



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA  
GABRIELLA GARCIA DE OLIVEIRA BEZERRA

**EFEITOS DA LUZ E TEMPERATURA NO CULTIVO *in vitro* DA FASE  
FILAMENTOSA DA MACROALGA *Pyropia* (*Pyr* CHK) (Bangiales, Rhodophyta) DA  
COSTA OESTE DO PACÍFICO**

Florianópolis

2017

Gabriella Garcia de Oliveira Bezerra

**EFEITOS DA LUZ E TEMPERATURA NO CULTIVO *in vitro* DA FASE  
FILAMENTOSA DA MACROALGA *Pyropia* (*Pyr* CHK) (Bangiales, Rhodophyta) DA  
COSTA OESTE DO PACÍFICO**

Trabalho Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do Título de Engenheira de Aquicultura.

Orientadora: Profa. Dra. Leila Hayashi

Coorientador: Prof. Dr. Cristian Bulboa Contador

Florianópolis

2017

#### Ficha de identificação da obra

A ficha de identificação é elaborada pelo próprio autor.

Orientações em:

<http://portalbu.ufsc.br/ficha>

Gabriella Garcia de Oliveira Bezerra

**EFEITOS DA LUZ E TEMPERATURA NO CULTIVO *in vitro* DA FASE  
FILAMENTOSA DA MACROALGA *Pyropia* (*Pyr* CHK) (Bangiales,  
Rhodophyta) DA COSTA OESTE DO PACÍFICO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado e adequado para obtenção do Título de Engenheiro de Aquicultura, e aprovado em sua forma final pelo curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 28 de novembro de 2017.

---

Profa. Anita Rademaker Valença, Dra.  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Profa. Leila Hayashi, Dra.  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Profa. Carmen Simioni, Dra.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Esmeralda Chamorro Legarda, Msc.  
Universidade Federal de Santa Catarina

“Sucesso nos seus empreendimentos!”

(Luiz Alvarez de Oliveira, meu avô lindo)

## AGRADECIMENTOS

Aos meus amores eternos, minha mãe Lucilene e minha irmã Isabella, que são a base da minha formação e meus exemplos de dedicação, inteligência, caráter, persistência, parceria, diversão e muito amor.

Meu avô Luiz, que me olha lá de cima, me protegendo e me fazendo sentir privilegiada por tê-lo conhecido, uma pessoa tão séria, justa, forte e com uma inteligência que só quem presenciou entende a intensidade desse homem, meu herói. A toda minha família, em especial minha vó Helena, meu tio César, minha tia Denise e minha prima Juliana, que sempre me apoiaram de todas as formas possíveis. Meu pai, José Carlos que sempre me colocou em suas orações e estava ali para o que eu precisasse, com muito carinho e tranquilidade.

Ao meu namorado Jarbas, que esteve comigo nos últimos nos últimos 7 anos, me apoiando sempre, me aconselhando, me dando bronca, me aturando e estando ao meu lado independente de qualquer coisa.

Aos meus amigos de Penápolis, Valmir e Levi, que mesmo com a distância continuam sempre eu meu coração. A minha mais nova amiga de infância Marina, que me ouviu, me aconselhou e me aturou nos últimos meses.

A minha orientadora Leila, uma pessoa e profissional admirável, que me deu a oportunidade de crescer como pessoa e como profissional, e ao meu coorientador Cristian, com quem tive a honra de trabalhar, me recebeu muito bem e me passou muito conhecimento. Esses dois tornaram isso possível, serei eternamente grata.

Aos meus amigos de curso, que me acompanharam nesses 5 anos de graduação, em especial meus amigos lindos Thallis e Fernanda, que foram meus parceiros em todos os momentos, muito obrigada pelos conselhos, conhecimentos e pelas muitas risadas.

Obrigada a todos do Laboratório de Camarões Marinhos da UFSC, incluindo a Seção de Macroalgas, onde eu tive o privilégio de trabalhar 2 anos e meio e adquirir muito conhecimento e aprender o significado da palavra equipe, e que meu deu bons amigos como o Leonardo e a Fernanda de BH.

A todos do Laboratório de Ecologia 1 e ao LEBMA da UNAB, que me receberam de braços abertos, principalmente a Alejandra, Irma, Francis (que sempre me acolheu) e Pamela, por todas as conversas, conhecimentos e ajudas com o espanhol. A minha família chilena.

## RESUMO

A *Pyropia* possui uma grande importância econômica e cultural em países asiáticos, atuando na culinária japonesa, coreana e chinesa. Os fatores abióticos influenciam diretamente no desenvolvimento das algas, sendo o objetivo deste trabalho determinar os efeitos do fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico sobre o crescimento e reprodução da fase filamentosa da espécie *Pyropia* CHK (espécie nova). Para avaliar a germinação de zigósporos foram utilizadas multiplacas com 6 repetições cada, agregando-se 3 mL de amostra com zigósporos e 4 mL de água do mar, mantidas por seis dias em cultivo. Para avaliar a maturação, foram triturados “tufos” de conchocelis e dispostos em multiplacas com 1 mL de amostra e 6 mL de água de mar, sendo mantidas em cultivo por 35 dias. Para a avaliação do crescimento, foram distribuídos em multiplacas três “tufos” de conchocelis para cada uma das 6 repetições, com 7 mL de água do mar, e mantidas 15 dias em cultivo. Todos os experimentos foram submetidos a diferentes condições ambientais: três fotoperíodos (8 h, 12 h e 16 h), duas temperaturas (10 °C e 15 °C) e duas densidades de fluxo fotônico (20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). As melhores porcentagens de germinação foram obtidas em condições de amplo fotoperíodo (16 h) e densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , não apresentando diferenças significativas entre temperaturas de 10 °C e 15 °C. A maturação apresentou melhor resultado em tratamento com fotoperíodo de 12 h, temperatura de 10 °C e densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . O melhor crescimento de conchocelis foi obtido por tratamentos com fotoperíodo de 12 h, densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e temperaturas de 10 °C e 15 °C. As condições ambientais de temperatura 10 °C e densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  podem ser adotadas para o melhor desenvolvimento de um cultivo de conchocelis de *Pyr* CHK. Para o fotoperíodo, poderia ser adotado período de 16 h para favorecer a germinação dos zigósporos e posteriormente 12 h, favorecendo a maturação e crescimento das conchocelis.

**Palavras-chave:** Fatores abióticos, *Pyropia* CHK, conchocelis, crescimento, germinação.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Ciclo de Vida Diplobionte Heteromórfico da *Pyropia* spp .....  
**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 2-** Colônia esférica de filamentos (“tufo” de conchocelis) de Pyr CHK utilizado nos experimentos de maturação e crescimento de conchocelis ..... 17
- Figura 3-** A) Germinação unipolar de zigósporos de Pyr CHK. B) Germinação bipolar de zigósporos de Pyr CHK ..... 22
- Figura 4-** Porcentagem de germinação de zigósporos da Pyr CHK cultivados por 6 dias em diferentes condições ambientais de A) Fotoperíodo, B) Temperatura e C) Densidade de Fluxo Fotônico. Valores apresentados em médias; as barras verticais representam o desvio padrão ..... 23
- Figura 5-** Resumo do histórico de vida da Pyr CHK. A) Talo frondoso reprodutivo. B) Zigósporo liberado. C) Germinação do zigósporo. D) Filamento de conchocelis não reprodutivos. E) Filamento de conchocelis iniciando do aparecimento de conchosporângios. F) Crescimento do conchosporângio. G) Conchosporângio reprodutivo, com conchósporos ..... 24
- Figura 6-** Porcentagem de conchocelis de Pyr CHK com conchosporângios em tratamentos com diferentes condições ambientais de fotoperíodo, temperatura e densidades de fluxo fotônico ..... 25
- Figura 7-** Taxa de crescimento diário (% área/dia<sup>-1</sup>) da Pyr CHK cultivada por 15 dias em diferentes condições ambientais de fotoperíodo, temperatura e densidades de fluxo fotônico. Valores apresentados em médias; as barras verticais representam o desvio padrão ..... 27

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Tratamentos de acordo com as condições adotadas para o experimento de germinação de zigósporos .....	19
<b>Tabela 2-</b> Tratamentos de acordo com as condições adotadas para os experimentos de maturação e crescimento de conhocelis .....	20
<b>Tabela 3-</b> Análise comparativa das condições ideais para a produção de conchosporângio em espécies semelhantes de <i>Pyropia/Porphyra</i> .....	26
<b>Tabela 4-</b> Análise comparativa das condições ideais para o crescimento de conhocelis das espécies semelhantes de <i>Pyropia/Porphyra</i> .....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA- Análise de variância

DFP- Densidade de Fluxo Fotônico

FAO- Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

GeO<sub>2</sub>- Dióxido de Germânio

LCM- Laboratório de Camarões Marinhos

Por- *Porphyra*

Pyr- *Pyropia*

UFSC- Universidade Federal de Santa Catarina

UNAB- Universidad Andrés Bello

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1	OBJETIVOS.....	16
1.1.1	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>16</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
2.1	COLETA .....	16
<b>2.2</b>	<b>MANEJO E ACLIMATAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO .....</b>	<b>17</b>
2.2.1	<b>Água para Cultivo .....</b>	<b>18</b>
2.3	EXPERIMENTOS.....	18
2.3.1	<b>Efeito de fatores ambientais sobre a germinação de zigósporos .....</b>	<b>18</b>
2.3.2	<b>Efeito de fatores ambientais sobre a maturação da fase conchocelis.....</b>	<b>19</b>
2.3.3	<b>Efeito de fatores ambientais sobre o crescimento da fase conchocelis.....</b>	<b>20</b>
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
3.1	GERMINAÇÃO DE ZIGÓSPOROS .....	22
3.2	MATURAÇÃO: APARECIMENTO DE CONCHOSPORÂNGIOS .....	24
3.3	CRESCIMENTO DE CONCHOCELIS .....	27
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>29</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>30</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A produção aquícola mundial vem crescendo significativamente nos últimos anos, sendo que em 2014 foi produzido cerca de 101,1 milhões de toneladas de peixes e plantas aquáticas, o equivalente a US\$ 165.8 bilhões (FAO, 2016). Desta produção, 27,3 milhões de toneladas são de plantas aquáticas, correspondendo a US\$5.6 bilhões, onde 26,8 milhões de toneladas são decorrentes de cultivos (FAO, 2016). Entre as macroalgas mais produzidas está a *Pyropia* spp. (Rhodophyta, Bangiales), sendo a quinta no ranking mundial, atingindo uma produção de 1,806 milhões de toneladas de biomassa úmida no ano de 2014 (FAO, 2016). Com o aumento da demanda por produtos com algas é necessário diversificar a indústria através do desenvolvimento de novas espécies para o cultivo (GREEN & NEEFUS, 2015).

Segundo AGUILAR-ROSA *et al.* (1998), *Porphyra* (*Pyropia*) possui uma grande importância econômica e cultural em países asiáticos. A *Pyropia* spp. é utilizada na culinária de países como Japão, Coreia e China, conhecida como nori, zim e zicai, respectivamente. Essas espécies possuem uma alta quantidade de proteínas digestíveis (20-25% do peso úmido), aminoácidos livres, vitaminas C, B e E, e são ótima fonte de iodo e outros elementos (FACCINI, 2007).

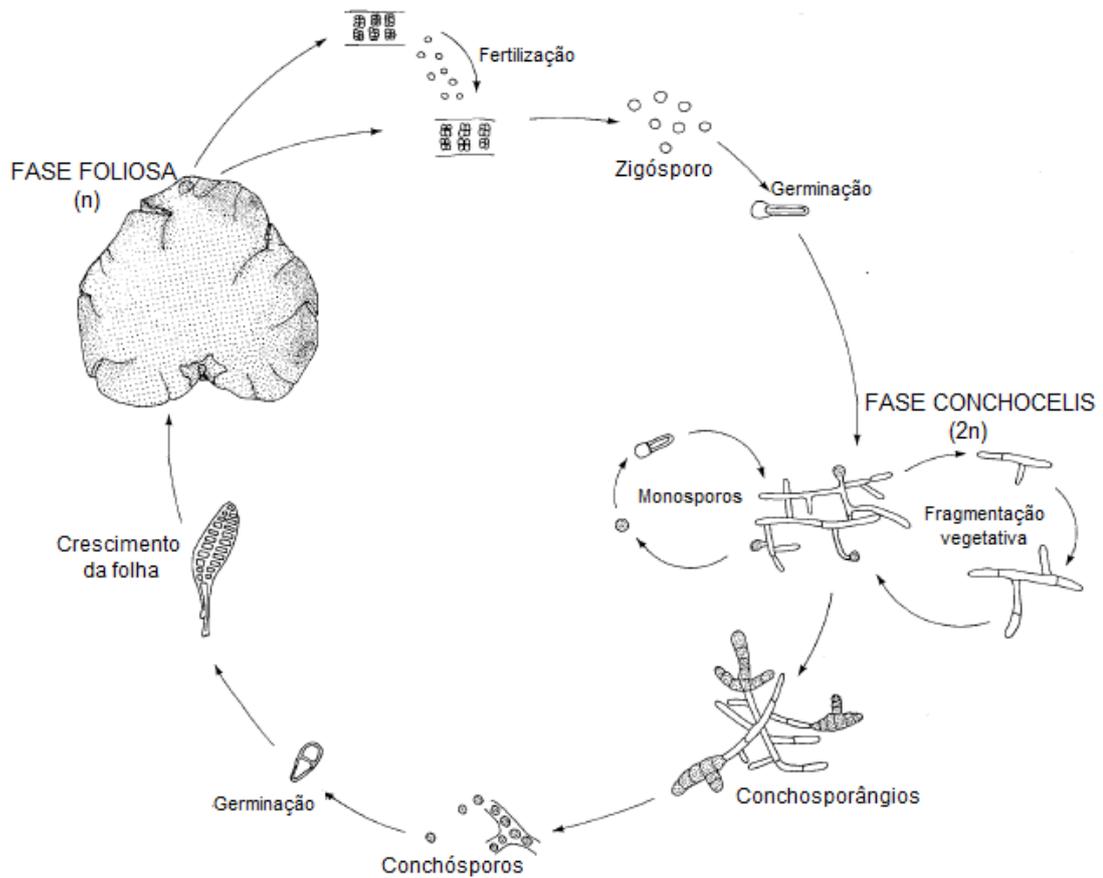
O gênero *Porphyra* (*Pyropia*) faz parte do filo Rhodophyta, onde integram as macroalgas vermelhas, e apresenta uma diversidade de espécies com diferentes morfologias (SUTHERLAND *et al.*, 2011), além de uma variedade notável de estratégias reprodutivas (HAWKES, 1990; HOMMERSAND & FREDERICQ, 1990; BUTTERFIELD, 2000). A ordem Bangiales apresenta morfologia simples (BUTTERFIELD, 2000) e é dividida em 15 gêneros (SUTHERLAND *et al.*, 2011), sendo *Bangia*, *Porphyra* e *Pyropia* os principais (SUTHERLAND *et al.*, 2011; SÁNNCHEZ & VERGÉS, 2014). As espécies são distribuídas em zonas de água temperada fria e tropicais (NELSON *et al.*, 2006; SUTHERLAND *et al.*, 2011) e o gênero *Pyropia* contém um maior número de espécies (NIWA *et al.*, 2014), com pelo menos 75 conhecidas (SUTHERLAND *et al.*, 2011).

As revisões taxonômicas realizadas inicialmente levavam em consideração apenas análises morfológicas, e assim foi a primeira descrição da espécie *Porphyra columbina* (MONTAGNE, 1842), apresentada como uma só espécie com várias morfologias e pigmentação (HOFFMANN & SANTELICES, 1997). Após uma revisão a nível molecular da

ordem Bangiales (SUTHERLAND *et al.*, 2011), foi determinado que *Porphyra columbina* passaria por uma mudança de gênero, e seria denominada *Pyropia columbina*. Em 2014, foi determinada uma nova espécie na costa central do Chile, *Pyropia orbicularis*, e dessa vez foram utilizadas análises de taxonomia morfológica e molecular (RAMIREZ *et al.*, 2014). Posteriormente, GUILLEMIN *et al.* (2015) determinou a presença de oito espécies de *Porphyra* (*P. mumfordii*, Por CHF, Por CHC, Por CHE, Por FIH, Por CHB, Por CHD, Por FIG) e oito espécies de *Pyropia* (*Pyr* CHK, *Pyr* CHI, *Pyr* CHJ, *Pyr* CHH, *Pyr* FIA, *Pyr* CHG, *Pyr* FID, *Pyr* ORB).

A nova espécie de *Pyropia* CHK da costa central do Chile (dados não publicados, MEYNARD, 2017), possui uma maior abundância nas estações inverno e primavera (ZAPATA, 2016), contendo dois morfotipos diferentes de acordo com a distribuição no costão rochoso, sendo elas: *Pyr* CHK morfotipo verde (MV), denominada assim por sua coloração característica, encontradas principalmente em zonas de paredões; e *Pyr* CHK morfotipo largo (ML), que está distribuída em zonas intermareais altas. A *Pyr* CHK será descrita tentativamente como *Pyropia variabilis* (dados não publicados, MEYNARD, 2017).

O ciclo de vida desta espécie é denominado diplobionte heteromórfico, conforme apresentado na Figura 1, contendo duas fases principais com morfologias diferentes. A fase foliosa (n) é gametofítica e macroscópica, tem morfologia simples e é encontrada em regiões entremarés (BOLD & WYNNE, 1985). A fase conchocelis (2n) é esporofítica e filamentosa microscópica (DREW, 1954), considerada interessante pois demonstra ser a chave para o estágio de propagação vegetativa em seu histórico de vida heteromórfico (HOLLENBERG, 1958).



**Figura 1-** Ciclo de Vida Diplobionte Heteromórfico da *Pyropia* spp.

Fonte: Ávila, 1986 (Traduzido).

Estudos fisiológicos de Bangiaceae, incluindo *Pyropia* e *Porphyra*, concentraram-se em respostas para temperatura, densidade de fluxo fotônico e fotoperíodo em relação ao ciclo de vida (DRING, 1967; AVILA, 1986; STEKOLL *et al.* 1999; LU & YARISH 2011, LÓPEZ-VIVAS *et al.*, 2011; LÓPEZ-VIVAS *et al.*, 2015). Portanto, no presente trabalho foram avaliados os efeitos do fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico sobre o crescimento e a reprodução da fase filamentosa da *Pyr* CHK foi analisado. O intuito do trabalho foi adquirir conhecimento para o cultivo de uma nova espécie do gênero *Pyropia*, e contribuir para o aumento e desenvolvimento de cultivos comerciais, com maior variedade de espécies cultivadas e conseqüentemente, maior variedade de produtos derivados de macroalgas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Determinar os efeitos do fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico sobre o desenvolvimento da fase filamentosa (conchocelis) da espécie *Pyr* CHK.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar os efeitos do fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico para germinação de zigósporos de *Pyr* CHK;
- Avaliar os efeitos do fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico para maturação da fase conchocelis (aparecimento de conchosporângios) de *Pyr* CHK;
- Definir os efeitos do fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico para o crescimento da fase conchocelis de *Pyr* CHK;

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia I, situado na Facultad de Ecología e Recursos Naturales da Universidad Andrés Bello (UNAB), em Santiago – Chile, em parceria com a Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, SC – Brasil.

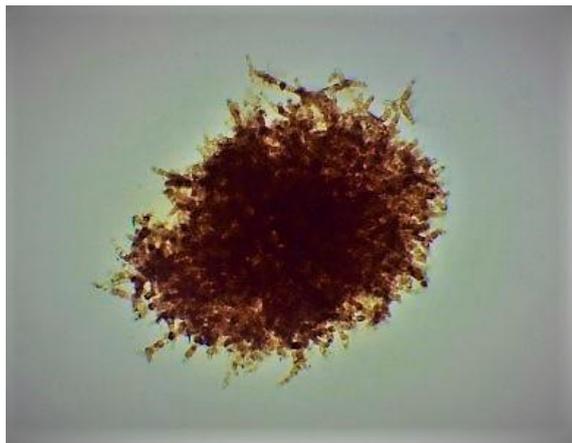
### 2.1 COLETA

Espécimes de algas na fase foliosa foram coletadas na costa central chilena, mais especificamente na zona entremarés da praia de Maitencillo (32°38'51"S 71°26'10"O), no dia 26 de dezembro de 2016, onde foram colocadas em sacos plásticos com água do mar, armazenadas em caixas térmicas com ice packs, para conservação, e transportadas até o Laboratório de Ecologia I da UNAB, em Santiago – Chile.

## 2.2 MANEJO E ACLIMATAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO

As algas foram colocadas em bandejas com água do mar para reidratação, tornando evidente a presença de estruturas reprodutivas avermelhadas (zigósporos) na borda das folhas. Pequenas secções das folhas com presença de zigósporos de aproximadamente 1 cm foram cortadas com bisturi, limpas com pincel e água de osmose reversa, para estimular a reprodução, e água do mar. Em seguida, foram armazenadas em recipientes de vidro de 100 mL com tampa e deixadas durante dois dias em movimento no agitador magnético (Sea Star, Digital Orbital), estimulando a liberação de zigósporos.

As secções das folhas foram retiradas e os zigósporos liberados colocados em multiplacas (Cell Culture Plates 703001, Nest Biotechnology) para o início do experimento de germinação e, posteriormente, colocadas em tubos Falcon de 50 mL com água do mar enriquecida com meio de cultivo von Stosch 100% (EDWARDS, 1970; YOKOYA, 2000) durante cinco meses, em temperatura de 15 °C, fotoperíodo de 12 h e densidade de fluxo fotônico (DFF) de 20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , sendo realizados manejos com trocas de meio semanais, formando assim, colônias esféricas de filamentos (“tufos” de conchocelis), os quais foram utilizados nos experimentos posteriores (Figura 2). No mês anterior ao início dos experimentos, os filamentos foram separados com o auxílio de agulha e pinça, e lavados em filtro de 40  $\mu\text{m}$  com água de osmose reversa para eliminação de possíveis contaminações, para acelerar o crescimento e obter algas mais saudáveis.



**Figura 2-** Colônia esférica de filamentos (“tufos” de conchocelis) de *Pyr* CHK utilizado nos experimentos de maturação e crescimento de conchocelis.

Fonte: elaborado pelo autor.

### 2.2.1 Água para Cultivo

A água do mar foi coletada no Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Quintay – Chile, e transportada até o Laboratório de Ecologia I da UNAB, em Santiago – Chile. A água passou por um processo de esterilização utilizando autoclave vertical (Phoenix AV analógica), para a eliminação de possíveis organismos contaminantes. Para os experimentos foi necessária a adição de um meio de cultivo como fonte de nutrientes para as algas, sendo utilizado a solução von Stosch 100% (8 mL/L de solução padrão), segundo EDWARDS (1970), modificado por YOKOYA (2000). Antibióticos foram incorporados para prevenir contaminação por bactéria, sendo eles penicilina, estreptomicina e ampicilina, na concentração de 25 mg/mL de cada em 1000 mL de água do mar. Foi incorporado também dióxido de germânio ( $\text{GeO}_2$ ) para prevenir contaminação por diatomáceas, adicionado na concentração de 4 mL/L.

## 2.3 EXPERIMENTOS

### 2.3.1 Efeito de fatores ambientais sobre a germinação de zigósporos

Zigósporos liberados foram dispostos em multiplacas com 3 mL de amostra e 4 mL de água do mar e submetidos a diferentes condições ambientais fotoperíodo (8 h, 12 h e 16 h), temperatura (10 °C e 15 °C) e densidade de fluxo fotônico- DFF (20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Cada fator foi avaliado individualmente, totalizando 7 tratamentos, como apresentado na Tabela 1, com 6 repetições para cada tratamento ( $n=6$ ). Foram adotadas condições fixas, sendo fotoperíodo de 12 h, temperatura de 15 °C e DFF de 20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

**Tabela 1-** Tratamentos de acordo com as condições adotadas para o experimento de germinação de zigósporos.

<b>Fotoperíodo</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Densidade de fluxo fotônico (<math>\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}</math>)</b>
<b>08 h *</b>	15	20
12 h	<b>15 *</b>	20
12 h	15	<b>20 *</b>
<b>12 h *</b>	15	20
12 h	15	<b>40 *</b>
12 h	<b>10 *</b>	20
<b>16 h *</b>	15	20

\*Condições avaliadas em cada tratamento.

Após seis dias de experimento foi realizada a contagem do total de zigósporos e quantos germinaram em cada tratamento e em cada repetição, utilizando microscópio invertido Leica DM IL LED. A germinação foi reconhecida pelo início da formação de filamentos a partir de um zigósporo (Figura 3), sendo observado o padrão de germinação. Os dados foram expressos como porcentagem de germinação em relação ao número total de zigósporos observados em cada repetição de cada tratamento.

### 2.3.2 Efeito de fatores ambientais sobre a maturação da fase conchocelis

Utilizou-se 20 colônias esféricas de filamentos (“tufos” de conchocelis) de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro, retiradas do banco de algas cultivados em tubos Falcon de 50 mL. Os “tufos” foram triturados em 80 mL de água do mar com Mixer (Black + Decker  $\text{TM}$ ), obtendo pequenos filamentos de conchocelis não reprodutivas, os quais foram lavados com água de osmose reversa em filtro de 40  $\mu\text{m}$ , para a eliminar possíveis contaminações. Os filamentos triturados e lavados foram dispostos em multiplacas com 1 mL de amostra e 6 mL de água do mar e submetidas a diferentes condições ambientais, combinadas entre si, de fotoperíodo (8 h, 12 h e 16 h), temperatura (10 °C e 15 °C) e DFF (20  $\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e 40  $\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), totalizando 12 tratamentos, como apresentados na Tabela 2.

Foram realizados manejos semanais com troca total de água (7 mL) e limpeza com água de osmose reversa quando necessário, para eliminar contaminação por protozoário. Foi analisada a maturação dos filamentos, observando em microscópio invertido Leica DM IL LED o número de algas com formação de estruturas reprodutivas em cada tratamento após 35 dias. As conchocelis reprodutivas foram reconhecidas pelo aparecimento de conchosporângios. Os dados foram expressos como porcentagem de maturação em relação ao número total de conchocelis observadas em cada tratamento.

**Tabela 2-** Tratamentos de acordo com as condições adotadas para os experimentos de maturação e crescimento de conchocelis.

<b>Fotoperíodo</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Densidade de fluxo fotônico (<math>\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}</math>)</b>
08 h	10	20
		40
	15	20
		40
12 h	10	20
		40
	15	20
		40
16 h	10	20
		40
	15	20
		40

### 2.3.3 Efeito de fatores ambientais sobre o crescimento da fase conchocelis

Foram utilizadas 18 colônias esféricas de filamentos (“tufos” de conchocelis) de  $0,5 \pm 1,4$  mm de diâmetro, retiradas do banco de algas cultivados em tubos Falcon de 50 mL dispostos

em multiplacas. Cada repetição recebeu três “tufos” de conchocelis em 7 mL de água do mar, sendo seis repetições para cada tratamento. As multiplacas foram submetidas a diferentes condições ambientais, combinadas entre si, de fotoperíodo (8 h, 12 h e 16 h), temperatura (10 °C e 15 °C) e DFF (20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), totalizando doze tratamentos, como apresentados na Tabela 2. Foram realizados manejos semanais com troca total de água (7 mL) com meio de cultivo.

Através de fotos tiradas em Lupa Esteriocópica Motic SMZ-171 TLED com o Software Motic Images Plus 2.0, foi medido o diâmetro de cada “tufo” de conchocelis no primeiro dia e após 15 dias de experimento, utilizando o Software Leica LAS EZ 3.0.

O diâmetro é representado por  $D_i$ , que foi obtido a partir da média de duas medidas de diâmetros perpendiculares para cada “tufo” de conchocelis, sendo calculadas as áreas conforme a Equação 1, determinada por PEREIRA *et al.* (2004).

$$\alpha = \frac{\pi}{n} \times \left[ \sum_{t=1}^n \left( \frac{D_i}{2} \right)^2 \right] \quad (\text{Equação 1})$$

Após obter as áreas iniciais e finais,  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ , respectivamente, e o número de dias de experimento ( $t$ ), foi determinada a taxa de crescimento ( $\mu$ ) segundo por DeBoer *et al.* (1978) (Equação 2):

$$\mu = \ln \left( \frac{\alpha_2}{\alpha_1} \right) \times \frac{100}{t} \quad (\text{Equação 2})$$

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram submetidos a testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk. Para os dados do experimento de germinação foram realizadas análises de variância unifatorial (ANOVA) e para os dados do experimento de crescimento foi realizada análise de variância multivariada (MANOVA), com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), seguidas de teste *a posteriori* de Tukey. Análises foram realizadas com o auxílio do software IBM SPSS Statistics, versão 23.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 GERMINAÇÃO DE ZIGÓSPOROS

Os zigósporos de *Pyr* CHK apresentaram padrão de germinação unipolar (Figura 3A) e bipolar (Figura 3B) e desenvolvem-se em filamentos de conchocelis, apresentando uma diferença com a *Porphyra columbina*, que apresentou um padrão de germinação unipolar (AVILA, 1986).

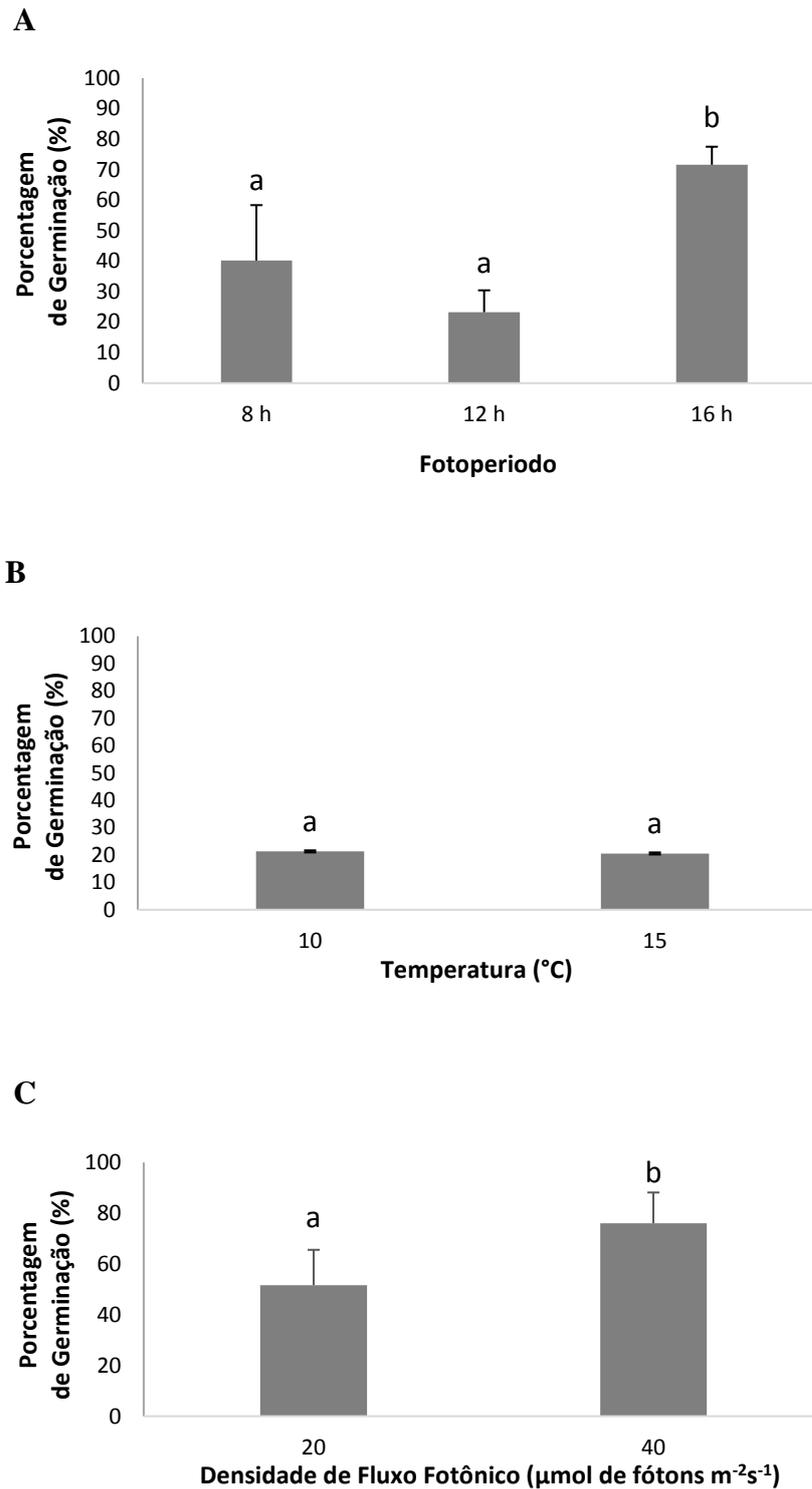


**Figura 3-** A) Germinação unipolar de zigósporos de *Pyr* CHK. B) Germinação bipolar de zigósporos de *Pyr* CHK.

Fonte: elaborado pelo autor.

A porcentagem de germinação aumentou do fotoperíodo mais curto (8 h) para o mais longo (16 h), apresentando valores de 40,23% e 71,62%, respectivamente. Para densidade de fluxo fotônico foi observado um aumento na germinação conforme aumento da quantidade de luz, apresentando uma relação diretamente proporcional, com valores de 51,59% para  $20 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e 76,05% para  $40 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Os valores de temperatura foram semelhantes, sendo 21,33% de germinação para o tratamento com  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  e 20,57% de germinação para o tratamento com  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Foram observadas diferenças significativas para fotoperíodo longo de 16 h, o qual apresentou uma maior porcentagem de germinação em relação aos fotoperíodos de 8 h e 12 h (Figura 4A), e entre as densidades de fluxo fotônico (Figura 4C). As temperaturas não apresentaram diferenças significativas (Figura 4B).



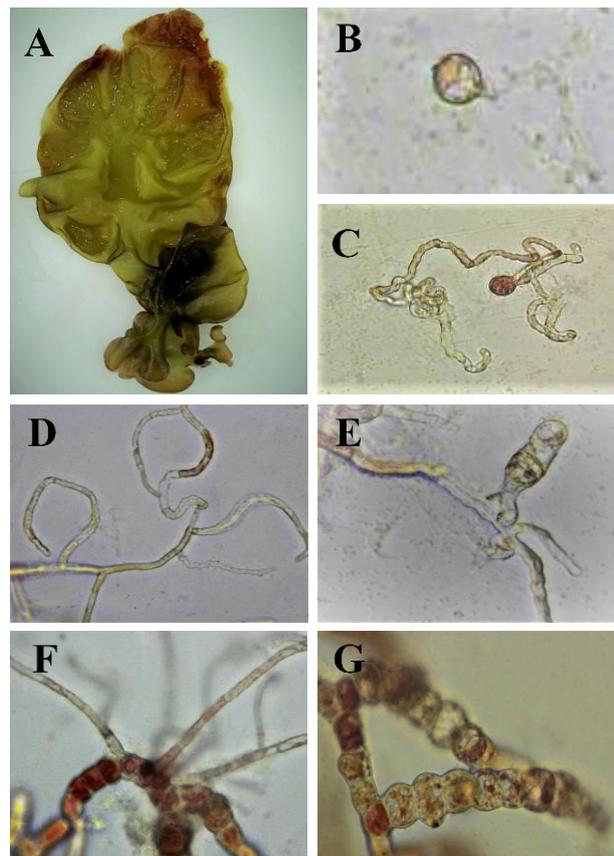
**Figura 4-** Porcentagem de germinação de zigósporos da *Pyr* CHK cultivados por 6 dias em diferentes condições ambientais de A) Fotoperíodo, B) Temperatura e C) Densidade de Fluxo Fotônico. Valores apresentados em médias; as barras verticais representam o desvio padrão.

Letras minúsculas apresentam diferença significativas entre os tratamentos, segundo ANOVA unifatorial e Teste Tukey, considerando  $p < 0,05$ .

Os fatores que favoreceram a germinação dos zigósporos de *Pyr* CHK foram fotoperíodo longo de 16 h e densidade de fluxo fotônico de  $40 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , não apresentando diferenças significativas entre temperaturas de  $10^\circ\text{C}$  e  $15^\circ\text{C}$ , diferindo da espécie *Porphyra dioica* que apresentou um melhor resultado a temperatura de  $15^\circ\text{C}$ , segundo PEREIRA *et al.* (2004).

### 3.2 MATURAÇÃO: APARECIMENTO DE CONCHOSPORÂNGIOS

As primeiras estruturas reprodutivas foram formadas aos 17 dias de experimento, nos tratamentos de fotoperíodo longo de 16 h, temperatura  $10^\circ\text{C}$  e ambas densidades de fluxo fotônico, e a formação desses conchosporângios nos filamentos de conchocelis se apresentou em todas as posições, lateral (Figura 5E), medial (Figura 5F) e apical.

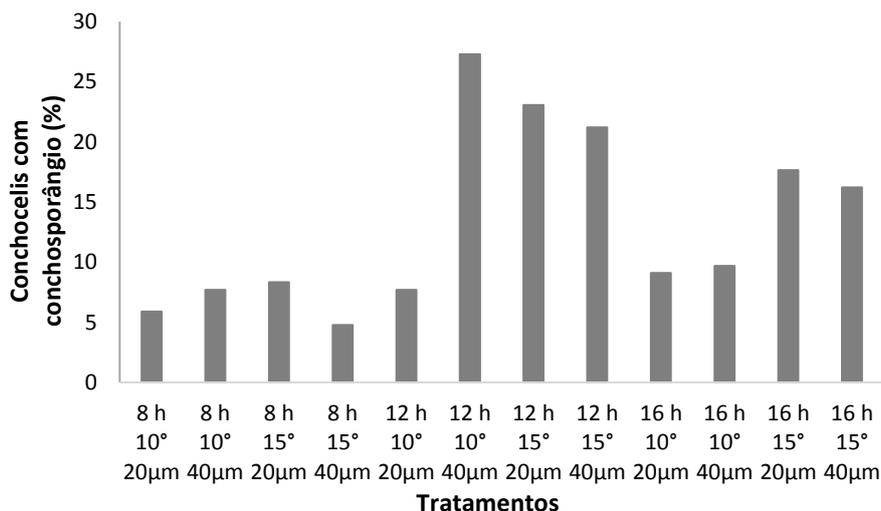


**Figura 5-** Resumo do histórico de vida da *Pyr* CHK. A) Talo frondoso reprodutivo. B) Zigósporo liberado. C) Germinação do zigósporo. D) Filamento de conchocelis não reprodutivo. E) Filamento de conchocelis iniciando do aparecimento de conchosporângios. F) Crescimento do conchosporângio. G) Conchosporângio reprodutivo, com conchósporos.

Fonte: elaborado pelo autor.

Os menores valores apresentados foram para os tratamentos de 8 h, a 10 °C em 20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 8 h, a 10 °C em 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 8 h, a 15 °C em 20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 8 h, a 15 °C em 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sendo eles 5,88%, 7,69%, 8,33% e 4,76%, respectivamente. Para os tratamentos de fotoperíodo longo de 16 h, a 10 °C em ambas as densidades de fluxo fotônico, foram observados valores similares (9,09% e 9,68%). Para o mesmo fotoperíodo de 16 h e temperatura de 15 °C, em ambas as densidades de fluxo fotônico, também foi observado valores próximos (17,65% e 16,22%). Assim, podemos observar que a temperatura pode influenciar em um fotoperíodo longo de 16 h, independente da densidade de fluxo fotônico.

As maiores porcentagens de formação de conchosporângios foram registradas em fotoperíodo de 12 h, apresentando valores parecidos para temperatura de 15 °C em ambas as densidades de fluxo fotônico (23,08% e 21,21%). Para 10 °C, uma grande diferença entre as densidades de fluxo fotônico de 20  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foi observada, com valores de 7,69% e 27,27%, respectivamente. Assim, fica evidente que a densidade de fluxo fotônico pode influenciar em um fotoperíodo de 12 h e temperatura 10 °C. Todos os dados estão apresentados na Figura 6, indicando uma melhor percepção da diferença entre os tratamentos.



**Figura 6-** Porcentagem de conchocelis de *Pyr* CHK com conchosporângios em tratamentos com diferentes condições ambientais de fotoperíodo, temperatura e densidades de fluxo fotônico.

O tratamento com fotoperíodo de 12 h, temperatura 10 °C e densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foi o que melhor contribuiu para o aparecimento de conchospor\u00e2ngios em conhocelis de *Pyr* CHK. Para esp\u00e9cie *Porphyra hollenbergii* foram determinadas as mesmas condi\u00e7\u00f5es de temperatura e densidade de fluxo fot\u00f4nico (L\u00d3PEZ-VIVAS *et al.*, 2011), e para *Porphyra dioica* as mesmas condi\u00e7\u00f5es foram indicadas para fotoper\u00edodo e temperatura (PEREIRA *et al.*, 2004.), sendo que temperaturas de 7 °C a 15 °C apresentaram os melhores resultados para o aparecimento de estruturas reprodutivas em conhocelis de diversas esp\u00e9cies semelhantes, como demonstrado na Tabela 3.

**Tabela 3-** An\u00e1lise comparativa das condi\u00e7\u00f5es ideais para a produ\u00e7\u00e3o de conchospor\u00e2ngio em esp\u00e9cies semelhantes de *Pyropia/Porphyra*.

<b>Esp\u00e9cies</b> <sup>1</sup>	<b>Fotoper\u00edodo</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>DFF</b> <sup>2</sup> <b>(<math>\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>Refer\u00eancias</b>
<i>Porphyra columbina</i>	8 h	10 - 15	45	AVILA, 1986.
<i>Porphyra perforata</i>	8 h	10 - 15	25	WAALAND, 1990.
<i>Porphyra abbottae</i>	16 h	7 - 11	20	STEKOLL, 1999.
<i>Porphyra dioica</i>	12 h	10-15	25 - 75	PEREIRA <i>et al.</i> , 2004.
<i>Porphyra hollenbergii</i>	8 h	10	20 - 40	L\u00d3PEZ-VIVAS <i>et al.</i> , 2011.
<i>Pyr</i> CHK	12 h	10	40	Presente trabalho

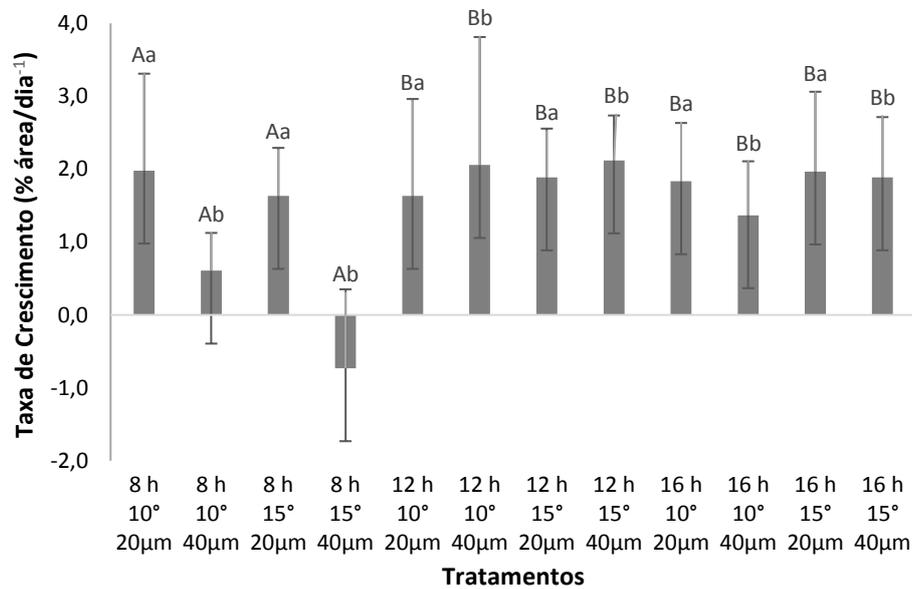
<sup>1</sup> Para a todas as esp\u00e9cies, os nomes foram preservados em todas as tabelas, mesmo se tenha ocorrido altera\u00e7\u00e3o.

<sup>2</sup> DFF: densidade de fluxo fot\u00f4nico.

### 3.3 CRESCIMENTO DE CONCHOCELIS

As maiores taxas de crescimento, 2,06 % área dia<sup>-1</sup> e 2,12 % área dia<sup>-1</sup>, foram obtidas nos tratamentos com 12 h, a 10 °C em 40 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 12 h, a 15 °C em 40 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente. Tratamentos de fotoperíodo curto de 8 h, em densidade de fluxo fotônico de 40 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e ambas as temperaturas apresentaram os menores valores, sendo 0,61% área dia<sup>-1</sup> para 10 °C e -0,73% área dia<sup>-1</sup> para 15 °C, número negativo caracterizando a morte das algas.

Foram observadas diferenças significativas para fotoperíodo curto de 8 h em relação aos fotoperíodos 12 h e longo 16 h, e entre as densidades de fluxo fotônico (Figura 7). As temperaturas não apresentaram diferenças significativas. Interações entre temperaturas e fotoperíodo, e entre densidade de fluxo fotônico e fotoperíodos apresentam diferenças significativas, identificando uma influência dos fotoperíodos sobre os outros fatores.



**Figura 7-** Taxa de crescimento diário (% área dia<sup>-1</sup>) da *Pyrrhomonas* CHK cultivada por 15 dias em diferentes condições ambientais de fotoperíodo, temperatura e densidades de fluxo fotônico. Valores apresentados em médias; as barras verticais representam o desvio padrão.

Letras maiúsculas apresentam diferença significativas entre os fotoperíodos e letras minúsculas apresentam diferença significativas entre as densidades de fluxo fotônico, segundo MANOVA e Teste Tukey, considerando  $p < 0,05$

As conchocelis de *Pyr* CHK apresentaram um melhor crescimento em fotoperíodo de 12 h, densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e temperaturas de 10 °C ou 15 °C, sendo iguais as condições determinadas por LÓPEZ-VIVAS *et al.* (2011) para *Porphyra hollenbergii*, e as mesmas condições de fotoperíodo e temperatura para outras espécies semelhantes, como demonstrado na Tabela 5.

**Tabela 4-** Análise comparativa das condições ideais para a Taxa de crescimento de conchocelis das espécies semelhantes de *Pyropia/Porphyra*.

Espécies <sup>1</sup>	Fotoperíodo	Temperatura (°C)	DFF <sup>3</sup> ( $\mu\text{mol}$ fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	Taxa de Crescimento (área/dia <sup>-1</sup> )	Referências
<i>Porphyra columbina</i>	12 h	15	45	20%	AVILA, 1986.
<i>Porphyra perforata</i>	ND <sup>2</sup>	15	25	9,5%	WAALAND, 1990.
<i>Porphyra abbottae</i>	16 h	11	80	7,6%	STEKOLL, 1999.
<i>Porphyra dioica</i>	8 h, 12 h e 16 h	15 - 20	25 - 75	20%	PEREIRA <i>et al.</i> , 2004.
<i>Porphyra hollenbergii</i>	12 h	15 - 20	40-60	6,5%	LÓPEZ-VIVAS <i>et al.</i> , 2011.
<i>Pyr</i> CHK	12 h	10 - 15	40	2,10%	Este trabalho

<sup>1</sup> Para a todas as espécies, os nomes foram preservados em todas as tabelas, mesmo se tenha ocorrido alteração.

<sup>2</sup> ND: não determinado.

<sup>3</sup> DFF: densidade de fluxo fotônico.

#### 4 CONCLUSÃO

As condições de fotoperíodo, temperatura e densidade de fluxo fotônico que favoreceram a germinação dos zigósporos foram 16 h, 10 °C ou 15 °C e 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. As condições que favoreceram a maturação das conchocelis foram fotoperíodo de 12 h, temperatura de 10 °C e densidade de fluxo fotônico 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . O crescimento de conchocelis foi favorecido pelas condições de fotoperíodo de 12 h, temperaturas de 10 °C ou 15 °C e densidade de fluxo fotônico de 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

A partir dos resultados obtidos nos experimentos, para o cultivo da fase filamentosa de *Pyr* CHK, as condições ambientais de temperatura a 10 °C em densidade de fluxo fotônico 40  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  podem ser adotadas para o melhor desenvolvimento de um cultivo de conchocelis de *Pyr* CHK. Poderia ser adotado fotoperíodo de 16 h para favorecer a germinação dos zigósporos e posteriormente mudar para 12 h, favorecendo a maturação e crescimento das conchocelis.

Por fim, com base nos resultados definidos e nas discussões dos experimentos, pode-se afirmar que o objetivo do trabalho foi atingido, garantindo assim a importância da pesquisa para o cenário da aquicultura, especificamente ao cultivo de *Pyr* CHK. Tendo em vista um possível cultivo comercial da espécie, estudos posteriores deverão ser realizados para determinar as condições que favoreçam a liberação e germinação de conchósporos e o crescimento, para originar a fase foliosa e fechar o ciclo de vida da *Pyr* CHK.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR-ROSAS, R.; ESPINOZA-ÁVALOS, J.; AGUILAR-ROASS, L. E. Uso de las algas marinas en México. **Ciencia y Desarrollo**, v. 24, p.65–73, 1998.
- AVILA, M.; SANTELICES, B.; MCLACHLAN J. Photoperiod and Temperature Regulation of the Life History of *Porphyra columbina* (Rhodophyta, Bangiales) from Central Chile. **Canadian Journal of Botany**, v. 64, n. 09, p.1867–1872, 1985.
- BOLD, H. C.; WYNNE, M. J. Introduction to the Algae. **Prentice-Hall**, Englewood Cliffs, New Jersey, 720 p., 1985.
- BUTTERFIELD, N. J. Bangiomorpha pubescens n. gen., n. sp.: implications for the evolution of sex, multicellularity, and the Mesoproterozoic / Neoproterozoic radiation of eukaryotes. **Paleobiology**, v. 26, n. 03, p.386–404, 2000.
- DeBOER, J. A.; GUIGU, H.J.; ISRAEL, T. L.; D'ELIA, C.F. Nutritional studies of two red algae. L. Growth rate as a function of nitrogen source and concentration. **Journal of Phycology**, v. 14, n. 03, p.261–265, 1978.
- DRING, M. J. Effects of Daylength on Growth and Reproduction of the Conchocelis-Phase of *Porphyra Tenera*. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 47, n. 03, p.501–510, 1967.
- DREW, K. M. Studies in the Bangioideae III. The Life-history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz. var. *lociniata* (Lightf.) J. Ag. 1: A. The Conchocelis-Phase in culture. **Annals of Botany**, v. 18, p.183–184, 1954.
- EDWARDS, P. Ilustre ated guide of seaweeds and sea grasses in vicinity of Porto Arkansas, Texas. **Contributions in Marine Science**, v. 15, p.1–228, 1970.
- FACCINI, A. L. Importância econômica e Cultivo de algas marinhas. **X Simpósio de Biologia Marinha da UniSanta**, Santos- SP, 6 de jul. 2007.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and challenges. Rome. FAO (243 pp.).

GREEN, L. A.; NEEFUS, C. D. Effects of Temperature, Light Level, And Photoperiod on the Physiology of *Porphyra umbilicalis* Kützing from the Northwest Atlantic, a Candidate for Aquaculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 03, p.1815–1826, 2015.

GUILLEMIN, M.; CONTRERAS-PORCIA, L.; RAMIREZ, M.; MACAYA, E. C.; CONTADOR, C. B.; WOODS, H.; WYAT, C. BRODIE, J. The bladed Bangiales (Rhodophyta) of the South Eastern Pacific: Molecular species delimitation reveals extensive diversity. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, p.814–826, 2015.

HAWKES, M. W. **Reproductive strategies. Biology of The Red Algae**, Cambridge University Press, p.455–476, 1990.

HOFFMANN, A. J.; SANTELICES, B. **Flora marina de Chile central**. Ediciones Universidad Católica de Chile, p.434, 1997.

HOLLENBERG, G. J. **Phycological notes II**. Bull Torrey Bot Club, v. 85, p.63–69, 1958.

HOMMERSAND, M. H.; FREDERICQ, S. Sexual reproduction and cystocarp development. **Biology of The Red Algae**, p.305–345, 1990.

LÓPEZ-VIVAS, J. M.; PACHECO-RUÍZ, I.; RIOSMENA-RODRÍGUEZ, R.; YARISH, C. Life history of *Porphyra hollenbergii* Dawson (Bangiales, Rhodophyta) from the Gulf of California, México. **Phycology**, v. 50, n. 5, p.520–529, 2011.

LÓPEZ-VIVAS, J. M.; PACHECO-RUÍZ, I.; MUÑIZ-SALAZAR, R.; RIOSMENA-RODRÍGUEZ, R.; YARISH, C. Growth and reproductive responses of the conchocelis phase of *Pyropia hollenbergii* (Bangiales, Rhodophyta) to light and temperature. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, p.1029–1041, 2015.

LU, S.; YARISH, C. Interaction of photoperiod and temperature in the development of conchocelis of *Porphyra purpurea* (Rhodophyta: Bangiales). **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p.89–96, 2011.

MEYNARD, A.; ZAPATA, J.; BETANCOURTT, C.; SALAS, N.; ESPINOZA, C.; PÉREZ, G.; CASTAÑEDA, F.; RAMÍREZ, M. E.; BULBOA, C. C.; GUILLEMIN, M. L.; CONTRERAS-PORCIA, L. **Genetic and morphological differentiation of *Porphyra* and**

**Pyropia species (Rhodophyta) coexisting in a rocky intertidal: habitat partitioning?**, 2017.  
Dados não publicados.

MONTAGNE, C. **Prodromus generum specierumque phycearum novarum: In itinere ad Polum Antarcticum Regis Ludovici Philippi jussu ab illustri Dumont D'Urville peracto collectarum, notis diagnosticis tantum huc evulgatarum, descriptionibus verò fusioribus nec no iconibus analyticis jam jamque illustrandarum.** Paris, p.1–16, 1842.

NELSON, W. A.; FARR, T. J.; BROOM, J. E. Phylogenetic relationships and generic concepts in the red order Bangiales: challenges ahead. **Phycologia**, v. 45, n. 03, p.249–259, 2006.

NIWA, K.; KIKUCHI, N.; HWANG, M. S.; CHOI, H. G.; ARUGA, Y. Cryptic species in the *Pyropia yezoensis* complex (Bangiales, Rhodophyta): Sympatric occurrence of two cryptic species even on same rocks. **Phycological Research**, v. 62, n. 01, p.36–43, 2014.

PEREIRA, R.; SOUSA-PINTO, I.; YARISH, C. Field and culture studies of the life history of *Porphyra dioica* (Bangiales, Rhodophyta) from Portugal. **Phycologia**, Porto, v. 43, n. 06, p.756–767, 2004.

RAMIREZ, M.; CONTRERAS-PORCIA, L.; GUILLEMIN, M.; BRODIE, J.; VALDIVIA, C.; FLORES-MOLINA, M. R.; NÚÑEZ, A.; CONTADOR, C. B.; LOVAZZANO, C. *Pyropia orbicularis* sp. nov. (Rhodophyta, Bangiaceae) Based on a Population Previously Known as *Porphyra columbina* from the Central Coast of Chile. **Phytotaxa**, v. 158, n. 02, p.133–153, 2014.

SÁNCHEZ, N.; VERGÉS, A. Diversity of bladed Bangiales (Rhodophyta) in western Mediterranean: recognition of the genus *Themis* and descriptions of *T. ballesterosii* sp. nov., *T. iberica* sp. nov. and *Pyropia parva* sp. nov. **Journal of Phycology**, v. 50, n. 05, p.908–929, 2014.

SUTHERLAND, J. E.; LINDSTROM, S. C.; NELSON, W. A.; BRODIE, J.; LYNCH, M. D.; HWANG, M. S.; MUELLER, K. M. A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 47, p.1131–1151, 2011.

STEKOLL, S. M.; LIN, R.; LINDSTROM, S. C. *Porphyra* cultivation in Alaska: conchocelis growth of three indigenous species. **Hydrobiologia**, v. 398/399, p.291–297, 1999.

WAALAND, J. R.; DICKSON, L. G.; DUFFIELD, C. S. Conchospore production and seasonal occurrence of some *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta) in Washington State. **Hydrobiologia**, 204/205, p.453–459, 1990.

YOKOYA, N. S. Apical callus formation and plant regeneration controlled by plant growth regulators on axenic culture of the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales, Rhodophyta). **Phycological Research**, v.48, p. 133–142, 2000.

ZAPATA, Javier Andrés Cuevas. **Diferenciación ecológica entre ecotipos de dos especies hermanas de *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta) mediado por estrés ambiental**. 2017. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biología Marina, Universidad Andrés Bello, Santiago-Chile, 2017.

## ANEXO A

**Tabela A1-** Resumo da análise de variância multivariada (MANOVA) para dados de taxa de crescimento em diferentes condições ambientais de fotoperíodo, temperatura e densidades de fluxo fotônico.

<b>Fatores</b>	<b>Soma dos Quadrados</b>	<b>Quadrado Médio</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Fotop.	8,203	4,101	15,674	0,000*
Temp.	0,183	0,183	0,699	0,406
DFF <sup>1</sup>	2,660	2,660	10,164	0,002*
Fotop. - Temp.	3,052	1,526	5,832	0,005*
Fotop. - DFF <sup>1</sup>	13,640	6,820	26,065	0,000*
Temp. - DFF <sup>1</sup>	0,212	0,212	0,809	0,372
Fotop. - Temp. - DFF <sup>1</sup>	1,019	0,510	1,947	0,152
Erro	15,699	0,262	-	-
Total	213,567	-	-	-
Total corrigido	44,668	-	-	-

\*Apresenta diferença significativa.

<sup>1</sup> DFF: densidade de fluxo fotônico.