

UNIVERSIDADE DO PORTO
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar



Fluxos de Oxigénio e Nutrientes entre o Interface
Sedimento/Coluna de Água no Banco Intertidal do
Sector Inferior do Estuário do Rio Douro

CATARINA MARIA PINTO MORA PINTO DE MAGALHÃES

PORTO 1999

Catarina Maria Pinto Mora Pinto de Magalhães

**FLUXOS DE OXIGÊNIO E NUTRIENTES ENTRE O
INTERFACE SEDIMENTO/COLUNA DE ÁGUA NO
BANCO INTERTIDAL DO SECTOR INFERIOR DO
ESTUÁRIO DO RIO DOURO**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas Abel Salazar para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências do Mar e Recursos Marinhos, sob a
orientação do Professor Doutor Adriano Agostinho
Donas-Bôto Bordalo e Sá.*

Junho 1999

Resumo

A bacia hidrográfica do rio Douro constitui 17% da Península. O afluxo médio de água doce ao estuário é de $465 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$. No sistema estuarino do rio Douro são descarregados esgotos urbanos não tratados de 750 000 habitantes do grande Porto. Os sedimentos intertidais estão actualmente sujeitos a planos de remoção por dragagem. Com o objectivo de conhecer a sua função na dinâmica dos nutrientes e produtividade do sistema, foram determinados os fluxos, no interface sedimento/coluna de água de, amónia, nitrato, nitrito, fosfatos, sílica e oxigénio. As amostragens foram realizadas nas quatro estações do ano, em sedimentos arenoso e lodoso. Os fluxos foram determinados em câmaras de incubação na presença e ausência de luz. Foram utilizados cores com 11 cm de diâmetro e 5-7 cm de profundidade. As taxas de absorção de amónia por parte do sedimento variaram entre $95 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e $3638 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Também foram registadas elevadas taxas de absorção de nitratos ($126 - 3067 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) e sílica ($206 - 1473 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$). Os nitritos e nitratos apresentaram taxas de absorção inferiores ($7 - 417 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e $6 - 567 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, respectivamente). A libertação de nutrientes para a coluna de água foi registada pontualmente, nos sedimentos lodosos. A análise de regressão múltipla passo a passo revelou que as concentrações iniciais de NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- e PO_4^{3-} na coluna de água explicaram a maior parte da variância dos fluxos de cada um dos nutrientes (53% a 95%). A produção líquida de oxigénio variou entre 58 a $618 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, e as taxas de consumo de oxigénio apresentaram valores entre 11 e $64 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. A produção primária registou uma correlação positiva significativa com a concentração de clorofila *a* à

superfície do sedimento (0,5 cm). O banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro parece funcionar como um local importante em termos de produtividade primária e como armadilha de nutrientes.

Abstract

The Douro River system drains 17% of Iberian Peninsula. Average freshwater discharge into the estuary is $465 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$. The estuary receives untreated sewage from 750,000 inhabitants of Great Porto. Intertidal sediments are currently subject to plans for major removal by dredging. In order to assess their role in nutrient dynamics and productivity, sediment-water fluxes of ammonium, inorganic phosphorus, nitrate, nitrite, silicate and oxygen were determined quarterly in muddy and sandy intertidal sediments of the lower estuary. Fluxes were determined using light and dark incubations of 11 cm diameter cores. Ammonium uptake into sediments ranged from $95 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ to $3638 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Nitrate uptake ($126 - 3067 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) and silicate uptake ($206 - 1473 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) were also high and showed no light effect, whereas nitrite and orthophosphate showed the lowest rates of absorption ($7 - 417 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ and $6 - 567 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, respectively). Net nutrient outflux into the water column were observed only occasionally in muddy sediments. A stepwise multiple regression analysis revealed a strong coupling between each nutrient concentration in the water column (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- and PO_4^{3-}) and the correspondent flux. The former explained between 53% and 95% of the variance of the latter. Net oxygen production (light incubation) ranged from 58 to $618 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ while oxygen consumption (dark incubation) ranged from 11 to $64 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Primary production correlated significantly with chlorophyll *a* concentration in top (0.5 cm) sediment layer. The intertidal flats of Douro estuary appears to be an important site for primary productivity and nutrient sequestration.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar ao meu orientador Professor Doutor Adriano Bordalo pelo apoio científico constante, e por todo o interesse com que acompanhou este trabalho. O seu estímulo e amizade tiveram para mim um valor inestimável. Agradeço desde já todo o esforço que fez de modo a que fosse posto à minha disposição os recursos materiais e financeiros indispensáveis à realização do presente trabalho, assim como ter possibilitado a minha deslocação a um laboratório nos EUA (Universidade da Georgia, Athens).

Ao meu co-orientador Professor Doutor William Wiebe, agradeço a forma como me recebeu no seu laboratório durante a minha estadia nos EUA. O seu apoio científico, permanente incentivo, as discussões dos resultados, as críticas e sugestões que contribuíram em muito para a concretização deste trabalho.

À fundação Luso-Americana, pelo financiamento concedido para a minha deslocação aos EUA.

Às minhas colegas Françoise e Nasreen por todo o apoio e companheirismo prestado durante a minha estadia nos EUA.

À Dra. Joane Joan Sheldron pela ajuda essencial na aprendizagem e resolução dos problemas nos métodos analíticos dos nutrientes.

À Professora Doutora Samantha Joye pelas conversas proveitosas que tanto ajudaram no planeamento deste trabalho.

À Professora Doutora Maria Armanda pelo apoio e disponibilidade prestada no decorrer deste mestrado.

Aos meus colegas de laboratório, Ana Paula Mucha, Manuela, Liliana, Margarida Hilário, Cristina, pelo apoio, excelente ambiente de trabalho e colaboração prestada no trabalho de campo e nas incubações realizadas.

À Dona Deolinda por todo o apoio prestado na preparação das campanhas de amostragem e lavagem de todo o material laboratorial.

Ao Joaquim que se disponibilizou sempre para me tirar dúvidas de índole estatístico.

Aos meus colegas e amigos de mestrado, Dolores, Elsa e Gilberto, e à minha amiga Carla pelos bons momentos e pela ajuda nas alturas difíceis da realização desta tese.

Ao Paulo, pela ajuda essencial na construção dos microcosmos usados neste trabalho.

Ao Luís, pelo apoio, carinho e paciência constantes. A sua permanente disponibilidade na resolução de problemas informáticos foram de uma contribuição fundamental para a realização deste trabalho.

Aos meus pais e irmãs, companheiros insuperáveis, o meu mais terno agradecimento. Á minha irmã Maria João um especial agradecimento pela ajuda essencial, no trabalho de campo, nas incubações e no grafismo da tese.

Finalmente, quero agradecer, de uma maneira geral, a todos aqueles que contribuíram, de alguma forma para a realização deste trabalho.

Índice

<i>Capítulo 1 - Introdução</i>	<i>1</i>
1.1 Contribuições Principais e Estudos Realizados no Estuário do rio Douro	4
1.2 Objectivos	5
<i>Capítulo 2 - Material e Métodos</i>	<i>7</i>
2.1 Descrição da Área de Estudo	7
2.2 Locais e Estratégia de Amostragem	9
2.3 Programa Experimental	11
2.4 Procedimento Analítico	16
2.5 Tratamento dos Dados	26
<i>Capítulo 3 - Variáveis Ambientais e Biológicas</i>	<i>27</i>
3.1 Introdução	27
3.2 Resultados	29
3.3 Discussão	38
<i>Capítulo 4 - Produção Primária e Respiração</i>	<i>43</i>
4.1 Introdução	43
4.2 Resultados	45
4.3 Discussão	54

ÍNDICE

<i>Capítulo 5 - Fluxos de Nutrientes entre Coluna de Água/Sedimento</i>	63
5.1 Introdução	63
5.2 Resultados	65
5.3 Discussão	83
<i>Capítulo 6 - Conclusões</i>	95
6.1 Perspectivas Futuras	98
Referências Bibliográficas	99

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1- Datas das campanhas de amostragem para as três áreas de estudo.</i>	10
<i>Tabela 2 – Volume total de amostra, diluição, número de réplicas, precisão e limites de detecção dos métodos de análise de nutrientes usados no presente trabalho.</i>	17
<i>Tabela 3 –Parâmetros físico-químicos (média ± desvio padrão) e razão N/P, determinados na água de incubação usada nas três zonas de estudo e nas quatro campanhas de amostragem.</i>	37
<i>Tabela 4 - Valores médios e respectivo desvio padrão, da variação da temperatura e irradiação durante o período de incubações realizadas para o estudo da produção primária e respiração (duas horas).</i>	38
<i>Tabela 5 - Valores médios e respectivo desvio padrão, da variação da temperatura e irradiação durante o período das várias incubações realizadas para o estudo do fluxo de nutrientes (6-8 horas).</i>	38
<i>Tabela 6 – Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de produção primária líquida e 12 parâmetros: respiração(RESPI); percentagem de matéria orgânica (%MO) e de água no sedimento de superfície (%Água); concentração de clorofila a (Cla) e feopigmentos a (Feop) no sedimento de superfície; irradiação (Irrad) e temperatura (Temp) durante o período de incubação; concentração de nutrientes (PO_4^{3-}; NH_4^+; NO_3^-, Si) e oxigénio (O_2) na água, no início da incubação.</i>	49
<i>Tabela 7- Valores do coeficiente de correlação entre taxa de respiração e 13 parâmetros: produção primária líquida (PPL); percentagem de matéria orgânica (%MO) e de água (%Água) à superfície do sedimento, concentração de clorofila a (Cla) e feopigmento a (Feop) à superfície do sedimento; temperatura (Temp) durante o período de incubação; concentração de nutrientes (NH_4^+, NO_3^-, NO_2^-, PO_4^{3-}, Si) e oxigénio (O_2) no início da incubação; pH da água intersticial.</i>	53
<i>Tabela 8 - Comparação da produção primária líquida microfotobêntica, em sistemas de sedimento intertidal e subtidal geograficamente distintos.</i>	61
<i>Tabela 9 - Comparação das taxas de respiração das comunidades bênticas, em sistemas de sedimento intertidal e subtidal geograficamente distintos.</i>	62
<i>Tabela 10 - Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de fluxo de cada nutriente (NH_4^+; NO_3^-; NO_2^-; PO_4^{3-}; Si) e a sua respectiva concentração na coluna de água no início da incubação</i>	78

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 11 – Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de absorção de nutrientes por parte do sedimento com a taxa de produção primária líquida (PPL) e a concentração de clorofila a (Cla) à superfície do sedimento.</i>	80
<i>Tabela 12 - Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de absorção de nutrientes por parte do sedimento com a taxa de respiração (RESP) e a percentagem de matéria orgânica (%MO) à superfície do sedimento.</i>	81
<i>Tabela 13 - Fluxos de nutrientes entre o sedimento e coluna de água ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$) em alguns sistemas intertidais e subtidais temperados, incluindo as incubações realizadas no escuro e as realizadas na presença de luz.</i>	93

Índice de Figuras

<i>Figura 1 – Localização do rio Douro, respectivas barragens e estuário.</i>	8
<i>Figura 2- Localização das estações de amostragem,:(I) Areão intertidal; (II) Vasa de sapal intertidal; (III) Areão intertidal sujeito a descargas de esgotos urbanos. (fotografia aérea do sector inferior estuário do rio Douro, 1994, Instituto Cartográfico, Lisboa)</i>	11
<i>Figura 3- Microcosmo usado para a avaliação das trocas de nutrientes e oxigénio entre o sedimento e coluna de água.</i>	12
<i>Figura 4- Diagrama da metodologia experimental usada na determinação das trocas de nutrientes e oxigénio entre o interface sedimento/coluna de água.</i>	15
<i>Figura 5 –Concentração de clorofila a em sedimentos lodoso e arenoso sujeitos a quatro tratamentos distintos de extracção: 1-Solução de acetona a 90%; 2- Solução de 45acetona:45metanol:10água; 3- Solução de acetona a 90% e sonicação; 4- Solução de 45acetona:45metanol:10água e sonicação.</i>	25
<i>Figura 6 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da percentagem de matéria orgânica (%MO) nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.</i>	30
<i>Figura 7 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da concentração de clorofila a (colunas) e concentração de feopigmentos a (linhas) à superfície do sedimento, nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.</i>	32
<i>Figura 8 – Variação sazonal das classes granulométricas dos sedimentos da zona de sapal (estação I).</i>	33
<i>Figura 9 - Variação sazonal das classes granulométricas dos sedimentos da zona de areão (estação II).</i>	34
<i>Figura 10 - Variação sazonal das classes granulométricas dos sedimentos da zona de areão sujeito a descargas de esgotos (estação III).</i>	34
<i>Figura 11 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da percentagem de água à superfície do sedimento, nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapa; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.</i>	35

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 12- Variação sazonal (média ± desvio padrão) da taxa de produção primária líquida nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.</i>	46
<i>Figura 13 - Variação sazonal (média ± desvio padrão) da taxa de respiração nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.</i>	47
<i>Figura 14-Relação Linear entre a concentração de clorofila a e a PPL: a-zona I, sapal b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos; d- três zonas de estudo.</i>	50
<i>Figura 15 – Relação entre taxa de respiração (RESP) e taxa de produção primária líquida (PPL) das comunidades bênticas, na zona de areão intertidal.</i>	52
<i>Figura 16 - Valores do índice metabólico (PPB/RESP) nas três zonas de amostragem em diferentes estações do ano (média ± desvio padrão). A barra horizontal representa P/R=1.</i>	54
<i>Figura 17 –Variação mensal da fixação de carbono fitoplanctônica e microfítobêntica (1998/99).</i>	59
<i>Figura 18 - Exemplos da evolução dos nutrientes na água dos microcosmos durante o período de incubação: a – Fosfatos; b – Amônia; c – Nitratos; d – Nitritos; e - Sílica.</i>	66
<i>Figura 19 - Variação sazonal (média ± desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de amônia (NH₄⁺), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.</i>	68
<i>Figura 20 - Variação sazonal (média ± desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de nitratos (NO₃⁻), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz.</i>	70
<i>Figura 21 - Variação sazonal (média ± desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de nitritos (NO₂⁻), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz.</i>	72
<i>Figura 22 - Variação sazonal (média ± desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de fosfatos (PO₄³⁻), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz.</i>	74
<i>Figura 23 - Variação sazonal (média ± desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de sílica (Si), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz.</i>	76

Capítulo 1

Introdução

Os estuários podem ser considerados como zonas de transição funcionais entre os habitats de água doce e marinho, embora as suas características físicas e biológicas mais importantes não sejam de transição, mas sim específicas (Odum, 1971). Alguns autores desenvolveram diferentes esquemas de classificação dos vários tipos de estuários baseados nas características geológicas (Pritchard, 1967), no tipo de circulação/estratificação da água (Pritchard, 1967a) e segundo a energética do sistema (Odum *et al.*, 1969).

Não existe um estuário padrão. A relativa importância dos processos biológicos, químicos e físicos variam consideravelmente entre os vários ecossistemas estuarinos e dentro do mesmo estuário, de acordo com as diferentes escalas temporais e espaciais.

O papel desempenhado pelos estuários, enquanto recurso natural (Ketchum, 1969), emerge do seu posicionamento de interface entre dois ecossistemas. Daí resulta a passagem ininterrupta de nutrientes e matéria orgânica de origem continental, que se submetem a uma variedade de processos físicos, geológicos, químicos e biológicos durante a sua permanência no interior do estuário (Smith *et al.*, 1987; Joye & Pearl, 1993).

A disponibilidade de nutrientes e matéria orgânica nos estuários é função das taxas de entrada no sistema e das próprias taxas de produção e remoção (Seitzinger, 1990). As fontes naturais de nutrientes e matéria orgânica de um estuário podem ser o próprio rio e a

zona costeira adjacente, a drenagem das margens assim como a precipitação. Paralelamente, os estuários estão sujeitos a constantes descargas de origem antropogénica tais como os esgotos urbanos, a actividade agrícola e industrial, que contribuem significativamente para o aumento da carga orgânica e a acumulação de nutrientes dentro do sistema estuarino (Ogilvie *et al.*, 1997; Van Luijn *et al.*, 1999). A actividade microbiana domina os processos de decomposição e reciclagem dos nutrientes, assumindo uma função importante em toda a estrutura biológica dum estuário (Day *et al.*, 1989).

As zonas inferiores e médias dos estuários caracterizam-se por possuírem áreas intertidais sujeitas a drásticas variações ambientais causadas pelo ciclo das marés, erosão da superfície do sedimento, bruscas variações de salinidade, temperatura e luminosidade (Gouleau *et al.*, 1994; MacIntyre *et al.*, 1996). Estes sedimentos intertidais funcionam como um habitat adequado à proliferação de comunidades microbianas de estrutura laminada, habitualmente designadas por “microbial mats” (Cohen & Rosenberg, 1989; Joye & Paerl, 1993). Estas comunidades são constituídas por organismos de grande diversidade taxonómica e metabólica (Pearl *et al.*, 1996), que estão fortemente associados em termos de trocas de substratos e em termos fisiológicos (Joye & Paerl, 1994). Em apenas poucos milímetros de profundidade, assiste-se a um espectro fisiológico que vai de organismos autotróficos aos heterotróficos (Joye *et al.*, 1996). A variabilidade vertical da irradiação, pH, oxigénio, sulfureto de hidrogénio e nutrientes em escala milimétrica foi descrita para inúmeros ecossistemas bênticos (Jorgensen & Revsbech, 1983; Revsbech *et al.*, 1983; Jorgensen & Des Marais, 1988). Estas observações demonstraram fortes gradientes entre as zonas subsuperficiais com ausência total de luz, anaeróbias, e a superfície dos sedimentos iluminada e aeróbia (MacIntyre *et al.*, 1996).

A superfície oxigenada dos sedimentos intertidais, mantida através da presença de organismos fotossintéticos e do próprio hidrodinamismo, exercem um extraordinário controlo nos processos químicos e biológicos de um estuário (Bouldin, 1968; Baillie, 1985). Quimicamente, o fluxo de muitos nutrientes dependem do regime redox da água intersticial e adjacente (Klump & Martens, 1981). Biologicamente, o balanço entre os

processos de respiração e fermentação no catabolismo dos detritos é regulado pelas características aeróbias e anaeróbias dos sistemas bentônicos (Rizzo, 1990). A sobrevivência das bactérias aeróbias obrigatórias e a respiração da infauna e inflora também dependem da disponibilidade de oxigênio livre na água intersticial dos sedimentos (Baillie, 1985).

Em muitos ecossistemas estuarinos, a dinâmica dos nutrientes e oxigênio nos sedimentos exerce uma importante influência nas características da coluna de água (Zeitzschel, 1980; Koop *et al.*, 1990, Cowan *et al.*, 1996). As trocas de metabolitos entre o interface sedimento/coluna de água são processos importantes na regulação da distribuição dos nutrientes na coluna de água e assumem grande influência nos ciclos biogeoquímicos de vários elementos (Rizzo, 1990; Dollar *et al.*, 1991).

Os microrganismos autotróficos que habitam os sedimentos intertidais contribuem significativamente para a produção primária total do sistema estuarino (Nienhuis & de Bree, 1984). Quando a vegetação macrófita é escassa, as comunidades microfitobênticas passam a ser os principais produtores primários das zonas intertidais (Admiraal & Brouwer, 1984; Colijn & de Jonge, 1984). No que diz respeito ao metabolismo líquido total de um ecossistema (Caffrey *et al.*, 1998), as zonas intertidais que albergam as comunidades microfitobênticas podem funcionar como um subsistema de extrema importância. Já que o metabolismo líquido destas comunidades é, normalmente, autotrófico, ou seja as taxas diárias de produção primária excedem a taxas diárias de respiração da comunidade (Pomeroy, 1959; Caffrey *et al.*, 1998; Rizzo *et al.*, 1992; Uthicke & Klumpp, 1998), funcionam como um sistema exportador de energia para as águas mais fundas do estuário, assim como para a plataforma continental adjacente. Deste modo, as comunidades microfitobênticas constituem uma componente chave do ciclo do carbono nos ecossistemas estuarinos, podendo contribuir substancialmente para o balanço global de carbono de todo o estuário (Charpy-Roubaud & Sournia, 1990; de Jonge & van Beusekom, 1992; de Jonge, 1995; Barranguet, 1997). Vários autores têm demonstrado que o microfitobentos constitui uma importante reserva alimentar para um grande número de

animais, incluindo necton, plancton e bentos (Gould & Gallagher, 1990; Miller *et al.*, 1996; Pace & Carman, 1996; Riera *et al.*, 1996)

A diversidade de transformações biogeoquímicas que ocorrem na zona de interface superfície do sedimento/coluna de água, têm magnitude suficiente para poderem ser consideradas como um componente importante no cálculo dos balanço global em termos de carbono, oxigénio e nutrientes de um sistema estuarino (Koop *et al.*, 1990).

1.1 Contribuições Principais e Estudos Realizados no Estuário do rio Douro

Alguns trabalhos de investigação têm vindo a ser realizados no estuário do rio Douro, dando ênfase particular ao compartimento planctónico. Os estudos da dinâmica do fitoplancton e bacterioplancton iniciaram-se a partir de meados dos anos oitenta (Bordalo, 1988; Bordalo, 1991). Estes trabalhos contribuíram para um conhecimento do metabolismo planctónico. Do ponto de vista bacteriológico, vários estudos foram realizados no sentido compreender o impacto da actividade humana (Bordalo, 1988), o efeito da salinidade (Bordalo, 1993) e o impacto das cheias (Bordalo, 1990), no estuário do rio Douro. Ainda no compartimento pelágico desenvolveram-se trabalhos no sentido de avaliar a dinâmica das populações de vírus na coluna de água (Bordalo & Lobo-da-Cunha, 1994), assim como o contributo do estuário para o balanço global de CO₂ (Frankignoulle *et al.*, 1998). Paralelamente, têm sido desenvolvidos estudos sobre a hidrodinâmica e intrusão salina (Bordalo, 1997; Vieira & Bordalo, submetido).

A partir de 1997 iniciou-se o estudo da dinâmica zoobêntica no sector inferior do estuário do rio Douro e a sua relação com gradientes de contaminação orgânica e por metais pesados (Mucha *et al.*, 1998). Anteriormente fora já estudada, a contaminação por metais pesados dos bancos intertidais do estuário (Bordalo *et al.*, 1988). O primeiro

trabalho realizado no sentido de avaliar a biomassa microfitobêntica, teve um carácter preliminar (Galhano, 1973).

Tendo presente o referido anteriormente, este trabalho representa o primeiro estudo sobre a produção primária e respiração das comunidades microbênticas no estuário do rio Douro, contribuindo para um conhecimento integrado (compartimento planctónico e bentónico) do metabolismo total do sistema estuarino do rio Douro. Com a realização deste estudo, tentou-se, igualmente, compreender a influência dos sedimentos intertidais e suas comunidades biológicas na concentração de nutrientes na coluna de água. Este aspecto assume particular interesse, tendo em conta o enriquecimento em nutrientes, de origem antropogénica, a que está constantemente sujeito o estuário do rio Douro.

As margens do estuário do rio Douro estão sujeitas a um desenvolvimento crescente de actividades humanas. Deste modo, estão patentes alterações ambientais, devido à poluição urbana, agrícola e industrial, aterros das margens e dragagens que afectam directamente a qualidade da água e dos sedimentos. Sendo assim, a contribuição do presente trabalho no conhecimento das comunidades microbênticas dos bancos intertidais do estuário do rio Douro revela-se essencial para a formulação de estratégias de conservação e para a correcta gestão do ecossistema.

1.2 Objectivos

O trabalho de investigação desenvolvido no âmbito desta tese de mestrado, teve dois objectivos principais:

1. Avaliar o metabolismo das comunidades bênticas do banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro, através da determinação das taxas de produção primária e respiração. Pretendeu-se, deste modo compreender a contribuição das comunidades microfitobênticas na produtividade primária do sistema estuarino em causa.

2. Determinação dos fluxos de nutrientes (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , Si) entre o sedimento e a coluna de água de modo a avaliar a função dos sedimentos intertidais estuarinos na concentração dos nutrientes na coluna de água.

Capítulo 2

Material e Métodos

2.1 Descrição da Área de Estudo

O Rio Douro nasce na serra do Urbião, em Espanha a 2070 m de altitude. A sua bacia hidrográfica estende-se por uma superfície de 97 600 Km² e em território português, cobre uma área com cerca de 18 600 Km² (INAG/COBA, 1995). Após ter percorrido 930 Km, o rio desagua no Oceano Atlântico entre as cidades de Porto e Vila Nova de Gaia (41°08'30'' N ; 08°40'W).

Nos últimos quarenta e cinco anos foram construídos dez complexos hidroeléctricos no troço nacional e internacional do rio Douro. A última barragem a ser construída, foi Crestuma-Lever, entrou em funcionamento no Verão de 1985. A partir desta data, o limite superior do estuário do rio Douro ficou estabelecido, tendo este, actualmente, uma extensão de aproximadamente 21,6 Km (Figura 1), entre a barragem de Crestuma-Lever e a restinga do Cabedelo. No estuário, o rio corre num vale encaixado e, somente a 2,9 Km da barra, ocorre o alargamento das margens, atingindo a largura máxima de 1300 m. Esta zona, entre a ponte da Arrábida e o Cabedelo foi definida por Bordalo (1991) como sendo o sector inferior do estuário do rio Douro (Figura 1), correspondendo ao limite superior de

intrusão salina no Inverno. A barra encontra-se parcialmente obstruída por uma língua de areia extremamente flexível na sua morfologia, reflexo da variabilidade hidrodinâmica presente nesta zona de interface entre o meio marinho e o estuário, propriamente dito.

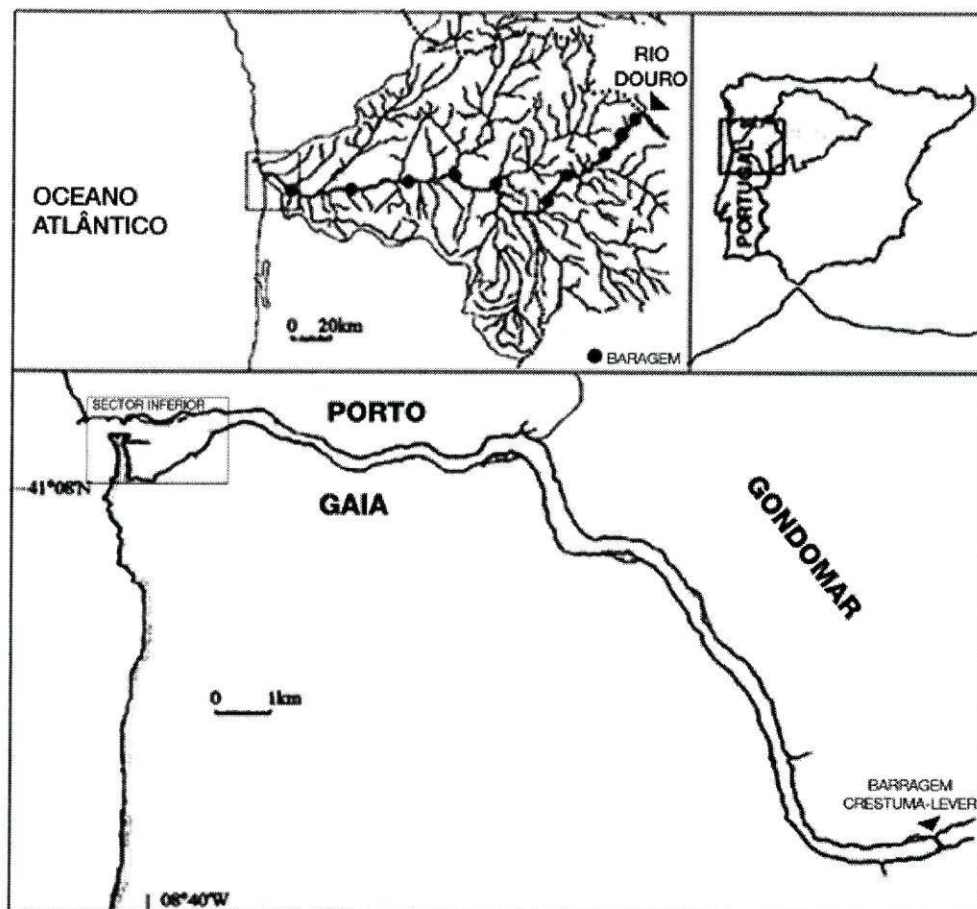


Figura 1 – Localização do rio Douro, respectivas barragens e estuário.

Nas margens do estuário desenvolveram-se três concelhos ribeirinhos (Porto, Vila Nova de Gaia e Gondomar), que exercem uma grande pressão antropogénica sobre o ecossistema e cujas consequências reais estão por avaliar. Por exemplo, o concelho do Porto, com um total de cerca de 288 000 habitantes (INE, 1993), não possui ainda qualquer sistema de tratamento de águas residuais a funcionar, sendo a quase totalidade destas águas despejadas directamente no estuário do rio Douro (Bordalo, 1997). Para além de receptor de efluentes não tratados, o estuário, também é utilizada para actividades de lazer (banhos,

pesca desportiva, desportos náuticos etc.) e fins comerciais (pesca profissional, navegação fluvial de turismo e navegação entre rio e mar de granel).

O estuário tem uma profundidade média de 8,2 m (Vieira & Bordalo, submetido), possui um canal de navegação com 6 m de profundidade e 60 m de largura, mantido à custa de sucessivas dragagens.

A coluna de água apresenta uma baixa transparência (1,5 m pelo disco de Secchi, média 1985-94, *in* Bordalo, 1997) fruto do intenso transporte, deposição e ressuspensão de partículas que ocorre no interior do estuário.

A intrusão salina ocorre pelo fundo, através do canal de navegação. A sua extensão depende da conjugação entre o caudal do rio e a maré, sendo variável ao longo do ano (Bordalo, 1991; Bordalo, 1997).

No estuário as marés são semi-diurnas espaçadas, sensivelmente de 6 horas. A amplitude máxima ronda 3,7 m na embocadura e 3,5 m no sector superior do estuário (Bordalo, 1997). O efeito das marés criam a existência de algumas zonas intertidais de extensão limitada, fruto da morfologia das margens. O maior banco intertidal encontra-se na zona terminal do estuário, correspondendo a 40% da área total do sector inferior. Estas zonas são maioritariamente constituídas por sedimentos arenosos. A progressiva utilização das margens reduziram fortemente as zonas de sapal (Bordalo, 1997).

2.2 Locais e Estratégia de Amostragem

Todos os processos que ocorrem nas zonas intertidais estuarinas estão sujeitos à influência de inúmeros factores entre os quais, as marés, o caudal do rio, a intrusão salina, irradiação, temperatura, que se caracterizam por forte variabilidade espacial e temporal. O estudo dos vários processos pode ser feito segundo várias escalas temporais de modo a avaliar a flutuações *in situ* a curto e a longo prazo.

No presente trabalho, tendo em consideração os objectivos e os recursos humanos e materiais disponíveis, as amostragens foram realizadas de modo a investigar a variabilidade sazonal e espacial dos processos em estudo. Deste modo, em três zonas

intertidais distintas do sector inferior do estuário do rio Douro (Figura 2), foram realizadas quatro campanhas de amostragem, sempre em situação de baixa mar, durante o período 1998-1999, abrangendo assim as quatro estações do ano: Primavera, Verão, Outono e Inverno (Tabela 1).

Tabela 1- Datas das campanhas de amostragem para as três áreas de estudo.

	<i>Primavera</i>	<i>Verão</i>	<i>Outono</i>	<i>Inverno</i>
<i>Área de Estudo I e II</i>	14-05-98	23-07-98	19-10-98	2-2-99
<i>Área de Estudo III</i>	25-05-98	06-08-98	12-10-98	27-1-99

Os três locais de amostragem foram escolhidos de modo a abranger dois tipos de sedimento intertidal existentes no estuário inferior, assim como detectar a eventual influência de esgotos urbanos nos processos estudados (Figura 2). Assim, a área de estudo designada por I (41°08'15'' N; 8°39'42'' W) é uma zona de sapal, com sedimento vasoso e muito compacto, ocupa uma área total de aproximadamente 500 m² da zona intertidal na margem esquerda do sector inferior do estuário. A área de estudo designada por II (41°08'23'' N; 8°39'34'' W) é uma zona de sedimento arenoso muito poroso, sendo este tipo de sedimento representativo da maior parte do banco intertidal (aproximadamente 6500 m²). Em relação ao terceiro local de amostragem (41°38'6'' N; 8°38'54'' W), também é constituído por sedimento do tipo arenoso, mas está sujeito à descarga constante de esgotos urbanos não tratados.

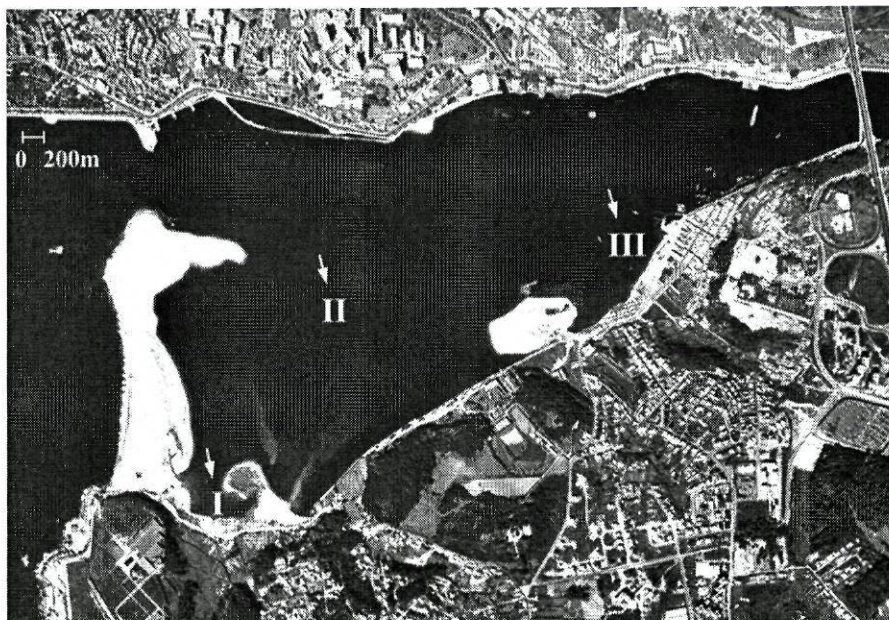


Figura 2- Localização das estações de amostragem,:(I) Areão intertidal; (II) Vasa de sapal intertidal; (III) Areão intertidal sujeito a descargas de esgotos urbanos. (fotografia aérea do sector inferior estuário do rio Douro, 1994, Instituto Cartográfico, Lisboa)

2.3 Programa Experimental

Para o estudo dos fluxos de nutrientes e avaliação da produção primária, foram construídos microcosmos de vidro acrílico transparente (polimetacrilato de metilo) com 11 cm de diâmetro interno e 12 cm de altura. A tampa superior dos microcosmos, transparente, possuía dois orifícios, usados para encher o microcosmo com água e para colher amostras durante o período de incubação (Figura 3).

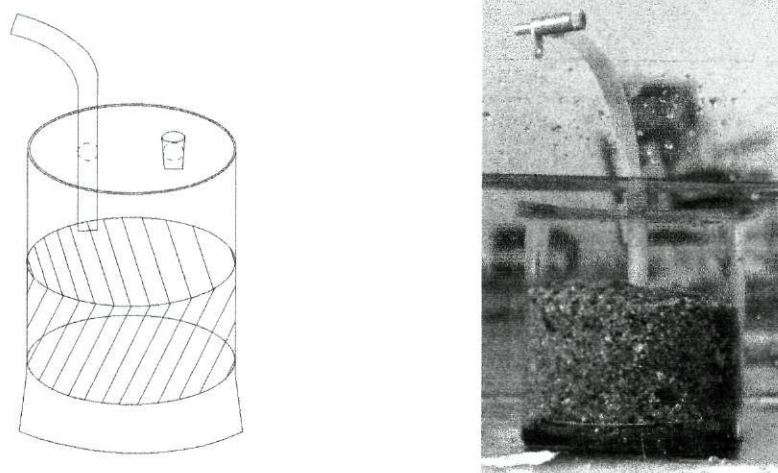


Figura 3- Microcosmo usado para a avaliação das trocas de nutrientes e oxigênio entre o sedimento e coluna de água.

As amostras de sedimento foram colhidas usando os próprios tubos dos microcosmos. Deste modo, cada tubo foi introduzido no sedimento e pressionado até à profundidade de 7-8 cm. Os cores foram removidos com todo o cuidado para evitar a perturbação do sedimento. A base do tubo foi vedada com uma rolha de cortiça envolvida em várias camadas de parafilm. Em cada área de estudo e por campanha de amostragem, foram colhidos seis cores. As amostras foram colocadas ao abrigo da luz, refrigeradas e transportadas para o laboratório no tempo máximo de uma hora.

No laboratório, os cores foram mantidos húmidos, no escuro até ao dia seguinte. Nessa altura, (entre as 8 h e as 9 h da manhã), os microcosmos foram cheios com água do respectivo local de amostragem previamente filtrada por $0,2 \mu\text{m}$ (Schleicher & Schuell, OE-56), com o cuidado de evitar a ressuspensão da superfície do sedimento e a presença de bolhas de ar no interior do sistema. A filtração da água sobrenadante permitiu eliminar a maioria dos seres vivos planctónicos e estimar os fluxos de oxigênio e nutrientes devido exclusivamente aos processos bentónicos. Os microcosmos foram incubados à luz natural num banho de água transparente com circulação constante, de modo a manter a temperatura à superfície do sedimento *in situ* (Joye *et al.*, 1996). A variação da intensidade

luminosa durante o período de incubação foi registada em intervalos regulares de 15 minutos (Luxímetro HD-8366).

Dos seis microcosmos, três foram envoltos em camadas sucessivas de papel de alumínio, de modo a excluir o efeito da fotossíntese nos processos estudados. Paralelamente, foram incubados microcosmos na presença e ausência de luz, em triplicado, apenas com água do local de amostragem filtrada por 0,2 µm, servindo como controlos.

Os fluxos de nutrientes entre o sedimento e a coluna de água foram determinados através de medições directas (Teague *et al.*, 1988; Sundback *et al.*, 1991; Miller-Way, 1994; Barranguet *et al.*, 1994; Cowan *et al.*, 1996). Durante o período de incubação, de aproximadamente 6 a 8 h, foram feitas 5 colheitas intercaladas de água (55 ml) em cada microcosmo (Figura 4). As determinações das concentrações dos nutrientes (µM) nos diferentes tempos de incubação foram corrigidas para o volume de água correspondente no microcosmo, para cada tempo de colheita (µmol). Antes de cada colheita, a coluna água do interior do microcosmo foi suavemente homogeneizada com uma vareta de plástico. Estas subamostras foram filtradas por 0,45 µm e imediatamente congeladas (-21 °C) em frascos de plástico para posterior análise da fracção dissolvida de nutrientes (NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻, PO₄⁻ e Si).

Os fluxos de cada nutriente foram estimados usando o declive da recta de regressão linear entre a variação da quantidade do nutriente (µmol) durante o período de incubação (Barbanti *et al.*, 1992;) seguindo a seguinte equação:

$$F = \left(\frac{\alpha}{A \times t} \right) \times 10^4 \quad (1)$$

em que,

F - fluxo de cada nutriente em µmol m⁻² h⁻¹,

α - declive da recta de regressão linear entre a concentração do nutriente e o tempo de incubação

A - área de sedimento amostrado (cm).

t - tempo de incubação (h)

Os fluxos positivos indicam libertação líquida do nutriente por parte do sedimento, enquanto que os fluxos negativos indicam absorção líquida do respectivo nutriente pelos

sedimentos. Os fluxos nulos significam que não foram registadas alterações nas concentrações dos nutrientes na água sobrenadante durante todo o período de incubação.

A produção primária foi estimada, em simultâneo, através da avaliação do fluxo de oxigénio entre a coluna de água e o sedimento (Hargrave *et al.*, 1983) durante as primeiras duas horas de incubação (Zedler, 1980; Rizzo & Wetzel, 1985; Brotas & Catarino, 1995). Para tal, as amostras foram colhidas antes e após o período de incubação, directamente para frascos de BOD de 50 ml (Figura 4). O método usado baseia-se no pressuposto de que o oxigénio produzido, (produção primária bruta) é igual à diferença entre a produção de oxigénio na incubação à luz (produção primária líquida) e o consumo de oxigénio que se verifica na incubação no escuro (respiração). A linearidade da relação concentração de oxigénio da água adjacente com o tempo foi assumida, visto que estudos realizados por outros autores o comprovaram (Nowicki & Nixon, 1985).

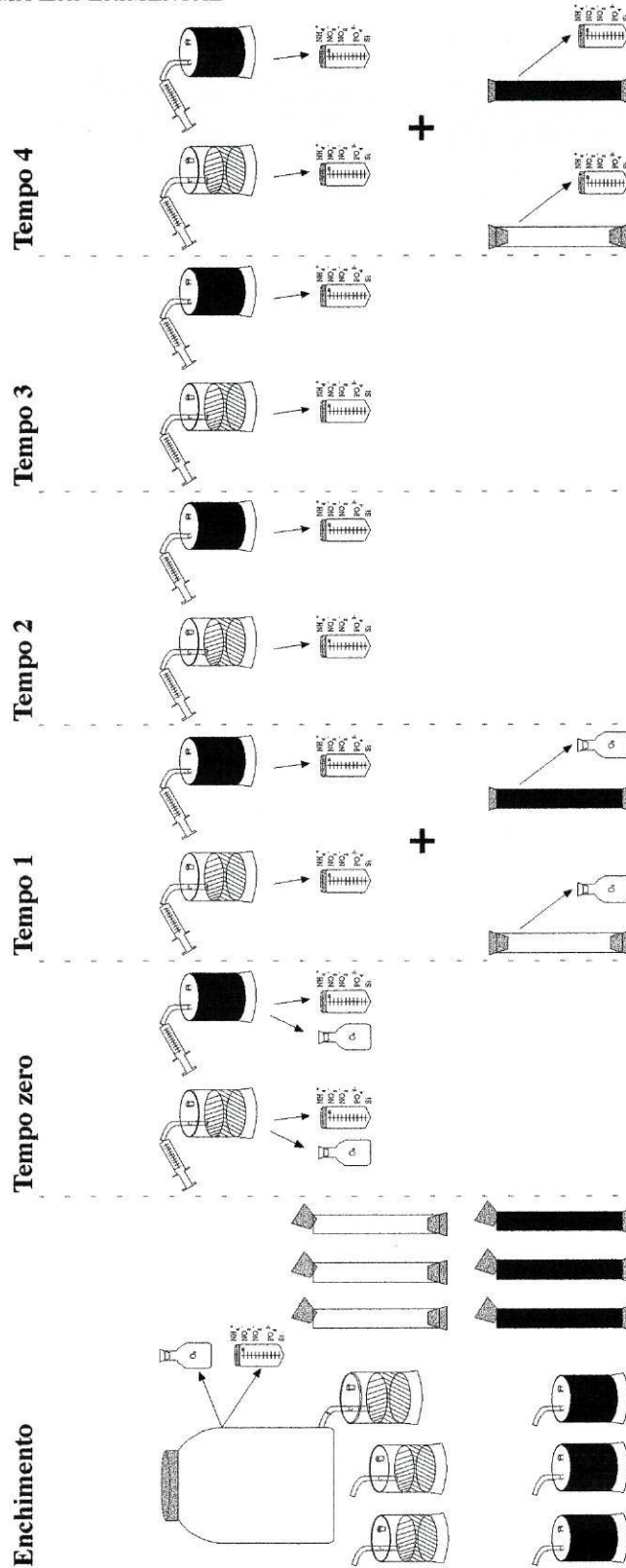


Figura 4- Diagrama da metodologia experimental usada na determinação das trocas de nutrientes e oxigénio entre o interface sedimento/coluna de água.

2.4 Procedimento Analítico

2.4.1 Lavagem do Material

Todo o material utilizado na amostragem, transporte, armazenamento e análise das amostras colhidas foi previamente lavado em água corrente e, de seguida, imerso em água com detergente com concentrações mínimas de amónia e fosfatos durante 2 a 4h. Posteriormente, o detergente foi removido com água corrente e o material submergido numa solução de HCl a 10% durante pelo menos 12 h, com o objectivo de precipitar os nutrientes eventualmente presentes nas paredes do material. Por fim todo o material foi lavado com água desionizada (desionizador de leito misto), seco na estufa e armazenado em sacos de plástico fechados.

Os filtros de membrana (Schleicher & Schuell, ME-25) usados na filtração das amostras de água foram, igualmente, descontaminados através da passagem de 30 ml de HCl a 10% seguido de 60 ml de água desionizada.

2.4.2 Medições “in situ”

Nas três zonas de amostragem e em todas as campanhas realizadas, foi determinada a temperatura da superfície do sedimento assim como o pH da água intersticial com o aparelho HANNA, HI 9023. A salinidade da água intersticial e da usada no enchimento dos microcosmos, foi medida com o aparelho YSI 33. As sondas usadas para a determinação destes parâmetros foram previamente calibradas.

2.4.3 Nutrientes

Os métodos analíticos usados na determinação da concentração dos nutrientes (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} e Si) nas amostras de água, foram realizados manualmente por espectrofotometria (Spectronic, modelo 601).

Cada amostra foi analisada em triplicado, tendo-se usado um volume total de 15 ml. No caso da sílica e nitratos, por estarem presentes em elevadas concentrações, foram realizadas diluições no sentido de economizar a amostra (Tabela 2).

A concentração de nutrientes nas amostras foi determinada, através de rectas padrão obtidas por leitura de quatro padrões de concentrações diferentes, preparados no próprio dia. Estas curvas de calibração foram realizadas sempre que se processaram amostras.

Todos os métodos foram testados inicialmente para a água estuarina do rio Douro, com o objectivo de detectar possíveis interferências. Para tal, foi realizado, para cada nutriente em causa, uma recta padrão com água destilada e paralelamente uma outra com a água colhida nas zonas de amostragem.

Todos os reagentes utilizados na análise dos nutrientes eram de qualidade analítica, a fim de minimizar o risco de contaminação, principalmente nas amostras com baixas concentrações de nutrientes. As características da água desionizada utilizada foram suficientes para não afectar a qualidade analítica dos métodos.

Na Tabela 2 estão patentes os limites de detecção (valor médio do branco mais duas vezes o desvio padrão) e a precisão (valores do coeficiente de variação entre as réplicas) dos métodos analíticos usados para a determinação da concentração dos nutrientes.

Tabela 2 – Volume total de amostra, diluição, número de réplicas, precisão e limites de detecção dos métodos de análise de nutrientes usados no presente trabalho.

	<i>Precisão</i>	<i>Limite de Detecção</i>	<i>Diluição</i>	<i>Volume Total</i>	<i>Réplicas</i>
<i>Sílica</i>	0,5-5%	0,5 μ M	5 \times	3 ml	3
<i>Fosfato</i>	0,3-5%	0,03 μ M	n	15 ml	3
<i>Amónia</i>	0,2-8%	0,1 μ M	n	15 ml	3
<i>Nitrito</i>	0,1-7%	0,02 μ M	n	15 ml	3
<i>Nitrato</i>	0,3-6%	0,3 μ M	5 \times	3 ml	3

n – sem diluição

2.4.3.1 Sílica

Para a determinação da sílica dissolvida na água (Si(OH)_4) foi usado o método desenvolvido por Koroleff (*in* Grasshoff *et al.*, 1983). Este método baseia-se na formação do ácido silicomolíbico, de cor amarela, quando uma amostra de água é tratada com uma solução de molibdato de amónia. Visto a cor amarela desenvolvida ser pouco intensa, este composto deve ser reduzido, adicionando-se ácido ascórbico à solução, dando origem a uma cor azul forte. A adição de ácido oxálico imediatamente antes da solução redutora previne a redução de molibdato que esteja em excesso na solução, assim como elimina a interferência de fosfatos presentes na amostra. Após aproximadamente 30 minutos de incubação, é formado um composto de cor azul, sendo este estável durante seis horas.

A densidade óptica das amostras foi determinada por espectrofotometria a 810 nm. A concentração de sílica presente na amostra de água foi calculada usando a seguinte equação:

$$Si = D \times (A_a - A_b) \times Dil \times Fs \quad (2)$$

em que,

Si - concentração de sílica dissolvidos na água em (μM),

D - declive da recta padrão,

A_a - valor de absorvância obtido para a amostra,

A_b - valor de absorvância obtido para a solução sem sílica,

Dil - factor de diluição,

FS - factor de salinidade segundo Koroleff (*in* Grasshoff *et al.*, 1983).

As amostras usadas na determinação da sílica não estiveram em contacto com vidro evitando-se, deste modo, possíveis contaminações (Grasshoff *in* Grasshoff *et al.*, 1983). A análise foi realizada cerca de uma semana após o início do processo de descongelação das amostras, ocorrido no frigorífico. Durante o processo de congelação a sílica polimeriza não ficando dissolvida na solução (Kobayashi, 1967), impossibilitando deste modo a sua detecção com o método anteriormente descrito. O tempo de aproximadamente uma semana foi encontrado como sendo o suficiente para se dar novamente a despolimerização da sílica e, deste modo, voltar a estar dissolvida na solução.

2.4.3.2 Fosfato

No presente trabalho a determinação de ortofosfatos (PO_4^{3-}) foi baseada no método de Koroleff (*in* Grasshoff *et al.*, 1983). De início os iões ortofosfatos reagem com uma solução de molibdato de amónia dando origem ao composto ácido fosfomolibdico. Este último é, depois, reduzido com a adição de uma solução de ácido ascórbico, formando-se o complexo fosfórico molibdato, de cor azul. O facto de se usar uma solução de ácido ascórbico como agente redutor, tem a vantagem de, por um lado, o complexo formado ser estável por várias horas e, por outro lado, a intensidade da cor azul não ser influenciada pela salinidade da amostra.

A densidade óptica foi medida por espectrofotometria a 880 nm e a concentração de fosfatos na solução foi determinada através da seguinte expressão:

$$\text{PO}_4^{3-} = D \times (A_a - A_b) \quad (3)$$

em que,

PO_4^{3-} - concentração de ortofosfatos dissolvidos na água em (μM),

D - declive da recta padrão,

A_a - valor de absorvância obtido para a amostra,

A_b - valor de absorvância obtido para a solução sem fosfatos.

2.4.3.3 Amónia

Para a quantificação da concentração de amónia (NH_4^+) nas amostras de água foi usado o método de Koroleff (*in* Grasshoff *et al.*, 1983). O presente método baseia-se no facto da amónia, em soluções moderadamente alcalinas, reagir com o hipoclorito formando o composto monocloramina. Este, por sua vez, na presença de um catalisador (nitroprussiato), fenol e hipoclorito em excesso dá origem a um complexo de cor azul intenso. A reacção demora cerca de 6 horas até se completar e a incubação é feita à temperatura ambiente, no escuro.

Durante o processamento das amostras não foi adicionado citrato, com o objectivo de causar a precipitação do hidróxido de magnésio presente na água salgada. Este, por sua

vez, absorve toda a matéria em suspensão e os ácidos húmicos, eliminando possíveis interferências destes últimos (Grasshoff *et al.*, 1983). Quando as amostras apresentavam uma salinidade inferior a 5 adicionou-se uma solução de magnésio. O precipitado formado depositou-se rapidamente no fundo do tubo onde se deu a reacção, ficando um sobrenadante opticamente límpido, cuja absorvância foi lida por espectrofotometria no comprimento de onda de 630 nm. A concentração de amónia nas amostras de água foi calculada segundo a equação:

$$NH_4^+ = D \times (A_a - A_b) \times FS \quad (4)$$

em que,

NH_4^+ - concentração de amónia na água (μM),

D - declive da recta padrão,

A_a - valor de absorvância obtido para a amostra,

A_b - valor de absorvância obtido para a solução sem amónia,

FS - factor de salinidade segundo Koroleff (*in* Grasshoff *et al.*, 1983).

2.4.3.4 Nitrito

O método usado para a determinação dos nitritos encontra-se descrito em Grasshoff *et al.* (1983). Este método baseia-se na reacção do nitrito com uma amina aromática (sulfanilamida) dando origem a um composto diazotado que, por sua vez, se liga a uma segunda amina aromática (N-(1-naftil)-etilenodiamina) formando um complexo cor-de-rosa cuja intensidade é proporcional à quantidade de nitrito na solução.

No caso deste nutriente, verificou-se que a presença de ácidos húmicos na água estuarina do rio Douro causava interferência na sua detecção. Deste modo, com o objectivo de eliminar o seu efeito, as amostras foram tratadas com uma solução de hidróxido de alumínio (American Public Health Association, 1971).

Após o processamento das amostras, a sua densidade óptica foi medida por espectrofotometria no comprimento de onda de 540 nm. A concentração de nitritos em cada amostra foi determinada a partir da seguinte equação:

$$NO_2^- = D \times (A_a - A_b) \quad (5)$$

em que,

NO_2^- - concentração de ortofosfatos dissolvidos na água (μM),

D - declive da recta padrão,

A_a - valor de absorvância obtido para a amostra,

A_b - valor de absorvância obtido para a solução sem nitritos.

2.4.3.5 Nitrato

A concentração de nitratos nas amostras foi determinada a partir do método descrito por Jones (1984) e adaptado por Joye & Chambers (1993). Este baseia-se na redução de nitratos a nitritos e subsequente determinação dos nitritos formados, sem recurso a uma coluna de cádmio. A redução é desencadeada agitando as amostras com uma quantidade apropriada de cádmio esponjoso, na presença de uma solução tampão de cloreto de amónia. As vantagens deste método, em relação à coluna de cádmio, prendem-se com a diminuição do tempo de execução e do volume da amostra (5 ml). Problemas com a deterioração progressiva das colunas de cádmio na capacidade de redução, são também ultrapassados.

Após a redução de nitratos a nitritos, seguiu-se a metodologia usada para a determinação dos nitritos. A concentração de nitratos em cada amostra foi determinada a partir da seguinte equação:

$$\text{NO}_3^- = \left((D \times (A_a - A_b)) - \text{NO}_2^- \right) \times C \quad (6)$$

em que,

NO_3^- - concentração de nitratos dissolvidos na água (μM),

D - declive da recta padrão,

A_a - valor de absorvância obtido para a amostra,

A_b - valor de absorvância obtido para a solução sem nitratos,

NO_2^- - concentração de nitritos na solução,

C - 1,2 factor de diluição do reagente cloreto de amónia.

2.4.4 Oxigénio Dissolvido

O método usado para avaliar o oxigénio dissolvido (OD em $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$) foi descrito por Carpenter (1965) e Carritt & Carpenter (1966). Estes autores desenvolveram uma modificação do método clássico de Winkler. O método baseia-se numa série de reacções químicas que vão converter o oxigénio dissolvido na amostra numa quantidade química equivalente de iodeto. Este, por sua vez, é quantificado por titulação, com uma solução padronizada de tiosulfato de sódio (0,01 N), usando uma solução de amido como indicador.

A técnica usada difere do método clássico de Winkler pelos reagentes usados serem mais concentrados, com a excepção do ácido sulfúrico. Este é mais diluído visto que a excessiva acidificação da amostra favorece a oxidação atmosférica do iodeto (Carritt & Carpenter, 1966). Estas modificações foram sugeridas no sentido de evitar ao máximo a perda de iodeto formado durante todo o processamento das amostras, tornando-o mais estável.

As amostras foram fixadas logo após a sua colheita em frascos de BOD de 50 ml e a titulação foi realizada após um período de 10-25 h. De cada frasco de 50 ml, previamente acidificado, foram retiradas três subamostras de 10 ml. Para a determinação da concentração de O_2 foi usado o valor médio obtido na titulação destas três réplicas, na seguinte equação:

$$DO = \left(\frac{(R - R_{bra}) \times V_{pad} \times N_{pad} \times E}{((R_{pad} - R_{bra}) \times (V_a - V_{reag}))} - DO_{reag} \right) / C \quad (7)$$

em que,

DO - concentração de O_2 dissolvido (mg/l),

R - quantidade de tiosulfato gasto durante a titulação da amostra (ml),

R_{bra} - quantidade de tiosulfato gasto durante a titulação do branco (ml),

V_{pad} - volume da solução padrão usado na calibração (10 ml),

N_{pad} - normalidade da solução padrão (0,01 N),

E - 5598 ml O_2 /equivalente (Carpenter, 1965),

R_{pad} - quantidade de tiosulfato gasto na titulação da solução padrão (ml),

V_a - volume da amostra titulada (10 ml),

V_{reag} - volume de reagentes introduzido em cada amostra (ml),

DO_{reag} - 0.018 quantidade de O_2 que é adicionada à amostra ao introduzir os

reagentes (Carpenter, 1965),
 $C - 22,4 \times 32$, constante de conversão de ml O₂/l em mg O₂/l.

A calibração do método foi realizada, medindo o oxigénio dissolvido em água destilada saturada com oxigénio, em condições de temperatura e pressão atmosférica conhecidas (NOAA, 1997). Posteriormente o valor obtido foi comparado com o valor esperado segundo tabelas de calibração da NOAA (1997).

Antes do processamento das amostras foi sempre efectuada a padronização do método assim como a determinação do branco segundo Carpenter (1965) e Carritt & Carpenter (1966), com o objectivo de testar, respectivamente, as condições do reagente tiosulfato e dos outros reagentes usados na fixação da amostra.

2.4.5 Caracterização do Sedimento

2.4.5.1 Conteúdo em água

Para a avaliação da quantidade de água presente à superfície do sedimento foram colhidos cores de 5 ml (5 réplicas de 0,5 cm de profundidade), em cada estação de amostragem e por campanha. No laboratório as amostras foram secas até peso constante a 65 °C e a percentagem de água por peso total de sedimento fresco foi determinada.

2.4.5.2 Matéria Orgânica

Após terminada a experiência para o estudo do fluxo de nutrientes e produção primária, foram colhidos, em cada microcosmos, três subcores, com a ajuda de uma seringa aberta de 5 ml, (1 cm de diâmetro e 0.5 cm de profundidade) para a avaliação da percentagem de matéria orgânica no sedimento. As subamostras foram secas até peso constante a 65°C e de seguida incinerados a 500°C durante 4 h na mufla (Vulcan 3-550) de acordo com Williams (1985).

2.4.5.3 Clorofila *a* e Feopigmentos *a*

Foi determinada a concentração de clorofila *a* e feopigmentos *a* em cada microcosmos seguindo o mesmo processo de amostragem usado para a avaliação da matéria orgânica, com a diferença de, neste caso, as amostras terem sido armazenadas em frascos de vidro de cintilação e congeladas (-21 °C) até ao seu processamento.

Após o descongelamento, a extracção dos pigmentos foi realizada segundo Joye *et al.* (1996). Deste modo, adicionaram-se 10 ml de uma solução de acetona:metanol:água (45:45:10) a cada frasco, seguindo-se uma incubação de 24 h a 4 °C na ausência de luz. O teor em água do sedimento foi previamente conhecido (diferença entre o peso seco e o peso húmido) em amostras separadas e tido em conta de modo a manter as proporções da solução solvente. A concentração de clorofila *a* ($\mu\text{g Cla/g}$ sedimento seco) e de feopigmentos *a* ($\mu\text{g Feopa/g}$ sedimento seco) em cada microcosmos foi determinada por espectrofotometria seguindo as equações de Lorenzen descrita por Parsons *et al.* (1984):

$$Cla = \frac{26.7 \times V_{sol} ((665 - 750)) - (665_a - 750_a)}{PS \times L} \quad (8)$$

em que,

- Cla - concentração de clorofila *a* ($\mu\text{g /g sed seco}$),
- V_{sol} - volume da solução solvente (ml),
- 665-750 - valores de absorvância antes da acidificação,
- 665a-750a - valores de absorvância depois da acidificação,
- PS - peso seco do sedimento (g).
- L - passo da "cuvette" (cm)

$$Feopa = \frac{26.7 \times V_{sol} (1,7(665_a - 750_a)) - (665 - 750)}{PS \times L} \quad (9)$$

em que,

- $Feopa$ - concentração de feopigmentos *a* ($\mu\text{g /g sed seco}$),
- V_{sol} - volume da solução solvente (ml),
- 665-750 - valores de absorvância antes da acidificação,
- 665a-750a - valores de absorvância depois da acidificação,
- PS - peso seco do sedimento (g),
- L - passo da "cuvette" (cm).

Nos dois tipos de sedimento (areão e vasa), foram testados dois solventes para a extracção da clorofila *a*: 45acetona:45metanol:10água e acetona a 90%, assim como o uso de ultra-sons antes da extracção. De acordo com o resultados obtidos conclui-se que a solução de acetona: metanol: água apresentou quase o dobro da eficiência extractiva relativamente à acetona a 90% (ANOVA; $n = 10$, $p < 0,001$) (Figura 5). Todavia não foram detectadas diferenças significativas entre amostras intactas e as sujeitas a ultra-sons (Figura 5).

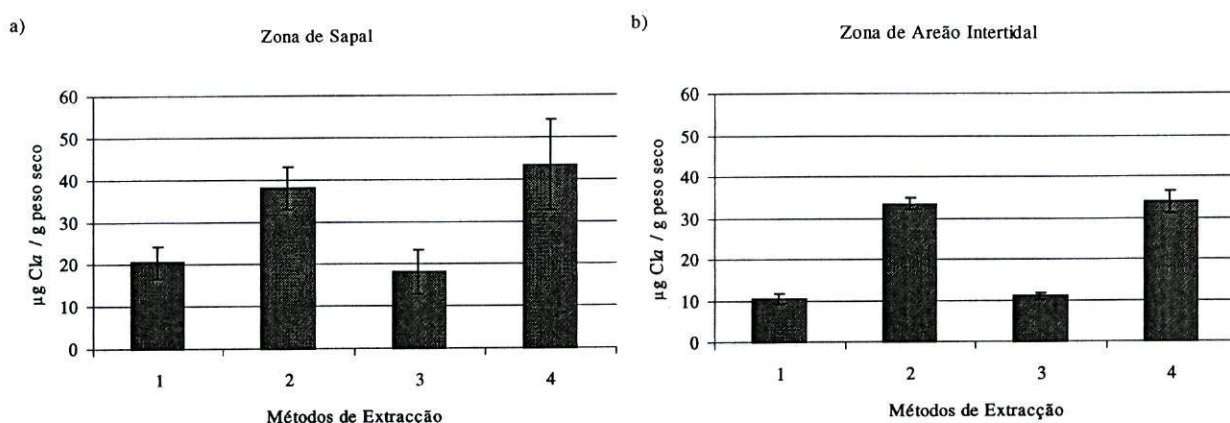


Figura 5 – Concentração de clorofila a em sedimentos lodoso e arenoso sujeitos a quatro tratamentos distintos de extracção: 1- Solução de acetona a 90%; 2- Solução de 45acetona:45metanol:10água; 3- Solução de acetona a 90% e sonicação; 4- Solução de 45acetona:45metanol:10água e sonicação.

2.4.5.4 Granulometria

Durante as campanhas de amostragem, em cada área de estudo foi feita a colheita de aproximadamente 750 g de sedimento superficial (0,5 cm de profundidade) para posterior estudo das características granulométricas. Para a separação do sedimento em várias fracções de tamanho, as amostras foram previamente tratadas com peróxido de hidrogénio, com o objectivo de destruir a matéria orgânica. De seguida, foi feita a separação da fracção fina num crivo de 0,063 mm de malha por via húmida manualmente, e por último, fez-se o

fraccionamento da fracção restante por via seca numa coluna de crivos (2; 1; 0,5; 0,25; 0,125), usando um agitador de peneiros automático (Civa, modelo rp.08). O tempo e intensidade de vibração foi otimizado para cada tipo de amostra.

2.5 Tratamento dos Dados

Todas as análises estatísticas foram realizadas ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$). Para cada parâmetro em estudo foi realizado uma análise de ANOVA “one way” (Zar, 1996), com o objectivo de comparar as médias entre as diferentes estações do ano assim como entre as diferentes zonas de amostragem. O teste de comparação *aposteriori* das médias usado foi o de Scheffé (Zar, 1996). As tabelas de correlação linear foram realizadas com o objectivo de quantificar separadamente as relações simples entre um par de variáveis. Também foram realizadas análises de regressão múltipla passo a passo (“Stepwise multiple regression analysis”), (Draper & Smith, 1981), sempre que pretendíamos avaliar quais as variáveis independentes que melhor explicavam a variação observada numa determinada variável dependente (produção primária líquida, respiração; fluxo de NH_4^+ ; NO_3^- ; NO_2^- ; PO_4^{3-} ; Si). Com o objectivo de comparar as taxas de fluxo horárias entre as incubações realizadas na presença e ausência de luz, o declive das rectas de regressão (com os valores das três réplicas) dos dois tratamentos foram comparadas através do teste *t* Student (Zar, 1996).

Antes da realização de qualquer um dos tratamentos referidos, os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram testados usando respectivamente o método de Kolmogorov-Smirnov e o teste de Levene (Zar, 1996)

Os programas Statistica (versão 5.0) e SPSS (versão 9.0), foram as ferramentas usadas para a realização dos testes estatísticos anteriormente citados.

Capítulo 3

Variáveis Ambientais e Biológicas

3.1 Introdução

Diversos factores ambientais e biológicos têm vindo a ser reconhecidos como importantes na determinação da variabilidade da produção primária e da respiração das comunidades microfitobênticas das zonas intertidais. A temperatura e a irradiação foram registados por vários autores (Cadée & Hegeman, 1974; Colijn & van Buurt, 1975; Barranguet *et al.*, 1998; Uthicke & Klumpp, 1998), como sendo os factores que melhor explicam a variabilidade destes processos. A relação entre a produtividade primária e a concentração em clorofila *a* no sedimento, foi também documentada em inúmeros trabalhos (Hargrave, 1983; Sullivan & Moncreiff, 1988; Brotas & Catarino, 1995). Variáveis químicas, como a concentração de nutrientes na coluna de água e na água intersticial, podem limitar as taxas de produtividade primária dos organismos microfitobênticos (Varela & Penas, 1985).

Relativamente à respiração, alguns autores registaram a presença (Barranguet *et al.*, 1996; Barranguet, 1997) ou a ausência (van Es 1982) de correlação entre este processo metabólico e o conteúdo de matéria orgânica no sedimento. Van Es (1982), ao estimar o

metabolismo das comunidades microfitobênticas, verificou que em todas as estações de amostragem, a maior correlação observada foi entre a temperatura e as taxas de respiração.

Em relação aos fluxos de nutrientes, entre o interface sedimento/coluna de água, alguns estudos têm sido realizados com o objectivo de determinar quais os parâmetros que regulam estes processos. Segundo Cowan *et al.*, (1996), a temperatura e a concentração de oxigénio dissolvido na água adjacente são as variáveis que melhor explicam a variação observada nos fluxos de nutrientes. A presença de luz altera, igualmente, as taxas de absorção e/ou libertação de nutrientes por parte do sedimento, processo mediado pelos organismos fotossintéticos que habitam a superfície do sedimento (Miller-Way *et al.*, 1994).

Outras variáveis, como as características granulométricas, a estabilidade do sedimento (Wasmund, 1984), o hidrodinamismo (Asmus *et al.*, 1998) do local, a actividade das comunidades meiobênticas e macrobênticas (Gould & Gallagher, 1990; Davey & Watson, 1995) assim como as características meteorológicas (Brotas & Catarino, 1995), também têm sido referidas como importantes na identificação dos factores potencialmente reguladores dos processos em estudo.

O grau de variação de cada processo atribuído a um grupo de variáveis difere de acordo com os vários estudos realizados em distintos ecossistemas bênticos, tornando impossível a atribuição da maior importância a um grupo específico de parâmetros. Esta situação é devida, principalmente, à complexidade dos habitats bênticos e às inúmeras interações com os factores ambientais e biológicos (MacIntyre *et al.*, 1996).

No presente capítulo apresenta-se a variação sazonal e espacial de algumas variáveis ambientais e biológicas. À superfície do sedimento, foram avaliadas a granulometria, o teor em água, a percentagem de matéria orgânica e a concentração em clorofila *a*. Na água intersticial foi medida a salinidade e o pH e na, coluna de água (usada no enchimento dos microcosmos), foi determinada a concentração de nutrientes (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} e Si), de oxigénio dissolvido e a salinidade. Todos estes parâmetros foram determinados com o objectivo de caracterizar o habitat, por forma a compreender e determinar a sua

importância relativa sobre a variação da produção primária, respiração e fluxos de nutrientes entre o interface sedimento/coluna de água, no banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro.

3.2 Resultados

3.2.1 Matéria Orgânica

No areão intertidal (zona II), observaram-se valores de percentagem de matéria orgânica mais elevados no Verão e Outono ($1,26 \pm 0,22$ % e $1,28 \pm 0,21$ % respectivamente). Na Primavera e Inverno foram registados os valores mais baixos ($0,65 \pm 0,35$ % e $0,71 \pm 0,12$ %, respectivamente). Não se verificaram diferenças significativas entre os pares Verão/Outono e Primavera /Inverno (Figura 6).

A zona sujeita a descargas de esgotos urbanos (zona III), apresentou os valores mais baixos no Inverno ($0,83 \pm 0,32$ %), tendo sido os mais elevados observados no Verão ($1,76 \pm 0,92$ %). Na Primavera e Verão a percentagem de matéria orgânica apresentou valores intermédios ($1,41 \pm 0,20$ % e $1,06 \pm 0,56$ %, respectivamente) (Figura 6).

No sapal (zona I), os valores de matéria orgânica em todas as estações do ano foram significativamente mais elevados quando comparados com as estações de amostragem anteriores e variaram entre $3,95 \pm 1,57$ % na Primavera e $8,00 \pm 1,70$ % no Inverno (Figura 6). No Outono e Inverno, o teor em matéria orgânica foi semelhante, enquanto que entre as restantes estações do ano, as diferenças foram significativas (ANOVA, $p < 0,05$).

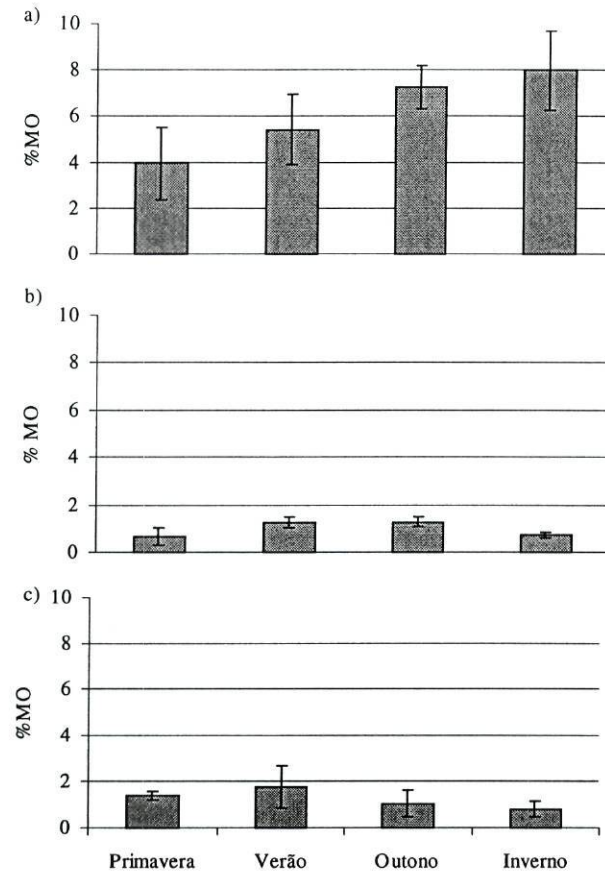


Figura 6 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da percentagem de matéria orgânica (%MO) nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.

3.2.2 Concentração em Clorofila *a* e Feopigmentos *a*

Os valores de clorofila *a* variaram entre 2,22 e 141,07 $\mu\text{g Cla/g}$ peso seco. A zona II (areão intertidal) apresentou os valores médios globais mais elevados ($77,36 \pm 28,74 \mu\text{g Cla/g}$ peso seco), seguindo-se a zona de sapal ($50,30 \pm 27,14 \mu\text{g Cla/g}$ peso seco) e por último a zona sujeita a esgotos urbanos, registou os valores médios mais baixos ($21,22 \pm 11,44 \mu\text{g Cla/g}$ peso seco).

Ao longo do ano, as variações entre as três estações de amostragem foram distintas (Figura 7). No local de amostragem I, os valores mais elevados de concentração de

clorofila *a* foram observados no Outono e Inverno. Na zona II o pico máximo foi registado no Verão, seguindo-se um decréscimo gradual, enquanto que na zona III o valor mais elevado foi registado na Primavera.

Nas duas estações de amostragem de sedimento arenoso (II e III), o mínimo de clorofila *a* foi registado no Inverno, enquanto que no sapal, os valores mais baixos foram registados na Primavera e no Verão não se tendo verificado diferenças significativas entre estas duas estações do ano.

No Verão e Primavera, a área de estudo II apresentou valores de concentração de clorofila *a* significativamente mais elevados (ANOVA, $p < 0,01$) ($76,16 \pm 11,36 \mu\text{g Cla/g}$ peso seco e $107,83 \pm 12,18 \mu\text{g Cla/g}$ peso seco respectivamente), em comparação com as zonas I e III nas mesmas estações do ano. No Outono e Inverno, na zona III, observaram-se valores significativamente mais baixos (ANOVA, $p < 0,01$) em comparação com as estações de amostragem I e II.

Em relação à concentração de feopigmentos *a* à superfície do sedimento, verificou-se que, em todas as zonas de amostragem, o padrão de variação sazonal foi semelhante ao observado para a clorofila *a* (Figura 7). Ou seja, uma maior concentração de clorofila *a* foi acompanhada por uma maior concentração de feopigmentos *a* e vice-versa.

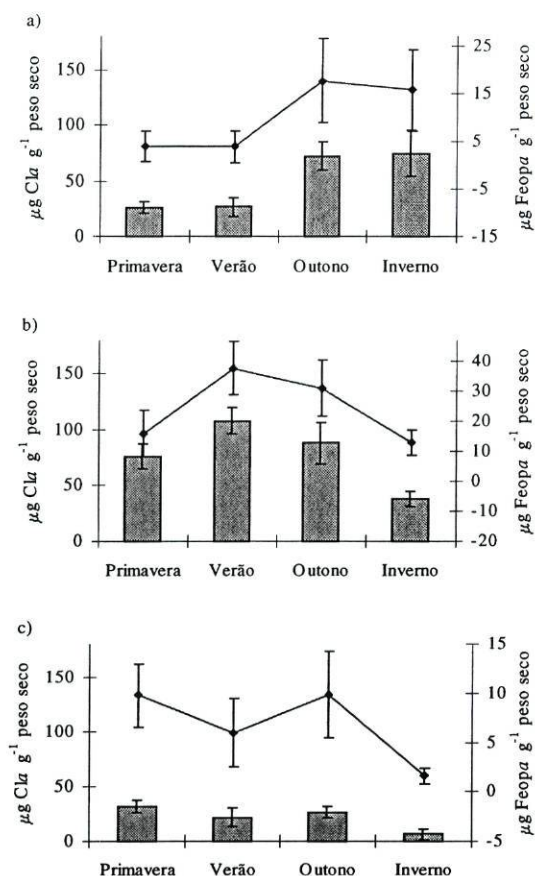


Figura 7 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da concentração de clorofila a (colunas) e concentração de feopigmentos a (linhas) à superfície do sedimento, nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.

3.2.3 Granulometria do Sedimento

Os dados relativos à caracterização da granulometria dos sedimentos encontram-se representados graficamente em termos de análise percentual das classes granulométricas (Figura 8, Figura 9 e Figura 10).

O sedimento na estação I (Figura 8), caracterizou-se pela predominância de limo e argila (< 0,063 mm) acompanhado de areia muito fina (0,063 - 0,125 mm) e areia fina (0,152 - 0,250 mm). Nas campanhas da Primavera Verão e Outono, este sedimento

apresentou uma percentagem de fracção fina ($< 0,250$ mm) entre 54 a 68 %, enquanto que no Inverno a percentagem de fracção fina aumentou para 94%. A estrutura granulométrica desta estação não sofreu praticamente alterações no Verão e no Outono. Os sedimentos das estações II (Figura 9) e III (Figura 10) são dominados por areão (> 2 mm), areia muito grossa (> 1 mm) e areia grossa ($> 0,5$ mm). No entanto na área de estudo III, a percentagem de areia média ($> 0,25$ mm) apresenta valores percentuais importantes, enquanto que na área de estudo II a percentagem deste tipo de sedimento pode ser negligenciada. Em ambas as estações, a estrutura do sedimento revelou-se relativamente constante, em termos temporais.

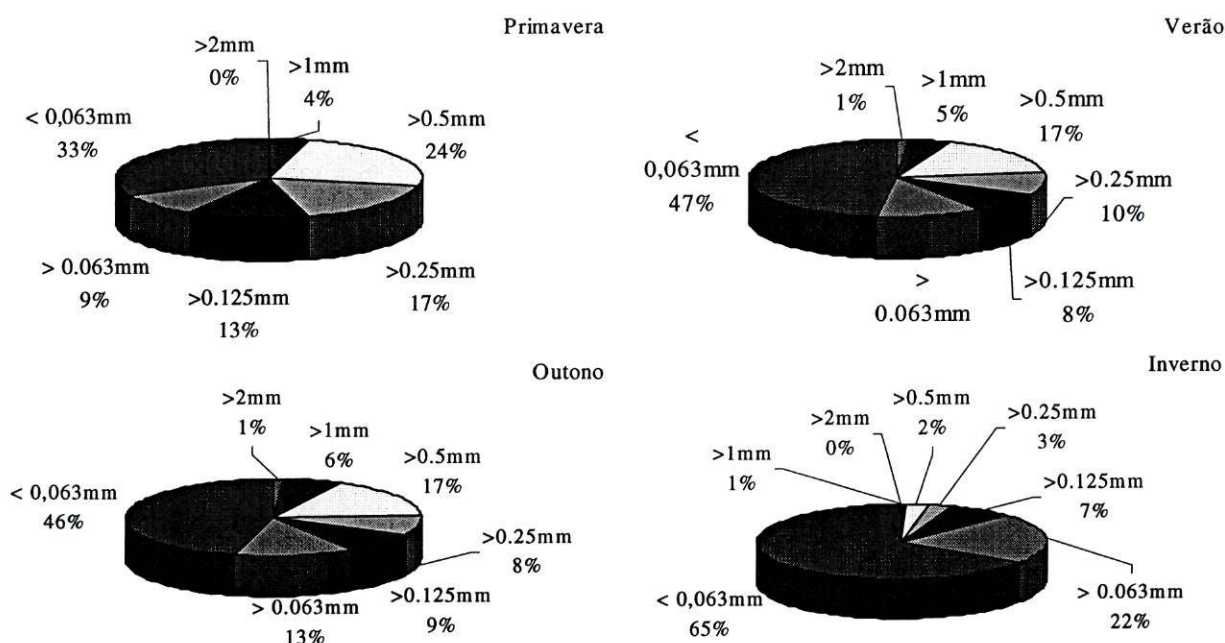


Figura 8 – Variação sazonal das classes granulométricas dos sedimentos da zona de sapal (estação I).

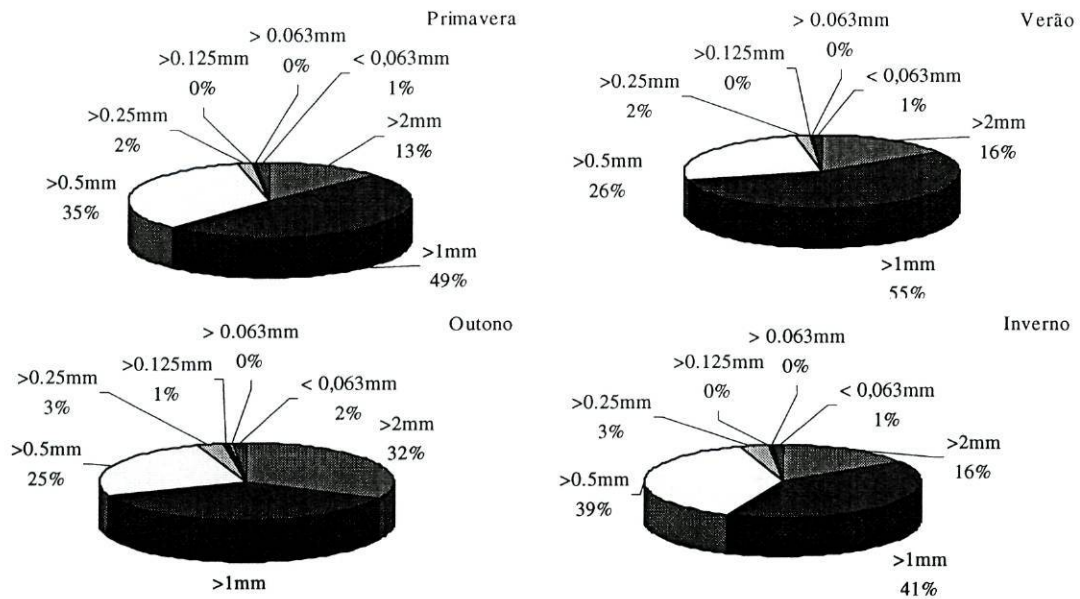


Figura 9 - Variação sazonal das classes granulométricas dos sedimentos da zona de areão (estação II).

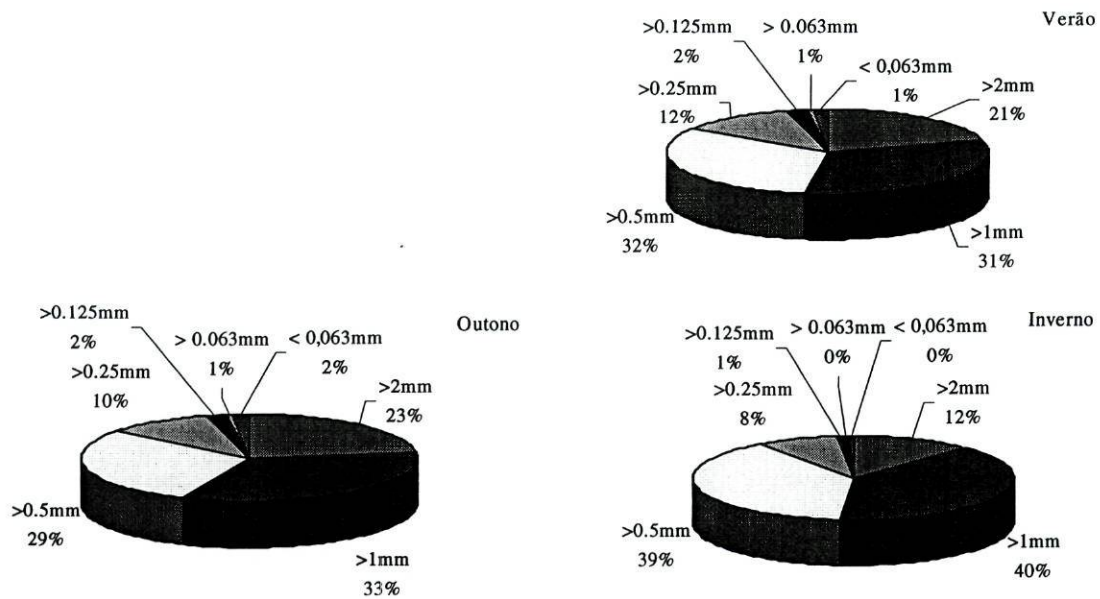


Figura 10 - Variação sazonal das classes granulométricas dos sedimentos da zona de areão sujeito a descargas de esgotos (estação III).

3.2.4 Conteúdo em água

A variação sazonal da percentagem de água no sedimento de superfície nas três áreas de estudo, pode ser visualizada na Figura 11. Não se observou nenhum padrão comum de variação temporal desta variável.

Na zona de vasa de sapal, registaram-se os valores mais elevados, enquanto que os valores mais baixos foram observados nas estações de amostragem caracterizadas pela predominância de areia grossa (> 0,5 mm).

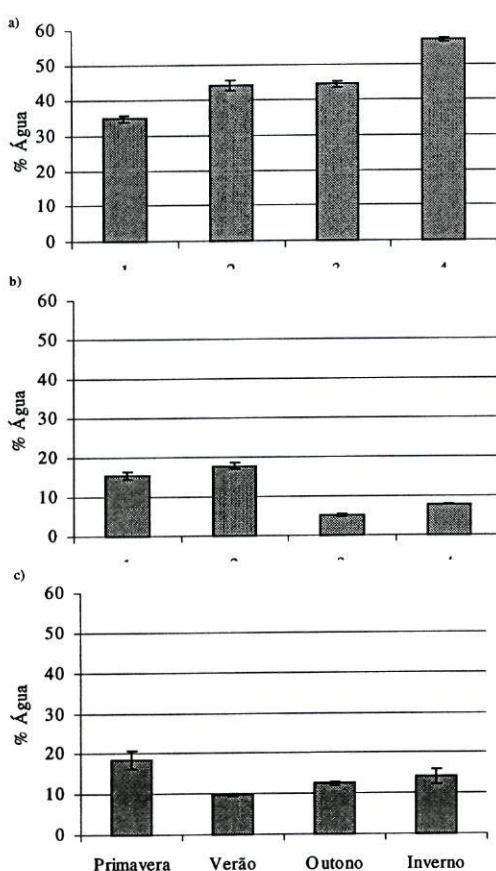


Figura 11 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da percentagem de água à superfície do sedimento, nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.

3.2.5 Características físico-químicas da coluna de água

Na Tabela 3 estão representados os parâmetros físico-químicos determinados nas amostras de água usadas no enchimento dos microcosmos. Estas características foram avaliadas no início de cada incubação.

Como já foi referido, a água usada na incubação dos microcosmos foi recolhida em local próximo das áreas de estudo, partindo-se do princípio que seria a massa de água que durante a preia-mar inundou as zonas de amostragem. Como a estação I e II estão praticamente à mesma longitude, foi usada a mesma água nas incubações.

Em termos de oxigénio dissolvido, não foram encontradas grandes variações nas incubações realizadas, com a excepção do Verão, na área de estudo III. Neste caso, a água no início da incubação apresentou um valor de oxigénio dissolvido relativamente baixo (Tabela 3).

Os valores de salinidade variaram de acordo com a estação do ano e zona de amostragem, estando compreendidos na franja mesoalina (5-18) (Tabela 3). O pH da água intersticial registou valores médios mais elevado na zona de sapal enquanto que nas zonas II e III registaram-se valores mais baixos ($8,80 \pm 0,75$; $7,30 \pm 0,09$; $7,40 \pm 0,29$, respectivamente para as zonas de estudo I, II e III)

A concentração de nitritos e fosfatos na água das estações I e II foi sempre baixa e não sofreu grandes flutuações sazonais. Em relação à amónia e nitratos, estes apresentaram variações sazonais antagónicas. Enquanto que a concentração de amónia mais elevada foi observada no Outono e as concentrações mais baixas na Primavera e Inverno, em relação aos nitratos verificou-se precisamente o contrário.

Na zona sujeita a descargas de esgotos urbanos, as concentrações de nutrientes na coluna de água foram geralmente mais elevadas (Tabela 3). O padrão da variação temporal de concentração de nitritos, fosfatos e amónia foi semelhante, tendo-se observados valores mais elevados no Verão e Inverno, enquanto que os valores mais baixos foram registados na Primavera e Outono. Os nitratos encontraram-se sempre em concentrações elevadas, com a excepção do Verão, cujo teor baixou consideravelmente.

Relativamente à concentração de sílica, esta apresentou valores mais ou menos constantes, na zona I e II assim como na zona III em todas as estações do ano, com a exceção do Inverno onde foram observadas concentrações de sílica mais elevadas.

A razão N/P apresentou-se sempre elevada (Tabela 3), com a exceção do Verão e Inverno na zona III.

Tabela 3 –Parâmetros físico-químicos (média \pm desvio padrão) e razão N/P, determinados na água de incubação usada nas três zonas de estudo e nas quatro campanhas de amostragem.

	Zonas	O ₂	Salin.	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	PO ₄ ⁻	Si	N/P
	Estudo	(mg/l)		(μ M)	(μ M)	(μ M)	(μ M)	(μ M)	
<i>Primavera</i>	<i>I e II</i>	7,56 \pm 0,30	8,75	10,11 \pm 1,29	66,28 \pm 12,78	0,76 \pm 0,05	1,05 \pm 0,02	28,82 \pm 0,24	73,3 \pm 12,5
	<i>III</i>	7,17 \pm 0,15	4,75	18,36 \pm 1,51	122,03 \pm 23,87	1,74 \pm 0,29	1,68 \pm 0,15	51,37 \pm 2,61	84,0 \pm 7,8
<i>Verão</i>	<i>I e II</i>	6,11 \pm 0,43	9,75	16,90 \pm 5,19	42,98 \pm 0,38	1,11 \pm 0,01	0,91 \pm 0,01	17,14 \pm 0,35	67,1 \pm 6,3
	<i>III</i>	2,18 \pm 0,28	14,00	225,30 \pm 0,38	11,90 \pm 2,01	23,57 \pm 3,64	30,14 \pm 0,88	58,90 \pm 2,87	9,7 \pm 0,5
<i>Outono</i>	<i>I e II</i>	6,51 \pm 0,25	18,75	25,10 \pm 0	20,84 \pm 2,39	0,61 \pm 0,08	1,27 \pm 0,09	20,46 \pm 1,59	33,5 \pm 1,8
	<i>III</i>	6,89 \pm 0,10	12,00	17,93 \pm 3,73	62,74 \pm 1,65	2,05 \pm 0,12	1,93 \pm 0,23	46,09 \pm 2,90	43,3 \pm 3,4
<i>Inverno</i>	<i>I e II</i>	7,36 \pm 0,13	11,00	9,02 \pm 2,51	72,69 \pm 5,21	0,50 \pm 0,02	1,28 \pm 0,16	41,14 \pm 0,46	65,6 \pm 7,4
	<i>III</i>	8,02 \pm 0,10	6,50	350,49 \pm 6,88	149,31 \pm 2,73	5,89 \pm 0,84	28,70 \pm 0,32	87,25 \pm 0,19	18,0 \pm 0,1

3.2.6 Irradiação e Temperatura

Durante o período de incubação dos microcosmos (6-8 h), foi monitorizada a luz incidente nos microcosmos, assim como a temperatura da água de incubação, em intervalos de aproximadamente 15 minutos. Na Tabela 4 referem-se os valores médios de temperatura e irradiação determinados durante as primeiras duas horas de incubação correspondente à determinação da produção primária líquida e da respiração. Na Tabela 5, os valores de temperatura e irradiação referem-se aos valores médios registados durante todo o período de incubação (6-8 h), altura em que foram estimados os fluxos de nutrientes.

Os grandes desvios padrão observados, de um modo geral, nos valores médios de irradiação (Tabela 4 e Tabela 5) são reflexo da irregular intensidade luminosa diária. Em

relação à temperatura, esta foi mantida constante ao longo de cada experiência. Na Primavera e Verão, foram registados os valores de temperatura à superfície do sedimento mais elevados. No Inverno e Outono, as temperaturas de incubação baixaram com a excepção da estação III, no Outono, fruto da diminuição dos valores de temperatura registados *in situ*.

Tabela 4 - Valores médios e respectivo desvio padrão, da variação da temperatura e irradiação durante o período de incubações realizadas para o estudo da produção primária e respiração (duas horas).

	<i>Zonas Estudo</i>	<i>Irradiação</i> ($\mu Es^{-1} m^{-2}$)	<i>Temperatura</i> ($^{\circ}C$)
<i>Primavera</i>	<i>I e II</i>	3204,0 \pm 395,4	23,0 \pm 1,0
	<i>III</i>	1500,4 \pm 576,6	21,4 \pm 0,5
<i>Verão</i>	<i>I e II</i>	3524,7 \pm 148,8	24,0 \pm 1,2
	<i>III</i>	2673,0 \pm 1016,7	23,9 \pm 0,5
<i>Outono</i>	<i>I e II</i>	2268,0 \pm 916,9	14,4 \pm 1,3
	<i>III</i>	1591,2 \pm 463,41	21,7 \pm 0,6
<i>Inverno</i>	<i>I e II</i>	1820,0 \pm 963,1	12,1 \pm 0,7
	<i>III</i>	1683,8 \pm 202,2	12,3 \pm 0,4

Tabela 5 - Valores médios e respectivo desvio padrão, da variação da temperatura e irradiação durante o período das várias incubações realizadas para o estudo do fluxo de nutrientes (6-8 horas).

	<i>Zonas Estudo</i>	<i>Irradiação</i> ($\mu Es^{-1} m^{-2}$)	<i>Temperatura</i> ($^{\circ}C$)
<i>Primavera</i>	<i>I e II</i>	2546,4 \pm 1151,9	22,3 \pm 1,4
	<i>III</i>	2501,7 \pm 1046,1	22,5 \pm 1,1
<i>Verão</i>	<i>I e II</i>	3545,1 \pm 161,7	23,9 \pm 0,4
	<i>III</i>	3272,8 \pm 729,1	23,9 \pm 1,0
<i>Outono</i>	<i>I e II</i>	3236,7 \pm 754,2	15,8 \pm 1,2
	<i>III</i>	2526,6 \pm 965,8	22,1 \pm 0,8
<i>Inverno</i>	<i>I e II</i>	2412,9 \pm 969,1	12,7 \pm 0,6
	<i>III</i>	2097,7 \pm 721,9	13,1 \pm 1,1

3.3 Discussão

A percentagem de matéria orgânica e de água à superfície do sedimento encontram-se correlacionadas entre si ($r = 0,93$; $p < 0,001$; $n = 65$) e cada uma destas variáveis apresenta

uma correlação positiva com a percentagem de fracção fina ($< 0,125$ mm) do sedimento ($r = 0,95$; $r = 0,98$ respectivamente, com $n = 65$ e $p < 0,001$). A zona de sapal foi a que apresentou valores mais elevados para estes parâmetros. A decomposição das plantas vasculares do sapal pode ter contribuído para a elevada carga orgânica do local, já que não se verifica a descarga de efluentes nesta zona em particular. Os efeitos poderão ser acentuados pelo fraco hidrodinamismo do local, favorável à deposição das partículas mais finas. A maior turbidez da água no Inverno, resultante da drenagem das margens (Bordalo, 1991), provoca o transporte de uma carga orgânica e inorgânica maior, o que está de acordo com o facto de se ter observado uma maior percentagem de matéria orgânica no Inverno. Contrariamente a esta estação, as zonas de estudo II e III registaram cargas orgânicas mais baixas apesar de a zona III estar sujeita a descargas directas de esgotos urbanos. Todavia, estas zonas estão submetidas a forte hidrodinamismo, patente na elevada percentagem da fracção de areia grossa presente (> 1 mm).

O banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro apresentou valores médios de biomassa microfitobêntica elevados. A concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento ($50,30 \pm 27,14$; $77,36 \pm 28,74$; e $21,22 \pm 11,44$ $\mu\text{g Cl}/\text{g}$ peso seco, médias anuais para as zonas I, II e III respectivamente), encontra-se incluída no leque dos limites superiores dos valores citados por vários autores (c.f. Brotas *et al.*, 1995; c.f. McIntyre *et al.*, 1996). Nalguns estudos, foram referidos valores superiores de clorofila *a* nos substratos vasosos do que nos arenosos (Shaffer & Onuff, 1983; Delgado, 1989). No presente trabalho, este facto foi apenas registado no Inverno. A variação sazonal foi distinta em função da zona de amostragem. Um padrão sazonal inconstante fora já registado em zonas temperadas (Varela & Penas, 1985; Brotas *et al.*, 1995). Nas três estações de amostragem, verificou-se uma correlação significativa ($n = 24$; $p < 0,01$) entre a percentagem de matéria orgânica à superfície do sedimento e a concentração em clorofila *a* ($r = 0,72$; $r = 0,84$ e $r = 0,55$, para as zonas I, II e III, respectivamente).

Foi calculado o coeficiente entre as absorvâncias a 430 nm e 665 nm, que traduz, aproximadamente a proporção entre a clorofila *a* e outros pigmentos (Margalef, 1967).

Esta razão apresentou valores relativamente baixos em todas as zonas de amostragem (1,98 – 2,8), indicando que estas comunidades estão em rápido crescimento e que há pouca diversidade específica (Odum, 1971). Foi também registada uma correlação negativa entre esta razão e a concentração de clorofila *a* em todas as estações de amostragem ($r = -0,46$; $r = -0,90$; $r = -0,49$, com $n = 24$ e $p < 0,05$, respectivamente para as zonas I, II e III), indicando que a maior biomassa microfitobêntica terá sido acompanhada pela redução do número de espécies presentes.

Em relação à concentração de feopigmentos *a*, verificou-se, em todas as estações de amostragem, a existência de uma correlação positiva significativa ($p < 0,001$) com a clorofila *a* ($r = 0,83$; $r = 0,88$; $r = 0,90$, com $n = 24$ e $p < 0,001$ respectivamente para as zonas I, II e III). Este facto pode ser reflexo do grande dinamismo entre o crescimento e degradação das comunidades microfitobênticas. Pelo contrário, Hargrave (1983) verificou a existência de uma correlação negativa entre estas duas variáveis.

Os organismos produtores fitoplanctónicos necessitam de azoto e fósforo numa razão de aproximadamente 16:1 (Redfield, 1958). Em muitos estuários a razão de Redfield apresentam valores abaixo dos esperados (Ryther *et al.*, 1971; Graneli, 1984), o que é consistente com o facto de o azoto ser factor limitante do sistema. No presente trabalho, verificou-se que a relação N/P na coluna de água da zona do banco intertidal do sector inferior (zona I e II) apresentou sempre valores bastante elevados (variou de 33,5 no Outono e 70,7 na Primavera) pelo que sugere que um dos possíveis factores limitantes da produção primária nestas zonas é a concentração de fósforo na coluna de água. Na zona de estudo III a disponibilidade de azoto e fósforo foi influenciada pelo lançamento de esgotos não tratados. Nesta estação, no Outono e Primavera, a razão N/P apresentou valores semelhantes aos encontrados nas outras zonas, enquanto que, no Verão e Inverno, os valores da razão de Redfield foram mais baixos (9,7 e 18,0 respectivamente). Esta diminuição ficou a dever-se ao aumento drástico (aproximadamente 20×) da concentração de fósforo inorgânico, na coluna de água deste local (Tabela 3). A sílica apresentou valores sempre mais elevados na água colhida na zona III, facto possivelmente associado à menor

densidade de diatomáceas, visto que os valores de concentração de clorofila *a* são, em média, mais baixos do que nas outras duas áreas de estudo. Não deve, igualmente, ser excluído, o possível efeito da drenagem das margens associado ao curso de água poluído que afecta essa zona do estuário, como fonte de sílica.

As experiências foram sempre realizadas em dias de céu limpo para minimizar a variabilidade das condições de luminosidade entre as várias estações do ano e as diferentes zonas de amostragem, facilitando deste modo, a comparação dos dados. Em regiões temperadas os valores de saturação de intensidade luminosa para as microalgas bênticas podem variar entre $170 \mu\text{Es}^{-1}\text{m}^{-2}$ (Mills & Wilkinson, 1986) e $800 \mu\text{Es}^{-1}\text{m}^{-2}$ (Pinckney & Zingmark, 1993). Em zonas tropicais de recife, os valores de saturação de intensidade luminosa das microalgas bênticas são mais elevados $975 \mu\text{Es}^{-1}\text{m}^{-2}$ (Uthicke & Klumpp, 1998). Pinckney & Zingmark (1993) referem ainda que as comunidades de microalgas adaptadas a locais abertos têm valores de saturação de intensidade luminosa superiores ao das comunidades que habitam locais sombrios. No presente trabalho não foi calculada o valor da saturação de intensidade luminosa para a produção primária nas diversas áreas de estudo. No entanto, como durante as incubações realizadas a irradiação apresentou sempre valores elevados ($> 1000 \mu\text{Es}^{-1}\text{m}^{-2}$), pensa-se que este parâmetro não limitou a produtividade primária nos microcosmos. Em relação à inibição por excesso de luz, tem sido registada a migração das microalgas bênticas para camadas inferiores no sedimento como resposta adaptativa ao excesso de irradiação (Blanchard & Le Gall, 1994). Por outro lado, a atenuação da irradiação luminosa que se faz sentir à superfície dos sedimentos (Yallop *et al.*, 1994; Kuhl *et al.*, 1996) também contribuí para uma improvável fotoinibição.

As incubações foram mantidas a uma temperatura constante, idêntica à temperatura da superfície do sedimento “*in situ*”. No entanto é importante referir que a superfície dos sedimentos intertidais está sujeita a grandes e rápidas amplitudes térmicas (Harrison & Phizacklea, 1987). Estas alterações são devidas às variações de energia solar que atingem a superfície do sedimento o que, por sua vez, é controlado pelos desfasamentos entre os

ciclos diurnos e tidais e pelas condições meteorológicas locais e propriedades do sedimento (Blanchard & Guarini, 1998).

Capítulo 4

Produção Primária e Respiração

4.1 Introdução

A importância da microflora bêntica enquanto organismos produtores foi inicialmente sugerida por Maul & Mason (1957). Estes autores, compararam contagens de células e extractos clorofilinos de vários sedimentos intertidais. Nelson (1947), referiu anteriormente a importância destas comunidades como produtores ao observar inúmeras bolhas de oxigénio à superfície do sedimento do banco intertidal de Cape May, New Jersey. Pomeroy (1959), foi o primeiro autor a determinar as taxas de produção primária das comunidades de microalgas bênticas num estudo realizado em zonas de sapal intertidal. A partir deste trabalho, inúmeros autores determinaram as taxas de produção primária em sedimentos intertidais de habitats temperados (Pomeroy, 1959; Gallagher & Daiber, 1974; Zedler, 1980; Hargrave *et al.*, 1983; Colijn & de Jonge, 1984; Sundback & Jonsson, 1988; Gould & Gallagher, 1990; Riaux-Gobin *et al.*, 1993; Brotas & Catarino, 1995; Kromkamp *et al.*, 1995). O menor número de estudos da produção primária microfitobêntica em zonas sublitorais (Nowicki & Nixon, 1985; Barranguet *et al.*, 1996; McIntyre & Cullen, 1996) poderá estar relacionado com o maior esforço operacional necessário para as colheitas.

Todos estes trabalhos contribuíram para o reconhecimento actual da importante função das microalgas bênticas no balanço energético global dos ecossistemas costeiros, particularmente nos bancos de sedimento intertidal onde normalmente são os únicos produtores primários, quando a vegetação macrofita é escassa (Blanchard & Le Gall, 1994). A fotossíntese pode funcionar como uma fonte de oxigénio importante para as comunidades bênticas (Riznyk & Phinney, 1972).

Os habitats intertidais são caracterizados por grandes flutuações dos parâmetros ambientais durante as alternâncias das condições de emersão e imersão. Deste modo, as comunidades microbênticas têm de se adaptar a uma série de factores de “stress” inerentes ao seu habitat, como sejam, o transporte do sedimento, as correntes tidais, os gradientes de variação da luz, temperatura e nutrientes (Barranguet *et al.*, 1998). Por exemplo, em estuários com grande turbidez, a produtividade microfitobêntica fica limitada durante os períodos de inundação pela diminuição da intensidade luminosa que alcança a superfície do sedimento (Colijn, 1982). Na baixa mar, podem ser alcançadas elevadas taxas de produtividade (Colijn & de Jonge, 1984). Segundo Gauleau *et al.* (1994), as taxas de respiração, assim como a produção primária por parte das comunidades microbênticas, aumentam na vazante intertidal, no decurso do tempo de emersão. Este facto mostra que existe uma variabilidade dos fluxos de oxigénio à escala horária.

Neste capítulo é descrita a variação espacial e temporal das taxas de produção primária e respiração das comunidades microbênticas do sistema intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro, com o objectivo de avaliar o metabolismo bêntico e a importância destas comunidades em termos de produtores primários. Também se pretendeu discutir os factores ambientais e biológicos potencialmente responsáveis pela variação das taxas de produção primária e respiração observadas neste sistema.

4.2 Resultados

4.2.1 Variação Sazonal e Espacial

Os valores de produção primária líquida (PPL) e respiração (RESP) variaram entre 58,49-617,92 e 11,34-64,43 mg O₂ m⁻² h⁻¹ respectivamente. Em termos médios globais as maiores taxas de PPL foram observadas na zona de areão intertidal (zona II), (ANOVA, p < 0,01) em que se atingiu valores de 802,04±278,59 mg O₂ m⁻² h⁻¹. A zona de areão sujeita a descargas de esgotos (zona III) e a zona de sapal (zona I), não apresentaram diferenças significativas nos valores de PPL (208,52±98,69 mg O₂ m⁻² h⁻¹ e 261,46±51,03 mg O₂ m⁻² h⁻¹, respectivamente). Relativamente às taxas de respiração, estas foram significativamente (ANOVA, p > 0,05) mais baixas na zona sujeita a descargas de esgotos (45,68±17,89 mg O₂ m⁻² h⁻¹). Relativamente à zona de sapal e areão intertidal não se verificaram diferenças significativas nas taxas de respiração anuais (44,58±13,09 mg O₂ m⁻² h⁻¹ e 37,89±23,52 mg O₂ m⁻² h⁻¹, respectivamente). Em todas as ocasiões, verificou-se que a produção líquida de oxigénio excedeu grandemente as taxas de respiração.

Os padrões de variação sazonal da produção primária líquida (PPL) nas três áreas de estudo são claramente distintos (Figura 12). Na zona de sapal não se verificaram diferenças significativas entre as quatro estações do ano, ou seja, neste local não houve variação sazonal da PPL. Em relação à respiração (Figura 13a) nesta mesma área de estudo, foram apenas observadas diferenças significativas entre o Verão (27,29±4,26 mg O₂ m⁻² h⁻¹) e o Inverno (56,16±12,19 mg O₂ m⁻² h⁻¹), estas diferenças estão de acordo com os valores de carga orgânica registados nestas duas situações.

Na zona de areão intertidal, o padrão sazonal da PPL e da respiração foram semelhantes (Figura 12b e Figura 13b), tendo-se registado os valores mais elevados no Verão (617,92±79,51 mg O₂ m⁻² h⁻¹ e 64,42±24,21 mg O₂ m⁻² h⁻¹, respectivamente) e os mais baixos no Inverno (174,62±11,14 e 11,34± 3,54 mg O₂ m⁻² h⁻¹, respectivamente). Na Primavera e Outono registaram-se valores intermédios.

Na área de estudo III os valores de PPL não foram significativamente diferentes na Primavera, Verão e Outono (Figura 12c). O Inverno distingue-se das restantes estações do ano (ANOVA, $p < 0,001$) com valores de PPL relativamente mais baixos. Em relação à taxa de respiração (Figura 13c) apenas se verificaram diferenças entre o Verão e Outono (ANOVA, $p < 0,05$).

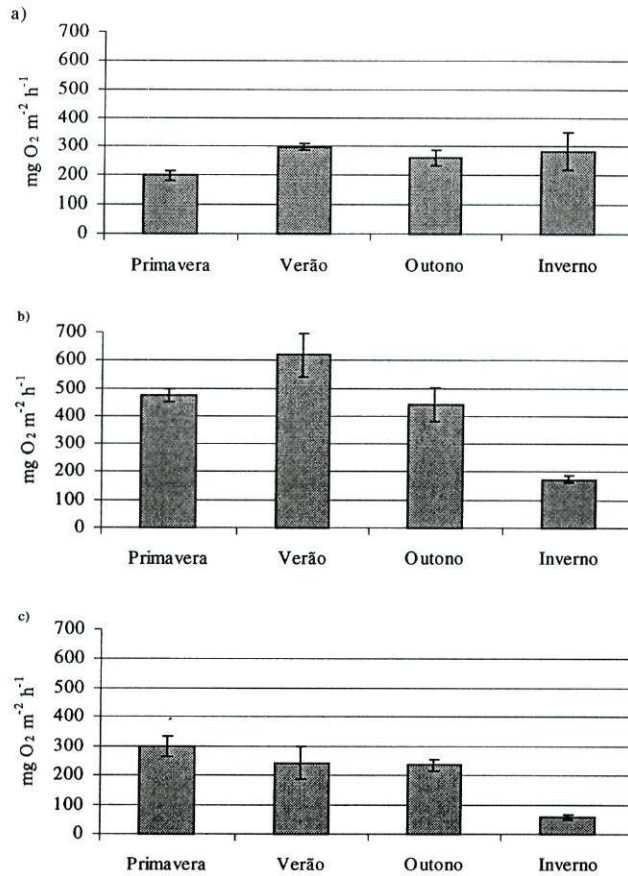


Figura 12- Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da taxa de produção primária líquida nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.

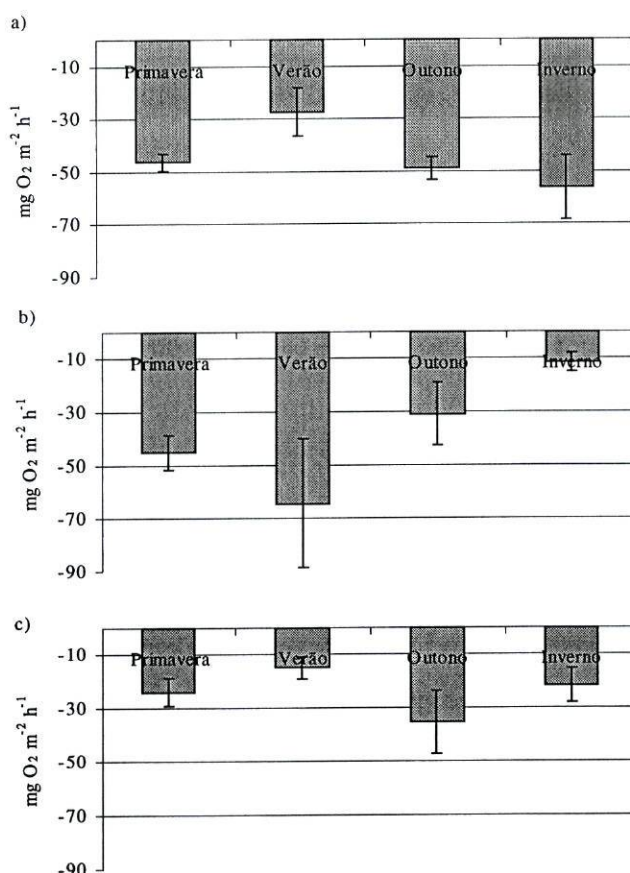


Figura 13 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) da taxa de respiração nas três zonas de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.

4.2.2 Análise de Correlação e Regressão

A análise estatística dos dados foi realizada a dois níveis, primeiro foram calculados os coeficientes de correlação entre os processos metabólicos estudados (PPL e RESP) e todas as variáveis ambientais e biológicas medidas. Os dados foram avaliados em conjunto e também individualmente, de acordo com cada zona de amostragem. Em segundo lugar foram realizadas análises de regressão múltipla passo a passo com todos os dados e para cada zona de amostragem, com o objectivo de determinar, de entre os parâmetros

ambientais e biológicos, aquele(s) que melhor explica(m) a variabilidade observada nas taxas de respiração e produção primária.

4.2.2.1 *Produção Primária*

A matriz de correlações lineares com os dados das três zonas de amostragem nas quatro estações do ano, evidenciou uma correlação positiva entre a PPL e a irradiação média durante o período de cada incubação ($r = 0,53$; $n = 36$ e $p < 0,01$). Esta correlação não foi significativa para os dados individuais da estação I e III (Tabela 6), o que sugere que nestas zonas o leque de variação ocorrido na irradiação não teve influência nas taxas de PPL. Na estação de areão intertidal, esta correlação foi significativa, assim como a correlação entre a temperatura de incubação e a PPL ($r = 0,87$; $r = 0,82$, respectivamente, com $n = 12$ e $p < 0,01$). Na estação III também se verificou uma correlação positiva entre a PPL e temperatura de incubação ($r = 0,87$; $n = 12$ e $p < 0,01$), enquanto que na zona de sapal esta relação foi inversa (Tabela 6).

Foi observado uma correlação negativa entre as taxas de PPL e a concentração de sílica, nitratos, fosfatos e amônia, na água do início da incubação (Tabela 6). Esta observação é válida quando se fez a análise de correlação com os dados agrupados das três áreas de estudo. No entanto, para cada zona de amostragem em termos individuais estas correlações nem sempre se verificaram (Tabela 6).

Tabela 6 – Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de produção primária líquida e 12 parâmetros: respiração (RESP); percentagem de matéria orgânica (%MO) e de água no sedimento de superfície (%Água); concentração de clorofila *a* (Cla) e feopigmentos *a* (Feop) no sedimento de superfície; irradiação (Irrad) e temperatura (Temp) durante o período de incubação; concentração de nutrientes (PO_4^{-3} ; NH_4^+ ; NO_3^- , Si) e oxigénio (O_2) na água, no início da incubação.

		RESP	%Mo	%Água	Cla	Feop.	Irrad	Temp	NH_4^+	NO_3^-	PO_4^{-3}	Si	O_2
Zona I n=12	r	-0,23	0,67	0,56	0,37	0,18	-0,15	-0,21	0,20	-0,19	0,02	-0,09	-0,52
	p	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Zona II n=12	r	0,93	0,73	0,65	0,89	0,58	0,87	0,82	0,42	-0,50	-0,79	-0,89	-0,61
	p	***	**	*	***	*	***	**	ns	ns	**	***	*
Zona III n=12	r	0,12	0,66	0,18	0,94	0,86	0,08	0,87	-0,81	-0,46	-0,59	-0,88	-0,35
	p	ns	**	ns	***	**	ns	***	**	ns	*	***	ns
Zonas I, II e III n=36	r	0,56	-0,07	-0,08	0,83	0,72	0,53	0,40	-0,49	-0,43	-0,45	-0,66	-0,12
	p	***	ns	ns	***	***	**	*	**	**	**	***	ns

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ns – não significativo

A análise de regressão linear entre as taxas de produção primária obtidos e a concentração de clorofila *a*, revelaram uma correlação positiva significativa entre estas duas variáveis (Figura 14d). Esta correlação positiva foi também encontrada para as estações de amostragem II e III, individualmente (Figura 14b e c).

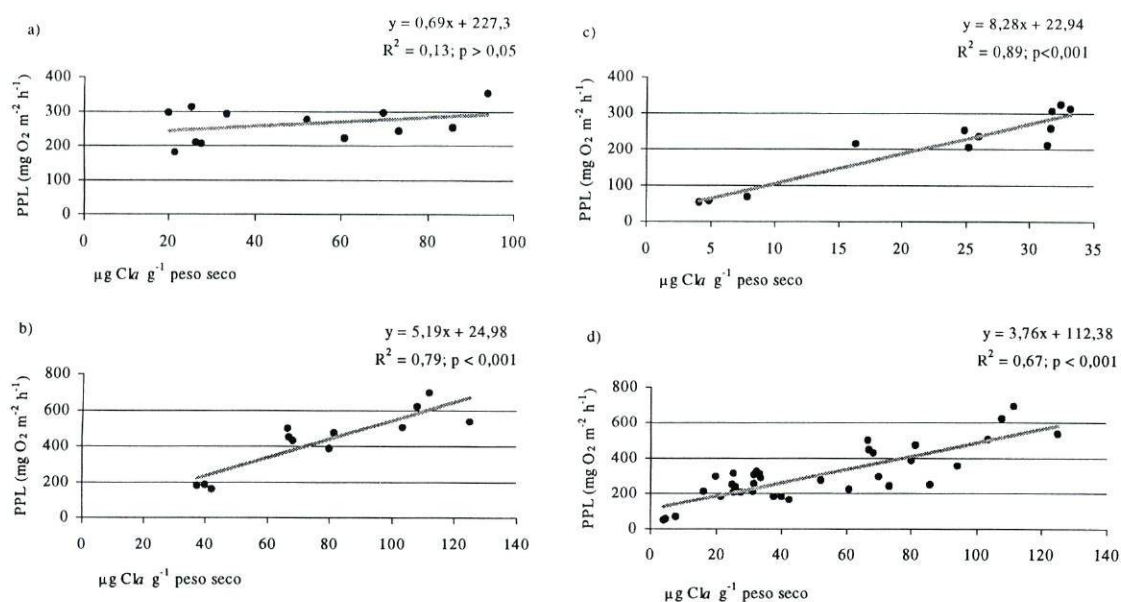


Figura 14-Relação Linear entre a concentração de clorofila *a* e a PPL: a-zona I, sapal b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos; d- três zonas de estudo.

Através da realização da análise de regressão múltipla passo a passo, verificou-se que os parâmetros concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento (Cla) e temperatura de incubação (Temp) explicaram 86% da variância total da taxa de produção primária líquida (PPL), seguindo a seguinte equação:

$$PPL = -131,74 + 3,83Cla + 12,75Temp; R^2 = 0,86; p < 0,001 \quad (4.1)$$

A variável concentração de clorofila *a* por si só explica 67% da variação das taxas de PPL observadas.

Realizou-se o mesmo tipo de análise para cada uma das zonas de estudo e verificou-se que na zona de sapal as variáveis, taxa de respiração (RESP) e percentagem de matéria orgânica (%MO) explicaram 72% da variância observada (equação 4.2).

$$PPL = 233,95 + 27,01\%MO + 2,93RESP; R^2 = 0,72; p < 0,01 \quad (4.2)$$

Na zona de areão intertidal as variáveis que melhor explicam a variação das taxas de PPL são a irradiação (Irrad.) média durante o período de incubação e a concentração de clorofila *a* (equação 4.3).

$$PPL = -122,69 + 3,12Cla + 0,11Irrad; R^2 = 0,86; p < 0,001 \quad (4.3)$$

Por último na zona sujeita a descargas de esgotos urbanos a variabilidade nas taxas de PPL foram explicadas em 89% pela concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento (equação 4.4).

$$PPL = 22,93 + 8,27Cla; R^2 = 0,86; p < 0,001 \quad (4.4)$$

Outros parâmetros como salinidade da água intersticial, salinidade da água de incubação, percentagem de fracção fina no sedimento, pH da água intersticial, percentagem de areia grossa, amplitude tidal nos três dias antes da colheita, não apresentaram qualquer tipo de relação com a taxa de produção primária destas comunidades.

4.2.2.2 *Respiração*

A taxa de respiração e a concentração de clorofila *a* estão significativamente correlacionadas ($p < 0,01$) nas zonas de estudo I e II ($r = 0,62$ e $0,67$ respectivamente), enquanto que na zona III verificou-se a ausência desta relação (Tabela 7).

Outro factor que influenciou as taxas de respiração, foi a matéria orgânica o que é apoiado pela correlação positiva significativa verificada entre a carga orgânica e as taxas de respiração quando a análise foi realizada com todos os dados agrupados (Tabela 7). No que diz respeito às três áreas de estudo, esta relação manteve-se apenas na zona de areão intertidal (Tabela 7). Apenas na estação II se verificou uma correlação positiva entre a taxa de respiração e a temperatura de incubação ($r = 0,80$; $n = 12$; $p < 0,01$). Em termos globais, tendo em conta as três zonas de amostragem, a concentração de sílica, fosfatos, amónia e nitritos na água no início da incubação apresentaram-se correlacionadas negativamente com as taxas de respiração (Tabela 7).

A Figura 15 mostra a relação entre a taxa de respiração das comunidades bênticas e a taxa de produção primária líquida, na zona II. Podemos verificar que, nesta área de estudo as taxas de respiração determinadas são em grande parte explicadas pelas taxas de PPL registadas.

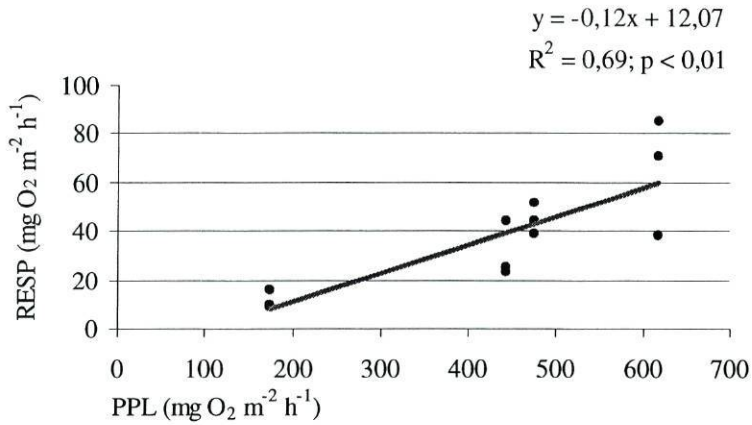


Figura 15 – Relação entre taxa de respiração (RESP) e taxa de produção primária líquida (PPL) das comunidades bênticas, na zona de areão intertidal.

A análise de regressão múltipla, com todos os dados agrupados (n = 36), identificou as variáveis concentração em clorofila *a* (Cla), percentagem de água no sedimento (%Água) e percentagem de matéria orgânica (%MO), como as que melhor explicam a variação da taxa de respiração das comunidades bênticas, seguindo o seguinte modelo:

$$RESP = 3,12 + 0,37Cla + 1,22\% \text{Água} + 5,07\%MO; R^2 = 0,57; p < 0,05 \quad (4.5)$$

A mesma análise estatística aplicada a cada uma das zonas de amostragem revelou que, na zona II, a taxa de PPL explicou 69% da variância da taxa de respiração, na zona III o parâmetro pH da água intersticial explicou 58% dessa mesma variância. Finalmente na zona de sapal, a concentração de nitritos na água no início da incubação explicou 71% da variação da taxa de respiração.

Tabela 7- Valores do coeficiente de correlação entre taxa de respiração e 13 parâmetros: produção primária líquida (PPL); percentagem de matéria orgânica (%MO) e de água (%Água) à superfície do sedimento, concentração de clorofila a (Cla) e feopigmento a (Feop) à superfície do sedimento; temperatura (Temp) durante o período de incubação; concentração de nutrientes (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , Si) e oxigénio (O_2) no início da incubação; pH da água intersticial.

		PPL	%MO	%Água	Cla	Feop	Temp	NH_4^+	NO_3^-	NO_2^-	PO_4^{3-}	Si	O_2	pH
Zona I n=12	r	-0,25	0,39	0,34	0,62	0,42	-0,69	-0,21	0,28	-0,84	0,76	0,66	0,61	-0,20
	p	ns	ns	ns	*	ns	*	ns	ns	**	**	*	*	ns
Zona II n=12	r	0,83	0,61	0,72	0,67	0,56	0,80	0,18	-0,25	0,83	-0,81	-0,69	-0,48	-0,28
	p	**	*	**	*	ns	**	ns	ns	**	*	*	ns	ns
Zona III n=12	r	0,10	0,11	0,16	0,38	0,51	0,01	-0,48	0,12	-0,59	-0,64	-0,35	0,46	-0,76
	p	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	**
Zonas I, II e III n=36	r	0,51	0,41	0,46	0,60	0,46	0,12	-0,39	-0,19	-0,40	-0,44	-0,48	0,22	0,23
	p	**	*	***	***	*	ns	**	ns	*	**	**	ns	ns

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ns - p > 0,05

4.2.3 Índice metabólico (P/R)

O metabolismo líquido de um ecossistema foi originalmente definido por Odum *et al.* (1969), como a razão entre a produtividade primária bruta e a respiração total de um sistema (Smith & Hollibaugh, 1997), este índice (PPB/RESP) é muito útil para avaliar as condições tróficas do sistema.

Na Figura 16, está representada a variação sazonal dos valores de índice metabólico, PPB/RESP, para cada zona de amostragem. Esta razão foi calculada com base nos valores diários das taxas de respiração e de produção primária bruta. Para estimar a taxa de respiração diária das comunidades bênticas assumiu-se que estas eram iguais à multiplicação do valor da taxa de respiração horária por 24 (van Es, 1982). Como aproximação à taxa de produção de oxigénio diária, a taxa horária foi multiplicada por 12h (Primavera e Outono), 14h (Verão) e 10h (Inverno) (Rizzo & Wetzel, 1985).

Em qualquer uma das situações estudadas, a taxa de produção primária superou a taxa de respiração. Este facto significa que as zonas intertidais amostradas podem ser

consideradas sistemas autotróficos ($P/R > 1$). Na zona I (vasa de sapal) III (areão sujeito a esgotos), assiste-se a flutuações do índice metabólico enquanto que na zona de areão intertidal manteve-se razoavelmente constante durante as quatro estações do ano (Figura 16).

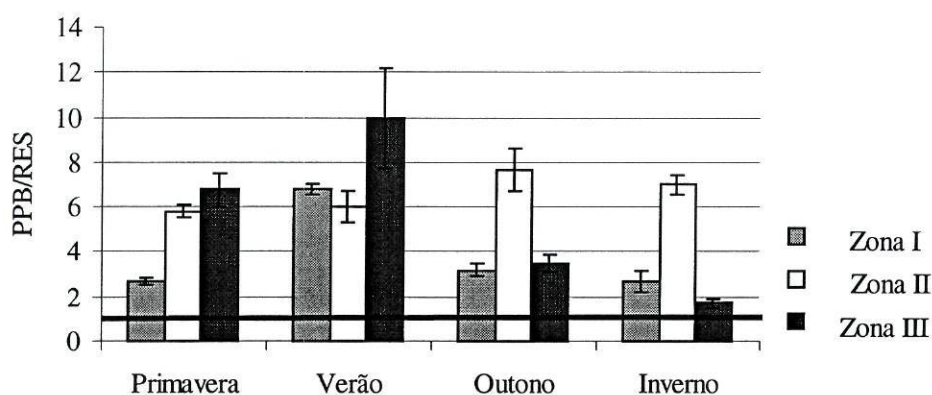


Figura 16 - Valores do índice metabólico (PPB/RESP) nas três zonas de amostragem em diferentes estações do ano (média \pm desvio padrão). A barra horizontal representa $P/R=1$.

4.3 Discussão

4.3.1 Metodologia

A avaliação das taxas de produção fotossintética e respiração no sedimento foram realizadas através da medição das trocas de oxigénio na água sobrenadante, em incubações realizadas na presença e ausência de luz. Deste modo, no cálculo da PPB e RESP diárias assumiu-se que não se verificaram diferenças nas taxas de respiração entre os cores incubados na presença de luz e aqueles que foram incubados na ausência de luz (Zedler, 1980). No entanto, alguns autores, demonstraram que a absorção de oxigénio pelo sedimento em incubações à luz é maior do que a registada nas incubações realizadas no escuro (Lindeboom *et al.*, 1985; Kuhl *et al.*, 1996), indicando que o método usado no

presente trabalho tem tendência para subestimar tanto a produtividade primária bruta como a taxa de respiração diária das comunidades bênticas.

O método usado neste trabalho possibilitou o uso de amostras suficientemente grandes (113,1 cm²) de modo a prevenir efeitos inerentes à superfície perturbada, que pode facilmente ocorrer em amostras muito pequenas. Quando se usa o método de fixação de ¹⁴C, apenas pequenas amostras de sedimento podem ser sujeitas à determinação da produtividade destas comunidades (Colijn & de Jonge, 1984; Nienhuis & de Bree, 1984).

A agitação durante o período de incubação pode estimular a produção primária microfitobêntica (Boynton, 1981; Revsbech *et al.*, 1981). A ausência de agitação durante os períodos de incubação, está de acordo com Colijn & de Jonge (1984).

Em termos de taxa de respiração, o método do oxigénio usado tem a desvantagem de medir vários processos em simultâneo, não nos dando nenhuma informação acerca da contribuição individual do consumo de oxigénio químico e biológico (van Es, 1982). Também dentro do compartimento biológico não são identificados os grupos de organismos envolvidos no consumo de oxigénio

4.3.2 Taxas de produção primária/respiração: sazonalidade e índice metabólico

Este estudo demonstra a contribuição significativa das comunidades microfitobênticas em termos de produção primária no sistema estuarino do rio Douro, facto já referido por outros autores para outros ecossistemas (Nowicki & Nixon, 1985; Varela & Penas, 1985; Plant-Cuny & Boday, 1987; MacIntyre & Cullen, 1995).

No presente trabalho, em três zonas distintas do mesmo banco intertidal, verificaram-se diferenças no padrão temporal das taxas de produção primária. Na zona de sapal, o padrão de PPL manteve-se razoavelmente constante ao longo do todo o ciclo anual. Na zona III (areão sujeito a descargas de esgotos) esta constância foi observada na Primavera, Verão e Outono, sendo quebrada pelos baixos valores observados no Inverno. A variabilidade sazonal observada na zona II (areão) é semelhante à descrita por Riaux-Gobin *et al.* (1993) num banco intertidal do estuário de Dourduff. Outros estudos

descrevem também um pico pronunciado no Verão (Zedler, 1980; Sullivan & Moncreiff, 1988; Barranguet *et al.*, 1994), e um decréscimo no Inverno (van Raalte, 1976). Na zona de sapal, apesar de não se terem verificado diferenças sazonais significativas nas taxas de PPL, em relação às taxas de respiração, estas foram significativamente mais elevadas no Inverno. No Verão, pelo contrário, foram registados os valores mais baixos. Este facto está em desacordo com van Es (1982), que, de um modo geral, encontrou os valores mais elevados no Verão e os mais baixos no Inverno. Na zona de areão intertidal, o padrão sazonal das taxas de respiração segue o observado para as taxas de PPL, estando de acordo com a elevada correlação existente entre estes dois processos metabólicos nesta área de estudo ($r = 0,83$; $n = 12$; $p < 0,001$).

Diversos autores apresentam padrões sazonais de PPL e RESP muito distintos dos observados neste trabalho (van Raalte, 1976; Varela & Penas, 1985; Barranguet, *et al.*, 1998). Verifica-se também que, mesmo quando as amostragens foram efectuadas no mesmo local, os ciclos anuais alteraram-se drasticamente de ano para ano (Cadée & Hegeman, 1974; van Es, 1982; Hargrave *et al.*, 1983). Este facto pode ser reflexo da variabilidade que existe a curto prazo nestes processos (Blanchard & Guarini, 1998). Deste modo, a interacção resultante entre a estratégia de amostragem típica (mensal ou sazonal) e as características inerentes ao microbentos (grande variabilidade em curtas escalas temporal e espacial) vem influenciar grandemente o conhecimento da dinâmica das comunidades dominadas por microflora. As maiores taxas de PPL foram registadas na zona de areão intertidal, tendo Nowicki & Nixon (1985) também registado taxas de PPL mais elevadas nos sedimentos arenosos.

Apesar dos resultados obtidos não descreverem a totalidade do sistema estuarino do rio Douro, sugerem fortemente que as zonas intertidais do sector inferior são autotróficas ($P/R > 1$). Deste modo, a fixação de carbono pelas comunidades de microalgas bênticas pode assumir uma função importante na manutenção da produtividade do sistema estuarino do rio Douro. A dicotomia sistema autotrófico/heterotrófico é fortemente afectado pela natureza dos efluentes exógenos (Caffrey *et al.*, 1998). Os sistemas estuarinos de Narragansett Bay (Nixon & Pilson 1984) e Chesapeake Bay (Kemp *et al.*, 1997) recebem

grandes quantidades de nutrientes e são sistemas autotróficos. Por outro lado, sistemas costeiros com grande carga orgânica como Georgia Bight (Hopkinson, 1985), são heterotróficos. A variabilidade sazonal da razão P/R observada nas zonas I e III confirmam a dinâmica dos componentes do metabolismo líquido de um ecossistema. Medições prévias em vários estuários mostraram que tanto a respiração como a produção apresentam variabilidade em pequenas escalas temporais (Oviatt *et al.*, 1986; Jensen *et al.*, 1990; D'Avanzo *et al.*, 1996).

4.3.3 Taxas de produção primária/respiração: factores ambientais e biológicos

A produção microfítobêntica foi correlacionada, em diversos estudos, com um grande número de variáveis incluído concentração de clorofila *a* no sedimento, temperatura, irradiação, mistura do sedimento, salinidade, etc. A relativa importância de cada uma destas variáveis pode diferir entre habitats adjacentes (Sullivan & Moncreiff, 1988; Pinckney & Zingmark, 1993a).

No presente trabalho, a correlação linear positiva e significativa entre concentração de clorofila *a* e a taxa de produção primária nas áreas de estudo de sedimento arenoso (zonas II e III) está de acordo com o registado em alguns sistemas intertidais de zonas temperadas (Cadée & Hegeman, 1977; Davis & McIntire, 1983; Hargrave *et al.*, 1983; Colijn & de Jonge 1984; Sundback *et al.*, 1991; Brotas & Catarino, 1995). Na zona de sapal esta relação não foi registada, o que pode ser explicado pela forte atenuação de luz nos primeiros 0,5 cm de profundidade no sedimento lodoso em comparação com o arenoso. Esta ausência de relação foi também observada em duas estações de amostragem no estuário Ems-Dollard (Colijn & de Jonge, 1984) e também no golfo de Fos (Barranguet *et al.*, 1994).

Em termos globais, verificou-se que a variável concentração de clorofila *a* por si só explicou 67% da variação da taxa de PPL observada. Nas zonas II e III os valores de R^2 apresentaram-se ainda mais elevados (79% e 89%, respectivamente). Na literatura, a proporção da variabilidade na produção primária que pode ser explicada por alterações na concentração de clorofila *a*, varia de 0% (Hartwig, 1978) a 83% (Sundback *et al.*, 1991),

com a maioria dos valores situados entre 30 e 40% (Colijn & de Jonge, 1984; Plant-Cuny & Bodoy, 1987; Pinckney & Zingmark, 1993).

O facto de se ter verificado que a taxa de respiração e a concentração de clorofila *a* estão significativamente correlacionadas nas áreas de estudo I e II, sugere que as comunidades microfitobênticas são provavelmente responsáveis por uma fracção da taxa de respiração nestas duas zonas. Este facto fora já observado no compartimento pelágico na baía de S. Francisco (Caffrey *et al.*, 1998).

Alguns autores registaram correlações positivas entre a carga orgânica e as taxas de respiração (Barranguet *et al.*, 1996; Barranguet, 1997), o que é compreensível visto que elevadas concentrações de matéria orgânica podem alimentar maiores taxas de decomposição aeróbia (Joye *et al.*, 1996). No entanto, a maior carga orgânica na zona de sapal não se reflectiu em maiores taxas de respiração, possivelmente devido ao seu carácter refractário. Na zona III, a ausência da relação, tanto entre respiração e percentagem matéria orgânica, como entre respiração e concentração de clorofila *a*, sugere o maior contributo de outros grupos de organismos no consumo de oxigénio observado (bactérias e eventualmente macro-meio-bentos). Outros processos, como a oxidação/redução de HS^- , Fe^+ e Mn^{2+} , requerem também grandes quantidades de O_2 , podendo ser responsáveis por 75% da absorção de O_2 , nos cores incubados no escuro (Joye *et al.*, 1996). Esta zona do estuário, ao receber esgotos urbanos não tratados, dispõe de uma fonte aloctónica de matéria orgânica independente da produzida no local pelos produtores primários. Certamente por este facto, não foi verificado qualquer relação entre a taxa de respiração e a biomassa microfitobêntica.

Cammen (1991), não encontrou qualquer relação entre a PPL e o consumo de oxigénio na zona de sedimento vasoso. No entanto, na zona de areão, esta relação apresentou-se muito forte. No presente trabalho, a relação só se verificou na zona de areão intertidal, facto que poderá ter a ver com a natureza mais dinâmica desta (Cammen, 1991). Não havendo, deste modo, acumulação de matéria orgânica, a maior parte da respiração pode

ser atribuída à actividade fotossintética do microfitobêntos, o que é apoiado pelo facto de 69% da variância observada na taxa de respiração ser explicada pela PPL.

Outros factores, eventualmente importantes não foram avaliados no presente trabalho apesar de poderem influenciar os processos metabólicos estudados, como sejam o pastoreio pelos herbívoros (Gould & Gallagher, 1990), a actividade das comunidades macrobênticas assim como eventos meteorológicos, como a precipitação (Brotas & Catarino).

4.3.4 Produção microfitobêntica e planctónica

Os resultados de produção primária bêntica obtidos no presente trabalho ($\text{mg C m}^{-2} \text{h}^{-1}$) foram comparados com os dados disponíveis (Bordalo, comunicação pessoal) de produtividade primária planctónica (^{14}C ; $\text{mg C m}^{-2} \text{h}^{-1}$) mensais do ano 1998 (Figura 17). Pode-se verificar que o valor médio da taxa de produção primária bêntica nas três áreas de estudo superaram grandemente as taxas de produtividade planctónica na zona fótica.

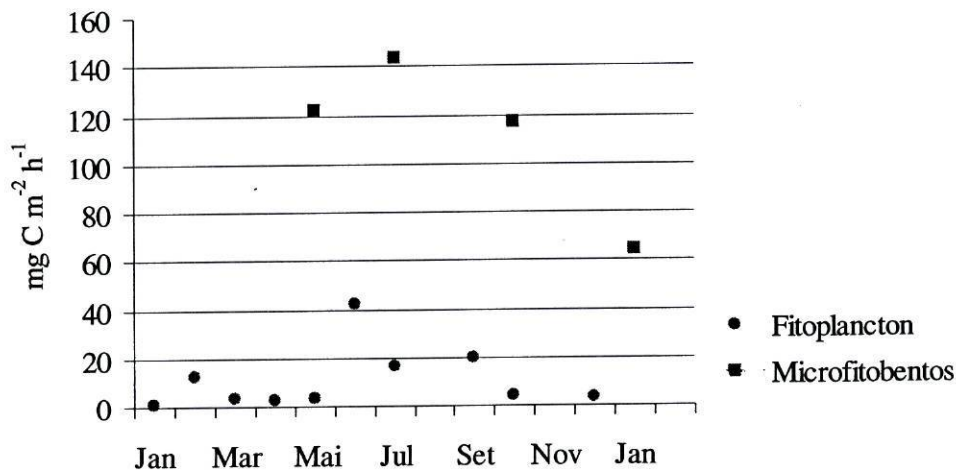


Figura 17 –Variação mensal da fixação de carbono fitoplanctónica e microfitobêntica (1998/99).

Os resultados dos estudos que entram em linha de conta com a produtividade primária fitoplanctónica e microfitobêntica, são variáveis de acordo com o tipo de sistema

considerado. Alguns autores registaram uma maior produtividade primária fitoplanctónica (Gargas, 1972; Cahoon & Cooke, 1992; Barranguet *et al.*, 1996) enquanto que outros autores verificaram que as comunidades microfítobênticas eram responsáveis por taxas de produção primária mais elevadas (Varela & Penas, 1985; Plante-Cuny & Bodoy, 1987). Cadée & Hegeman (1974), Plante-Cuny & Bodoy (1987) e MacIntyre & Cullen (1995) estimaram taxas de produtividade bêntica e planctónica idênticas.

4.3.5 Comparação com outros sistemas

Dados de produção primária e respiração em vários sistemas intertidais e sutidais estão compilados nas Tabela 8 e Tabela 9. A comparação dos resultados obtidos em termos de produção primária e respiração com outros estudos realizados em comunidades microbênticas torna-se difícil, devido à disparidade de métodos usados, assim como às diferenças na análise e apresentação dos resultados. No entanto, os dois métodos mais usados são a absorção de ^{14}C e a evolução da concentração de O_2 .

Os dados do presente estudo foram comparados em termos de taxas de respiração e produção primária líquida diárias assim como horárias. As taxas diárias foram calculadas de acordo com o referido em 4.2.3 neste capítulo. Os dados em $\text{mg O}_2 \text{ m}^{-2}$ oxigénio foram convertidos em mg C m^{-2} , assumindo que 1 mg de O_2 produzido ou respirado é equivalente a 0,375 mg de carbono orgânico, (Uthick & Klumpp, 1998).

Como primeira análise, podemos observar grande variabilidade de valores de PPL e respiração nos diversos sistemas intertidais e subtidais (Tabela 8 e Tabela 9). Tal como se verificou no presente trabalho, os intervalos entre os valores mínimos e máximos dos valores de PPL e respiração durante os vários períodos de amostragem (Tabela 8 e Tabela 9) são elevados.

De um modo geral, os valores de PPL ($\text{mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) obtidos para o estuário do rio Douro encontram-se entre os mais elevados. Apenas Riaux-Gobin *et al.*, (1993) determinaram maiores taxas de PPL. Mesmo os valores mínimos de PPL registados, superam os valores máximos determinados nalguns sistemas intertidais e subtidais (Tabela

8). Comparativamente, as comunidades microfítobênticas do banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro, são responsáveis por elevadas taxas de fixação de carbono.

No que diz respeito à respiração, de um modo geral as taxas determinadas nas três áreas de estudo estão dentro dos intervalos de valores determinados por outros autores (Tabela 9).

Tabela 8 - Comparação da produção primária líquida microfítobêntica, em sistemas de sedimento intertidal e subtidal geograficamente distintos.

<i>Localização</i>	<i>Técnica</i>	<i>PPL</i> <i>(mg C m⁻² h⁻¹)</i>	<i>Tipo de sedimento</i>	<i>Fonte</i>
Estuário Ems-Dollard (Holanda)	¹⁴ C	5-120	Intertidal	Colijn & de Jonge (1984)
Golfo de Fos (França, 43°N)	O ₂	0 – 15	Intertidal e Subtidal	Barranguet (1997)
Estuário do Rio Neuse (EUA)	O ₂	0-31	Intertidal	Rizzo <i>et al.</i> (1992)
Sapal do Mississippi (EUA, 30°N)	¹⁴ C	2-21	Intertidal	Sullivan & Moncreiff (1988)
Estuário Westerschelde (Holanda, 51°N)	¹⁴ C	5-100	Intertidal	Barranguet <i>et al.</i> (1998)
Ria Arosa (Espanha)	¹⁴ C	10-24	Intertidal	Varela & Penas (1985)
Estuário Dourduff (França, 54°N)	¹⁴ C	350-900	Intertidal	Riaux-Gobin <i>et al.</i> (1993)
Estuário do Tejo (Portugal, 38°N)	O ₂	6-24	Intertidal	Brotas & Catarino (1995)
Estuário do rio Douro –zona I (Portugal, 41°N)	O ₂	75-112	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro –zona II (Portugal, 41°N)	O ₂	65-231	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro – zona III (Portugal, 41°N)	O ₂	22-112	Intertidal	Presente estudo
		<i>PPL</i> <i>(mg C m⁻² d⁻¹)</i>		
Estuário do Rio Neuse (EUA)	O ₂	146-242	Intertidal	Rizzo <i>et al.</i> (1992)
Estuário Ems-Dollard (Holanda)	¹⁴ C	62-276	Intertidal	Colijn & de Jonge (1984)
Lago Grevelingen (Holanda, 52°N)	¹⁴ C	200-500	Subtidal	Nienhuis & de Bree (1984)
Porto Aransas (Texas, USA)	¹⁴ C	220	Intertidal	McIntyre & Cullen (1995)
Mar, Wadden (Holanda)	¹⁴ C	50-1100	Intertidal e Subtidal	Cadée & Hegeman (1974)
Baía Cannon (Austrália, 41°S)	O ₂	306-790	Intertidal e Subtidal	Uthick & Klumpp (1998)
Baía San Antonio (Texas, EUA)	¹⁴ C	1-86	Intertidal e Subtidal	MacIntyre & Cullen (1996)
Estuário do rio Douro –zona I (Portugal, 41°N)	O ₂	691-1469	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro –zona II (Portugal, 41°N)	O ₂	595-3002	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro – zona III (Portugal, 41°N)	O ₂	106-1238	Intertidal	Presente estudo

Nota: os dados originais de oxigénio foram convertidos em carbono.

Tabela 9 - Comparação das taxas de respiração das comunidades bênticas, em sistemas de sedimento intertidal e subtidal geograficamente distintos.

<i>Localização</i>	<i>Técnica</i>	<i>RESP</i> <i>(mg C m⁻² h⁻¹)</i>	<i>Tipo de sedimento</i>	<i>Fonte</i>
Golfo do Fos (França, 43°N)	O ₂	10-18	Intertidal e subtidal	Barranguet (1997)
Lago Mikolajskie (Polónia)	O ₂	5	Intertidal	Wasmund (1984)
Baía do Fundy (Canadá, 45°N)	O ₂	11-29	Intertidal	Hargrave <i>et al.</i> (1983)
Baía de Marennes-Oléron (França)	O ₂	4-6	Intertidal	Gouleau <i>et al.</i> (1994)
Estuário do Rio Neuse (Norte Carolina, USA)	O ₂	4-5	Intertidal	Rizzo <i>et al.</i> (1992)
Lagoa costeira, Rhode Island (USA, 41°N)	O ₂	6-71	Intertidal	Nowicki & Nixon (1985)
Baía de Chesapeake (Virginia, USA)	O ₂	2-85	Intertidal e subtidal	Rizzo & Wetzel (1985)
Lagoa Magu (Califórnia, 34°N)	O ₂	14-46	Intertidal	Shaffer & Onuf (1983)
Sapal, Georgia (USA, 31°N)	O ₂	8-50	Intertidal	Pomeroy (1959)
Baía, Fourleague (Louisiana, USA)	O ₂	0-53	Subtidal	Teague <i>et al.</i> (1988)
Golfo do Fos (França, 43°N)	O ₂	1-51	Intertidal e subtidal	Barranguet <i>et al.</i> (1996)
Estuário do rio Douro -zona I (Portugal, 41°N)	O ₂	10-21	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro -zona II (Portugal, 41°N)	O ₂	4-24	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro - zona III (Portugal, 41°N)	O ₂	6-13	Intertidal	Presente estudo
		<i>RESP</i> <i>(mg C m⁻² d⁻¹)</i>		
Estuário Sheepscoot (EUA)	O ₂	375-750	Intertidal	Cammen (1991)
Estuário Ems-Dollard (Holanda, 53°N)	O ₂	38-176	Intertidal	van Es (1982)
Baía de Mobile (USA)	O ₂	36-469	Subtidal	Cowan <i>et al.</i> (1996)
Baía, San Francisco (USA, 37°N)	O ₂	1-264	Intertidal e subtidal	Caffrey <i>et al.</i> (1998)
Estuário do rio Douro -zona I- Portugal (41°N)	O ₂	240-504	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro -zona II- Portugal (41°N)	O ₂	96-576	Intertidal	Presente estudo
Estuário do rio Douro - zona III- Portugal (41°N)	O ₂	144-312	Intertidal	Presente estudo

Nota: os dados originais de oxigénio foram convertidos em carbono.

Capítulo 5

Fluxos de Nutrientes entre Coluna de Água / Sedimento

5.1 Introdução

Os rios e seus afluentes urbanos, afectam a disponibilidade instantânea de nutrientes e matéria orgânica nos estuários e, a longo prazo, podem promover a sua acumulação (Nixon, 1981, Teague *et al.*, 1988). Por sua vez, os sedimentos importam matéria orgânica e inorgânica particulada da coluna de água, que é imediatamente degradada pelos microrganismos bênticos, resultando numa regeneração dos nutrientes na água intersticial (Hall *et al.*, 1996). As diferenças de concentrações dos nutrientes entre a água intersticial e a coluna de água promovem fluxos difusos ou mediados biologicamente entre o interface sedimento/coluna de água (Hall *et al.*, 1996). Esta recirculação bêntica, pode vir a satisfazer substancialmente as necessidades em nutrientes dos produtores primários planctónicos (Rizzo, 1990; Gómez-Parra & Forja, 1993; Bartoli *et al.*, 1996; Hall *et al.*, 1996). No entanto, os sedimentos não funcionam apenas como fonte de nutrientes, podendo, igualmente reter ou remover nutrientes regenerados (Teague *et al.*, 1988;

Kristensen *et al.*, 1992; Ogilvie *et al.*, 1997; Asmus *et al.*, 1998). Os mecanismos de remoção incluem a adsorção, que é um processo importante no caso do fosfato em áreas de sedimento aeróbio (Boynton & Kemp, 1985; Sundby *et al.*, 1992), assim como, no caso da sílica (Wetzel, 1983). O azoto e fósforo também são incorporados na biomassa bacteriana bêntica através da assimilação de amónia, nitrato nitrito e fosfato (D'Elia & Wiebe, 1990; Blackburn *et al.*, 1996). Largas proporções do azoto que chega aos sedimentos podem ser removidos através da desnitrificação (Boynton & Kemp, 1985; Seitzinger, 1988; Smith *et al.*, 1991). As comunidades microfitibênticas podem, também, influenciar directamente o fluxo de nutrientes entre o sedimento/coluna de água através do consumo de nutrientes presentes na água ou, indirectamente, através da oxigenação da zona de interface, em resultado da actividade fotossintética (Jensen, 1984; Andersen & Kristensen, 1988; Carlton & Wetzel, 1988; Sundback *et al.*, 1991). Todos estes processos, intimamente associados de produção e remoção, significam que, nos sedimentos pode haver uma mineralização intensa da matéria orgânica sem se verificar transferência simultânea dos nutrientes para a coluna de água, podendo verificar-se mesmo uma absorção por parte dos sedimentos. Neste caso, os processos que ocorrem nos sedimentos podem ter grande importância na remoção do azoto e fósforo antropogénico em ecossistemas poluídos (Boynton & Kemp, 1985; Joye & Pearl, 1994; Olsen & Andersen, 1994).

Concorrentemente com estas observações, tem vindo a aumentar o interesse no conhecimento dos factores de regulação destes processos (Koop *et al.*, 1990; Rizzo, 1990; Cowan *et al.*, 1996). Vários parâmetros ambientais foram identificados como importantes, incluindo a quantidade e qualidade da matéria orgânica que chega à superfície do sedimento, a dinâmica da infauna, a temperatura, as características químicas da superfície do sedimento e da água adjacente. A natureza interactiva das variáveis referidas, assim como de outras, acarreta dificuldades para a identificação das relações causa-efeito.

Vários autores que se interessaram pelo estudo das alterações associadas à diagenese nos sedimentos, estimaram fluxos indirectos baseados em gradientes de oxigénio e nutrientes na coluna de água e na água intersticial a várias profundidades, (Emerson *et al.*,

1984; Reimers & Smith, 1986; Klump & Martens, 1989; Lerat *et al.*, 1990; Charpy-Roubaud *et al.*, 1996). Este procedimento, todavia, não tem em conta a produtividade bêntica, que em habitats de águas pouco profundas, podem modificar significativamente a dinâmica dos fluxos (Rizzo, 1990; Sunback *et al.*, 1991), nem as actividades de todos os outros organismos bênticos que, necessariamente, influenciam os processos em causa (Doering *et al.*, 1987; Pelegrí & Blackburn, 1995; Hall *et al.*, 1996). Para se entrar em linha de conta com a actividade da produção primária e com outros processos biológicos que eventualmente ocorram nos sedimentos, é necessário proceder-se a medições directas dos processos bênticos (Miller-Way *et al.*, 1994). Para tal, de um modo geral, isola-se uma amostra de sedimento em microcosmos, sendo posteriormente determinadas as alterações das concentrações de nutrientes na água durante o períodos da incubação na presença e ausência de luz (Nowicki & Nixon, 1985; Rizzo, 1990; Asmus *et al.*, 1998).

No presente capítulo são apresentados e discutidos os resultados da variação sazonal dos fluxos directos de nutrientes no interface sedimento/coluna de água, em três zonas do banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro. Também são identificados os parâmetros ambientais potencialmente responsáveis pela regulação das trocas de nutrientes entre o sedimento e coluna de água.

5.2 Resultados

Nas diferentes experiências realizadas, não se verificaram diferenças significativas na concentração de nutrientes nos microcosmos de controlo, durante todo o período de incubação (6-8 h). Este facto significa, que a filtração da água utilizada para o enchimento dos microcosmos por 0,2 μm foi suficiente para remover todos os agentes responsáveis por possíveis alterações na concentração de nutrientes da coluna de água. Deste modo garantiu-se serem os processos bentónicos os únicos responsáveis pelos fluxos de nutrientes registados.

Na maioria dos casos, foram determinadas relações lineares entre a concentração dos vários nutrientes na água de cada microcosmo e o tempo de incubação. Nos casos em que

se verificaram fluxos líquidos nulos, não foram registadas alterações nas concentrações dos nutrientes na água durante todo o período de incubação. Em relação às réplicas, verificou-se que, salvo algumas exceções, o comportamento foi semelhante. Na Figura 18 estão representados exemplos típicos da evolução da concentração dos nutrientes, durante as incubações realizadas.

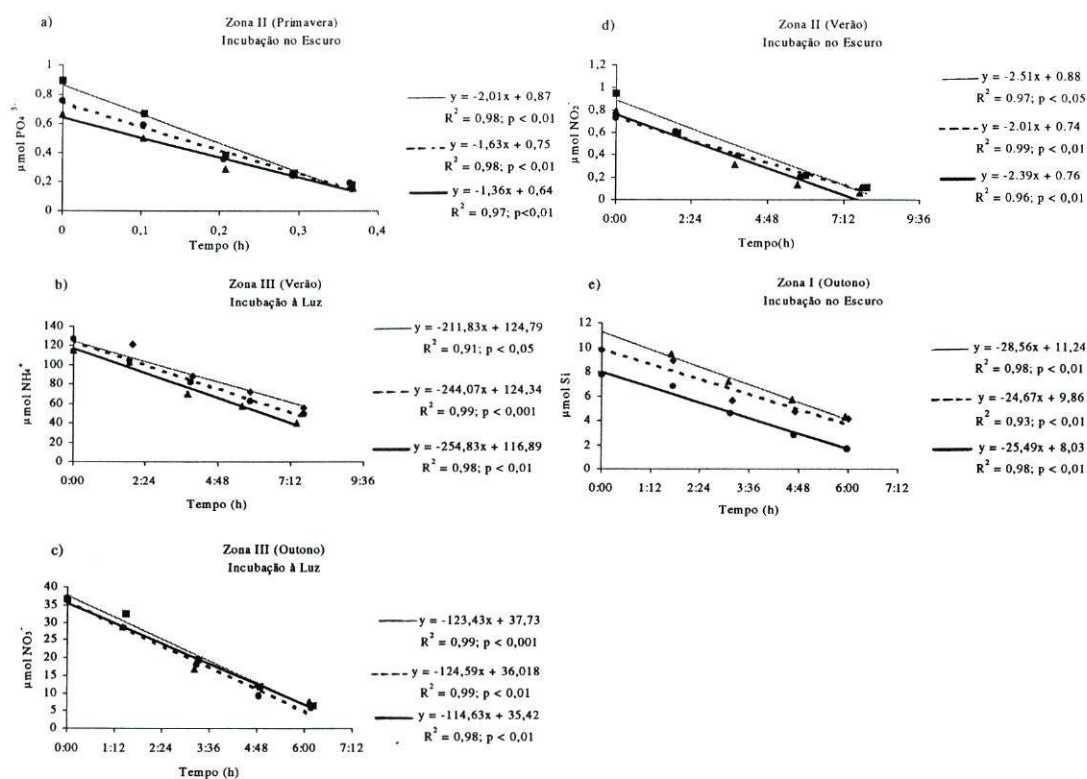


Figura 18 - Exemplos da evolução dos nutrientes na água dos microcosmos durante o período de incubação: a – Fosfatos; b – Amónia; c – Nitratos; d – Nitritos; e - Sílica.

5.2.1 Variação Sazonal e Espacial

5.2.1.1 Amónia

A variação sazonal das taxas horárias médias (\pm desvio padrão) dos fluxos de amónia nas três áreas de estudo, está representada na Figura 19. Os fluxos médios (três réplicas) de

amónia nas três áreas de estudo e para as diferentes estações do ano variaram entre $-3638,5 \pm 112,2$ a $+366,9 \pm 75,2$ e $\mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$.

Na zona de sapal (zona I), com excepção do Outono, verificaram-se sempre diferenças significativas entre as incubações realizadas na presença de luz e as que foram realizadas no escuro (test *t* Student, $p < 0,01$). Os microcosmos incubados no escuro registaram libertação de amónia para a água adjacente, enquanto que nos microcosmos transparentes os fluxos foram negativos. Na zona de areão intertidal (zona II), estas diferenças foram apenas registadas no Verão e Outono (test *t* Student, $p < 0,01$), onde os fluxos de amónia na ausência de luz apresentaram-se nulos. Na zona sujeita a descarga de esgotos (Zona III), não foram observadas diferenças significativas entre os dois tratamentos, nas quatro estações do ano.

Em todas as estações de amostragem foi visível uma sazonalidade na absorção e/ou libertação de amónia por parte do sedimento. Os picos máximos e mínimos variaram de acordo com a área de estudo (Figura 19). Em todas as estações do ano, a zona sujeita a descargas de esgotos urbanos apresentou taxas de absorção mais elevadas relativamente às outras duas áreas. A zona III, quer no Verão quer no Inverno, apresentou taxas de absorção muito elevadas, coincidindo com os valores máximos de amónia na coluna de água ($225,3 \mu\text{M}$ e $361,7 \mu\text{M}$, respectivamente).

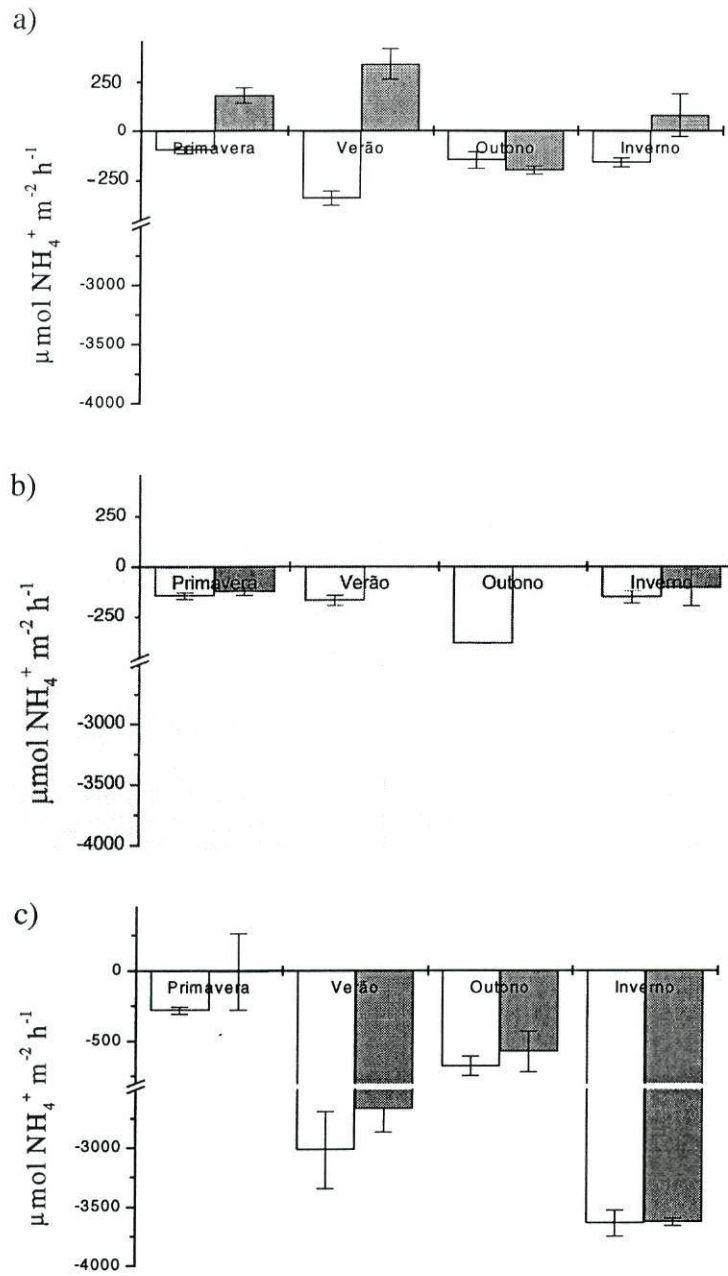


Figura 19 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de amónia (NH_4^+), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos.

5.2.1.2 Nitratos

Em relação aos nitratos verificou-se em todos os casos uma absorção deste nutriente por parte dos três sedimentos intertidais (Figura 20). Os valores médios variaram entre $-3067,1 \pm 142,7$ a $-125,9 \pm 17,4 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$. Em cada uma das zonas de estudo, o padrão sazonal observado para as incubações realizadas nos microcosmos transparentes foi semelhante ao registado nas incubações realizadas na ausência de luz. Não foram notórias diferenças entre os fluxos horários de nitratos nos microcosmos incubados no escuro e nos microcosmos transparentes. Nas zonas de sapal e areão intertidal, os picos de absorção máxima foram observados na Primavera, enquanto que, no Verão, foram registados valores de taxas de absorção mínimos. A zona III, apresentou um padrão sazonal distinto com valores máximos no Inverno e mínimos no Verão, coincidindo com as concentrações máximas e mínimas de nitratos na coluna de água ($149,3 \mu\text{M}$ e $11,9 \mu\text{M}$, respectivamente).

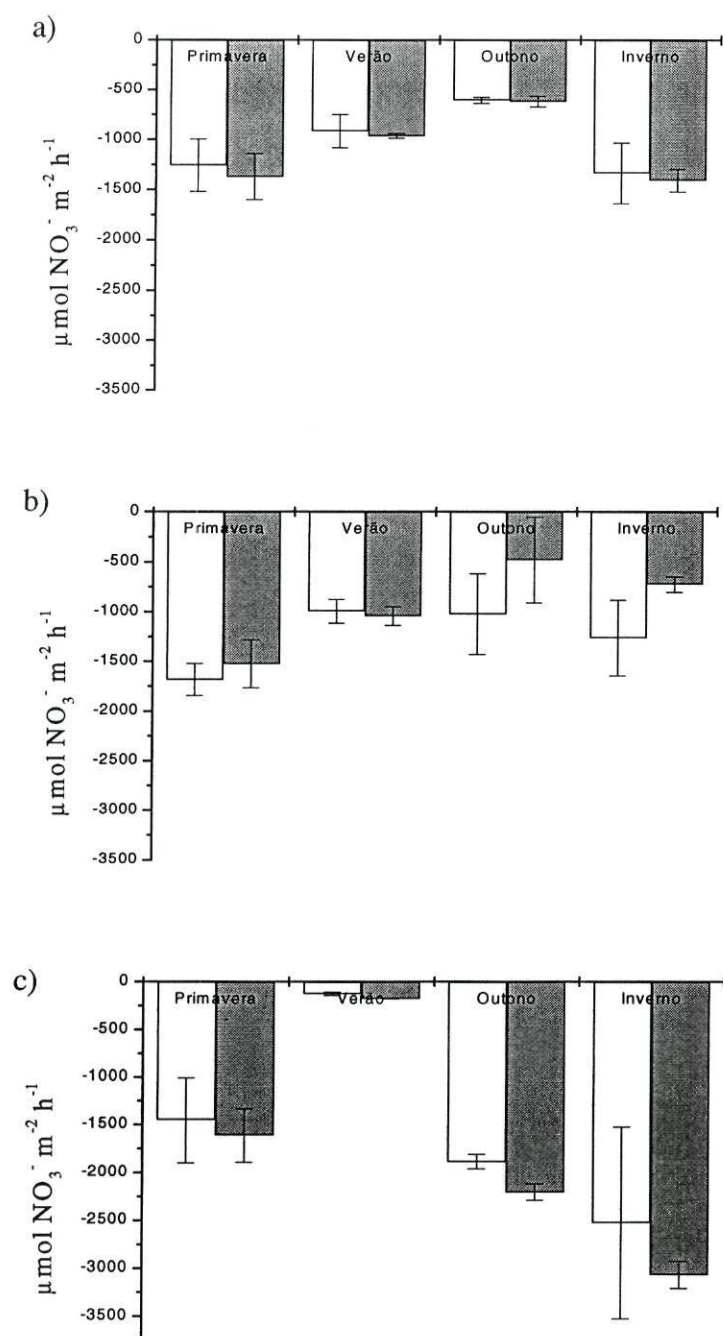


Figura 20 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de nitratos (NO_3^-), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz.

5.2.1.3 Nitritos

De um modo geral, durante os períodos de incubação, verificou-se absorção de nitritos por parte do sedimento. No entanto, em alguns casos, foi registada libertação de nitritos para a coluna de água (Figura 21). Este facto foi sempre observado nos microcosmos incubados na ausência de luz. As taxas de fluxos de nitritos médias variaram entre $-417,0 \pm 20,1$ e $+57,8 \pm 7,1 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$. Este valor de absorção máxima foi atingido no Verão, na zona sujeita a descargas de esgotos, altura em que se registaram concentrações de nitritos muito elevadas na coluna de água ($24 \mu\text{M}$). Nas zonas de amostragem I e II, verificaram-se sempre maiores taxas de absorção nas incubações à luz (test *t* Student, $p < 0,05$), com a excepção do Verão na zona de areão intertidal e do Outono na zona de sapal. A variação temporal fez-se sentir em todas as estações de amostragem e está representada na Figura 21.

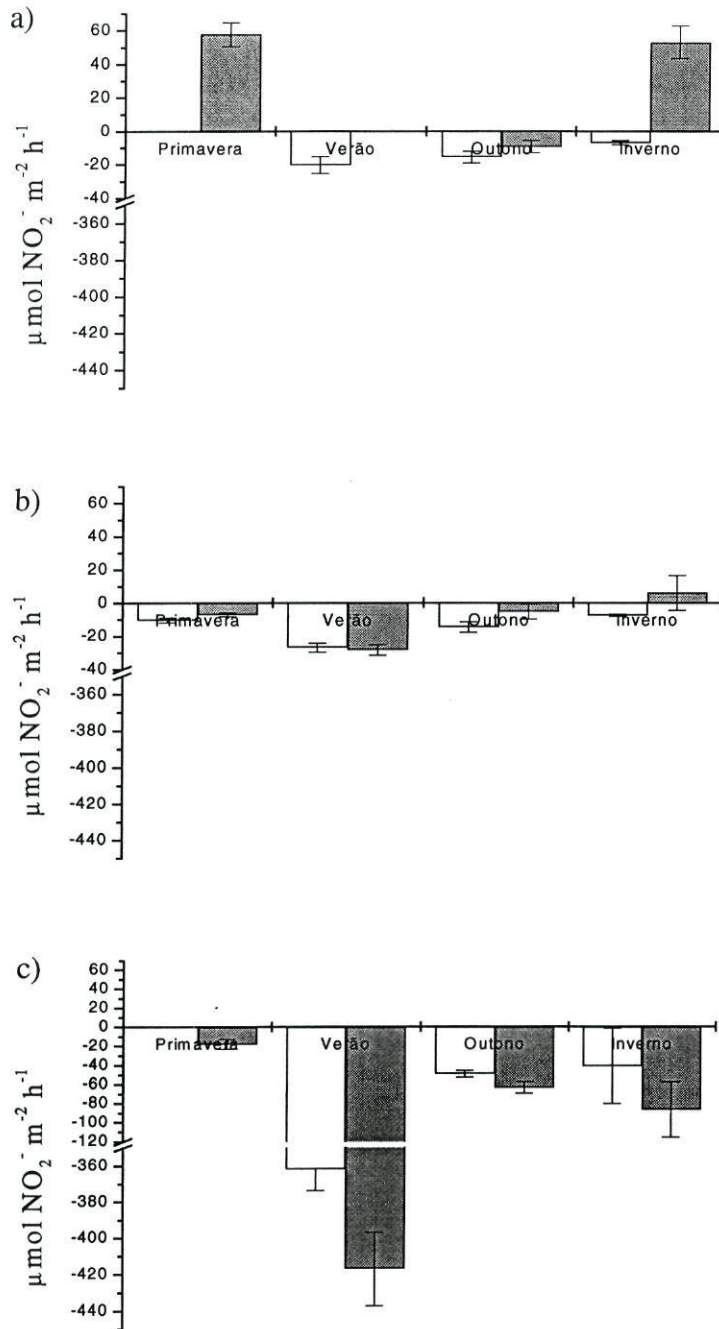


Figura 21 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de nitritos (NO_2^-), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz

5.2.1.4 Fosfatos

Os fluxos líquidos médios de fosfatos variaram de $-567,5 \pm 80,8 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$ na zona sujeita a descargas de esgotos a $+4,7 \pm 1,8 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$ na zona de sapal. Com a exceção deste último caso, verificou-se sempre uma absorção de fosfatos por parte do sedimento (Figura 22). Fluxos líquidos nulos foram observados na zona II, no Verão na incubação realizada no escuro (Figura 22b) e na zona III, na Primavera e Outono, nos microcosmos transparentes (Figura 22c).

De um modo geral, não se registaram diferenças na relação linear entre a evolução da concentração de fosfato com o tempo, nas incubações realizadas na presença e ausência de luz. Nos casos em que foram observadas diferenças, estas não foram consistentes. Em alguns casos observou-se maior absorção na incubação no escuro. Noutros ocorreu uma maior absorção nos microcosmos transparentes (Figura 22). A variação temporal foi diferenciada para cada uma das zonas de estudo. Mais uma vez, registou-se uma resposta imediata por parte do sedimento da zona sujeita a descargas de esgotos urbanos, às elevadas concentrações de fósforo na coluna de água no Verão e Inverno ($30,2 \mu\text{M}$ e $28,7 \mu\text{M}$, respectivamente) (Figura 22).

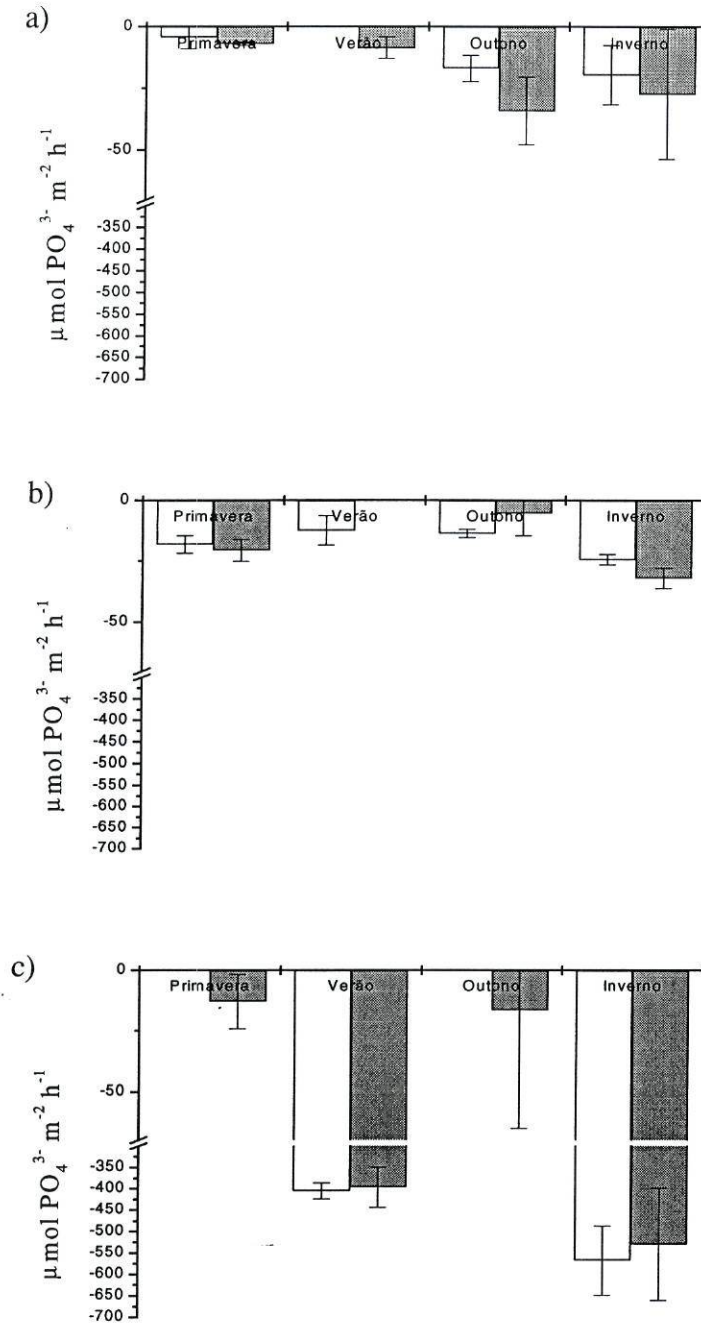


Figura 22 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de fosfatos (PO_4^{3-}), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz

5.2.1.5 *Sílica*

Em todas as ocasiões verificou-se absorção de sílica por parte do sedimento, com a exceção de uma das incubações no escuro na zona de sapal. Neste caso os fluxos foram nulos (Figura 23). As taxas de absorção médias variaram entre $-1473,74 \pm 367,29$ e $0 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$. Não se registaram diferenças entre as taxas de absorção de sílica na presença e ausência de luz, com a exceção do Verão nas zonas I e III (test *t* Student, $p < 0,01$). Nas zonas de sapal e areão intertidal, o padrão de variação sazonal foi semelhante, com taxas de absorção mais elevadas na Primavera e Inverno e menores no Verão e Outono. Na zona III o padrão temporal foi distinto, tendo-se registado taxas de absorção mais baixas na Primavera e no Inverno e as mais elevadas no Verão e no Outono e os mais elevados. Para cada uma das zonas de estudo verificou-se que as incubações realizadas em microcosmos transparentes registaram o mesmo padrão de variação temporal das incubações realizadas no escuro.

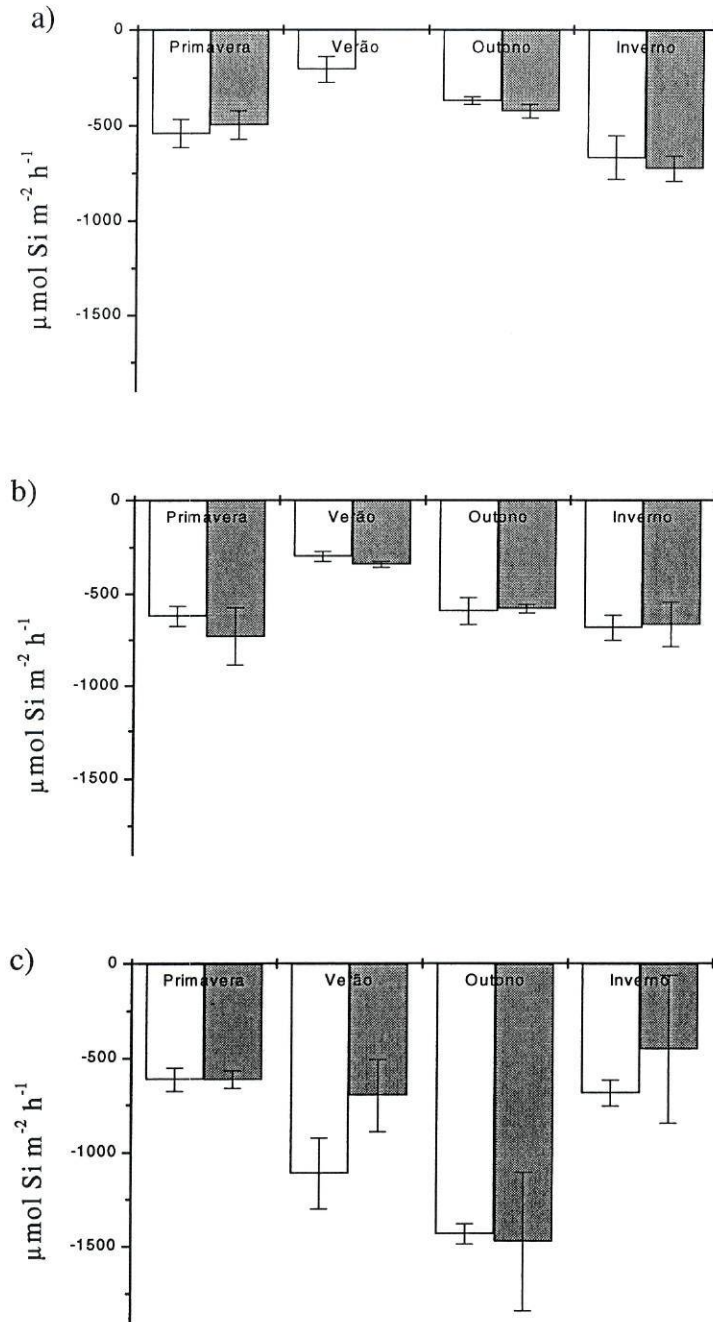


Figura 23 - Variação sazonal (média \pm desvio padrão) das taxas horárias de fluxos de sílica (Si), nas três estações de amostragem: a-zona I, vasa de sapal; b-zona II, areão; c-zona III, areão sujeito a descargas de esgotos. As barras escuras referem-se às incubações no escuro, as barras brancas referem-se às incubações à luz

5.2.2 Relação: Fluxo de Nutrientes/Variáveis Ambientais e Biológicas

Na Tabela 10 estão representados os coeficientes de correlação entre as taxas de fluxo de cada nutriente e a sua concentração na água no início da incubação. Quando combinadas as três estações de amostragem, verificou-se sempre uma correlação positiva ($p < 0,01$) entre as taxas de absorção dos cinco nutrientes analisados e a concentração dos mesmos na coluna de água. Este facto significa que, o aumento da concentração dos nutrientes na coluna foi acompanhado de maiores taxas de absorção dos nutrientes por parte dos sedimentos. Para cada uma das estações de amostragem, de um modo geral, mantiveram-se estas relações (Tabela 10). No entanto, na zona de sapal, não se verificou uma correlação significativa entre os fluxos de amónia e nitritos e a sua correspondente concentração na coluna de água. Na zona de areão, em relação à amónia, foram observadas relações inversas nas incubações realizadas na presença e ausência de luz (Tabela 10). Nesta mesma área de estudo, em relação aos nitratos não foi possível estabelecer nenhuma relação entre o consumo deste nutriente por parte dos sedimentos e a sua concentração na água adjacente. Em relação à zona sujeita a descargas de esgotos urbanos, contrariamente ao que se registou nas outras duas áreas de estudo, verificou-se a existência de uma correlação negativa entre a absorção de sílica e a sua concentração na coluna de água.

Tabela 10 - Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de fluxo de cada nutriente (NH_4^+ ; NO_3^- ; NO_2^- ; PO_4^{3-} ; Si) e a sua respectiva concentração na coluna de água no início da incubação

			NH_4^+	NO_3^-	NO_2^-	PO_4^{3-}	Si
Zona I	Incubação	r	0,20	0,85	0,48	0,86	0,90
	Luz (n=12)	p	ns	***	ns	***	***
	Incubação	r	0,54	0,95	0,39	0,63	0,87
	Escuro (n=12)	p	ns	***	ns	*	***
Zona II	Incubação	r	0,30	0,90	0,28	0,67	0,86
	Escuro + Luz (n=24)	p	ns	***	ns	***	***
	Incubação	r	0,90	0,53	0,88	0,44	0,73
	Luz (n=12)	p	***	ns	***	ns	**
Zona III	Incubação	r	-0,73	0,16	0,91	0,48	0,61
	Escuro (n=12)	p	**	ns	***	ns	*
	Incubação	r	0,18	0,24	0,84	0,43	0,67
	Escuro + Luz (n=24)	p	ns	ns	***	*	***
Zona III	Incubação	r	0,97	0,74	0,98	0,96	-0,51
	Luz (n=12)	p	***	**	***	***	ns
	Incubação	r	0,98	0,82	0,99	0,94	-0,59
	Escuro (n=12)	p	***	**	***	***	*
Zonas I, II e III	Incubação	r	0,98	0,77	0,98	0,95	-0,54
	Escuro + Luz (n=24)	p	***	***	***	***	**
	Incubação	r	0,98	0,74	0,98	0,97	0,52
	Luz (n=36)	p	***	***	***	***	**
Zonas I, II e III	Incubação	r	0,98	0,73	0,97	0,96	0,28
	Escuro (n=36)	p	***	***	***	***	ns
	Incubação	r	0,97	0,73	0,97	0,96	0,39
	Escuro + Luz (n=72)	p	***	***	***	***	**

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ns – não significativo

Em termos de interrelações entre os vários fluxos de nutrientes observou-se grande heterogeneidade de resultados em função da zona de amostragem.

Nas incubações realizadas no escuro verificou-se, nas três áreas, uma correlação positiva entre os fluxos de amónia e fosfatos ($r = 0,71$; $n = 12$; $p < 0,05$ e $r = 0,74$; $n = 12$; $p < 0,01$; $r = 0,96$; $n = 12$; $p < 0,001$, respectivamente para a zona I, II e III). Nos microcosmos transparentes estas relações nem sempre se registaram. Na zona de sapal e de areão intertidal, foram registadas relações negativas significativas entre as taxas de absorção de sílica e nitritos nos dois tipos de incubação ($r = -0,44$; $n = 24$; $p < 0,05$ e $r = -$

0,79; $n = 24$; $p < 0,001$, respectivamente). A zona de areão, sujeita a descargas de esgotos urbanos, apresentou uma relação negativa em comum com a zona de sapal, entre as taxas de absorção de nitritos e nitratos ($r = -0,72$; $n = 24$; $p < 0,001$ e $r = -0,60$; $n = 24$; $p < 0,01$, respectivamente) e uma relação positiva entre a amônia e nitritos ($r = 0,47$; $n = 24$; $p < 0,05$ e $r = 0,60$; $n = 24$; $p < 0,01$, respectivamente para as zonas III e I). Em relação à zona de areão intertidal, também se observou uma correlação negativa entre as taxas de absorção de fosfatos e nitritos ($r = -0,60$; $n = 24$; $p < 0,01$) e uma correlação positiva entre as taxas de absorção de fosfatos e sílica ($r = 0,57$; $n = 24$; $p < 0,01$), na presença e ausência de luz. Finalmente, na zona sujeita a descargas de esgotos, a taxa de absorção de nitritos apresentou-se correlacionada positivamente com as taxas de absorção de fosfatos ($r = 0,44$; $n = 24$; $p < 0,05$).

Em termos globais (dados agrupados das três zonas de estudo), as correlações registadas entre as taxas de absorção dos nutrientes com a taxa de PPL e concentração de Clorofila *a* à superfície do sedimento são baixas. No entanto, as correlações significativas apresentaram-se maioritariamente negativas, ou seja quanto maior a taxa produção primária e a concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento, menores foram as taxas de absorção dos referidos nutrientes (Tabela 11). Também foram vários os casos em que não se verificou qualquer tipo de correlação, ou em que as relações foram positivas (Tabela 11).

Tabela 11 – Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de absorção de nutrientes por parte do sedimento com a taxa de produção primária líquida (PPL) e a concentração de clorofila a (Cla) à superfície do sedimento.

			Zona I n = 12	Zona II n = 12	Zona III n = 12	Zona I, II e III n = 36
NH_4^+	PPL	r	0,50	0,09	-0,73	-0,48
		p	ns	ns	**	**
	Cla	r	0,21	-0,07	-0,75	-0,52
		p	ns	ns	***	***
NO_3^-	PPL	r	-0,35	-0,08	-0,51	-0,25
		p	ns	ns	ns	ns
	Cla	r	-0,22	0,15	-0,31	-0,28
		p	ns	ns	ns	**
NO_2^-	PPL	r	0,58	0,80	-0,12	-0,14
		p	*	**	ns	ns
	Cla	r	-0,02	0,72	-0,16	-0,32
		p	ns	***	ns	**
PO_4^{3-}	PPL	r	0,16	-0,65	-0,76	-0,48
		p	ns	*	**	**
	Cla	r	0,59	-0,74	-0,74	-0,50
		p	**	***	***	***
Si	PPL	r	-0,41	-0,78	0,18	-0,35
		p	ns	*	ns	*
	Cla	r	0,46	-0,69	0,24	-0,24
		p	*	***	ns	*

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ns – não significativo

No que diz respeito às taxas de respiração e percentagem de matéria orgânica à superfície do sedimento, observaram-se nas três áreas de estudo, correlações negativas baixas, mas em termos gerais, significativas, entre a absorção dos nutrientes estudados e a correspondente taxa de respiração e percentagem de matéria orgânica (Tabela 12). Este facto poderá indicar que menores taxas de absorção implicaram maiores taxas de respiração por parte das comunidades bênticas. No caso da percentagem da matéria orgânica, as correlações observadas indicam que uma maior carga orgânica conduziu a menores taxas de absorção dos respectivos nutrientes. No que diz respeito às relações individuais em cada zona de estudo, pode-se constatar que, em alguns casos, as relações

referidas anteriormente não foram significativas e que, em casos específicos, foram mesmo registadas relações inversas (Tabela 12).

Tabela 12 - Valores do coeficiente de correlação entre a taxa de absorção de nutrientes por parte do sedimento com a taxa de respiração (RESP) e a percentagem de matéria orgânica (%MO) à superfície do sedimento.

		Zona I n = 12	Zona II n = 12	Zona III n = 12	Zona I, II e III n = 36
NH_4^+	RESP	r 0,53	-0,35	-0,47	-0,41
		p ns	ns	ns	*
	%MO	r 0,11	0,09	-0,23	-0,33
		p ns	ns	ns	**
NO_3^-	RESP	r 0,33	0,54	0,40	0,12
		p ns	ns	ns	ns
	%MO	r -0,20	0,23	-0,66	-0,19
		p ns	ns	***	ns
NO_2^-	RESP	r -0,46	0,75	-0,55	-0,41
		p ns	**	ns	*
	%MO	r 0,03	0,60	0,44	-0,26
		p ns	**	*	*
PO_4^{3-}	RESP	r 0,56	-0,63	-0,55	-0,41
		p ns	*	ns	*
	%MO	r 0,55	-0,81	-0,28	-0,27
		p **	***	ns	**
Si	RESP	r 0,84	-0,46	0,60	-0,03
		p **	ns	*	ns
	%MO	r 0,27	-0,46	0,07	-0,32
		p ns	*	ns	**

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ns – não significativo

Com o objectivo de determinar os parâmetros susceptíveis de melhor explicar a variabilidade observada nos fluxos de nutrientes, foi realizada uma análise de regressão múltipla passo a passo com os dados das três estações de amostragem em conjunto, incluindo as incubações realizadas na presença de luz e as incubações realizadas no escuro (n = 72). Cada análise foi realizada com um total de 26 variáveis independentes, incluindo todos os parâmetros ambientais e biológicos referidos no capítulo 3, assim como as taxas de fluxo de oxigénio, de nutrientes e a sua respectiva concentração na coluna de água.

Em relação aos fluxos de amónia, nitratos nitritos e fosfatos, verificou-se que mais de 50% da variação observada foi explicada pela correspondente concentração de cada um dos nutrientes na água no início da incubação. Foram obtidos os seguintes modelos:

$$F_{NH_4^+} = 5,17 - 10,77NH_4^- \text{Água}; R^2 = 0,95; p < 0,001 \quad (5.1)$$

em que,

$F_{NH_4^+}$ - Fluxos de amónia no interface sedimento/coluna de água ($\mu\text{mol h}^{-1}\text{m}^{-2}$).
 $NH_4^- \text{Água}$ - Concentração de amónia na coluna de água (μM).

$$F_{NO_3^-} = -308,94 - 14,67NO_3^- \text{Água}; R^2 = 0,53; p < 0,001 \quad (5.2)$$

em que,

$F_{NO_3^-}$ - Fluxos de nitratos no interface sedimento/coluna de água ($\mu\text{mol h}^{-1}\text{m}^{-2}$).
 $NO_3^- \text{Água}$ - Concentração de nitratos na coluna de água (μM).

$$F_{NO_2^-} = 10,23 - 16,79NO_2^- \text{Água}; R^2 = 0,94; p < 0,001 \quad (5.3)$$

em que,

$F_{NO_2^-}$ - Fluxos de nitritos no interface sedimento/coluna de água ($\mu\text{mol h}^{-1}\text{m}^{-2}$).
 $NO_2^- \text{Água}$ - Concentração de nitritos na coluna de água (μM).

$$F_{PO_4^{-3}} = 6,64 - 16,28PO_4^{-3} \text{Água}; R^2 = 0,93; p < 0,001 \quad (5.4)$$

em que,

$F_{PO_4^{-3}}$ - Fluxos de fosfatos no interface sedimento/coluna de água ($\mu\text{mol h}^{-1}\text{m}^{-2}$).
 $PO_4^{-3} \text{Água}$ - Concentração de fosfato na coluna de água (μM).

Em relação ao fluxo de sílica entre o sedimento e a coluna de água, as variáveis pH da água intersticial e salinidade da água de incubação explicaram 53% da variabilidade observada, seguindo o seguinte modelo:

$$F_{Si} = -2926,17 + 351,85pH - 41,15Sal; R^2 = 0,53; p < 0,001 \quad (5.5)$$

em que,

F_{Si} - Fluxos de sílica no interface sedimento/coluna de água ($\mu\text{mol h}^{-1}\text{m}^{-2}$).

 Sal - Salinidade da coluna de água.

5.3 Discussão

O presente trabalho demonstrou que os sedimentos intertidais do sector inferior do estuário do rio Douro funcionam como armadilhas para os nutrientes e, deste modo, contribuem para a sua remoção da coluna de água.

Os padrões temporais registados para os vários fluxos de nutrientes foram relativamente diferentes de acordo com (i) a zona de amostragem, (ii) a estação do ano e (iii) o nutriente em causa. Pelo que não foi possível estabelecer uma sazonalidade típica para cada nutriente. Porém, Elderfield *et al.* (1981), encontraram uma sazonalidade bem marcada em relação aos fluxos de fosfato, amónia e sílica em Narragansett Bay. Na costa oeste da Suécia, também foi descrita uma evolução sazonal dos fluxos de sílica entre a coluna de água e os sedimentos (Rutgers van der Loeff *et al.*, 1984). Rizzo (1990) e Barranguet *et al.* (1994) registaram as taxas de libertação mínimas de amónia no Inverno, enquanto que no Verão foram observadas elevados fluxos de amónia para a coluna de água. Em relação ao fósforo, Rizzo (1990) observou os fluxos mínimos no Inverno.

No caso do Douro, os fluxos de nutrientes foram determinados em dois tipos de sedimento, lodoso e arenoso. De um modo geral, seguiu-se sempre a mesma tendência de fluxos negativos. No entanto, os casos em que se registou libertação do nutriente por parte do sedimento (nitritos, amónia e fosfatos) ocorreram sempre na zona de sapal. Já Sundback *et al.* (1991), verificara que a libertação de nutrientes por parte do sedimento vasoso era sempre maior (com a excepção dos nitratos), do que nos sedimentos arenosos.

5.3.1 Azoto

5.3.1.1 Amónia

No presente trabalho foram, de um modo geral, registados fluxos negativos de amónia. Em alguns casos da zona de sapal e da zona de areão intertidal, verificou-se uma maior absorção deste nutriente nas incubações realizadas nos microcosmos transparentes. Este

facto é geralmente explicado pela influência directa da actividade microfitobêntica no fluxo de amónia entre o interface sedimento coluna de água (Granéli & Sundback, 1985; Nowicki & Nixon, 1985), visto que é esperado as microalgas assimilarem mais nutrientes quando expostas à luz (Syrett, 1981). Asmus *et al.* (1998) registou taxas de libertação de amónia mais acentuadas nas incubações realizadas no escuro, enquanto que nas incubações na presença de luz verificou absorção ou taxas de libertação inferiores. Sundback *et al.*, (1991), verificou que durante o período em que os microcosmos estavam expostos à luz, a libertação de PO_4^{3-} , NO_3^- , NH_4^- e Si diminuía, sendo por vezes observado absorção destes nutrientes pelo sedimento. Barranguet *et al.*, (1994) e Rizzo (1990) também registaram fluxos de amónia mais elevados nas incubações realizadas no escuro.

A razão molar C/NH_4^+ foi calculada usando as taxas horárias de fixação de carbono e da absorção da amónia, para todos os fluxos negativos determinados nos microcosmos transparentes, em que se registaram diferenças significativas nos dois tipos de incubação (presença e ausência de luz). Esta razão apresentou valores sempre muito elevados (entre 28 e 114) em comparação com o esperado pela razão de Redfield (1934) ($\text{C}/\text{N} = 6,6$). Este facto sugere que a quantidade de amónia absorvida não foi suficiente para os requisitos em azoto das produtores bênticos. Sendo assim, a água intersticial pode também funcionar como um reservatório de amónia para estes organismos.

O oxigénio produzido pelo microfitobentos durante a fotossíntese também pode favorecer a nitrificação e, conseqüentemente, maior remoção de amónia nas incubações realizadas na presença de luz (Sundback *et al.*, 1991).

Na zona de sapal, em três das quatro estações do ano (Primavera, Verão e Inverno) registou-se libertação de amónia por parte do sedimento nas incubações realizadas no escuro. Neste caso, as características granulométricas, a elevada percentagem de matéria orgânica do sedimento da zona de sapal, poderão ter favorecido a ausência de condições de oxidação da amónia durante o período de incubação no escuro. Por outro lado, a maior carga orgânica destes sedimentos pode favorecer a produção de sulfureto de hidrogénio (H_2S), que por sua vez vai inibir o processo de nitrificação (Joye & Hollibaugh, 1995).

Comparando a razão molar O/NH_4^+ (usando as taxas horárias do consumo de oxigénio e da libertação de amónia) com a calculada por Redfield (1934) durante a decomposição aeróbia de matéria orgânica fitoplanctónica ($O/N = 13,25$), verificou-se grande disparidade de valores (8; 3; 92, respectivamente para a Primavera Verão e Inverno). Este facto sugere que, na Primavera e no Verão, a decomposição aeróbia não foi o único factor responsável pela acumulação de amónia. Gómez-Parra & Forja (1993), ao registarem valores da razão O/N baixos, sugeriram que os processos de mineralização assumiram preferencialmente o caminho metabólico anaeróbico. No Inverno, a libertação de amónia é menor do que a esperada indicando que outros processos de absorção de amónia poderão estar activos ou a meio e macrofauna bêntica podem ter contribuído para as taxas de respiração registadas (Gómez-Parra & Forja, 1993).

Os casos em que se verificaram taxas iguais de absorção nos dois tipos de incubação (presença e ausência de luz) sugerem que a nitrificação poderá ter sido um processo importante na remoção de amónia da coluna de água.

5.3.1.2 Nitratos

Os fluxos líquidos de nitratos entre o sedimento e a coluna de água foram, em todos os casos, negativos. O facto de não se terem registado diferenças entre as incubações no escuro e na presença de luz, sugere que as comunidades autotróficas não tiveram influência mensurável na absorção de nitratos registada. A absorção de nitratos por parte dos sedimentos fora já descrito noutros sistemas intertidais (Keizer *et al.*, 1989; Falcão & Vale, 1990; Ogilvie *et al.*, 1997; Asmus *et al.*, 1998). O desaparecimento deste nutriente na coluna de água é, normalmente, atribuído às altas taxas de desnitrificação que podem ter lugar em zonas anaeróbicas dos sedimentos. Ogilvie *et al.* (1997) verificaram que as maiores taxas de desnitrificação registadas ocorreram em períodos de maiores taxas de absorção de NO_3^- . O facto se ter verificado, em todos os casos, fluxos líquidos negativos de nitratos, entre o interface sedimento/coluna de água, pode significar que as taxas de desnitrificação superaram sempre as taxas de nitrificação (Hall *et al.*, 1996). Deste modo, a

quantidade de nitrato regenerado via nitrificação não foi suficiente para as altas taxas de desnitrificação que ocorreram nos sedimentos. Os fluxos negativos de nitritos paralelamente observados, vêm reforçar a ideia da importância da desnitrificação (Hall *et al.*, 1996) como processo de remoção de azoto do sistema estuarino do rio Douro.

As características aeróbias dos sedimentos arenosos intertidais pode não ser um factor de inibição da desnitrificação, visto que este processo pode ocorrer em microzonas anaeróbias dentro da camada aeróbia do sedimento (Jenkins & Kemp, 1984). Deste modo a nitrificação e desnitrificação podem estar fortemente associadas em termos espaciais apesar dos dois processos requererem condições redox diferentes (Joye *et al.*, submetido). No entanto, Ogilvie *et al.* (1997), ao registarem nos sedimentos arenosos taxas de libertação de nitratos para a coluna de água, sugeriram que as características aeróbias dos sedimentos arenosos favorecem a nitrificação, e não a desnitrificação.

Os nitratos que entram no sedimento podem também ser processados via redução dissimilatória, aumentando a disponibilidade de amónia na água intersticial. No entanto, os fluxos de amónia apresentaram-se maioritariamente negativos, o que sugere que este processo terá uma reduzida importância no processamento dos nitratos absorvidos.

5.3.1.3 Nitritos

Em relação aos nitritos, de um modo geral, foi registada a absorção deste nutriente por parte do sedimento, o que sugere uma forte ligação entre os dois processos que constituem a nitrificação, ou seja entre a oxidação da amónia a nitrito e a oxidação de nitritos a nitrato (Webb & Wiebe, 1975). Hall *et al.*, (1996), registou, também, fluxos líquidos negativos de nitritos.

Apenas nos cores incubados na ausência de luz da zona de sapal, foi registado, por duas vezes (Primavera e Inverno), uma libertação de nitritos para a coluna de água. Este facto poderia ser devido à interrupção da segunda fase da nitrificação (oxidação do nitrito). No entanto, o facto de se ter registado uma libertação de amónia simultânea leva a crer que o processo de inibição ocorreu na primeira fase da nitrificação (oxidação da amónia).

Sendo assim, a libertação de nitritos poderá ter sido devido a algum factor que inibiu a segunda etapa da redução dissimilatória do nitrato (oxidação dos nitritos). A redução dissimilatória é um processo importante em sedimentos com elevada carga orgânica (Tiedje *et al.*, 1982).

5.3.2 Fósforo

O fluxo de fósforo, entre o sedimento e a coluna de água, seguiu sempre a mesma tendência, ou seja, registou-se uma absorção quase generalizada deste nutriente por parte dos sedimentos intertidais do estuário do rio Douro. Estes fluxos negativos podem ser reflexo directo de processos biológicos como a assimilação por parte dos organismos produtores bênticos e a assimilação bacteriana (D'Elia & Wiebe, 1990). A ausência de diferenças consistentes entre as taxas de fluxos observadas nos microcosmos transparentes e escuros, significam que não foi mensurável o efeito da fotossíntese. Este facto pode estar associado a uma concentração suficiente de fosfato na água intersticial, capaz de satisfazer os requisitos das microalgas bênticas (Rizzo, 1990). Por outro lado, Eppley *et al.*, (1967) verificou que havia um aumento de fósforo nas células de microalgas durante o período de ausência de luz. Os organismos produtores também podem influenciar os fluxos de fosfato entre o interface sedimento/coluna de água indirectamente, através do oxigénio produzido pela fotossíntese (Carlton & Wetzel, 1988; Sundback & Garnéli, 1988).

No presente trabalho apenas no Verão e Outono, na zona de areão intertidal, foram nítidas as diferenças entre os dois tipos de incubação. No entanto a razão molar C/P nestes dois casos foi muito elevada (1 543 e 1 009, respectivamente), o que significa que os fluxos líquidos determinados não são reflexo das necessidades deste nutriente por parte dos organismos produtores. Esta hipótese parte do princípio que as necessidades estequiométricas dos organismos bênticos são idênticas às esperadas pela razão de Redfield (C/P = 106) em comunidades planctónicas de sistemas marinhos. Contrariamente, Atkinson & Smith (1983), determinou uma razão C/P de 640 para organismos autotróficos

de recife de coral, tendo sido este facto explicado pelas elevadas estruturas de carbono destes organismos (Atkinson & Smith, 1983).

A absorção de fósforo inorgânico por parte do sedimento intertidal pode ainda ser reflexo de processos meramente físico-químicos como a precipitação e adsorção (D'Elia & Wiebe, 1990). O fósforo inorgânico pode ser adsorvido em apatite calcite ou aragonite (D'Elia & Wiebe, 1990) ou adsorvido a argilas e hidróxidos de ferro (Wetzel, 1983; Staudinger *et al.*, 1990; Mazouni *et al.*, 1996). Além deste processo de adsorção, o fósforo inorgânico coprecipita com o ferro e carbonatos (Wetzel, 1983). Mortimer (1971) definiu as superfícies dos sedimentos oxigenados como grandes armadilhas de fosfato inorgânico. Sundby *et al.*, (1986), não observou libertação de fósforo inorgânico por parte do sedimento quando este se mantinha em condições oxigenadas. Teague *et al.* (1988), refere que, se a zona de interface sedimento coluna de água se mantiver oxigenada, facilita a precipitação de PO_4^{3-} e assegura que o fósforo solúvel na água intersticial das camadas anaeróbias do sedimento não se difunda para a camada aeróbia de interface sedimento coluna de água.

As características aeróbias da camada superficial dos sedimentos intertidais do sector inferior do estuário do rio Douro, devido às altas taxas de fotossíntese e a todos os factores de turbulência hidrodinâmica a que estão sujeitos, sugerem que os processos de adsorção e precipitação tenham uma importância relativa nos fluxos negativos registados no presente trabalho.

Os casos em que foram registados fluxos líquidos nulos, pode dever-se ao facto de a taxa de respiração aeróbia e, conseqüente, regeneração dos nutrientes terem-se igualado à capacidade dos sedimentos adsorverem fósforo e/ou à capacidade de remoção do fósforo regenerado por parte das comunidades bênticas (Rizzo, 1990). Neste caso assiste-se a trocas bidireccionais, em que a quantidade de moléculas de fósforo libertada corresponde à mesma quantidade simultaneamente utilizada (D'Elia, 1977).

Os sedimentos constituídos por pequenas partículas limo e argila têm maior capacidade de adsorção do PO_4^{3-} (Khalid *et al.*, 1977; Teague *et al.*, 1988). No entanto, no

presente trabalho, em nenhum caso foram nítidas maiores taxas de absorção de fósforo na zona de sedimento lodoso (zona de sapal).

5.3.3 Sílica

Os dados do presente estudo mostraram uma absorção consistente de sílica por parte dos sedimentos das três zonas de estudo. A assimilação por parte das diatomáceas bênticas pode ter uma função importante na regulação do fluxo de sílica entre o sedimento e coluna de água (Sundback *et al.*, 1991). Porém, apenas na zona de sapal e na zona sujeita a descargas de esgotos, foram registadas pontualmente (Verão) taxas mais elevadas de absorção de sílica nos microcosmos incubados na presença de luz. Esta observação sugere que as comunidades de diatomáceas bênticas exerceram uma fraca influência nos fluxos de sílica dos sedimentos intertidais do sector inferior do estuários do rio Douro. Cowan *et al.* (1996), também não registou diferenças significativas dos fluxos de sílica entre as condições de maior luminosidade ($48 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e as condições de ausência de luz.

Os fluxos negativos observados podem também ser reflexo de mecanismos de precipitação da sílica dissolvida (Wetzel, 1983). Contrariamente ao que se registou nos outros nutrientes, a concentração de sílica na coluna de água não teve grande relevância na explicação da variabilidade observada nos respectivos fluxos nas três áreas de estudo (equação 5.5). Os parâmetros salinidade da água de incubação e pH da água intersticial explicaram 53% da variabilidade registada. Foi já referido noutros trabalhos, que a salinidade pode afectar grandemente os processos de adsorção e dissolução da sílica (Paasche, 1980; D'Elia & Wiebe, 1990). O pH também é uma variável que pode ter função reguladora nos fluxos de sílica (Wetzel, 1983). O pH da água intersticial de todas as amostragens realizadas variou entre 7,00 a 9,00, ou seja, estiveram criadas condições de pH favoráveis à adsorção da sílica, já que esta aumenta com valores de pH compreendidos entre 4 e 9 (Wetzel, 1983).

5.3.4 Relações: Fluxo de nutrientes/Variáveis ambientais e biológicas

O facto de se terem observado correlações elevadas e positivas entre as taxas de fluxo dos nutrientes e a sua concentração na coluna de água, sugere que os sedimentos intertidais do sector inferior do estuário do rio Douro têm uma grande capacidade de resposta aos aumentos das concentrações dos nutrientes na coluna de água. Este facto foi particularmente visível na zona de estudo que esteve sujeita a descargas de esgotos directas. Nas alturas em que se registaram elevadas concentrações de nutrientes na coluna de água, registou-se, paralelamente, uma resposta imediata dos sedimentos intertidais, visto terem-se observado taxas de absorção bastante mais elevadas. A análise de regressão múltipla passo a passo, veio reforçar a importância da concentração dos nutrientes na variabilidade dos fluxos registados. Uma vez que no caso do fluxo de amónia, nitratos, nitritos e fosfatos, uma elevada percentagem da variação das taxas de fluxo foi explicada pela concentração de cada um dos nutrientes na água do início da incubação (95%; 53%; 94% e 93%, respectivamente). Todas estas relações indicam que o padrão temporal observado para cada zona de estudo pode estar directamente relacionado com as oscilações nas concentrações dos nutrientes na coluna de água durante as várias amostragens realizadas. Ogilvie *et al.*, (1997) verificaram que no estuário de rio Colne (Inglaterra) o fluxo de nitratos no sedimento estava correlacionado com a concentração deste nutriente na coluna de água. Asmus *et al.*, (1998) também registou que a taxa de absorção de nitratos estava dependente da sua concentração na coluna de água. Boynton & Kemp (1985) registaram que a absorção de nitratos pelos sedimentos foi proporcional à concentração deste na coluna de água. Teague *et al.* (1988), observou numa das zonas de estudo uma correlação negativa entre o fluxo de amónia e a sua concentração na coluna de água. Pelo contrário, Asmus *et al.* (1998) não registou qualquer relação. Cowan *et al.* (1996), observou absorção de fosfatos num só caso, altura em que as concentrações na coluna de água apresentaram-se 7 vezes mais elevadas do que a média anual.

Através da análise de correlação linear, verificou-se, também, que houve uma tendência para ocorrerem correlações negativas entre as taxas de absorção, de todos os

nutrientes, com a produção primária líquida e concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento. Estas relações indiciam que, quanto maiores forem as taxas de PPL e a concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento, menores são as taxas de absorção dos nutrientes. O facto de se ter registado quase sempre o mesmo tipo de relação com a clorofila *a* e PPL está de acordo com a forte correlação entre estas duas variáveis descrita no capítulo anterior. Cowan *et al.*, (1996) na baía de Mobile (EUA) e Cowan & Boynton (1996) na baía de Chesapeake registaram uma relação fortemente significativa entre a concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento (1 cm) e o fluxo de alguns nutrientes (fosfato, amónia e sílica), ou seja quanto maior foi a concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento maior foi a libertação de cada um destes nutrientes para a coluna de água. A partir destes resultados Cowan *et al.*, (1996) sugeriram que a concentração de clorofila *a* funcionou como matéria orgânica disponível, aumentando as taxas de decomposição e deste modo, a disponibilidade de nutrientes na água intersticial (acumulação). Por outro lado, Barranguet *et al.*, (1994), não encontrou qualquer relação entre a produção primária e o fluxo de amónia, nem entre a concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento e o fluxo de amónia. No entanto, outros autores (Rizzo, 1990; Rizzo *et al.*, 1992), mostraram que as microalgas bênticas podem reduzir grandemente as taxas de libertação de azoto para a coluna de água. Sundback *et al.*, (1991), encontrou correlações inversas significativas entre a libertação de amónia nitratos e nitritos com a concentração de clorofila *a* e o fluxo de oxigénio. Estes resultados estão de acordo com Carlton & Wetzel (1988), que mostraram que a libertação de fosfatos por parte do sedimento estava relacionado inversamente com a taxa de fotossíntese microfitobêntica. Por outro lado, Barranguet *et al.*, (1994), não encontrou correlações significativas entre as taxas de produção primária e o fluxo de amónia.

Vários autores têm avaliado a importância das taxas de respiração e a disponibilidade de matéria orgânica nos fluxos de nutrientes entre o sedimento e a coluna de água (Rizzo, 1990; Barranguet *et al.*, 1994). No presente trabalho, as relações entre as taxas de absorção dos nutrientes com as taxas de respiração e a percentagem de matéria orgânica à superfície

do sedimento nem sempre foram visíveis e apresentaram heterogeneias de acordo com a área de estudo. No entanto, em termos globais (três zonas de estudo), as correlações foram maioritariamente significativas e negativas. Este facto indicia que, maior teor em matéria orgânica e maiores taxas de respiração, reduziram as taxas de absorção dos nutrientes por parte do sedimento, o que poderá ser reflexo da maior disponibilidade de nutrientes na água intersticial. Barranguet *et al.* (1994), registou uma correlação significativa entre o fluxo de amónia e a respiração. Este factor foi responsável por 41 % da variação das taxas de libertação de amónia, o valor é semelhante ao encontrado por Rizzo (1990), 50% para zonas estuarinas de águas pouco profundas.

Tal como no presente trabalho, também Fisher *et al.*, (1982) e Cowan *et al.* (1996), encontraram relações positivas entre os fluxos de amónia e fósforo. As relações inversas registadas nas zonas I e II entre as taxas de absorção de sílica e nitritos indicam uma possível relação estequiométrica entre os fluxos destes dois nutrientes. Hall *et al.* (1996), registou uma relação positiva entre as taxas de absorção de nitratos e nitritos. No presente trabalho, também se verificaram relações significativas entre as taxas de absorção destes dois nutrientes na zona de sapal e na zona sujeita a descargas de esgotos. Sendo, no entanto negativas.

5.3.5 Comparação com outros sistemas

Na Tabela 13 estão compilados dados de fluxos de nutrientes entre o interface sedimento/coluna de água, de várias áreas intertidais e subtidais, que correspondem tanto a sistemas temperados como tropicais. Na zona II e III verificaram-se sempre fluxos negativos ou nulos (casos pontuais) de todos os nutrientes. Esta absorção generalizada dos nutrientes por parte do sedimento foi apenas registada nas zonas intertidais de mangais de sistemas tropicais (Tabela 13). No entanto, as taxas de absorção horárias, foram sempre inferiores às registadas no presente trabalho, facto que poderá estar relacionado com as diferenças na concentração dos nutrientes na coluna de água. Em relação aos sistemas temperados aqui documentados, verifica-se que, de um modo geral, os fluxos de nutrientes

seguem as duas direcções. Porém, foram registados fluxos positivos generalizados tanto em sistemas intertidais (Gomez-Parra & Forjo, 1993) como em sistemas subtidais (Conley *et al.*, 1996).

De um modo geral, as taxas de absorção de todos os nutrientes foram relativamente elevadas em comparação com as registadas noutros trabalhos. Apenas Ogilvie *et al.*, (1997) apresentaram taxas de absorção de amónia e nitratos dentro da gama de valores observados no presente trabalho. No que diz respeito às taxas de libertação de nutrientes para a coluna de água, verificou-se precisamente o contrário, com a excepção dos nitritos (Tabela 13).

Tabela 13 - Fluxos de nutrientes entre o sedimento e coluna de água ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$) em alguns sistemas intertidais e subtidais temperados, incluindo as incubações realizadas no escuro e as realizadas na presença de luz.

Localização	Profundidade (m)	NH_4^+	NO_3^-	NO_2^-	PO_4^{3-}	Si	Fonte
Baía de Mobile (EUA)	3	-22/181	-16/67	-3/20	-2/20	-16/342	Cowan <i>et al.</i> (1996)
Baía de Cadiz (Espanha)	intertidal	13/24			3/5	6/20	Gomez-Parra & Forjo (1993)
Baía de Cadiz (Espanha)	8,5	18/22			5/9	19/28	Gomez-Parra & Forjo (1993)
Baía de Fourleague (EUA)	1,5	-50/450	-680/620		-50/18		Teague <i>et al.</i> (1988)
Rio York (EUA)	2	-162/244	-45-22*		-6/80		Rizzo (1990)
Estuário Neuse (EUA)	1	-10/22	-6/10		-12/15		Rizzo (1990)
Baía Fundy (França)	intertidal	17/37	0/50			-40/120*	Keizer <i>et al.</i> (1989)
Konigshafen (Alemanha)	intertidal	-96/20	-220/26				Asmus <i>et al.</i> (1998)
Lagoa de Thau (França)	5	-30/600	-158/24		-15/53		Mazouni <i>et al.</i> (1996)
Baía Chesapeake (EUA)	6	36/821	-125/75*		-5/40*		Boynton & Kemp (1985)
Estuário Colne (R. Unido)	intertidal	-800/1000	-3000/1000				Ogilvie <i>et al.</i> (1997)
Golfo da Filandia (Finlândia)	35-85	10/35*	-6/12*	0,2/3*	2/27*	70/80*	Conley <i>et al.</i> (1996)
Plataforma Continental (EUA)	20	95/150	-8/-24	0,05/4	-10/3	251/317	Miller-Way <i>et al.</i> (1994)
Lagoa de mangal (Porto Rico)	intertidal		-4,2/-1,8^^				Morell & Corredor (1993)
Mangal (Jamaica)	intertidal		-100/-150		-19/-35		Merickel & Wiebe (Submitted)
Mangal, Everglades (EUA)	intertidal		-50/-200		-12/-45		Merickel & Wiebe (Submitted)
Mangal, Bahamas	intertidal		-5/-60		-10/-25		Merickel & Wiebe (Submitted)
Delta do Indo, (Paquistão)	intertidal		-550/-660^^				Kristensen <i>et al.</i> (1992)
Estuário do rio Douro (zona I)	Intertidal	-338/337	-1405/-603	-20/58	-27/5	-723/0	Presente estudo
Estuário do rio Douro (zona II)	Intertidal	-382/0	-1683/-412	-28/0	-32/0	-729/-299	Presente estudo
Estuário do rio Douro (zona III)	intertidal	-3639/-160	-3067/-126	-417/0	-567/0	-1474/-	Presente estudo

*Dados retirados através de gráficos

^^Valores correspondentes a nitratos + nitritos

Capítulo 6

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram tirar as seguintes conclusões:

- As comunidades microbênticas do banco intertidal do sector inferior do estuário do rio Douro apresentaram um metabolismo líquido autotrófico ($P/R > 1$). Deste modo a fixação de carbono pelas comunidades de microalgas bênticas assume papel relevante na produtividade do sistema estuarino do rio Douro. A actividade fotossintética do microfitobêntos emerge como uma importante fonte de oxigénio para o sistema.
- O modelo de relação linear entre concentração de clorofila *a* e a taxa de produção primária nas áreas de estudo de sedimento arenoso (zonas II e III), permite estimar, ainda que de modo grosseiro, a produtividade primária do banco intertidal, a partir apenas de valores de concentração de clorofila *a*.
- Os valores de produção primária líquida obtidos para o estuário do rio Douro encontram-se entre os mais elevados, relativamente a outros sistemas intertidais e subtidais. No que diz respeito à respiração, de um modo geral as taxas determinadas

nas três áreas de estudo estão dentro dos intervalos de valores obtidos por outros autores.

- O valor médio de carbono fixado na coluna de água durante os meses de Janeiro a Dezembro de 1998, são uma ordem de grandeza inferior ao valor médio de carbono fixado nas três zonas de estudo do banco intertidal ($11 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, zona fótica e $160 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, respectivamente)
- Os sedimentos intertidais do sector inferior do estuário do rio Douro funcionam como armadilhas para os nutrientes e, deste modo, contribuem para a sua remoção da coluna de água. Registou-se uma tendência generalizada de fluxos negativos para todos os nutrientes estudados. A libertação de nutrientes para a coluna de água foi registada pontualmente, mas apenas na zona de sapal.
- Os fluxos negativos de nitratos generalizados e os fluxos negativos de nitritos paralelamente observados, vêm reforçar a ideia da importância da desnitrificação como processo de remoção de azoto do sistema estuarino do rio Douro.
- A ausência de diferenças consistentes entre as taxas de fluxos de fosfatos nos microcosmos transparentes e escuros, assim como as características aeróbias da camada superficial dos sedimentos intertidais do sector inferior do estuário do rio Douro, sugerem que os processos de adsorção e precipitação contribuíram para os fluxos negativos registados.
- Registaram-se correlações significativas e positivas entre as taxas de fluxo dos nutrientes (NH_4^+ ; NO_3^- ; NO_2^- e PO_4^{3-}) e a sua respectiva concentração na coluna de água. A análise de regressão múltipla passo a passo revelou que as concentrações individuais de nutrientes na coluna de água explicam a maior parte (entre 53 a 94%) da

variância nos fluxos de cada um dos nutrientes. Este facto sugere que os sedimentos intertidais do sector inferior do estuário do rio Douro têm uma grande capacidade de resposta aos aumentos das concentrações dos nutrientes na coluna de água.

- A concentração de sílica na coluna de água não teve grande relevância na explicação da variabilidade observada nos respectivos fluxos. As variáveis salinidade da água de incubação e pH da água intersticial, por sua vez, explicaram 53% da variabilidade registada. Não foi evidenciada a influência das comunidades fitobênticas nos fluxos de sílica, pelo que se poderá suspeitar da prevalência de processos de adsorção.
- As taxas de absorção de todos os nutrientes pelos sedimentos intertidais do estuário do rio Douro foram relativamente elevadas em comparação com o registado noutros sistemas estuarinos, facto que poderá estar relacionado com as diferenças na concentração dos nutrientes na coluna de água.
- Em termos globais (três zonas de estudo) as relações entre as taxas de absorção dos nutrientes com a produção primária líquida e a concentração de clorofila *a* à superfície do sedimento foram negativas. Deste modo taxas mais elevadas de PPL não foram acompanhadas pelo aumento de absorção dos nutrientes. Este facto sugere que a concentração de clorofila *a* funciona como matéria orgânica disponível, aumentando as taxas de decomposição e deste modo, a disponibilidade de nutrientes na água intersticial.
- A área de estudo que esteve sujeita a descargas de esgotos urbanos, ao contrário do que se esperava apresentou taxas de produção primária diárias muito superiores às taxas de respiração diárias ($P/R > 1$). Nesta zona foi particularmente visível a capacidade de resposta dos sedimentos intertidais às elevadas concentrações de nutrientes na coluna de água.

6.1 Perspectivas Futuras

O conjunto de resultados obtidos contribuiu de alguma forma para o início do conhecimento do papel do banco intertidal do estuário inferior do rio Douro, em termos de produção primária e dinâmica dos nutrientes.

Nos sedimentos coexiste uma multiplicidade de processo físicos, químicos e biológicos. Este trabalho deu algumas pistas sobre quais os processos que poderão ter maior relevância para os fluxos de nutrientes. No entanto, a confirmação da importância dos processos implicados na dinâmica dos nutrientes entre o sedimento e a coluna de água só será possível se a investigação prosseguir no sentido de os identificar e quantificar directamente.

Os habitats intertidais são caracterizados por grandes flutuações dos parâmetros ambientais e biológicos durante as alternâncias das condições de emersão e imersão. O programa experimental seguiu uma amostragem sazonal, logo não foi possível avaliar a variabilidade dos processos estudados numa escala de tempo mais curta. Em termos futuros seria da maior importância o estudo desta variabilidade temporal para o melhor conhecimento dos padrões de variação dos processos estudados. Esta abordagem revela-se também essencial para minimizar os erros na extrapolação dos dados (taxas diárias e anuais).

A complexidade dos habitats bênticos e as inúmeras interacções com os factores ambientais e biológicos tornam difícil a identificação das variáveis responsáveis pela regulação dos processos. Deste modo complementar estudos “*in situ*” com experiências controladas “*in vitro*”, seria extremamente útil no sentido de compreender o modo de actuação de cada um destes factores e respectivas interacções.

Referências Bibliográficas

- American Public Health Association. (1971). *Standard methods for the examination of water and wast water*. 1th Ed. American Public Health Association, New York.
- Andersen, F. O. & Kristensen, E. (1988). The influence of macrofauna on estuarine benthic community metabolism: a microcosm study. *Mar Biol.* **99**:591-603.
- Admiraal, W. & Brouwer, T. (1984). The seasonal succession patterns of diatom species on an intertidal mudflat: An experimental analysis. *Oikos.* **42**:30-40.
- Asmus, R. M., Jensen, M. H., Jensen, K. M., Kristensen, E., Asmus H. & Wille A. (1998). The Role of water movement and spatial scaling for measurement of dissolved inorganic nitrogen fluxes in intertidal sediments. *Estuar Coast Shelf Sci.* **46**:221-232.
- Atkinson, M. J. & Smith, S. V. (1983). C:N:P ratios of benthic marine plants. *Limnol Oceanogr.* **28**:568-574.
- Baillie, P. W. (1985). Oxygenation of intertidal estuarine sediments by benthic microalgal photosynthesis. *Estuar Coast Shelf Sci.* **22**:143-159.
- Barbanti, A., Ceccherelli, V. U., Frascari, F., Reggiani, G. & Rosso G. (1992). Nutrient regeneration processes in bottom sediments in a Po delta lagoon (Italy) and the role of bioturbation in determining the fluxes at the sediment-water interface. *Hydrobiol.* **228**:1-21.
- Barranguet, C., Alliot, E. & Plant-Cuny, M., R. (1994). Benthic microphytic activity at two Mediterranean shellfish cultivation sites with reference to benthic fluxes. *Oceanologica Acta.* **17**:211-221.
- Barranguet, C., Plant-Cuny, M. R. & Alivon, E. (1996). Microphytobenthos production in the Gulf of Fos, French Mediterranean coast. *Hydrobiol.* **333**:181-193.
- Barranguet, C. (1997). The Role of Microphytobenthic Primary Production in a Mediterranean Mussel Culture Area. *Estuar Coast Shelf Sci.* **44**:753-765.
- Barranguet, C., Kromkamp, J. & Peene, J. (1998). Factors controlling primary productivity and photosynthetic characteristics of intertidal microphytobenthos. *Mar Ecol Prog Ser.* **173**:117-126.
- Bartoli, M., Cattadori, M., Giordani, G. & Viaroli, P. (1996). Benthic oxygen respiration, ammonium and phosphorus regeneration in surficial sediments of Sacca di Goro (Northern Italy) and two French coastal lagoons: a comparative study. *Hydrobiol.* **329**:143-159.
- Blackburn, T. H. & Henriksen, K. (1983). Nitrogen cycling in different types of sediments from Danish waters. *Limnol Oceanogr.* **28**:477-493.

- Blackburn, T. H., Hall, P. O. J., Hulth, S. & Landén, A. (1996). Organic-N loss by efflux and burial associated with a low efflux of inorganic N and with Nitrate assimilation in Arctic sediments (Svalbard, Norway). *Mar Ecol Prog Ser.* **141**:283-293.
- Blanchard, G. F., Le Gall, V., C. (1994). Photosynthetic characteristics of microphytobenthos in Marennes-Oléron Bay, France: Preliminary results. *J Exp Mar Biol Ecol.* **182**:1-14.
- Blanchard, C.F. & Guarini J. M. (1998). Temperature effects on microphytobenthic productivity in temperate intertidal mudflats. *Vie Milieu.* **48**:271-284.
- Bordalo, A. A. (1988). Bacteriologia do estuário do rio Douro. *Actas do Encontro Luso-Espanhol sobre Bacias Hidrográficas.* 351-358.
- Bordalo, A. A., Cosson, R., Pereira, M. R., Caeiro, C. C., Correia, M. L. & Ramalde, F. (1988). Ecotoxicological studies in Douro estuary, Oporto, Portugal. *Proceedings of the 1st European Conference on Ecotoxicology.* 47-64.
- Bordalo, A. A. (1990). Impacto das cheias de Dezembro de 1989 sobre o bacterioplankton no estuário do rio Douro. *Actas da 2^a Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente.* **1**:63-68.
- Bordalo, A. A. (1991). *Ecologia do estuário do rio Douro. Abordagem da evolução espaço-temporal e inter-relações na componente planctónica do compartimento microbiológico.* Tese de Doutoramento, Universidade do Porto.
- Bordalo, A. A. (1993). Effects of salinity on bacterioplankton: field and microcosm experiments. *Journal of Applied Bacteriology.* **75**:393-398
- Bordalo, A. A. & Lobo-da-Cunha. (1994). Virus num ambiente estuarino. *Actas da 4^a Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente.* **1**:175-182.
- Bordalo, A. A. (1997). Contribuição para a gestão da água no estuário do rio Douro. Relatório final (Projecto JNICY/PEAMB 231/93).
- Bouldin, D. R. (1968). Models for describing the diffusion of oxygen and other mobile constituents across the mud-water interface. *J Ecol.* **56**:77-87.
- Boynton, W. R., Osborne, W. M., Osborne, C. G., Kanmeyer, K. R. & Jenkins, M. C. (1981). Influence of water circulation rate on *in situ* measurements of benthic community respiration. *Mar Biol.* **65**:185-190.
- Boynton, W. R. & Kemp, W. M. (1985). Nutrient regeneration and oxygen consumption by sediments along an estuarine salinity gradient. *Mar Ecol Prog Ser.* **23**:45-55.
- Brotas, V. & Catarino, F. (1995). Microphytobenthos primary production of Tagus estuary intertidal flats (Portugal). *Neth J Aqua. Ecol.* **29**:333-339.
- Brotas, V., Cabrita, T., Portugal, A., Serôdio, J. & Catarino, F. (1995). Spatio-temporal distribution of the microphytobenthic biomass in intertidal flats of Tagus estuary (Portugal). *Hydrobiol.* **300/301**:93-104.
- Cadée, G. C. & Hegeman, J. (1974). Primary production of the benthic microflora living on tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *Neth J Sea Res.* **8**:260-291.

- Cadée, G. C. & Hegeman, J. (1977). Distribution of the primary production of the benthic microflora and accumulation of orgânico matter on a tidal flat area, Balgzand, Dutch Waden Sea. *Neth J Sea Res.* **11**:24-41
- Caffrey, J. M., Cloern, J. E. & Grenz, C. (1998). Changes in production and respiration during a spring phytoplakton bloom in San Francisco Bay, California, USA: implications for net ecosystem metabolism. *Mar Ecol Prog Ser.* **172**:1-12.
- Cahoon, L. B. & Cook, J. E. (1992). Benthic microalgal production in Onslow Bay, North Carolina, USA. *Mar Ecol Prog Ser.* **84**:185-196.
- Cammen, L. M. (1991). Annual bacterial production in relation to benthic microalgal production and sediment oxygen uptake in an intertidal sandflat and an intertidal mudflat. . *Mar Ecol Prog Ser.* **71**:13-25.
- Carlton, R. G. & Wetzel, R. G. (1988). Phosphorus flux from lake sediments: Effect of epipellic algal oxygen production. *Est Coast Shelf Sci.* **33**:562-570.
- Carpenter, J. H. (1965). The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen. *Limnol Oceanogr.* **10**:135-140.
- Carritt, D. E. & Carpenter, J.H. (1966). Comparison and Evaluation of Currently Employed Modifications of the Winkler Method for Dertermining Dissolved Oxygen in Seawater; A NASCO Report. *J Mar Res.***24**:286-318.
- Charpy-Roubaud, C. & Sournia, A. (1990). The comparative estimation of phytoplanktonic, microphytobenthic and macrophytobenthic primary production in the oceans. *Mar Microb Food Webs.* **4**:31-57.
- Charpy-Roubaud, C., Charpy, L. & Sarazin, G. (1996). Diffusional nutrient fluxes at the sediment-water interface and organic matter mineralization in an atoll lagoon (Tikehau, Tuamotu Archipelago, French Polynesia). *Mar Ecol Prog Ser.* **132**:181-190.
- Cohen, Y. & Rosenberg, H. (1989). *Microbial mats: physiological ecology og benthic microbial communities.* American Society of Microbiology. Washington D.C.
- Colijn, F. & van Buurt, G. (1975). Influence of light and temperature on the photosynthetic rate of marine benthic diatoms. *Mar Biol.* **31**:209-214.
- Colijn, F. (1982). Light absorption in the waters og the Ems-Dollar Estuary and its consequences for the growth of phytoplankton and microphytobenthos. *Neth J Sea Res.* **15**:196-216.
- Colijn, F. & de Jonge, V. N. (1984). Primary production of microphytobenthos in the Ems-Dollard estuary. *Mar Ecol Prog Ser.* **14**:185-196.
- Cowan, J. L. W. & Boynton, W. R. (1996). Sediment water oxygen and nutrient exchanges along the longitudinal axis of Chesapeake Bay: seasonal patterns, controlling factors and ecological significance. *Estuaries.* **18**:562-580.

- Cowan, J. L. W., Pennock, J. R. & Boynton, W. R. (1996). Seasonal and interannual patterns of sediment-water nutrient and oxygen flux in Mobile Bay, Alabama (USA):regulating factors and ecological significance. *Mar Ecol Prog Ser.* **141**:229-245.
- D'Avanzo, C., Kremer, J. N. & Wainright, S. C. (1996). Ecosystem production and respiration in response to eutrophication in shallow temperate estuaries. *Mar Ecol Prog Ser.* **141**:263-274.
- Davey, J. T. & Watson, P. G. (1995). The activity of *Nereis diversicolor* (Polychaeta) and its impact on nutrient fluxes in estuarine waters. *Ophelia.* **41**:57-70.
- Davis, M. W. & McIntire, C. D. (1983). Effects of physical gradients on the production dynamics of sediment-associated algae. *Mar Ecol Prog Ser.* **13**:103-114.
- Day, J. W., Hall, C. A. S., Kemp, W. M. & Yáñez-Arancibia, A. (1989). *Estuarine Ecology*. Wiley-Interscience Pub, Canada.
- De Jonge, V. N. & van Beusekom, J. E. E. (1992). Contribution of Resuspended Microphytobenthos to Total Phytoplankton in the Ems Estuary and its Possible Role for Grazers. *Neth Jour Sea Res.* **30**:91-105.
- De Jonge, V. N. (1995). Win-and tide-induced resuspension of sediment and microphytobenthos from tidal flats in the Ems estuary. *Limnol Oceanogr.* **40**:766-778.
- D'Elia, C. F. (1977). The uptake and release of dissolved phosphorus by reef corals. *Limnol Oceanogr.* **22**:301-315.
- D'Elia, C. F. & Wiebe, W. (1990). Biogeochemical nutrient cycles in coral-reef ecosystems. In: Dubinsky, Z. (ed). *Coral Reefs*. Elsevier Science Publ., Netherlands.49-74.
- Delgado, M. (1989). Abundance and Distribution of Microphytobenthos in the Bays of Ebro Delta (Spain). *Estuar Coast Shelf Sci.* **29**:183-194.
- Doering, P. H., Kelly, J. R., Oviatt, C. A. & Sowers T. (1987). Effect of the hard clam *Mercenaria mercenaria* on benthic fluxes of inorganic nutrient and gases. *Mar Biol.* **94**:377-383.
- Dollar, S. J., Smith, S. V., Vink, S. M., Obrebski, S. & Hollibaugh, J. T. (1991). Annual cycle of benthic nutrient fluxes in Tomales Bay, California, and contribution of the benthos to total ecosystem metabolism. *Mar Ecol Prog Ser.* **79**:115-125.
- Draper, N. & Smith, H. (1981). *Applied Regression Analysis*, 2nd Ed. John Wiley & Sons.
- Elderfield, H., Benter, R.J., MacCaffrey, R. J. & Luedtke, N. (1981). Benthic flux studies in Narragansett Bay. *Am J Sci.* **281**:768-787.
- Emerson, S. R., Jahnke, R. & Heggie, D. (1984). Sediment water exchange in shallow water estuarine sediments. *Jour Mar Res.* **42**:709-730.
- Eppley, R. W., Holmes, R. W. & Paasche, E. (1967). Periodicity in cell division and physiological behavior of *Ditylum brightwellii*, a marine planktonic diatom, during growth in light-dark cycle. *Archiv Mikrobiol.* **56**:305-323
- Falcão, M. & Vale, C. (1990). Study of the Ria Formosa ecosystem: benthic nutrient remineralization and tidal variability of nutrients in the water. *Hydrobiol.* **207**:137-146.

- Fisher, T. R. Carlson, P. R. & Baeber, R. T. (1982). Sediment nutrient regeneration in three North Carolina estuaries. *Est Coast Shelf Sc.* **14**:101-116.
- Frankignoulle, M., Abril, G., Borges, A., Bourge, I., Canon, C., Delille, B., Libert, E. & Théate, J-M. (1998). Carbon Dioxide Emission from European Estuaries. *Science.* **282**:334-336.
- Galhano, M. H.(1973). Preliminar data about seasonal variations of pigments in the Douro estuary (Cabedelo). *Publ. Ins. Zool.* **121**.
- Gallagher, J. L. & Daiber, F. C. (1974). Primary production of edaphic algal communities in a Delaware salt marsh. *Limnol Oceanogr.* **3**:390-395.
- Gargas, E. (1972). Measurements of microalgal primary production (phytoplankton and microbenthos) in the Smalandshavet (Denmark). *Ophelia.* **10**:75-89.
- Gómez-Parra, A. & Forja, J. M. (1993). Benthic nutrient fluxes in Cadiz Bay. *Hydrobiol.* **252**:23-34.
- Gould, D. M. & Gallagher, E. D. (1990). Field measurement of specific growth rate, biomass, and primary production of benthic diatoms of Savin Hill Cove, Boston. *Limnol Oceanogr.* **35**:1757-1770.
- Gouleau, D., Blanchard, G. & Cariou-Le Gall V. (1994). Production Potentielle et Consommation D`oxygène sur une Vasière Intertidale au Cours d`une Èmersion. *Vie Millieu.* **44**:109-115.
- Granéli, E. (1984). Algal growth potencial and limiting nutrients for phytoplankton production in Oresund water of Baltic and Kattegat origin. *Limnologica.* **15**:563-569.
- Granéli, E. & Sundback, K. (1985). The response of plankton and microbenthic algal assemblages to nutrient enrichment in shallow coastal waters, southwest Sweden. *J Exp Mar Biol Ecol.* **85**:253-268.
- Grasshoff, K., Ehrhardt, M. & Kremling, K. (1983). *Methods of Seawater Analysis.* Second, revised and extended edition. Verlag Chemie, Weinheim.
- Hall, P. O. J., Hulth, S., Hulthe, G., Landén, A. & Tengberg, A. (1996). Benthic nutrient fluxes on a Basin-Wide scale in the Skagerrak (North- Eastern North Sea). *J Sea Res.* **35**:123-137.
- Hargave, B. T., Prouse N. J., Philips G. A. & Neame P. A. (1983). Primary production and respiration in pelagic and benthic communities at two intertidal sites in the upper bay of Fundy. *Can J Fish Aquat Sci.* **40**:229-243.
- Harrison, S. J. & Phizacklea, A. P. (1987). Vertical temperature gradients in muddy intertidal sediments in the Forth estuary, Scotland. *Limnol Oceanogr.* **32**: 954-963.
- Hartwig, E. O.(1978). Factors Affecting Respiration and Photosynthesis by the Benthic Community of a Subtidal Siliceous Sediment. *Mar Biol.* **46**:283-293.
- Hopkinson, C. S. Jr. (1985). Shallow-water benthic and pelagic metabolism: evidence of heterotrophy in the nearshore Georgia Bight. *Mar Biol.* **94**:127-142
- INAG/COBA.(1995). Recursos hídricos do rio Douro e sua utilização. Instituto da água. Lisboa.
- INE. (1993). Anuário estatístico da região Norte, Porto.
- Jensen, H. B., Jorgensen, K. S., Sorensen, J. (1984). Diurnal variation of nitrogen cycling in coastal, marine sediments II. Nitrous oxide emission. *Mar Biol.* **83**:177-183.

- Jenkins, M. C. & Kemp, W. M. 1984. The coupling of nitrification and denitrification in two estuarine sediments. *Limnol Oceanogr.* **29**:609-619.
- Jensen, L. M., Sand-Jensen, K., Marcher, S. & Hansen, M. (1990). Plankton community respiration along a nutrient gradient in a shallow Danish estuary. *Mar Ecol Prog Ser.* **61**:75-85.
- Jones, M. N. (1984). Nitrate reduction by shanking with cadmium: alternative to cadmium columns. *Water Res.* **18**:643-646.
- Jorgensen, B. B. & Revsbech, N. P. (1983). Photosynthesis and structure of benthic microbial mats: Microelectrode and SEM studies of cyanobacterial communities. *Limnol Oceanogr.* **28**:1075-1093.
- Jorgensen, B. B. & Des Marais, D. J. (1988). Optical properties of benthic photosynthetic communities: Fiber-optic studies of cyanobacterial mats. *Limnol Oceanogr.* **33**:99-113.
- Joye, S. B. & Chambers, R. M. (1993). Nitrogen exchange between microvegetated intertidal sediments and the overlying water column. *Estuarine Research Federation Annual Meeting*. Hilton Head, Sc., Published Abstract. 58.
- Joye, S. B. & Paerl, H. W. (1993). Nitrogen fixation and denitrification in the intertidal and subtidal environments of Tomales Bay, California. In: Oremland, R. S. (ed.). *Biogeochemistry of global change: Radiative trace gases*. Blackwell Scientific, New York. 635-653.
- Joye, S. B. & Paerl, H. W. (1994). Nitrogen cycling in microbial mats: rates and patterns of denitrification and nitrogen fixation. *Mar Biol.* **119**:285-295.
- Joye, S. B. & Hollibaugh, J. T. (1995). Influence of sulfide inhibition of nitrification on nitrogen regeneration in sediments. *Science.* **270**:623-625.
- Joye, S. B., Mazzotta, M. L. & Hollibaugh, J. T. (1996). Community metabolism in microbial mats: the occurrence of biologically-mediated iron and manganese reduction. *Estuar Coast Shelf Sci.* **43**:747-766.
- Joye, S. B., Hollibaugh, J. T., Paerl, H. W. & Smith, S. V. Nitrification and denitrification in the subtidal sediments of Tomales Bay, California, USA (Submitted).
- Keizer, P. D., Hargrave, B. T. & Gordon, Jr. D. C. (1989). Sediment-Water Exchange of Dissolved Nutrients at an Intertidal Site in the Upper Reaches of the Bay of Fundy. *Estuaries.* **12**:1-12.
- Kemp, W. M., Sampou, P., Caffrey, J., Mayer, M., Henriksen, K. & Boynton, W. R. (1990). Ammonia recycling versus denitrification in Chesapeake Bay sediments. *Limnol Oceanogr.* **35**:1545-1563.
- Kemp, W. M., Smith, E. M., Marvin-DiPasquale, M. & Boynton, W. R. (1997). Organic carbon balance and net ecosystem metabolism in Chesapeake Bay. *Mar Ecol Prog Ser.* **150**:229-248.
- Ketchum, B. H. (1969). Eutrophication in estuaries. *Eutrofication—causes, consequences, correctives. Proceedings of the Symposium of the National Academy of Sciences.* 197-209.
- Khalid, R. A., Patrick, W. H. & DeLaune, R. D. (1977). Phosphorus sorption characteristics of flooded soils. *Soil Sci Soc Am J.* **41**:305-310.
- Klump, J. V. & Martens, C. S. (1981). Biogeochemical cycling in an organic rich coastal marine basin. II. Nutrient sediment water exchange processes. *Geochim et Cosmochim Acta.* **45**:101-121.

- Klump, J. V. & Martens, C. S. (1989). The seasonality of nutrient regeneration in an organic-rich coastal sediment: Kinetic modeling of changing pore-water nutrient and sulfate distributions. *Limnol Oceanogr.* **34**:559-577.
- Kobayashi, J. (1967). In: Golterman H.L. & Clymo R.S. (eds). *Chemical Environment in the aquatic habitat*. N. V. Noord-Hollandsche Uitgevers Maatschappu. Amsterdam.41-55.
- Koop, K., Boynton, R., Wulff, F. & Carman, R. (1990). Sediment-Water oxygen and nutrient exchanges along a depth gradient in the Baltic Sea. *Mar Ecol Prog Ser.* **63**:65-77.
- Kristensen, E., Anderson, F. O. & Kofoed. 1988. Preliminary assesment of benthic community metabolism in a South-east Asian mangrove swamp. *Mar Ecol Prog Ser.* **48**:137-145.
- Kromkamp, J., Peene, J., van Rijswijk, P., Sandee, A. & Goosen, N. (1995). Nutrients, light and primary production by phytoplankton and microphytobenthos in the eutrophic, turbid westerschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiol.* **311**:9-19.
- Kuhl, M., Glud, R. N., Ploug, H. & Ramsing, N.B. (1996). Microenvironmental Control of Photosynthesis and Photosynthesis-Coupled Respiration in an Epilithic Cyanobacterial Biofilm. *J Phycol.* **32**:799-812.
- Lamontagne, I., Cardinal, A. & Fortier, L. (1986). Intertidal microalgal production and the auxiliary energy of tides. *Mar Biol.* **91**:409-419.
- Lerat, Y., Lasserre, P. & le Corre, P. (1990). Seasonal changes in pore water concentrations of nutrients and their diffusive fluxes at the sediment-water interface. *J Exp Mar Biol Ecol.* **135**:135-160.
- Lindeboom, H. J., Sandee, A. J. & Driessche, H. A. J. K. (1985). A new bell jar/microelectrode method to measure changing oxygen fluxes in illuminated sediments with a microalgal cover. *Limnol Oceanogr.* **30**:693-698.
- MacIntyre, H. L. & Cullen, J. J. (1995). Fine-scale vertical resolution of chlorophyll and photosynthetic parameters in shallow-water benthos. *Mar Ecol Prog Ser.* **122**:227-237.
- MacIntyre, H. L. & Cullen, J. J. (1996). Primary production by suspended and benthic microalgae in a turbid estuary: time-scales of variability in San Antonio Bay, Texas. *Mar Ecol Prog Ser.* **145**:245-268.
- MacIntyre, H. L., Geider, R. J. & Miller, D. C. (1996). Microphytobenthos: The Ecological Role of the "Secret Garden" of Unvegetated, Shallow-Water Marine Habitats.I.Distribution, Abundance and Primary Production. *Estuaries.* **19**:186-201.
- Margalef, R. (1967). Concepts relative to the organization of plankton. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev.* **5**:257-289.
- Mazouni, N., Gaertner, J-C., Deslous-Paoli, J-M., Landrein, S. & d'Oedenberg, G. M. (1996). Nutrient and oxygen exchanges at the water-sediment interface in a shellfish farming lagoon (Thau, France). *J Exp Mar Biol Ecol.* **205**:91-113.
- Meriel, J. & Wiebe, W. J. Nutrient flux at the sediment-water interface within Bahamas, everglades and Jamaican mangrove forest. (submitted).

- Miller-Way, T., Boland, G. S. & Twilley, R. R. (1994). Sediment Oxygen Consumption and Benthic Nutrient Fluxes on the Louisiana Continental Shelf: A methodological Comparison. *Estuaries*. **17**:809-815.
- Miller, D. C., Geider, R. J. & MacIntyre, H. L. (1996). Microphytobenthos: The Ecological Role of the "Secret Garden" of Unvegetated, Shallow-Water Marine Habitats. II. Role in Sediment Stability and Shallow-Water Food Webs. *Estuaries*. **19**:202-212.
- Mills, D. K. & Wilkinsom, M. (1986). Photosynthesis and light in estuarine benthic microalgae. *Botanica Marina*. **14**:125-129.
- Morell, J. M. & Corredor, J. E. (1993). Sediment nitrogen trapping in a mangrove lagoon. *Est Coast Shelf Sci*. **37**:203-212.
- Mortimer, D. H. (1971). Chemical exchanges between sediments and water in the Great Lakes-speculations on probable regulatory mechanisms. *Limnol Oceanogr*. **16**:387-404.
- Maul, E. T. & Mason, D. (1957). Study of diatom populations on sand and mud flats in the Woods Hole area. *Biol Bull*. **113**:351.
- Mucha, A. P., Bordalo, A. A. & Vasconcelos, T. V. (1998). Dinâmica zoobêntica no estuário do rio Douro-Relação com gradientes de contaminação. *Actas do 1º Simpósio Interdisciplinar de Processos Estuarinos*. Univ. Algarve, Faro.30-32
- Nelson, T. C. (1947). Some contributions from the land in determining conditions of life in the sea. *Ecol Monogr*. **17**:337-346.
- Nienhuis, P. H. & de Bree, B. H. H. (1984). Carbon Fixation and Chlorophyll in Bottom Sediments of Brackish Lake Grevelingen, the Netherlands. *Neth J Sea Res*. **18**:337-359.
- Nixon, S. W. (1981). Remineralization and nutrient cycling in coastal marine ecosystems. In: Neilson, B. J. & Cronin, L. E. (eds.). *Estuaries and Nutrients*. Humana Press, Clifton, New Jersey.111-138.
- Nixon, S. W. & Pilson, M. E. Q. (1984). Estuarine Total System Metabolism and Organic Exchange Calculated from Nutrient Ratios: an Example from Narragansett Bay. In: Kennedy (ed.). *The Estuary as a Filter*. Academic press Orlando.261-289.
- NOAA. (1997). *Globe Teacher's Guide: Hydrology Investigation*, Webbook. [http://globe.ngdc.noaa.gov/sdabin/wt\(ghp/tg+L\(en\)+\(hydrology/DissolvedOxygen\)](http://globe.ngdc.noaa.gov/sdabin/wt(ghp/tg+L(en)+(hydrology/DissolvedOxygen))
- Nowicki, B. L. & Nixon, S. W. (1985). Benthic nutrient remineralization in a coastal lagoon ecosystem. *Estuaries*. **8**:182-190.
- Odun, E. P., William, E., Woodwell, C. M. & Wurster, C. F. (1969). DDT residues absorbed from organic detritus by fiddler crabs. *Science*. **164**:576-577.
- Odun, E. P. (1971). *Fundamentals of Ecology*. 3th Ed.. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Ogilvie, B., Nedwell, D. B., Harrison, R. M., Robinson, A. & Sage, A. (1997). High nitrate, muddy estuaries as nitrogen sinks: the nitrogen budget of the River Colne estuary (United Kingdom). *Mar Ecol Prog Ser*. **150**:217-228.

- Olsen, K. R. & Andersen, F. O. (1994). Nutrient cycling in shallow, oligotrophic Lake Kvie, Denmark. *Hydrobiol.* **275/276**:255-265.
- Oviatt, E. P., Keller, A. A., Sampou, P. A. & Beatty, L. L. (1986). Patterns of productivity during eutrophication: a mesocosm experiment. *Mar Ecol Prog Ser.* **28**: 69-80.
- Paasche, E. (1980). Silicon. In: Morris, I. (ed.). *Physiological Ecology of Phytoplankton*. Blackwell Scientific Publ., Univ. of California Press.259-284.
- Pace, M. C. & Carman, K. R.. (1996). Interspecific differences among meiobenthic copepods in the use of microalgal food resources. *Mar Ecol Prog Ser.* **143**:77-86.
- Paerl, H. W., Fitzpatrick, M. & Bedout, B. M. (1996). Seasonal nitrogen fixation dynamics in a marine microbial mat: Potential roles of cyanobacteria and microheterotrophs. *Limnol Oceanogr.* **41**:419-427.
- Parsons, T. R., Maita, Y. & Lalli, C. M. (1984). *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press.
- Pelegrí, S. P. & Blackburn, T. H. (1995). Effects of *Tubifex tubifex* (Oligochaeta: Tubificidae) on N-mineralization in freshwater sediments, measured with ¹⁵N isotopes. *Aquat Microb Ecol.* **9**:289-294.
- Pinckney, J. & Zingmark, R. G. (1993). Photophysiology responses of intertidal benthic microalgal communities to in situ light environments: methodological considerations. *Limnol Oceanogr.* **38**:1373-1383.
- Pinckney, J. & Zingmark, R. G. (1993a). Modeling intertidal benthic microalgal annual production in estuarine ecosystem. *Jour Phycol.* **29**:396-407.
- Pritchard, D. W. (1967). What is an estuary: physical viewpoint. In: Lauf, G. H. (ed.). *Estuaries*. Amer. Ass. Adv. Sci. Publ. 83. Washington, D.C.329-335.
- Pritchard, D. W. (1967a). Observations of circulation in coastal plain estuaries In: Lauf, G. H. (ed.). *Estuaries*. Amer. Ass. Adv. Sci. Publ. 83. Washington, D.C.37-44.
- Plante-Cuny, M. R. & Boday, A. (1987). Biomasse et production primaire du phytoplancton et du microphytobenthos de deux biotopes sableux (Golf de Fos, France). *Oceanology Acta.* **10**:223-237.
- Pomeroy, L. R. (1959). Algal productivity in salt marshes of Georgia. *Limnol Oceanogr.* **4**:386-397.
- Redfield, A. C. (1934). On the proportions of organic derivatives in seawater and their relation to the composition of the plankton. In: *James Johnstone Memorial Volume*. Liverpool Univ. Press. Liverpool.176-192.
- Redfield, A. C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *Amer Sci.* **46**:205-221.
- Revsbech, N. P., Jørgensen, B. B., Blackburn, T. H. & Cohen, Y. (1983). Microelectrode studies of the photosynthesis and O₂, H₂S, and pH profiles of a microbial mat. *Limnol Oceanogr.* **26**:1062:1074.
- Revsbech, N. P., Jørgensen, B. B., & Brix, O. (1981). Primary production of microalgae in sediments measured by oxygen exchange methods. *Limnol Oceanogr.* **26**:717-730.
- Riaux-Gobin, C., Wafar, M. V. M. & Klein, B. (1993). Production primaire potentielle microphytobenthique d'une slikke de nord Bretagne: stratification verticale. *J Exp Mar Biol Ecol.* **169**:215-231.

- Reimers, C. E. & Smith, K. L. (1986). Reconciling measured and predicted fluxes of oxygen across the deep sea sediment-water interface. *Limnol Oceanogr.* **31**:305-318.
- Riera, P., Richard, P., Grémare, A. & Blanchard, G. (1996). Food source of intertidal nematodes in the Bay of Marennes-Oléron (France), as determined by dual stable isotope analysis. *Mar Ecol Prog Ser.* **142**: 303-309.
- Riznyk, R. Z. & Phinney, H. K. (1972). Manometric assesment of interstitial microalgae production in two estuarine sediments. *Oecologica.* **10**:193-210.
- Rizzo, W. M. & Wetzel, R. L. (1985). Intertidal and Shoal Benthic Community Metabolism in a Temperate Estuary: Studies of Spatial and Temporal Scales of Variability. *Estuaries.* **8**:342-351.
- Rizzo, W. M. (1990). Nutrient Exchanges Between the Water Column and Subtidal Benthic Microalgal Community. *Estuaries.* **13**:219-226.
- Rizzo, W. M., Lackey, G. J. & Christian, R. R. (1992). Significance of euphotic, subtidal sediments to oxygen and nutrient cycling in a temperate estuary. *Mar Ecol Prog Ser.* **86**:51-61.
- Rutgers van der Loeff, M. M., Anderson, L. G., Hall, P. O. J., Iverfeldt, O. A., Josefson, A. B., Sundby, B. & Wseterlund, S. F. G. (1984). The asphyxiation technique: an approach to distinguishing between molecular diffusion and biologically mediated transport at the sediment-water interface. *Limnol Oceanogr.* **29**:675-686.
- Ryther, J., Dunstan, H. & William, M. (1971). Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in the coastal marine environment. *Science.* **171**:1008-10013.
- Serôdio, J., Marques da Silva, J. & Catarino, F. (1997). Nondestructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence. *J Phycol.* **33**:542-553.
- Seitzinger, S. P. (1988). Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: Ecological and geochemical significance. *Limnol Oceanogr.* **33**:702-724.
- Seitzinger, S. P. (1990). Denitrification in Aquatic Sediments. In: Revsbech, N. P. & Sorensen, J (eds). *Denitrification in Soil and Sediment*. Plenum Press, New York. 301-322
- Shaffer, G. P. & Onuf, C. P. (1983). An Analysis of factors influencing the primary production of the benthic microflora in a Southern California Lagoon. *Neth J Sea Res.* **17**:126-144.
- Smith, S. V., Wiebe, W. J., Hollibaugh, J. T., Dollar, S. J., Hager, S. W., Cole, B. E., Tribble, G. W. & Wheeler, P. A. (1987). Stoichiometry of C, N, P, and Si fluxes in a temperate-climate embayment. *J Mar Res.* **45**: 427-460.
- Smith, S. V., Hollibaugh, J. T., Dollar, S. J. & Vink, S. M. (1991). Tomales bay metabolism:C-N-P Stoichiometry and ecosystem heterotrophy at the land-sea interface. *Estuar Coast Shelf Sci.* **33**:223-257.
- Smith, S. V. & Hollibaugh, J. T. (1997). Annual cycle and interannual variability of ecosystem metabolism in a temperate climate embayment. *Ecol Monogr.* **67**:509-533.
- Sullivan, M. J. & Moncreiff, C. (1988). Primary production of edaphic algal communities in a Mississippi salt marsh. *J Phycol.* **24**:49-58.

- Sundback, K. & Jonsson, B. (1988). Microphytobenthic productivity and biomass in sublittoral sediments of a stratified bay, southeastern Kattegat. *J Exp Mar Biol Ecol.* **122**:63-81.
- Sundback, K., Enoksson, V., Granéli, W. & Pettersson, K. (1991). Influence of sublittoral microphytobenthos on the oxygen and nutrient flux between sediment and water: A laboratory continuous-flow study. *Mar Ecol Prog Ser.* **74**: 263-279.
- Sundby, B., Gobeil, C. & Silverberg, N. (1992). The phosphorus cycle in coastal marine sediments. *Limnol Oceanogr.* **37**:1129-1145.
- Staudinger, B., Periffer, S., Avnimelech, Y. & Berman, T. (1990). Phosphorus mobility in interstitial water of sediments in Lake Kinneret, Israel. *Hydrobiol.* **207**:167-177.
- Syrett, P. J. (1981). Nitrogen metabolism of algae. *Can Bull Fish Aquat Sci.* **210**:182-210.
- Swanberg, I. L. (1991). The influence of the filter-feeding bivalve *Cerastoderma edule* L. on microphytobenthos: a laboratory study. *J Exp Mar Biol Ecol.* **151**:93-111.
- Teague, K. G., Madden, C. & Day, J. W. (1988). Sediment-Water Oxygen and Nutrient Fluxes in a River-Dominated Estuary. *Estuaries.* **11**:1-9.
- Tiedje, J. M., Sexstone, A. J., Myrold, D. D. & Robinson, J. A.. (1982). Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Antonie van Leeuwenhoek J Microb.* **48**:569-583.
- Uthicke, S. & Klumpp, D. W. (1998). Microphytobenthos community production at a near-shore coral reef: seasonal variation and response to ammonium recycled by holothurians. *Mar Ecol Prog Ser.* **169**:1-11.
- Van Es, F. B. (1982). Community Metabolism of Intertidal Flats in the Sem-Dollard Estuary. *Mar Biol.* **66**:95-108.
- Van Luijn, F., Boers, P. C. M., Lijklema, L. & Sweerts, J-P. R. A. (1999). Nitrogen fluxes and processes in sandy and muddy sediments from shallow eutrophic lake. *Wat Res.* **33**:33-42.
- Van Raalte, C. D., Valiela, I. & Teal, J. M.(1976). Production of epibenthic salt marsh algae: light and nutrient limitation. *Limnol Oceanogr.* **21**:862-872.
- Varela, M. & Penas, E. (1985). Primary production of benthic microalgae in na intertidal sand flat of the Ria de Arosa. NW Spain. *Mar Ecol Prog Ser.* **25**:111-119.
- Vieira, M. & Bordalo, A. A. The Douro Estuary: A Mesotidal Salt Wedge. (submitted).
- Zar, J. H. (1996). Biostatistical Analysis. 3rd Ed. Prentice-Hall International, Inc., USA.
- Zedler, J. B. (1980). Algal Mat Productivity: Comparisons in a Salt Marsh. *Estuaries.* **3**:122-131.
- Zeitzschel, B. (1980). Sediment-water interactions in nutrient dynamics. In: Tenore, K. R., Coull, B. C. (eds.). *Marine benthic dynamics*. Univ. S. Carolina Press, Columbia.195-218.
- Yallop, M.,L., de Winder, B., Paterson, D. M. & Stal, L. J. (1994). Comparative structure, primary production and biogenic stabilization of cohesive and non-cohesive marine sediments inhabited by microphytobenthos. *Est Coast Shelf Sci.* **39**:565-582.
- Webb, K. L. & Wiebe. (1975). Nitrification on a coral reef. *Can J Microbiol.* **21**:1427-1431.
- Wetzel, R. G. (1983) Limnology. 2nd Ed. Saunders College Publ., U.S.A.

- Williams, P. J. leB. (1985). Analysis: Organic matter. in: Head, P. C. (ed.). *Practical Estuarine Chemistry-A Handbook*, Cambridge University Press, Cambridge.160-200.
- Wasmund, N. (1984). Production and Distribution of the Microphytobenthos in the Sediment of Lake Mikolajskie. *Int Revue ges Hydrobiol* . **69**:215-229.