

Histórico de vida de espécimens selvagens e variantes cromáticas de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta)

VIVIANE L. COSTA¹ e ESTELA M. PLASTINO^{1,2}

(recebido: 6 de setembro de 2000; aceito: 31 de janeiro de 2001)

ABSTRACT - (Life history of wild specimens and chromatic variants of *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta) *Gracilaria birdiae*. (Gracilariales, Rhodophyta) is a common red (*vm*) marine macroalgae in the Northeastern coast of Brazil, which has been extensively harvested for the agar extraction. The aim of this study was to complete the life history of wild-type specimens (red color) and chromatic variants. Two variants were isolated besides the wild-type specimens collected in Paracuru beach, Ceará: i, greenish-brown (*me*), which was found in the natural population on Paracuru beach; ii, green (*vd*), which was obtained spontaneously *in vitro* from a tetrasporophyte branch. The culture conditions for both gametophytes and tetrasporophytes were: 25% von Stosch medium; 14L:10D (light: dark) photoperiod; irradiance of 100 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ and alternating 30 min aeration periods. Green, red and greenish-brown tetrasporophytes as well as green gametophytes were also cultivated in 10L:14D. The life history of *Gracilaria* sp. has been completed *in vitro* in 498 (*vm*), 523 (*me*) and 861 (*vd*) days, showing *Polysiphonia*-type. The tetrasporophytes produced tetraspores only at 10L:14D photoperiod, while green female gametophytes produced cystocarps only at 14L:10D photoperiod. However, the differentiation of *verrucosa*-type spermatangial conceptacles in green male gametophytes and spermatia liberation occurred in both photoperiods. Red male gametophytes showed *henriquesiana*-type spermatangial conceptacles and greenish-brown male gametophytes showed *verrucosa* and *henriquesiana*-type ones. Specimens of the three colors showed similar habit. Considering one color, specimens showed similar habit too, independently of the reproductive phase. Every tetrasporophytes showed *in situ* germination of tetraspores.

RESUMO - (Histórico de vida em espécimens selvagens e variantes cromáticas de *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta) *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta) é uma macroalga marinha de coloração vermelha (*vm*) comum na costa Nordeste do Brasil e amplamente coletada para a extração de ágar. O objetivo deste estudo foi completar o histórico de vida de espécimens selvagens (coloração vermelha) e variantes cromáticas. Duas variantes foram isoladas, além dos espécimens selvagens coletados na praia de Paracuru, Ceará: i, marrom-esverdeada (*me*), encontrada em uma população natural da praia de Paracuru; e ii, verde (*vd*), obtida espontaneamente *in vitro* a partir de um ramo tetrasporofítico. As condições gerais de cultivo tanto para gametófitos quanto para tetrasporófitos foram: meio de cultura von Stosch 25%; fotoperíodo 14L:10E (luz: escuro); irradiância 100 $\mu\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e aeração a cada 30 min. Tetrasporófitos das três colorações e gametófitos verdes foram cultivados também em 10L:14E. O histórico de vida foi completado *in vitro* em 498 (*vm*), 523 (*me*) e 861 (*vd*) dias, mostrando-se do tipo *Polysiphonia*. Tetrasporófitos produziram tetrasporos apenas em fotoperíodo 10L:14E. Gametófitos femininos verdes desenvolveram cistocarpos apenas em fotoperíodo 14L:10E. No entanto, a diferenciação de conceptáculos do tipo *verrucosa* em gametófitos masculinos verdes e a liberação de espermiócitos ocorreu em ambos os fotoperíodos. Gametófitos masculinos vermelhos apresentaram conceptáculos espermatangiais do tipo *henriquesiana*, enquanto gametófitos masculinos marrom-esverdeados apresentaram os tipos *verrucosa* e *henriquesiana*. Não foram verificadas diferenças quanto ao hábito de espécimens de uma mesma coloração, independentemente do estágio reprodutivo analisado. Verificou-se em todos os tetrasporófitos a germinação de tetrasporos *in situ*.

Key words: *Gracilaria*, life history, chromatic variants, reproduction.

Introdução

Devido à importância como principal gênero utilizado na extração de ágar, várias espécies de *Gracilaria* Greville (Gracilariales, Rhodophyta)

têm sido estudadas visando a obtenção de condições ideais de cultivo, bem como a seleção de linhagens mais adequadas à maricultura (Patwary & van der Meer 1982, van der Meer & Patwary 1983, Zhang & van der Meer 1987).

O manejo bem sucedido de uma espécie está condicionado ao conhecimento de sua biologia. Portanto, o histórico de vida tem sido objeto de estudo em muitas espécies de *Gracilaria*, como *G. cervicornis* (Turner) J. Agardh (Plastino 1985),

1. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Caixa Postal 11461, 05422-970 São Paulo, SP, Brasil.
2. Autor para correspondência: emplasti@usp.br

G. chilensis Bird, McLachlan & Oliveira (Plastino & Oliveira 1988), *G. debilis* (Forsskål) Børgesen (Oliveira & Plastino 1984), *G. domingensis* (Kützing) Sonder *ex* Dickie (Guimarães *et al.* 1999), *G. eucheumoides* Harvey (Yamamoto & Noro 1993), *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Ogata *et al.* 1972), *G. mammilaris* (Montagne) Howe (Plastino 1985), *G. foliifera* (McLachlan & Edelstein 1977), *G. salicornia* (C. Agardh) Dawson (Yamamoto 1991) e *Gracilaria* spp. (Bird *et al.* 1977, Oliveira & Plastino 1984).

O histórico de vida para o gênero *Gracilaria* tem se revelado do tipo *Polysiphonia*. No entanto, a ocorrência de diferentes estruturas reprodutivas em um mesmo talo vem sendo referida (Oliveira & Plastino 1994). Uma delas é resultante da germinação de tetrásporos *in situ*, que formam gametófitos epífitas no tetrásporófito (Oliveira & Plastino 1984, Plastino 1985, Destombe *et al.* 1989, Guimarães *et al.* 1999). Esses gametófitos geralmente são menores e se tornam férteis precocemente, quando comparados aos gametófitos de mesma idade originados de tetrásporos liberados. Nesse caso, ocorre um encurtamento do tempo necessário para que o histórico de vida seja completado (Oliveira & Plastino 1984, Plastino 1985, Destombe *et al.* 1989).

A análise do histórico de vida em *Gracilaria* tem revelado diferenças no tempo necessário para que gametófitos e tetrásporófitos tornem-se férteis. Gametófitos podem se tornar férteis em um tempo menor do que os tetrásporófitos (Yamamoto & Noro 1993), enquanto que o inverso também já foi verificado (Guimarães *et al.* 1999). No entanto, são referidos casos em que gametófitos e tetrásporófitos atingiram a maturidade reprodutiva com a mesma idade (Bird *et al.* 1977, McLachlan & Edelstein 1977).

Estratégias reprodutivas distintas quanto à fertilidade de gametófitos e tetrásporófitos frente a fatores sazonais como temperatura e fotoperíodo, já foram referidas para espécies de *Gracilaria* (McLachlan & Edelstein 1977, Rabanal *et al.* 1997, Marinho-Soriano *et al.* 1998). A influência do fotoperíodo na diferenciação de estruturas reprodutivas é amplamente reconhecida para espécies com histórico de vida heteromórfico (Lobban & Harrison 1997). Alguns trabalhos têm demonstrado que este fator também pode atuar na diferenciação de tetrásporângios em espécies

com histórico de vida isomórfico (Guiry 1984, Mairh *et al.* 1990, Fredriksen *et al.* 1990, Rabanal *et al.* 1997). Nestes casos, fotoperíodos de dias curtos foram determinantes na diferenciação dos tetrásporângios.

A proporção entre gametófitos femininos e masculinos produzidos a partir da germinação de tetrásporos tem sido reportada como de 1:1 nas espécies de *Gracilaria* em que estes aspectos foram avaliados (Ogata *et al.* 1972, van der Meer 1986, Guimarães *et al.* 1999). A regulação do sexo, em *Gracilaria tikvahiae* McLachlan, é determinada por um par de alelos mendelianos localizado em um par de cromossomos sexuais. O tetrásporófito é heterozigoto para estes alelos e, portanto, a segregação destes durante a meiose origina gametófitos femininos e masculinos na proporção de 1:1 (van der Meer 1986).

Dentre as espécies que ocorrem no litoral brasileiro, destaca-se *Gracilaria* sp., referida como *Gracilaria* sp. 3 por Plastino (1991), e ainda não formalmente descrita. Trata-se de uma espécie de talo cilíndrico e conceptáculos espermatangiais do tipo *henriquesiana*, comum na costa Nordeste do Brasil. É atualmente um importante recurso explorado comercialmente para a extração de ágar no país (Plastino & Costa 1999).

O presente trabalho tem como objetivo completar o histórico de vida de *Gracilaria* sp. *in vitro*, considerando-se espécimens selvagens, de coloração vermelha, bem como variantes cromáticas marrom-esverdeada e verde.

Material e métodos

Seleção de linhagens - Culturas unialgais de *Gracilaria* sp. foram estabelecidas a partir de tetrásporos liberados por um espécimen de fenótipo selvagem (coloração vermelha) coletado em uma população da região entre marés do município de Paracuru, CE (ca. 3,6°S), por E.M. Plastino e M. Guimarães em 01/03/1994. Esporos recém liberados foram cultivados em placas de Petri. Após um mês, plântulas derivadas destes esporos foram destacadas e transferidas para frascos cônicos (Plastino *et al.* 1995). Estas foram então mantidas em cultivo no "Banco de germoplasma de algas gracilarióides" do Laboratório de Algas Marinhas, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Nesta ocasião, já era possível a distinção de espécimens de coloração vermelha (*vm*) e de coloração marrom-esverdeada (*me*). Espécimens de colorações diferentes foram mantidos em frascos distintos, até a diferenciação de estruturas reprodutivas.

Um espécimen tetrasporófito mantido no banco de germoplasma e originado a partir do cruzamento entre gametófitos ♀ *vm* e ♂ *me* diferenciou espontaneamente um ramo de coloração verde. Este foi seccionado, isolado e mantido nas condições gerais de cultivo até a formação de tetrasporângios e tetrásporos. Plântulas originadas da germinação destes tetrásporos apresentaram coloração verde (*vd*) e foram cultivadas até a diferenciação de estruturas reprodutivas.

Espécimens representativos das linhagens de gametófitos e tetrasporófitos de coloração vermelha, marrom-esverdeada e verde foram incluídos no Herbário Ficológico da Universidade de São Paulo (SPF), sob os números 27.930-33 e 28.049-53. Condições de cultivo - Os cultivos foram realizados em água do mar com salinidade 32‰, previamente esterilizada e enriquecida com meio von Stosch (Edwards 1970), modificado por Plastino (1985), diluído a 25%. O meio de cultura foi renovado semanalmente. A aeração foi empregada em períodos alternados de 30 minutos. A temperatura foi de 25°C ± 1, e a irradiância de 100 μmol fótons.m⁻².s⁻¹ provinda de lâmpadas fluorescentes "Luz do Dia" (Osram 40 W). Estas condições foram previamente estabelecidas para o cultivo de algas gracilarióides de regiões tropicais (Plastino & Oliveira 1989). Os fotoperíodos adotados foram de 14 h luz e 10 h escuro (14L:10E) e 10h luz e 14h escuro (10L:14E) (tabela 1).

Histórico de vida - Carpósporos liberados de cistocarpos formados a partir dos cruzamentos ♀ *vm* X ♂ *vm*, *Xme* X ♂ *me* e ♀ *vd* X ♂ *vd* foram isolados e cultivados segundo metodologia descrita em Plastino et al. (1995). Ápices de 10 espécimens derivados de carpósporos resultantes dos cruzamentos ♀ *vm* X ♂ *vm* e ♀ *me* X ♂ *me* foram selecionados e submetidos a dois fotoperíodos distintos (tabela 1). Ápices de 20 espécimens derivados do cruzamento ♀ *vd* X ♂ *vd* foram cultivados em dois frascos distintos, contendo 10 espécimens cada um deles. Ramos dos mesmos espécimens foram cultivados em fotoperíodos distintos (tabela 1). Estas condições foram mantidas até a diferenciação de tetrasporângios.

Ramos com tetrasporângios e representativos das três linhagens (*vm*, *me* e *vd*) foram transferidos para placas de Petri. Tetrásporos derivados destes ramos deram origem a plântulas, que após um mês, foram transferidas para frascos cônicos e cultivadas até a diferenciação de estruturas reprodutivas (Plastino et al. 1995). A análise da proporção sexual de gametófitos foi realizada utilizando-se o teste de Qui-quadrado (χ²).

Observações sobre o desenvolvimento morfológico e reprodutivo dos espécimens foram realizadas semanalmente. A documentação das estruturas reprodutivas foi feita através de fotografias. Espécimens herborizados representativos de gametófitos e tetrasporófitos foram digitalizados com o auxílio de um Scanner TCE S520, com resolução gráfica de 100 dpi. e incluídos no presente trabalho.

Resultados

Gracilaria birdae apresentou histórico de vida do tipo *Polysiphonia* (figura 1). Este foi completado em: 498 dias para espécimens *vm*, 523 dias para

variantes cromáticas *me*, e 861 dias para variantes cromáticas *vd*.

Gametófitos femininos e masculinos, independente da coloração que apresentavam, foram obtidos na proporção de 1:1 (16 ♀: 20 ♂, $c^2 = 0,444$, $p < 0,05$), permanecendo inférteis 45% dos espécimens derivados de tetrásporos.

Gametófitos masculinos *vm* produziram conceptáculos espermatangiais do tipo *henriquesiana* (Yamamoto 1984), enquanto que gametófitos masculinos *me* diferenciaram conceptáculos dos tipos *verrucosa* e *henriquesiana* (Yamamoto 1984) (figura 2). Gametófitos masculinos *vd*, cultivados tanto em fotoperíodo 10L:14E quanto em 14L:10E, produziram conceptáculos do tipo *verrucosa*.

Gametófitos femininos, independentemente da coloração, formaram cistocarpos apenas na presença de gametófitos masculinos. Espécimens *vd* somente diferenciaram cistocarpos quando cultivados em fotoperíodo 14L:10E.

Cistocarpos maduros, independentemente da coloração, apresentaram uma célula de fusão basal extremamente ramificada e carposporófito preenchendo todo o espaço interno do cistocarpo, com ampla superfície de contato entre o mesmo e a base do cistocarpo (figura 3).

Grupos de carpósporos foram liberados envolvidos em uma massa de mucilagem, proporcionando, em muitos casos, sua coalescência durante a germinação. Carpósporos isolados desenvolveram-se inicialmente em pequenos discos basais que, aos 20 dias de idade, formaram um, ou mais raramente, vários eixos eretos cilíndricos. Plântulas de cerca de 10 mm de comprimento desprenderam-se do substrato em que germinaram e tiveram seu apressório convertido de uma forma discoidal para uma forma esférica.

Apenas espécimens derivados de carpósporos e cultivados em fotoperíodo 10L:14E diferenciaram tetrasporângios, independentemente da coloração. Os tetrásporos estavam arrançados de forma cruciada no tetrasporângio. Tetrásporos liberados não se fixaram ao substrato e morreram após alguns dias. No entanto, verificou-se germinação *in situ*. Inicialmente, diferenciaram-se estruturas de forma esférica ou tetraédrica salientes ao talo (figura 4), que ao se desenvolverem originaram vários ramos eretos (figura 5). Estes ramos enquanto permaneceram presos ao tetrasporófito não

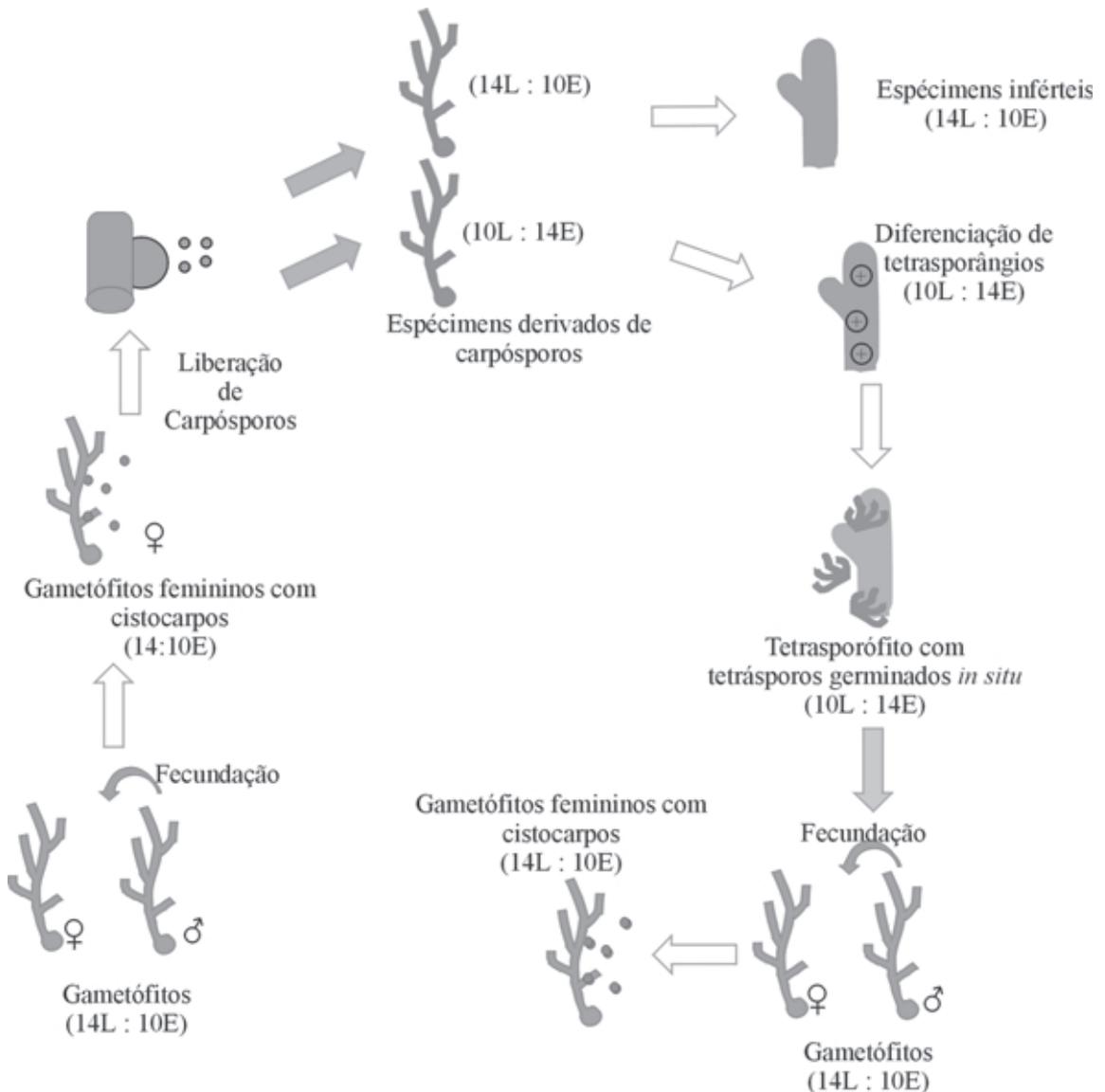


Figura 1. Histórico de vida de *Gracilaria* sp. obtido *in vitro*. Os fotoperíodos utilizados são apresentados entre parênteses. Setas vazias representam eventos ocorridos nos mesmos espécimens, enquanto setas cheias representam a descendência obtida.

diferenciaram estruturas reprodutivas. Apenas ramos destacados do talo tetrasporofítico diferenciaram espermatângios ou cistocarpos.

A progênie resultante dos cruzamentos entre gametófitos de uma mesma coloração de talo apresentou a coloração parental. Espécimens derivados de carpósporos (tetrasporófitos) de diferentes colorações diferenciaram tetrasporângios

em períodos distintos após a germinação (tabela 2). O mesmo ocorreu para espécimens originados da germinação de tetrásporos (gametófitos) (tabela 2). A diferenciação de espermatângios em gametófitos *in situ* e conseqüente liberação de espermácios tiveram início quando estes apresentavam 294 dias após a germinação de tetrásporos. Entretanto, a diferenciação de cistocarpos ocorreu somente quando os

gametófitos já apresentavam 574 dias de idade, embora estes estivessem continuamente em contato com gametófitos masculinos férteis. Muitos destes gametófitos permaneceram inférteis após este período (tabela 2).

O hábito de gametófitos e tetrasporófitos herborizados está apresentado na figura 6. Distingue-se apenas um eixo principal cilíndrico, raramente dois ou mais, com ramificações de até segunda ordem, raramente terceira ordem, tanto para gametófitos quanto para tetrasporófitos.

Discussão

O histórico de vida de *Gracilaria birdae* foi completado *in vitro* para espécimens de colorações vermelha, marrom-esverdeada e verde, sendo do tipo "*Polysiphonia*", como reportado para outras espécies do gênero (Kain & Destombe 1995).

A observação de estruturas esféricas ou tetraédricas nos primeiros estádios da germinação de tetrásporos *in situ* é inédita entre as algas gracilarióides e parece resultar da germinação dos quatro tetrásporos ainda dentro do tetrasporângio. Descrições dos estádios iniciais da germinação de gametófitos *in situ* não são comuns na literatura (Oliveira & Plastino 1984).

A germinação de tetrásporos *in situ* é considerada uma estratégia na redução do tempo necessário para a espécie completar seu histórico de vida (Oliveira & Plastino 1984, Plastino 1985, Destombe *et al.* 1989). No entanto, para *Gracilaria* sp., apesar da ocorrência de germinação *in situ*, esta estratégia não foi confirmada, uma vez que apenas gametófitos destacados do talo

tetrasporófito diferenciaram estruturas reprodutivas.

O tempo necessário para que o histórico de vida fosse completado nas três linhagens foi superior ao verificado para outras espécies de *Gracilaria* (McLachlan & Edelstein 1977, Oliveira & Plastino 1984, Plastino 1985, Yamamoto 1991, Guimarães *et al.* 1999) e pode ter sido decorrência de características intrínsecas da espécie estudada, bem como das metodologias de cultivo utilizadas (Oliveira & Plastino 1994). Quanto à maturação reprodutiva, foram observados comportamentos distintos entre as fases do histórico de vida e entre as linhagens estudadas, o que sugere diferenças metabólicas, como já descritas para outras espécies do gênero (Kain & Destombe 1995, Hughes & Otto 1999).

O histórico de vida de espécimens de coloração vermelha foi completado mais rapidamente do que o de variantes marrom-esverdeadas e verdes. Estes resultados podem ter sido decorrência de deficiências metabólicas expressas em menor grau na variante cromática marrom-esverdeada e em maior grau na variante verde. Sabe-se que, para alguns mutantes verdes de *Gracilaria tikvahiae*, ocorre deficiência pigmentar, principalmente quanto ao conteúdo de ficoeritrina, que poderia influenciar a eficiência fotossintética dos mesmos e conseqüentemente comprometer seu desenvolvimento (van der Meer & Bird 1977, van der Meer 1979). Já foi reportado também que as taxas de crescimento e a viabilidade de variantes pigmentares podem ser menores do que as encontradas em linhagens selvagens (van der Meer & Bird 1977, van der Meer 1978). Espécimens

Tabela 2. Síntese dos resultados obtidos após os cruzamentos entre gametófitos de uma mesma coloração. Apresenta-se a cor do talo de tetrasporófitos e gametófitos vermelhos (*vm*), marrom-esverdeados (*me*) e verdes (*vd*), o tempo decorrido desde a germinação até a diferenciação de estruturas reprodutivas (idade) e o número de espécimens de cada sexo obtido na geração gametofítica. GM= gametófitos masculinos férteis; GF= gametófitos femininos portando cistocarpos; I = espécimens inférteis.

cruzamento (♀ X ♂)	Tetrasporófitos		Gametófitos		
	cor do talo	idades (dias)	cor do talo	idade (dias) GM GF	sexo (♀: ♂: I)
<i>vm</i> X <i>vm</i>	<i>vm</i>	203	<i>vm</i>	239, 253	4 : 3 : 3
<i>me</i> X <i>me</i>	<i>me</i>	315	<i>me</i>	154, 168	3 : 4 : 3
<i>vd</i> X <i>vd</i>	<i>vd</i>	259	<i>vd</i>	294, 574	4 : 4 : 12

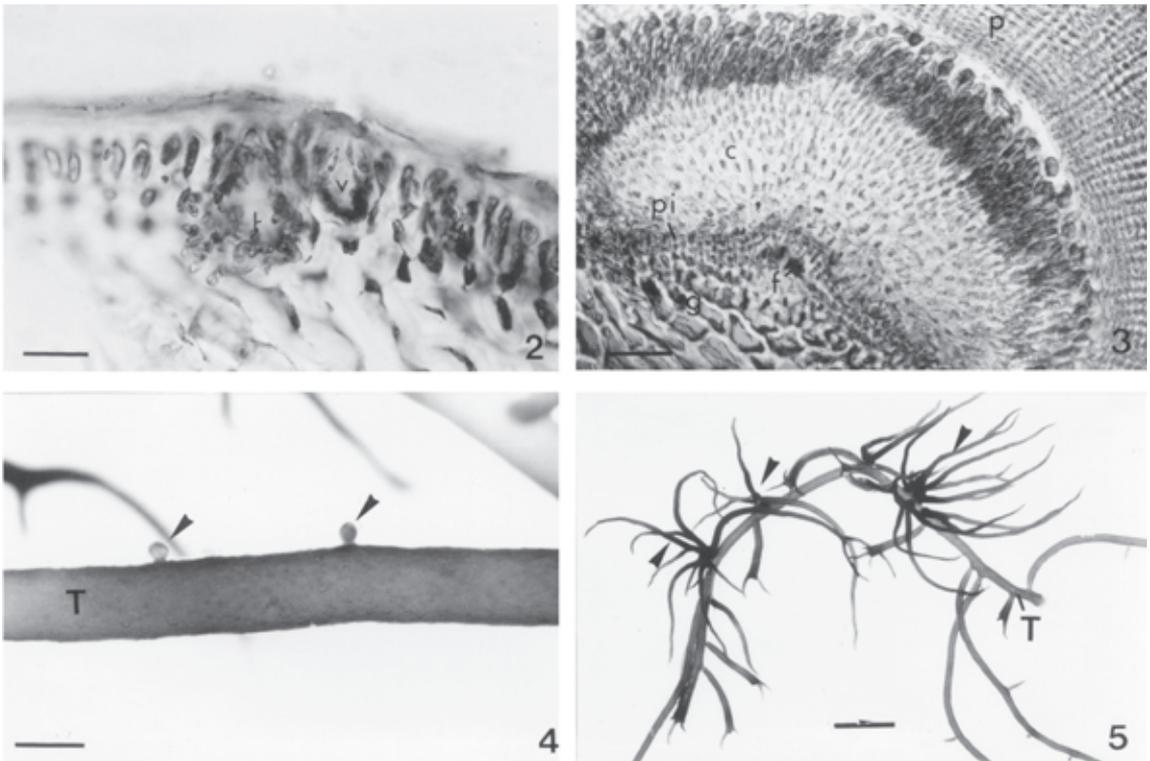
verdes de *G.* sp. poderiam apresentar deficiências metabólicas que retardariam a maturidade reprodutiva de gametófitos, além de impedir o pleno desenvolvimento de conceptáculos espermatangiais e comprometer a diferenciação de cistocarpos (Costa 2000).

Gametófitos femininos vermelhos tiveram maturação reprodutiva retardada, se comparados com a variante marrom-esverdeada. No entanto, tetrasporófitos vermelhos apresentaram maturação reprodutiva mais rápida do que tetrasporófitos marrom-esverdeados e verdes, o que propiciou um menor tempo para que espécimens vermelhos completassem o seu histórico de vida.

Apesar de 45% dos gametófitos permanecerem inférteis, foi possível confirmar a proporção de 1:1

entre gametófitos femininos e masculinos, o que está de acordo com dados verificados para outras espécies de *Gracilaria* (van der Meer 1986, Guimarães *et al.* 1999). A ocorrência de gametófitos inférteis em cultivos *in vitro* já foi referida na literatura (Ogata *et al.* 1972). No entanto, a frequência de espécimens inférteis em populações naturais de *Gracilaria* é geralmente muito baixa (Plastino 1985, Guimarães 1995).

A diferenciação de tetrasporângios em *Gracilaria birdiae* ocorreu apenas quando os espécimens foram submetidos ao fotoperíodo 10L:14E. Fotoperíodos de dia curto também ocasionaram a diferenciação de tetrasporângios em *Gracilariopsis bailinae* Zhang & Xia (Rabanal *et al.* 1997). Por outro lado, a diferenciação de



Figuras 2-5. *Gracilaria birdiae*. Fig. 2. Corte transversal ao córtex fértil de gametófito masculino *me*, apresentando conceptáculos espermatangiais dos tipos *verrucosa* (v) e *henriquesiana* (h), escala: 20µm; Fig. 3. Cistocarpo de espécimen *vd* em corte transversal ao talo, apresentando carposporófito (c) preenchendo todo o espaço interno limitado pelo pericarpo (p) e a medula do gametófito (g) e célula de fusão extremamente ramificada (f) na base do carposporófito, sob o pericarpo interno (pi), escala: 100µm; Figs. 4-5. Tetrasporófito (T) com tetrásporos germinados *in situ*. Fig. 4. Estruturas de formato tetraédrico (cabeças de seta) originadas da germinação de tetrasporângios, escala: 1mm; Fig. 5. Gametófitos resultantes da germinação de tetrásporos (cabeças de seta), escala: 1cm.

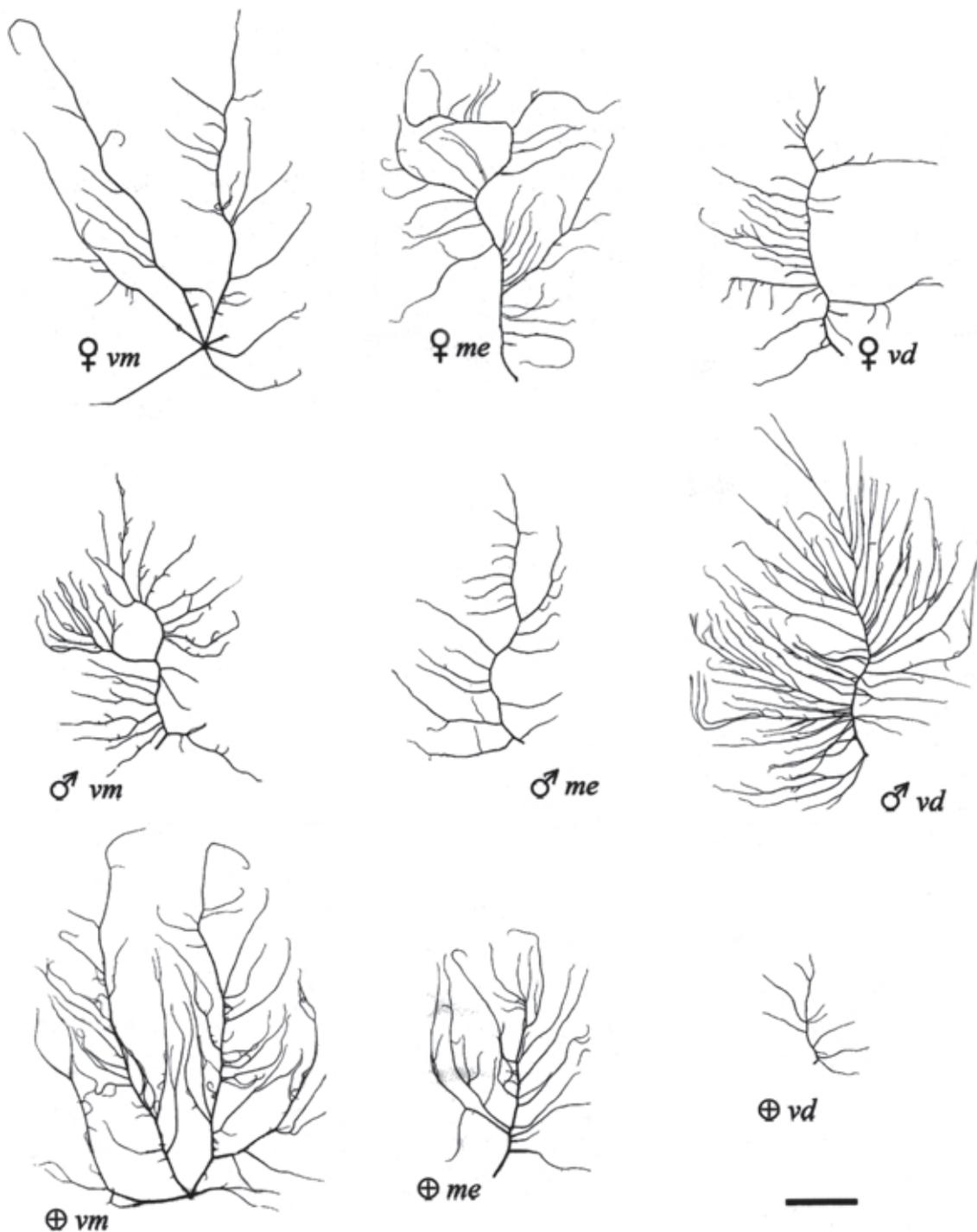


Figura 6. *Gracilaria birdiae*. Aspecto geral de espécimes com 18 meses de idade e diferentes colorações do talo e estádios reprodutivos. Gametófitos femininos (♀), masculinos (♂) e tetrasporófitos (⊕), de coloração vermelha (vm), marrom-esverdeada (me) e verde (vd), escala: 5 cm.

cistocarpos em espécimens de coloração verde ocorreu apenas em fotoperíodo 14L:10E. Entretanto, conceptáculos espermatangiais de espécimens verdes diferenciaram-se e liberaram espermácios tanto em fotoperíodo 14L:10E quanto em 10L:14E.

A influência do fotoperíodo na diferenciação de estruturas reprodutivas, principalmente em algas com histórico de vida heteromórfico, é atribuída à ação do fitocromo (Lobban & Harisson 1997). No entanto, deve-se tomar o devido cuidado de distinguir as respostas ao fotoperíodo daquelas relacionadas à irradiância total recebida pela alga. Como a irradiância empregada nos experimentos foi a mesma nos dois fotoperíodos, pode-se afirmar que os espécimens cultivados em 10L:14E receberam quantidades inferiores de irradiância diária, quando comparados aos cultivados em 14L:10E. Portanto, neste caso, a indução ou não da diferenciação de estruturas reprodutivas poderia ser consequência do total de irradiância recebida, e não necessariamente do fotoperíodo. Um outro desenho experimental seria necessário para distinguir estes dois efeitos, como o adotado para *Psilothalia dentata* (Okamura) Kylin (Ceramiales, Rhodophyta), implicando necessariamente em uma quebra no período escuro (Fredriksen *et al.* 1990). Neste caso, a diferenciação de tetrasporângios foi induzida por dia curto, mas não foi interrompida por uma quebra no período escuro, descaracterizando uma possível ação do fitocromo. Por outro lado, espécies como *Chondracanthus acicularis* (Roth) Fredericq (como *Gigartina acicularis*) possuem respostas quantitativas ao fotoperíodo, atuando o dia longo apenas na redução do tempo necessário para a diferenciação de tetrasporângios (Guiry 1984).

Espécimens utilizados no atual trabalho foram derivados de uma população localizada na região equatorial, que está submetida a um fotoperíodo constante de 12L:12E. Desta forma, respostas legítimas ao fotoperíodo não seriam esperadas. No entanto, é necessário salientar que os espécimens utilizados estavam aclimatados às condições de cultivo *in vitro*, e que as respostas possivelmente poderiam ser alteradas caso a temperatura, o estado nutricional e/ou a irradiância fossem modificados. A interação entre fatores como temperatura e

irradiância é amplamente reconhecida na literatura (Rabanal *et al.* 1997, Wilson & Critchley 1997).

Espécimens de *Gracilaria* sp. de coloração vermelha, marrom-esverdeada e verde apresentaram algumas diferenças quanto aos caracteres reprodutivos, que poderiam ser relevantes na definição de critérios taxonômicos na família Gracilariaceae (Costa 2000). A presença de célula de fusão extremamente ramificada é reportada como uma característica do gênero *Hydropuntia* Montagne. No entanto, este gênero apresenta conceptáculos espermatangiais do tipo *henriquesiana*, enquanto que conceptáculos do tipo *verrucosa* são uma característica do gênero *Gracilaria* (Fredericq & Hommersand 1990). A ocorrência de conceptáculos espermatangiais distintos em espécimens vermelhos e verdes, bem como a ocorrência dos dois tipos em espécimens marrom-esverdeados de *Gracilaria* sp. são indícios da fragilidade deste caráter como marcador taxonômico, já que estiveram presentes em linhagens cultivadas nas mesmas condições experimentais, não se tratando, no caso, de variações impostas pelo ambiente.

Os resultados obtidos a partir do estudo de variantes cromáticas de *Gracilaria* sp. realizado em condições controladas de laboratório demonstram que o tipo de conceptáculo espermatangial (*verrucosa* X *henriquesiana*), caráter diagnóstico para *Gracilaria* e *Hydropuntia* (Fredericq & Hommersand 1990), pode expressar-se na variabilidade de uma única espécie, e em última análise na variabilidade da descendência de um único indivíduo tetrasporofítico.

O presente trabalho demonstra que linhagens geneticamente distintas de *Gracilaria* sp. comportam-se diferentemente quanto ao tempo necessário para atingir a maturidade reprodutiva. Também confirma a influência de fatores ambientais na diferenciação de estruturas reprodutivas e conseqüentemente no tempo necessário para se completar o histórico de vida. Além disso, reforça a importância da realização de estudos adicionais que visem o reconhecimento e a distinção do efeito destes fatores.

Agradecimentos - à FAPESP pelo auxílio concedido (Proc. 98/11942-1); ao CNPq pelas bolsas de mestrado e de pesquisa concedidas para a primeira e segunda autoras, respectivamente (Proc. 132845/98-9 e 300148/93-3).

Referências bibliográficas

- BIRD, N., MCLACHLAN, J. & GRUND, D. 1977. Studies on *Gracilaria*. 5. *In vitro* life history of *Gracilaria* sp. from the Maritime Provinces. Canadian Journal of Botany 55:1282-1290.
- COSTA, V.L. 2000. Caracterização genética, reprodutiva e pigmentar de uma linhagem selvagem e duas variantes cromáticas de *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta). Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- DESTOMBE, C., VALERO, M., VERNET, P. & COUVET, D. 1989. What controls diploid-haploid ratio in the red alga, *Gracilaria verrucosa*? Journal of Evolutionary Biology 2:317-338.
- EDWARDS, P. 1970. Illustrated guide to the seaweeds and sea grasses in the vicinity of Porto Aransas, Texas. Contributions in Marine Science 15:1-228.
- FREDERICQ, S. & HOMMERSAND, M.H. 1990. Diagnoses and key to the genera of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta). Hydrobiologia 204/205:173-178.
- FREDRIKSEN, S., BOO, S.M. & RUENNES, J. 1990. Photoperiodism and life history of *Psilothallia dentata* (Okamura) Kylin (Ceramiaceae, Rhodophyta) in culture. Japanese Journal of Phycology 38:43-49.
- GUIMARÃES, M. 1995. Morfos pigmentares de *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta): frequência populacional, análise pigmentar e aspectos ultraestruturais. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GUIMARÃES, M., PLASTINO, E.M. & OLIVEIRA, E.C. 1999. Life history, reproduction and growth of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. Botanica Marina 42:481-486.
- GUIRY, M.D. 1984. Photoperiodic and temperature responses in the growth and tetrasporogenesis of *Gigartina acicularis* (Rhodophyta) from Ireland. Helgoländer Meeresuntersuchungen 38:335-347.
- HUGHES, J.S. & OTTO, S.P. 1999. Ecology and the evolution of biphasic life cycles. The American Naturalist 154:306-320.
- KAIN (JONES), J.M. & DESTOMBE, C. 1995. A review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. Journal of Applied Phycology 7:269-281.
- LOBBAN, C.S. & HARISON, P.J. 1997. Seaweed ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge.
- MAIRH, O.P., RAMAVAT, B.K. & SREENIVASA-RAO, P. 1990. Nutrition, Growth and tetraspore induction of *Gelidiella acerosa* (Forssk.) Feld. et Hamel (Gelidiellaceae, Rhodophyta) in culture. Botanica Marina 33:133-141.
- MARINHO-SORIANO, E., LAUGIER, T. & DE-CASABIANCA, M.-L. 1998. Reproductive strategy of two *Gracilaria* species, *G. bursa-pastoris* and *G. gracilis*, in a Mediterranean Lagoon (Thau, France). Botanica Marina 41:559-564.
- MCLACHLAN, J. & EDELSTEIN, T. 1977. Life-history and culture of *Gracilaria foliifera* (Rhodophyta) from south Devon. Journal of Marine Biology 57:577-586.
- OGATA, E., MATSUI, T. & NAKAMURA, H. 1972. The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) *in vitro*. Phycologia 11:75-80.
- OLIVEIRA, E.C. & PLASTINO, E.M. 1984. The life history of some species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Brazil. Japanese Journal of Phycology 32:203-208.
- OLIVEIRA, E.C. & PLASTINO, E.M. 1994. Gracilariaceae. In Biology of Economic algae (I. Akatsuka, ed.). SPB Academic Publishing bv, The Hague, p.185-226.
- PATWARY, M.U. & VAN DER MEER, J.P. 1982. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). VIII. Phenotypic and genetic characterization of some morphological mutants. Canadian Journal of Botany 60:2556-2564.
- PLASTINO, E.M. 1985. As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP. - aspectos biológicos e fenologia. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PLASTINO, E.M. 1991. Cultivo *in vitro*, estudos reprodutivos e biosistemática de algas gracilarióides (Rhodophyta, Gracilariales) de talo cilíndrico. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PLASTINO, E.M. & COSTA, V.L. 1999. Ultrastructure of vegetative branches of the red macroalgae *Gracilaria* sp. (Gracilariales). Acta Microscopica 8:793-794.
- PLASTINO, E.M. & OLIVEIRA, E.C. 1988. Sterility barriers among species of *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) from the São Paulo littoral, Brazil. British Phycological Journal 23:267-271.
- PLASTINO, E.M. & OLIVEIRA, E.C. 1989. Crossing experiments as an aid to the taxonomic recognition of the agarophyte *Gracilaria*. In Cultivation of Seaweeds in Latin America. Workshop- Universidade de São Paulo/ Int. Foundation for Science, April 2-8, 1989. (E.C. Oliveira & N. Kautsky, eds.). São Paulo, p.127-133.
- PLASTINO, E.M., PAULA, E.J. & OLIVEIRA, E.C. 1995. Técnicas de hibridación en macroalgas marinas. In Manual de Métodos Ficológicos (K. Aveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar, eds.). Universidad de Concepcion, Concepcion, p.479-487.
- RABANAL, S.F., AZANZA, R. & HURTADO-PONCE, A. 1997. Laboratory manipulation of *Gracilariopsis bailinae* Zhang et Xia (Gracilariales, Rhodophyta). Botanica marina 40:547-556.
- VAN DER MEER, J.P. 1978. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). III. Non-mendelian gene transmission. Phycologia 17:314-318.
- VAN DER MEER, J.P. 1979. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). V. Isolation and characterization of mutant strains. Phycologia 18:47-54.
- VAN DER MEER, J.P. 1986. Genetic contributions to research on seaweeds. Progress in Phycological Research 4:1-38.
- VAN DER MEER, J.P. & BIRD, N.L. 1977. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). I. Mendelian inheritance of two spontaneous green variants. Phycologia 16:159-161.

- VAN DER MEER, J.P. & PATWARY, 1983. Genetic modification of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). The production and evaluation of polyploids. *Aquaculture* 33:311-316.
- WILSON, A.J. & CRITCHLEY, A.T. 1997. Studies on *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft, Farnham and Irvine and *Gracilaria aculeata* (Hering) Papenfuss from southern Africa. I. The influence of temperature, irradiance, salinity and nitrogen-nutrition on growth. *South African Journal of Botany* 63:465-473.
- YAMAMOTO, H. 1984. An evaluation of some vegetative features and some interesting problems in Japanese populations of *Gracilaria*. *Hydrobiologia* 116/117:51-54.
- YAMAMOTO, H. 1991. Life history of *Gracilaria salicornia* (C. Ag.) Dawson (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Japanese Journal of Phycology* 39:55-56.
- YAMAMOTO, H. & NORO, T. 1993. In vitro life history and spermatangial type of *Gracilaria eucheumoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Japanese Journal of Phycology* 41:131-135.
- ZHANG, X.C. & VAN DER MEER, J.P. 1987. A study on heterosis in diploid gametophytes of the marine red alga *Gracilaria tikvahiae*. *Botanica marina* 30:309-314.