa última é considerada a principal removedora de ânions superóxido no cloroplasto (ALSHER *et al.*, 2002; PINTO *et al.*, 2003). Embora o $H_2O_2$ seja menos tóxico, seu acúmulo poderia danificar alguns componentes celulares. A remoção desse composto é feita pelos ciclos de ascorbato-glutationa e de glutationa peroxidasa e

ainda pela atividade da CAT. A APX degrada o $H_2O_2$ pela oxidação do acido ascórbico (AA) e o AA oxidado, tal como a DHA, é reduzido para regenerar o AA pela DHAR usando GSH como doador de elétrons (ASADA, 1999). A GSH oxidada (GSSG) é reduzida para GSH pela GR utilizando o poder redutor do NADPH (PINTO *et al.*, 2003; BLOKHINA *et al.*, 2003) (Fig. 5). A CAT é responsável também pela remoção do $H_2O_2$ (WILLEKENS *et al.*, 1997).

Sugere-se que o ciclo de ascorbato-glutationa seja o principal sistema de remoção de ROS, uma vez que esse ciclo está presente em muitos compartimentos celulares, e que a enzima APX tem uma alta afinidade por $H_2O_2$. A APX seria responsável pela fina modulação dessas substâncias, enquanto que a CAT seria responsável pela remoção do excesso de espécies reativas de oxigênio durante o estresse (MITTLER, 2002).

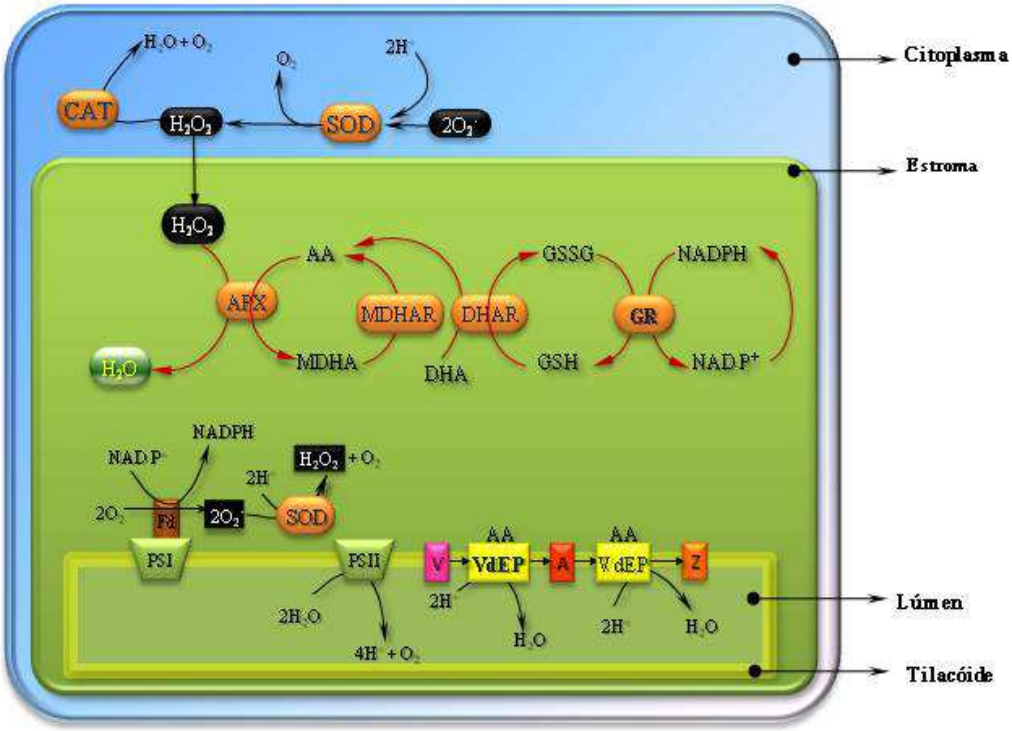


Fig. 5. Esquema simplificado do sistema antioxidante enzimático de um organismo fotossintetizante. O ciclo do ascorbato-glutationa está indicado com setas vermelhas. As ROS encontram-se identificadas em preto. SOD, superóxido dismutase; AA, ácido ascóbico; APX, ascorbato peroxidase; MDHA, monodehidroascorbato; MDHAR, monodehidroascorbato redutase; DHA, dehidroascorbato; DHAR, dehidroascorbato redutase; GSSG, glutationa oxidada; GSH, glutationa reduzida; GR, glutationa redutase; PSI, fotossistema I; Fd, ferrodoxina; PSII, fotossistema II; V, violaxantina; A, anteraxantina; Z, zeaxantina; VdEP, violaxantina de-epoxidase (Modificado de BONOMI, 2010).

Alguns estudos envolvendo os sistemas enzimáticos contra as ROS promovidos pela exposição à UV-B tem sido realizados em algas. A atividade enzimática antioxidante em algas expostas à UV-B pode depender da espécie e do seu local de ocorrência. Espécies do médiolitoral (superior e inferior) mostraram uma alta atividade enzimática antioxidante quando comparada com espécies do infralitoral (AGUILERA *et al*., 2002). Diferenças na atividade enzimática antioxidante entre *Gelidium amansii* (infralitoral inferior) e *Ptercladiella capillacea* (infralitoral superior) foram também observadas quando expostas a UV-B (LEE & SHIU, 2009). Assim, as algas expostas freqüentemente a fatores de estresse podem apresentar e manter um sistema bioquímico mais eficaz de defesa. Manter uma alta atividade enzimática de proteção durante todo o ano poderia ser energeticamente costoso. Assim, espécies que não estão permanentemente expostas a condições estressantes, por exemplo, em águas mais profundas, pode favorecer a ativação e síntese de sistemas de proteção para responder ao estresse abiótico só apenas quando necesario (KARSTEN *et al*., 1999; BISCHOF *et al*., 2006). Nesse contexto, COLLEN & DAVISON (1999 a,b) postularam que a tolerância diferencial ao estresse associado à distribuição vertical de diferentes espécies de *Fucus* está relacionada ao status antioxidante de cada uma das especies, baseada principalmente em diferenças espécie-específica de atividades de enzimas antioxidantes.

Algas verdes parecem ter maiores atividades de enzimas antioxidantes e maior conteúdo de ácido ascórbico do que algas vermelhas ou pardas (AGUILERA *et al*., 2002). Além disso, a atividade da GR foi estimulada pela UV-B artificial na alga verde *Monostroma arcticum* e nas algas vermelhas *Coccotylus truncatus* e *Phycodrys rubens* após 84 horas de exposição contínua à UV. A atividade da GR foi ainda maior quando a exposição à UV foi seguida de incubação no escuro por 24 h, indicando uma maior taxa de eliminação de radicais de oxigênio nessas condições. *Devaleraea ramentacea*, *Palmaria palmata* e *Acrosiphonia penicilliformis* não mostraram efeito significativo da UV sobre as atividades de APX, CAT e SOD após 8 dias de cultura em condições de laboratório. No entanto, uma redução significativa em atividades de GR e SOD foram observadas em *A. penicilliformis* quando a radiação UV solar foi eliminada, indicando um menor estresse oxidativo na ausência de radiação UV (AGUILERA *et al*., 2002).

A atividade enzimática antioxidante em algas expostas à UV-B também pode depender do tempo de exposição e da dose. RIJSTENBIL (2002) mostrou que *Thalassiosira pseudonana* exposta à UV-B por 4 horas apresentou aumento na atividade das enzimas SOD e GR, enquanto que a atividade da APX não foi estimulada. Entretanto, uma

exposição à UV mais prolongada induziram a atividade da APX e também da SOD em outras microalgas (LESSER, 1996a, b; MALANGA & PUNTARULO, 1997). Por outro lado, em *Dunaliella salina* cultivada sob UV-B por 15 dias, a atividade da SOD não aumentou, enquanto que houve um aumento na atividade da CAT e da peroxidase (EL-BAKY *et al.*, 2004). No caso de *Chlorella vulgaris*, a atividade da SOD diminuiu quando exposta prolongadamente à UV-B (MALANGA & PUNTARULO, 1995). Já em algumas macroalgas estudadas a SOD não foi induzida, sendo até diminuída em alguns casos durante a exposição a UV-A+UV-B por 84 horas (AGUILERA *et al.*, 2002). Contrariamente, SHIU & LEE (2005) reportaram um aumento da atividade da SOD em *Ulva fasciata* em resposta a quatro dias de exposição à UV-B. Esses autores reportaram também que o sistema antioxidante em *Ulva fasciata*, incluindo o ciclo ascorbato-glutationa, funcionaram bem sob doses de UV-B moderadas e baixas. Já sob altas doses de UV-B, os sistemas de defesa foram insuficientes, uma vez que houve um aumento na produção de ROS ($H_2O_2$ e $O_2^-$) (SHIU & LEE, 2005). Posteriormente, LEE & SHIU (2009) observaram um controle do estresse oxidativo por meio de APX e GR em *Ptercladiella capillacea*, uma alga mais tolerante à radiação UV-B. Por outro lado, *Gelidium amansii*, sensível a essa radiação, teve redução na atividade de GR, indicando que o ciclo ascorbato-glutationa pode ter sido inibido por UV-B. Esses autores concluem que *G. amansii* tem uma menor habilidade de dissipar radicais livres de oxigênio do que *P. capillacea*, uma vez que *G. amansii* teve menos capacidade de remover $H_2O_2$ por meio da atividade da APX (LEE & SHIU, 2009).

## 2.7. Compostos fotoprotetores

Um dos mais importantes mecanismos de aclimatação e proteção contra a radiação UV envolve a síntese e acúmulo de compostos fotoprotetores. Esses compostos são a primeira linha de defesa bioquímica contra a radiação UV-B e seus efeitos, uma vez que absorvem comprimentos de onda na faixa da UV-B e UV-A, inclusive na faixa da UV-C.

A síntese e o acúmulo de substâncias fotoprotetoras decorrentes da exposição de organismos fotossintetizantes à radiação UV têm sido amplamente relatados tanto em plantas vasculares quanto em algas (CALDWELL *et al.*, 1983; JANSEN *et al.*, 1996; FRANKLIN & FOSTER, 1997; SINHA *et al.*, 1998; GRÖNIGER *et al.*, 2000; HOLLÓSY, 2002; HOYER *et al.*, 2002). Essas atuam de forma eficiente na filtração desse tipo de radiação, impedindo que certas estruturas sejam afetadas (KARENTZ *et al.*, 1991a; SINHA *et al.*, 1998). Neste contexto, a síntese de compostos fenólicos (flavonóides) e derivados dos

fenilpropanóides, localizados na epiderme de plantas vasculares, foram reconhecidos e propostos como um mecanismo adaptativo para prevenir danos produzidos pela radiação UV, uma vez que são capazes de absorver os comprimentos de onda entre 220-380nm (HARBORNE, 1986; MIDDLETON & TERAMURA, 1993, 1994; CUADRA & HARBORNE, 1996). Uma função similar foi outorgada a compostos denominados de aminoácidos do tipo micosporinas (MAAs), os quais foram isolados em macroalgas, fitoplâncton e cianobactérias (KARENTZ *et al*., 1991a; GARCÍA-PICHEL *et al*., 1993; SINHA *et al*.,1998; GRÖNIGER *et al*., 2000; HOYER *et al*., 2001), e ainda em animais marinhos (DUNLAP & SHICK, 1998).

Dentro das macroalgas, os MAAs estão presentes principalmente em rodófitas, enquanto que as algas pardas e verdes carecem delas, com exceção da alga verde *Prasiola crispa* que apresenta um único MAAs com absorção em 324 nm (HOYER *et al*., 2001; KARSTEN *et al*., 2005). Em cianobactérias, foi isolada a citonemina, um pigmento amarelo que tem uma forte absorção na faixa da radiação UV-C. A presença desse pigmento parece ter sido relevante para a sobrevivência e a evolução dos organismos fotossintetizantes no Pré-Cambriano, quando altos níveis de radiação UV-C atingiam a superfície da Terra (DILLON & CASTENHOLZ, 1999).

Os MAAs são relacionados ao metabolismo secundário, e sabe-se que sua síntese ocorre via ácido chiquímico (FAVRE-BONVIN *et al*., 1987). Como a rota desse ácido não esta presente em animais, esses compostos são presumivelmente adquiridos pela dieta, ou por algas endossimbióticas (SHICK & DUNLAP, 2002). Essa visão poderia mudar, uma vez que recentemente reportou-se genes que codificam para enzimas da via do ácido chiquímico no animal marinho *Nematostella vectensis* (STARCEVIC *et al*., 2008). Entretanto, a aquisição e o acúmulo de MAAs em animais através da dieta a partir de algas confirmaram-se experimentalmente em ouriços (CARROLL & SHICK, 1996), crustáceos (HELBLING *et al*., 2002) e peixes (MASON *et al*., 1998).

Os MAAs funcionam como blindagem passiva, dissipando a energia da radiação absorvida na forma de calor, sem gerar reações fotoquímicas (BANDARANAYAKE, 1998; CONDE *et al*., 2000; KORBEE *et al*., 2005a). Os MAAs têm sido relatados como moléculas fotoquimicamente estáveis, um pré-requisito para a sua função fotoprotetora (CONDE *et al*., 2000). Esses compostos são capazes de absorver os comprimentos de onda entre 310 e 360 nm (KARENTZ *et al*., 1991a; COCKELL & KNOWLAND, 1999; SHICK & DUNLAP, 2002), impedindo que outras estruturas sejam afetadas (KARENTZ *et al*., 1991a; SINHA *et al*., 1998).

Em organismos aquáticos têm sido descritos 23 MAAs [micosporina-glicina, asterina-330, shinorina, porphyra-334, palitina, palitinol, palitene, micosporina-taurina, micosporina-2-glicina, ácido palitenico, micosporina-glicina-valina, micosporina-glicina-treonina, micosporina-glicina-serina e micosporina-glicina-Asp] (as referencias para cada um desses compostos estão em KORBEE *et al*., 2006).

Existe uma marcada variação na presença de MAA entre as espécies. Espécies de zonas temperadas expostas a altas doses de radiação solar apresentam maior concentração de MAAs do que aquelas de altas latitudes e de maior profundidade (HOYER *et al*., 2001; KORBEE *et al*., 2006). Nesse sentido, algas sujeitas à constantes variações nos níveis de radiação UV (no médiolitoral) teriam altas concentrações de MAAs. Algas do infralitoral inferior, que não são constantemente atingidas por UV, não acumulariam esses compostos, devido ao elevado custo metabólico (BISCHOF *et al*., 2006). Por outro lado, a alta concentração de MAAs poderia conferir vantagens ecológicas a determinadas algas na ocupação de ambientes (BISCHOF *et al*., 2000; LEE & SHIU, 2009).

Em macroalgas vermelhas, diferenças no conteúdo de MAAs podem também ser encontradas em diferentes porções dos talos, sendo que maiores concentrações têm sido verificadas nas margens e nos ápices quando comparados às porções basais, as quais estão bem protegidas pela sua maior espessura (KARSTEN *et al*. 1999; HOYER *et al*., 2001). Outro fator que pode afetar o conteúdo de MAAs é a sazonalidade e a variação diária de radiação (POST & LARKUM, 1993; KARSTEN *et al*., 1999). *Mazzaella laminarioides* coletadas no sul do Chile apresentaram variações diárias no conteúdo de MAAs, sendo que a maior concentração foi reportada ao meio dia (10:30 e 14:30 horas) e a menor as 18:45 horas (HUOVINEN *et al*., 2004). Esses resultados poderiam evidenciar um possível ritmo circadiano na síntese de MAAs, o qual já foi verificado na cianobacteria *Anabaena* sp. (SINHA *et al*., 2001). Um ciclo diário na acumulação de MAAs foi verificado apenas em uma (*Ceramium* sp.) de cinco espécies estudas na patagônia Argentina em (HELBLING *et al*., 2004). Um ciclo distinto, com maior concentração ao início do dia e diminuindo até o final da tarde foi verificado em *Porphyra columbina* coletada em Valdivia-Chile (39° latitude sul) (HUOVINEN *et al*., 2004) e Playa Unión-Argentina (43°latitude sul) (HELBLING *et al*., 2004). Outras espécies estudadas na América do sul não apresentaram tendências claras no acúmulo de MAAs durante o dia (HELBLING *et al*., 2004).

A sintese de MAAs é realizada durante o período de luz, enquanto que a concentração desses compostos pode permanecer quase constante durante o período

escuro (SINHA *et al*., 2001; HELBLING *et al*., 2004). Essa informação acrescida ao fato de que a rota do ácido chiquímico está associada funcionalmente à fotossíntese (BENTLEY, 1990), poderia evidenciar uma relação entre a síntese de MAAs e a fotossíntese (CARRETO *et al*., 1990; GLYNN *et al*., 1993; LESSER *et al*., 1994). De fato, os resultados obtidos a partir do uso de um inibidor do transporte de eletrôns da fotossíntese (DCMU) confirmaram o bloqueio na síntese de MAAs em *Alexandrium excavatum* (CARRETO *et al*.,1990). No entanto, evidências de que a fotossíntese não é essencial para a síntese de MAA vêm do fato de que a síntese desses compostos em *Chondrus crispus*, ocorreu em ausência da PAR (KARSTEN *et al*., 1998a). Síntese de MAAs em ausência de PAR foi também observada na cianobacteria *Chlorogloeopsis* PCC 6912 sob estresse osmótico e radiação UV (PORTWICH & GARCIA-PICHEL, 2000). Outra evidência é que os MAAs podem ser sintetizados por fungos e uma bactéria não fotossintetizante (KLISCH & HÄDER, 2008). Por outro lado, a regulação da síntese poderia ser influenciada por fatores ambientais como altas irradiâncas de PAR e UV (MOISAN & MITCHELL, 2001; FRANKLIN *et al*., 2001) ou por processos morfogenéticos (KORBEE-PEINADO *et al*., 2004; KORBEE *et al*., 2005a,b).

As macroalgas antárticas foram clasificadas em três grupos fisiologicamente diferentes de acordo com seu conteúdo de MAAs: i) espécies que não possuem MAAs; ii) espécies com valores altos e constantes de MAAs independente das condições ambientais; e iii) espécies que possuem um nível básico de MAAs, o qual pode ser ajustável em relação a mudanças nas condições ambientais (HOYER *et al*., 2001). Nesse último grupo, a síntese de MAAs poderia ser influenciada pela radiação UV (UV-A e/ou UV-B) (FRANKLIN *et al*., 2001; SHICK *et al*., 1999) e também pela pela luz azul (FRANKLIN *et al*. 2001; HOYER *et al*., 2002; KORBEE *et al*., 2005b). HOYER *et al*., (2001) demonstrou também que o conteúdo de MAAs de gametófitos e tetrasporófitos de *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata* expostas a UV-B são similares, evidenciando que não há variação intraespecífica no acúmulo de MAAs.

Enquanto algumas algas sintetizam MAAs particularmente sob radiação UV-B, outras o fazem em presença UV-A ou até de PAR (HOYER *et al*., 2003). Em algumas cianobacterias a PAR e a UV-A não promoveram a indução de MAAs, enquanto que a UV-B induziu a síntese de shinorina (SINHA *et al*., 2001). Similarmente, a síntese de MAAs foi induzida pela UV-B em *Ptercladiella capillacea*, mas não em *Gelidium amansii* (LEE & SHIU, 2009). Em *Iridaea cordata*, a exposição ao tratamento PAR+UV-A+UV-B promoveu um aumento na concentração de MAAs (ZACHER *et al*., 2007).

KARSTEN *et al*. (1998a) verificou que enquanto alguns MAAs aumentaram em quantidade após exposição à PAR, a síntese de shinorina foi fortemente estimulada por UV sem adição de PAR em *Chondrus crispus* (KARSTEN *et al*., 1998a). Nessa mesma espécie foi reportado que a PAR estimulou inicialmente a síntese de shinorina, seguida de palitina e asterina, e posteriormente uma diminuição de shinorina (FRANKLIN *et al*., 1999). Um aumento na incidência de PAR promoveu também um aumento no total de MAAs em *Phaeocystis antártica* (MOISAN & MITCHELL, 2001). Posteriormente, FRANKLIN *et al*. (2001) reportou que a síntese de palitina em *C. crispus* foi induzida pela luz azul, enquanto que a síntese de shinorina foi estimulada pela radiação UV-A, mas não em luz azul. Em *C. crispus* demonstrou-se também que a radiação UV-A estimulou a síntese de shinorina e palitina, e a radiação UV-B inibiu a síntese desses dois compostos e induziu a síntese de outros três MAAs: asterina, palitinol e paliteno (KRÄBS *et al*., 2002). Em *Porphyra leucosticta*, foi verificado que a luz azul e branca favoreceram o acúmulo de alguns MAAs, como palitina e asterina, enquanto que outros comprimentos de radiação monocromática estimularam o acúmulo de shinorina (KORBEE *et al*., 2005b). Isso sugere que a síntese de cada tipo de MAAs poderia ser estimulada por diferentes comprimentos de onda (HOYER *et al*., 2002). A dependência dos comprimentos de onda na síntese de compostos fotoprotetores tinha já sido reportada para microalgas. CARRETO *et al*. (1990) observou que a luz azul promoveu um aumento na concentração de compostos fotoprotetores em *Alexandrium excavatum*. Contrariamente a luz branca não teve o mesmo efeito. Por outro lado, RIEGGER & ROBINSON (1997) reportaram que a síntese de MAAs em diatomáceas antárticas foi estimulada por comprimentos de onda de 370 e 460 nm, mas não em UV-B. Já na primnesiofita *Phaeocystis antarctica*, a síntese foi estimulada por 340 nm e inibida por 305 nm (RIEGGER & ROBINSON, 1997).

A concentração de MAAs pode também variar com a intensidade da UV-B. Um acúmulo de MAAs foi observado em *Ptercladiella capilacea* exposta a intensidades crescentes de UV-B (0,5-1,0 $Wm^{-2}$), enquanto que a concentração de MAAs diminuiu quando exposta à 1,5-3,0 $Wm^{-2}$. Em contrapartida a essas doses elevadas, observou-se um aumento de carotenóides, indicando que essas substâncias podem ter um papel na fotoproteção quando os MAAs não estão presentes (LEE & SHIU, 2009).

Recentemente, determinou-se que além da qualidade e quantidade de energia, a disponibilidade de compostos nitrogenados na água influencia a síntese e acúmulo de MAAs (KORBEE-PEINADO *et al*., 2004, 2005; HUOVINEN *et al*., 2006; FIGUEROA *et al*., 2008). Altas concentrações de amônio promoveram a síntese de MAAs em duas espécies

de *Porphyra* (KORBEE-PEINADO *et al*., 2004; KORBEE *et al*., 2005a). HUOVINEN *et al*. (2006) mostrou que a adição de 100 e 300 µM de amônio não resultou em um aumento na concentração de porphyra-334 após um, três e 10 dias de exposição aos tratamentos PAR e PAR+UVR em *Grateloupia lanceola*. A micosporina-glicina aumentou em comparação ao nível inicial quando a alga foi suprida com 300 µM no décimo dia de cultivo, independente da radiação. Já no caso da palitina, sua concentração só aumentou no tratamento com 100 µM, após um dia de cultivo sob PAR+UVR. Os autores sugerem que nenhum padrão claro de indução de MAAs em relação à irradiância e concentração de amônio foi observado. Em *Asparagopsis armata* cultivada em tanques com incrementos de amônio na água verificou-se um aumento no conteúdo de MAAs (FIGUEROA *et al*., 2008). Foi observado ainda que a porcentagem de palitina aumentou, a medida que aumentou o fluxo de amônio, enquanto que a porcentagem de shinorina diminuiu ligeiramente. Entretanto, valores de fluxo maiores de 100 mM/h promoveram uma diminuição na concentração de MAA. Em *G. tenuistipitata*, cultivada em 10 tratamentos com acréscimo de nitrato e sob PAR+UVR durante 7 dias, houve um acúmulo de MAAs a medida que aumentou a concentração de nitrato (BONOMI *et al*., 2011). Esses autores identificaram dois MAAs (shinorina e porphyra-334), sendo que a primeira sofreu um aumento quando em altas concentrações de nitrato, enquanto que a segunda diminuiu. Eles observaram ainda que esse acúmulo era saturado em 0,5 mM de nitrato.

O fato de que os MAAs dependam da concentração de compostos nitrogenados tem levado alguns autores a sugerir que esses compostos podem funcionar também como um reservatório de N (KORBEE-PEINADO *et al*., 2004; KORBEE *et al*., 2005a, 2006; DE LA COBA *et al*., 2009). Embora sejam compostos nitrogenados, há escassa informação sobre o efeito da disponibilidade de nitrogênio em sua síntese e acúmulo (BANASZAK & NEALE, 2001; LITCHMAN *et al*., 2002; KORBEE *et al*., 2005a).

Além de atuar como compostos filtradores ou bloqueadores de UV, os MAAs podem atuar como antioxidantes (DUNLAP & YAMAMOTO, 1995; SUH *et al*., 2003; DE LA COBA *et al*., 2009), disipando ainda a energia de resíduos de timina excitadas, e prevenindo a formação de fotoprodutos (MISONOU *et al*., 2003). Porém, não há evidência para a importância deste mecanismo *in vivo* (KLISCH & HÄDER, 2008). Os MAAs têm sido apontados também como pigmentos acessórios, transferindo energia radiante para os centros de reação da fotossíntese, embora esse tema seja ainda controverso.

Os florotaninos são metabolitos secundários que têm sido apontados também como fotoprotetores contra a radiação UV (SWANSON & DRUEHL, 2002). Essa função está baseada na absorção na faixa dessa radiação UV (200 e 400 nm), sendo os picos máximos de absorção entre 195 e 270 nm (PAVIA *et al*., 1997; AMSLER & FAIRHEAD, 2005; KARSTEN, 2008). Esses compostos têm sido reportados exclusivamente em algas pardas (KARSTEN, 2008), ocorrendo dentro de vesículas conhecidas como fisoides (SCHOENWAELDER & CLAYTON, 1998, 2000). Embora as células mais superficiais sejam danificadas pela alta irradiância solar, os florotaninos podem ser liberados, formando uma camada marrom que pode proteger os tecidos fotossintetizantes (Karsten, 2008). Os florotaninos podem ainda ser liberados na coluna de água. SWANSON & DRUEHL (2002) sugerem que os florotanimos liberados na água durante um período de estresse induzido pela UV-A reduz o impacto da radiação UV-B em meiósporos de algas pardas sensíveis a UV-B, pois esses esporos germinam a centímetros das plantas adultas (KENDRICK & WALKER, 1991).

Os florotaninos, assim como os MAAs, têm sido relacionados com a distribuição batimetrica de algas pardas (BISCHOF *et al*., 2006). Zoósporos de algas pardas de águas rasas são menos sensíveis a UV tendo a capacidade ainda de se recuperar do estresse induzido por essa radiação, do que os zoósporos de algas de águas mais profundas (WIENCKE *et al*., 2004). Diferenças na tolerância à UV entre zigotos de espécies do médiolitoral e do infraliroral superior foram relacionadas ao número de fisoides, sendo que um menor número promoveu uma maior sensibilidade (SCHOENWAELDER *et al*., 2003).

A indução e acúmulo de florotaninos em algas pardas é um tema ainda em aberto devido aos resultados contraditórios na literatura (KARSTEN *et al*., 2009). A exposição à UV-A e UV-B aumentou a concentração de florotaninos em frondes de *Macrocystis integrifolia* (SWANSON & DRUELH, 2002). Zoósporos de *Alaria esculenta*, *Saccorhiza dermatodea* e *Laminaria digitata* tratados com UV-B apresentaram um aumento no tamanho dos fisoides assim como exudação de florotaninos na água (WIENCKE *et al*. 2004, 2007; ROLEDA *et al*. 2006). Entretanto, esses resultados não foram confirmados pela análise ultraestrutural de zoósporos de *L. hyperborea* expostos à UV-B (STEINHOFF *et al*., 2008). Nenhum incremento na concentração de florotaninos foram verificados em esporófitos de *Desmarestia anceps* e *D. menziesii* (FAIRHEAD *et al*., 2006), nem em uma suspensão de zoósporos de *A. esculenta*, *L. digitata* e *S. latissima* quando cultivados em UV-B (MÜLLER *et al*., 2009).

Além de atuar como fotoprotetores, os florotaninos têm a capacidade de neutralizar eficientemente as ROS, funcionando assim como um antioxidante. Por essa razão, os florotaninos têm sido propostos como protetores contra o excesso de irradiância, principalmente UV, filtrando essa radiação e neutralizando ROS promovidas pela UV-B (BISCHOF *et al*., 2006).

## 2.8. Efeitos indiretos: processos fisiológicos afetados pela UV-B

Decorrente dos efeitos moleculares (ou efeitos diretos), muitos processos fisiológicos podem ser afetados pela presença e/ou aumento da radiação UV (principalmente UV-B). Entre esses vários processos, a fotossíntese é potencialmente o alvo principal, não só em algas, mas também em plantas vasculares, devido aos múltiplos efeitos possíveis (SCHREIBER *et al*., 1994; KARSTEN *et al*., 2001).

Cabe ressaltar que a inibição da fotossíntese pode ocorrer diariamente durante as horas com maior radiação, apresentando uma rápida recuperação a medida que a radiação solar começa a diminuir (FIGUEROA *et al*., 1997a; BISCHOF *et al*., 2002d). Esse fenômeno (chamado fotoinibição dinâmica) tem sido considerado como parte de um mecanismo fotoprotetor contra o excesso de radiação, interrompendo a cadeia transportadora de elétrons e resultando apenas em uma perda na funcionalidade do centro de reação do PSII, sem necessariamente implicar em redução na concentração da proteína D1. Quando há um excesso de energia persistente ao longo do tempo pode ocorrer fotoinibição crônica. Nesse caso, a recuperação é mais demorada, uma vez que esse fenômeno está relacionado a fotodanos nos centros de reação e subseqüente proteólise da proteína D1 (CRITCHLEY & RUSELL, 1994). O fotodano ocorre quando a taxa de degradação da D1 excede a taxa de reparação (ARO *et al*., 1993b). A recuperação dos danos nas proteínas e pigmentos pode requerer várias horas ou até dias (HANELT *et al*., 1992). Assim, a diferença entre fotoinibição crônica e dinâmica é a cinética da recuperação (OSMOND, 1994; OSMOND & GRACE, 1995). Esses tipos de respostas têm sido verificados em plantas de sol que apresentaram fotoinibição dinâmica, enquanto que plantas de sombra apresentam fotoinibição crônica, quando transplantadas para locais de alta irradiância (HÄDER & FIGUEROA, 1997).

A potencialidade da radiação UV para inibir a fotossíntese foi demonstrada por JONES & KOK (1966) em cloroplastos de espinafre. Resultados posteriores indicaram que um aumento nos níveis da UV solar pode causar efeitos similares, comparáveis àqueles promovidos pela PAR nos organismos aquáticos, embora os mecanismos atuantes sejam

diferentes (LARKUM & WOOD, 1993). Na natureza, altas irradiâncias de PAR são acompanhadas por altos níveis de UV, mas a UV não pode ser considerada como sendo uma entrada excessiva de energia para a fotossíntese em um sentido estrito. A máxima irradiância de UV é muito menor à irradiância de PAR, e os comprimentos de onda da UV não contribuem substancialmente para a química da fotossíntese (HANELT *et al*., 2003). Isso ressalta a necessidade do uso de ferramentas para descrever a eficiência relativa de todos os comprimentos de onda na fotossíntese e o fotodano, separando as respostas decorrentes da UV daquelas induzidas pela PAR. O uso de espectros de ação, particularmente para as funções biológicas ponderadas, é essencial para determinar os efeitos do acréscimo da UV-B no contexto de um espectro natural (FRANKLIN *et al*., 2003). O espetro de ação para a fotoinibição dentro da faixa da PAR é paralelo ao espetro de ação da fotossíntese (HANELT *et al*., 1992) e está diretamente relacionado a absorção da radiação excessiva por parte dos pigmentos fotossintetizantes (HANELT & ROLEDA, 2004). Contrariamente, o espetro de ação para a fotoinibição na faixa da UV-B corresponde mais com a absorção espectral do DNA e as proteínas do que com os pigmentos fotossintetizantes (JONES & KOK, 1966; SETLOW, 1974). Assim, a diminuição da atividade fotossintetizante após exposição à UV-B poderia resultar do dano direto em componentes chaves desse processo como a proteína D1 (VASS, 1997; BISCHOF *et al*., 2006) ou a Rubisco (BISCHOF *et al*., 2000). Poderia resultar ainda da redução na expressão de genes envolvidos na fotossíntese (MACKERNESS *et al*., 1999), assim como também da fotodestruição de pigmentos (FIGUEROA *et al*., 2003c)

O efeito da radiação UV-B na fotossíntese de algas tem sido avaliado com experimentos de exposição à essa radiação e subseqüente recuperação em condições não estressantes (baixa PAR). A fotossíntese tem sido avaliada pela: fluorescência da clorofila *a*, a liberação de oxigênio e a assimilação de $CO_2$. A relação entre a liberação de $O_2$ e a fluorescência da Cl *a* tem sido demonstrada, validando esse método para estimar a fotossíntese (GENTY *et al*., 1989; FLAMELING & KROMKAMP, 1998; FIGUEROA *et al*., 2003a). Os parâmetros de fluorescência, como a produtividade quântica optima (Fv/Fm), representam a eficiência fotossintetizante máxima, podendo ser utilizados como indicadores de fotoinibição. Por outro lado, a taxa de transporte de elétrons (ETR, do inglês: “electron transport rate”) pode ser relacionada à fotossíntese bruta (como liberação de $O_2$), como demonstrado para *Porphyra leucosticta* e duas espécies de *Ulva* em condições de baixa irradiância (FIGUEROA *et al*., 2003b).

Os resultados de trabalhos realizados em macro e microalgas indicam que a sensibilidade da fotossíntese à UV-B é variável. A fotoinibição decorrente da radiação UV, foi estimada em 50% (HELBLING *et al*., 1992) e 70% (SMITH *et al*., 1980) para o fitoplâncton marinho exposto a radiação. Em *Chondrus crispus*, demonstrou-se que a presença de comprimentos de onda inferiores a 390 nm amplificou a fotoinibição, e seus valores chegaram em 60% de inibição (SAGERT *et al*., 1997). Veridicou-se também uma correlação da fotoinibição com a distribuição vertical, sendo que indivíduos de *C. crispus* coletados a 8,5 metros de profundidade foram mais sensíveis (maior fotoinibição) que indivíduos coletados a 3,5 metros. Similar relação entre fotoinibição e profundidade foi observada por DRING *et al*. (1996b) em diferentes espécies de algas vermelhas, porém sem uma correlação exata entre esses dois parâmetros. Assim, espécies do médiolitoral, adaptadas a altas irradiâncias e a presença da radiação UV, seriam menos sensíveis do que as espécies de maior profundidade. Resultados obtidos por VIÑEGLA & FIGUEROA (2009) corroboraram esta afirmação. Esses autores reportaram que *Fucus spiralis* que ocorre no médiolitoral aumentou as taxas de fotossíntese bruta após 24 horas de exposição em todos os tratamentos testados (PAR+UV-A+UV-B, PAR+UV-A, e só PAR), por outro lado, *Ulva olivascens* mostrou o padrão contrário, com diminuição da taxa de fotossíntese em todos os tratamentos testados, mas sendo essa diminuição menos acentuada no tratamento com PAR+UV-A+UV-B do que no tratamento PAR, como demonstrado previamente para *U. rotundata* (BISCHOF *et al*., 2002d). *U. rotundata* exposta à PAR+UV-A+UV-B mostrarou pronunciada fotoinibição, a qual foi reversível quando a radiação solar diminuiu durante a tarde. Entretanto nos talos expostos só a PAR houve uma maior fotoinibição do que naqueles expostos à PAR+UV-A+UV-B, mas com similar capacidade de recuperação. Já a exclusão da UV-B (tratamento PAR+UV-A) e o tratamento sem PAR (UV-A+UV-B) não promoveram diminuição na Fv/Fm, evidenciando um efeito adverso da UV-B na fotossíntese, enquanto que a UV-A indicaria um efeito benéfico em condições ambientais. Resultados benéficos da UV-A foram observados em *Dasycladus vermicularis* (GÓMEZ *et al*., 1998). Nesse experimento talos expostos a PAR+UV-A apresentaram inibição menos pronunciada e rápida recuperação do que amostras expostas a tratamentos de PAR e PAR+UV-A+UV-B, sendo que nesses últimos tratamentos a ininibição foi similar. Contrariamente, DRING *et al*. (1996a,b) reportaram que a radiação UV-A foi a responsável pela fotoinibição observada nas diferentes espécies por eles estudadas.

No campo, as características fotossintetizantes de 18 espécies de macroalgas do sul do Chile foram estudadas por GÓMEZ *et al*. (2004). Esses autores observaram que *in situ* as algas do médiolitoral superior são mais fotoinibidas ao meio dia do que as do médiolitoral inferior e infralitoral. Embora os dados pareçam contraditórios aos apresentados anteriormente, obedecem ao padrão de distribuição vertical das espécies, uma vez que as algas do médiolitoral inferior e infralitoral estão protegidas pela coluna de água recebendo menos radiação do que as do médiolitoral superior, que ficam expostas a altas irradiâncias e a dessecação em períodos de maré baixa. As algas adaptadas a altas irradiâncias poderiam ser mais adequadas para lidar não apenas com altas irradiâncias, mas também com alta temperatura, salinidade e dessecação (DAVISON & PEARSON, 1996). GÓMEZ *et al*. (2004) reportaram também que a presença de radiação UV ao meio dia não resultou em alta fotoinibição. Esses autores observaram ainda que as algas apresentaram recuperação durante a tarde, evidenciando fotoinibição dinâmica, concluindo assim que as espécies por eles estudadas no centro-sul do Chile tem uma marcada tolerância à UV e estão adaptadas as variações de radiação diária. Um outro estudo realizado com algas coletadas no estreito de Magallanes no Chile revelou que as taxas de fotoinibição e recuperação não foram correlacionadas com sua distribuição no costão (RAUTENBERGER *et al*., 2009). Algas tratadas com PAR+UV-A+UV-B artificial apresentaram maior fotoinibição do que aquelas tratadas com PAR+UV-A, mas com similar capacidade de recuperação nos dois tratamentos. Esses autores concluíram que a fotossíntese não foi afetada pela UV-B, mas foi aclimatada, e que a fotoinibição não esteve relacionada com os grupos funcionais, confirmando a conclusão de GÓMEZ *et al*. (2004) para espécies do sul do Chile.

Embora tenha se observado que a radiação UV, principalmente a UV-B, pode prejudicar a fotossíntese, inibindo-a, estudos recentes têm demonstrado que a ausência da UV-B pode ser até prejudicial no período de recuperação em espécies adaptadas a altas irradiâncias. Verificou-se que a recuperação do aparato fotossintetizante inibido da macroalga *Dictyota dichotoma* foi claramente diminuída quando a UV-B foi removida do espectro de radiação solar (FLORES–MOYA *et al*., 1999). Resultados similares foram obtidos para algas tropicais (HANELT & ROLEDA, 2009). Observo-se que a UV causa uma diminuição na fotossíntese durante o estresse com alta irradiância, mas quando a radiação solar era reduzida a 50%, foi observada a recuperação da fotossíntese. Entretanto, algumas espécies de águas rasas, adaptadas a alta incidência de UV apresentaram menos recuperação em tratamentos em que UV-B solar foi atenuada (HANELT & ROLEDA, 2009).

Esses resultados indicam que a UV-B pode também facilitar ou induzir o processo de recuperação em algas aclimatadas a alta radiação solar verificada na região entremarés.

Experimentos sobre a dinâmica da fotossíntese no longo prazo têm mostrado respostas diferentes das verificadas no curto prazo. Em experimentos realizados com espécies de *Ulva*, observou-se que no curto prazo a UV-B promoveu a fotoinibição da fotossíntese e o crescimento, mas quando o tempo de exposição foi aumentado, não só a fotoinibição foi reduzida, mas também aumentou a fotossíntese e o crescimento (ALTAMIRANO *et al*., 2000a,b; FIGUEROA *et al*., 2003b). Resposta similar foi observada em *Alaria esculenta*, verificando-se que o aparato fotossintetizante foi menos danificado com o tempo, depois de repetidas exposições à radiação UV e se recuperou completamente (BISCHOF *et al*., 1999). Parcial e completa aclimatação foi observada em plântulas de *Laminaria ochroleuca* (ROLEDA *et al*., 2004b) e *Mastocarpus stellatus* (ROLEDA *et al*., 2004a) quando expostas à UV-A e UV-B durante 28 e 10 dias, respectivamente. Contrariamente, BISCHOF *et al*. (2000) reportou que em *Chondrus crispus* o efeito da UV se acumulou ao longo do tempo, uma vez que no quinto dia de tratamento, o efeito de UV-B em reduzir o rendimento quântico foi muito maior do que no início do tratamento, sugerindo um efeito crônico no fotossistema (BISCHOF *et al*., 2000). Resultados similares foram reportados por FIGUEROA *et al*. (2003b) em duas espécies de *Ulva*. Esses autores observaram que após seis horas de exposição a diferentes tratamentos (alta e baixa PAR combinada com UV-A e UV-A+UV-B) as duas espécies foram fotoinibidas, sendo que a combinação alta PAR e a presença de UV-B promoveram maior fotoinibição. Verificaram também que a fotoinibição sob baixa PAR em presença de UV foi menor do que sob alta PAR. Além disso, cinco dias de exposição à PAR+UV-A prejudicaram fortemente a fotossíntese (80%). Tais parâmetros foram correlacionados com um progressivo decréscimo dos pigmentos, especialmente clorofilas. Esses resultados apontam para a necessidade de estudos comparando os efeitos no curto e longo prazo, uma vez que a aclimatação poderia ocorrer.

BONOMI (2010) aponta a necessidade de trabalhos em macroalgas testando as doses de radiação UV acumuladas ao longo do tempo em comparação com a intensidade (efeito de reciprocidade). CULLEN & LESSER (1991) mostraram que a fotoinibição de *Thalassiosira pseudonana*, em função da exposição à radiação UV, foi claramente dependente da escala de tempo. Uma exposição em curto prazo com altas intensidades causou maior dano à fotossíntese dessa diatomácea do que uma exposição em longo prazo com intensidades menores. Entretanto, RECH *et al*. (2005) verificaram a

aclimatação em longo prazo à UV em espécies de diatomáceas. Eles expuseram as algas a de 110 $kJ.m^{-2}$ de dose de UV, com uma mesma proporção entre UVA e UVB. As respostas variaram de acordo com a espécie, e a fotossíntese das diatomáceas foi pouco afetada pela radiação UV. Os autores consideram que a duração da exposição dos organismos à radiação UV é o fator principal para afetar o crescimento das mesmas, e que doses similares diárias podem causar diferentes respostas (RECH *et al.*, 2005), confirmando que os efeitos da radiação UV tanto dependem dos valores instantâneos aplicados quanto das doses totais diárias.

## 2.9. Efeitos da UV-B e no metabolismo de carbono e nitrogênio

O nitrogênio é necessário para a constituição de substâncias fundamentais para as células dos organismos, tais como aminoácidos, ácidos nucleicos, açúcares e aminas (LOBBAN & HARRISON, 1994). As macroalgas podem captar nitrogênio na forma inorgânica ($NO_3^-$ e $NH_4^+$) e orgânica (ureia) para logo ser estocado ou então assimilado por meio da conversão interna de $NO_3^-$ a $NO_2^-$, com a atuação da enzima nitrato redutase (NR), e posteriormente, de $NO_2^-$ a $NH_4^+$, com a atuação da enzima nitrito redutase (NiR). O $NH_4^+$ é assimilado a glutamato e posteriormente convertido a outros aminoácidos e compostos nitrogenados (LOBBAN & HARRISON, 1994).

A NR e a anidrase carbônica (AC) são enzimas chaves no metabolismo fotossintétizante das algas. A AC catalisa a desidratação reversível de $HCO_3$ para $CO_2$. A entrada desses compostos para o interior das células se dá por troca iônica ou por difusão direta. Isso pode ser realizado externamente à célula por meio da enzima AC externa (na superfície da célula), ou internamente (AC associada ao cloroplasto), concentrando o C para a sua fixação durante o ciclo de Calvin (MORONEY *et al*. 2001). Nem todas as algas apresentam mecanismos de concentração de carbono (JOHNSTON *et al.*, 1992) e, por outro lado, nem sempre os mecanismos de concentração de carbono requerem de AC para o transporte de bicarbonato, como no caso de algumas diatomáceas C-4 (REINFELDER *et al.*, 2000).

As atividades das enzimas AC e NR em macroalgas têm mostrado ciclos diários e ritmos diurnos dependentes da luz em macroalgas (GAO *et al.*, 1992; FIGUEROA & VIÑEGLA, 2001; LOPES *et al.*, 2002). Essas enzimas podem ser reguladas por outros fatores ambientais, tais como: disponibilidade de nutrientes e temperatura (THOMAS & HARRISON, 1985; THOMAS *et al.*, 1987; CORZO & NIELL, 1994), resultando em mudanças

sazonais (DAVISON *et al*., 1984; VIÑEGLA & FIGUEROA *et al*., 2009). Recentemente, demonstrou-se também que a radiação ultravioleta pode afetar a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo fotossintetizante das algas (FLORES-MOYA *et al*., 1998; GÓMEZ *et al*., 1998; FIGUEROA & VIÑEGLA, 2001; VIÑEGLA *et al*., 2006; VIÑEGLA & FIGUEROA, 2009).

O efeito inibitório da UV-B na incorporação de nitrogênio inorgânico em algas é bem conhecido (DÖHLER *et al*., 1995; SINHA *et al*., 1995; DÖHLER, 1996), no entanto, outros estudos não tem reportado efeito nenhum dessa radiação no acúmulo de nitrogênio ou amônio ($NH_4^+$) (BRAUNE & DÖHLER, 1996). Por outro lado, também tem sido reportado um efeito positivo na incorporação de nitrogênio pelo aumento da atividade de NR, após exposição à UV-B (KUMAR *et al*., 1996). A radiação UV poderia inibir também outras vias metabólicas como sugerido por BEARDALL *et al*. (2002), como assimilação de carbono pela UV-B. Entretanto, os mecanismos de concentração de $CO_2$ não parecem ser afetados.

A captação de amônio foi reduzida em *Fucus vesiculosus* e *Ulva lactuca* em presença de radiação UV, enquanto que a captação de $NO_3$ foi menos afetada nessas espécies e em *Laminaria saccharina* (DÖHLER *et al*., 1995). O impacto negativo da UV-B na captação de $NH_4^+$ nas espécies estudadas estaria associada a um possível dano da radiação UV-B sobre o fotossistema II, reduzindo o suprimento de energia e esqueletos de carbono para a síntese de aminoácidos (DÖHLER *et al*., 1995). Esses autores concluem ainda que o efeito da radiação UV na captação de nitrogênio inorgânico não segue um padrão definido, mas que essa resposta é espécie-específica. Essa especificidade na atividade da NR foi também reportada por HUOVINEN *et al*. (2007), em 25 espécies de macroalgas do sul do Chile quando expostas à radiação UV artificial. Contrariamente, a atividade da NR em algas coletadas no campo mostrou um padrão definido, sendo maior em algas vermelhas e mostrando uma tendência à diminuição dessa atividade em algas do médiolitoral para aquelas que habitam no infralitoral. Os autores reportaram ainda diferenças entre grupos morfofuncionais distintos (HUOVINEN *et al*., 2007).

VIÑEGLA *et al*. (2006) mostraram que a UV-A promoveu um aumentou da fotossíntese e estimulou a atividade da AC e a da NR em *Fucus spiralis*, enquanto que a PAR teve um efeito inibitório nessa espécie durante um ciclo diário. Entretanto, em *Ulva olivascens* observou-se fotoinibição crônica (redução da fotossíntese máxima e na eficiência da fotossíntese) em todos os tratamentos, e nenhum efeito estimulador foi observado nessa espécie. Os autores sugerem que as diferenças observadas em ambas as

espécies poderiam estar relacionadas com o local de ocorrência de cada uma delas e com a sensibilidade à UV de cada espécie. Por outro lado, diferentes respostas para a AC sugerem que essas espécies podem ter diferentes mecanismos de incorporação de C, como sugerido também por VIÑEGLA & FIGUEROA (2009) para *F. spiralis* e *U. olivascens*. Em *U. olivascens*, freqüentemente submersa, a incorporação poderia somente depender da quantidade de $HCO_3$ dissolvido, enquanto que para *F. spiralis* a fonte de C em períodos de dessecação poderia ser o $CO_2$ atmosférico. Já, a atividade da NR mostrou um padrão de variação comum em ambas espécies, e os mecanismos de incorporação de N poderiam ser similares.

Estudando a atividade da AC durante um ciclo diário sob radiação solar, VIÑEGLA & FIGUEROA (2009) observaram que essa atividade em *Fucus spiralis* foi menor ao meio dia aumentando no final da tarde em tratamentos com e sem radiação UV. Entretanto em *Ulva olivascens*, o maior aumento foi observado em algas expostas a UV-B as 15:30 horas. Um aumento menos pronunciado foi também observado em PAR+UV-A nesse horário. Ao final do dia a atividade de AC aumentou em algas expostas a PAR. Um ciclo diário de redução e recuperação da atividade da NR foi observado em *Plocamium cartilagineum*, quando tratada com PAR+UVA+UVB (FIGUEROA & VIÑEGLA, 2001). Esse ciclo foi atrasado quando a radiação UV-B foi suprimida, e um pico de atividade de AC foi observado no final do ciclo diário. O aumento de atividade de AC estimulado por radiação UV estaria relacionado ao aumento da síntese de esqueletos de carbono para prover a produção de compostos fotoprotetores (FIGUEROA & VIÑEGLA, 2001). A radiação UV atuaria como sinal ambiental para controlar os ciclos de assimilação de C e N. Entretanto, outros artigos não mostram efeitos claros de UV nas actividades de NR e AC (GÓMEZ *et al*., 1998).

Os efeitos da UV na maquinaria enzimática envolvida no transporte e captação de nutrientes, os quais são essenciais para a formação de biomassa, poderia inevitavelmente promover um déficit de esqueletos de carbono e nitrogênio. Essa alteração poderia diminuir conseqüentemente a fotossíntese e finalmente o crescimento, além de diminuir a capacidade de aclimatação e síntese de compostos contendo nitrogênio como a proteína D1 e substâncias fotoprotetoras como os MAAs.

### 2.10. Efeitos ultraestructurais da UV-B

Embora os efeitos da radiação UV-B na fisiologia de algas estejam relativamente bem documentados, a influência dessa radiação na ultraestrutura não tem sido abordada

com freqüência. A exposição à UV-B tem causado alterações ultraestruturais em microalgas (MEINDL & Lütz, 1996) e macroalgas (POPPE *et al*., 2002, 2003; HOLZINGER *et al*., 2004, 2006; AYRES, 2009; SCHMIDT *et al*., 2009; NAVARRO *et al*., 2010a). Esses estudos têm demonstrado a existência de vários alvos suscetíveis à radiação UV, sendo as membranas lipídicas às principais estruturas afetadas.

As estruturas que freqüentemente são alteradas são os cloroplastos e mitocôndrias, enquanto que o núcleo, complexo de Golgi e o retículo endoplásmico (RE), em geral, não são afetados (POPPE *et al*., 2002, 2003; HOLZINGER *et al*., 2006). A estrutura das endomembranas é sensível à UV-B, já que essa radiação pode promover a síntese de ROS e esses compostos quebram os lipídeos e macromoleculas constituintes das mesmas (MURPHY, 1983; KRAMER *et al*., 1991; BOWLER *et al*., 1992). As ROS são altamente instáveis e podem reagir com qualquer composto ou estrutura, provocando danos (SIES, 1993). Muitos lipídeos são vulneráveis e facilmente peroxidados pela ação desses radicais nos cloroplastos, causando a perda de estabilidade das membranas (KRAMER *et al*., 1991; JANSEN, *et al*., 1998). Nas espécies fitoplanctônicas, como as diatomáceas *Chaetoceros simplex* e *Odontella weissflogii* e a haptófita *Phaeocystis antarctica*, a composição e o conteúdo de lipídeos foram alterados quando esses organismos foram expostos à radiação UV-B (SKERRATT *et al*., 1998). Dentre esses lipídeos, o monogalactosildiacilglicerol, principal constituinte dos cloroplastos, é um dos principais alvos da radiação UV-B (PREDIERI *et al*., 1995).

As alterações na estrutura celular dependem do tipo de radiação (qualidade espectral), intensidade da radiação e do tempo de exposição. POPPE *et al*. (2002, 2003) avaliaram os efeitos da radiação UV (UVA+UVB) em componentes celulares de *Palmaria decipiens*, *P. palmata*, *Phycodrys austrogeorgina* e *Bangia atropurpurea* em diferentes tempos de exposição. Esses autores observaram a vesiculação dos tilacoides nos cloroplastos das quatro espécies. Além disso, houve alteração nas cristas mitocondriais. Em *P. austrogeorgica*, observou-se também que os ficobilissomos se desprenderam dos tilacoides após 12 horas de UV (POPPE *et al*., 2003). Posteriormente, HOLZINGER *et al*. (2004) estudando os efeitos da UV na ultraestrutura de *P. palmata* e *Odonthalia dentata* mostraram que, além da inibição da eficiência da fotossíntese do PSII, houve mudanças no arranjo das membranas dos tilacoides em *P. palmata*. Adicionalmente, pequenas vesículas acumularam-se na membrana plasmática como conseqüência da UV. Entretanto, as mitocôndrias foram danificadas ocasionalmente. Em *Odonthalia dentata*, tipicamente ocorrendo no infralitoral (15 metros de profundidade)

alterações similares nos tilacóides foram observados sob tratamentos com UV (HOLZINGER *et al*., 2004).

Na alga verde *Prasiola crispa* coletada no médiolitoral superior, a exposição por 6 horas à radiação UV não promoveu alterações significativas na ultraestrutura, enquanto que após 24 horas de exposição causaram leves alterações em mitocôndrias e cloroplastos, evidentes como leve dilatação dos tilacóides e uma aparente redução do número de plastoglóbulos. O número de glóbulos citoplasmáticos incrementou consideravelmente. Embora seu conteúdo permaneça desconhecido, seu incremento com a exposição prolongada à UV sugere que eles estejam envolvidos na proteção contra essa radiação (HOLZINGER *et al*., 2006). Corpos eletrodensos foram também observados em *Urospora penicilliformis* em presença de radiação UV (ROLEDA *et al*., 2009). Corpos similares foram observados em *Zygnema*, mas não aumentaram com a exposição à UV (HOLZINGER *et al*., 2009). Esses autores sugeriram ainda que a dilatação das membranas tilacoidais não podem ser consideradas como um efeito da exposição a UV-B, uma vez que essa alteração foi observada também em algas expostas à PAR por 24 horas em algas coletadas no campo.

Resultados de exposição à radiação UV em longos períodos de tempo mostraram mudanças na ultraestrutura de células corticais, incluindo um incremento na espessura das paredes celulares dessas células, alteração no contorno das células e a destruição da organização interna de cloroplastos de *Kappaphycus alvarezii* (SCHMIDT *et al*., 2009) e *Iridaea cordata* (NAVARRO *et al*., 2010a). Em *K. alvarezii*, houve ainda uma redução no volume dos vacúolos em células corticais e subcorticais e um aumento no número de organelas. Ainda, a exposição à UV-B promoveu a destruição das conexões citoplasmáticas, estruturas características de um grande grupo de algas vermelhas (SCHMIDT *et al*., 2009). Em *Iridaea cordata* observou-se um maior número de vesículas formadoras de parede, as quais poderiam ser responsáveis pelo incremento da espessura da parede celular (NAVARRO *et al*., 2010a). Nesse contexto, GÜNTER & OVODOV (2007) mostraram que a UV-B incrementou a concentração de polissacarídeos em calos da planta vascular *Silene vulgaris*. Não obstante, UV-B causou uma diminuição no rendimento de carragenanas de *K. alvarezii* (ESWARAN *et al*., 2001).

A radiação UV-B altera principalmente a morfologia das células corticais, promovendo uma maior espessura do talo (SCHMIDT *et al*., 2009; NAVARRO *et al*., 2010a), como reportado para folhas de plantas vasculares (JANSEN *et al*., 1998). Possivelmente, o incremento na área superficial das paredes celulares de células de algas

ocorre para dissipar os altos níveis de UV-B, prevenindo dessa maneira que a radiação atinja as camadas celulares mais internas (NAVARRO *et al.*, 2010a). Essas alterações poderiam ser consideradas como parte de um processo de aclimatação a longos períodos de exposição à UV-B.

A maioria dos trabalhos reportando alterações na ultraestrutura de células de algas decorrente da exposição à UV-B tem sido obtidas em experimentos com radiação UV-B artificial (POPPE *et al.*, 2002, 2003; HOLZINGER *et al.*, 2004, 2006; AYRES, 2009; SCHMIDT *et al.*, 2009; NAVARRO *et al.*, 2010a). Entretanto, a radiação UV-B solar não tem sido utilizada em experimento visando conhecer seus reais efeitos na estrutura celular.

## 2.11. Efeitos da UV-B na morfologia

Alterações morfológicas decorrentes da interação entre a radiação UV-B e alvos moleculares foram identificadas inicialmente em plantas vasculares. A UV-B ativaria receptores que produziriam uma alteração nas características morfológicas, dentre elas o tamanho (área e espessura), número de folhas e grau de despigmentação (BARNES *et al.*, 1988; 1996). A possível participação das ROS nas respostas morfológicas e de aclimatação a UV-B de *Brassica napus* foi sugerida por GERHARDT *et al.* (2005). Esses autores estudaram a morfologia (curvamento) de *B. napus* quando submetidas a concentrações conhecidas de antioxidantes (ascorbato e cisteína) e $H_2O_2$, observando que a aplicação de antioxidantes impediu o curvamento da planta, enquanto que a aplicação de $H_2O_2$ resultou na indução do curvamento em ausência de UV-B. Dessa maneira os autores sugerem que o $H_2O_2$ pode ser um dos mensageiros secundários na transdução do sinal da UV-B, ou pode ser convertido em ROS que desencadeia respostas para UV-B, dentre eles o curvamento de plantas submetidas à essa radiação.

Alterações na morfologia das algas expostas a UV-B foram primeiramente reportadas por ROLEDA *et al.* (2004b). Esses autores mostraram que a exposição crônica de *Laminaria ochroleuca* à radiação UV-B promoveu não apenas uma diminuição nas taxas de crescimento, mas também alterações na morfologia dos talos, evidentes como deformações nos tecidos, necrose, lesões e curvamento do talo. Essas alterações foram também evidentes em talos expostos à UV-A. Vale à pena ressaltar que necrose pronunciada e perda de parte dos talos foi observada em *L. solidungula* após uma semana de exposição à UV (MICHLER *et al.*, 2002). Perda de biomassa através da necrose foi também observado em plântulas de *Macrocystis pyrifera* (NAVARRO *et al.*, 2008) e

*Iridaea cordata* (NAVARRO *et al*., 2010b,c). Nessas duas espécies, observou-se também um curvamento progressivo dos talos.

Em geral, os efeitos morfológicos dependem do tempo de exposição e da intensidade de radiação UV-B aplicada. Nesse contexto, NAVARRO *et al*. (2010c) avaliou a morfologia de talos jovens e adultos de *Iridaea cordata* submetida a três intensidades de UV-B durante 28 dias. Eles observaram que a morfologia dos talos adultos foi afetada em todas as intensidades de UV-B, enquanto que os talos jovens só foram afetados em altas intensidades. Essa variação foi atribuída à diferença da morfologia dos talos, enquanto os jovens são cilíndricos os adultos são laminares. Assim, nos adultos, maior área está diretamente exposta à UV-B. Além disso, em altas intensidades, talos jovens gerados no laboratório apresentaram necrose, enquanto que em baixas intensidades um menor número e tamanho de ramificações basais e curvatura do talo foram observadas (NAVARRO *et al*., 2010b,c). Em talos coletados no campo, todas as intensidades promoveram apenas leve despigmentação e curvatura dos talos. O desenvolvimento de discos de fixação em diferentes intensidades de UV-B mostraram que a UV-B promoveu despigmentação, diminuição do crescimento e não foi observada a geração de primórdios de frondes eretas (NAVARRO *et al*., 2010b)

As alterações morfológicas, principalmente a curvatura dos talos e o aumento da espessura dos mesmos têm sido interpretadas como uma forma de defesa à radiação UV-B, reduzindo a área de exposição a essa radiação. No entanto, altos níveis dessa radiação poderiam promover danos irreversíveis como a necrose de tecidos (NAVARRO *et al*., 2010b,c)

O uso das alterações morfológicas como um parâmetro biológico para avaliar os efeitos da UV-B é pouco freqüente (BISCHOF *et al*., 2006) devido aos longos períodos de tempo requeridos para observar respostas (ROLEDA *et al*., 2004b; NAVARRO *et al*., 2010c). Estudos desse tipo são necessários uma vez que a morfologia e a integridade das algas é um indicador integrado dos danos ocorridos em muitos níveis (ROLEDA *et al*., 2004b, NAVARRO *et al*., 2010c). Além disso, mudanças na morfologia poderiaam representar um importante mecanismos de defesa das algas, principalmente para estádios iniciais do desenvolvimento (NAVARRO *et al*., 2008).

### 2.12. Efeitos da UV-B no crescimento

Assim como a morfologia, o crescimento é um parâmetro integrador das mudanças fisiológicas promovidos pela exposição à radiação UV-B, fornecendo uma

visão geral dos efeitos da UV-B em organismos fotossintetizantes (Fig. 6). O crescimento de plantas vasculares, macro e microalgas pode ser inibido ou estimulado por diferentes níveis de radiação UV. Variações nas taxas de crescimento também dependem do tempo de exposição e da distribuição das espécies no costão.

Em geral, os organismos do infralitoral têm sido reconhecidos como mais sensíveis a essa radiação que os do médiolitoral uma vez que não são freqüentemente atingidos por altas irradiâncias. Vários estudos em diferentes locais vêm comprovando esses resultados (WOOD, 1987, 1989; LARKUM & WOOD 1993; GROBE & MURPHY, 1994; DRING *et al*., 1996b; HANELT *et al*., 1997; VAN DE POLL *et al*., 2001; MANSILLA *et al*., 2006). Assim, o crescimento de *Sarcathalia crispata* e *Mazzaella laminarioides*, duas espécies do médiolitoral do estreito de Magallanes, foi menos sensível do que em *Gigartina skottsbergii*, do infralitoral (MANSILLA *et al*., 2006).

Processos de aclimatação à radiação UV têm sido verificados em várias espécies de macroalgas. Em *Ulva expansa* (GROBE & MURPHY, 1998), *U. rígida* (ALTAMIRANO *et al*., 2000a), *Macrocystis pyrifera* (NAVARRO *et al*., 2008) e *Iridaea cordata* (NAVARRO *et al*., 2010c), as taxas de crescimento apresentaram diminuição na primeira semana de cultivo em UV-B quando comparado ao controle, sendo essas diferenças reduzidas no decorrer do tempo, evidenciando um processo de aclimatação as novas condições de irradiância. Ainda, NAVARRO *et al*. (2010b,c) observaram que as taxas de crescimento de talos jovens de *I. cordata* não foram prejudicadas embora esses talos apresentassem alterações morfológicas, sugerindo que essas alterações não estariam relacionadas à energia disponível para o crescimento. Resultados similares foram reportados para plantas vasculares expostas à UV-B (ROZEMA *et al*., 1997; GREENBERG *et al*., 1997). Por outro lado, ROLEDA *et al*. (2004b) não verificaram um processo de aclimatação à UV-B em *Laminaria ochroleuca* quando as taxas de crescimento foram avaliadas por longos períodos de tempo, entretanto, os autores observaram aclimatação das taxas de fotossíntese. Embora as algas estivessem produzindo energia através da fotossíntese, essa energia estaria sendo usada para o reparo de danos moleculares em detrimento do crescimento.

Interessante de ressaltar é o fato diferenças no crescimento entre dois estádios reprodutivos de uma espécie foram verificados. O crescimento de tetrasporófitos (NAVARRO *et al*., 2010c) e gametófitos (NAVARRO *et al*., 2010b) jovens de *Iridaea cordata* exposta PAR e PAR+UV-B, foi diferente quando expostas as mesmas doses de UV-B artificial. Em *Gracilaria caudata*, os tetrasporófitos apresentaram maiores taxas de

crescimento, quando comparados a gametófitos quando expostos à PAR+UV-B (ORNELLAS, 2011). Dessa maneira, se sugere que diferentes fases do histórico de vida podem responder de maneira diferente quando expostas as mesmas doses de UV-B. Estudos de sensibilidade a UV-B de diferentes fases do histórico de vida são escassos na literatura.

Finalmente, as conseqüências das alterações fisiologicas, produto da UV-B, não só têm importância no nível celular, mas também tem um impacto no desenvolvimento da estrutura da comunidade e nos padrões de distribuição das espécies (BISCHOF *et al*., 2006) (Fig. 6), uma vez que esses danos são mais pronunciados nas estruturas de reprodução, como esporos e zoósporos (ROLEDA *et al*., 2005, 2007; NAVARRO *et al*., 2008, 2010c). Os efeitos biológicos da radiação UV em organismos fotossintetizantes são respostas combinadas dos danos, dos reparos e da aclimatação, que podem ter conseqüências no crescimento e na produção primária global.

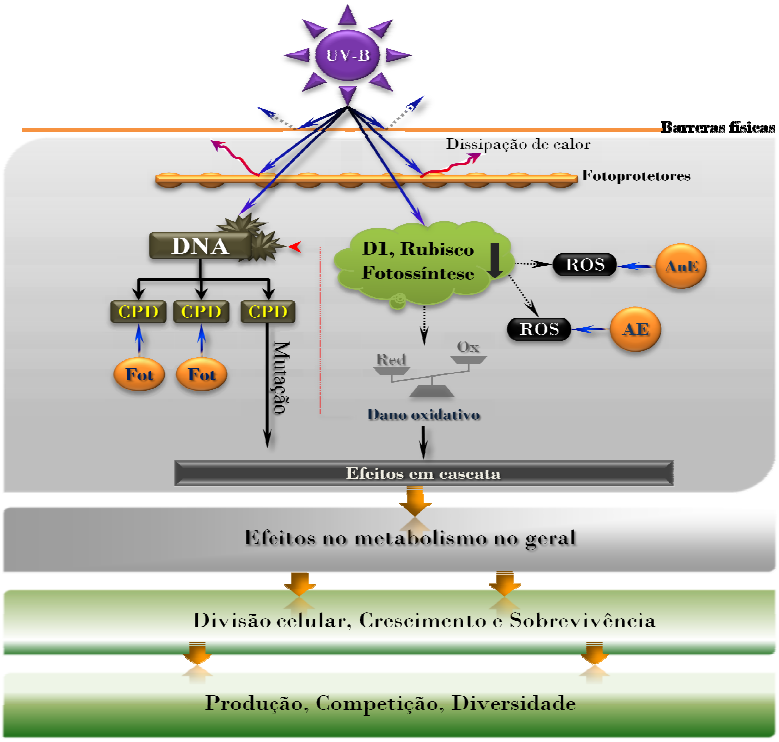


Fig. 6. Esquema simplificado dos efeitos do aumento da radiação UV-B em um organismo fotossintetizante. Observam-se efeitos diretos no DNA, proteínas e enzimas da fotossíntese, e a atuação de alguns mecanismos de fotoproteção. Quando a produção de ROS é excessiva e favorece o estado pró-oxidante (desbalanço metabólico), o estresse oxidativo é desencadeado, provocando danos às estruturas celulares e ao metabolismo em geral como em decorrência desses eventos, várias conseqüências biológicas e ecológicas poderiam ocorrer. Ox: oxidação; Red: redução; Fot: fotoliase, AE: antioxidante enzimático; AnE: antioxidante não enzimático; CPD: dímero de ciclobutano pririmidina; D1: proteína D1; ROS: espécies reativas de oxigênio.

## 3. Abordagens experimentais em estudos sobre os efeitos da UV-B em organismos fotossintetizantes

Grande parte dos primeiros estudos sobre os efeitos da UV-B em organismos fotossintetizantes foram realizados em laboratório, empregando-se sistemas de lâmpadas em salas de cultivo, nas quais os organismos eram expostos a altas irradiâncias de UV-B e a baixas irradiâncias de UV-A e PAR. Após a década de 80, foi amplamente aceito que os efeitos da UV-B em plantas era exacerbado nessas condições uma vez que as proporções entre UV-B/UV-A e UV-B/ PAR eram desproporcionais ao que ocorria na natureza. Conseqüêntemente, extrapolação dessas respotas para o que ocorriria na natureza passou a ser questionada (CALDWELL *et al.*, 1994; CALDWELL & FLINT, 1994,

1997; KRIZEK, 2004). As lâmpadas UV-B fornecem mais comprimentos de onda curtos, e menos comprimentos de onda longos, do que a radiação solar em condições de depleção de ozônio. A alta relação UV-B/UVA pode ter conseqüências fotobiológicas importantes uma vez que a UV-B tem um efeito biológico desproporcional, danificando macromoléculas tais como DNA, proteínas e lipídeos (JONES & KOK, 1966; SETLOW, 1974; FRANKLIN & FORSTER; 1997).

Embora a irradiância UV-B e UV-A fornecida pelas lâmpadas seja muito diferente da obtida a partir da radiação solar, muitos estudo são ainda realizados com esse sistema. Sua importância está no fato de que é possível identificar rotas metabólicas específicas. No entanto, estudos realizados em laboratório deveriam levar em consideração o conhecimento das condições naturais de irradiância que atinge o local de crescimento dos organismos em experimentação, uma vez que a contribuição de uma pequena variação nos comprimentos de onda mais curtos da UV-B pode gerar severos efeitos. Nesse contexto, MARCHANT (1997) reportou que uma pequena mudança no comprimento de onda em 7 nm pode modificar considerávelmente um efeito biológico.

Experimentos que utilizam lâmpadas para a obtenção de radiação UV devem fornecer informações sobre o tipo de lâmpada, espectro de emissão, tempo de exposição, irradiância, tipo de espectro de ação utilizado, etc. Essas informações são necessárias para uma melhor comparação entre trabalhos e entre os efeitos reportados. Alguns autores usam doses de irradiação em $KJ.m^{-2}$ num tempo determinado (ponderadas ou não com diferentes espectros de ação), enquanto outros descrevem a intensidade expressada em diferentes unidades ($W.m^{-2}$, µmol fótons. $m^{-2}$. $s^{-1}$). A transformação entre Watts e Joules ($W=J.s^{-1}$) é possível se a informação do tempo (segundos, minutos, etc) é fornecida, possibilitando conversões e análises comparativas sobre efeitos causados pela UV.

Uma abordagem mais realista dos efeitos biológicos da UV-B ocorre em estudos realizados ao ar livre sob radiação solar. Nesses casos, os dois métodos mais amplamente usados são; i) o método da atenuação, e ii) o método do aumento da radiação UV-B.

O método da atenuação propõe o uso de filtros que absorvem (tratamento sub-ambiental) ou permitem a passagem da radiação UV-B (tratamento similar ao ambiente). A vantagem desse método é o baixo custo, simplicidade, e independência de fonte de energia. A redução de UV-B é possível também através do uso de cubetas contendo o gás ozônio (TEVINI *et al.*, 1991), embora esse método seja complexo e muito caro. A desvantagem do método de atenuação é o fato de que permitem apenas avaliar o efeito da

exposição à radiação UV-B solar ambiental, porém não possibilita averiguar os efeitos de níveis de UV-B promovidos por uma depleção na camada de ozônio.

O método do aumento da radiação UV-B propõe adicionar radiação artificial por meio de lâmpadas. A maioria desses estudos emprega UV-B de emissão contínua por determinado período, principalmente ao redor do meio dia. Esse sistema fornece um acréscimo de UV-B baseado nas conseqüências da destruição da camada de ozônio em condições de céu claro e não leva em conta a cobertura por nuvens e a variação diária da radiação. Se esse sistema não é monitorado cuidadosamente, pode levar a maiores níveis de UV-B do que é pretendido em relação à depleção de ozônio, e a relações substancialmente mais elevadas de UV-B/UV-A e UV-B/PAR do que aquelas que poderiam ocorrer devido à destruição de ozônio (FISCUS & BOOKER, 1995). Essas relações são relativamente importantes na determinação de como as plantas respondem a mudanças na UV-B (CALDWELL *et al*., 1994; ALLEN *et al*., 1998; KRIZEK, 2004). Esse problema pode ser evitado empregando-se um sistema de fornecimento diferenciado, em que a UV-B fornecida pelas lâmpadas aumente durante a manhã e decline após o meio dia. Esse sistema poderia ser melhorado em combinação com um sistema automático de desligamento de algumas lâmpadas durante os dias nublados. Existem sistemas que fornecem radiação UV-B em incrementos proporcionais aos registrados simultânea e constantemente no campo: sistema de modulação da radiação (SULLIVAN *et al*., 1994; MUSIL *et al*., 2002). Esse sistema compensa não só as mudanças na radiação solar devido ao ângulo solar, mas também a cobertura de nuvens e outras condições atmosféricas. Além disso, compensa fatores, tais como degradação de filtros, envelhecimento de lâmpadas e temperatura. Desafortunadamente, esses sistemas não têm sido usados freqüentemente devido a sua complexidade técnica e seu alto custo.

Estudos realizados em altos níveis de radiação UV-B solar decorrentes da depleção na concentração de ozônio não são freqüentes na literatura, uma vez que eles podem ser realizados apenas em latitudes afetadas pelo “buraco” na camada de ozônio, ou em locais afetados esporadicamente por esses eventos, como por exemplo, o extremo sul do Chile e da Argentina.

## 4. Importância de estudos sobre a radiação UV-B em algas

As algas são de grande importância nos ambientes aquáticos, não só em termos de diversidade (NORTON *et al*., 1996), mas também por desempenharem diversas funções. Os habitat em que as algas marinhas bentônicas ocorrem são principalmente zonas

costeiras rochosas ao redor do mundo, onde podem até formar densas florestas, fornecendo áreas de criação para peixes e outros organismos. Além disso, as algas evitam mudanças bruscas na concentração de nutrientes da coluna de água e estabilizam os sedimentos (FRANKLIN & FORSTER, 1997).

As algas marinhas apresentam uma grande importância econômica devido ao seu conteúdo de ficocolóides, como alginatos, agaranas e carragenanas. Além disso, têm sido utilizadas diretamente como alimento e fertilizantes. São conhecidas ainda como fonte de substâncias antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas (PESANDO, 1990; ANGGADIREDJA *et al*., 1997; HUDSON *et al*., 1999).

As macroalgas do médiolitoral estão sujeitas a mudanças extremas devido principalmente à influência das marés (DAVISON & PEARSON 1996). Durante os períodos de maré baixa, esses organismos são expostos à alta irradiância solar, variações de temperatura, baixa salinidade e dessecação. Entretanto, no infralitoral, as macroalgas encontram um habitat mais estável, uma vez que a coluna de água funciona como uma proteção contra as fortes mudanças nas condições abióticas (BISCHOF *et al*., 2006). Na região subantártica, as algas estão expostas ainda a fortes ventos e a precipitação na forma de neve, assim como a mudanças drásticas no fotoperíodo e irradiância ao longo do ano.

Devido à extrema importância dos produtores primários nos ecossistemas costeiros, qualquer alteração na sua abundância relacionadas a mudanças ambientais, como o aumento da radiação ultravioleta pode ter dramáticas conseqüências para a comunidade e para o ecossistema costeiro. Assim, as pesquisas direcionadas à compreensão da interação entre esses organismos e as condições ambientais têm tido grande relevância nas últimas décadas. Os altos níveis de radiação UV-B podem ser danosos aos organismos marinhos, especialmente às algas bentônicas. Éstas, ao contrário das espécies fitoplanctônicas, ficam expostas à radiação por períodos prolongados durante as horas de maré baixa por estarem fixas e restritas ao seu local de crescimento. O risco da ocorrência de efeitos prejudiciais aumenta quando as algas recebem níveis elevados de radiação UV-B, como ocorre na Antártica e parte da América do Sul nos meses de primavera-verão (CABRERA *et al*., 1995; Diaz *et al*., 2006).

A importância de avaliar os efeitos causados pela radiação UV-B em organismos marinhos está relacionada ao fato de que 50% da produção primária de biomassa do planeta é atribuída à atividade dos ecossistemas aquáticos (HOUGHTON & WOODWELL, 1989). Além disso, os altos níveis de radiação UV-B que atingem esses ecossistemas

atualmente, podem representar um risco para a sobrevivência dos organismos fotossintetizantes marinhos. Outro aspecto que ressalta a necessidade de mais estudos relacionados à radiação UV-B é a baixa perspectiva de recuperação dos níveis normais de ozônio atmosférico (níveis dos anos 1970-1980) que, segundo previsões recentes, não serão alcançados antes de 2070 (HEGGLIN & SHEPHERD, 2009).

## 5. Justificativa

Nos últimos anos, o aumento da radiação UV-B, principalmente nas regiões Antártica e Subantártica, tem apontado para a necessidade de estudos que avaliem seus efeitos em organismos marinhos. Essa necessidade é ainda mais imperativa devido a previsões recentes, de que a recuperação da camada de ozônio não será alcançada antes de 2070 (HEGGLIN & SHEPHERD, 2009).

As algas bentônicas, por ficarem expostas por períodos prolongados durante as marés baixas, são mais suscetíveis aos efeitos da radiação UV-B. Muitos esforços têm sido realizados visando conhecer esses efeitos em macroalgas. A maioria desses estudos tem sido realizado em laboratório, porém existem dificuldades na aplicação desses conhecimentos para populações naturais, uma vez que: i) a radiação UV é variável diária e sazonalmente; ii) na natureza há outros fatores que podem incrementar os efeitos ou até atenuá-los; e iii), as algas têm a capacidade de se aclimatar às variações da radiação.

Aspectos ambientais da radiação UV, assim como seu impacto em macroalgas marinhas, têm sido consideravelmente menos estudados nos oceanos do hemisfério sul do que do hemisfério norte (HUOVINEN *et al*., 2006). Conhecer os efeitos da UV solar é importante e necessário, principalmente em macroalgas que ocorrem em locais onde há periódicamente uma diminuição na camada de ozônio. A realização de estudos durante períodos em que haja efetivamente essa diminuição poderá fornecer dados sobre os efeitos da UV-B solar num cenário real. Além disso, é fundamental avaliar esses efeitos em populações de algas que se constituem em matéria prima para a produção de ficocolóides e consumo humano, a fim de permitir uma melhor avaliação das conseqüências do aumento dessa radiação para o setor produtivo.

Estudos referentes à combinação de fatores de estresse, como disponibilidade de nitrogênio e exposição à UV-B solar fazem parte de uma área de pesquisa recente e em expansão. Dessa forma, justifica-se o estudo dos efeitos de variáveis integradas, a fim de se conhecer as respostas ecofisiológicas de algas de importância econômica expostas à UV-B solar e supridas com diferentes concentrações de nitrogênio.

Estudos sobre a sensibilidade à UV-B de diferentes fases do histórico de vida de algas são poucos na literatura, principalmente em espécies com alternância de gerações isomórficas. Um aumento da radiação UV-B poderia alterar ou interromper essa alternância, causando um desequilíbrio nas proporções entre as fases e prejudicando a permanência de espécies num determinado ambiente. Dessa maneira, estudos sobre a diversidade intraespecífica se justificam, a fim de se conhecer as estratégias de gametófitos e tetrasporófitos frente à radiação UV-B.

No presente trabalho, *Mazzaella laminarioides* (Bory de Saint-Vincent) Fredericq (Gigartinales, Rhodophyta) e *Pophyra columbina* Montagne (Bangiales, Rhodophyta) foram escolhidas como objetos de estudo, pois são coletadas freqüentemente no litoral do Chile para a extração de carragenanas (*M. laminarioides*) e para consumo humano (*P. columbina*).

*Porphyra columbina* se distribui em toda a costa do Chile e é coletada por pescadores e vendida nos mercados locais como alga seca e prensada para consumo humano. Em 2009, 120 toneladas de alga foram coletadas e processadas (Sernapesca, 2009). Essa espécie ocorre no médiolitoral (superior e inferior) e por tanto está sujeita às variações da maré. Pode também ocorrer no médiolitoral inferior. Existem alguns estudos sobre os efeitos da UV-B em *P. columbina*. Esses estudos avaliam os efeitos da UV-B na fotossíntese (HÄDER *et al*., 2003; GÓMEZ *et al*., 2004; RAUTENBERGER *et al*., 2009) e síntese de MAAs (HELBLING *et al*., 2004; KORBEE-PEINADO *et al*., 2004). A maioria deles têm sido realizados na região central do Chile e Argentina. Entretanto, existem poucas informações sobre os efeitos da radiação UV-B em algas de regiões onde tem havido um aumento efetivo dessa radiação a partir de década de 90.

*Mazzaella laminarioides* se distribui em toda a costa do Chile até as Ilhas Diego Ramírez (56º 30’ S; 68º 43’ W) (VÁSQUEZ & VEGA, 2004; MANSILLA & NAVARRO, 2004a). É freqüentemente coletada no litoral do Chile central para a extração de carragenanas. Em 2009, foram coletadas 4.225 toneladas de alga seca a partir de populações naturais (SENAPESCA, 2009). Há uma preocupação com o excesso de coleta dessa espécie, e a Subsecretaria de Pesca (Chile), sugere uma redução na explotação nos próximos anos. Além da coleta, essas algas estão sujeitas à pressão ocasionada por mudanças recentes nas condições ambientais, principalmente ao que se refere à radiação ultravioleta (UV), uma vez que elas ocorrem no médiolitoral. Diferentemente ao que acontece com *Porphyra columbina*, há uma carência de estudos sobre os efeitos da UV-B em *M.*

*laminarioides*, com exceção de alguns trabalhos sobre os efeitos de radiação UV na fotoinibição (GÓMEZ *et al*., 2004) e no crescimento (MANSILLA *et al*., 2006). Foram identificados para a espécie 5 MAAs (HUOVINEN *et al*., 2004).

# 6. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos da radiação UV solar (UV-A e UV-B) e os efeitos da disponibilidade de nitrogênio em duas espécies de algas de importância econômica no sul do Chile, *Mazzaella laminarioides* e *Porphyra columbina*, durante a primavera, período no qual freqüentemente tem sido verificado um aumento de radiação UV-B decorrente da diminuição da camada de ozônio. Esses efeitos foram avaliados considerando-se aspectos fisiológicos e bioquímicos, após a exposição de indivíduos procedentes de populações naturais a diferentes combinações de radiação solar. Essas informações, principalmente as referentes ao crescimento e ao conteúdo de ficocolóides, devem permitir uma melhor avaliação das conseqüências do aumento da radiação UV-B para o setor produtivo chileno.

## 6.1. Objetivos específicos

*Mazzaella laminarioides*

- Verificar se o crescimento, pigmentos, proteínas solúveis, MAAs, conteúdo de nitrogênio, hidrogênio, carbono e rendimento de carragenanas são influenciados pela disponibilidade de diferentes concentrações de nitrato, durante um período de 18 dias, quando cultivados em radiação solar.
- Avaliar as respostas de tetrasporófitos e gametófitos frente à radiação UV solar, considerando-se: crescimento, pigmentos, proteínas solúveis, MAAs, conteúdo de nitrogênio, hidrogênio, carbono e rendimento de carragenanas durante um período de 18 dias.
- Avaliar o conteúdo de MAAs durante um ciclo diário em que houvesse um aumento de radiação UV-B solar e verificar se a disponibilidade de nitrato propicia um aumento na síntese e acúmulo desses compostos.

*Pophyra columbina*

- Avaliar o conteúdo de MAAs durante um ciclo diário em que houvesse um aumento de radiação UV-B solar e verificar se a disponibilidade de nitrato propicia um aumento na síntese e acúmulo desses compostos.
- Verificar os efeitos ultraestruturais durante um ciclo diário em que houvesse um aumento de radiação UV-B solar.

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste trabalho pode-se concluir que:

- O crescimento de *Mazzaella laminarioides*, como parâmetro fisiológico integrador, não foi alterado pela radiação UV-B solar (tratamento PAB) nem em diferentes concentrações de $NO_3$. Assim, os níveis de UV-B solar relacionados a eventos curtos de redução da camada de ozônio e ocorridos na região de Magallanes, Chile, não comprometem a sobrevivência de *M. laminarioides*.

- A exposição à UV-B solar não prejudicou a produção de carragenanas de gametófitos e de tetrasporófitos de *Mazzaella laminarioides.*
- Respostas diferenciadas entre gametófitos e tetrasporófitos de *Mazzaella laminarioides* foram observadas em altas irradiâncias de UV-B. Esses resultados foram compatíveis com a ocupação desses estádios no costão rochoso. Gametófitos foram mais tolerantes a altas irradiâncias e ocorrem no médiolitoral superior, enquanto que tetrasporófitos foram menos tolerantes a irradiância e ocorrem no médiolitoral inferior.
- A disponibilidade de nitrogênio, na forma de nitrato, favoreceu a fotoproteção de *Porphyra columbina* e *Mazzaella laminarioides* através da síntese e do acúmulo de MAAs. Esses compostos foram principalmente sintetizados quando essas algas foram cultivadas na presença de $NO_3$.
- A curto prazo (2 dias), a exposição à radiação UV (PAR+UV-A e PAR+UV-A +UV-B) promoveu a síntese de MAAs em *Mazzaella laminarioides*. Já, a longo prazo, essa radiação não promoveu diferenças no conteúdo desses compostos entre os tratamentos de radiação testados, nem promoveu efeitos deletérios.
- Os MAAs podem ser sintetizados em curtos períodos de tempo (horas) em *Porphyra columbina* e *Mazzaella laminarioides*, evidenciando um possível ciclo diário com maior acúmulo durante as horas de maior irradiância.
- A exposição de *Porphyra columbina* à radiação solar promoveu um aumento de MAAs ao meio dia, sendo maior no tratamento P e menor no tratamento PAB. Já a adição de $NO_3$ promoveu um maior acúmulo de MAAs no tratamento PAB quando comparados aos demais tratamentos, evidenciando a importância de uma fonte de nitrogênio na fotoproteção dessa espécie.

- A exposição à radiação UV solar promoveu alterações ultra-estruturais em *Porphyra columbina*, principalmente o aumento no tamanho e no conteúdo de vesículas mucilaginosas e o aumento na espessura da parede celular. Alterações nos tilacóides foram observadas em todos os tratamentos e não podem ser consideradas única e exclusivamente como resposta à UV-B.

# Resumo

Este trabalho analisou os efeitos da radiação solar UV (UV-A e UV-B) em duas espécies de importância comercial do Chile, *Mazzaella laminarioides* e *Porphyra columbina* durante a primavera, período no qual freqüentemente tem sido verificado um aumento de radiação UV-B decorrente da diminuição da camada de ozônio. A interação entre a radiação UV e o suprimento de N foi também investigada. Essa interação estimulou a síntese de aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) nas duas espécies, durante a exposição a altas irradiâncias de UV em curtos períodos. Esses resultados sugerem um ciclo diário na síntese desses compostos. A longo prazo (18 dias de cultivo), a adição de diferentes concentrações de $NO_3$ não promoveu diferenças no conteúdo de MAAs e no crescimento de *M. laminarioides*, sugerindo uma adequação do metabolismo da espécie às condições experimentais. Discute-se a mobilização do N intra-celular para a manutenção da capacidade de fotoproteção das algas. Em geral, a UV-B não promoveu efeitos deletérios no crescimento e na produção de carragenanas em tetrasporófitos e gametófitos de *M. laminarioides*, o que seria esperado para uma espécie do médiolitoral que está exposta a variações na quantidade e qualidade de radiação solar. Entretanto, observou-se uma resposta diferenciada entre esses estádios em altas intensidades de irradiâncias de PAR e UV-B, sugerindo que gametófitos podem se aclimatar mais rapidamente a mudanças na irradiância solar do que tetrasporófitos. As radiações UV-B e UV-A promoveram alterações ultraestruturais em *P. columbina*. No entanto, após um período no escuro, foi observada uma recuperação parcial dessas estruturas. A partir dos resultados deste trabalho, pode-se concluir que os níveis de UV-B solar que atingiram a região de Magallanes, Chile, não causaram efeitos negativos para a produção de *M. laminarioides*. Entretanto, promoveram um grande acúmulo de MAAs em *P. columbina*, principalmente em experimentos com disponibilidade de nitrogênio.

# Abstract

This work analyzed the effects of solar UV radiation (UV-A and UV-B) on two commercial important species from Chile, *Mazzaella laminarioides* and *Porphyra columbina*, during the spring when it has often been reported a ozone layer depletion, and consequently increased UV-B radiation. Additionally, the interactive role of nitrogen supply and UV radiation was also investigated. This interaction stimulated synthesis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in both species when exposed to high UV irradiance in short-term cultivation. These results suggest the presence of a daily cycle in the MAAs production. In the long-term (18 days), different concentrations of N supply did not cause differences neither in MAAs content nor in growth, suggesting a metabolic acclimation to the experimental conditions. The shift of intracellular N from photosynthetic pigments to MAAs to maintain the capacity of photoprotection is discussed. In general, the UV-B did not cause differences neither in growth nor in carrageenan production in tetrasporophytes and gametophytes of *M. laminarioides*, once a intertidal species is exposed to variations in solar radiation quality and quantity. However, differentiated responses between gametophytes and tetrasporophytes were observed in high UV and PAR irradiances, suggesting that gametophytes can acclimate more quickly to solar radiation changes than tetrasporophytes. The UV-B and UV-A radiation promoted ultra-structural changes in *P. columbina*. However, a partial recovery was observed after a period in dark. Based on these results we concluded that UV-B levels that were reaching Magallanes Region, Chile, did not affect biomass production of *M. laminarioides*, but promoted a greater accumulation of MAAs in *P. columbina* when cultivated with N addition.

# Referências Bibliográficas


ABDALA-DIAZ, R.T.; A. CABELLO-PASINI; E. PEREZ-RODRIGUEZ; R.M. CONDE-ALVAREZ & F.L. FIGUEROA. 2006. Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Mar. Biol*. 148: 459-465.

ADAMSE, P. & S. BRITZ. 1992. Spectral quality of two fluorescent UV sources during long-term use. *Photochem. Photobiol*. 56: 641-644.

AGUILERA, J.; A. DUMMERMUTH; U. KARSTEN; R. SCHRIEK & C. WIENCKE. 2002. Enzymatic defences against photooxidative stress induced by ultraviolet radiation in Arctic marine macroalgae. *Polar Biol*. 25: 432–441.

AGUILERA, J.; C. JIMÉNEZ; F. FIGUEROA; M. LEBERT & D. HÄDER. 1999. Effect of ultraviolet radiation on thallus absorption and photosynthetic pigments in red alga *Porphyra umbilicalis*. *J. Photoch. Photobiol. B.* 48: 75-82.

AGUIRRE-VON-WOBESER, E.; F.L. FIGUEROA & A. CABELLO-PASINI. 2000. Effects of UV radiation on photoinhibition of marine macrophytes in culture systems. *J. Appl. Phycol*. 12: 159-168.

ALGARRA, P. & W. RÜDIGER. 1993. Acclimatation processes in the light harvesting complex of the red alga *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew *et* Ross, according to irradiance and nutrient availability. *Plant Cell Environ*. 16: 149-159.

ALLEN DJ, MCKEE IF, FARAGE PK, BAKER NR (1997) Analysis of limitations to CO2 assimilation on exposure of leaves of two *Brassica napus* cultivars to UVB. *Plant Cell Envir.* 20: 633-640.

ALLEN, D.J.; S. NOGUÉS & N.R. BAKER. 1998. Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *J. Exp. Bot.* 49: 1775-1788.

ALSCHER, R.G.; N. ERTURK & LS. HEATH. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53: 1331-1341.

ALTAMIRANO, M.; A. FLORES-MOYA & F. FIGUEROA. 2002. Effects of the radiation and temperature on growth of germling of three species of *Fucus* (Phaeophyta). *Aquat. Bot.* 1606: 1-12.

ALTAMIRANO, M.; A. FLORES-MOYA & F.L. FIGUEROA. 2000b. Growth seasonality, photosynthetic pigments, and C and N content in relation to environmental factors: a field study on *Ulva olivascens* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycologia* 39: 50–58

ALTAMIRANO. M.; A. FLORES-MOYA & F.L. FIGUEROA. 2000a. Long-term effects of natural sunlight under various ultraviolet radiation conditions on growth and photosynthesis of intertidal *Ulva rigida* (Chlorophyceae) cultivated *in situ*. *Bot. Mar.* 43: 19-126.

AMSLER, C.D. & V.A. FAIRHEAD. 2005. Defensive and sensory chemical ecology of brown algae. *Adv. Bot. Res. 43*: 1–91

ANDRIA, J.R.; J.J. VERGARA & L.P. LLORÉNS. 1999. Biochemical responses and photosynthetic performance of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta) from Cádiz, Spain, cultured under different inorganic carbon and nitrogen levels. *Eur. J. Phycol*. 34: 497- 504

ANG, P.O.JR. 1991. Natural dynamics of a *Fucus distichus* (Phaeophyta, Fucales) population: reproduction and recruitment. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 78: 71-85.

ANGGADIREDJA, J.; R. ANDYANI; HAYATI & MUAWANAH. 1997. Antioxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from Seribu Islands. *J. Appl. Phycol*. 9: 477-479.

ARO, E.M.; I. VIRGIN & B. ANDERSSON. 1993a. Photoinhibition of photosystem II: Inactivation, protein damage and turnover. *Biochim. Biophys. Acta* 1143: 113–134.

ARO, E.M.; S. MCCAFFERY & J.M. ANDERSON. 1993b. Photoinhibition and D1 Protein degradation in peas acclimated to different growth irradiances. *Plant Physiol*. 104: 1033–1041.

ASADA, K. 1997. The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in H2O2 scavenging in plants. IN: *Oxidative stress and molecular biology of antioxidant defenses*. SCANDALIOS, J. G. (ED). Cold Spring Harbor Laboratory Press. Plainview, New York, EE. UU. pp. 715-735.

ASADA, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol*. 50: 601–39.

AYRES, L.M. 2009. Efeitos da radiação UVB em variantes cromáticas de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta): crescimento, conteúdo pigmentar, fotossíntese e ultra-estrutura. Dissertação de mestrado. Univ. S. Paulo. 146 p.

BAKER, C. J. & E.W. ORLANDI. 1995. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol*. 33:299–321.

BAÑARES, E.; A. ALTAMIRANO; F.L. FIGUEROA & A. FLORES-MOYA. 2002. Influence of UV radiation on growth of sporelings of three non-geniculate coralline red algae from Southern Iberian Peninsula. *Phycol. Res.* 50: 23-30.

BANASZAK, A.T. & P.J. NEALE. 2001. Ultraviolet radiation sensitivity of photosynthesis in phytoplankton from an estuarine environment. *Limnol. Oceanogr*. 46:592–603.

BANDARANAYAKE, W.M. 1998) Mycosporines: are they nature's sunscreens? *Nat. Prod. Rep.* 15: 159-172.

BAR, E.; M. RISE; M. VISHKAUTSAN & A. SHOSHANA. 1995. Pigment and structural changes in *Chlorella zofingiensis* upon light and nitrogen stress. *J. Plant Physiol*. 146: 527-34.

BARNES, P.; S. FLINT & M. CADWELL. 1990. Morphological responses of crop and weed species of different growth forms to ultraviolet-B radiation. *Amer. J. Bot*. 77: 1354-1360.

BARNES, P.W.; C.L. BALLARÉ & M.M. CALDWELL. 1996. Photomorphogenetic effects of UV-B radiation on plants: consequences for light competition. *J. Plant Physiol*. 148: 15-20.

BARNES, P.W.; P.W. JORDAN; W.C. GOLD; S.D. FLINT & M. CALDWELL. 1988. Competition, morphology and canopy structure in wheat (*Triticum aestivum* L.) and wild oat (*Avena fatua* L.) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Funct. Ecol*. 2: 319-330.

BARR, N.G. & T.A.V. REES. 2003. Nitrogen status and metabolism in the green seaweed *Enteromorpha intestinalis*: an examination of three natural populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 249: 133-144.

BARROS, M.P.; E. PINTO; P. COLEPICOLO & M. PEDERSÉN. 2001. Astaxanthin and peridinin inhibit oxidative damage in Fe2+ -loaded liposomes: scavenging oxyradicals or changing membrane permeability? *Biochem. Biophys. Res. Comm*. 288: 225-232.

BEACH, K.S.; C.M. SMITH & R. OKANO. 2000. Experimental analysis of rhodophyte photoacclimation to PAR and UV-radiation using *in vivo* absorvance spectroscopy. *Bot. Mar*. 43: 525-536.

BEARDALL, J.; P. HERAUD; S. ROBERTS; K. SHELLY & S. STOJKOVIC. 2002. EVects of UV-B radiation on inorganic carbon acquisition by the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae). *Phycol* 41: 268-272.

BEER, S. & A. ESHEL. 1985. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. *Aust. J. Mar. Freshw. Res*. 36: 785-792.

BEN-AMOTZ, A. & M. AVRON. 1988. The wavelength dependence of massive of carotene synthesis in *Dunaliella bardawil*. *J. Phycol*. 25: 178-83.

BENTLEY, R. 1990. The shikimate pathway- a metabolic tree with many branches. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 25: 307-384.

BERNER, T & I. IZHAKI. 1994. Effects of exogenous nitrogen levels on ultrastructure of zooxanthellae from the hermatypic coral *Pocillopora damicornis*. *Pc. Sci.* 48: 254-262.

BIANCIOTTO, O.A.; L.B. PINEDO; N.A. SAN ROMAN; A.Y. BLESSIO & M.B. COLLANTES. 2003. The effects of natural UV-B radiation on a perennial *Salicornia* salt-marsh in Bahía San Sebastián, Tierra del Fuego, Argentina: a 3-year field study. *J. Photoch. Photobiol. B.* 70: 177-185.

BISCHOF, K.; D. HANELT & C. WIENCKE. 2000. Effects of ultraviolet radiation on photosynthesis and related enzyme reactions of marine macroalgae. *Planta* 211: 555-562.

BISCHOF, K.; D. HANELT; H. TÜG; U. KARSTEN; P.E.M. BROUWER & C. WIENCKE. 1998. Acclimation of brown algal photosynthesis to ultraviolet radiation in Arctic coastal waters (Spitsbergen, Norway). *Polar Biol*. 20:388-395.

BISCHOF, K.; G. KRÄBS; C. WIENCKE & D. HANELT. 2002c. Solar ultraviolet radiation affects the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase and the composition of photosynthetic and xanthophyll cycle pigments in the intertidal green alga *Ulva lactuca* L. *Planta* 215: 502–509.

BISCHOF, K.; G. PERALTA; G. KRÄBS; W.H. VAN DE POLL; J.L. PÉREZ-LLORÉNS & A. M. BREEMAN. 2002d. Effects of solar UV-B radiation on canopy structure of *Ulva* communities from southern Spain. *J. Exp. Bot.* 53: 2411-2421.

BISCHOF, K.; HANELT, D. & WIENCKE, C. 1999. Acclimation of maximal quantum yield of photosynthesis in the brown alga *Alaria esculenta* under high light and UV radiation. *Plant Biol*. 1: 435-444.

BISCHOF, K.; I. GÓMEZ; M. MOLIS; D. HANELT; U. KARSTEN; U. LÜDER: M.Y. ROLEDA; K. ZACHER & C. WIENCKE. 2006. Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 5: 141–166

BLOKHINA, O.; E. VIROLAINEN & K. FAGERSTEEDT. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* 91: 179-194.

BOJKOV R.D; V.E. FIOLETOV & S.B. DÍAZ. 1995. The relationship between solar UV irradiance and total ozone from observations over southern Argentina. *Geophys. Lett*. 22: 1249-1252

BONOMI, J. 2010. *Fotoproteção em* Gracilaria tenuistipitata *(Rhodophyta): uma abordagem fisiológica e molecular*. Tese Doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, xiv, 325p

BONOMI, J.; M.T. MATA; M.C. OLIVEIRA & F.L. FIGUEROA. 2011. Nitrate reduces the negative effect of UV radiation on photosynthesis and pigmentation in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta): the photoprotection role of mycosporine-like amino acids. *Phycologia* (in press)

BONOMI, J.; N. KORBEE; M.C. OLIVEIRA & F.L. FIGUEROA. 2010. Effects of N supply on the accumulation of photosynthetic pigments and photo protectors in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta) cultured under UV radiation. *J. Appl. Phycol.* DOI 10.1007/s10811-010-9603-x

BORNMAN, J.F. 1989. Target sities of UV-B radiation in photosynthesis of higher plants. *Photochem. Photobiol*. 4: 145-158.

BORNMAN, J.F. 1996. Interaction of UV radiation with the photosynthetic systems. *In*: JENNINGS, R.C.; G. ZUCCHELLI; F. GLERETTI & G. COLOMBETTI (eds). *Light as an energy source and information carrier in plant physiology*. Plenum Press, New York.

BOTHWELL, M.; D. SHERBOT; A. ROBERGER & R. DALEY. 1993. Influence of natural ultraviolet-radiation on lotic periphytic diatom community growth, biomass accrual, and species composition: short-term versus long-term effects. *J. Phycol*. 29: 24-35.

BOUCHARD, J.N.; S. ROY & D.A. CAMPBELL. 2006. UVB effects on the photosystem II-D1 protein of phytoplankton and natural phytoplankton communities. *Photochem. Photobiol*. 82: 936–951.

BOUSSIBA, S. & A. E. RICHMOND. 1980. C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbiol.*125: 143-147.

BOWLER, C.; M. VAN MONTAGU & D. INZÉ. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 83-116.

BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgramquantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem*. 72: 248-254.

BRANDLE, J.R.; W.F. CAMPBELL; W.B. SISSON & M.M. CALDWELL. 1977. Net photosynthesis, electron transport capacity, and ultrastructure of *Pisum sativum* L. exposed to ultraviolet-B radiation. *Plant Physiol*. 60: 165-169.

BRAUNE, W. & G. DÖHLER. 1996. Impact of UV-B radiation on 15N-ammonium and 15N-nitrate uptake by *Haematococcus lacustris* (Volvocales). II. The influence of a recovery period. *J. Plant Physiol*. 149: 349-357.

BRAWLEY, S.H. & L.E. JOHNSON. 1991. Survival of fucoid embryos in the intertidal zone depends upon developmental stage and microhabitat. *J. Phycol*. 27: 179-186.

BRITT, A.B. 1995. DNA damage and repair in plants. *Annu. Rev. Plant Physol. Plant Mol. Biol*. 47: 75-100.

BRITT, A.B. 2004. Repair of DNA damage induced by solar UV. *Photosynth. Res*. 81: 105-112.

BUCHANAN, B.B.; W. GRUISSEM & R.L. JONES. 2000. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Am. Soc. Plant Physiol., USA. 1367 p.

BUFFONI, R.S.; J.F BORNMAN & L.O BJÖRN. 2002. UV-induced changes in pigment content and light penetration in the fruticose lichen *Cladonia arbuscuta* spp. *mitis*. *J. Photoch.. Photobiol. B*. 66: 13-20.

BUMA, A.G.J.; E.J. VAN HANNEN; L. ROZA; M.J.W. VELDHUIS & W.W.C. GIESKES. 1995. Monitoring ultraviolet-B-induced DNA damage in individual diatom cells by immunofluorescent thymine dimer detection. *J. Phycol*. 31: 314-321.

BUMA, A.G.J.; T. VAN OIJEN; W.H. VAN DE POLL; M.J.W. VELDHUIS & W.W.C. GIESKES. 2000. On the high sensitivity of the marine Prymnesiophyte *Emiliania huxleyi* to ultraviolet-B radiation. *J. Phycol*. 36: 296-303.

BURRITT, D. J.; J. LARKINDALE & K. HURD. 2002. Antioxidant metabolism in the intertidal red seaweed *Stictosiphonia arbuscula* following desiccation. *Planta* 215: 829–838.

BUSCHMANN, A.H., J. CORREA; R. WESTERMEIER; M. HERNANDEZ & R. NORAMBUENA. 2001. Red algal farming in Chile: a review. *Aquaculture* 194: 203-220.

CABRERA, S.; S. BOZZO & H. FUENZALIDA. 1995. Variation in UV radiation in Chile. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol*. 28: 137-142.

CALDWELL, M.H.; A.H. TERAMURA & M. TEVINI. 1989. The changing solar ultraviolet climate and the ecological consequences for higher plants. *Trends Ecol. Evol*. 4: 363-367.

CALDWELL, M.H.; R. ROBBERECHT & S.D. FLINT. 1983. Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plant. *Physiol. Plant*. 58: 445-450.

CALDWELL, M.M. & S.D. FLINT SD. 1994. Stratospheric ozone reduction, solar UV-B radiation and terrestrial ecosystems. *Clim. Change* 28: 375-394.

CALDWELL, M.M. &S.D. FLINT. 1997. Uses of biological spectral weighting functions and the need for scaling for the ozone reduction problem. *Plant Ecol*. 128: 66-76

CALDWELL, M.M.; C.L. BALLARÉ; J.F. BORNMAN; S.D. FLINT; L.O. BJÖRN; T.H. TERAMURA; G. KULANDAIVELU & M. TEVINI. 2003. Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet

radiation and interactions with other climatic change factors. *Photochem. Photobiol. Sci*. 2, 29–38.

CAMPBELL, D.; M.J. ERIKSSON; G. OQUIST; P. GUSTAFSSON & A.K. CLARKE. 1998. The cyanobacterium *Synechococcus* resists UV-B by exchanging photosystem II reaction-center D1 proteins. *Proc. Nat. Acad. Sci*. 95: 364–369

CARELL, T.; L.T. BURGDORF; L.M. KUNDU & M. CICHON. 2001. The mechanism of action of DNA photolyases. *Current Opinion Chem. Biol*. 5: 491-498.

CARELL,T. & R. EPPLE. 1998. Repair of UV light induced DNA lesions: a comparative study with a model compounds. *Eur. J. Org. Chem*. 1245-1258.

CARRETO, J.I.; M.O. CARIGNAN, & N.G. MONTOYA 2005. A high-resolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. *Mar. Biol*. 146: 237-252.

CARRETO, J.I.; M.O. CARIGNAN; D. DALEO & S.G. DE MARCO. 1990. Occurrence of mycosporine-like amino acids in the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavantum*: UV-protoprotective compounds? *J. Plankton Res.* 12: 909-922.

CARROLL, A.K. & J.M. SHICK. 1996. Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Mar. Biol*. 124: 561- 69.

CASICCIA, C., V.W.J.H. KIRCHHOFF & A. TORRES. 2003. Simultaneus measurements of ozone and ultraviolet radiation: spring 2000, Punta Arenas, Chile. *Atmos. Environ*. 37: 383-389

CHEN, J.J.; D.L. MITCHEL & A.B. BRITT. 1994. A light-dependent pathway for the elimination of UV-induced pyrimidine (6-4) pyrimidinone photoproducts in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 6: 1311-1317.

CHOO, K.S.; J. NILSSON, M. PEDERSÉN & P. SNOEIJS. 2005. Photosynthesis, carbon uptake and antioxidant defence in two coexisting filamentous green algae under different stress conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 292: 127–138.

CHOPIN, T.; A.H BUSCHMANN; C. HALLING; M. TROELL; N. KAUTSKY; A. NEORI; G.P. KRAEMER; J.A. ZERTUCHE-GONZÁLEZ; C. YARISH & C. NEEFUS. 2001. Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. *J. Phycol*. 37: 975-986.

CHOW, F.; J. MACCHIAVELLO; S. SANTA-CRUZ; E. FONCK & J. OLIVARES. 2001. Utilization of *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta, Gracilariaceae) as a biofilter in the depuration of effluents from tank cultures of fish, oysters and sea urchins. *J. World Aquac. Soc*. 32: 215-220.

CHOW, W.S.; A. STRID & J.M. ANDERSON. 1992. Short-term treatment of pea plants with supplementary ultraviolet-B radiation: Recovery time-course of some photosynthetic and components. *Plant Cell* 4: 129-134.

CHRISTIE, J.M. & G.J. JENKINS. 1996. Distinct UV-B and UV-A/blue light transduction pathways induce chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis* cells. *Plant Cell* 8: 1555–1567.

COCKELL, C.S. & J. KNOWLAND. 1999. Ultraviolet radiation screening compounds. *Biol. Rev*. 74: 311–345.

COLLÉN, J. & I.R. DAVISON. 1999a. Reactive oxygen production and damage in intertidal *Fucus* spp. (Phaeophyceae). *J. Phycol*. 32: 54–61.

COLLÉN, J. & I.R. DAVISON. 1999b. Reactive oxygen metabolism in intertidal *Fucus* spp. (Phaeophyceae). *J. Phycol*. 35: 62–69.

CONDE, F.R.; M.S. CHURIO & C.M. PREVITALI. 2000. The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. *J. Photoch. Photobiol. B.* 56: 139-144.

CONDE, F.R.; M.S. CHURIO & C.M. PREVITALI. 2004. The deactivation pathways of the excited-states of the mycosporine-like amino acids shinorine and porphyra-334 in aqueous solution. *Photochem. Photobiol. Sci*. 3: 960-967.

CONTRERAS, L.; A. MOENNE & J.A. CORREA. 2005. Antioxidant responses in *Scytosiphon lomentaria* (Phaeophyceae) inhabiting copper-enriched coastal environments *J. Phycol*. 41: 1184–1195

COOPER, J.C. & R.G. ZIKA. 1983. Photochemical formation of hydrogen peroxide in surface and ground waters exposed to sunlight. *Science* 220: 711–712.

CORDI, B.; M. DEPLEDGE; D. PRICE; L. SALTER & M. DONKIN. 1997. Evaluation of chlorophyll fluorescence, in vivo spectrophotometric pigment absorption and ion leakage as biomarkers of UV-B exposure in marine macroalgae. *Mar. Biol.* 130: 41-49.

CORZO, A. & F. X. NIELL, 1991. Determination of nitrate reductase activity in *Ulva rigida* C. Agardh by the in situ method. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 146: 181–191.

COSTA, V.L. 2005. *Diversidade intraespecífica em gametófitos de* Gracilaria birdiae *(Gracilariales, Rhodophyta): efeitos fisiológicos da concentração de nitrato no meio de cultura*. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 100 p.

CRAIGIE, J. 1990. Cell wall. *In*: COLE, K.L. & R.G. SHEATH (eds) *Biology of the Red Algae*. Cambridge University Press, New York.

CRITCHLEY, C. & W. RUSELL. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in vivo: the role of protein turnover in photosystem II. *Physiol. Plant*. 92: 188-196.

CRUTZEN, P.J. 1992. Ultraviolet on the increase. *Nature* 356: 104-105.

CUADRA, P. & J. HARBORNE. 1996. Changes in epicuticular flavonoid and photosynthetic pigments as a plant response to UV-B radiation. *Z. Naturforsch*. 51c: 671-680.

CUADRA, P.; J. HARBORNE & P. WATERMAN. 1997. Increases in flavonoid and photosynthetic pigments in *Gnaphalium luteo-album* in response to UV-B radiation. *Phytochemistry* 45: 1377-1383.

CULLEN, J.J. & M.P. LESSER. 1991. Inhibition of photosynthesis by ultraviolet radiation as a function of dose and dosage rate: results for a marine diatom. *Mar. Biol.* 111: 183-190.

DAT, J.F.; R. PELLINEN; T. BEECKMAN; B. VAN DE COTTE; C. LANGERBARTELS; J. KANGASJÄRVI; D. INZÉ & F. VAN BREUSEGEM. 2003. Changes in hydrogen peroxide homeostasis trigger an active cell death process in tobacco. *Plant J.* 33: 621-32.

DAVISON, I.R. & G.A. PEARSON. 1996. Stress tolerance in intertidal seaweeds. *J. Phycol.* 32: 197-211.

DAVISON, I.R. & W.D.P. STEWART. 1984. Studies on nitrate reductase activity in *Laminaria digitata* (Huds.) Lamour. II. The role of nitrate availability in the regulation of enzyme activity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 79: 65-78.

DE LA COBA, F.; AGUILERA, J.; FIGUEROA, F.L.; GÁLVEZ, M.V. & HERRERA, E. 2009. Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *J. Appl. Phycol.* 21: 161-169.

DELIVOPOULUS, S.G.; M. POLNE-FULLER & B.E. DIANNELIDIS. 1999. Ultrastructural study of the differentiated blade of *Porphyra perforata* (Rhodophyta). *Nova Hedwigia* 68: 65-74.

DESIKAN, R.; A.H. MACKERNESS; J.T. HANCOCK & S.J. NEILL. 2001. Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. *Plant Physiol*. 127: 159–172.

DIAZ, S.; C. CAMILIO; G. DEFERRARI; H. FUENZALIDA; R. ARMSTRONG; C. BOOTH; A. PALADINI; S. CABRERA; C. CASICCIA; C. LOVENGREEN; J. PEDRONI; A. ROSALES; H. ZAGARESE & M. VERNET. 2006. Symposium-in-Print: UV effects on aquatic and coastal ecosystems ozone and UV radiation over southern South America: climatology and anomalies. *Photochem. Photobiol*. 82: 834–843

DIFFEY, B. 1991. Solar ultraviolet radiation effects on biological system. *Phys. Med. Biol*. 36: 299-328.

DILLON, J.G. & R.W. CASTENHOLZ. 1999. Scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment, protects against UVC radiation: implications for early photosynthetic life. *J. Phycol*. 35: 673-681.

DÖHLER, G. 1996. Effect of UV irradiance on utilization of inorganic nitrogen by the Antarctic diatom *Odontella weissflogii* (Janisch) Grunow. *Bot. Acta* 109: 35-42.

DÖLHER, G.; E. HAGMEIER & C.H. DAVID. 1995 Effects of solar and artificial UV irradiation on pigments and assimilation of $^{15}N$ nitrate by macroalgae. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol*. 30: 179-187.

DRING, M.; A. WAGNER; J. BOESKOV & K. LÜNING. 1996b. Sensitivity of intertidal and subtidal red algae to UVA and UVB radiation, as monitored by chlorophyll fluorescence measurements: influence of collection depth and season, and length of irradiation. *Eur. J. Phycol*. 31: 293-302.

DRING, M.; V. MAKAROV; E. SCHOSCHINA; M. LORENZ & K. LÜNING. 1996a. Influence of ultraviolet-radiation on chlorophyll fluorescence and growth in different life-history stages of three species of *Laminaria* (Phaeophyta). *Mar. Biol*. 126: 183-191.

DUFFY, J.E. & M.E. HAY. 2000. Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol. Monogr.* 70: 237-263

DUMMERMUTH, A.L., U. KARSTEN, K.M. FISCH, G.M. KÖNIG & C. WIENCKE. 2003. Responses of marine macroalgae to hydrogen-peroxide stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 289: 103-121.

DUNLAP, W.C. & J.M. SHICK. 1998. UV radiation absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: a biochemical and environmental perspective. *J. Phycol* 34: 418-430.

DUNLAP, W.C. & YAMAMOTO, Y. 1995. Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. Comp. *Biochem. Physiol*. 112B:105-114.

EDGE, R.; D.J. MCGARVEY & T.G. TRUSCOTT. 1997. The carotenoids as antioxidants – a review. *J. Photoch. Photobiol. B*. 41: 189-200.

EDWARDS, P. 1970. Illustrated guide to seaweeds and seagrasses in the vicinity of Porto Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sc. Austin*. 15: 1-228.

EL- BAZ, F.K.; M.A. ABOUL-ENEIN; G.S. EL-BAROTY; A.M. YOUSSEF & H.H. ABD EL-BAKY, 2002. Accumulation of antioxidant vitamins in *Dunaliella salina*. *Online J. Biol. Sci*. 2: 220-223.

EL-BAKY, H.H.A; F.K. EL BAZ & GS. EL-BAROTY. 2004. Production of antioxidant by the green alga *Dunaliella salina*. *International Journal of Agriculture & Biology* 6: 49-57.

ESWARAN, K.; MAIRH, O.P. & RAO, P.V.S. 2002. Inhibition of pigments and phycocolloid in a marine red alga *Gracilaria edulis* by ultraviolet-B radiation. *Biol. Plantarum* 45: 157-159.

ESWARAN, K.; P.V. SUBA RAO & O.P. MAIRH. 2001. Impact of ultraviolet-B radiation on a marine red alga *Kappaphycus alvarezii*. *Indian J. Mar. Sci*. 30: 105-107.

FAIRHEAD, V.A.; D.A. AMSLER & J.B. MCCLINTOCK. 2006. Lack of defence or phlorotannin induction by UV radiation or mesograzers in *Desmarestia anceps* and *D. menziesii* (Phaeophyceae). *J. Phycol*. 42: 1174–1183.

FALKOWSKI, P.G. & J. LAROCHE. 1991. Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol*. 27: 8-14.

FALKOWSKI, P.G. 1997. Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of $CO_2$ in the ocean. *Nature* 387: 272-275.

FARMAN, J.C.; B.G. GARDINER & J.C. SHANKLIN. 1985. Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal $Cl_x/No_x$ interaction. *Nature* 315: 207-210.

FAVRE-BONVIN, J.; BERNILLON, J.; SALIN, N. & ARPIN, N. 1987. Biosynthesis of mycosporines: mycosporine glutaminol in *Trichothecium roseum*. *Phytochemistry* 26: 2509-2514.

FIGUEROA F.L.; L. ESCASSIA; E. PÉREZ-RODRÍGUEZ; N. KORBEE; A.D. GILES & G. JOHNSEN. 2003c. Effects of short-term irradiation on photoinhibition and accumulation of mycosporine-like amino acids in sun and shade species of the red algal genus *Porphyra*. *J. Photoch. Photobiol. B.* 69: 21–30

FIGUEROA F.L.; R. CONDE-ÁLVAREZ; I. GÓMEZ. 2003a. Relations between electron transport rates determined by pulse amplitude modulated fluorescence and oxygen evolution in macroalgae under different light conditions. *Photosynth. Res*. 75: 259–275.

FIGUEROA, F.L. & B. VIÑEGLA. 2001. Effects of solar UV radiation on photosynthesis and enzyme activities (carbonic anhydrase and nitrate reductase) in marine macroalgae from southern Spain. *Rev. Chil. Hist. Nat*. 74: 237-249.

FIGUEROA, F.L. 1996. Effects of light quality on nitrate reductase and glutamine synthetase activities in the red alga *Porphyra leucosticte* Thur. in Le Jol. and other macroalgae. *Sci. Mar.* 60: 163–170.

FIGUEROA, F.L., 2002. Bio-optical characteristics of Gerlache and Bransfield Strait waters during an Antarctic summer cruise. *Deep Sea Res. Part II* 49: 675–691.

FIGUEROA, F.L., S. SALLES; J. AGUILERA; C. JIMÉNEZ; J. MERCADO; B. VIÑEGLA; A. FLORES-MOYA & M. ALTAMIRANO. 1997a. Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta* Thur. in Le Jol. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*151: 81-90.

FIGUEROA, F.L.; A. BUENO; N. KORBEE; R. SANTOS; L. MATA & A. SCHUENHOFF. 2008. Accumulation of mycosporine-like amino acids in *Asparagopsis armata* grown in tanks with fishpond effluents of gilthead sea bream *Asparus aurata*. J*ournal of World Aquaculture Society* 39: 692-699.

FIGUEROA, F.L.; A. ISRAEL; A. NEORI; B. MARTÍNEZ; E.J. MALTA; A. PUT; S. INKEN; E.R. MARQUARDT; R. ABDALA & N. KORBEE. 2010. Effect of nutrient supply on photosynthesis and pigmentation to a short-term stress (UV radiation) in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta). *Mar. Pollut. Bull*. 60: 1768-1778.

FIGUEROA, F.L.; AGUILERA, J.; JIMÉNEZ, C.; VERGARA, J.; ROBLES, M.D. & NIELL, F.X. 1995. Growth, pigment synthesis and nitrogen assimilation in the red alga *Porphyra* sp. (Bangiales, Rhodophyta) under blue and red light. *Sci. Mar*. 59:9-20.

FIGUEROA, F.L.; C. JIMENEZ; L.M. LUBIAN; O. MONTERO; M. LEBERT & D.-P. HÄDER. 1997b. Effects of high irradiance and temperature on photosynthesis and photoinhibition in *Nannochloropsis gaditana* Lubian (Eustigmatophyceae). *J. Plant Physiol*. 151: 6–15.

FIGUEROA, F.L.; C. NYGARD; N. EKELUND & I. GÓMEZ. 2003b. Photobiological characteristics and photosynthetic UV responses in two *Ulva* species (Chlorophyta) from southern Spain. *J. Photoch. Photobiol. B.* 72: 35–44.

FISCUS, E.L. & F.L. BOOKER. 1995. Is increased UV-B a threat crop photosynthesis and productivity? *Photosynth. Res*. 43: 81-92.

FLAMELING, I.A. & J. KROMKAMP. 1998. Light dependence of quantum yield for PSII charge separation and oxygen evolution in eucaryotic algae. *Limnol. Oceanogr*. 43: 284-297.

FLORES-MOYA, A.; GÓMEZ, I.; VIÑEGLA, B.; ALTAMIRANO, M.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, E.; MAESTRE, C.; CABALLERO, R.M. & FIGUEROA, F.L. 1998. Effects of solar radiation on the endemic Mediterranean red alga *Rissoella verruculosa*: photosynthetic performance, pigment content and the activities of enzymes related to nutrient uptake. *New Phytol.* 139:673-683.

FLORES-MOYA, A.; HANELT, D.; FIGUEROA, F.L.; ALTAMIRANO, M.; VIÑEGLA, B. & SALLES, S. 1999. Involvement of solar UV-B radiation in recovery of inhibited photosynthesis in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Hudson) Lamouroux. *J. Photoch. Photobiol. B.* 49: 129-35.

FOYER, C.H.; M. LELANDAIS & K.J. KUNERT. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plantarum* 92: 696–717.

FRANKLIN, L. & R. FORSTER. 1997. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *Eur. J. Phycol.* 32: 207-232.

FRANKLIN, L.; I. YAKOVLEVA; U. KARSTEN & K. LÜNING. 1999. Synthesis of mycosporine-like amino acids in *Chondrus crispus* (Florideophyceae) and the consequences for sensitivity to ultraviolet B radiation. *J. Phycol*. 35: 682-693.

FRANKLIN, L.A.; G. KRÄBS & R. KUHLENKAMP. 2001. Blue light and UVA radiation control the synthesis of mycosporine-like amino acids in *Chondrus crispus* (Florideophyceae). *J. Phycol.* 37: 257-270.

FREDERICK, J.E.; H.E. SNELL & E.K. HAYWOOD. 1989. Solar ultraviolet radiation at the Earth's surface. *Photochem. Photobiol.* 50: 443-450.

FREDERICK, J.E.; S. B. DIAZ; I. SMOLSKAIA; W. ESPOSITO; T. LUCAS & C.R. BOOTH. 1994. Ultraviolet solar radiation in the high latitudes of South America. *Photochem. Photobiol.* 60: 356–362.

FRIEDBERG, E.C.; G.C. WALTER & W. SIEDE. 1995. *DNA Repair and Mutagenesis.* ASM Press, Washington, DC.

GANTT, E. 1981. *Phycobilisomes. Annu. Rev. Plant Physiol*. 32: 327-347.

GANTT, E. 1990. Pigmentation and photoacclimation. *In*: COLE, K. & K.G. SHEATH (eds). *Biology of the red algae.* Cambridge. Cambridge University Press. pp. 203-221.

GAO, W.; Y. ZHENG; J.R. SLUSSER & G.M. HEISLER. 2003. Impact of enhanced ultraviolet-B irradiance on cotton growth, development, yield, and qualities under field conditions. *Agr. Forest Meteorol.* 120: 241-248.

GAO, Y.; G.J. SMITH & R.S. ALBERTE. 1992. Light regulation of nitrate reductase in *Ulva fenestrata* (Chlorophyceae). I. Influence of light regimes on nitrate reductase activity. *Mar. Biol.* 112: 691–696.

GARCÍA-PICHEL, F.; C.E. WINGARD & R.W. CASTENHOLZ. 1993. Evidence regarding the UV sunscreen role of a mycosporine-like compound in the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. *Appl. Environ. Microbiol*. 59: 170-176.

GARCÍA-SÁNCHEZ, M.J.; J.A. FERNÁNDEZ & F.X. NIELL. 1993. Biochemical and physiological responses of *Gracilaria tenuistipitata* under two different nitrogen treatments. *Physiol. Plantarum* 88:631-637.

GARDE, K. & K. GUSTAVSON. 1999. The impact of UV-B radiation on alkaline phosphatase activity in phosphorus-depleted marine ecosystem. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 238: 93-105.

GEIDER, R.J. & LA ROCHE, J. 2002. Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur. J. Phycol.* 37: 1-17.

GENTY, B.; J.M. BRIANTAIS & N.R. BAKER. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990: 87-92.

GERHARDT, K.E.; M.I. WILSONY & BM. GREENBERG. 2005. Ultraviolet radiation and terrestrial ecosystems ultraviolet wavelength dependence of photomorphological and photosynthetic eesponses in *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Photochem. Photobiol*. 81: 1061–1068

GLEASON, D.F. 1993. Differential effects of ultraviolet radiation on green and brown morphs of the Caribbean coral *Porites astreoides. Limnol. Oceanog.* 38: 1452-1463.

GLYNN, P.W.; R. IMAI; K. SAKAI; Y. NAKANO & K. YAMAZATO. 1993. Experimental responses of Okinawan (Ryukyu Islands, Japan) reef corals to high sea temperature and UV radiation. Proceedings of the 7th International Coral Reef Symposium University of Guam Press, Guam, USA 1: 27-37.

GÓMEZ, I.; E. PÉREZ-RODRÍGUEZ; B. VIÑEGLA; F.L. FIGUEROA & U. KARSTEN. 1998. Effects of solar radiation on photosynthesis, UV-absorbing compounds and enzyme activities of the green alga *Dasycladus vermicularis* from southern Spain. *J. Photoch. Photobiol. B.* 47:46-57.

GÓMEZ, I.; F. LÓPEZ-FIGUEROA; N. ULLOA; V. MORALES; C. LOVENGREEN; P. HUOVINEN & S. HESS. 2004. Patterns of photosynthesis in 18 species of intertidal macroalgae from southern Chile. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 270: 103–116

GÓMEZ, I.; F.L FIGUEROA; I. SOUSA-PINTO; B. VIÑEGLA; E. PÉREZ-RODRÍGUEZ**;** C. MAESTRE; S. COELHO; A. FELGA & R. FERREIRA. 2001. Effects of UV radiation and temperature on photosynthesis as measured by PAM fluorescence in the red alga *Gelidium pulchellum* (Turner) Kützing. *Bot. Mar*. 44: 9-16

GÓMEZ, I.; F.L. FIGUEROA; P. HUOVINEN; N. ULLOA & V. MORALES. 2005. Photosynthesis of the red alga *Gracilaria chilensis* under natural solar radiation in an estuary in southern Chile. *Aquaculture* 244: 369– 382

GÖTZ, T.; G. SANDMANN & S. ROMER. 2002. Expression of a bacterial carotene hydroxylase gene (crtZ) enhances UV tolerance in tobacco. *Plant Mol. Biol.* 50: 129-142.

GÖTZ, T.; U. WINDHÖVEL; P. BÖGER & G. SANDMAN. 1999. Protection of photosynthesis against ultraviolet-B radiation by carotenoids in transformants of the cyanobacterium *Synechococcus* PCC79421. *Plant Physiol*. 120: 599–604

GREENBERG, B. M.; V. GABA; O. CANAANI; S. MALKIN; A. K. MATTOO & M. EDELMAN. 1989. Separate photosensitizers mediate degradation of the 32-kDa photosystem II reaction centre protein in the visible and UV spectral regions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 86: 6617–6620.

GREENBERG, B.M.; M.I. WILSON; X. HUANG; C.L. DUXBURY; K.E. GERHARDT & R.W. GENSEMER. 1997. The effect of ultraviolet-B radiation on higher plants. In: WANG, W.; J.W. GORSUCH & J.S. HUGHES (eds). *Plants for environmental studies*, pp. 1-35. Lewis Publishers, Boca Raton.

GROBE, C. & T. MURPHY. 1994. Inhibition of growth of *Ulva expansa* (Chlorophyta) by ultraviolet-B radiation. *J. Phycol*. 30: 783-790.

GROBE, C. & T. MURPHY. 1998. Solar ultraviolet–B radiation effects on growth and pigment composition of the intertidal alga *Ulva expansa* (Setch.) S. & G. (Chlorophyta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 225: 39 – 51.

GRÖNIGER, A.; R.P. SINHA; M. KLISCH & D. HÄDER. 2000. Photoprotective compounds in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae – a database. *J. Photoch. Photobiol. B.* 58: 115-122.

GÜNTER, E.A. & Y.S. OVODOV. 2007. The effect of ultraviolet radiation on the growth and polysaccharide composition of a callus culture of Silene vulgaris. *Appl. Biochem. Microbiol*. 43: 465-472.

HADER D.-P., H.D. KUMAR, R.C. SMITH, R.C. WORREST. 1998. Effects on aquatic ecosystems, *J. Photoch. Photobiol*. B 46 53–68.

HÄDER D.P.; M. LEBERT & E.W. HELBLING 2003. *In situ* effects of solar radiation on photosynthesis in the Patagonian Rhodophyte, *Porphyra columbina* Montagne, *Recent Res. Devel. Biochem.* 4: 931–944.

HÄDER, D.; H. KUMAR; R. SMITH & R. WORREST. 1998. Effects on aquatic ecosystems. *J. Photoch. Photobiol. B.* 46: 53-68.

HÄDER, D.; R. WORREST; H. KUMAR & R. SMITH. 1995. Effects of increased solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Ambio*. 24: 174-180.

HÄDER, D.P. & F.L. FIGUEROA. 1997. Photoecophysiology of marine macroalgae. *J. Photoch. Photobiol. B.* 66:1-14.

HÄDER, D.P. & R.P. SINHA. 2005. Solar ultraviolet radiation-induced DNA danage in aquatic organisms: potential environmental impact. *Mutat. Res.* 571: 221-233

HAN, Y.S. & T. HAN. 2005. UV-B induction of UV-B protection in *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 41: 523-530.

HANELT, D. & M.Y. ROLEDA. 2009. UVB radiation may ameliorate photoinhibition in specific shallow-water tropical marine macrophytes. *Aquat. Bot.* 91: 6-12.

HANELT, D.; C. WIENCKE & K. BISCHOF. 2003. Photosynthesis in marine macroalgae. In: Larkum, A.; S.E. Duglas and J. Raven (Eds). *Advances in Photosynthesis and respiration*, Vol. 14: *Photosynthesis in Algae.* Kluwer Academic Publishers.

HANELT, D.; C. WINCKE; U. KARSTEN & W. NULTSCH. 1997. Photoinhibition and recovery after high light stress in different developmental and life-history stages of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta). *J. Phycol*. 33: 387-395.

HANELT, D.; K. HUPPERTZ & W. NULTSCH. 1992. Photoinhibition of photosynthesis and its recovery in red algae. *Bot. Acta* 105: 278-284

HANNACH, G. & B. SANTELICES. 1985. Ecological differences between the isomorphic reproductive phases os two species of *Iridaea* (Rhodophyta, Gigartinales). M*ar. Ecol. Prog. Ser*. 22: 291-303.

HARBORNE, J.B. 1986. Nature, distribution and function of plant flavonoids. *Prog. Clin. Biol. Res*. 213: 14-24.

HARM, W. 1980. *Biological effects of ultraviolet radiation*. Cambridge University Press, Cambridge.

HAVAUX, M. & K.K. NIYOGI. 1999. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA 96*: 8762-8767.

HE, Y.Y.; M. KLISCH & D.P. HÄDER. 2002. Adaptation of cyanobacteria to UV-B stress correlated with oxidative stress and oxidative damage. *J. Photoch. Photobiol B.* 76: 188–196.

HEGGLIN, M.I. & T.G. SHEPHERD. 2009. Large climate-induced changes in ultra violet index and stratospheric to troposphere ozone flux. *Nat. Geosci*. 2, doi:10.1038/NGE0604

HELBING, W.; C.L. BALLARÉ & V.E. VILLAFAÑE. 2001. Impacts of ultraviolet radiation on aquatic and terrestrial ecosystems. *J. Photoch. Photobiol. B.* 62: vii-ix.

HELBLING, E.W.; E.S. BARBIERI; R.P. SINHA; V.E. VILLAFAÑE & D.P. HÄDER. 2004. Dynamics of potentially protective compounds in Rhodophyta species from Patagonia (Argentina) exposed to solar radiation. *J. Photoch. Photobiol. B.* 75: 63–71.

HELBLING, E.W.; MENCHI, C.F. & V.E. VILLAFAÑE. 2002. Bioaccumulation and role of UV-absorbing compounds in two marine crustacean species from Patagonia, Argentina. *Photochem. Photobiol. Sci. 1*: 820-25.

HELBLING, E.W.; V. VILLAFANE; M. FERRARIO & O. HOLM-HANSEN. 1992. Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., 80: 89-100.

HO, T.Y.; A. QUIGG; Z.V. FINKEL; A.J. MILLIGAN; K. WYMAN; P.G. FALKOWSKI & F.M MOREL. 2003. The elemental composition of some marine phytoplankton. *J. Phycol.* 39: 1145-1159.

HOLLÓSY, F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.

HOLZINGER A. & C. LÜTZ. 2006. Algae and UV irradiation: Effects on ultrastructure and related metabolic functions. *Micron* 37: 190–207

HOLZINGER, A.; C. LÜTZ; U. KARSTEN & C. WIENCKE, 2004. The effect of ultraviolet radiation on ultrastructure and photosynthesis in the red macroalgae *Palmaria palmata* and *Odonthalia dentata* from Arctic waters. *Plant Biol*. 6: 568-577.

HOLZINGER, A.; M.Y. ROLEDA & C. LÜTZ. 2009. The vegetative arctic freshwater green alga *Zygnema* is insensitive to experimental UV exposure. *Micron* 40: 831–838

HOLZINGER, A.; U. KARSTEN; C. LÜTZ & C. WIENCKE. 2006. Ultrastructure and photosynthesis in the supralittoral green macroalga *Prasiola crispa* from Spitsbergen (Norway) under UV exposure. *Phycologia* 45: 168–177.

HOUGHTON, R.A. & G.M. WOODWELL. 1989. Global climatic change. *Sci. Am*. 260: 18-26.

HOYER, K.; U. KARSTEN & C. WIENCKE. 2002. Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. *Mar. Biol*. 41: 619–627

HOYER, K.; U. KARSTEN & C. WIENCKE. 2003. Inventory of UV-absorbin mycosporine-like amino acids in polar macroalgae and factors controlling their content. In: HUISKES, A.H.; W.W GIESKES; J. ROZEMA; R.M. SCHORNO; S.M. VAN DER VIES & W.J. WOLFF (eds). Antarctic Biology in a Global Context, Proceedings of the International 5th SCAR Biology Symposium 2001, Amsterdam. Leiden: Backhuys (2003).

HOYER, K.; U. KARSTEN; T. SAWALL & C. WIENCKE. 2001. Photoprotective substances in antarctic macroalgae and their variation with respect to depth distribution, different tissues and developmental stages. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 211: 117–29.

HUDSON, J.B.; J.H KIM; M.K. LEE; R.E. WREEDE & Y.K. HONG. 1999. Antiviral compounds in axtracts of Korean seaweeds: evidence for multiple activities. *J. Appl. Phycol*. 10: 427-434.

HUOVINEN P., I. GÓMEZ & M. OROSTEGUI. 2007. Patterns and UV sensitivity of carbon anhydrase and nitrate reductase activities in south Pacific macroalgae. *Mar Biol*. 151: 1813-1821

HUOVINEN, P.; I. GÓMEZ; F.L. FIGUEROA; N. ULLOA; V. MORALES & C. LOVENGREEN. 2004. Ultraviolet-absorving mycosporine-like amino acids in red macroalgae from Chile. *Bot. Mar*. 47: 21-29.

HUOVINEN, P.; J. MATOS; I.S. PINTO & F.L. FIGUEROA. 2006. The role of ammonium in photoprotection against high irradiance in the red alga *Grateloupia lanceola*. *Aquat. Bot*. 24: 308-316.

HUOVINEN, P.S.; A.O.J. OIKARI; M.R. SOIMASUO & G.N. CHERR. 2000. Impact of UV radiation on the early development of the giant kelp (*Macrocystis pryrifera*) gametophytes. *Photochem. Photobiol*. 72: 308-313.

ITO, S. & Y. HIRATA. 1977. Isolation and structure of a mycosporine from the zoanthid *Palythoa tuberculosa. Tetrahedron Leiters* 28: 2429-4230.

JANSEN, M.A.K.; V. GABA & B.M. GREENGERG. 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.* 3: 131-135.

JANSEN, M.A.K.; V. GABA; B. GREENBERG; K. A. MATTOO & M. EDELMAN. 1994. UVB driven degradation of the D1-reaction-center protein of photosystem II proceeds via plastosemiquinone. In H.Y. YAMAMOTO & C.M. SMITH (Eds). *Photosynthetic Responses to the Environment*, pp. 142–149. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD.

JANSEN, M.A.K.; V. GABA; B.M. GREENGERG; A.K. MATTO & M. EDELMAN. 1996. Low threshold levels of ultraviolet-B in a background of photosynthetically active radiation trigger rapid degradation of the D2 protein of photosystem II. *Plant J.* 9: 693-699.

JEFFREY, S.W. & G.F. HUMPHREY. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plant, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflan*. 167: 191-194.

JIMÉNEZ, C.; F.L. FIGUEROA; S. SALLES; J. AGUILERA; J. MERCADO; B. VIÑEGLA;A. FLORES-MOYA; M. LEBERT & D.P. HÄDER. 1998. Effects of solar radiation on photosynthesis and photoinhibition in red macrophytes from an intertidal system of Southern Spain. *Bot. Mar.* 41: 329-338.

JOHNSTON, A.M.; S.C. MABERLY & J.A. RAVEN. 1992. The acquisition of inorganic carbon by four red macroalgae. *Oecologia* 92: 317-326.

JONES, L.W. & B. KOK. 1966. Photoinhibition of chloroplast reactions. I. Kinetics and action spectra. *Plant Physiol*. 41:1037-1043.

JORDAN, B.B.; J. HE; W.S. CHOW & J.M. ANDERSON. 1992. Changes in mRNA levels and polypeptides subunids of ribulose-1,5-bisphosphate carboxilase in resposnse to supplementary ultraviolet-B radiation. *Plant Cell Environ*. 15: 91-98.

KARENTZ, D. 1994. Ultraviolet tolerance mechanisms in Antarctic marine organisms. *In*: WEILER, C.S. & P.A. PENHALE (eds), *Ultraviolet radiation in Antarctica: measurements and biological effects*. *Antarctic Research Series* 62: 93-100, American Geophysical Union, Washington, DC.

KARENTZ, D.; F.S. MCEUEN, K.M. LAND & W.C. DUMLAP. 1991b. A survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Mar. Biol*. 108: 157-166.

KARENTZ, D.; J.E. CLEAVER & D.L. MITCHELL. 1991a. Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *J. Phycol*. 27: 326-341.

KARSTEN, U. & C. WIENCKE. 1999. Factors controlling the formation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in the marine red alga *Palmaria palmata* from Spitsbergen (Norway). *J. Plant Physiol.* 155: 407-415.

KARSTEN, U. 2002. Effects of salinity and ultraviolet radiation on the concentration of mycosporine-like amino acids in various isolates of the benthic cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*. *Phycol. Res*. 50:129-134.

KARSTEN, U. 2008. Defense strategies of algae and cyanobacteria against solar ultraviolet radiation. In: Charles D. AMSLER (Ed), *Algal Chemical Ecology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 283-296.

KARSTEN, U., T. SAWALL; D. HANELT; K. BISCHOF; F.L. FIGUEROA; A. FLORES-MOYA & C. WIENCKE. 1998b. An inventory of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in macroalgae from polar to warm-temperate regions. *Bot. Mar*. 41: 443-453.

KARSTEN, U.; A. WULFF; M.Y. ROLEDA; R. MÜLLER; F.S. STEINHOFF; J. FREDERSDORF & C. WIENCKE. 2009. Physiological responses of polar benthic algae to ultraviolet radiation. *Bot. Mar*. 52: 639–654

KARSTEN, U.; BISCHOF, K.; HANELT, D.; TÜG, H. & WIENCKE, C. 1999. The effect of ultraviolet radiation on photosynthesis and ultraviolet-absorbing substances in the endemic Arctic macroalga *Devaleraea ramentacea* (Rhodophyta). *Physiol. Plant.* 105:58-66.

KARSTEN, U.; K. BISCHOF & C. WIENCKE. 2001. Photosynthetic performance of Arctic macroalgae after transplantation from deep to shallow waters followed by exposure to natural solar radiation. *Oecologia* 127: 11-20.

KARSTEN, U.; L.A. FRANKLIN; K. LÜNING & C. WIENCKE. 1998a. Natural ultraviolet and photosynthetic active radiation induce formation of mycosporine-like amino acids in the marine macroalga *Chondrus crispus* (Rhodophyta). *Planta* 205: 257-262.

KARSTEN, U.; T. FRIEDL; R. SCHUMANN; K. HOYER & S. LEMBCKE. 2005. Mycosporine-like amino acids (MAAs) and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxiophyceae (Chlorophyta). *J. Phycol*. 41: 557–566

KENDRICK, G.A. & D. WALKER. 1999. Dispersal distances for propagules of *Sargassum spinuligerum* (Sargassaceae, Phaeophyta) measured directly by vital staining and venturi suction sampling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 79: 133-138.

KIM, S. & A. SANCAR. 1993. Photobiology school: photochemistry, photophysics, and mechanism of pyrimidine dimmer repair by DNA photolyase. *Photochem. Photobiol*. 57: 895-904.

KIRCHHOFF, V.W.J.H.; F. ZAMORANO & C. CASICCIA. 1997. UVB enhancements at Punta Arenas, Chile. *J. Photoch. Photobiol. B.* 38:174–177.

KIRK, J.T.O. 1994. *Light and photosynthesis in the aquatic environment*. Cambridge University Press, Cambridge.

KLISCH, M. & D.P. HÄDER. 2008. Mycosporine-like amino acids and marine toxins - The common and the different. *Mar. Drugs* 6: 147–163.

KORBEE, N.; F.L. FIGUEROA & AGUILERA, J. 2006. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina (MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 79: 119-132.

KORBEE, N.; F.L. FIGUEROA & J. AGUILERA. 2005b. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Photoch. Photobiol. B.* 80:71-78.

KORBEE, N.; P. HUOVINEN; F.L. FIGUEROA; J. AGUILERA & U. KARSTEN. 2005a. Availability of ammonium influences photosynthesis and the accumulation of mycosporine-like amino acids in two *Porphyra species* (Bangiales, Rhodophyta). *Mar. Biol.* 146:645-654.

KORBEE-PAINADO, N.; R. ABDALA-DÍAZ & F.L. FIGUEROA. 2004. Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina. *J. Phycol.* 40: 248-259.

KRÄBS, G.; K. BISCHOF; D. HANELT; U. KARSTEN & C. WIENCKE. 2002. Wavelengthdependent induction of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in the red alga *Chondrus crispus* under natural solar radiation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268:69-82.

KRÄBS, G.; M. WATANABE & C. WIENCKE. 2004. A monochromatic action spectrum for the photoinduction of the UV-absorbing mycosporine-like amino acid shinorine in the red alga *Chondrus crispus*. *Photochem. Photobiol.* 79:515-519.

KRAMER, G.F.; H.A. NORMAN; D.T. KRIZEK & R.M. MIRECKI. 1991. Influence of UV-B radiation on polyamides, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Phytochem*. 30: 2101-2108.

KÜPPERS, J.A. & WEIDNER, M. 1980. Seasonal variation of enzyme activities in *Laminaria hyperborean*. *Planta* 148: 22-230.

KUMAR, A. R. SINHA & D.P. HÄDER. 1996. Effect of UV-B on enzymes of nitrogen metabolism in the cyanobacterium *Nostoc calcicola*. *J. Plant Physiol.* 148: 86-91.

LAPOINTE, B.E. & C.S. DUKE. 1984. Biochemical strategies for growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) in relation to light intensity and nitrogen availability. *J. Phycol*. 20:488-495.

LAPOINTE, B.E. 1981. The effect of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria filiifera* v. *augustissima* (Gracilariales, Rhodophyta). *J. Phycol*. 17: 90-95.

LARKUM, A.W.D. & W.F. WOOD. 1993. The effects of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton, bentic macroalgae and seagrasses. *Photosynth. Res*. 36: 17-23.

LEE, T.M. & C.T. SHIU. 2009. Implications of mycosporine-like amino acid and antioxidant defenses in UV-B radiation tolerance for the algae species *Ptercladiella capillacea* and *Gelidium amansii*. *Mar. Environ. Res*. 27: 8-16.

LESSER, M.P. 1996a. Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and Inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.* 41: 271-283.

LESSER, M.P. 1996b. Acclimation of phytoplankton to UV-B radiation: oxidative stress and photoinhibition of photosynthesis are not prevented by UV-absorbing compounds in the dinoflagellate *Prorocentrum micans*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 132: 287-297.

LESSER, M.P.; J.J. CULLEN & P.J. NEALE. 1994. Carbon uptake in a marine diatom during acute exposure to ultraviolet B radiation: relative importance to damage and repair. *J. Phycol*. 30: 183-192.

LIGNELL, A. & M. PEDERSÉN. 1989. Agar composition as function of morphology and growth rate. Studies on some morphological strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 32: 219-227.

LITCHMAN, E.; P.J. NEALE & A.T. BANASZAK. 2002. Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: photoprotection and repair. *Limnol. Oceanogr*. 47: 86-94.

LOBBAN, C. & P. HARRISON. 1994. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press. Cambridge.

LOPES, P.F.; M.C. OLIVEIRA & P. COLEPICOLO. 2002. Characterization and daily variation of nitrate reductase in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta). *Biochem. Biophys. Res. Com*. 295: 50-54.

LÓPEZ-FIGUEROA, F. & W. RÜDIGER. 1991. Stimulation of nitrate net uptake and reduction by red and blue light and the reversion by far-red light in the green alga *Ulva rigida. J. Phycol*. 27:389-394.

LORENZ, M., H. SCHUBERT & R.M. FORSTER. 1997. In vitro- and in vivo-effects of ultraviolet-B radiation on the energy transfer in phycobilisomes. *Photosynthetica* 33: 517–527

LÜNING, K. 1990. *Seaweeds*: *their environment, biogeography and ecophysiology*. Wiley Interscience, New York.

LUXORO, C. & B. SANTELICES. 1989. Additional evidence for ecological differences among isomorphic reproductive phases of *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales). *J. Phycol.* 25: 206-212

MACKERNESS, S.A.H.; B.R. JORDAN & B. THOMAS. 1999. Reactive oxygen species in the regulation of photosynthetic genes by ultraviolet radiation (UV-B: 280–320 nm) in green and etiolated buds of pea (*Pisum sativum* L). *J. Photoch. Photobiol. B.* 48: 180-188.

MACKERNESS, S.A.H.; C. F. JOHN; B. JORDAN & B. THOMAS. 2001. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Lett*. 489: 237-242.

MADRONICH, S.; R.L. MACKENZIE; L.O. BJÖRN & M.M. CALDWELL. 1998. Changes in biological active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *J. Photoch. Photobiol. B.* 46: 5-19.

MAKAROV, M.V. & G.M. VOSKOBOINIKOV. 2001. The influence of ultraviolet-B radiation on spore release and growth of the kelp *Laminaria saccharina*. *Bot. Mar*. 44: 89–94.

MALANGA, G. & S. PUNTARULO. 1995. Oxidative stress and antioxidant content in *Chlorella vulgaris* after exposure to ultraviolet- B radiation. *Physiol. Plant*. 94: 672–679.

MALANGA, G.; G. CALMANOVICI & S. PUNTARULO. 1997. Oxidative damage to chloroplasts from *Chlorella vulgaris* exposed to ultraviolet-B radiation. *Physiol. Plant*. 101: 455–462.

MANSILLA, A. & N. NAVARRO**.** 2003a. Contribución al estudio de la flora ficológica de las Islas Diego Ramírez (Chile). En MANSILLA, NAVARRO & WERLINGER (Eds), *Memorias curso internacional de especialización en macroalgas de ambientes subantárticos*, Ediciones Universidad de Magallanes: 85-89.

MANSILLA, A. & N. NAVARRO. 2003b. Estudio poblacional y dinámica de costras de *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta) en sector San Juan (Estrecho de Magallanes, XII Región). En MANSILLA, NAVARRO & WERLINGER (Eds), *Memorias curso internacional de especialización en macroalgas de ambientes subantárticos*, Ediciones Universidad de Magallanes: 73-83.

MANSILLA, A.; C. WERLINGER; M. PALACIOS; N.P. NAVARRO & P. CUADRA. 2006. Effects of UVB radiation on the initial stages of growth of *Gigartina skottsbergii*, *Sarcothalia crispata* and *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 18: 451-459

MARCHANT, H.J. 1997. Impacts of ozone depletion on Antarctic organisms. In: BATTAGLIA, B.; J. VALENICA & D.W.H. WALTON (Eds.), *Antarctic Communities: Species, Structure, and Survival*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 367–374.

MARTINS, A.P. 2007. Efeitos da disponibilidade do nitrato no metabolismo do nitrogênio em variantes pigmentares de *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour (Gigartinales, Rhodophyta). Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica de São Paulo.118 p.

MASON, D.S.; F. SCHAFER; J.M. SHICK & W.C. DUNLAP. 1998. Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) are acquired from their diet by medaka fish (*Oryzias latipes*) but not by SKH-1 hairless mice. *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol*. 120: 587-98.

MÁTÉ, Z.; L. SASS; M. SZEKERES; I. VASS & F. NAGY. 1998. UVB induced differential transcription of psbA genes encoding the D1 protein of photosystem II in the cyanobacterium *Synechocysti*s 6803. *J. Biol. Chem*. 273: 17439-17444.

MATSUHIRO, B. & P. RIVAS. 1993. Second–derivative Fourier transform infrared spectra of seaweed galactans. *J. Appl. Phycol*. 5: 45-51.

MATSUHIRO, B. 1996. Vibrational spectroscopy of seaweed galactans. *Hydrobiologia* 326/327: 481-489.

MATTOO, A.K.; H. HOFFMAN-FALK; J.B. MARDER & M. EDELMAN. 1984. Regulation of protein metabolism: Coupling of photosynthetic electron transport to in vivo degradation of the rapidly metabolized 32-kilodalton protein of chloroplast membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA 81: 1380-1384.

MCKENZIE, R.L.; L.O. BJÖRN; A. BAIS & M. ILYAS. 2003. Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochem. Photobiol. Sci*. 2: 5-15.

MCKENZIE, R.L.; P.J. AUCAMP; A.F. BAIS; L.O. BJÖRN & M. ILYAS. 2007. Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's Surface. *Photochem. Photobiol. Sci*. 6: 218-231.

MCLEOD, AR. 1997. Outdoor supplementation systems for studies of the effects of increased UV-B radiation. *Plant Ecol.* 128: 78-92.

MEHLNHORN, H.; M. LELANDAIS; H.G. KORTH & C.H. FOYER. 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases? *FEBS Letters* 378: 203-206.

MEINDL, U. & C. LÜTZ. 1996. Effects of UV radiation on cell development and ultrastructure of the green alga *Micrasterias. J. Photoch. Photobiol. B*. 36: 285-292.

MELIS, A.; J. A. NEMSON & M. A. HARRISON. 1992. Damage to the functional components and partial degradation of photosystem II reaction center proteins upon chloroplast exposure to ultraviolet-B radiation. *Biochim. Biophys. Acta* 1100: 312-320.

MICHLER, T.; J. AGUILERA; D. HANELT; K. BISCHOF & C. WIENCKE. 2002. Longterm effects of ultraviolet radiation on growth and photosynthetic performance of polar and cold-temperature macroalgae. *Mar. Biol*. 140: 1117-1127.

MIDDLETON, E.M. & A.H. TERAMURA. 1993. The role of flavonoid glycoside and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. *Plant. Physiol*. 103: 741-752.

MIDDLETON, E.M. & A.H. TERAMURA. 1994. Understanding photosynthesis, pigment and growth responses induced by UV-B and UV-A irradiances. *Phytochem. Photobiol*. 60: 38-45.

MISONOU, T.; J. SAITOH; S. OSHIBA; Y. TOKIMOTO; M. MAEGAWA; Y. INOUE; H. HORI & T. SAKURAI. 2003. UV-absorbing substance in the red alga *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) block thymine photodimer production. *Mar. Biotechnol*. 5: 194-200.

MITCHELL, D.L. & D. KARENTZ. 1993. The induction and repair of DNA photodamage in the environment. *In*: YOUNG, A.R.; L.O. BJÖRN; J. MOAN & W. NULTSCH (eds). *Environment UV Photobiology*. Plenum Press, New York.

MITTLER, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *TREDS Plant Sci.* 7: 405-410.

MOISAN, T.A. & B.G. MITCHELL. 2001. UV absorption by mycosporine-like amino acids in *Phaeocystis Antarctica* Karsten induced by photosynthetically available radiation. *Mar. Biol.* 138: 217-227.

MOLINA, M.J.; T. TSO; L.T. MOLINA & F.C.T. WANG. 1987. Antarctic stratospheric chemistry of chlorine nitrate, hydrogen chloride, and ice: release of active chlorine. *Science* 238: 1253-1257.

MORONEY, J.V.; S.G. BARTLETT & G. SAMUELSSON. 2001. Carbonic anhydrases in plants. *Plant Cell Environ*. 24: 141-153.

MÜLLER, R.; C. WIENCKE; K. BISCHOF & B. KROCK. 2009. Zoospores of three Arctic Laminariales under different UV radiation and temperature conditions: exceptional spectral absorbance properties and lack of phlorotannin induction. *Photochem. Photobiol*. 85: 970–977.

MURPHY, T. 1983. Membranes as targets of ultraviolet radiation. *Physiol. Plant*. 58: 381-388.

MUSIL, C.F.; L.O. BJÖRN; M.W.J. SCOURFIELD & G.E. BODEKER. 2002. How substantial are ultraviolet-B supplementation inaccuracies in experimental square-wave delivery systems? *Environ. Exp. Bot.* 47: 25-38.

NAVARRO, N.P., A. MANSILLA & M. PALACIOS. 2008. UVB effects on early developmental stages of commercially important macroalgae in southern Chile. *J. Appl. Phycol.* 20: 897-906.

NAVARRO, N.P.; A. MANSILLA & E.M. PLASTINO. 2010a. UVB radiation induces changes in the ultra-structure of *Iridaea cordata*. *Micron* 41: 899-903.

NAVARRO, N.P.; A. MANSILLA & E.M. PLASTINO. 2010c. *Iridaea cordata* (Gigartinales, Rhodophyta): responses to artificial UVB radiation. *J. Appl. Phycol.* 22: 385-394.

NAVARRO, N.P.; M. PALACIOS; A. MANSILLA & J. JOFRE. 2010b. Morphological and growth alterations on early development stages of *Iridaea cordata* (Rhodophyta) under different intensities of UVB radiation. *Rev. Biol. Mar. Oceanog*. 45: 255-265.

NORTON, T.A.; M. MELKONIAN & R.A. ANDERSEN. 1996. Algal biodiversity. *Phycologia* 35: 308-326.

OATES, B.R. & K.M. COLE. 1989. Organelle association indeveloping trichoblasts of *Polysiphonia hendryi* (Rhodophyta, Ceramiales). *Br. Phycol. J.* 24: 339-345.

OKUNO, E.; T. NAKAJIMA; E.M. YOSHIMURA; F. HIODO; A.M.F. FAUSTO; W.S. PAES; N.K. UMISEDO & S. OTSUBO. 1996. Radiação ultravioleta solar em S. Paulo, Chiba, Calafate e Ilha de Páscua. *RBE- Cuaderno de Ingenheria Biomédica* 12: 143-153.

OLIVEIRA, E.C.; E.J. DE PAULA; E.M. PLASTINO & R. PETTI. 1995. Metodologías para el cultivo no axenico de macroalgas marinas *in vitro*. *In*: ALVEAL, K.; M. FERRARIO; E. OLIVEIRA & E. SAR (eds). *Manual de métodos ficológicos*. Universidad de Concepción, Chile. pp. 429-447.

ORCE, V.L. & W. HELBLING. 1997. Latitudinal UVR-PAR measurements in Argentina: extent of the ozone hole. *Global Planetary Change* 15: 113-121.

ORNELLAS, F. 2011. *Efeitos da radiação UVB no crescimento, conteúdo pigmentar e fotossíntese de* Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, 96p.

OSMOND, C.B. & S.C. GRACE. 1995. Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field : quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis. *J. Exp. Bot*. 46: 1351-1362.

OSMOND, C.B. 1994. What is photoinhibition? some insights from com parisons of shade and sun plants, in: N.R. BAKER, J.R. BOWYER (Eds.), *Photoinhibition of Photosynthesis, from Molecular Mechanisms to the Field*, Bios Scientific, Oxford, pp. 1–24.

OURIQUES, L.C.; E.C. SCHMIDT & Z.L. BOUZON. 2011. The mechanism of adhesion and germination in the carpospores of *Porphyra spiralis* var. *amplifolia* (Rhodophyta, Bangiales). *Micron* (in press)

PAKKER, H.; C.A.C. BEEKMAN & A. BREEMAN. 2000a. Efficient photoreactivation of UVBR-induced DNA damage in the sublittoral macroalga *Rhodymenia pseudopalmata* (Rhodophyta). *Eur. J. Phycol*. 35: 109-114.

PAKKER, H; R.S.T. MARTINS; P. BOELEN; A.G.J. BUMA; O. NIKAIDO & A.M. BREEMAN. 2000b. Effects of temperature on the photoreactivation of ultraviolet-B-induced DNA damage in *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *J. Phycol*. 36: 334-341.

PAL, M.; A. SHARMA; Y.P. ABROL & U.K. SENGUPTA. 1997. Exclusion of UV-B radiation from normal solar spectrum on the growth of mung bean and maize. *Agr. Ecosyst. Environ.* 61: 29-34.

PANG, Q. & J.B. HAYS. 1991. UV-B-inducible and temperature sensitive photoreactivation of cyclobutane pyrimidine dimers in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*. 95: 536-543.

PAPADAKIS, A.K. & K.A. ROUBELAKIS-ANGELAKIS. 2002. Oxidative stress could be responsible for the recalcitrance of plant protoplasts. *Plant Physiol. Biochem*. 40: 549-559.

PAVIA, H.; G. CERVIN; A. LINDGREN & P. ABERG. 1997. Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 157: 139-146.

PEARCE, F. 1996. Big freeze digs a deeper hole in ozone layer. *New Scientist.* 149: 7.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, E.; J. AGUILERA; I. GÓMEZ & F.L. FIGUEROA. 2001. Excretion of coumarins by the Mediterranean green alga *Dasycladus vermicularis* in response to environmental stress. *Mar. Biol.* 139:633-639.

PESANDO, D. 1990. Antibacterial and antifungical activities of marine algae. *In*: AKATSUKA I. (ed.) *Introduction to Applied Phycology*. Academic Publishing bv, The Hague, Netherland. 3-26pp.

PFUNDEL, E.E.; R.S. PAN & R.A. DILLEY. 1992. Inhibition of violaxanthin deep oxidation by ultraviolet-B radiation in isolated chloroplasts and intact leaves. *Plant Physiol*. 98: 1372-1380.

PINTO, E.; T.C.S. SIGAUD-KUTNER; M.A.S. LEITÃO; O.K. OKAMOTO; D. MORSE & P. COLEPICOLO. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *J. Phycol*. 39: 1008-1018.

POPPE, F.; D. HANELT & C. WIENCKE. 2002. Changes in ultrastructure, photosynthetic activity and pigment in the Antarctic red alga *Palmaria decipiens* during acclimation to UV radiation. *Bot. Mar*. 45: 253-261.

POPPE, F.; R.A. SCHMIDT; D. HANELT & C. WIENCKE. 2003. pEffects of UV radiation on the ultrastructure of several red algae. *Phycol. Res.* 51: 11-19.

PORTWICH, A. & F. GARCÍA-PICHEL. 1999. Ultraviolet and osmotic stresses induce and regulate the synthesis of mycosporines in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *Arch. Microbiol*. 172: 187-192.

PORTWICH, A. & F. GARCIA-PICHEL. 2000. A novel prokaryotic UVB photoreceptor in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *Photochem. Photobiol*. 71: 493-98.

POST, A. & A.W.D. LARKUM. 1993. UV-absorbing pigments, photosynthesis and UV-exposure in Antarctica: comparison of terrestrial and marine algae. *Aquat. Bot*. 45: 231-243.

PREDIERI, S.; H.A. NORMAN; D.T. KRIZEK; P. PILLAI; R.M. MIRECKI & R.H. ZIMMERMAN. 1995. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene evolution in

diyenne d'hiver pear shoots grown *in vitro* under different photosynthetic photon fluxes. *Environ. Exp. Bot.* 35: 151-160.

PUESCHEL, C.M. 1979. Ultrastructure of tetrasporogenesis in *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 15: 409-424.

QUAITE, F.E.; S. TAKAYANAGI; J. RUFFINI; J.C. SUTHERLAND & B.M. SUTHERLAND. 1994. DNA damage levels determine cyclobutyl pyrimidine dimer repair mechanisms in alfalfa seedling. *Plant Cell* 6: 1635-1641.

RASTOGI, R.P.; R.A. KUMAR; M.B. TYAGI & R.P. SINHA. 2010. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *Journal of Nucleic Acids* ID 592980: 1-32. doi:10.4061/2010/592980.

RAUTENBERGER, R. & K. BISCHOF. 2006. Impact of temperature on UV-susceptibility of two *Ulva* (Chlorophyta) species from Antarctic and Subantarctic region. *Polar Biol.* 29: 988-996.

RAUTENBERGER, R.; A. MANSILLA; I. GÓMEZ; C. WIENCKE & K. BISCHOF. 2009. Photosynthetic responses to UV-radiation of intertidal macroalgae from the Strait of Magellan (Chile). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 82: 43-61,

RECH, M.; J.L.; MOUGET; A. MORANT-MANCEAU; P. ROSA & G. TREMBLIN. 2005. Long-term acclimation to UV radiation: effects on growth, photosynthesis and carbonic anhydrase activity in marine diatoms. *Bot. Mar*. 48:407-420.

REDFIELD, A.C.B.; B.H. KETCHUM & E.A. RICHARDS. 1963. The influence of organisms on the composition of seawater. In: HILL M.N. (ed) *The sea*, Vol 2. Wiley, New York, p 27-77.

REINFELDER, J.R.; A.M. KRAEPIEL & F.M. MOREL. 2000. Unicellular C4 photosynthesis in a marine diatom. *Nature* 407: 996-999.

RENGER, G.; H.J. VOLKER; R. FROMME; S. HOHM-VEIT & P. GRABER. 1989. On the mechanism of photosystem II deterioration by UV-B radiation. *Photochem. Photobiol.* 49: 97-105.

REUBER, S.; J. LEITSCH; G. KRAUSE & G. WEISSENBÖCK. 1993. Metabolic reduction of phenylpropanoid compounds in primary leaves of rye (*Secale cereale* L.) leads to increased UV-B sensitivity of photosynthesis. *Z. Naturforsch.* 48c: 749-756.

REYNOLDS, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron Microscopy. *J. Cell Biol*. 17: 208-212.

RICHTER, M.; W. RÜHLE & A. WILD. 1990. Studies on the mechanism of Photosystem II photoinhibition I. A two-step degradation of D1-protein. *Photosyn. Res*. 24: 229-235.

RIEGGER, L. & D. ROBINSON. 1997. Photoinduction of UV-absorbing compounds in Antarctic diatoms and *Phaeocystis antarctica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 160: 13-25.

RIJSTENBIL, J.W., 2002. Assessment of oxidative stress in the planktonic diatom *Thalassiosira pseudonana* in response to UVA and UVB radiation. *J. Plankton Res.* 24: 1277–1288.

ROLEDA, M.; D. HANELT; G. KRÄBS & C. WIENCKE. 2004b. Morphology, growth, photosynthesis and pigment in *Laminaria ochroleuca* (Laminariales, Phaeophyta) under ultraviolet radiation. *Phycologia* 43: 603-613.

ROLEDA, M.Y.; C. WIENCKE; D. HANELT & K. BISCHOF. 2007. Sensitivity of the early life stages of macroalgae from the northern hemisphere to ultraviolet radiation. *Photochem. Photobiol.* 83: 1-12.

ROLEDA, M.Y.; C. WIENCKE; D. HANELT; W.H. VAN DE POLL & A. GRUBER. 2005. Sensitivity of Laminariales zoospores from Helgoland (North Sea) to ultraviolet and photosynthetically active radiation: implications fot depth distribution and seasonal reproduction. *Plant Cell Environ*. 28: 466-479.

ROLEDA, M.Y.; K. ZACHER; A. WULFF; D. HANELT & C. WIENCKE. 2008. Susceptibility of spores of different ploidy levels from Antarctic Gigartina skottsbergii (Gigartinales, Rhodophyta) to ultraviolet radiation. *Phycologia* 47: 361-370.

ROLEDA, M.Y.; M.N. CLAYTON & CHRISTIAN WIENCKE. 2006. Screening capacity of UV-absorbing compounds in spores of Arctic Laminariales. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 338: 123-133.

ROLEDA, M.Y.; U. LÜTZ-MEINDL; C. WIENCKE & C. LÜTZ. 2009. Physiological, biochemical, and ultrastructural responses of the green macroalga *Urospora penicilliformis* from Arctic Spitsbergen to UV radiation. *Protoplasma* doi:10.1007/s00709-009-0037-8.

ROLEDA, M.Y.; W.H. VAN DE POLL; D. HANELT & C. WIENCKE. 2004. PAR and UVBR effects on photosynthesis, viability, growth and DNA in different life stages of two coexisting Gigartinales: implications for recruitment and zonation pattern. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 281: 37-50.

ROMO, H. & E. DE PAULA. 1995. Métodos experimentales para el cultivo de *Porphyra*. *In*: ALVEAL, K.; M. FERRARIO; E. OLIVEIRA & E. SAR (eds). *Manual de métodos ficológicos*. Universidad de Concepción, Chile. pp. 551-562.

ROY, S. 2000. Strategies for the minimisation of UV-induced damage. In: *The effects of UV radiation in the marine environment*. DE MORA, S.; S. DEMERS & M. VERNET (eds). Cambridge University Press 177-205.

ROZEMA, J.; J. VAN DE STAAIJ; L.O. BJÖRN & CALDWELL M. 1997. UV-B as an environmental factot in plant life: stress and regulation. *Trends Ecol*. *Evol*. 12: 22-28.

RÜDIGER, W. & F. LÓPEZ-FIGUEROA. 1992. Yearly review: Photoreceptors in algae. *Photochem. Photobiol*. 55: 949-954.

RUNDEL, R.D. 1983. Action spectra and estimation of biologically effective UV radiation. *Physiol. Plant.* 58: 360-366.

SAGERT, S.; R.M. FORSTER; P. FEUERPFEIL & H. SCHUBERT. 1997. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. *Eur*. *J. Phycol*. 32: 363-371

SANCAR, A. & G.B SANCAR. 1988. DNA repair enzymes. *Annu. Rev. Biochem*. 57: 29-67.

SCHENK, H.E.A.; J. HANF & M. NEU-MÜLLER. 1983. The phycobiliproteins in *Cyanophora paradoxa* as accessory pigments and nitrogen storage proteins. *Z. Naturforsch* 38: 972-977.

SCHMIDT, E.C., L.A SCARIOT, T. ROVER & Z. BOUZON. 2009. Changes in ultrastructure and histochemistry of two red macroalgae strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), as a consequence of ultraviolet B radiation exposure. *Micron*, doi:10.1016/j.micron.2009.06.003.

SCHOENWAELDER, M. & M. CLAYTON. 1998. Secretion of phenolic substances into the zygote wall and cell plate in embryos of *Hormosira* and *Acrocarpia* (Fucales, Phaeophyceae). *J. Phycol.* 34:969–980

SCHOENWAELDER, M. & M. CLAYTON. 2000. Physode formation in embryos of *Phyllospora comosa* and *Hormosira banksii* (Phaeophyceae). *Phycologia* 39:1-9.

SCHOENWAELDER, M.; C. WIENCKE; M. CLAYTON & K. GLOMBITZA. 2003. The effect of levated UV radiation on *Fucus* spp. (Fucales, Phaeophyta) zygote and embryo development. *Plant Biol. 5*: 366–377.

SCHREIBER, U.; W. BILGER & C. NEUBAUER. 1994. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: SCHULZE, E-D. & CALDWELL, M.M. (Eds.). Ecophysiology of photosynthesis, ecological studies. Vol. 100. SpringerVerlag, Berlin Heidelbeerg. pp. 49-70.

SCHRIEK, R. 2000. Effects of light and temperature on the enzymatic antioxidative defense systems in the Antarctic ice diatom *Entomoneis kufferathii* Manguin. *Ber. Polarforsch. Meeresforsch*. 349: 1-130.

SERNAPESCA. 2009. *Anuario estadístico de pesca*. Servicio Nacional de Pesca, Valparaíso-Chile. (www.sernapesca.cl).

SETLOW, RB. 1974. The wavelengths in sunlight effective in producing skin cancer: a theoretical analysis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71: 3363-3366.

SHELLY, K.; P. HERAUD & J. BEARDALL. 2003. Interactive effects of PAR and UVB radiation on the PSII electron transport in the marine alga *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 39: 509-512.

SHELLY, K.; S. ROBERTS; P. HERAUD & J. BEARDALL. 2005. Interactions between UV-B exposure and phosphorus nutrition. i. effects on growth, phosphate uptake, and chlorophyll fluorescence *J. Phycol.* 41: 1204-1211.

SHICK, J.M. & W.C. DUNLAP. 2002. Mycosporine-like amino acids and related gadusols: biosynthesis, accumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms. *Annu. Rev. Physiol*. 64: 223-62.

SHICK, J.M.; S.D. ROMAINE-LIOUD; C. FERRIER-PAGES & J.P. GATTUSO. 1999. Ultraviolet-B radiation stimulates shikimate pathway-dependent accumulation of mycosporine-like amino acids in the coral *Stylophora pistillata* despite decreases in its population of symbiotic dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.* 44: 1667-1682.

SHIU, C.T. & T.M. LEE. 2005. Ultraviolet-B-induced oxidative stress and responses of the ascorbate-glutathione cycle in a marine macroalga *Ulva fasciata*. *J. Exp. Bot.* 56: 2851-2865.

SIES, H. 1993. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 215: 213-219.

SINGH, S.; S. KUMARI; R.P. RASTOGI; K.L. SINGH & R.P. SINHA. 2008. Mycosporine-like amino acids (MAAs): Chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorving/screening compounds. *Indian J. Exp. Biol.* 46: 7-17

SINHA, R.P. & D.P. HÄDER. 2002. UV-induced D NA damage and repair: a review. *Photochem. Photobiol. Sci.* 1: 225-236

SINHA, R.P.; M. KLISCH; A. GRÖNIGER & D.P. HÄDER. 1998. Ultraviolet-absorbing / screening substances in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae. *J. Photoch. Photobiol. B.* 47: 83-94.

SINHA, R.P.; M. KLISCH; E.W. HELBLING & D.P. HÄDER. 2001. Induction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in cyanobacteria by solar ultraviolet-B radiation. *J. Photoch. Photobiol. B.* 60: 129-135.

SINHA, R.P.; M. LEBERT; A. KUMAR; H.D. KUMAR & D.P. HÄDER. 1995. Spectroscopic and biochemical analyses of UV effects on phycobiliproteins of *Anabaena* sp. and *Nostoc carmium*. *Bot. Acta*, 108: 87-92.

SINHA, R.P.; N. SINGH; A. KUMAR; H.D. KUMAR; M. HÄDER & D.P. HÄDER. 1996. Effects of UV-irradiation on certain physiological and biochemical processes in cyanobacteria. *J. Photoch. Photobiol. B.* 32: 107-113.

SKERRATT, J.H.; A.D. DAVIDSON; P.D. NICHOLS & T.A. MCMEEKIN. 1998. Effect of UV-B on lipid content of three antarctic marine phytoplankton. *Phytochem.* 49: 999-1007.

SMIT, A.J. 2002. Nitrogen uptake by *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta): adaptations to a temporally variable nitrogen environment. *Bot. Mar*. 45: 196-209.

SMITH, R.C.; B. PRÉZELIN; K. BAKER; R. BIDIGARE; N. BOUCHER; T. COLEY; D. KARENTZ; S. MACINTYRE; H. MATLICK; D. MENZIES; M. ONDRUSEK; Z. WAN & J. WATERS. 1992. Ozone depletion: Ultraviolet radiation and phytoplancton biology in Antarctic Waters. *Science* 255: 952-959.

SMITH, R.C.; K.S. BAKER; O. HOLM-HANSEN & R. OLSON. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural waters. *Photochem. Photobiol.* 31: 585-592.

STAPLETON, A. 1992. Ultraviolet radiation and plants: burning questions. *The Plant Cell* 4: 1353-1358.

STARCEVIC, A.; S. AKTHAR; W.C. DUNLAP; J.M . SHICK; D. HRANUELI & J. CULLUM. 2008. Enzymes of the shikimic acid pathway encoded in the genome of a basal metazoan, *Nematostella vectensis*, have microbial origins. *PNAS* 105: 2533-2537.

STEINHOFF, F.S.; C. WIENCKE; R. MÜLLER & K. BISCHOF. 2008. Effects of ultraviolet radiation and temperature on the ultrastructure of zoospores of the brown macroalga *Laminaria hyperborea*. *Plant Biol. 10*: 388–397.

STOLARSKI, R.; A.J. KRUEGER; M.R. SCHOEBERL; R.D. MCPETERS; P.A. NEWMAN & J.C. ALPERT. 1986. Nimbus 7 satellite measurements of the springtime Antarctic ozone decrease. *Nature* 322: 808-811.

STOLARSKI, R.S. 1988. The Antarctic ozone hole. *Sci. American* 258: 20-26.

STRID, A.; W.S. CHOW & J.M. ANDERSON. 1990. Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthesis in *Pisum sativum*. *Biochem. Biophys. Acta* 1020: 260-268.

STRID, A.; W.S. CHOW & J.M. ANDERSON. 1994. UV-B damage and protection at the molecular level in plants. *Photosynth. Res*. 39: 475-489.

SUBSECRETARIA DE PESCA. 2010. Estado de Pesquerias Chilenas: Pesquerias Bentonicas. Unidad de Recursos Bentónicos, División de Administración Pesquera, Subsecretaría de Pesca. XXI Congreso Nacional CONAPACH, Noviembre (2010).

SUH, H.J.; H.W. LEE & J. JUNG. 2003. Mycosporine glycine protects biological systems against photodynamic damage by quenching singlet oxygen with a high efficiency. *Photochem. Photobiol*. 78: 109-13.

SWANSON, A. & L. DRUEHL. 2002. Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquat. Bot.* 73:241-253

TAKANO, S.; D. UEMURA & Y. HIRATA. 1978. Isolation and structure of a new amino acid, palythine, from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrahedron Lett.* 26: 2299-2300.

TALARICO, L. & G. MARANZANA. 2000. Light and adaptative responses in red macroalgae: an overview. *J. Photoch. Photobiol. B*. 56: 1-11.

TALARICO, L. 1996. Phycobiliproteins and phycobilisomes in red algae: adaptative respostes to light. *Sci. Mar*. 60 (Supl. 1): 205-222.

TERAMURA, A. & J. SULLIVAN. 1991. Potential impacts of increase solar UV-B on global plant productivity. *In*: RIKLIS, E. (ed). *Photobiology*. Plenum Press, New York. pp. 625-634.

TERAMURA, A.; M. TEVINI; J. BORNMAN; M. CALDWELL; G. KULANDAIVELU & L. BJÖRN. 1991. Terrestrial plant. Chapter 3. *In*: United Nations Environment Programme. *Environmental effects of ozone depletion, 1991 update*. Nairobi.

TEVINI, M. & A. TERAMURA. 1989. UV-B effects on terrestrial plants. *Phytochem. Photobiol*. 50: 479-487.

TEVINI, M.; J. BRAUN & G. FIESE. 1991. The protective function of the epidermal later of rye seedlings against ultraviolet-B radiation. *Photochem. Photobiol*. **53**, 329–333.

TEVINI, M.; W. IWANZIK & U. THOMA. 1981. Some effects of enhanced UV-B irradiation on the growth and composition of plants. *Planta* 153: 388-394.

THOMAS, T.E. & P.J. HARRISON. 1985. Effect of nitrogen supply on nitrogen uptake, accumulation and assimilation in *Porphyra perforata* (Rhodophyta). *Mar. Biol*. 85: 269-278

THOMAS, T.E.; P.J. HARRISON & D.H. TURPIN. 1987. Adaptations of *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) to nitrogen procurement at different intertidal locations. *Mar. Biol*. 93: 569-580

TODO, T.; H. TAKEMORI; H. RYO; M. IHARA; T. MATSUNAGA; O. NIKAIDO; K. SATO & T. NOMURA. 1993. A new photoreactivation enzyme that specifically repairs ultraviolet light-induced (6-4) photoproducts. *Nature* 361: 371-374.

TODO, T.; S.T. KIM; K. HITOMI; E. OTOSHI: T. INUI; H. MORIOKA; H. KOBAYASHI; E. OHTSUKA; H. TOH & M. IKENAGA. 1997. Flavin adenine dinucleotide as a chromophore of the *Xenopus* (6-4) photolyase. *Nucleic Acids Res.* 25: 764–768.

TSEKOS, I. 1981. Growth and differentiation of the Golgi apparatus and wall formation during carposporogenesis in the red alga *Gigartina teedii* (Roth) Lamour. *J. Cell. Sci.* 52: 71-84

TSEKOS, I. 1985. The endomembrane system of differentiating carposporangia in the red alga *Chondria tenuissima*: occurrence and participation in secretion of polysaccharidic and proteinaceous substances. *Protoplasma* 129: 127-136.

TSEKOS, I.; F.X. NIEL; J. AGUILERA; F. LÓPEZ-FIGUEROA & S. DELIVOPOULOS. 2002. Ultrastructure of the vegetative gametophytic cells of *Porphyra lecosticta* (Rhodophyta) grown in red, blue and green light. *Phycol. Res.* 50: 251-264.

TSUJINO, I.; K. YABE & I. SEKEKAWA. 1980. Isolation and structure of a new amino acid, shinorine, from the red alga *Chondrus yendoi* Yamada *et* Mikami. *Bot. Mar.* 23: 65-68.

TURPIN, D.H. 1991. Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *J. Phycol*. 27: 14-20.

TYRRELL, T. 1999. The relative influence of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature* 400: 525-531.

VALDENEGRO, A. & N. SILVA. 2003. Caracterización oceanográfica física y química de la zona de canales y fiordos australes de Chile entre el Estrecho de Magallanes y Cabo de Hornos (cimar 3 fiordos). *Cienc. Tecnol. Mar*. 26: 19-60

VAN DE POLL, W. 2003. Patterns in ultraviolet radiation sensitivity of tropical, temperate and Arctic marine macroalgae. PhD thesis of Department of Marine Biology, Centre for Ecological and Evolutionary Studies, University of Groningen, Haren, The Netherlands. 117 paginas

VAN DE POLL, W.; A. EGGERT; A. BUMA & A. BREEMAN. 2001. Efffects of UV-B- induced DNA damage and photoinhibition on growth of temperate marine red macrophytes: habitat-relates differences in UV-B tolerance. *J. Phycol*. 37: 30-37.

VAN DE POLL, W.H.; A. EGGERT; A.G.J. BUMA & A.M. BREEMAN. 2002. Temperature dependence of UV radiation effects in Arctic and temperate isolates of three red macrophytes. *Eur. J. Phycol.* 37: 59–68

VAN DE POLL, W.H.; K. BISCHOF; A.G.J. BUMA & A.M. BREEMAN. 2003. Habitat related variation in UV tolerance of tropical marine red macrophytes is not temperature dependent. *Physiol. Plantarum 118*: 74–83.

VASS, I. 1997. Adverse effects of UV-B light on the structure and function of the photosynthetic apparatus. In: PESSARAKLI M (ed) *Handbook of photosynthesis*. Marcel Dekker Inc., New York, pp 931–949

VASS, I.; L. SASS; C. SPETEA; A. BAKOU; D.F. GHANOTAKIS & V. PETROULEAS.1996. UV-B induced inhibition of photosystem II electron transport studied by EPR and chlorophyll fluorescence: Impairment of donor and acceptor side components. *Biochem*. 35: 8964-8973.

VERGARA, J.J.; K.T. BIRD & F.X NIELL. 1995. Nitrogen assimilation following $NH_4^+$ pulses in the red alga *Gracilariopsis lemaneiformis*: effect on C metabolism. *Mar.Ecol. Prog. Ser*. 122: 253-263.

VIÑEGLA, B. & F.L. FIGUEROA. 2009. Effect of solar and artificial UV radiation on photosynthetic performance and carbonic anhydrase activity in intertidal macroalgae from southern Spain. *Ciencias Marinas* 35: 59-74.

VIÑEGLA, B.; M. SEGOVIA & F.L. FIGUEROA. 2006. Effect of artificial UV radiation on carbon and nitrogen metabolism in the macroalgae *Fucus spiralis* L. and *Ulva olivascens* Dangeard. *Hydrobiologia* 560: 31-42.

VU, C.V.; L.H. ALLEN & L.H. GARRARD. 1984. Effects of enhanced UV-B radiation (280-320 nm) on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in pea and soybean. *Env. Exp. Bot*. 24: 131-143.

WEATHERHEAD, E.C. & S.B. ANDERSEN. 2006. The search for signs of recovery of the ozone layer. *Nature* 441: 39-45

WELLBURN, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol*. 144: 307-313.

WESTERMEIER, R.; P.J. RIVERA; M. CHACANA & I. GOMEZ. 1987. Biological bases for the management of *Iridaea laminanoides* Bory in Southern Chile. *Hydrobiology* 151/152: 313-328.

WHEELER, P.A. & M. WEIDNER, 1983. Effects of external inorganic nitrogen concentration on metabolism, growth and activities of key carbon and nitrogen assimilatory enzymes of *Laminaria saccharina* (Phaeophyceae) in culture. *J. Phycol.* 19: 92–96.

WHITE, A.L. & L.S. JAHNKE. 2002. Contrasting effects of UV-A and UV-B on photosynthesis and photoprotection of beta-carotene in two *Dunaliella* spp. *Plant Cell Physiol.* 438: 877-884.

WHITEHEAD R.F.; S.J DE MORA & S. DEMERS. 2000. Enhanced UV radiation- a new problem for the marine environment. In: S.J. DE MORA, S. DEMERS AND M. VENERT (eds) *The effects of UV radiation in the marine environment*. Cambridge University Press, 1-34 pp

WIENCKE, C. 1990. Seasonality of red and green macroalgae from Antartica. A long-term culture study under fluctuating antartic daylengths. *Polar Biol*. 10: 329-337.

WIENCKE, C.; I. GÓMEZ; H. PAKKER; A. FLORES-MOYA; M. ALTAMIRANO; D. HANELT; K. BISCHOF & F.L. FIGUEROA. 2000. Impact of UV-radiation on viability, photosynthetic characteristics and DNA of brown algal zoospores: implications for depth zonation. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 197: 217-229.

WIENCKE, C.; M. CLAYTON & M. SCHOENWAELDER. 2004. Sensitivity and acclimation to UV radiation of zoospores from five species of Laminariales from the Arctic. *Mar. Biol*. 145:31-39.

WIENCKE, C.; M.N. CLAYTON; I. GÓMEZ; K. IKEN; U.H. LÜDER; C.D. AMSLER; U. KARSTEN; D. HANELT; K. BISCHOF & K. DUNTON. 2007. Life strategy, ecophysiology and ecology of seaweeds in polar waters. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*. 6: 95-126.

WILLEKENS, H.; S. CHAMNOGOPOL; M. DAVEY; M. SCHRAUDNER & C. LANGEBARTELS. 1997. Catalase is a sink for $H_2O_2$ and is indispensable for stress defense in C3 plants. *EMBO Journal* 16: 4806-4816.

WILSON, M.; S. GHOSH; K.E. GERHARDT; N. HOLLAND; T.S. BABU; M. EDELMAN; E.B. DUMBROFF & GREENBERG, B. M. 1995. *In vivo* photomodification of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase holoenzyme by ultraviolet-B radiation. *Plant Physiol*. 119: 221-229.

WISNIEWSKA, A. & W.K. SUBCYNSKI. 1998. Effects of the polar carotenoids on the shape of the hydrophobic barrier of phospholipid bilayers. *Biochim. Biophys. Acta* 1368: 235-246.

WMO. 1994. *Scientific assessment of ozone depletion*. Report 37, World Meterological Organisation, Genova.

WMO/UNEP. 2002. *Scientific assessment of ozone depletion*: 2002. Executive summary final, preparated by The Scientific Assessment Panel of the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer.

WOOD, W. 1987. Effect of solar ultra-violet radiation on the kelp *Ecklonia radiata*. *Mar. Biol*. 96: 143-150.

WOOD, W. 1989. Photoadaptative responses of the tropical red alga *Eucheuma strictum* Schmitz (Gigartinales) to ultra-violet radiation. *Aquat. Bot.* 33: 41-51.

WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION (1999) Scientific Assessment of Ozone Depletion: 1998. United Nations Environment Program, World Meteorological Organization. Global Ozone Research and Monitoring Project (Edited by D. L. ALBRITTON, R. T. WATSON and P. J. AUCAMP). WMO/UNEP, Nairobi, Kenya.

WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION (WMO). 2006. Global Ozone Research and Monitoring Project—Report No. 50. Scientific assessment of ozone depletion.

WULFF, A.; M.Y. ROLEDA; K. ZACHER & C. WIENCKE. 2008. UV radiation effects on pigments, photosynthetic efficiency and DNA of an Antarctic marine benthic diatom community. *Aquat. Biol*. 3: 167–177.

XU, C. & JH. SULLIVAN. 2010. Reviewing the technical designs for experiments with ultraviolet-B radiation and impact on photosynthesis, DNA and secondary metabolism. *Journal of Integrative Plant Biology* 52: 377–387

XUE, L.; Y. ZHANG: T. ZHANG; L. AN & X. WANG. 2005. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on algae and cianobacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 31: 79-89.

YAKOVLEVA, I.M. & E.A. TITLYANOV. 2001. Effects of high visible and UV irradiance on subtidal *Chondrus crispus*: stress, photoinhibition and protective mechanisms. *Aquat. Bot.* 71: 47-61.

YOUNG, A.J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83: 702-708.

ZACHER, K.; A WULFF; M. MOLIS; D. HANELT & C. WIENCKE. 2007. Ultraviolet radiation and consumer effects on a field-grown intertidal macroalgal assemblage in Antarctica. *Global Change Biol.* 13: 1201–1215.

ZACHER, K.; M.Y. ROLEDA; A. WULFF; D. HANELT & C. WIENCKE. 2009. Responses of Antarctic *Iridaea cordata* (Rhodophyta) tetraspores exposed to ultraviolet radiation. *Phycol. Res.* 57: 186–193

ZAMORANO, J. & R. WESTERMEIER. 1996. Phenology of *Gigartina skottsbergii* (Rhodophyta, Gigartinales) in Ancud Bay, southern Chile. *Hydrobiologia* 326/327:253–259.

ZAR, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Fourth Edition. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. 663 pp.

ZAREMBA, T.G.; T.R. LEBON; D.B. MILLAR; R.M. SMEJKAL & R.J. HAWLEY. 1984. Effects of ultraviolet light on the *in vivo* assembly of microtubules. *Biochem*. 23: 1073-1080.

ZEPP, R.G.; T.V. CALLAGHAN & D.J. ERICKSON. 1998. Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on biogeochemical cycles. *J. Photoch. Photobiol. B.* 46: 69-82.

ZHAO, X.; LIU, J.; HSU, D.S.; ZHAO, S.; TAYLOR, J-S. & A. SANCAR. 1997. Reaction mechanism of (6-4) photolyase. *J. Biol. Chem*. 272: 32580-32590.

ZUBER, H. 1986. Structure of lihgt harvesting antenna complex of photosynthetic bacteria, cyanobacteria and red algae. *Trends Bioch. Sci*. 11: 414-419.