

EFEITOS DA TEMPERATURA, INTENSIDADE LUMINOSA E CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE *Gelidium crinale* (TURNER) LAMOUREUX (RHODOPHYTA, GELIDIACEAE)

Paulo Nelo Mediros Perfeto¹
 Lúcia Rebello Dillenburg¹
 Tabajara Lucas de Almeida²
 Albano Schwarzbald¹

RESUMO

Os efeitos interativos dos parâmetros abióticos como temperatura, intensidade luminosa e concentração de fósforo inorgânico dissolvido na água do mar, na produção de proteínas, carboidratos, acúmulo de fósforo tecidual em *Gelidium crinale* (Turner) Lamouroux, foram investigados durante sete dias de cultivo laboratorial, sob condições controladas. O maior incremento de 2,67% nos teores de proteínas foi obtido à temperatura de 25 °C e 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa, diminuindo com a elevação da intensidade luminosa para 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para carboidratos, ocorreram interações significativas entre os três parâmetros, com um aumento de 6,85% registrado a 25 °C, 24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa e 10 μM de fósforo inorgânico. O aumento máximo na taxa de fósforo tecidual (0,56%) ocorreu em talos cultivados nas menores temperatura e intensidade luminosa e na maior concentração de fósforo inorgânico dissolvido.

Palavras-chave: *Gelidium crinale*, proteínas, carboidrato, fósforo tecidual, parâmetros abióticos.

ABSTRACT

Effects of temperature, light intensity and phosphorus concentration in the chemical composition of *Gelidium crinale* (Turner) Lamouroux (Rhodophyta, Gelidiaceae)

The interactive effects of the environmental parameters such as temperature, light intensity and dissolved inorganic phosphorus concentration in the seawater, on the protein and carbohydrate production and on tissue phosphorus accumulation in *Gelidium crinale*, were investigated in laboratory cultures, for seven days, under controlled conditions. The increase of 2.67% in the proteins content, was obtained at temperature of 25 °C and light intensity of 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, decreasing with an increase in light intensity toward 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. For carbohydrates there was a significant interaction among the abiotic parameters, with a maximum increment of 6.85% at 25 °C, 24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of light intensity and 10 μM of inorganic phosphorus. The highest increase on the tissue phosphorus concentration (0.56%) occurred in thalli grown under the lowest temperature and light intensity and highest dissolved inorganic phosphorus concentration used in this study.

Key words: *Gelidium crinale*, proteins, carbohydrates, tissue phosphorus and abiotics parameters.

INTRODUÇÃO

O interesse pelas espécies de *Gelidium* Lamouroux, em seu estado natural, vem mundialmente aumentando devido ao alto valor de seus polissacarídeos, com larga utilização nos vários segmentos industriais

e em biotecnologia (INDERGAARD; ØSTGAARD, 1991; DE ROECK-HOLTZHAUER, 1991; TSENG, 2001).

A intensa exploração das espécies economicamente viáveis provoca um efeito destrutivo nas populações naturais devido à relativa fragilidade das mesmas. Este

Recebido em: 08.09.03; aceito em: 23.06.04.

¹ Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Campus do Vale, Prédio 43433. CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil – E-mail: pnperfeto@ig.com.br

² Departamento de Matemática, Fundação Universidade do Rio Grande. Caixa Postal 474, CEP 96200-000, Rio Grande, RS, Brasil.

fato resultou em estudos ecológicos (ANDERSON et al., 1991; ENGEL; DESTOMBE, 2002), cultivados em ambientes naturais (WAKIBIA et al., 2001; JAYASANKAR; VARGHESE, 2002), em tanques de cultura massiva (NAGLER et al., 2003) e laboratoriais (OLIVEIRA et al., 1990; ISRAEL et al., 1999), principalmente para as espécies dos gêneros *Gelidium* e *Gracilaria*.

As informações relativas aos parâmetros abióticos são fundamentais para que um sistema de cultivo algal se torne efetivo, permitindo o controle do crescimento, reprodução, ciclo de vida, produção de biomassa e composição química de várias espécies de algas (PERFETO, 1998; SOUSA-PINTO et al., 1999; ORDUNA-ROJAS et al., 2002), que são regulados por uma complexa interação entre os parâmetros ambientais como temperatura, luz, e nutrientes (SANTELICES, 1987; VERGARA et al., 1993; BELLORÍN; CASTRO, 1997; HERNANDEZ-GUERRERO et al., 2000).

Nos sistemas de cultivo a temperatura é um fator fundamental, devido a seus efeitos nas atividades e propriedades moleculares, praticamente em todos processos metabólicos (LOBBAN; HARRISON, 1994). A temperatura pode ser controlada e mantida em níveis ótimos e constantes, oferecendo condições para maximizar o crescimento em culturas massivas de algas (MACLER; WEST, 1987; FREDRIKSEN; RUENESS, 1989), acelerar o processo de refixação através de produção de rizóides (SALINAS; VALDES, 1993), e promover a liberação, fixação e sobrevivência de esporos (GARZA-SANCHEZ et al., 2000).

O objetivo biológico primário em um sistema de cultivo, fora do ambiente natural, é obter a máxima produção algal através da efetiva captação de energia luminosa pela estrutura vegetativa, transformando-a em energia química, que é utilizada diretamente nos processos vitais de manutenção ou acumulada sob forma de biomassa quando em condições favoráveis (MCLACHLAN, 1991; MACCHIAVELLO et al., 1998; WONG; CHANG, 2000).

O efeito da variação na disponibilidade de fósforo não tem sido muito estudado em macroalgas, embora seja um elemento que atua diretamente em quase todas as fases do metabolismo, particularmente nas reações de transformação de energia (KUHL, 1974). O fósforo normalmente não é considerado um elemento limitante no meio marinho (LOBBAN; HARRISON, 1994), porém sua presença associada a compostos como nitrato e amônio em meio de cultivos interfere

na taxa de crescimento e no conteúdo de proteínas, polissacarídeos de reserva e/ou estrutural, cinzas e pigmentos (CHOPIN et al., 1991; 1995; HAFTING, 1999).

Poucas são as informações a respeito do comportamento apresentado por *Gelidium crinale* em função das variações de parâmetros abióticos. Portanto, a proposta deste trabalho foi determinar condições ambientais ideais responsáveis pelo incremento de proteínas, carboidratos solúveis e fósforo tecidual nos talos da espécie, mantida em diferentes condições controladas de cultivo unialgal.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Limpeza

As amostras de talo vegetativo de *Gelidium crinale* (Turner) Lamouroux, coletadas no Molhe Oeste de Rio Grande, RS, Brasil (32°09'54" LS; 52°05'35" LW), foram transportadas para o laboratório em sacos plásticos com água do ambiente, sendo colocadas em aquários e posteriormente limpas com água do mar filtrada. Durante a limpeza, os talos foram transferidos para outro aquário, onde permaneceram por duas semanas na temperatura de 20 °C, intensidade luminosa ambiente (8 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), para adaptação.

Antes de iniciar o cultivo, os talos da alga foram mantidos por um minuto em uma solução de hipoclorito de sódio em água do mar numa concentração de 1:1000 (v:v) (SALINAS, 1991), e em seguida em uma solução de dióxido de germânio (GeO_2), por duas horas, na concentração de 6 mg/l para eliminação de diatomáceas, segundo procedimentos modificado de Polne-Fuller e Gibor (1987) e Vergara et al. (1993). Após este processo, selecionaram-se talos íntegros, que foram divididos em duas partes, onde uma foi utilizada para o cultivo e a outra, definida como controle, que após o período de adaptação, sem ser cultivada, foi armazenada seca, conforme descrito abaixo.

Cultivo das Algas

Os talos de *G. crinale* foram cultivados em frascos de Erlenmeyer de 1.000 ml, durante uma semana. Os meios de cultivos foram preparados com água do mar a 25 ups de salinidade, filtrada em filtro para água, com elemento filtrante de 1 μm de poro, autoclavada a uma pressão de 1,5 atm e enriquecida com diferentes concentrações de fósforo (2,5; 5,0 ou 10,0 μM), na forma de ortofosfato ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ p.a.) e com concentração constante (50 μM) de nitrogênio (NH_4Cl p.a.),

mantida através de adição do composto a cada 48 horas. Para ajustar as concentrações de fosfato e amônio nos meios de cultivo, a água do mar, antes e após o enriquecimento com estes nutrientes, foi filtrada em filtro de $0,45 \pm 0,02 \mu\text{m}$ (Millipore HA) e a determinação das concentrações seguiu os métodos colorimétricos descritos em Baumgarten et al. (1996).

Os cultivos ficaram expostos a temperaturas de 20 ou 25 °C com variação de ± 1 °C, e intensidade luminosa de 12, 24 ou 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (400-700 nm), proveniente de lâmpadas fluorescente (luz do dia plus, F20W), com fotoperíodo de 12:12 (luz:escuro) e aeração constante. Cada condição experimental, resultante da combinação dos diferentes níveis de luz, temperatura e concentração de fósforo, foi realizada em duplicata.

Análises Químicas

As algas provenientes do cultivo e da amostra controle foram secas em estufa a 60 °C por 24 horas. Após terem sido trituradas, foram conservadas em sacos plásticos herméticos a uma temperatura de 15 °C negativos (PERFETO, 1983), até o momento da análise das biomoléculas e fósforo tecidual.

A quantidade de proteínas foi determinada a partir do nitrogênio total, obtido pelo método de Microkjeldhal (A.O.A.C. 1980), multiplicado pelo fator padrão de 6,25 (ABDEL-FATAH et al., 1973). O conteúdo de carboidratos solúveis foi determinado, após extração com ácido tricloroacético 5% a quente, pelo método colorimétrico fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), usando glicose como padrão. Os teores de fósforo tecidual foram determinados a partir do conteúdo de cinzas, pelo método colorimétrico, usando reagente vanadomolibdato (APHA, 1989).

Todas as análises químicas foram realizadas em triplicata para cada amostra, e os valores dos componentes químicos estimados em percentagem de peso seco (proteínas e carboidratos) e de cinzas (fósforo tecidual).

Análise Estatística

Os resultados (diferença entre os valores obtidos após cultivo e a amostra controle) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$), utilizando um modelo fatorial $2 \times 3 \times 3$ para determinar o efeito isolado e interativo dos parâmetros abiótico na produção de proteínas, carboidratos e fósforo tecidual. Para a comparação das médias foi determinada a diferença mínima significativa (d.m.s.), obtidas através do teste

“posthoc” de comparações múltiplas de Duncan (STATSOFT, INC. 1995).

RESULTADOS

Para o estudo da ação individual e sinérgica dos parâmetros abióticos, temperatura, intensidade luminosa e fósforo inorgânico dissolvido, sobre o incremento de proteínas, carboidratos solúveis e fósforo tecidual nos talos de *Gelidium crinale*, fixou-se a salinidade em 25 ups; valor este encontrado no ambiente durante a estação do ano em que ocorre a maior taxa de crescimento desta espécie. Os resultados encontrados para os componentes químicos foram submetidos à análise de variância fatorial, cujo resumo é mostrado na Tabela 1.

Os maiores incrementos de proteínas variaram entre 2,33% a 2,67% nas temperaturas de 20 °C e 25 °C respectivamente, quando foi aplicado ao cultivo uma intensidade luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e concentração de 10 μM fósforo inorgânico dissolvido (Fig. 1). A 25 °C, os percentuais de proteínas registrados nas concentrações de 2,5 e 5,0 μM de fósforo inorgânico dissolvido, não apresentaram diferenças significativas, ao nível de 5%, em cada intensidade luminosa avaliada, formando grupos estatísticos iguais entre si.

Para carboidratos, os maiores incrementos, em relação a amostra controle, ocorreram quando os talos foram cultivados em intensidade luminosa de 24 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig. 2), sendo mais evidente a 25 °C do que a 20 °C, registrando um teor máximo de 6,85 % no meio de cultivo com concentração de 10,0 μM de fósforo inorgânico dissolvido.

Os teores de fósforo tecidual aumentaram com o aumento da disponibilidade de fósforo inorgânico dissolvido no meio de cultivo. Os maiores incrementos (0,56%) ocorreram em talos de *G. crinale* expostos a intensidade luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, temperatura de 20 °C e concentração de 10 μM de fósforo inorgânico dissolvido (Fig. 3). Com o aumento da temperatura estas concentrações de um modo geral diminuíram e apresentaram uma redução mais pronunciada com o aumento intensidade luminosa na concentração de 2,5 μM de fósforo inorgânico, registrando valor negativo de -0,04%.

DISCUSSÃO

Os efeitos dos parâmetros abióticos, estudados em cultivos laboratoriais, estão relacionados com o local e época de coletas, os quais interferem na fisiologia

das espécies estudadas (PFETZING et al., 2000). *Gelidium crinale* foi coletada em ambiente que recebe grande contribuição de água proveniente da Laguna dos Patos, cujos parâmetros abióticos apresentam marcadas flutuações ao longo do ano, com grande carga de material em suspensão, o que impede a penetração da luz (KATIN; BAUMGARTEN, 1982; PERFETO, 1998). Determinadas espécies de *Gelidium* podem crescer em meios de cultivos onde a intensidade de luz varia entre 40 a 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (FREDRIKSEN; RUENES, 1989; SOUSA-PINTO et al., 1999). Contudo, em ambientes naturais, espécies deste gênero (SANTELICES, 1988) tendem a crescer melhor em locais sombreados.

Estudos laboratoriais preliminares revelaram que, intensidade luminosa relativamente alta (100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), foi responsável pelo processo de foto-oxidação dos pigmentos vermelhos de *G. crinale*. Porém, talos que foram mantidos em baixa intensidade luminosa (8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), durante processo de adaptação, mantiveram sua coloração natural. Provavelmente isto ocorre porque em seu habitat natural os talos desta alga crescem em locais protegidos da luz, além da presença de materiais em suspensão (observação pessoal). Em populações naturais de *Hypnea musciformis* (DURAKO; DAWES, 1980) e de *Gracilaria cornea* (ORDUÑA-ROJAS et al., 2002), a manutenção da coloração dos talos, função dos elevados índices de pigmentos vermelhos (ficobilinas), está associada às baixas intensidades luminosas.

A concentração de proteínas nos talos das algas está associada ao tipo de íon nitrogênio disponível no meio, variando de acordo com sua concentração (NAVARO-ÂNGULO; ROBLEDO, 1999). Ao longo de todo experimento com *G. crinale* a concentração deste íon foi mantida constante, sendo a produção de proteínas resultado da ação dos outros fatores abióticos estudados. Os resultados obtidos demonstraram que o incremento de proteínas esteve inversamente relacionado com a intensidade luminosa e diretamente com temperatura e fósforo inorgânico dissolvido no meio de cultivo. Em todas interações analisadas observou-se um aumento nos teores de proteínas em relação às amostras controle. Análises estatísticas revelaram que cultivar talos de *G. crinale* nas duas temperaturas estudadas, associadas a maior concentração de fósforo inorgânico dissolvido no meio, não apresentam, entre os valores médios de proteínas, diferenças significativas ao nível de 5%, quando a intensidade luminosa for baixa. Porém, quando o interesse do estudo for quantitativo, pode-se afirmar que a tempe-

ratura de 25 °C é a ideal, uma vez associada à alta concentração de fósforo inorgânico dissolvido e, principalmente, a menor intensidade luminosa. Estudos com talos de *Ulva pertusa* (FLORETO; THESIMA, 1998) revelaram que baixa intensidade luminosa (15 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) é responsável pelo aumento nos teores de proteínas.

A ação sinérgica dos três parâmetros abióticos estudados interferiu de maneira significativa na produção de carboidratos solúveis nos talos de *G. crinale*. Este efeito foi observado quando se aumentou em 5 °C a temperatura do meios de cultivos. Esta variação modificou os teores de carboidratos, acentuando as diferenças entre os valores resultantes, nas distintas concentrações de fósforo inorgânico dissolvido.

Com o aumento da intensidade de luz para 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ocorreu um decréscimo na quantidade de carboidratos. Logo, entre 24 e 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ encontra-se a radiação limite, nas condições do estudo, responsável pelo balanceamento ou inibição da síntese de carboidratos. Sousa-Pinto et al. (1999) observaram que, acima de um certo limite de irradiação (130 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), a síntese de carboidratos (amido) pode ser balanceada ou inibida em função da imediata construção de compostos precursores de agarobiose, para posterior síntese de novos polissacarídeos da parede celular.

Na natureza, o acúmulo de fósforo nos tecidos algais é uma adaptação estratégica para manter o crescimento das algas, durante período de baixa concentração deste elemento na água do mar. Em culturas esta estratégia não se torna necessária, pois os nutrientes são mantidos em altos níveis, evitando a limitação do elemento fósforo (CHOPIN; WAGEY, 1999). Os resultados obtidos demonstraram que, além da elevada concentração do fósforo inorgânico dissolvido no meio, os baixos índices de intensidade luminosa e de temperatura foram responsáveis pelo acúmulo de fósforo tecidual em *G. crinale*. Os baixos níveis destes parâmetros físicos são responsáveis pelo retardamento no crescimento (BELLORIN; CASTRO, 1997; HURTADO-PONCE; PONDEVIDA, 1997) e diminuição das atividades metabólicas (LOBBAN; HARRISON, 1994), o que pode ser constatado na alga em estudo, quando se constatou a menor produção, principalmente de carboidratos, permitindo que a concentração do fósforo inorgânico acumulado nos talos de *G. crinale* se mantivesse elevada.

A elevação da intensidade luminosa e temperatura associada à baixa concentração de fósforo inorgânico

no meio (2,5 μM), provocaram uma diminuição dos teores de fósforo tecidual, resultando inclusive em valor negativo, quando comparado com a amostra controle. Esta redução na concentração de fósforo tecidual não foi resultante de sua diluição por crescimento algal, pois durante o período experimental *G. crinale* não apresentou variação de biomassa. Porém, a partir do quinto dia de cultura, constatou-se que o fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultivos, com concentração inicial de 2,5 μM , tinha sido totalmente absorvido, permanecendo ausente até o final do experimento. O fosfato inorgânico transportado através da plasmalema das células, constitui um grupo de fosfato intracelular incorporado em metabólitos fosforilados (CHOPIN et al., 1990) e armazenados em vacúolos ou em vesículas polifosfáticas (LUNDBERG et al., 1989); contudo, dependendo das condições ambientais alguns grupos de fosfato citoplasmático atravessam a membrana celular e reaparecem no meio como fosfato externo (LOBBAN; HARRISON, 1994). Portanto, acredita-se que tenha ocorrido uma perda do fósforo inorgânico das células de *G. crinale* para o meio, em função da falta deste elemento no meio de cultivo.

Como resposta às diferentes concentrações de fósforo inorgânico dissolvido, aplicadas aos meios de cultivos, os talos de *G. crinale* armazenaram mais nutriente, principalmente na maior concentração estudada. Esta capacidade de incorporar fósforo inorgânico e armazená-lo no interior das células, quando suas concentrações estão elevadas no meio, é denominada "consumo de luxo" (SALIBURY; ROSS, 1994), sendo uma estratégia considerada ecologicamente importante, pois esta quantidade excedente permite que as algas cresçam mesmo em situações onde o fósforo é limitante (KUHLE, 1974). O aumento na concentração de fósforo tecidual em *G. crinale* foi proporcional ao aumento da concentração de fósforo inorgânico nos meios de cultivo.

O estudo da ação sinérgica das variáveis abióticas sobre os talos de *Gelidium crinale*, mantidos em cultivos, permitiram definir, entre os índices estabelecidos, os valores ideais de cada um, responsáveis pelo incremento seja no conteúdo de proteínas, de carboidratos ou de fósforo tecidual, tão importantes na avaliação do estado fisiológico das algas. Estes conhecimentos contribuirão para a utilização mais racional desta espécie, direcionando desta forma, mais precisamente, o objetivo a ser atingindo, através da realização de futuros trabalhos de maricultura.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Danilo Calazans, Laboratório de Crustáceos, Departamento de Oceanografia, Prof. Dr. Luiz Felipe Niencheski, Laboratório de Hidroquímica, Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), por permitirem a utilização de seus laboratórios para que este trabalho se realizasse. À Dra. Lezilda C. Torgan, Dra. Iara Maria Franceschini e Dr. João Ito Bergonci pela pelas sugestões e críticas apresentadas a este trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, que permitiu, através do Processo 200553/94, ampliar os conhecimentos do primeiro autor na área de Ficologia.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, A. F.; ABED, N.M.; EDREES, M. Seasonal variation in the chemical composition of agarophyte *Pterocladia capillaceae*. **Australian Journal of Marine Freshwater Research**, Collingwood, v. 24, p.177-181, 1973.
- ANDERSON, R. J. et al. *Gelidium pristoides* in South Africa. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 221, p.55-66, 1991.
- A.O.A.C. **Official methods of analysis of the association of official agriculture chemistry**. Washington, D.C.: (William Horwitz, Ed.). 1980.
- APHA. **American Public Health Association. Standard methods for examination of water and wastewater**. Vanadomolybdo-phosphoric Acid Colorimetric Method 4500-PC. In: CLESCERI, L. S.; GREENBERG, E.; TRUSSEL, R. (Ed.). Washington, p. 4-112. 1989.
- BAUMGARTEN, M. G. Z.; ROCHA, J.M.B.; NIENCHESKI, L.F. **Manual de Análises em Oceanografia Química**. Rio Grande: (FURG Ed.), 1996. 132 p.
- BELLORÍN, A. M.; CASTRO, A.J.L. Efecto de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento *in vitro* del alga *Gracilariaopsis tenuifrons* (Bird & Oliveira) Fredericq & Hommersand (Gracilariales, Rhodophyta). **Boletín Instituto Oceanográfico de la Venezuela, Universidad Oriente**, Cumana-Sucure, v. 36, n. 1-2, p. 61-67, 1997.
- CHOPIN, T. et al. Seasonal variations of growth in the red algae *Chondrus crispus* on the Atlantic French coasts. II. Relations with phosphorus concentration in seawater and internal phosphorylated fractions. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 68, p. 512-517, 1990.
- CHOPIN, T.; HANISAK, M.D.; KOEHN, F.E. Effects of seawater phosphorus concentration on floridean starch content in *Agardhiella subulata* (C: Agardh) Kraft et Wynne (Rhodophyceae). **Botanica Marina**, New York, v. 34, p. 369-373, 1991.
- CHOPIN, T.; GALLANT, T.; DAVISON, I. Phosphorus and nitrogen nutrition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta): Effects on total phosphorus and nitrogen content, carrageenan production and photosynthetic pigments. **Journal of Phycology**, Halifax, v. 31, p. 283-293, 1995.
- CHOPIN, T.; WAGEY, B.T. Factorial study of the effects of phosphorus and nitrogen enrichments on nutrient and carrageenan content in *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and on residual nutrient concentration in seawater. **Botanica Marina**, New York, v. 42, p.23-31, 1999.
- DE ROECK-HOLTZHAUER, Y. Use of seaweeds in cosmetics. In: GUIRY, M. D.; G. BLUDEN (Ed.). **Seaweed resources in Europe uses and potential**, Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1991. Cap. 4, p. 83-94.

- DUBOIS, M., et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p. 352-356, 1956.
- DURAKO, M. J.; DAWES, C. J. A comparative seasonal study of two populations of *Hypnea musciformis* from the East and West coasts of Florida, USA. I. Growth and chemistry. **Marine Biology**, Berlin, v. 59, p.151-156, 1980.
- ENGEL, C. R.; DESTOMBE, C. Reproductive ecology of an intertidal red seaweed, *Gracilaria gracilis*: influence of high and low tides on fertilization success. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, Cambridge, v. 82, p.189-192, 2002.
- FLORETO, E.A.T.; TESHIMA, S. The fatty acid composition of seaweeds exposed to different levels of light intensity and salinity. **Botanica Marina**, New York, v. 41, p. 467-481, 1998.
- FREDRIKSEN, S.; RUENESS, J. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. **Botanica Marina**, New York, v. 32, p. 539-546, 1989.
- GARZA-SÁNCHEZ, F. J.; ZERTUCHE-GONZÁLES, A.; CHAPMAN, D. J. Effect of temperature and irradiance on the release, attachment and survival of spores of *Gracilaria pacifica* Abbott (Rhodophyta). **Botanica Marina**, New York, v. 40, p. 205-212, 2000.
- HAFTING, J. T. Effect of tissue nitrogen and phosphorus quota on growth of *Porphyra yezoensis* blades in suspension cultures. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 398/399, p. 305-314, 1999.
- HERNANDEZ-GUERRERO, C. J. et al. Effect of climatic variation on the relative abundance of the red alga *Gelidium robustum* in Baja California Sur, Mexico. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 12, p.177-183, 2000.
- HURTADO-PONCE, A. Q.; H. B. PONDEVIDA. The interactive effect of some environmental factors on the growth, agar yield and quality of *Gracilariopsis bailinae* (Zhang et Xia) cultured in tanks. **Botanica Marina**, New York, v. 40, p. 217-223, 1997.
- INDERGAARD, M.; ÆSTGAARD, K. Polysaccharides for food and pharmaceutical uses. In: GUIRY, M. D.; G. BLUDEN (Ed.). **Seaweed resources in Europe uses and potential**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1991. Cap. 7. p.169-183.
- ISRAEL, A.; MARTINEZ-GOSS, M.; FRIEDLANDER, M. Effects of salinity and pH on growth and agar yield of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* in laboratory and outdoor cultivation. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 11, p. 543-549, 1999.
- JAYASANKAR, R.; VARGHESE, S. Cultivation of marine red alga *Gracilaria edulis* (Gigartinales, Rhodophyta) from spores. **Indian Journal of Marine Sciences**, New Delhi, v. 31, p. 75-77, 2002.
- KATIN, R.; BAUMGARTEN, M. G. Z. Observações hidrográficas no estuário da Lagoa dos Patos: distribuição e flutuações dos sais nutrientes. **Atlântica**, Rio Grande, v. 5, p. 76-92, 1982.
- KUHL, A. Phosphorus. In: STEWART, W. D. P. (Ed). **Algal Physiology and Biochemistry**, New York: Academic Press, 1974. p. 636-654.
- LOBBAN, C. S.; HARRISON, P. J. **Seaweeds ecology and physiology**. New York: Cambridge University Press, 1994. 366 p.
- LUNDBERG, P. et al. Phosphorus-31 and Nitrogen-14 NMR studies of the uptake of phosphorus and nitrogen compounds in the marine macroalgae *Ulva lactuca*. **Plant Physiology**, Denville, v. 89, p.1380-1387, 1989.
- MACCHIAVELLO, J. E.; DE PAULA, E. J.; OLIVEIRA, E. C. Growth rate responses of five commercial strains of *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales) to temperature and light. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 29, n. 2, p. 259-266, 1998.
- MCLACHLAN, J. L. General principles of on-shore cultivation of seaweeds: effects of light on production. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 221, p.125-135, 1991.
- MACLER, B.A.; WEST, J.A. Life history and physiology of the red alga, *Gelidium coulteri*, in unialgal culture. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 61, p. 281-293, 1987.
- NAGLER, P. L. et al. Effects of fertilization treatment and stocking density on the growth and production of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in cage culture at Molokai, Hawaii. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 219, p. 379-391, 2003.
- NAVARO-ANGULO, L.; ROBLEDO, D. Effects of nitrogen source, N:P ratio and N-pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 398/399, p. 315-320, 1999.
- OLIVEIRA, E. C.; DE PAULA, E. J.; BERCHEZ, F. A. S. Essays on the cultivation of tropical seaweeds in tanks. In: OLIVEIRA E. C. DE & N. KAUTSKY (Ed.). **Cultivation of seaweeds in Latin América**. São Paulo: USP, p. 69-74, 1990.
- ORDUÑA-ROJAS, J.; ROBLEDO, D.; DAWES, C. J. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatan, México. I. Seasonal physiological and biochemical responses. **Botanica Marina**, New York, v. 45, p. 453-458, 2002.
- PERFETO, P. N. M. **Eco-bioquímica de algas marinhas bentônicas do molhe oeste do Rio Grande – RS**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) – Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande, 1983.
- _____. Relation between chemical composition of *Grateloupia doryphora* (Montagne) Howe, *Gymnogongrus griffithsiae* (turner) Martius and abiotic parameters. **Acta botânica Brasilica**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 77-88, 1998.
- POLNE-FULLER, M.; GIBOR, A. Callus and callus-like growth in seaweeds: induction and culture. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 151/152, p.131-138, 1987.
- PFETZING, J.D. et al. Effects of temperature and prolonged emersion on photosynthesis, carbohydrate content and growth on the brown intertidal alga *Pelvetia canaliculata*. **Botanica Marina**, New York, v. 40, p. 399-407, 2000.
- SALINAS, J. M. El proceso de refijación en *Gelidium sesquipedale* (Clem.)Born. et Thur. (Gelidiales:Rhodophyta). **Boletín Instituto Español de Oceanografía**, Madrid, v. 7, p. 3-58, 1991.
- SALINAS, J. M.; VALDÉS, L. Influence of temperature and photoperiod on the re-attachment process of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thurn. (Gelidiales: Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 5, p. 317-326, 1993.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiología Vegetal**. México: Grupo Editorial Iberoamérica S.A. Ed.española., 1994. 759 p.
- SANTELICES, B. Métodos alternativos para la propagación y el cultivo de *Gelidium* en Chile Central. In: VERRETH, J. A. J.; CARILLO, M.; ZANUY, S. AND HUISMAN, E. A. (Ed.). **Proceedings of the Latin American Seminar on Aquaculture in Lima**. Lima, p. 349-366, 1987.

SANTELICES, B. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). **FAO Fisheries Synopsis**, Roma, v. 145, p.1-5, 1988.

SOUSA-PINTO, I. et al. The effect of light on growth and agar content of *Gelidium pulchellum* (Gelidiaceae, Rhodophyta) in culture. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 398/399, p. 329-338, 1999.

STATSOFT, INC. **Statistica for Windows [Computer Program Manual]**. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2325 East 13th street, Tulsa, OK, 74104. 1995.

TSENG, C.K. Algal biotechnology industries and research activities in China. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 13, p. 375-380, 2001.

VERGARA, J.J.; NIELL, F.X.; TORRES, T. Culture of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born et Thurn. in chemostat system. Biomass production and metabolic responses affected by N flow. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 5, p. 405-415, 1993.

WAKIBIA, J. G.; ANDERSON, R. J.; KEATS, D. W. Growth rates and agar properties of three gracilarioids in suspended open water cultivation in St. Helena Bay, South Africa. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 13, p.195-207, 2001.

WONG, S-L.; CHANG, J. Salinity and light effects on growth, photosynthesis, and respiration of *Grateloupia filicina* (Rhodophyta). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 182, p. 387-395, 2000.

TABELA 1 – Resumo da análise de variância fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), intensidade luminosa (2), concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e suas interações sobre a quantidade dos componentes químicos produzidos durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	Proteínas		Carboidratos		Fósforo tecidual	
		F	p	F	p	F	p
1	1	25,97	0,000***	126,52	0,000***	4,83	0,035*
2	2	156,63	0,000***	92,25	0,000***	54,12	0,000***
3	2	17,83	0,000***	46,13	0,000***	216,57	0,000***
1×2	2	4,82	0,014*	6,64	0,003**	2,63	0,086ns
1×3	2	2,25	0,119ns	4,98	0,012*	10,56	0,000***
2×3	4	0,32	0,862ns	1,26	0,302ns	0,72	0,583ns
1×2×3	4	3,16	0,025*	6,79	0,000***	6,93	0,000***
Resíduo	36						
Total	53						

*** significativo $p = 0,001$, ** $p = 0,01$, * $p = 0,05$, ns = não significativo

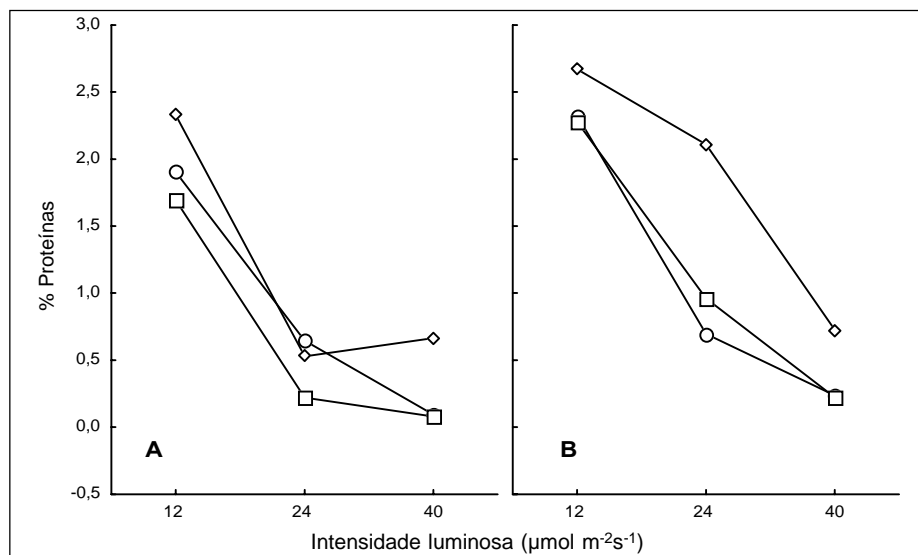


Fig. 1. Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C), e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5 μM; —□— 5,0 μM; —◇— 10,0 μM).

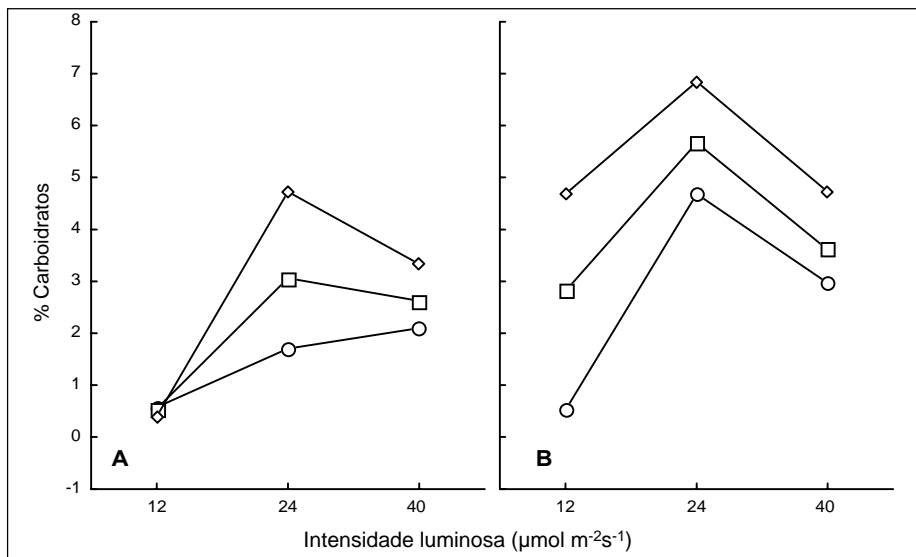


Fig. 2. Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5 μM ; —□— 5,0 μM ; —◇— 10,0 μM).

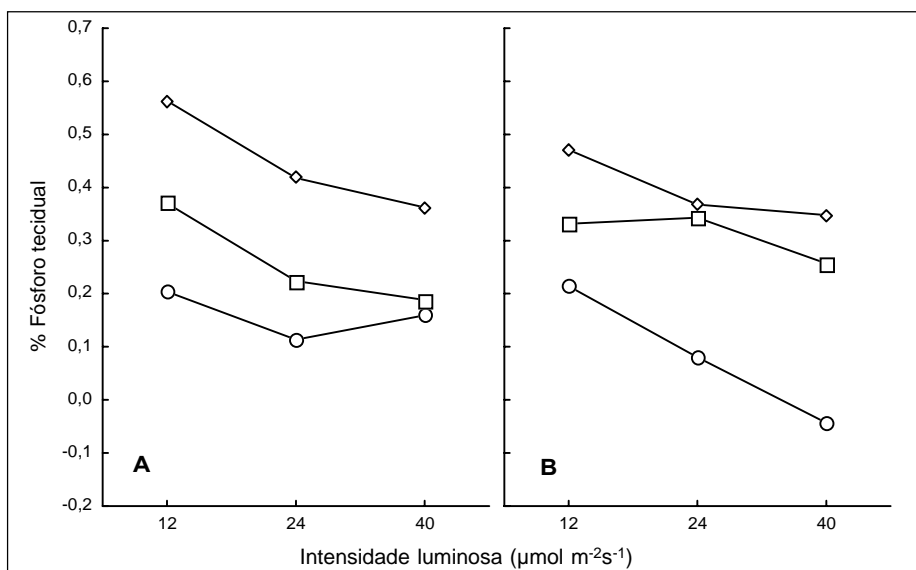


Fig. 3. Valores médios do incremento de fósforo tecidual em porcentagem de peso cinzas, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5 μM ; —□— 5,0 μM ; —◇— 10,0 μM).