



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS,  
ALGAS E PLANTAS

Eduardo de Oliveira Bastos

**BASES BIOLÓGICAS PARA A DOMESTICAÇÃO DE UMA  
ALGA VERMELHA NATIVA DE VALOR ECONÔMICO:  
*Chondracanthus teedei***

Florianópolis  
2013



Eduardo de Oliveira Bastos

**BASES BIOLÓGICAS PARA A DOMESTICAÇÃO DE UMA  
ALGA VERMELHA NATIVA DE VALOR ECONÔMICO:  
*Chondracanthus teedei***

Dissertação apresentada ao programa de Pós- Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Leila Hayashi

Coorientador: Prof. Dr. Eurico Cabral de Oliveira Filho

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

de Oliveira Bastos, Eduardo  
BASES BIOLÓGICAS PARA A DOMESTICAÇÃO DE UMA ALGA  
VERMELHA NATIVA DE VALOR ECONÔMICO: *Chondracanthus teedei* /  
Eduardo de Oliveira Bastos ; orientadora, Leila Hayashi ;  
co-orientador, Eurico Cabral de Oliveira Filho. -  
Florianópolis, SC, 2013.  
92 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-  
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Inclui referências

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2.  
*Chondracanthus teedei*. 3. Cultivo. 4. Macroalgas. I.  
Hayashi, Leila. II. Cabral de Oliveira Filho, Eurico .  
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de  
Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV.  
Título.

Eduardo de Oliveira Bastos

**BASES BIOLÓGICAS PARA A DOMESTICAÇÃO DE UMA  
ALGA VERMELHA NATIVA DE VALOR ECONÔMICO:  
*Chondracanthus teedei***

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre, e aprovado em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Florianópolis, 26 de abril de 2013.

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> Maria Alice Neves  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Eurico Cabral de Oliveira  
Coorientador  
Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. Daniel Eduardo Lavanholi de Lemos  
Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. José Bonomi Baruffi  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Paulo Antunes Horta Junior  
Universidade Federal de Santa Catarina



À Minha Mãe (*in memoriam*) e ao meu Pai.



## AGRADECIMENTOS

*É fácil deixar de agradecer alguém entre tantas pessoas que de algum modo ajudaram e/ou influenciaram este trabalho, então quem não estiver aqui se sinta agradecido também.*

*Aos meus pais, irmãos, cunhadas e familiares pelo incentivo durante toda esta caminhada.*

*Ao meu Avô materno, Eurico Setembrino de Oliveira, por ter me ensinado a amar e respeitar o mar.*

*Ao Prof. Dr. Eurico Cabral de Oliveira Filho, pela idealização deste trabalho, por sua orientação e pelos grandes ensinamentos dentro e fora da universidade.*

*À Profa. Dra. Leila Hayashi por sua orientação, ensinamentos e conversas sempre produtivas.*

*Agradeço à Profa. Dra. Zenilda L. Bouzon, pela avaliação do projeto e o seu acompanhamento.*

*Ao prof. Dr. Paulo A. Horta, por me encaminhar para o mundo da ficologia durante a graduação e pelos inúmeros ensinamentos durante estes quatro anos de laboratório e amizade.*

*Ao Prof. Dr. José Barufi, por sua atenção e discussões produtivas.*

*À Fernanda Ramlov, pelas dicas e conselhos sobre metodologias e desenho experimental, que foram fundamentais para este trabalho.*

*Ao Pablo pelas discussões e ajuda nas análises estatísticas.*

*Aos companheiros de jornada, Filipe e Pamela pela amizade, companheirismo, pelos momentos agradáveis e pelas ajudas diversas.*

*Aos companheiros de LAFIC (Rafael, Janayna, Cíntia, Cíntia Lhulier, Marina, Marcelo, Pamela, Lidi, e Vanessa) e LCM-Macroalgas (Ronald, Filipi e Giulia) que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.*

*Aos professores e funcionários do Departamento de Botânica da UFSC.*

*À Manu, Anderson, Alan, Pablo e Fernando pela amizade e companheirismo nos momentos dentro e fora da universidade.*

*Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.*

*À Tici, minha companheira nesta caminhada, pelo companheirismo, carinho e paciência nos momentos de difíceis. Obrigado pelas discussões que fortaleceram nossos trabalhos. Obrigado pela compreensão e por estar ao meu lado o tempo todo!!!*



*“A mesma regra mantém-se para os que aqui estão agora, é claro:  
escolheremos o nosso próximo mundo através daquilo que aprenderemos neste.  
Não aprender nada significa que o próximo mundo será igual a este,  
com as mesmas limitações e pesos de chumbo a vencer.”*

*Fernão Capelo Gaiyota*



*“Aqui será a areia fina...a falésia...onde, entre voos, poisarei para descansar e meditar, depois voltar a voar entre o azul do mar e o azul do céu.”*

*Fernão Capelo Gaivota*



## RESUMO

O gênero *Chondracanthus* (Gigartinaceae, Rhodophyta) tem despertado interesse das indústrias produtoras de carragenana e do mercado de alimentação humana por seu grande potencial econômico. No Brasil o gênero possui quatro espécies, dentre as quais se destaca *Chondracanthus teedei*, pelo seu porte, distribuição e abundância. Tendo em vista que as populações naturais não são suficientes para suportar uma exploração econômica, a alternativa para viabilizar o aproveitamento deste recurso é por meio da maricultura. Por outro lado, um programa de maricultura só terá chances de êxito se apoiado em fundamentos sólidos sobre a biologia da espécie, de tal modo que permita-se sua domesticação. Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de bases biológicas para apoiar a maricultura desta espécie de alga marinha no litoral brasileiro. Nesta fase inicial estudamos: i. a liberação de meiosporos e mitósporos; ii. a germinação de ambos tipos de esporos e seu desenvolvimento até plantas adultas; iii. a taxa de crescimento de plântulas haploides e diploides; iv. a influência da temperatura no crescimento das plântulas e v. a análise do desempenho de progênies derivadas de meiose nas condições de cultivo que utilizamos. Como resultados destacamos: i. tanto carpósporos como tetrásporos apresentaram o padrão *Dumontia* de desenvolvimento, com o surgimento do eixo ereto cerca de 100 horas após a liberação do esporo; ii. a taxa de liberação de esporos por grama de talo com cistocarpos foi 68% superior em relação a talos com tetrásporangios; iii. a taxa de germinação foi superior nos carpósporos (32%) em relação aos tetrásporos (29%); iv. não há diferenças significativas entre as taxas de crescimento relativo (TCR) de plântulas derivadas de tetrásporos e carpósporos; v. as melhores TCR ocorreram a 25°C para ambas as fases e vi. houve ampla variação na morfologia e nas TCRs das linhagens obtidas a partir de tetrásporos evidenciando recombinação genética independente e mostrando ser este o caminho para a obtenção de linhagens mais produtivas. Acreditamos que os resultados obtidos fornecem informações relevantes para futuros programas de maricultura de *Chondracanthus teedei* no litoral brasileiro, a serem complementados por ensaios de cultivo no mar.

**Palavras-chave:** 1. *Chondracanthus teedei* 2. Cultivo 3. Macroalgas



## ABSTRACT

Species of the red algal genus *Chondracanthus* (Gigartinales, Rhodophyta) have been considered a target for exploitation because of its importance as a source of raw material for the carrageenan industry as well as food industry as a sea vegetable. *Chondracanthus* is represented in Brazil by four species, among which *C. teedei* is of special interest in view of its size, distribution and abundance. As the natural population are not large enough to support a commercial exploitation the alternative remains on its mariculture. However, it is well known that success in a sustainable and commercial cultivation of a natural resource can only be achieved if based on solid biotechnological background, that leads to the domestication of the targeted species. This study aims at developing basic knowledge of the biology of *C. teedei* to support the mariculture of this species on the Brazilian coast. In this first approach we studied: i. the release of mitospores and meiospores; ii. spore's germination and development until adult thalli; iii. relative growth rates (GR) of haploid and diploid germlings; iv. GR performance under different temperatures and v. the performance of strains of plantlets derived from meiotic spores *in vitro*. Among the results we highlight: i. both, tetraspores and carpospores germinate following the same pattern described for the genus *Dumontia*; an erect shoot is produced after about 96 hours since spore's release; ii. release of spores per gram (fresh) of thalli with cystocarps was 68% higher than thalli with tetrasporangial sori; iii. germination rates of spores was higher in carpospores (32%) than in tetraspores (29%); iv. on a total mean basis there was no significant differences among GR of plantlets derived from tetraspores and carpospores; v. higher GR for plantlets derived from both spores types occurred at 25°C and vi. there was a high variability in the morphology, as well as GR, in plantlets derived from tetraspores, showing independent gene segregation. This high variability will provide the genetic basis for strain selection in order to pick up the best strains for higher productivity. We believe that these results are a contribution towards the establishment of a biotechnological basis for the mariculture of this potentially important species on the Brazilian coasts. A follow up of this project is to develop pilot assays in the sea.

**Keywords:** 1. *Chondracanthus teedei* 2. Cultivation 3. Seaweed



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- “CRITICAL PATHWAY”, MODELO PROPOSTO POR HANSEN (1983) PARA ESTUDOS DE SELEÇÃO DE LINHAGENS.....	30
FIGURA 2- A) COSTÃO ROCHOSO DO LADO NORTE DA PRAIA GRANDE, GOVERNADOR CELSO RAMOS – SC. B) FISIONOMIA DO COSTÃO ROCHOSO DA PRAIA GRANDE. C) DISTRIBUIÇÃO DA POPULAÇÃO DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> NA REGIÃO ENTRE-MARÉS (SETA). ....	35
FIGURA 3 A-G) METODOLOGIA UTILIZADA PARA A LIBERAÇÃO E CONTAGEM DOS ESPOROS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . (A) AQUÁRIO PARA LIBERAÇÃO DOS ESPOROS COM AS ALGAS SUSPENSAS EM ESTRUTURAS DE REDES (AS) COM DISTÂNCIA (DS) DE 13 CM DO SUBSTRATO PARA FIXAÇÃO COMPOSTO POR LÂMINAS PARA MICROSCOPIA (LM). B) ALGAS SUSPENSAS PARA LIBERAÇÃO. C) UNIDADES DE LIBERAÇÃO EM TRIPLICATA PARA CADA ESTÁDIO DO CICLO DE VIDA. D) LÂMINA PARA MICROSCOPIA RECOBERTA COM ESPOROS. E) ORIENTAÇÃO DAS 6 FOTOS ALEATÓRIAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA TAXA DE LIBERAÇÃO DE ESPOROS. F) ORIENTAÇÃO DAS 3 FOTOS ALEATÓRIAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA TAXA DE GERMINAÇÃO DOS ESPOROS.(G) VISUALIZAÇÃO NO MICROSCÓPIO DOS ESPOROS COM 7 DIAS SOBRE LÂMINA PARA MICROSCOPIA COM AUMENTO DE 40X. ....	39
FIGURA 4 – A-G) PRIMEIROS ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO DE TETRÁSPOROS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . A) TETRÁSPORO RECÉM-LIBERADO; B – TETRÁSPORO COM A PRIMEIRA DIVISÃO APÓS 12 HORAS (SETA); C) INÍCIO DA GERMINAÇÃO DE TETRÁSPORO COM DUAS DIVISÕES APÓS 24 HORAS (SETA); D) DESENVOLVIMENTO DE TETRÁSPORO APÓS 48 HORAS COM QUATRO CÉLULAS (SETAS INDICANDO DIVISÃO CELULAR); E) DISCO PLURIESTRATIFICADO NO CENTRO E MONOESTRATIFICADO NAS BORDAS FORMADO APÓS 96 HORAS DA LIBERAÇÃO DE TETRÁSPORO. INÍCIO DA FORMAÇÃO DO EIXO ERETO (C); F) DISCO DE FIXAÇÃO FORMADO E FORMAÇÃO DO TALO ERETO APÓS 120 HORAS DA LIBERAÇÃO DE TETRÁSPORO; G) PLÂNTULA COM 14 DIAS FORMADA PELA GERMINAÇÃO DE TETRÁSPORO. ESCALA CORRESPONDE A 10 µM NAS FIGURAS A-F E 100 µM NA FIGURA G. ....	44
FIGURA 5 A - D) MODIFICAÇÃO NOS PRIMEIROS ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO DE TETRÁSPOROS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . A) TETRÁSPORO COM SEIS HORAS, SURGIMENTO DE UMA PROTUBERÂNCIA; B) INÍCIO DE DESENVOLVIMENTO DE TETRÁSPORO COM 12 HORAS, PRIMEIRA DIVISÃO; C) FASE INICIAL DO DESENVOLVIMENTO DE	

TETRÁSPORO COM DUAS DIVISÕES CELULARES APÓS 24 HORAS; D) MASSA MULTICELULAR IRREGULAR DE CÉLULAS DERIVADA DE TETRÁSPORO PÓS 48 HORAS. ESCALA CORRESPONDE A 10 $\mu\text{M}$ . .....	45
FIGURA 6 - VARIAÇÃO DO NÚMERO DE ESPOROS LIBERADOS POR GRAMA DE TALO FRESCO DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA $\pm$ ERRO PADRÃO (N = 3). AS LETRAS DIFERENTES INDICAM TRATAMENTOS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGUNDO ANOVA (P < 0,05). .....	46
FIGURA 7 - TAXA DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS PROVENIENTES DE TETRASPORÓFITO E GAMETÓFITO FEMININO DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA $\pm$ ERRO PADRÃO (N = 3). .....	46
FIGURA 8 - VARIAÇÃO DO DIÂMETRO DO DISCO DE FIXAÇÃO ( $\mu\text{M}$ ) (A) E DA TAXA DE CRESCIMENTO – TCR- (% $\text{DIA}^{-1}$ ) (B) DO DIÂMETRO DO DISCO DE FIXAÇÃO DE PLÂNTULAS DERIVADAS DA GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> APÓS 21 DIAS DE CULTIVO. CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA $\pm$ ERRO PADRÃO (N = 3).....	47
FIGURA 9 – DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE CARPÓSPOROS LIBERADOS POR DOIS INDIVÍDUOS (01 E 02) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS.....	53
FIGURA 10 - DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE CARPÓSPOROS LIBERADOS POR DOIS INDIVÍDUOS (03 E 04) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS.....	54
FIGURA 11 - DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE CARPÓSPOROS LIBERADOS POR UM INDIVÍDUO (05) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS. ....	55
FIGURA 12- DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS LIBERADOS POR UM INDIVÍDUO (06) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS. ....	56
FIGURA 13 - DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS LIBERADOS POR UM INDIVÍDUO (07) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS. ....	57
FIGURA 14 - DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS LIBERADOS POR UM INDIVÍDUO (08) DE	

<i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS. ....	58
FIGURA 15 - DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS LIBERADOS POR UM INDIVÍDUO (09) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS. ....	59
FIGURA 16 - DESENVOLVIMENTO MORFOLÓGICO DE LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS LIBERADOS POR UM INDIVÍDUO (10) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . BARRAS = 2 MM PARA 30 DIAS E 1 CM PARA 45, 60, 75 E 90 DIAS. ....	60
FIGURA 17 - MÉDIA DAS TAXAS DE CRESCIMENTO RELATIVO (TCR) DAS LINHAGENS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> POR PLANTA MÃE. N = 2 PARA L01, L02, L03 E L04. N = 4 PARA L05, L06, L07, L08, L09 E L10. CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA ± ERRO PADRÃO.....	61
FIGURA 18 - MÉDIA DO COMPRIMENTO FINAL (CM) DAS LINHAGENS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> POR PLANTA MÃE. N = 2 PARA L01, L02, L03 E L04. N = 4 PARA L05, L06, L07, L08, L09 E L10. CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA ± ERRO PADRÃO.....	62
FIGURA 19 - MÉDIA DA BIOMASSA FINAL (G) DAS LINHAGENS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> POR PLANTA MÃE. N = 2 PARA L01, L02, L03 E L04. N = 4 PARA L05, L06, L07, L08, L09 E L10. CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA ± ERRO PADRÃO.....	63
FIGURA 20 – VALORES DE TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO (% DIA <sup>-1</sup> ) E BIOMASSA (G) DE 32 LINHAGENS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> CULTIVADAS POR 90 DIAS (60 DIAS DE ISOLAMENTO). ....	65
FIGURA 21 - EFEITO DA TEMPERATURA (15, 25 E 30°C) NA BIOMASSA (G) DE DIFERENTES LINHAGENS (LG07B, LG08C, LG09B E LG10C) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> APÓS 28 DIAS DE CULTIVO. CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA ± ERRO PADRÃO (N = 3). LINHAS CORRESPONDEM À LINHA DE TENDÊNCIA. ....	70
FIGURA 22 – EFEITO DA TEMPERATURA (15, 25 E 30°C) NA TAXA DE CRESCIMENTO (% DIA <sup>-1</sup> ) DE DIFERENTES LINHAGENS GAMETOFÍTICAS (LG07B, LG08C, LG09B E LG10C) DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> APÓS 28 DIAS DE CULTIVO. CADA VALOR CORRESPONDE À MÉDIA ± ERRO PADRÃO (N = 3). AS LETRAS INDICAM TRATAMENTOS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGUNDO O TESTE DE STUDENT-NEWMAN-KEULS (P < 0,05) (LETRAS MINÚSCULAS CORRESPONDEM ÀS DIFERENÇAS ENTRE AS LINHAGENS; LETRAS MAIÚSCULAS CORRESPONDEM ÀS DIFERENÇAS ENTRE AS TEMPERATURAS). ....	71



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 ANÁLISE DE VARIÂNCIA UNIFATORIAL DA LIBERAÇÃO, TAXA DE GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS E TAXA DE CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> . EM NEGRITO, DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS.....	48
TABELA 2 – DADOS MORFOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE DIFERENTES LINHAGENS, OBTIDAS A PARTIR DA GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> CULTIVADOS POR 90 DIAS (60 DIAS DE ISOLAMENTO).....	66
TABELA 3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA BIFATORIAL DA TAXA DE CRESCIMENTO DE QUATRO LINHAGENS GAMETOFÍTCAS DE <i>CHONDRACANTHUS TEEDEI</i> APÓS 28 DIAS DE CULTIVO EM DIFERENTES TEMPERATURAS (15, 25 E 30° C). EM NEGRITO, DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS. ....	71



## SUMÁRIO

SUMÁRIO -----	25
1. INTRODUÇÃO-----	27
1.1. MACROALGAS MARINHAS: UTILIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA-----	27
1.2. MARICULTURA DE MACROALGAS NO BRASIL -----	28
1.3. SELEÇÃO DE LINHAGENS -----	29
1.4. O GÊNERO <i>Chondracanthus</i> KÜTZING - ÊNFASE EM <i>Chondracanthus teedei</i> (MERTENS EX ROTH) KÜTZING -----	31
2. OBJETIVOS -----	33
2.1. OBJETIVO GERAL-----	33
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	33
3. MATERIAL E MÉTODOS-----	35
3.1. PROCEDIMENTOS DE COLETA-----	35
3.2. CONDIÇÕES GERAIS DE CULTIVO-----	36
3.3. ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO INICIAL, LIBERAÇÃO E GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE <i>Chondracanthus teedei</i> ----	37
3.4. MORFOGÊNESE E SELEÇÃO DE LINHAGENS -----	40
3.5. EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS SOBRE A TAXA DE CRESCIMENTO DE QUATRO LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS -----	40
3.6. ANÁLISE DOS DADOS -----	41
4. RESULTADOS-----	43
4.1. DESENVOLVIMENTO INICIAL-----	43
4.2. LIBERAÇÃO E GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE <i>Chondracanthus teedei</i> -----	45
4.3. MORFOGÊNESE E SELEÇÃO DE LINHAGENS -----	48
4.4. EXPERIMENTO DE TEMPERATURA -----	69
6. CONCLUSÕES-----	80
7. REFERÊNCIAS -----	82



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. MACROALGAS MARINHAS: UTILIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Segundo Zemke-White & Ohno (1999), 221 espécies de macroalgas marinhas são utilizadas no mundo (32 Chlorophyta, 64 Phaeophyceae e 125 Rhodophyta), sendo que 145 destas espécies (28 Chlorophyta, 38 Phaeophyceae e 79 Rhodophyta) são utilizadas na alimentação humana sem processamento e 101 espécies são utilizadas indiretamente na forma de polissacarídeos (alginato – 41 espécies, ágar – 33 espécies e carragenanas – 27 espécies). Entretanto, a utilização das macroalgas marinhas como fonte de alimentação direta ou indireta não é tão recente, existindo registros que datam dos séculos IV e VI em países como Japão e China (Ito & Hori 1989; Oliveira 1997a; McHugh 2003; Oliveira et al. 2009). Reed (1907) lista, no início do século XX, 70 espécies utilizadas na alimentação nas ilhas havaianas, entre elas 7 espécies de *Enteromorpha*, conhecida como ‘Limu eleele’ no Havaí e ‘Aonori’ no Japão. O mesmo autor cita também o cultivo de *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Trevisan de Saint-Léon (citada como *Asparagopsis sanfordiana* Harvey) realizado em Moloaa, Havaí, para consumo direto. Murata & Nakazoe (2001) citam 50 espécies de macroalgas comestíveis para o Japão, com um consumo médio de 1,4 kg de algas por pessoa no ano de 1994. Além dos benefícios nutricionais, Funahashi et al. (2001) verificaram que o consumo de *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar reduz e previne o câncer de mama.

O consumo mundial de macroalgas marinhas era embasado em pequenos e rudimentares cultivos e, grande parte na exploração dos bancos naturais de forma não planejada. Com o crescente consumo de produtos industrializados dependentes de polissacarídeos de macroalgas marinhas (ágar, carragenanas e alginatos), a exploração dos bancos naturais foi sendo substituída gradativamente por cultivos comerciais ou por exploração planejada e controlada. (Oliveira 1997a; McHugh 2003). Estes polissacarídeos, também chamados de ficocolóides, são hidrocolóides (colóides solúveis em água) com moléculas grandes. São incolores, inodoros, insípidos e não digeridos pelo homem (sem valor calórico) e, quando diluídos em água, formam uma solução viscosa (Armisen 1991; Hayashi 2001; Oliveira et al. 2009). São divididos em três grandes grupos: agaranas (ágares), carragenanas e alginatos, os dois primeiros extraídos de macroalgas vermelhas (Rhodophyta) e os

alginatos de macroalgas pardas (Phaeophyceae). Podem ser utilizados em diversos setores da indústria, tais como: indústria alimentícia, farmacêutica, cosméticos, fotográfica, tintas, borrachas e fertilizantes (Armisen 1991; McHugh 1991, 2003; Oliveira 1997a; Buschmann et al. 2005).

Cerca de 40 países produzem 90% (11,3 milhões de toneladas) da biomassa comercializada de macroalgas, sendo a China (62,8%), Indonésia (13,7%), Filipinas (10,6%), Coreia (5,9%) e o Japão (2,9%) os maiores produtores. *Laminaria japonica* Areschoug foi a alga mais produzida em 2008 (4,8 milhões de toneladas), seguida por *Undaria pinnatifida* (1,8 milhões de toneladas), *Gracilaria* spp. (1,4 milhões de toneladas) e *Porphyra* spp. (1,4 milhões de toneladas) (McHugh 2003; Oliveira et al. 2009; FAO 2010). Parte desta produção mundial, cerca de oito milhões de toneladas, é utilizada pelas indústrias para extração de ficocolóides, movimentando anualmente seis bilhões de dólares por ano. Este mercado vem crescendo de 1 a 3% ao ano (McHugh 2003; Bixler & Porse 2010).

## 1.2. MARICULTURA DE MACROALGAS NO BRASIL

O interesse do Brasil por macroalgas foi impulsionado pela falta de ágar no mercado mundial, provocado pela segunda guerra mundial, que impossibilitou o Japão de abastecer tal mercado. No decorrer dos anos, diversas empresas se instalaram no país com intuito de produzir ágar e carragenana, tendo como fonte macroalgas exploradas dos bancos naturais. Muitas destas empresas encerraram suas atividades poucos anos depois, aparentemente, devido à falta de matéria prima (Oliveira 1997a).

A exploração dos bancos naturais de macroalgas localizados, principalmente, no nordeste brasileiro é realizada por comunidades costeiras como um complemento de renda familiar. Entretanto, a falta de um plano de manejo e o uso de técnicas predatórias de colheita tem levado à destruição destes bancos naturais e à interrupção desta atividade (Oliveira 1997b; Carneiro et al. 2011).

Embora a Ficologia esteja relativamente bem avançada no Brasil, e o país disponha de ampla costa marinha e boa diversidade de macroalgas, ainda dependemos da importação de algas *in natura* e de vários de seus produtos (Oliveira 1997a). Mesmo que o Brasil não tenha boas condições florísticas e climáticas para a produção e processamento de algas pardas para alimento e alginatos, o país poderia vir a ser um

produtor de algas vermelhas para obtenção de agaranas e carragenanas (Oliveira 1981a; b; c). Em vista disto, diversos estudos foram realizados com macroalgas nativas com resultados promissores (Berchez & Oliveira 1990; Reis et al. 2006; Pellizzari et al. 2006; Salles et al. 2010), entretanto, nunca chegamos a um nível comercial significativo (Oliveira 1990).

No que diz respeito à produção de carragenófitas, dentre as espécies nativas promissoras destacam-se *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamouroux e *Chondracanthus teedei* (Mertens ex Roth) Kützing (Oliveira 1997a; Oliveira 2006 apud Muñoz et al. 2011). Entretanto, os ensaios realizados até agora com *H. musciformis* deram resultados insignificantes, esbarrando em dificuldades técnicas (Lima et al. 1981; Berchez & Oliveira 1990; Reis et al. 2006). Com *C. teedei*, apenas trabalhos relacionadas à reprodução e ecologia foram realizados no país (Braga 1985, 1990).

Como alternativa, foi proposto por Oliveira (1990) a introdução de uma espécie exótica, *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C. Silva in P.C. Silva, Basson & Moe, originária do Indo-Pacífico, a qual se adaptou bem, especialmente em locais onde a temperatura da água se mantém acima de 20°C (Paula & Pereira 1998; Bulboa & Paula 2005). O cultivo desta espécie está autorizado entre São Paulo e Rio de Janeiro (Oliveira 2005). Entretanto, essa introdução não tem sido vista com bons olhos por parte de muitos pesquisadores e enfrenta problemas sérios de legalização por parte das agências ambientais, devido às difíceis previsões de seu impacto sobre as comunidades marinhas (Paula & Pereira 1998; Alves et al. 2010).

### 1.3. SELEÇÃO DE LINHAGENS

A obtenção de matéria prima com qualidade e características adequadas para sua finalidade é de grande interesse para as indústrias ou para consumidores diretos. Para tal, é necessário o controle e a previsão da produção, assim como a qualidade das características desejadas. A utilização de técnicas de seleção de linhagens na maricultura tem como objetivo incrementar caracteres desejados em uma linhagem selecionada, de modo que esta linhagem apresente vantagens econômicas em relação à linhagem “selvagem” na expressão de caracteres desejáveis (Hansen 1983, 1984; Santelices & Doty 1989).

Para aperfeiçoar o processo de seleção e diminuir os erros de tentativa, Hansen (1983) propôs o “*Critical Pathway*”, que consiste em

construir uma base de dados através de dados ecológicos, experimentos de fisiologia em linhagens selecionadas, e experimentos de cultivo. Estes dados fornecerão uma base para gerar projetos de maricultura de determinada espécie (Figura 1).

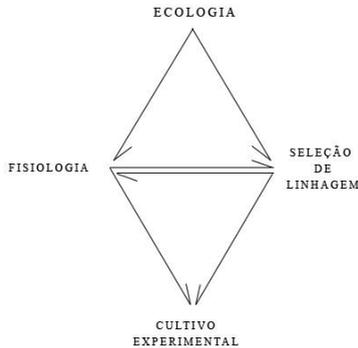


Figura 1- “Critical Pathway”, modelo proposto por Hansen (1983) para estudos de seleção de linhagens.

A seleção de uma boa linhagem é primordial para os avanços da maricultura. Os maiores avanços foram para os gêneros utilizados na alimentação, como *Porphyra* no Japão, *Laminaria* na China, e *Gracilaria* em Taiwan e no Chile, e para produtoras de carragenanas, *Chondrus* nos EUA e Canadá e em *Euचेuma* e *Kappaphycus* nas Filipinas (Santelices & Doty 1989; Oliveira et al. 2000; FAO 2010; Bindu & Levine 2010).

No Brasil diversos estudos relacionados à ecologia (Braga 1990; Oliveira & Berchez 1993; Faccini & Berchez 2000; Reis & Yoneshigue-Valentin 2000), fisiologia (Yokoya & Oliveira 1992; Pellizzari et al. 2007; Hayashi et al. 2010; Ramlov et al. 2012), seleção de linhagens (Paula et al. 1999; Hayashi et al. 2007) e cultivo experimental (Berchez & Oliveira 1990; Hayashi 2007; Pellizzari et al. 2006; Hayashi et al. 2008; Salles et al. 2010) foram realizados com macroalgas nativas ou introduzidas, a fim de produzir bases para futuros projetos de maricultura comercial.

#### 1.4. O GÊNERO *Chondracanthus* KÜTZING - ÊNFASE EM *Chondracanthus teedei* (MERTENS EX ROTH) KÜTZING

Nos últimos anos tem havido um crescente interesse por macroalgas do gênero *Chondracanthus* (Gigartinaceae, Rhodophyta), devido seu potencial econômico para extração de carragenanas, na produção de cosméticos e na alimentação humana (Pereira & Mesquita 2004; Bulboa et al. 2005). Hoje o gênero possui 20 espécies aceitas taxonomicamente com distribuição nos cinco continentes (Guiry & Guiry 2013) e com as espécies *C. exasperatus* (Harvey & J.W.Bailey) J.R. e *C. chamissoi* (C.Agardh) Kützing como os representantes mais importantes economicamente nos dias de hoje (Waaland 2004; Bulboa et al. 2005).

No Brasil o gênero possui quatro representantes (*C. acicularis* (Roth) Fredericq, *C. elegans* (Greville) Guiry, *C. teedei* e *C. saundersii* C.W.Schneider & C.E.Lane) distribuídos por sua costa (Schneider & Lane 2005; Oliveira et al. 2013).

Dentre estas espécies, destaca-se *Chondracanthus teedei* [basíônimo: *Ceramium teedii* Mertens ex Roth], descrita inicialmente em Portugal e atualmente encontrada em diversas regiões como Europa (Pereira & Mesquita 2004), Ásia (Lee & Kang 2001), África (John et al. 2004) e América do Sul (Coll & Oliveira 1999; Horta 2000). Segundo Oliveira (1977), *C. teedei* foi descrita inicialmente para o Brasil por Martius et al. em 1833 para o estado do Maranhão como *Sphaerococcus teedii* (Roth) Ag. No Brasil é considerada uma macroalga comum em todo o litoral, sendo encontrada em zonas relativamente abrigadas ocupando a faixa inferior da região entre-marés (Oliveira 1977; Braga 1990). Possuindo limite de distribuição norte o estado do Maranhão (Horta 2000) e sul o estado do Rio Grande do Sul (Baptista 1977). Para o estado de Santa Catarina a espécie foi descrita em 1978 por Cordeiro-Marino como *Gigartina tedii* (Mertens ex Roth) J.V. Lamouroux.

Esta espécie possui ciclo de vida trifásico e isomórfico (Guiry 1984; Braga 1985) com o estágio gametofítico produzindo carragenana da família *kappa* (gelificantes) e o estágio esporofítico produzindo carragenana da família *lambda* (espessante/viscosificante) (Saito & Oliveira 1990; Pereira & Mesquita 2004).

Braga (1985) realizou os primeiros estudos com *C. teedei* no Brasil, encontrando uma tendência no aumento da biomassa nos meses de inverno e uma diminuição nos meses de verão, com comprimento médio das plantas de 1,7 cm. Plantas maiores que 5,0 cm

corresponderam a menos de 2% da população na praia do Cibratel em Itanhaém, São Paulo. O predomínio de plantas inférteis sobre plantas cistocárpicas ou tetraspóricas também foi observado, sugerindo que, a reprodução vegetativa tem grande importância na renovação desta população. Em experimentos de laboratório, Braga (1985) também constatou que a espécie sobrevive em temperaturas entre 18 e 26°C, com maior crescimento em 22 e 26°C. O fotoperíodo também não se mostrou limitante para o seu crescimento.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é criar bases biológicas para auxiliar o desenvolvimento do cultivo da macroalga vermelha *Chondracanthus teedei*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Compreender as características iniciais do desenvolvimento de carpósporos, tetrásporos e juvenis de *Chondracanthus teedei*.

- Comparar entre os estádios do ciclo de vida (esporófito e gametófito feminino) a taxa de liberação e germinação de tetrásporos e carpósporos, e o crescimento das plântulas.

- Selecionar linhagens com altas taxas de crescimento relativo e biomassa a partir de carpósporos e tetrásporos.

- Testar a tolerância ao estresse causado pela alta (30°C) e baixa (15°) temperatura nas linhagens selecionadas.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. PROCEDIMENTOS DE COLETA

Indivíduos maduros de *C. teedei* foram coletados no costão rochoso do lado norte da Praia Grande (Figura 2A e B), no município de Governador Celso Ramos, Santa Catarina, Brasil ( $27^{\circ} 21' 26.43''$  S e  $48^{\circ} 32' 11.25''$  O). As populações de *C. teedei* estão localizadas na região entre-marés (Figura 2C) e por este motivo as coletas foram realizadas no período entre 7 e 10 horas da manhã em maré baixa ( $\leq 0,3$ ), de acordo com a tábua de marés para o Porto de Florianópolis.



Figura 2- A) Costão rochoso do lado norte da Praia Grande, Governador Celso Ramos – SC. B) Fisionomia do costão rochoso da Praia Grande. C) Distribuição da população de *Chondracanthus teedei* na região entre-marés (seta).

Após as coletas, os indivíduos foram armazenados em sacos plásticos com água do mar e acondicionados em caixa térmica ao abrigo da luz para o transporte até o Laboratório de Ficologia (LAFIC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado em Florianópolis, distante 46 km do ponto de coleta.

No laboratório, as amostras foram separadas entre espécimes com cistocarpos (gametófito feminino) e com soros de esporos (tetrasporófitos), lavadas com água do mar corrente, imersas em solução de hipoclorito de sódio 0,05% por 10 segundos e lavadas cinco vezes em água do mar esterilizada para eliminar sedimentos e organismos contaminantes.

### 3.2. CONDIÇÕES GERAIS DE CULTIVO

O meio de cultura utilizado foi água do mar esterilizada e enriquecida com a solução de von Stosch 50% (VS) preparada segundo Edwards (1970). A esterilização da água do mar foi realizada com decantação por 7 dias em ambiente escuro, filtragem em malha de 10 e 5  $\mu\text{m}$  e filtro com radiação UV-C.

Para o acompanhamento do desenvolvimento inicial, taxa de liberação, taxa de germinação e taxa de crescimento utilizou-se durante os primeiros 7 dias 6 mL de dióxido de germânio ( $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), para controlar uma possível contaminação por diatomáceas. No experimento de seleção de linhagens utilizou-se durante os primeiros 7 dias penicilina potássica ( $0.2 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), para evitar o crescimento de cianobactérias, além do dióxido de germânio na mesma concentração citada anteriormente.

Em todos os experimentos, os cultivos foram realizados com fotoperíodo de 12h, temperatura constante de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  (exceto no experimento de temperatura), irradiância PAR de  $40 \pm 5 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  fornecida por lâmpadas do tipo “luz do dia” (Osram 20 W), dispostas acima dos frascos. A irradiância foi medida com radiômetro PMA 2100 (Solar Light Co., Inc, Philadelphia, USA).

### 3.3. ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO INICIAL, LIBERAÇÃO E GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Chondracanthus teedei*

Para acompanhar o desenvolvimento inicial, quantificar a liberação e germinação de carpósporos e tetrásporos e quantificar o crescimento das plântulas, utilizou-se a metodologia proposta por Alveal et al. (1997), que consiste em manter as algas férteis submersas a certa distância do substrato, ocorrendo assim uma “chuva” dispersa de esporos sobre o substrato (Figura 3A, D e G). Para tal, foram utilizados aquários quadrados com 15 cm de lado e capacidade de 3 litros de meio de cultura. Para manter as algas em suspensão, foram confeccionadas estruturas de redes em fios finos de nylon, que ficavam suspensas e cobriam toda a superfície do aquário (Figura 3B). Como substrato para fixação dos esporos, foram utilizadas para cada aquário 10 lâminas para microscopia de luz (25,4 mm de largura e 76,2 mm de comprimento). Em cada aquário foram utilizadas 3 gramas de algas férteis.

O acompanhamento do desenvolvimento inicial ocorreu em dezembro de 2012 e foi utilizado um aquário para cada estágio reprodutivo. As algas permaneceram nos aquários por 12 horas no escuro, sendo retiradas após este período. Neste momento, iniciaram-se as primeiras observações. Os esporos foram incubados sem aeração, para as observações subsequentes. As observações do desenvolvimento dos carpósporos e tetrásporos foram realizadas com microscópio Leica DM 2500 e sistema de captura Leica Microsystems DFC295, utilizando uma lâmina para cada estágio do ciclo de vida, nos seguintes tempos: recém-liberado, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 96 horas, 120 horas e 14 dias após liberação.

Para quantificar a liberação e a taxa de germinação dos carpósporos e tetrásporos foram utilizadas triplicatas (3 aquários) para cada estágio do ciclo de vida (Figura 3C). As algas permaneceram 24 horas nos aquários e após este período foram retiradas, e os esporos cultivados por 7 dias, nas mesmas condições e locais da liberação. Este experimento foi realizado em Julho de 2012.

As taxas de liberação foram obtidas analisando-se as lâminas em um microscópio Leica DM 2500 no aumento de 40X e o sistema de captura de imagens Leica Microsystems DFC295. Foram registradas 6 fotos seguindo a orientação demonstrada na Figura 3E para cada lâmina, evitando assim fotos do mesmo local. Foram registradas no total 60

fotos por aquário e 180 fotos para cada estádio. Cada foto possui uma área total de 6,6454 mm<sup>2</sup>.

As taxas de germinação foram registradas no aumento de 100x, 3 fotos seguindo a orientação demonstrada na Figura 3F para cada lâmina, totalizando 30 fotos por réplica e 90 fotos por estádio do ciclo de vida. Cada foto possui uma área total de 1,06 mm<sup>2</sup>.

Com o auxílio do programa ImageJ versão 1.45s e de sua ferramenta “Cell Counter”, todos os esporos (germinados e não germinados) contidos nas fotos das taxas de liberação foram contados. Em seguida, realizou-se a somatória dos esporos contidos em todas as fotos de cada réplica e foi estimado o número total de esporos liberados por grama (biomassa fresca) de alga para cada réplica através da Equação 1:

Equação 1:

$$\text{N}^\circ \text{ total de esporos por grama de talo fresco} = \frac{\left( \frac{\text{ATL} \times \Sigma E}{\text{ATF}} \right)}{3}$$

Onde: ATL é a área total das 10 lâminas de microscopia,  $\Sigma E$  é o somatório dos esporos contados e ATF é a área total das 60 fotos.

Para as taxas de germinação, foram contados todos os esporos (germinados e não germinados) contidos nas fotos das taxas de germinação, e os resultados foram expressos como porcentagem de esporos germinados em relação ao número total de esporos contados. A germinação foi considerada quando o esporo apresentava pelo menos uma divisão celular (Bulboa et al. 2008b).

Após o registro das fotos para a quantificação das taxas de liberação e germinação, foram selecionadas aleatoriamente 3 lâminas de cada estádio reprodutivo, para a quantificação da taxa de crescimento relativo (TCR) das plântulas. As TCRs foram obtidas medindo-se 30 plântulas (discos) escolhidas ao acaso em cada lâmina durante um período de 14 dias (medições a cada 7 dias), com auxílio de um microscópio e uma ocular graduada. Cada lâmina foi mantida individualmente em uma placa de Petri (diâmetro 8,5 cm e altura 15 cm) com 50 mL de meio de cultura (trocado a cada 7 dias). Os resultados obtidos foram expressos como taxa de crescimento relativo (TCR = % dia<sup>-1</sup>), utilizando-se a Equação 2 (Lignell & Pedersén 1989):

Equação 2:

$$\text{TCR} = \left[ \left( \frac{M_t}{M_0} \right)^{\frac{1}{t}} - 1 \right] \times 100$$

Onde: TCR = Taxa de Crescimento Relativo; M0 = Diâmetro inicial do esporo; Mt = Diâmetro final do disco; t = dias.



Figura 3 A-G) Metodologia utilizada para a liberação e contagem dos esporos de *Chondracanthus teedei*. (A) Aquário para liberação dos esporos com as algas suspensas em estruturas de redes (AS) com distância (DS) de 13 cm do substrato para fixação composto por lâminas para microscopia (LM). (B) Algas suspensas para liberação. (C) Unidades de liberação em triplicata para cada estágio do ciclo de vida. (D) Lâmina para microscopia recoberta com esporos. (E) Orientação das 6 fotos aleatórias para quantificação da taxa de liberação de esporos. (F) Orientação das 3 fotos aleatórias para quantificação da taxa de germinação dos esporos. (G) Visualização no microscópio dos esporos com 7 dias sobre lâmina para microscopia com aumento de 40x.

### 3.4. MORFOGÊNESE E SELEÇÃO DE LINHAGENS

Foram selecionados ao acaso cinco gametófitos femininos e cinco esporófitos para proceder à liberação de esporos. De cada gametófito feminino foram separados quatro cistocarpos e de cada esporófito foram retirados quatro segmentos do talo contendo soros tetrasporangiais. Cada estrutura reprodutiva foi induzida a liberar os esporos em placa de Petri (115 mm diâmetro X 15 mm altura) individual contendo uma lâmina para microscopia de luz, 100 mL de meio de cultura e foram mantidas para liberação durante a noite. Após este período, as estruturas reprodutivas foram retiradas e os esporos cultivados com meio de cultura trocado a cada 7 dias.

Após 30 dias de cultivo procedeu-se aleatoriamente a seleção de uma plântula por placa de Petri, que foi cultivada isolada em erlenmeyers com 250 mL de meio de cultura, sob as mesmas condições descritas acima e com aeração constante com ar filtrado (Millipore 0,2 $\mu$ m) por 60 dias. O meio de cultura foi trocado a cada 15 dias, onde as plântulas eram fotografadas e o comprimento do seu eixo principal medido.

Aos 60 dias de cultivo, também foi registrada a biomassa fresca com balança analítica, e as linhagens provenientes de tetrásporos receberam etiquetas e foram postas aleatoriamente em grupos de cinco indivíduos em quatro aquários contendo 3 litros de água do mar cada, e mantidos sob as mesmas condições descritas acima por um período de 15 dias. Este procedimento serviu para diferenciar os gametófitos femininos dos gametófitos masculinos, pela presença dos cistocarpos nas plantas femininas. Este procedimento foi adotado devido ao difícil reconhecimento do soro de espermatângios nos gametófitos masculinos (Braga 1985).

### 3.5. EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS SOBRE A TAXA DE CRESCIMENTO DE QUATRO LINHAGENS PROVENIENTES DE TETRÁSPOROS

Entre as linhagens obtidas no experimento anterior, foram selecionadas quatro linhagens provenientes de tetrásporos (LG07B; LG08C; LG09B e LG10C) e testado o efeito de três temperaturas sobre sua taxa de crescimento. Estas linhagens foram selecionadas por possuírem as maiores taxas de crescimento dentre as linhagens de cada planta mãe.

Fragmentos apicais com 10 mm de comprimento foram incubados em Erlenmeyer com 250 mL de meio de cultura e submetidos a três temperaturas (15°C, 25°C e 30°C), durante um período de 28 dias em três câmaras de germinação com irradiância de 40  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoper\u00edodo de 12h e com aera\u00e7\u00e3o constante. O meio de cultura foi trocado a cada 7 dias, onde tamb\u00e9m eram obtidas medidas de comprimento do seu eixo principal. O experimento foi realizado em triplicata com 1 fragmento por erlenmeyer.

### 3.6. AN\u00c1LISE DOS DADOS

A biomassa inicial da sele\u00e7\u00e3o de linhagem e a biomassa inicial e final do experimento de temperatura foram estimadas atrav\u00e9s da equa\u00e7\u00e3o da regress\u00e3o linear (Equa\u00e7\u00e3o 3) entre a biomassa final e a \u00e1rea final das linhagens selecionadas.

$$\text{Equa\u00e7\u00e3o 3: } y = 0,0007x - 0,0151 \quad R^2 = 0,9552$$

Todos os dados obtidos foram submetidos primeiramente ao teste de normalidade e homogeneidade das vari\u00e2ncias (teste de Cochran).

Os dados obtidos na libera\u00e7\u00e3o, germin\u00e7\u00e3o de carp\u00f3sporos e tetr\u00e1sporos e taxa de crescimento das pl\u00e2ntulas foram submetidos, a uma an\u00e1lise de vari\u00e2ncia (ANOVA) unifatorial para realizar a compara\u00e7\u00e3o entre gamet\u00f3fito e tetraspor\u00f3fito. Dados referentes \u00e0s TCRs do experimento de temperatura com diferentes linhagens foram submetidos a uma an\u00e1lise de vari\u00e2ncia fatorial, para comparar as TCRs de cada linhagem entre as temperaturas, assim como tamb\u00e9m se houve intera\u00e7\u00e3o entre estes fatores (TCRs X Temperatura).

Quando diferen\u00e7as significativas foram encontradas, o teste de Student-Newman-Keuls foi utilizado.

As an\u00e1lises de ANOVA foram realizadas no programa STATISTIC 10 (StatSoft, Inc.). Todas as an\u00e1lises foram feitas considerando um n\u00edvel de signific\u00e2ncia de 5% ( $p < 0,05$ ).



## 4. RESULTADOS

### 4.1. DESENVOLVIMENTO INICIAL

Os tetrásporos e carpósporos liberados apresentaram formato esférico ou elipsóide, com diâmetros entre 15-16 $\mu$ m e com capa de mucilagem aparente (Figura 4A). Após 12 horas de sua liberação ocorreu a primeira divisão celular, separando-os em duas células filhas (Figura 4B). Em aproximadamente 24 horas após a liberação ocorreu à segunda divisão, sendo esta perpendicular à primeira divisão (Figura 4C). Após 48 horas, os esporos apresentaram a quarta divisão, formando quatro células filhas (Figura 4C). A partir desta fase do desenvolvimento ocorreram sucessivas divisões celulares e o aumento do diâmetro do disco. Entre 96 e 120 horas foi possível observar um disco pluriestratificado no centro e monoestratificado nas bordas e o início da formação do eixo ereto (Figura 4E e F). Filamentos unisseriados hialinos foram observados nesta fase do desenvolvimento. Com 14 dias, as plântulas apresentavam talos com comprimento entre 400 e 500  $\mu$ m e discos de fixação com diâmetro entre 200 e 250  $\mu$ m. Apenas um talo ereto por disco de fixação foi observado (Figura 4G).

Não foram observadas diferenças entre o processo de desenvolvimento dos tetrásporos e carpósporos. Ambos seguiram o padrão Dumontia de divisão celular descrito inicialmente por Chemin (1937). Durante o processo de desenvolvimento, foram observadas coalescências de esporos tanto em carpósporos como em tetrásporos, gerando plântulas com diversos talos eretos de diferentes tamanhos.

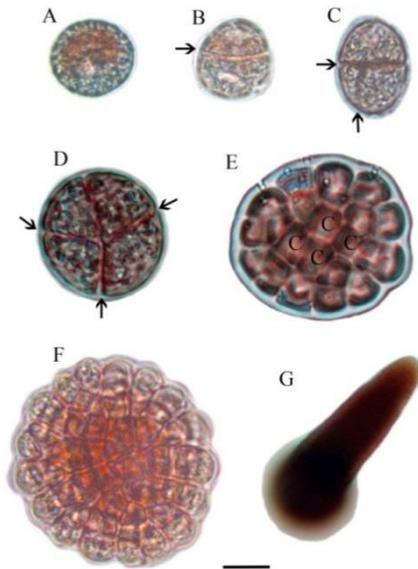


Figura 4 – A-G) Primeiros estágios do desenvolvimento de tetrásporos de *Chondracanthus teedei*. A) Tetrásporo recém-liberado; B – Tetrásporo com a primeira divisão após 12 horas (seta); C) Início da germinação de tetrásporo com duas divisões após 24 horas (seta); D) Desenvolvimento de tetrásporo após 48 horas com quatro células (setas indicando divisão celular); E) Disco pluriestratificado no centro e monoestratificado nas bordas formado após 96 horas da liberação de tetrásporo. Início da formação do eixo ereto (C); F) Disco de fixação formado e formação do talo ereto após 120 horas da liberação de tetrásporo; G) Plântula com 14 dias formada pela germinação de tetrásporo. Escala corresponde a 10  $\mu\text{m}$  nas figuras A-F e 100  $\mu\text{m}$  na figura G.

Alterações no padrão de divisão celular foram observadas em carpósporos e tetrásporos com frequência. Após 6 horas da liberação, uma protuberância pouco pigmentada surgiu (Figura 5A), e com 12 horas, a primeira divisão celular ocorreu na parte maior e mais pigmentada da célula, no sentido perpendicular a protuberância (Figura 5B). Com 24 horas após a liberação, os esporos já apresentavam uma segunda divisão. Esta segunda divisão ocorreu perpendicularmente à primeira divisão e, também ocorreu na parte mais pigmentada (Figura 5C). Após 48 horas uma massa multicelular irregular foi observada (Figura 5D).

Esta alteração no padrão de desenvolvimento foi observada apenas nas primeiras 48 horas após a liberação, depois deste período, o desenvolvimento ocorreu da mesma forma descrita anteriormente e as plântulas se tornaram indistinguíveis.

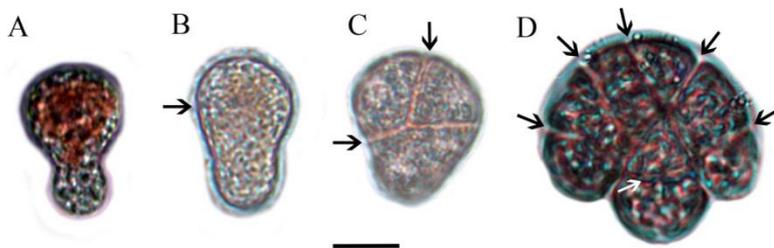


Figura 5 A - D) Modificação nos primeiros estágios do desenvolvimento de tetrásporos de *Chondracanthus teedei*. A) Tetrásporo com seis horas, surgimento de uma protuberância; B) Início de desenvolvimento de tetrásporo com 12 horas, primeira divisão; C) Fase inicial do desenvolvimento de tetrásporo com duas divisões celulares após 24 horas; D) Massa multicelular irregular de células derivada de tetrásporo pós 48 horas. Escala corresponde a 10  $\mu$ m.

#### 4.2. LIBERAÇÃO E GERMINAÇÃO DE CARPÓSPOROS E TETRÁSPOROS E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Chondracanthus teedei*

O número de esporos liberados por grama de alga fértil (Figura 6) foi significativamente (Tabela 1) maior para o gametófito feminino, sendo 68% (377.769 esporos/g) superior em relação ao tetrásporófito (120.691 esporos/g).

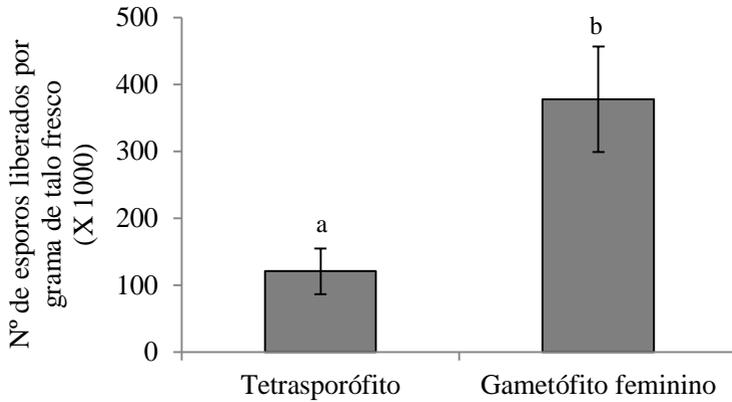


Figura 6 - Variação do número de esporos liberados por grama de talo fresco de *Chondracanthus teedei*. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ). As letras diferentes indicam tratamentos significativamente diferentes segundo ANOVA ( $p < 0,05$ ).

A taxa de germinação (Figura 7) foi ligeiramente maior nos esporos liberados por plantas do estágio gametófito feminino (32%) em relação aos esporos liberados pelo estágio tetrasporófito (29%), entretanto os valores não apresentaram diferenças significativas (Tabela 1).

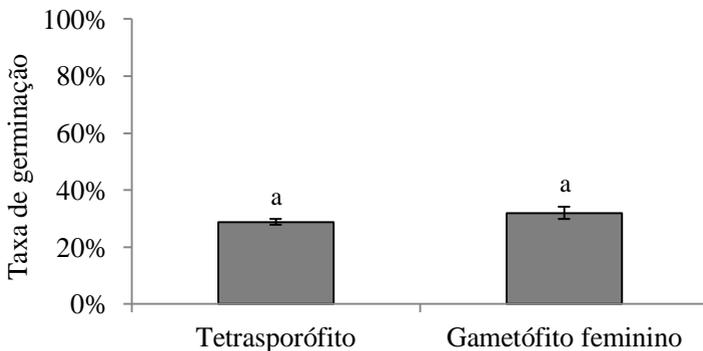


Figura 7 - Taxa de germinação de esporos provenientes de tetrasporófito e gametófito feminino de *Chondracanthus teedei*. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ).

Os discos de fixação apresentaram diâmetros no início do experimento (7 dias após a liberação) entre 33,90  $\mu\text{m}$  (gametófito) e 31,77  $\mu\text{m}$  (tetrásporófito). Após 14 dias de cultivo (21 dias após liberação) os discos apresentaram diâmetros de 168,54  $\mu\text{m}$  (gametófito) e 164,54  $\mu\text{m}$  (tetrásporófito) (Figura 8).

As TCRs entre os dois estádios foram similares, com  $12,12 \pm 0,50\%$   $\text{dia}^{-1}$  para gametófito e  $12,13 \pm 1,62\%$   $\text{dia}^{-1}$  para tetrásporófito, sem diferença significativa entre os estádios (Tabela 1) (Figura 8).

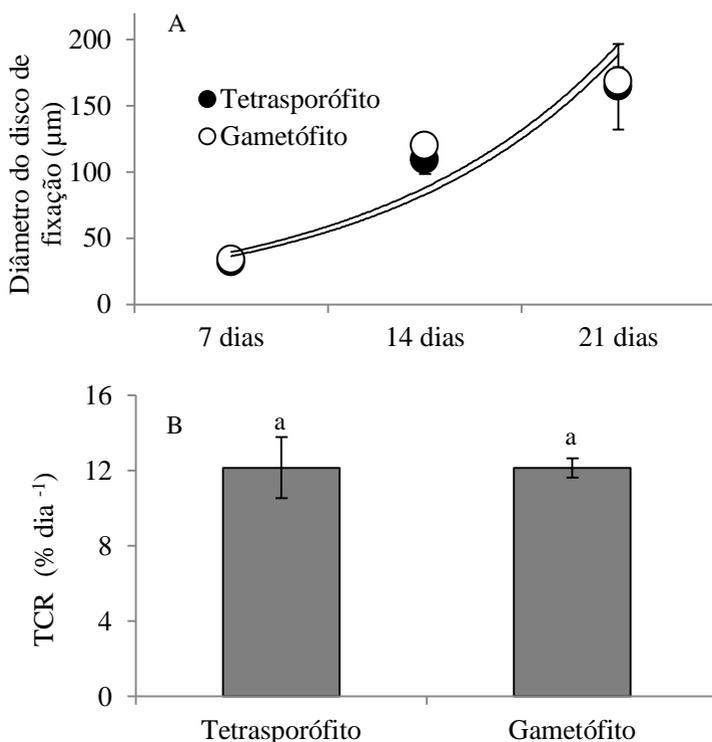


Figura 8 - Variação do diâmetro do disco de fixação ( $\mu\text{m}$ ) (A) e da taxa de crescimento - TCR- (%  $\text{dia}^{-1}$ ) (B) do diâmetro do disco de fixação de plântulas derivadas da germinação de carpósporos e tetrásporos de *Chondracanthus teedei* após 21 dias de cultivo. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ).

Tabela 1 Análise de variância unifatorial da liberação, taxa de germinação de carpósporos e tetrásporos e taxa de crescimento de plântulas de *Chondracanthus teedei*. Em negrito, diferenças significativas.

Efeito	Graus de Liberdade	F	P
Liberação	1	9,01253	<b>0,039860</b>
Taxa de germinação	1	1,8033	0,250449
Taxa de crescimento	1	0,0000	0,996823

#### 4.3. MORFOGÊNESE E SELEÇÃO DE LINHAGENS

No 15º dia após a liberação dos esporos foi observado que dos 20 cistocarpos analisados apenas 13 apresentaram carpósporos viáveis, e os outros sete cistocarpos não apresentaram carpósporos viáveis ou não os liberaram no período determinado.

As linhagens são designadas por três letras e dois números, LG para linhagens gametofíticas e LT para linhagens esporofíticas. Letras A, B, C e D diferenciam as linhagens da mesma planta mãe. Números de 01 a 10 referem-se a plantas mãe.

No momento em que as linhagens atingiram os 30 dias de cultivo procedeu-se a seleção ao acaso de um indivíduo de cada placa de Petri, totalizando 13 linhagens provenientes de carpósporos e 20 linhagens provenientes de tetrásporos. Estas linhagens já apresentavam uma diversificada coloração do talo (Figuras 9 e 16). O início das ramificações foi observado nesta fase do desenvolvimento, sendo mais frequente nas linhagens provenientes de tetrásporos (Figura 13 - LG07A, B e D; Figura 14 - LG08B e D; Figura 15 - LG09A, C e D; Figura 16 - LG10A e D) ocorrendo em menor frequência em linhagens provenientes de carpósporos (Figura 9 - LT01B). O comprimento inicial das linhagens selecionadas apresentou uma grande amplitude, com maior comprimento de 1,03 cm (Figura 10 - LT03A), menor comprimento de 0,12 cm (Figura 16 - LG10C) e média de 0,46 cm (Tabela 2). As linhagens apresentaram três tipos de morfologia do talo nesta fase do desenvolvimento, tendo predominância o talo achatado com 42,4% do total, seguido por 30,3% de talos cilíndricos e 27,3 de talos cilíndricos/achatados. Entre as linhagens provenientes de tetrásporos e carpósporos havia uma diferença em relação ao tipo

predominante de morfologia do talo nesta fase do desenvolvimento. Dentre as linhagens provenientes de carpósporos o predomínio foi de talos cilíndrico/achatados (46%), seguido por talos cilíndricos (31%) e talos achatados (23%), e nas linhagens provenientes de tetrásporos o tipo de morfologia predominante foi talo achatado (55%), seguido por talos cilíndricos (30%) e talos cilíndrico/achatados (15%).

Após 15 dias de cultivo isolado (45 dias após a liberação) uma linhagem morreu (LT02C), restando 12 linhagens provenientes de carpósporos. Ramificações de primeira ordem foram encontradas em todas as linhagens, com seu padrão ainda não definido. Ramificações de segunda ordem foram encontradas em 53% das linhagens, com predomínio de linhagens provenientes de tetrásporos (41%), seguido por linhagens provenientes de carpósporos (12%). A morfologia do talo sofreu alterações nesta fase do desenvolvimento, passando a ter predomínio de talos cilíndrico/achatados com 72% do total, seguido por talos achatados com 16% e talos cilíndricos com 12%. Nas linhagens provenientes de tetrásporos, 65% dos talos apresentaram morfologia cilíndrico/achatado, 25% com talos achatados e 10% com talos cilíndricos. Em linhagens provenientes de carpósporos, o predomínio de talos cilíndrico/achatados com 83% seguido por talos cilíndricos com 17%, não ocorrendo talos com a morfologia achatada. Soros de tetrasporângios foram observados em cinco linhagens (Figura 9 - LT02A; Figura 10 - LT03A; Figura 11 - LT05A, B e C). Nesta fase do desenvolvimento ocorreu a fixação de cinco linhagens, um esporófito (Figura 11 - LT05D) e quatro gametófitos (Figura 12 - LG06C; Figura 13 - LG07A e B; Figura 16 - LG10A), nas paredes dos Erlenmeyers por meio de disco de fixação secundária (DFS). Os DFS foram desprendidos na troca do meio de cultura.

Aos 30 dias de isolamento (60 dias após a liberação), 56% das linhagens apresentaram ramificações de terceira ordem, sendo mais expressiva nas linhagens gametofíticas com 37%. Parte das linhagens que possuía talos cilíndrico/achatados passaram a ter talos totalmente achatados, totalizando 53% de talos cilíndrico/achatados, 41% de talos achatados e 6% de talos cilíndricos. Dentre as linhagens esporofíticas, 92% dos talos eram cilíndrico/achatados e 8% cilíndricos. Esta proporção, entretanto, não se repete nas linhagens gametofíticas, onde 65% dos talos são achatados, 30% cilíndrico/achatados e 5% cilíndricos. Grande parte das linhagens esporofíticas apresentaram estruturas reprodutivas, e apenas as linhagens LT02B (Figura 9) e LT04A (Figura 10) não as apresentaram nesta fase do desenvolvimento. Dentre as

linhagens gametofíticas, uma apresentou cistocarpos espalhados em apenas uma de suas ramificações, sugerindo se tratar de uma planta monóica (Figura 14 - LG08B). Os DFS foram numerosos nesta fase do desenvolvimento, presentes em 66% das linhagens. Entre as linhagens gametofíticas, 75% apresentavam DFS e nas linhagens esporofíticas 50%.

Com 45 dias de isolamento (75 dias após a liberação), as ramificações de terceira ordem estavam presentes em 84% das linhagens, com predominância das linhagens gametofíticas com 62%, seguida por linhagens esporofíticas com 22%. Nesta fase do desenvolvimento o padrão de ramificação alterna, pinada e subdicotômica se tornaram evidentes. Diferenças nos ramos de última ordem passam a ser evidentes. Entre as linhagens esporofíticas todas apresentam ramos de última ordem cilíndricos afinando-se gradualmente, nas linhagens gametofíticas a grande maioria possui ramos de última ordem cilíndricos afinando-se gradualmente (Figura 12 - LG06A, B e D; Figura 13 - LG07B, C e D; Figura 14 - LG08B, C e D; Figura 15- LG09B, L09C e D; Figura 16 - LG10A, B, C e D), entretanto as linhagens LG06C (Figura 12), LG07A (Figura 13), LG08A (Figura 14) e LG09A (Figura 15) possuem ramificações de última ordem cilíndricas afinando-se abruptamente. Talos com formato cilíndrico/achatado são predominantes (56%), seguido por talos achatados (44%). Dentre as linhagens esporofíticas 100% possuem talos cilíndrico/achatados e nas linhagens gametofíticas 70% possuem talos achatados e 30% talos cilíndrico/achatados. O número de linhagens com estruturas reprodutivas não se alterou nesta fase do desenvolvimento em relação aos dados obtidos aos 30 dias de isolamento. Os dados de DFS obtiveram uma queda nesta fase do desenvolvimento, onde 53% das linhagens foram observadas com DFS. Entre as linhagens gametofíticas houve uma diminuição no número de linhagem que apresentavam DFS passando para 40%. Nas linhagens esporofíticas ocorreu um aumento passando para 75%.

Ao final dos 90 dias de cultivo (60 dias de isolamento) todas as linhagens apresentaram coloração predominante verde. As ramificações de terceira ordem estavam presentes em 97% das linhagens (34% das linhagens esporofíticas e 63% das linhagens gametofíticas), o surgimento de ramificações de quarta ordem foi registrado em 50% das linhagens, sendo mais predominante nas linhagens gametofíticas com 41%. O padrão de ramificação permaneceu inalterado, entretendo notou-se uma proliferação desordenada de novos talos nas regiões onde se

formaram os DFS. A morfologia do talo foi predominantemente achatada (56%) seguida por talos cilíndrico/achatados (47%), sendo que nas linhagens gametofíticas, 80% possuem talos achatados e 20% são cilíndrico/achatados. Nas linhagens esporofíticas predominou a morfologia de talos cilíndrico/achatados com 83% e talos achatados com 17% (Tabela 2). O número de linhagens que possuíam estruturas reprodutivas permaneceu inalterado. A ocorrência de DFS diminuiu para 31% das linhagens, entre as linhagens gametofíticas a ocorrência caiu para 50% e nas linhagens esporofíticas para 20% (Tabela 2).

As diferenças morfológicas não ocorreram apenas entre os estádios do ciclo de vida, mas também entre as linhagens do mesmo estágio com plantas mãe diferentes e com a mesma planta mãe.

Nas linhagens esporofíticas podem-se observar diferenças na quantidade de ramificações entre as linhagens de mesma planta mãe. Estas diferenças são observadas nas linhagens LT04A e B (Figura 10) e também nas linhagens LT05D e as demais da mesma planta mãe (LT05A, B e C) (Figura 11). A morfologia do talo era predominantemente cilíndrico/achatada neste estágio do ciclo de vida, entretanto duas linhagens provenientes de plantas mães diferentes tinham talos achatados (Figura 10 - LT04A; Figura 11 - LT05D). Nas linhagens gametofíticas as diferenças na quantidade de ramificações também podem ser observadas na linhagem LG06A em relação às outras linhagens da mesma planta mãe (LG06B, C e D) (Figura 12), na linhagem LG07D em relação às outras linhagens da mesma planta mãe (LG07A, B e C) (Figura 13) e na linhagem LG10C em relação às outras linhagens da mesma planta mãe (LG10A, B e D) (Figura 16).

Ao juntar os gametófitos no final do experimento foi possível identificar dentro das linhagens gametofíticas quais eram gametófitos femininos. Dentre as 20 linhagens, 12 apresentaram cistocarpos, sete permaneceram inférteis e 1 já tinha apresentado cistocarpos isolados sugerindo ser uma planta monóica (Tabela 2).



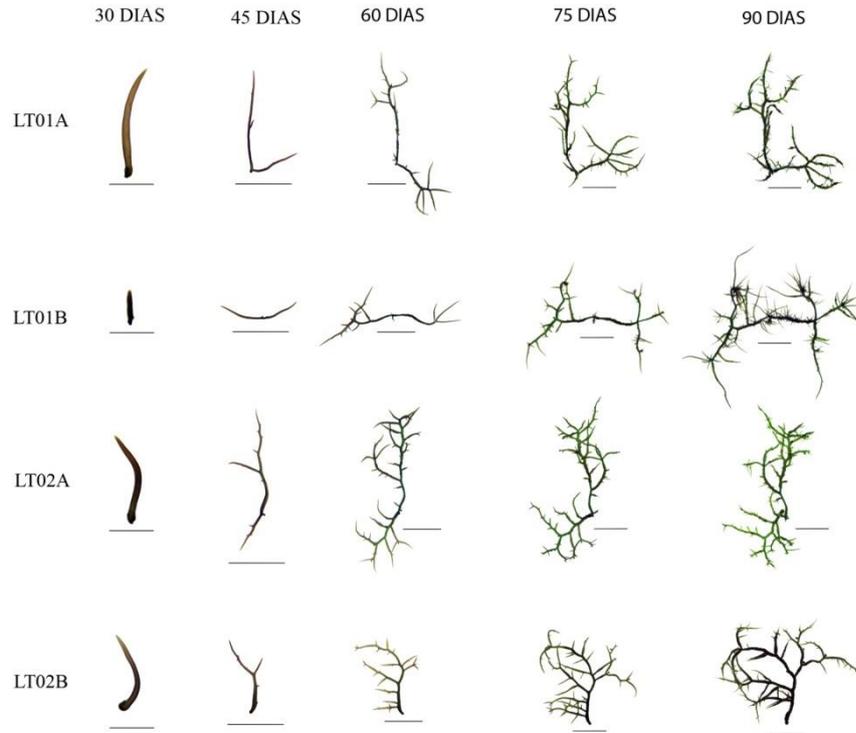


Figura 9 – Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de carpósporos liberados por dois indivíduos (01 e 02) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

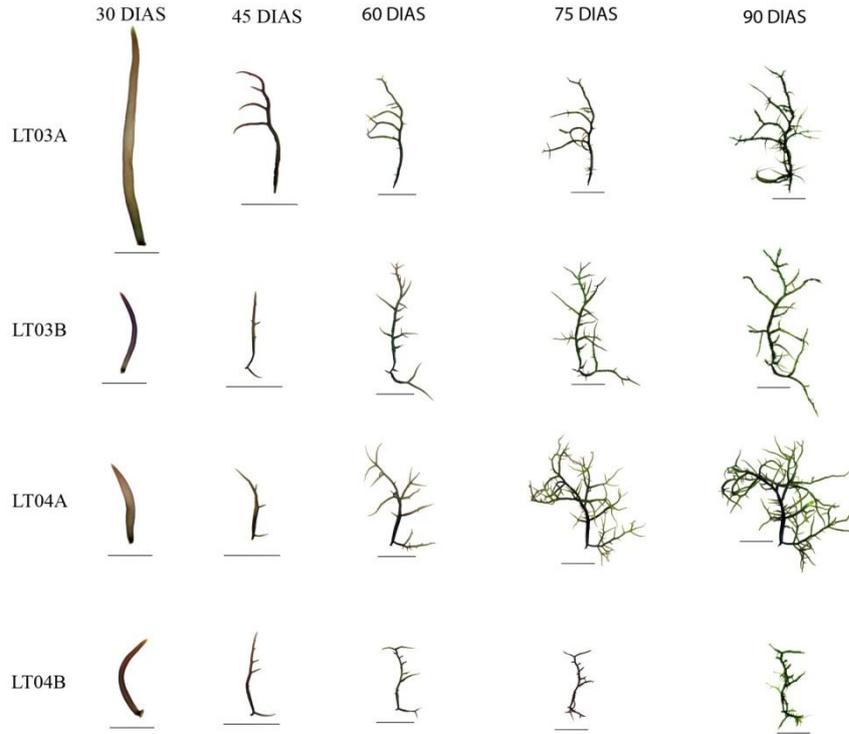


Figura 10 - Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de carpósporos liberados por dois indivíduos (03 e 04) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

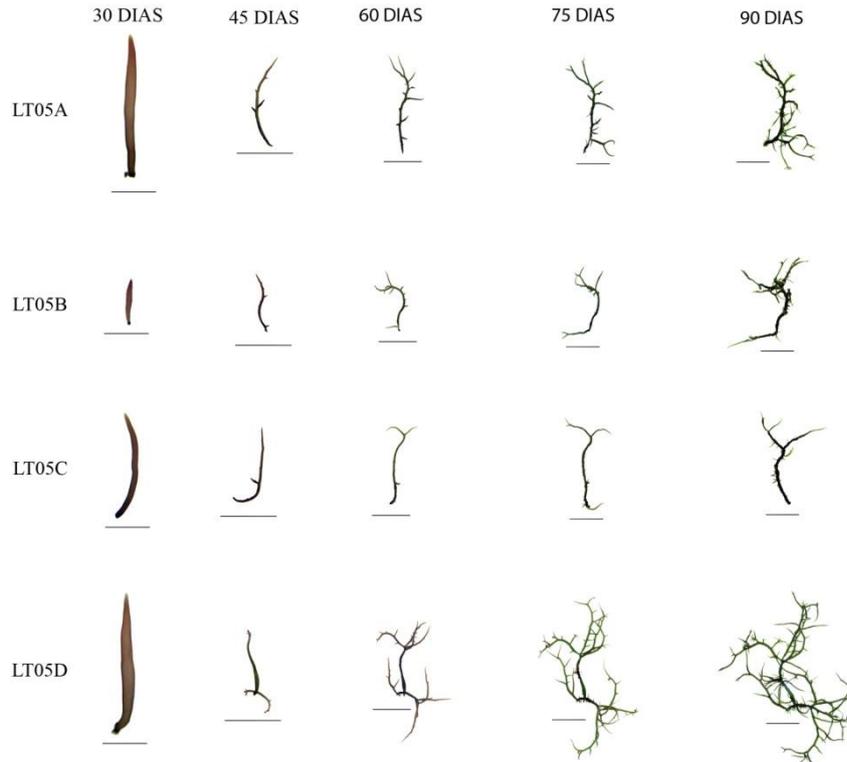


Figura 11 - Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de carpósporos liberados por um indivíduo (05) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

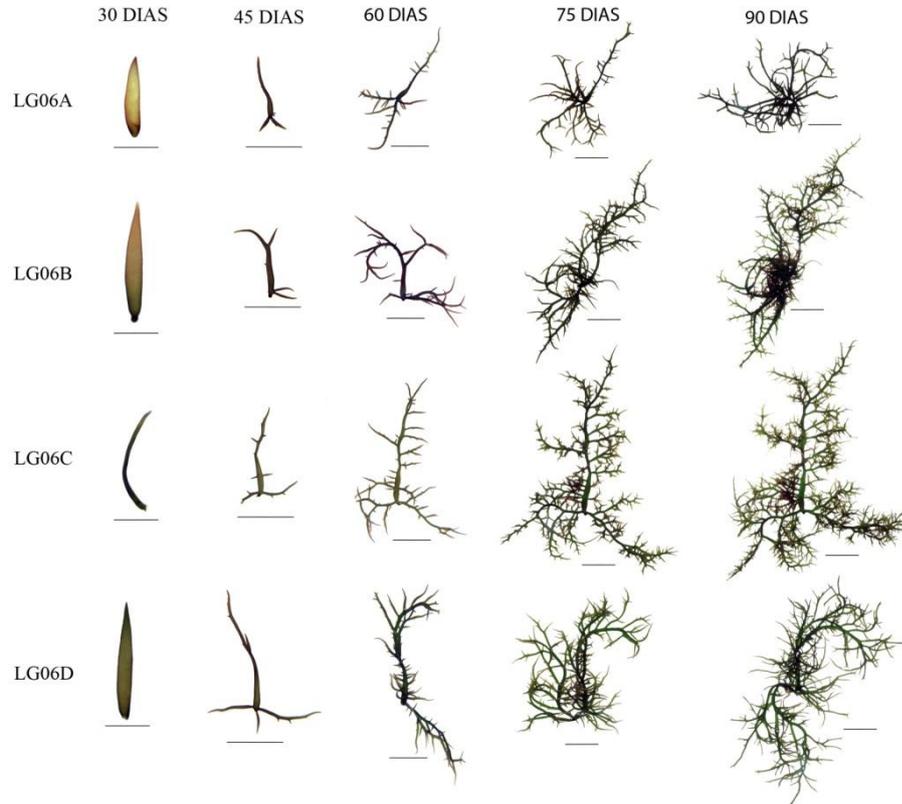


Figura 12- Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de tetrásporos liberados por um indivíduo (06) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

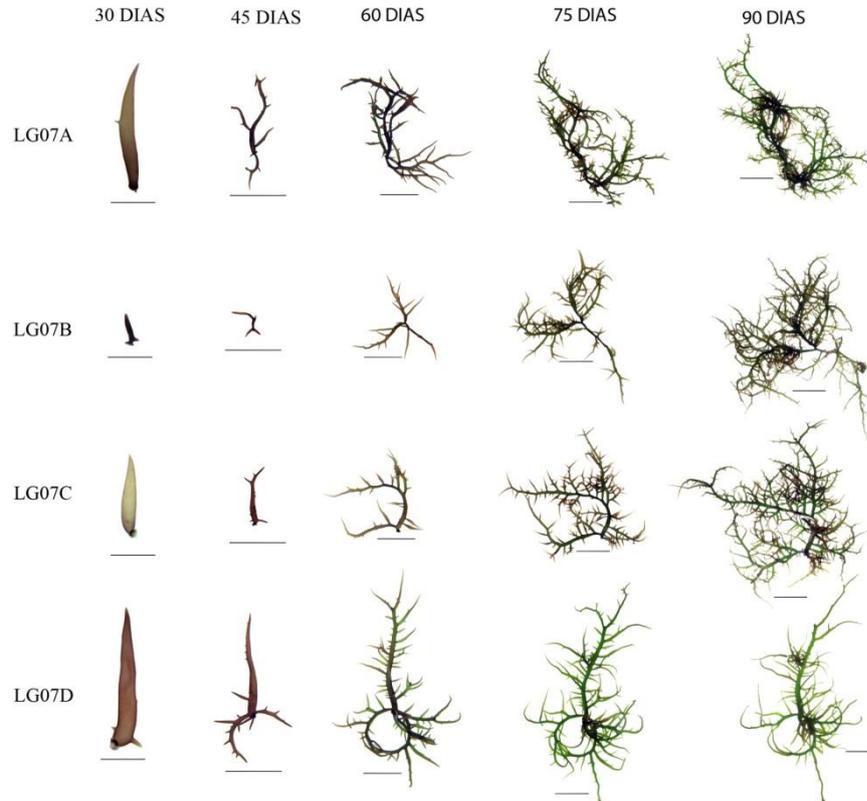


Figura 13 - Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de tetrásporos liberados por um indivíduo (07) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

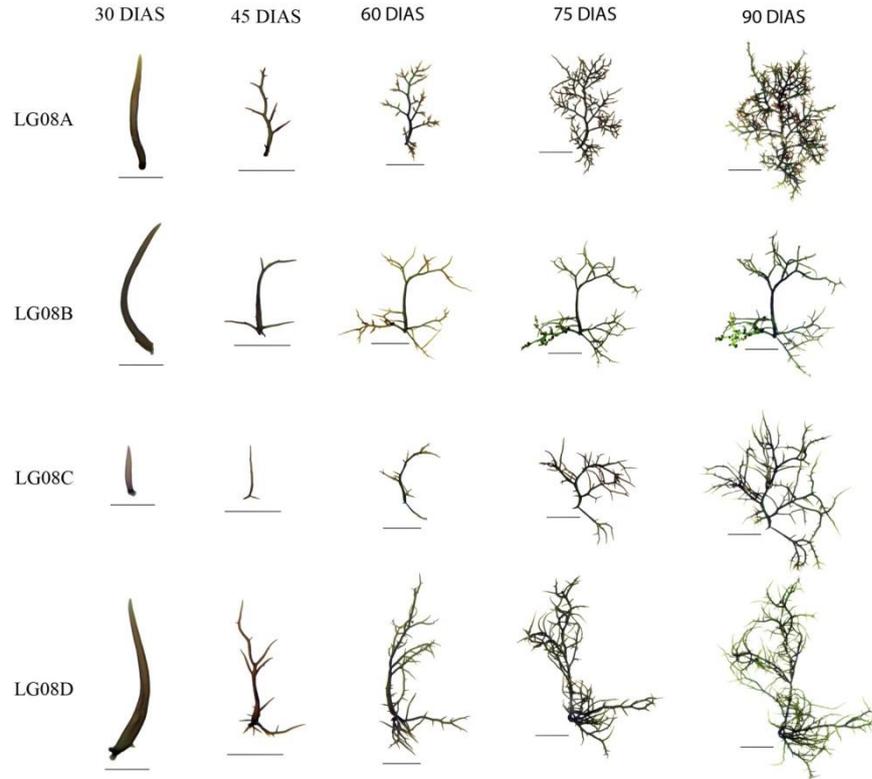


Figura 14 - Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de tetrásporos liberados por um indivíduo (08) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

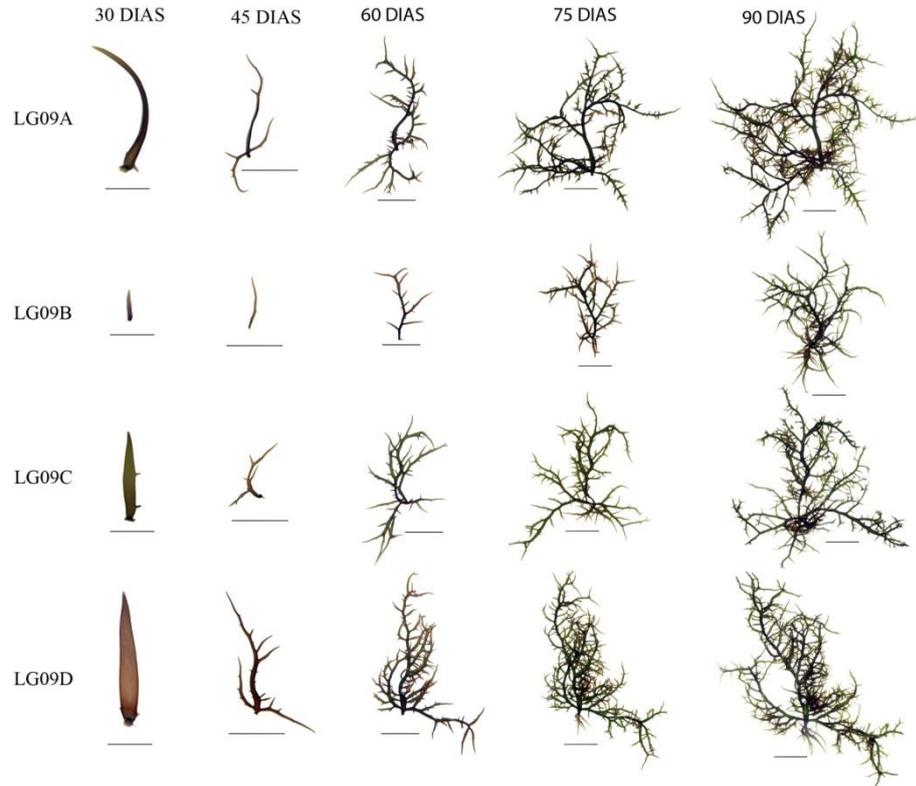


Figura 15 - Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de tetrásporos liberados por um indivíduo (09) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

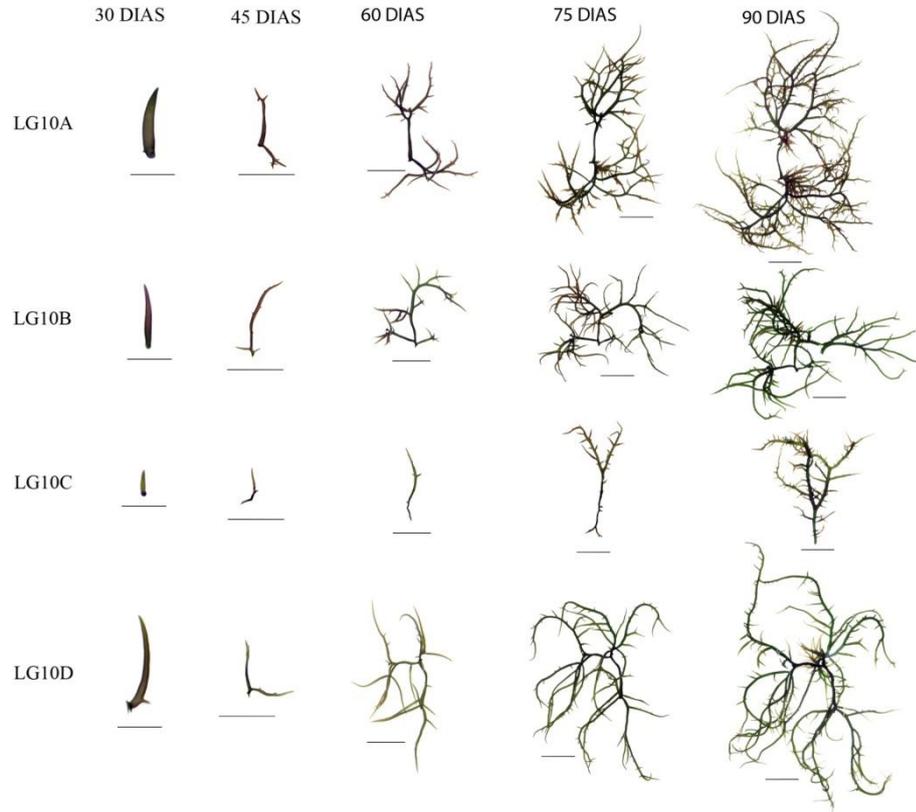


Figura 16 - Desenvolvimento morfológico de linhagens provenientes de tetrásporos liberados por um indivíduo (10) de *Chondracanthus teedei*. Barras = 2 mm para 30 dias e 1 cm para 45, 60, 75 e 90 dias.

Após 90 dias de cultivo (60 dias de isolamento) as linhagens apresentaram diferentes valores de TCRs, comprimento final e biomassa final. A média da TCR das linhagens gametofíticas foi de  $5,20 \pm 0,30\%$  dia<sup>-1</sup>, comprimento final de  $5,32 \pm 0,38\text{cm}$  e  $0,32 \pm 0,03\text{g}$  de biomassa final. Para linhagens esporofíticas a média da TCR foi de  $2,97 \pm 0,48\%$  dia<sup>-1</sup>, comprimento final foi de  $3,70 \pm 0,19\text{cm}$  e  $0,08 \pm 0,01\text{g}$  de biomassa (Tabela 2).

Ao analisarmos as médias das TCRs das linhagens por planta mãe podemos observar uma baixa variação, com maior média para a planta mãe de linhagens gametofíticas LG09 ( $5,62 \pm 0,66\%$  dia<sup>-1</sup>) e menor valor para a planta mãe de linhagens esporofíticas LT05 ( $1,99 \pm 0,84\%$  dia<sup>-1</sup>). Entre as plantas mães das linhagens esporofíticas a maior média foi de  $3,65 \pm 0,29\%$  dia<sup>-1</sup> para a planta mãe LT01 (Figura 17).

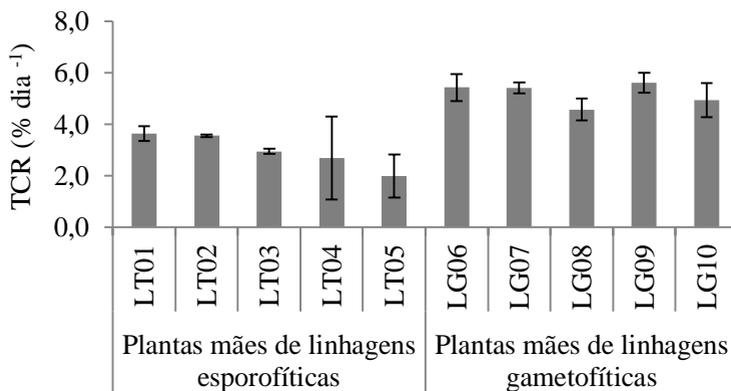


Figura 17 - Média das taxas de crescimento relativo (TCR) das linhagens de *Chondracanthus teedei* por planta mãe. n = 2 para L01, L02, L03 e L04. n = 4 para L05, L06, L07, L08, L09 e L10. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão.

Para os dados referentes ao comprimento final, a maior média foi observada para a planta mãe de linhagens gametofíticas LG10 com  $5,63 \pm 0,30\text{ cm}$ , com pequena diferença para LG09 ( $5,54 \pm 0,35\text{ cm}$ ), LG06 ( $5,49 \pm 0,51\text{ cm}$ ) e L07 ( $5,39 \pm 0,43\text{ cm}$ ). A menor média de comprimento final foi para a planta mãe de linhagens esporofíticas LT04 com  $2,92 \pm 0,33\text{ cm}$ . Entre as plantas mãe das linhagens esporofíticas a maior média foi de  $4,50 \pm 0,38\%$  dia<sup>-1</sup> para a planta mãe LT02 (Figura 18).

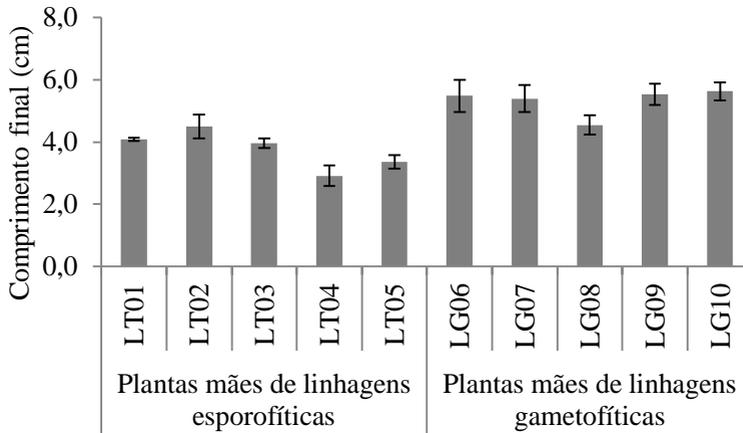


Figura 18 - Média do comprimento final (cm) das linhagens de *Chondracanthus teedei* por planta mãe. n = 2 para L01, L02, L03 e L04. n = 4 para L05, L06, L07, L08, L09 e L10. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão.

As médias de biomassa final demonstram uma variação entre as plantas mães gametofíticas das esporofíticas, com as médias das plantas mães de linhagens gametofíticas 25% maiores que as médias das plantas mães de linhagens esporofíticas (Tabela 2). A maior média foi observada na planta mãe de linhagens gametofíticas LG06 ( $0,38 \pm 0,09$  g) com pequena diferença para LG07 e LG09 com  $0,36 \pm 0,05$  g e  $0,36 \pm 0,07$  g respectivamente. A menor média foi observada para a planta mãe de linhagens esporofíticas LT03 ( $0,06 \pm 0,03$  g). Entre as plantas mães de linhagens esporofíticas as maiores médias foram de  $0,11 \pm 0,02$  g e  $0,11 \pm 0,01$  g para as plantas mães LT01 e LT02 respectivamente (Figura 19).

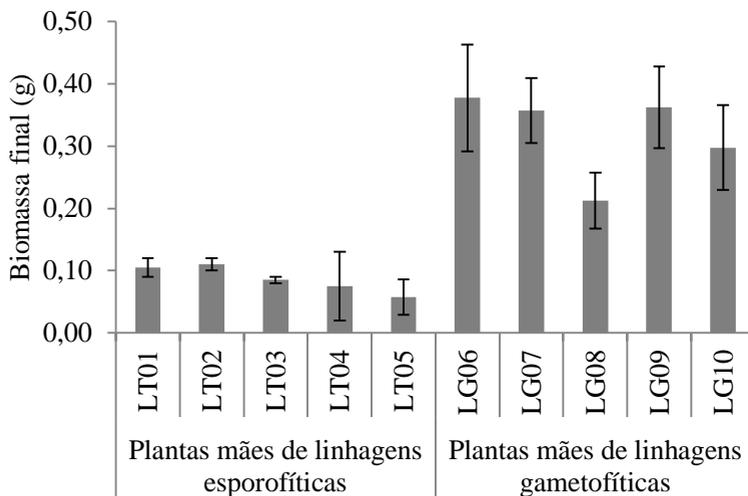


Figura 19 - Média da biomassa final (g) das linhagens de *Chondracanthus teedei* por planta mãe. n = 2 para L01, L02, L03 e L04. n = 4 para L05, L06, L07, L08, L09 e L10. Cada valor corresponde à média ± erro padrão.

Em relação aos valores de TCRs, para as linhagens gametofíticas, os mesmos variaram entre 3,11% dia-1 (LG08B) e 6,32% dia-1 (LG10C), enquanto nas linhagens esporofíticas os valores variaram entre 0,28% dia-1 (LT05B) e 4,32% dia-1 (LT04A) (Figura 20 e Tabela 2).

Os dados de biomassa tiveram uma variação de 21% entre as linhagens gametofíticas, com maior valor de 0,52 g para a linhagem LG06C e menor valor para a linhagem LG10C com 0,11 g. Esta variação foi menor para as linhagens esporofíticas (14%) com maior valor para a linhagem LT05D (0,14 g) e menor valor para linhagem LT04B (0,02 g) (Figura 20 e Tabela 2).



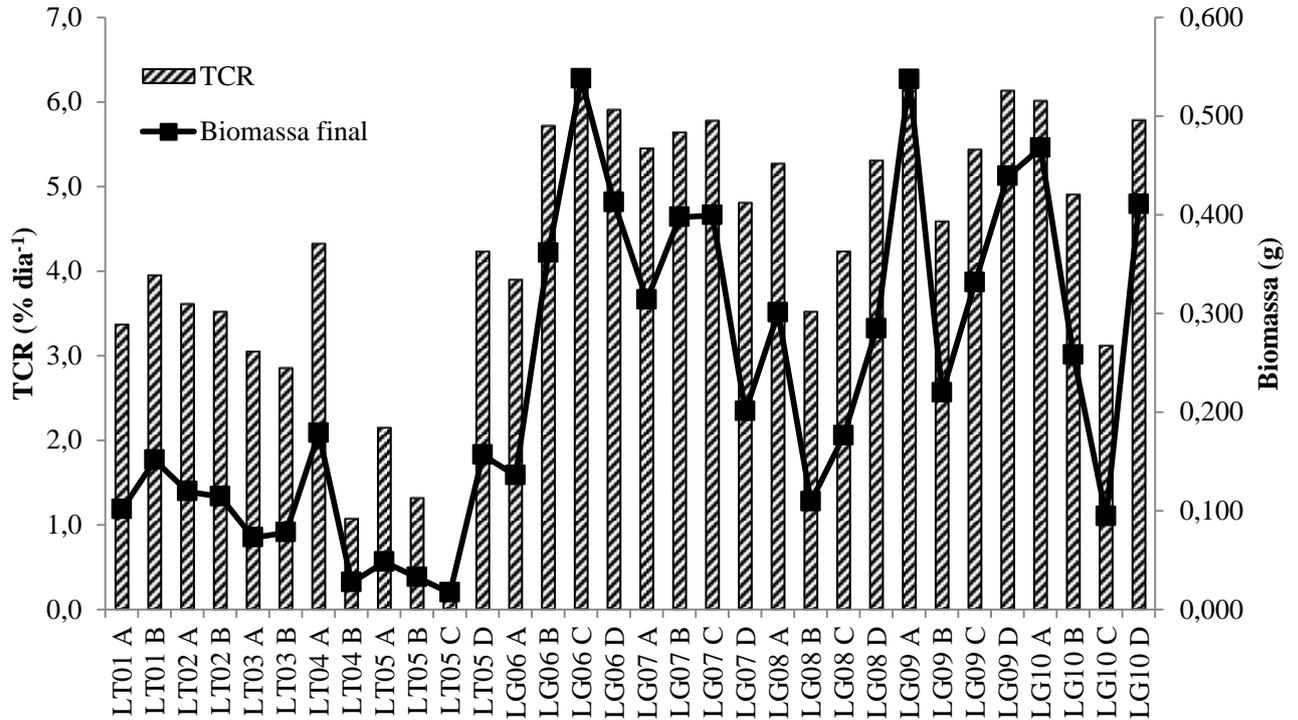


Figura 20 – Valores de taxa de crescimento relativo (% dia<sup>-1</sup>) e biomassa (g) de 32 linhagens de *Chondracanthus teedei* cultivadas por 90 dias (60 dias de isolamento).

**Tabela 2 – Dados morfológicos e reprodutivos de diferentes linhagens, obtidas a partir da germinação de carpósporos e tetrásporos de *Chondracanthus teedei* cultivados por 90 dias (60 dias de isolamento).**

Planta mãe	Linhagem	Morfologia do talo	Comprimento inicial (cm)	Comprimento final (cm)	Biomassa Inicial (g)	Biomassa final (g)	TCR (% dia <sup>-1</sup> )	Estrutura reprodutiva	DFS
G. feminino	LT01A	C/A	0,53	4,04	0,014	0,09	3,36	T	sim
G. feminino	LT01B	C/A	0,16	4,14	0,015	0,12	3,94	T	sim
G. feminino	LT02A	C/A	0,43	4,12	0,014	0,1	3,61	T	sim
G. feminino	LT02B	C/A	0,4	4,87	0,014	0,12	3,52	I	sim
G. feminino	LT03A	C/A	1,03	4,11	0,012	0,08	3,04	T	sim
G. feminino	LT03B	C/A	0,41	3,8	0,014	0,09	2,85	T	sim
G. feminino	LT04A	A	0,39	3,25	0,014	0,13	4,32	I	sim
G. feminino	LT04B	C/A	0,43	2,59	0,014	0,02	1,07	T	sim
G. feminino	LT05A	C/A	0,63	3,26	0,013	0,05	2,15	T	sim
G. feminino	LT05B	C/A	0,21	2,92	0,015	0,02	1,31	T	sim
G. feminino	LT05C	C/A	0,52	3,29	0,014	0,02	0,28	T	não
G. feminino	LT05D	A	0,66	3,98	0,013	0,14	4,23	T	sim
Tetrasporófito	LG06A	A	0,38	4,02	0,014	0,13	3,9	I	sim
Tetrasporófito	LG06B	A	0,55	6,4	0,013	0,4	5,71	C	não
Tetrasporófito	LG06C	A	0,51	5,83	0,014	0,52	6,23	C	sim
Tetrasporófito	LG06D	A	0,53	5,7	0,013	0,46	5,9	C	sim
Tetrasporófito	LG07A	A		6,1	0,013	0,42	5,44	C	sim
Tetrasporófito	LG07B	A	0,15	4,2	0,015	0,44	5,63	C	sim

Tetrasporófito	LG07C	A	0,39	5,97	0,014	0,36	5,77	C	sim
Tetrasporófito	LG07D	A	0,66	5,3	0,012	0,21	4,8	C	sim
Tetrasporófito	LG08A	A	0,54	4,58	0,014	0,28	5,26	C	sim
Tetrasporófito	LG08B	C/A	0,66	3,97	0,014	0,14	3,52	M	sim
Tetrasporófito	LG08C	C/A	0,23	4,24	0,015	0,13	4,22	I	sim
Tetrasporófito	LG08D	A	0,76	5,4	0,013	0,3	5,31	I	sim
Tetrasporófito	LG09A	A	0,7	5,94	0,014	0,51	6,32	C	sim
Tetrasporófito	LG09B	C/A	0,15	4,5	0,015	0,22	4,58	I	sim
Tetrasporófito	LG09C	A	0,41	5,8	0,014	0,29	5,44	C	não
Tetrasporófito	LG09D	A	0,61	5,9	0,012	0,43	6,13	C	sim
Tetrasporófito	LG10A	A	0,34	6,04	0,014	0,42	6,01	I	sim
Tetrasporófito	LG10B	A	0,29	5,7	0,015	0,29	4,9	I	sim
Tetrasporófito	LG10C	A	0,12	4,77	0,015	0,11	3,11	C	não
Tetrasporófito	LG10D	C/A	0,45	6	0,014	0,37	5,78	I	sim

Em Morfologia do talo – C/A = Cilíndrico/achatado; A = Achatado. Em Estrutura reprodutiva – T = tetrasporângios C = cistocarpos; I = infértil e M = monóica.



#### 4.4. EXPERIMENTO DE TEMPERATURA

Os resultados demonstraram que após 28 dias de cultivo todas as linhagens utilizadas cresceram nos tratamentos experimentais (Figura 21 e 22). A temperatura mostrou influência significativa (Tabela 3) sobre as TCRs das linhagens utilizadas com os maiores valores para plantas cultivadas na temperatura de 25°C (Figura 22).

Os maiores valores de biomassa foram obtidos na temperatura de 25°C, com  $0,07 \pm 0,005$  g para linhagem LG09B, seguida pela linhagem LG10C com biomassa de  $0,06 \pm 0,008$  g, LG07B com biomassa de  $0,02 \pm 0,006$  g e LG08C com  $0,01 \pm 0,0007$  g (Figura 21). As linhagens LG07B e LG09B obtiveram valores de biomassa maiores na temperatura de 15°C ( $0,005 \pm 0,0008$  g e  $0,03 \pm 0,003$  g), em relação à temperatura de 30°C ( $0,002 \pm 0,001$  g e  $0,001 \pm 0,0002$  g), o mesmo não ocorreu com as linhagens LG08C e LG10C, onde as biomassas foram maiores na temperatura de 30°C ( $0,019 \pm 0,001$  g e  $0,019 \pm 0,005$  g), em relação à temperatura de 15°C ( $0,012 \pm 0,001$  g e  $0,007 \pm 0,0009$  g) (Figura 21).

As TCRs foram maiores na temperatura de 25°C, com maior valor para a linhagem LG10C com  $5,78 \pm 0,58\%$  dia<sup>-1</sup>, seguida pela linhagem LG09B com TCR de  $5,54 \pm 0,24\%$  dia<sup>-1</sup>, LG07B com TCR de  $4,10 \pm 0,52\%$  dia<sup>-1</sup> e LG08C com TCR de  $1,93 \pm 0,12\%$  dia<sup>-1</sup>. Diferenças significativas (Tabela 3) foram encontradas entre as linhagens LG07B, LG08C LG10C, não sendo significativo (Tabela 3) entre as linhagens LG09B e LG10C (Figura 22).

Dentre as linhagens cultivadas a 15°C, a linhagem LG09B obteve maior biomassa com  $0,03 \pm 0,003$  g e TCR com  $3,50 \pm 0,50\%$  dia<sup>-1</sup> seguida pela linhagem LG08C  $0,01 \pm 0,001$ g e TCR com  $1,99 \pm 1,07\%$  dia<sup>-1</sup>, LG10C  $0,007 \pm 0,0009$  g e pela linhagem LG07B com  $0,005 \pm 0,0008$  g. As linhagens LG07B e LG10C não apresentaram valores de TCR. Os resultados não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3) (Figura 22).

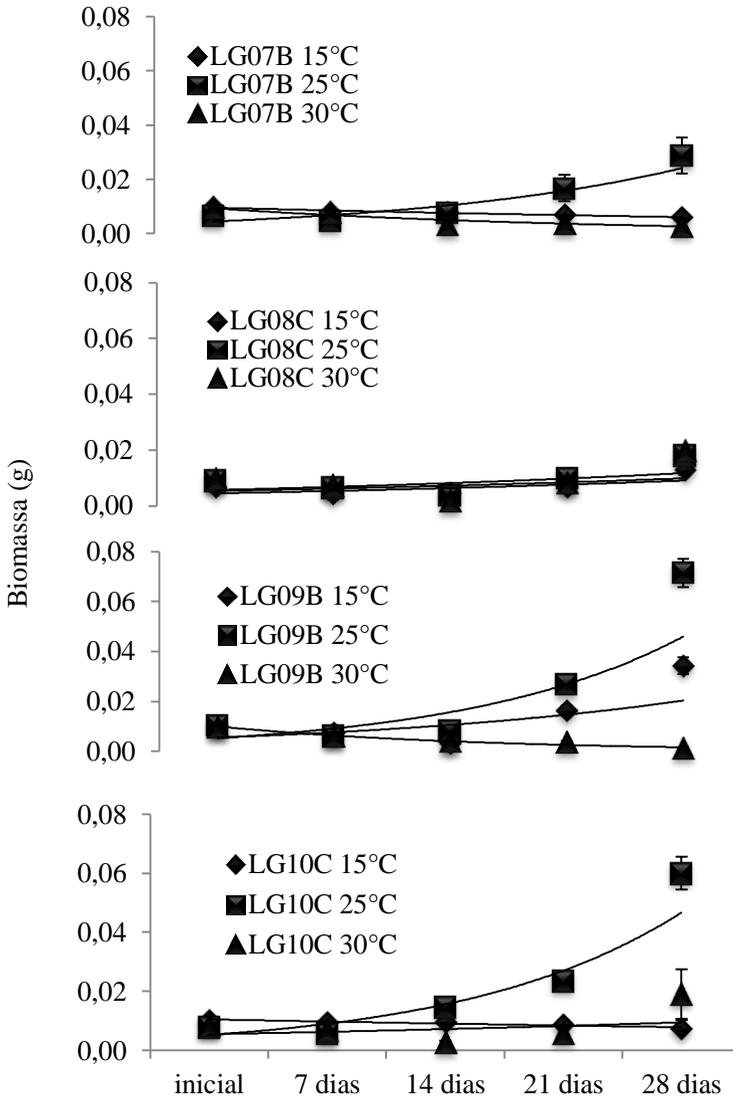


Figura 21 - Efeito da temperatura (15, 25 e 30°C) na biomassa (g) de diferentes linhagens (LG07B, LG08C, LG09B e LG10C) de *Chondracanthus teedei* após 28 dias de cultivo. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão (n = 3). Linhas correspondem à linha de tendência.

Nas linhagens cultivadas a 30°C, as linhagens LG08C e LG10C obtiveram as maiores biomassas com  $0,019 \pm 0,001$  g e  $0,019 \pm 0,005$  g respectivamente, com TCR de  $2,01 \pm 0,18\%$  dia<sup>-1</sup> para LG08C e TCR com  $1,93 \pm 0,73\%$  dia<sup>-1</sup> para LG10C. A linhagem L07B apresentou biomassa de  $0,002$  g  $\pm$   $0,001$  g e a linhagem LG09B com  $0,0013 \pm 0,0002$  g.

As linhagens LG07B e LG9B não apresentaram valores de TCR. Os resultados não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3/Tabela 3).

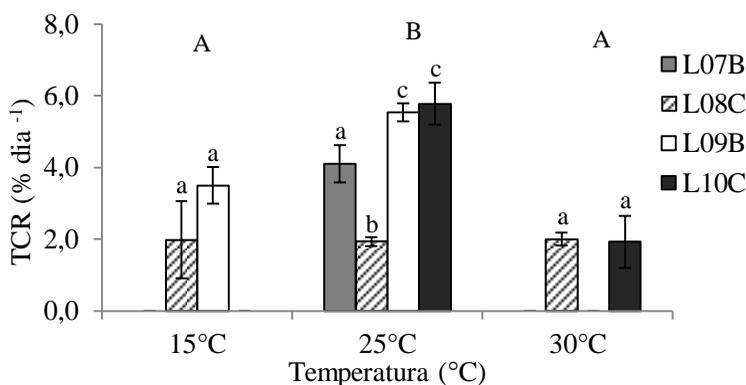


Figura 22 – Efeito da temperatura (15, 25 e 30°C) na taxa de crescimento (% dia<sup>-1</sup>) de diferentes linhagens gametofíticas (LG07B, LG08C, LG09B e LG10C) de *Chondracanthus teedei* após 28 dias de cultivo. Cada valor corresponde à média  $\pm$  erro padrão (n = 3). As letras indicam tratamentos significativamente diferentes segundo o teste de Student-Newman-Keuls (p < 0,05) (letras minúsculas correspondem às diferenças entre as linhagens; letras maiúsculas correspondem às diferenças entre as temperaturas).

Tabela 3 - Análise de variância bifatorial da taxa de crescimento de quatro linhagens gametofíticas de *Chondracanthus teedei* após 28 dias de cultivo em diferentes temperaturas (15, 25 e 30° C). Em negrito, diferenças significativas.

Efeito	Graus de Liberdade	F	P
Temperatura	2	60,6226	<b>0,000000</b>
Linhagem	3	6,9064	<b>0,001633</b>
Interação Te X Li	6	12,9583	<b>0,000002</b>



## 5. DISCUSSÃO

Estudos sobre a liberação, germinação e desenvolvimento dos esporos são de grande importância para o entendimento das proporções entre os estádios do ciclo de vida na natureza, e fornecem dados relevantes para a formação de pacotes tecnológicos que viabilizam o cultivo de espécies com importância econômica.

Neste trabalho o padrão de desenvolvimento inicial dos esporos de *Chondracanthus teedei* corresponde ao encontrado por Guiry (1984) e Braga (1985), para a mesma espécie. O mesmo padrão é encontrado em outras espécies do gênero *Chondracanthus* (West & Guiry 1982; Guiry & Cunningham 1984; Sylvester & Waaland 1984; Avila et al. 2010). Diferenças nos primeiros estágios do desenvolvimento também foram encontradas por Braga (1985) para a espécie estudada (citada como *Gigartina teedii*), Sylvester & Waaland (1984) para *C. exasperatus* (citada como *Gigartina exasperata* Harvey & J.W.Bailey), Chen & Taylor (1976) para *Chondrus crispus* Stackhouse e Plastino & Oliveira Filho (1988) para *Gracilaria sp.*. Estas alterações no desenvolvimento podem estar ligadas ao substrato com baixa aderência na superfície e à densidade de esporos em cultura (Chen & Taylor 1976; Sylvester & Waaland 1984).

Guiry (1984) e Braga (1985) observaram a formação de pelos hialinos nos disco de germinação e sua persistência até as plantas jovens de *C. teedei*; entretanto, só encontramos pelos hialinos durante a formação do disco de germinação, os quais desapareceram quando ocorreu a formação do eixo ereto. O mesmo padrão foi observado por West & Guiry (1982) para *C. squarulosus* (Setchell & N.L.Gardner) J.R.Hughey, P.C.Silva & Hommersand (citado como *Gigartina johnstonii* E.Y. Dawson). Segundo Rueness et al. (1987), a formação e o desaparecimento dos pelos hialinos podem estar relacionados com a disponibilidade de nutrientes dissolvidos no meio.

O tempo decorrido entre a liberação dos esporos e o surgimento do eixo ereto foi de 4 ou 5 dias, enquanto, Guiry (1984) e Braga (1985) relatam o surgimento do eixo ereto após 18 a 45 dias de cultivo in vitro para a mesma espécie e Avila et al. (2010), somente após 30 dias de cultivo, para *C. chamissoi*. Esta diferença no tempo de desenvolvimento se deu, provavelmente, pelas diferenças nos parâmetros utilizados no cultivo, necessitando de estudos detalhados para conhecer a influências dos parâmetros abióticos e suas influências no desenvolvimento. Pacheco-Ruíz et al. (2011), por exemplo, observaram influência significativa da temperatura e irradiância no desenvolvimento de

carpósporos e nenhum efeito sobre os tetrásporos de *C. squarulosus*. Para *C. chamissoi*, Gonzalez & Meneses (1996) encontraram valores ótimos diferentes para cada estágio do ciclo de vida, com maior crescimento para esporófitos (provenientes de carpósporos) na temperatura 20°C e 90  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e para gametófitos (provenientes de tetrásporos) na temperatura de 15°C e 90  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Estudos comparativos entre os estádios do ciclo de vida são frequentes na literatura, (Gonzalez & Meneses 1996; Pereira & Mesquita 2004; Barufi et al. 2010; Ramlov et al. 2012) Tais diferenças são atribuídas aos fatores ambientais (salinidade, temperatura, irradiação, herbivoria) e/ou surgem como resultado de diferentes pressões de seleção transformando-as em vantagens adaptativas específicas para cada fase (Hannach & Santelices 1985).

A liberação, germinação e o desenvolvimento dos esporos podem ser influenciados por diversos fatores bióticos e abióticos (Rao & Kaliaperumal 1983; Agrawal 2009). Os efeitos destes fatores sobre a produção de esporos é de considerável interesse, tanto para o entendimento dos aspectos ecológicos como para a produção de espécies de interesse econômico. Neste trabalho, foi observada a predominância significativa do gametófito feminino em relação ao tetrasporófito no número de esporos liberados por grama de talo fresco; entretanto, não foi possível quantificar o número de estruturas reprodutivas por grama de talo fresco, devido à dificuldade de quantificar os soros tetrasporangiais que não se distribuem de maneira uniforme. Pacheco-Ruíz et al. (2011) ao analisarem o número de tetrasporângios e cistocarpos por grama de talo fresco durante 12 meses, encontraram os maiores valores na primavera, sem diferenças significativas entre os estádios do ciclo de vida durante os 12 meses. A predominância do estágio gametófito feminino portando cistocarpos em relação ao tetrasporófito no número de esporos liberados também foi constatada para *C. squarulosus*, *Bostrychia tenella* (J.V. Lamouroux) J. Agardh, *Caloglossa leprieurii* (Montagne) G.Martens e *Chondrus crispus* (Bhattacharya 1985; Narasimha Rao & Umamaheswara Rao 1991; Pacheco-Ruíz et al. 2011).

Não foram encontradas diferenças significativas na germinação dos esporos e no crescimento dos discos de fixação das plântulas entre os estádios do ciclo de vida de *C. teedei*. Bulboa et al. (2008a) e Pacheco-Ruíz et al. (2011) analisaram as taxas de germinação de populações de *C. chamissoi* e *C. squarulosus* do Chile e do México respectivamente, durante as quatro estações do ano e obtiveram as maiores taxas de germinação durante o verão, com 55% para carpósporos e 63% para

tetrásporos em *C. chamissoi*; e, na primavera, com 31% para gametófito e 70% para tetrásporos de *C. squarulosus*. Bulboa et al. (2008a) analisaram também as taxas de crescimento ao longo das estações do ano e encontraram os maiores valores para carpósporos ( $9,3 \pm 0,2$  % dia<sup>-1</sup>) e tetrásporos ( $8,4 \pm 0,3$  % dia<sup>-1</sup>), ambos na primavera. Para *C. teedei*, observamos maior taxa de germinação para carpósporos (32%) e menores para tetrásporos (29%) no inverno. As taxas de crescimento foram similares entre os estádios, com  $12,12 \pm 0,50$ % dia<sup>-1</sup> para gametófito e  $12,13 \pm 1,62$ % dia<sup>-1</sup> para tetrasporófito.

As diferenças encontradas na morfologia, cor, tamanho, taxas de crescimento e biomassa final entre os estádios do ciclo de vida, entre indivíduos do mesmo estágio do ciclo de vida e entre indivíduos provenientes da mesma planta mãe no início do desenvolvimento, se mantiveram por 90 dias de cultivo em laboratório. Esta variação fenotípica encontrada neste trabalho para *C. teedei* ocorreu, provavelmente, devido à variabilidade genética entre os indivíduos. Santelices & Varela (1993) ao estudar a plasticidade fenotípica da *Gracilaria chilensis* C.J. Bird, McLachlan & E.C. Oliveira observaram que as variações fenotípicas ocorreram em indivíduos geneticamente iguais de duas formas: a primeira, entre indivíduos cultivados a partir dos esporos liberados pelo mesmo cistocarpo, e a segunda, em ramos derivados de um único indivíduo e cultivados nas mesmas condições. Os autores afirmam que estas variações podem ocorrer devido a diversos fatores como os microambientais e os genéticos (mutações, recombinações mitóticas e elementos geneticamente instáveis), afetando a replicabilidade do sistema de ramificação.

*Chondracanthus teedei* apresenta predomínio de talos cilíndrico/achatados em plantas esporofíticas e talos achatados em plantas gametofíticas. Dentre as plantas gametofíticas os indivíduos que não apresentaram cistocarpos (possivelmente indivíduos masculinos) tinham talos cilíndrico/achatados. Macroscopicamente pode-se observar também uma variação na densidade de ramificação de acordo com o estágio do ciclo de vida e entre gametófitos com cistocarpos e gametófitos inférteis. Gametófitos femininos possuem uma ramificação densa e, muitas vezes, com ramos de última ordem afinando-se abruptamente. Gametófitos inférteis apresentaram-se menos ramificados quando comparados com gametófitos com cistocarpos, porém mais ramificados quando comparados com plantas esporofíticas. Essas algas possuíam ramos de última ordem afinando-se gradualmente para os ápices como em plantas tetrasporofíticas. Braga (1985) também encontrou variações no tipo de ramificação entre gametófito feminino,

gametófito masculino e plantas esporofíticas. Cordeiro-Marino (1978) encontrou, em indivíduos de *C. teedei* (citados como *Gigartina teedii*) coletados em Santa Catarina, o talo principal achatado e com ramos de última ordem cilíndricos e afinando-se gradualmente. Joly (1965) descreve os indivíduos de *C. teedei* (citado como *Gigartina teedii*) coletados no litoral norte do estado de São Paulo e regiões circunvizinhas, como sendo plantas de talo principal achatado e cilíndrico na base e nos ramos de última ordem. Nossos resultados se assemelham aos obtidos por Paula et al. (1999) em seu estudo sobre seleção de linhagens a partir de tetrásporos de *Kappaphycus alvarezii*, onde foi encontrado grande variabilidade no tamanho, cor, morfologia e crescimento dos indivíduos. As linhagens selecionadas pelos referidos autores apresentaram biomassas úmidas após 10 meses de cultivo entre 0,01 e 18,05 gramas, mostrando grande variabilidade entre progênes e refletindo recombinação genética esperada entre esporos meióticos.

O surgimento das estruturas reprodutivas nas linhagens esporofíticas após 45 dias de cultivo também foi reportado por Braga (1985) para *C. teedei*.

Era esperada uma redução na taxa de crescimento e na biomassa final dos indivíduos que apresentaram estruturas reprodutivas durante o período do experimento, devido à alocação de parte da energia do metabolismo para o desenvolvimento e liberação dos esporos, o que não ocorreu em nossos experimentos. Observamos que indivíduos inférteis possuíram taxa de crescimento e biomassa final semelhante aos indivíduos que apresentaram estruturas reprodutivas. Dentre as linhagens gametofíticas, a menor taxa de crescimento foi registrada para a única linhagem que apresentou cistocarpos (linhagem monóica).

A seleção de indivíduos inférteis ou com desenvolvimento de estruturas reprodutivas retardadas é considerada uma das alternativas para o aumento significativo da produção através do crescimento vegetativo, eliminando assim o gasto de energia para a produção de estruturas reprodutivas (Merrill & Waaland 1979).

O surgimento de plantas monóicas em Rhodophytas é conhecido da literatura (ver West e Guiry (1982) e Meer (1990) e pode ser resultados de diversos fatores, como coalescência de esporos em germinação, recombinação mitótica e mutação (Oliveira et al. 2000). Plantas monóicas de *C. teedei* foram registradas inicialmente por Braga (1985) no ambiente natural e em cultivos de laboratório, tendo uma baixa frequência.

Embora não tenha sido quantificado o número de discos de fixação secundária (DFS) por linhagem, 87,5% dos indivíduos apresentaram em

algun momento do desenvolvemento esta estrutura. A formación dos discos de fixación secundária auxilia na renovación das poboacións por meio da formación de novas frondes, proporcionando una maior capacidade de ocupar substratos dispoñíbeis e una maior persistencia da poboación quando as condicións non son favorábeis (Braga 1990; Pacheco-Ruíz et al. 2005). Em *Chondracanthus chamissoi*, Fonck et al. (2007) observaram maiores cantidades de DFS formados em substratos calcários em relación ao substrato rochoso. Otaíza & Fonseca (2011) tamén obtiveram maiores cantidades de DFS quando adicionado ao meio de cultura cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ). Segundo os autores, alé da maior rugosidade encontrada nos substratos calcários, o que facilita a fixación dos ramos, o cálcio dissolvido pode agir como um indutor químico para a formación dos DFS. Fonck et al. (2007) observaram tamén una maior fixación secundária em *C. chamissoi* em irradiâncias entre 10 e 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e una diminución com o aumento do tempo à deriva dos talos. Bulboa et al. (2005) relataram a formación dos DFS em substratos artificiais durante cultivos experimentais no Chile com *C. chamissoi*, proporcionando una melhor fixación das algas e evitando perdas no cultivo.

Os dados obtidos demostraram una baixa variabilidade entre as médias de taxa de crecemento, comprimento e biomassa das linhagens por planta mãe de cada estágio do ciclo de vida. Apesar das plantas mães serem coletadas no mesmo ambiente, embora espacialmente separados, non é possível garantir, no caso das plantas mães tetrasporófitas, que as mesmas non sejam geneticamente idênticas, por serem geradas de carpósporos derivados do mesmo cistocarpo. Era esperada tamén una maior variabilidade entre as médias das linhagens provenientes de tetrásporos, debido sua formação por meiose, o que non foi observado. Non se pode descartar una baixa variabilidade genética da poboación onde coletamos os espécimes para nossos experimentos, o que precisa ser confirmado por estudos específicos. Braga (1985) observou em una poboación de *C. teedei* de Itanhaém que, embora exista reprodução por meio dos esporos, a reprodução vegetativa parece ser mais frequente e fundamental para a manutenção desta poboación. Pacheco-Ruíz & Zertuche-González (1999) tamén afirmam que a reprodução vegetativa é una estratégia de reprodução utilizada pela espécie *C. squarulosus* (Setchell & N.L. Gardner) J.R. Hughey, P.C.Silva & Hommersand (citada como *C. pectinatus* (E.Y. Dawson) L.E. Aguilar-Rosas & R. Aguilar-Rosas) principalmente em períodos críticos.

A seleção de linhagens, estratégia básica na produção comercial, é guiada pela finalidade que se pretende dar ao produto final, podendo variar na forma (tamanho, peso, ramificação), coloração, composição (composição nutricional, rendimento de ficocolóides, rendimento de outros compostos químicos de interesse).

Analisando-se as linhagens individualmente é possível verificar uma grande variabilidade nas TCRs e biomassa entre as linhagens e entre os estádios do ciclo de vida. As maiores médias de TCRs e biomassa final foram obtidas com linhagens gametofíticas. Isto é importante porque são as linhagens de maior interesse das indústrias que trabalham na extração de carragenanas por apresentar carragenanas da família *kappa* (gelificantes). As linhagens esporofíticas que apresentaram TCRs acima da média são interessantes podendo ser utilizadas como plantas mães de uma nova seleção de linhagens, com o objetivo de selecionar linhagens gametofíticas com TCRs mais elevadas.

A temperatura é um importante fator limitante e pode alterar a reprodução, crescimento e a distribuição das macroalgas no ambiente natural (Lüning 1990). O entendimento dos seus efeitos sobre a fisiologia e ecologia de espécies de interesse comercial contribui para o sucesso do cultivo. Entretanto, os dados obtidos para uma linhagem específica não devem ser extrapolados para toda a espécie, devido à possibilidade da existência de ecótipos fisiológicos (Yokoya & Oliveira 1992; Contador 2006).

Neste estudo a temperatura teve influência significativa nas linhagens utilizadas, com melhores taxas de crescimento para a temperatura de 25°C. As linhagens também apresentaram comportamentos diferentes indicando a existência e influência da variabilidade genética no comportamento fisiológico das linhagens. Em cada temperatura uma linhagem diferente apresentou o maior valor de TCR, embora uma das linhagens tenha apresentado em todas as temperaturas a menor TCR. O comportamento distinto de diferentes linhagens em um gradiente de temperatura se torna interessante onde o cultivo se realiza em locais onde existe uma amplitude anual da temperatura, fornecendo a possibilidade de utilização de linhagens resistentes a temperatura predominante nas estações do ano, mantendo assim uma TCR constante durante o ano.

Bulboa et al. (2006, 2008a, 2010) analisaram as taxas de germinação e crescimento ao longo das estações do ano, o efeito de fatores biótico (epifitismo) e abiótico (temperatura, irradiância, fotoperíodo) em quatro populações de *C. chamissoi* ao longo da costa chilena e encontraram um padrão sazonal nas taxas de germinação e crescimento, dado importante

para orientar o cultivo a partir de esporos nas diferentes regiões estudadas. Diferenças na resistência ao epifitismo entre as populações também foi encontrada, sugerindo a existência de linhagens capazes de resistir ao epifitismo, melhorando, portanto, as taxas de crescimento e a qualidade do produto final. Os parâmetros abióticos não apresentaram diferenças entre as populações e os tratamentos utilizados, não evidenciando assim a existência de ecótipos fisiológicos.

## 6. CONCLUSÕES

Algumas espécies do gênero *Chondracanthus* já são utilizadas comercialmente em dois principais segmentos: produção de carragenana e alimento humano. Estes mercados necessitam do controle e da previsão da produção de suas matérias primas, bem como do padrão de qualidade, o que só pode ser conseguido através de uma produção racional via maricultura.

Dentre as espécies de *Chondracanthus* que ocorrem no Brasil a que nos pareceu mais promissora foi *C. teedii* pelas razões que discutimos no trabalho.

Desta forma, este trabalho teve como um dos objetivos compreender os processos reprodutivos e o acompanhamento da germinação dos esporos e desenvolvimento das plântulas de *C. teedei*. Estudos que são considerados etapas fundamentais para o cultivo da espécie alvo. Com relação a estas investigações, pode-se concluir que:

- O desenvolvimento dos esporos seguiu o padrão de divisão celular *Dumontia*;
- Não ocorreram diferenças no processo de desenvolvimento de tetrásporos e carpósporos;
- Desvios no padrão de desenvolvimento foram observados nos momentos iniciais em ambos os estádios do ciclo de vida;
- Coalescência de esporos foram observadas gerando plântulas;
- Plantas gametofíticas liberaram o maior número de esporos por grama de alga fértil;
- Não houve diferenças significativas na taxa de germinação dos carpósporos e tetrásporos;
- Não houve diferenças significativas nas taxas de crescimento das plântulas derivadas de carpósporos e tetrásporos.

Este trabalho ainda teve como objetivo acompanhar o desenvolvimento e plântulas selecionadas em laboratório, visando fornecer informações sobre o processo de morfogênese a fim de auxiliar no processo de seleção de linhagens. Foi realizado também experimento de temperatura para testar a sua influência em linhagens gametofíticas, proporcionando dados para futuros processos de seleção. As principais conclusões foram as seguintes:

- Ocorreu diferentes morfologias do talo em relação ao estádio do ciclo de vida, sendo predominante talos cilíndrico/achatados em plantas esporofíticas e talos achatados em plantas gametofíticas;

- Ocorreu a autofecundação de uma planta gametofítica indicando a existência de plantas monóicas em *C. teedei*;
- Os discos de fixação secundários foram presentes em quase todas as plantas;
- As maiores taxas de crescimento relativo e biomassas foram encontradas em plantas gametofíticas;
- A seleção de linhagem se apresentou viável nesta espécie, demonstrando que existe uma variabilidade genética possibilitando a seleção de uma linhagem que apresente as características desejadas;
- A temperatura influencia significativamente na taxa de crescimento relativo de *C. teedei*;
- Todas as linhagens cresceram na temperatura de 25°C, entretanto apresentaram valores significativamente diferentes;
- Apenas duas linhagens apresentaram crescimento nas temperaturas de 15°C e 30°C, demonstrando a importância da seleção e utilização de linhagens específicas para a temperatura predominante na região onde se pretende instalar o cultivo.

A seleção de linhagens, embora seja trabalhosa e às vezes frustrante, representa um componente importante na formação de tecnologias para a implementação de cultivos de qualquer ser vivo. A procura por linhagens resistentes e tolerantes aos diversos fatores bióticos e abióticos, e com taxas de crescimento adequadas para seu destino, é essencial para o sucesso comercial.

Os resultados aqui apresentados constituem os primeiros passos para estabelecer bases biológicas que levem ao cultivo da espécie alvo. No entanto, para que nossos objetivos sejam alcançados outros estudos são necessários, especialmente na área da ecofisiologia além de ensaios de cultivo no mar.

## 7. REFERÊNCIAS

- Agrawal, S.C., 2009. Factors affecting spore germination in algae - review. *Folia Microbiologica* 54, 273–302.
- Alveal, K., Romo, H., Werlinger, C., Oliveira, E., 1997. Mass cultivation of the agar-producing alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) from spores. *Aquaculture* 148, 77–83.
- Alves, A., Ventura, R., Novaes, A., Mattar, G., Hayashi, L., 2010. O cultivo da *Kappaphycus alvarezii* como alternativa para maricultores catarinenses. *Panorama da Aqüicultura* 20, 24–29.
- Armisen, R., 1991. Agar and agarose biotechnological applications. *Hydrobiologia* 221, 157–166.
- Avila, M., Piel, M.I., Caceres, J.H., Alveal, K., 2010. Cultivation of the red alga *Chondracanthus chamissoi*: sexual reproduction and seedling production in culture under controlled conditions. *Journal of Applied Phycology* 23, 529–536.
- Baptista, L.R.M., 1977. Flora ilustrada do Rio Grande do Sul. Boletim do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul 37, 1–248.
- Barufi, J.B., Oliveira, E.C. de, Plastino, E.M., Oliveira, M.C. de, 2010. Life history, morphological variability and growth rates of the life phases of *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta: Gracilariales) *in vitro*. *Scientia Marina* 74, 297–303.
- Berchez, F.A.S., Oliveira, E.C. de, 1990. Maricultural essays with the carrageenophyte *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) in S. Paulo. In: Oliveira, E.C. de, Kautsky, N. (Eds.), *Cultivation of seaweeds in Latin America*. Universidade de São Paulo, pp. 89–94.
- Bhattacharya, D., 1985. The demography of fronds of *Chondrus crispus* Stackhouse. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 91, 217–231.

- Bindu, M.S., Levine, I.A., 2010. The commercial red seaweed *Kappaphycus alvarezii*—an overview on farming and environment. *Journal of Applied Phycology* 23, 789–796.
- Bixler, H.J., Porse, H., 2010. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology* 23, 321–335.
- Braga, M.R.A., 1985. Taxonomia e biologia da *Gigartina teedii* (Roth) Lamouroux (Rhodophyta, Gigartinales) no litoral do estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, p.161.
- Braga, M. do R. de A., 1990. Reproductive Characteristics of *Gigartina teedii* (Roth) Lamouroux (Rhodophyta, Gigartinales), a Turf-forming Species: Field and Laboratory Culture Studies. *Botanica Marina* 33, 401–410.
- Bulboa, C.R., Macchiavello, J.E., Oliveira, E.C., Fonck, E., 2005. First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kutzing (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. *Aquaculture Research* 36, 1069–1074.
- Bulboa, C., Macchiavello, J., Oliveira, E., Véliz, K., 2008a. Growth rate differences between four Chilean populations of edible seaweed *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Aquaculture Research* 39, 1550–1555.
- Bulboa, C.R., Macchiavello, J.E., Veliz, K., Macaya, E.C., Oliveira, E.C., 2006. *In vitro* recruitment of *Ulva* sp. and *Enteromorpha* sp. on gametophytic and tetrasporophytic thalli of four populations of *Chondracanthus chamissoi* from Chile. *Journal of Applied Phycology* 19, 247–254.
- Bulboa, C., Macchiavello, J., Véliz, K., Oliveira, E.C., 2010. Germination rate and sporeling development of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) varies along a latitudinal gradient on the coast of Chile. *Aquatic Botany* 92, 137–141.

- Bulboa, C.R., Paula, E.J. de, 2005. Introduction of non-native species of *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in subtropical waters: Comparative analysis of growth rates of *Kappaphycus alvarezii* and *Kappaphycus striatum* *in vitro* and in the sea in south-eastern Brazil. *Phycological Research* 53, 183–188.
- Bulboa, C., Paula, E.J. de, Chow, F., 2008b. Germination and survival of tetraspores of *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Solieriaceae, Rhodophyta) introduced in subtropical waters of Brazil. *Phycological Research* 56, 39–45.
- Buschmann, A.H., Hernández-González, M.C., Astudillo, C., Fuente, L. de La, Gutierrez, A., Aroca, G., 2005. Seaweed cultivation, product development and integrated aquaculture studies in Chile. *World Aquaculture* 36, 51–53.
- Carneiro, M.A.A., Marinho-Soriano, E., Plastino, E.M., 2011. Phenology of an agarophyte *Gracilaria birdiae* Plastino & E.C. Oliveira (Gracilariales, Rhodophyta) in Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21, 317–322.
- Chemin, E., 1937. Le developpement des spores chez les Rhodophycees, Gigartinales et Rhodymeniales. *Revue Générale de Botanique* 49, 424–448.
- Chen, L.C.-M., Taylor, A.R.A., 1976. Scanning electron microscopy of early sporeling ontogeny of *Chondrus crispus*. *Canadian Journal of Botany* 54, 672–678.
- Coll, J., Oliveira, E.C., 1999. The benthic marine algae of Uruguay. *Botanica Marina* 42, 129–135.
- Contador, C.R.B., 2006. Bases bio-tecnológicas para o cultivo de *Chondracanthus chamissoi*, uma alga vermelha de importância econômica da costa chilena. Tese de Doutorado, p.131.
- Cordeiro-Marino, M., 1978. Rodofíceas marinhas bentônicas de Santa Catarina. *Rickia* 7, 1 – 243.

- Edwards, P., 1970. Illustrated guide to the seaweeds and sea grasses in the vicinity of Porto Aransas, Texas. Contribution Marine Science 15, 1–228.
- Faccini, A.L., Berchez, F., 2000. Management of natural beds and standing stock evaluation of *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta) in south-eastern Brazil. Journal of Applied Phycology 12, 101–103.
- FAO, 2010. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. FAO, Roma, Italia, p.219.
- Fonck, E., Martínez, R., Vásquez, J., Bulboa, C., 2007. Factors that affect the re-attachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. Journal of Applied Phycology 20, 311–314.
- Funahashi, H., Imai, T., Mase, T., Sekiya, M., Yokoi, K., Hayashi, H., Shibata, A., Hayashi, T., Nishikawa, M., Suda, N., Hibi, Y., Mizuno, Y., Tsukamura, K., Hayakawa, A., Tanuma, S., 2001. Seaweed prevents breast cancer? Japanese journal of cancer research 92, 483–7.
- Gonzalez, J., Meneses, I., 1996. Differences in the early stages of development of gametophytes and tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C.Ag.) Kützing from Puerto Aldea, northern Chile. Aquaculture 143, 91–107.
- Guiry, M.D., 1984. Structure, life history and hybridization of atlantic *Gigartina teedii* (Rhodophyta) in culture. British Phycological Journal 19, 37–55.
- Guiry, M.D., Cunningham, E.M., 1984. Photoperiodic and temperature responses in the reproduction of north-eastern Atlantic *Gigartina acicularis* (Rhodophyta: Gigartinales). Phycologia 23, 357–367.
- Guiry, M.D., Guiry, G.M., 2013. AlgaeBase . World-wide publicação eletrônica. AlgaeBase. <http://www.algaebase.org/>

- Hannach, G., Santelices, B., 1985. Ecological differences between the isomorphic reproductive phases of two species of *Iridaea* (Rhodophyta: Gigartinales). *Marine Ecology Progress Series* 22, 291–303.
- Hansen, J., 1983. Mariculture of marine plants: A critical pathway approach. In: *Proceedings Oceans 83*. IEEE, pp. 890–894.
- Hansen, J.E., 1984. Strain selection and physiology in the development of *Gracilaria* mariculture. *Hydrobiologia* 116-117, 89–94.
- Hayashi, L., 2001. Extração, teor e propriedade de carragenana de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva, em cultivo experimental em Ubatuba, SP. Dissertação de Mestrado, p.83.
- Hayashi, L., 2007. Contribuição à Maricultura da Alga Vermelha *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) para Produção de Carragenana. Tese de Doutorado, p.100.
- Hayashi, L., Faria, G.S.M., Nunes, B.G., Zitta, C.S., Scariot, L.A., Rover, T., Felix, M.R.L., Bouzon, Z.L., 2010. Effects of salinity on the growth rate, carrageenan yield, and cellular structure of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) cultured *in vitro*. *Journal of Applied Phycology* 23, 439–447.
- Hayashi, L., Paula, E.J., Chow, F., 2007. Growth rate and carrageenan analyses in four strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) farmed in the subtropical waters of São Paulo State, Brazil. *Journal of Applied Phycology* 19, 393–399.
- Hayashi, L., Yokoya, N.S., Ostini, S., Pereira, R.T.L., Braga, E.S., Oliveira, E.C., 2008. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated cultivation with fishes in recirculating water. *Aquaculture* 277, 185–191.
- Horta, P.A., 2000. Macroalgas do infralitoral do sul e sudeste do Brasil: Taxonomia e Biogeografia. Tese de Doutorado, p. 301.
- Ito, K., Hori, K., 1989. Seaweed: Chemical composition and potential food uses. *Food Reviews International* 5, 101–144.

John, D.M., Reine, W.F.P. van, Lawson, G.W., Kostermans, T.B., Price, J.H. (Eds), 2004. A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands. Nova Hedwigia, Beiheft, p.139.

Joly, A.B., 1965. Flora marinha do litoral norte do Estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. Universidade de São Paulo: Faculdade Filosofia, Ciências e Letras, p.393.

Lee, Y., Kang, S., 2001. A catalogue of the seaweeds in Korea. Cheju National University Press, Jeju, p.662.

Lignell, A., Pedersén, M., 1989. Agar composition as a function of morphology and growth rate. Studies on some morphological strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). Botanica Marina 32, 219–227.

Lima, A.M., Neto, C.C., Oliveira, E.C. de, Araújo, R.A., 1981. Cultivo experimental de *Hypnea musciformis* e *Gracilaria* sp. em áreas protegidas por antigas linhas de costa (recifes) no litoral do Rio Grande do Norte. Estudos de Pesca, SUDENE 9, 97–107.

Lüning, K., 1990. Seaweeds: their environment, biogeography, and ecophysiology. John Wiley & Sons, Inc, p.527.

McHugh, D.J., 1991. Worldwide distribution of commercial resources of seaweeds including *Gelidium*. Hydrobiologia 221, 19–29.

McHugh, D.J., 2003. A guide to the seaweed industry. FAO, Rome, Italy, p.105.

Meer, J.P., 1990. Isolation and genetic characterization of self-sterile mutants in a monoecious red alga *Gelidium vagum* (Gelidiales, Rhodophyta). Hydrobiologia 204-205, 389–395.

Merrill, J.E., Waaland, J.R., 1979. Photosynthesis and respiration in a fast growing strain of *Gigartina exasperata* (Harvey & Bailey). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 39, 281–290.

Muñoz, J., Kumar, V., Fotedar, R., 2011. Seaweed culture with special reference to Latin America. In: Ravi K. Fotedar, Phillips, B.F. (Eds.), Recent advances and new species in aquaculture. Blackwell Publishing Ltd, pp. 252–276.

Murata, M., Nakazoe, J., 2001. Production and use of marine algae in Japan. Japan Agricultural Research Quarterly 35, 281–290.

Narasimha Rao, G.M., Umamaheswara Rao, M., 1991. Spore discharge in the red algae *Bostrychia tenella* and *Caloglossa leprieurii* from the Godavari estuary, India. Journal of Applied Phycology 3, 153–158.

Oliveira, E.C. de, 1977. Algas marinhas bentônicas do Brasil. Tese de Livre Docência, p.406.

Oliveira, E.C. de, 1981a. Marine phycology and exploitation of seaweeds in South America. International Seaweed Symposium (Inglaterra) 10, 97–112.

Oliveira, E.C. de, 1981b. The occurrence and distribution of seaweeds of economic value in Brazil. International Seaweed Symposium (Inglaterra) 8, 724–729.

Oliveira, E.C. de, 1981c. Algas marinhas: da exploração aleatória ao cultivo racional. Congresso Brasileiro de Engenharia da Pesca 2, 11–30.

Oliveira, E.C. de, 1990. The rationale for seaweed cultivation in Latin America. In: Oliveira, E. C., Kautsky, N. (Eds.), Cultivation of Seaweeds in Latin America. Universidade de São Paulo, pp. 135–141.

Oliveira, E.C. de, 1997a. Algas Marinhas: um recurso ainda pouco explotado pelo Brasil. Panorama da Aqüicultura 7, 24–26.

Oliveira, E.C. de, 1997b. Macroalgas marinhas de valor comercial: técnicas de cultivo. Panorama da Aqüicultura julho/agosto, 42–45.

Oliveira, E.C. de, 2005. Considerações sobre a introdução de macroalgas marinhas exóticas no Brasil, com especial ênfase nos grupos produtores de carragenanas: *Kappaphycus* e *Eucheuma* spp. Ministério da Pesca e Aquicultura.

Oliveira, E.C., Alveal, K., Anderson, R.J., 2000. Mariculture of the agar-producing Gracilarioid red algae. *Reviews in Fisheries Science* 8, 345–377.

Oliveira, E.C., Berchez, F.A.S., 1993. Resource biology of *Pterocladia capillacea* (Gelidiales, Rhodophyta) populations in Brazil. *Hydrobiologia* 260-261, 255–261.

Oliveira, E.C. de, Horta, P.A., Silva, B.N.T. da, 2013. Algae Maris Brasilis. [www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br](http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br)

Oliveira, E., Silva, B.N.T. da, Amancio, C. E., 2009. Das origens ao futuro. *Scientific American Brasil* julho, 70–77.

Otaíza, R.D., Fonseca, F.G., 2011. Effect of dissolved calcium on the formation of secondary attachment structures in different types of branches of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 46, 263–268.

Pacheco-Ruíz, I., Cabello-Pasini, A., Zertuche-González, J.A., Murray, S., Espinoza-Avalos, J., Dreyfus-Leon, M.J., 2011. Carpospore and tetraspore release and survival in *Chondracanthus squarrulosus* (Rhodophyta: Gigartinales) from the Gulf of California. *Botanica Marina* 54, 127–134.

Pacheco-Ruíz, I., Zertuche-González, J.A., 1999. Population structure and reproduction of the carrageenophyte *Chondracanthus pectinatus* in the Gulf of California. *Hydrobiologia* 398/399, 159–165.

Pacheco-Ruíz, I., Zertuche-González, J.A., Espinoza-Avalos, J., 2005. The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarrulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 44, 629–631.

Paula, E.J. de, Pereira, R.T.L., 1998. Cultivo de algas - Da “ Marinomia ” à maricultura da alga exótica , *Kappaphycus alvarezii* para produção de carragenanas no Brasil. Panorama da Aqüicultura 48, 10–15.

Paula, E.J. de, Pereira, R.T.L., Ohno, M., 1999. Strain selection in *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Solieriaceae , Rhodophyta) using tetraspore progeny. Journal of Applied Phycology 11, 111–121.

Pellizzari, F.M., Absher, T., Yokoya, N.S., Oliveira, E.C., 2006. Cultivation of the edible green seaweed *Gayralia* (Chlorophyta) in southern Brazil. Journal of Applied Phycology 19, 63–69.

Pellizzari, F., Oliveira, E.C., Yokoya, N.S., 2007. Life-history, thallus ontogeny, and the effects of temperature, irradiance and salinity on growth of the edible green seaweed *Gayralia* spp. (Chlorophyta) from Southern Brazil. Journal of Applied Phycology 20, 75–82.

Pereira, L., Mesquita, J.F., 2004. Population studies and carrageenan properties of *Chondracanthus teedei* var. *lusitanicus* (Gigartinales, Rhodophyta). Journal of Applied Phycology 16, 369–383.

Plastino, E.M., Oliveira F<sup>o</sup>, E.C., 1988. Deviations in the life-history of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinales), from Coquimbo, Chile, under different culture conditions. Hydrobiologia 164, 67–74.

Ramlov, F., De Souza, J.M.C., Farias, A., Maraschin, M., Horta, P.A., Yokoya, N.S., 2012. Effects of temperature, salinity, irradiance, and nutrients on the development of carposporelings and tetrasporophytes in *Gracilaria domingensis* (Kütz.) Sonder ex Dickie (Rhodophyta, Gracilariales). Botanica Marina 55, 1–7.

Rao, M.U., Kaliaperumal, N., 1983. Effects of environmental factors on the liberation of spores from some red algae of Visakhapatnam coast. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 70, 45–53.

Reed, M.S.M., 1907. The economic seaweeds of Hawaii and their food value. Government Printing Office, Washington, p.91.

Reis, R.P., Caldeira, A.Q., Miranda, A.P. dos S., Barros-Barreto, M.B., 2006. Potencial para maricultura da carragenófito *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamour. (Gigartinales - Rhodophyta) na Ilha da Marambaia, Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 20, 763–769.

Reis, R.P., Yoneshigue-Valentin, Y., 2000. Phenology of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Rhodophyta, Gigartinales) in three populations from Rio de Janeiro state, Brazil. *Botanica Marina* 43, 299–304.

Rueness, J., Mathisen, H. A., Tananger, T., 1987. Culture and field observations on *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. (Rhodophyta) from Norway. *Botanica Marina* 30, 267–276.

Saito, R.M., Oliveira, E.C., 1990. Chemical screening of Brazilian marine algae producing carrageenans. *Hydrobiologia* 204/205, 585–588.

Salles, J.P., Scherner, F., Yoshimura, C.Y., Fanganiello, M., Bouzon, Z.L., Horta, P.A., 2010. Cultivation of native seaweed *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta) in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53, 633–640.

Santelices, B., Doty, M.S., 1989. A review of *Gracilaria* farming. *Aquaculture* 78, 95–133.

Santelices, B., Varela, D., 1993. Intra-clonal variation in the red seaweed *Gracilaria chilensis*. *Marine Biology* 116, 543–552.

Schneider, C.W., Lane, C.E., 2005. Notes on the marine algae of the Bermudas. 7. Additions to the flora including *Chondracanthus saundersii* sp. nov. (Rhodophyta, Gigartinales) based on rbcL sequence analysis. *Phycologia* 44, 72–83.

Sylvester, A.W., Waaland, J.R., 1984. Sporeling dimorphism in the red alga *Gigartina exasperata* Harvey & Bailey. *Phycologia* 23, 427–432.

Waaland, J.R., 2004. Integrating intensive aquaculture of the red seaweed *Chondracanthus exasperatus*. Bulletin Fisheries Research Agency Supplement 1, 91–100.

West, J.A., Guiry, M.D., 1982. A life history study of *Gigartina johnstonii* (Rhodophyta) from the Gulf of California. Botanica Marina 25, 205–212.

Yokoya, N.S., Oliveira, E.C., 1992. Temperature responses of economically important red algae and their potential for mariculture in Brazilian waters. Journal of Applied Phycology 4, 339–345.

Zemke-White, W.L., Ohno, M., 1999. World seaweed utilisation: An end-of-century summary. Journal of Applied Phycology 11, 369–376.