



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**VIABILIDADE DO CULTIVO EM TANQUES DE
MACROALGAS *KAPPAPHYCUS ALVAREZII* (RHODOPHYTA,
GIGARTINALES) PARA MANUTENÇÃO DE MATRIZES**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Aquicultura.

Orientadora: Leila Hayashi

Coorientadora: Katt Regina Lapa

Ana Luiza Gampert Flores

Florianópolis
2014

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

Flores, Ana Luiza

Viabilidade do cultivo em tanques de macroalgas
Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Gigartinales) para
manutenção de matrizes / Ana Luiza Flores ; orientadora,
Leila Hayashi ; coorientadora, Katt Regina Lapa. -
Florianópolis, SC, 2014.

73 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. macroalga vermelha. 3. pulso de
nutrientes. 4. privação de luz. 5. cultivo em tanque
circular. I. Hayashi, Leila . II. Lapa, Katt Regina . III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Viabilidade do cultivo em tanques de macroalgas *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) para manutenção de matrizes

Por

ANA LUIZA GAMPERT FLORES

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

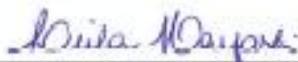
MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.



Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Programa

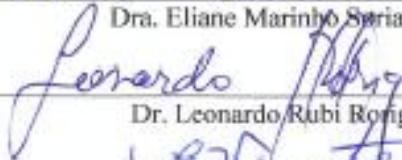
Banca Examinadora:



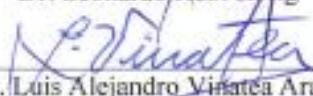
Dra. Leila Hayashi – Orientadora



Dra. Eliane Marinho Soriano



Dr. Leonardo Rubi Romig



Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos e à minha família, em especial aos meus pais.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Camarões Marinhos.

À minha orientadora professora Dra. Leila Hayashi, e co-orientadora professora Dra. Katt Lapa.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Ao Carlito Klunk.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Ministério da Pesca e Aquicultura pelo apoio financeiro.

Agradeço a todos e a cada um que contribuíram para a materialização dessa dissertação.

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

Estudos em Santa Catarina demonstraram a viabilidade do cultivo da macroalga *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) em águas subtropicais, entretanto as temperaturas do inverno são limitantes para a sobrevivência da espécie. O cultivo em tanques nos períodos de baixas temperaturas pode ser considerado como solução para esse entrave. Esse trabalho teve como objetivos: estabelecer um método de aclimação e regime de pulso de nutrientes para o cultivo em tanques de *K. alvarezii* por meio de ensaios *in vitro* e determinar o melhor método de movimentação de água para o cultivo em tanques circulares da espécie com o uso de aeração constante por meio de ar difuso ou *air lift*. Para o primeiro objetivo, aproximadamente 12 g de tetrasporófito verde foram aclimatados por uma semana, sendo que metade da biomassa foi aclimatada em ausência de luz (AL) e a outra metade em presença de luz (PL). Posteriormente à aclimação, foi realizado um pulso de nutrientes de 1 hora com solução von Stosch a 50 % (VS50) e como controle foi realizado o mesmo pulso apenas com água do mar esterilizada. Após esse período, as algas foram cultivadas por 42 dias sem adição de nutrientes. No tratamento VS50, algas aclimatadas com AL apresentaram taxa de crescimento média de 2,20 % dia⁻¹ significativamente maior que as algas aclimatadas com PL, que apresentaram taxa de crescimento de 1,54 % dia⁻¹. No controle, não foram observadas diferenças significativas. Os ensaios *in vitro* mostraram que a aclimação por uma semana em ausência de luz e com pulso de 1h em VS50 é o melhor tratamento para a manutenção de linhagens. Para o segundo objetivo, exemplares de tetrasporófito verde de *K. alvarezii* foram aclimatados conforme a metodologia escolhida no primeiro objetivo. O cultivo foi realizado em tanques circulares de 100 L, em fotoperíodo natural, temperatura de 22±0,3 °C, em densidade de 5 g L⁻¹ por 28 dias. Semanalmente as algas eram pesadas e havia renovação de 20 % da água do mar. Temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido foram medidos duas vezes por dia, três vezes por semana. Dois tratamentos foram testados para a circulação da água nos tanques: aeração constante por meio de ar difuso (AD) e *air lift* (AL). Como controle (C) foi realizado o cultivo das algas sem aeração. Cada tratamento e controle possuíam três réplicas. Em todo período de cultivo foi observado ganho de biomassa, porém não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. A taxa de crescimento foi de 0,47±0,1 % dia⁻¹; 0,41±0,1 % dia⁻¹; 0,30±0,1 % dia⁻¹ nos tratamentos de AD, AL e controle, respectivamente. No controle

ocorreram maiores alterações nas concentrações de oxigênio dissolvido, enquanto nos tratamentos AD e AL não foram observados variações expressivas no período de tempo estudado. A salinidade se manteve na faixa dos 35,5–35,8 ‰ em todos os tratamentos. Foi observado que no controle as algas começaram a apresentar sinais da enfermidade *ice-ice* em algumas regiões do talo. As algas cultivadas no tratamento AL apresentaram despigmentação nas extremidades e no tratamento AD mantiveram a coloração padrão da linhagem verde. Mesmo não havendo diferenças significativas nas taxas de crescimento entre os tratamentos e controle, no sistema de ar difuso (AD) as algas aparentaram estar mais saudáveis, sendo esse o sistema escolhido para o cultivo em tanques circulares para manutenção de matrizes de *K. alvarezii*. Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, foi possível concluir que a aclimação no escuro por uma semana, seguida de pulso de nutrientes de 1h em solução VS50 e posterior cultivo em tanques circulares com circulação de água proveniente de sistema de ar difuso foram adequadas para a manutenção da espécie em épocas desfavoráveis ao cultivo no mar, embora não sejam adequados para o cultivo massivo em tanques.

Palavras-chave: Aquicultura, macroalga vermelha, pulso de nutrientes, privação de luz, cultivo em tanque circular.

GENERAL ABSTRACT

Studies in Santa Catarina State, South of Brazil, showed the feasibility of cultivating the seaweed *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in subtropical waters, but winter temperatures are limiting for its survival. Tanks cultivation during periods of low temperatures can be considered as a solution to this problem. This work aims to: establish a method for acclimation and pulsing nutrients in *in vitro* culture targeting tanks cultivation of *K. alvarezii* and determine the best method for water movement in circular tanks cultivation of *K. alvarezii*, evaluating two aeration systems: aeration by diffused air or air lift. For the first objective, approximately 12 g of green tetrasporophyte were acclimated for a week, with half of the biomass acclimatized in absence of light (AL) and the other half in presence of light (PL). After acclimation, pulsing nutrients of 1 hour with 50 % von Stosch solution (VS50) or with sterile seawater, used as control, were made. After this period, seaweeds were grown without addition of nutrients for 45 days. In the treatment with VS50, plants acclimated with AL had an average growth rate of 2.20 \% day^{-1} , significantly higher than those acclimated with PL, which presented growth rate of 1.54 \% day^{-1} . No significant differences were observed in control. *In vitro* experiments showed that one week acclimation with absence of light (AL) and 1h pulsing nutrients using VS50 is the best treatment for maintaining strains. For the second objective, samples of green tetrasporophyte of *K. alvarezii* were acclimated according to the method chosen in the first objective. After this period, cultivation was conducted in 100 L circular tanks, natural photoperiod, temperature $22 \pm 0.3 \text{ }^\circ\text{C}$ in density 5 g L^{-1} for 28 days. Plants were weighed weekly, when 20 % of seawater was renewed. Temperature, salinity, and dissolved oxygen were measured twice a day, three times a week. Two treatments were tested: constant aeration by diffused air (AD) and air lift (AL). As control (C) seaweed was cultivated without aeration. Each treatment and control had three replicates. In all cultivation period, increasing of biomass was observed, but there were no significant differences among treatments and control. Growth rates were $0.47 \pm 0.1 \text{ \% day}^{-1}$; $0.41 \pm 0.1 \text{ \% day}^{-1}$; $0.30 \pm 0.1 \text{ \% day}^{-1}$ in the treatment of AD, AL and control, respectively. Higher variations in dissolved oxygen concentrations were observed in the control, while in the DA and AL treatments there are no expressive variations. Salinity was maintained in the range of 35.5 to 35.8 ‰ in all treatments, with no significant differences. In the control, seaweed began to show signs of "ice-ice" disease in some regions of thallus. Plants cultivated in AL

presented blanching in the tips and those cultivated in AD kept healthy. Even with no significant difference in the growth, plants in AD treatment remained healthier and this treatment was chosen for cultivation in circular tanks of *K. alvarezii*. Based on these results, we concluded that acclimation in absence of light for one week, followed by 1h nutrients pulsing in VS50 and circular tanks cultivation with water circulation provided by diffused air was suitable for maintaining the species propagules in unfavorable season in sea farming, although these conditions were not appropriated for massive cultivation in tanks.

Keywords: Aquaculture, red algae, nutritional pulse, dark treatment, cultivation in circular tank.

LISTA DE FIGURAS

Avaliação da aclimação prévia com ausência ou presença de luz e pulso de nutrientes em cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* visando o cultivo em tanques

Figura 1 – Taxa de crescimento de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia na presença de luz (PL) com pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) e pulso apenas com água do mar (C), cultivadas por 42 dias. Os valores são apresentados em médias (n=3), as barras verticais representam o intervalo de confiança (considerando $p < 0,05$).34

Figura 2 – Taxa de crescimento de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia em ausência de luz (AL) e pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) ou apenas com água do mar (C), cultivadas por 42 dias. Os valores são apresentados em médias (n=3) e as barras verticais representam o intervalo de confiança. Os asteriscos indicam as principais diferenças significativas entre os dias, de acordo com tratamento ou controle, considerando $p < 0,05$ 35

Determinação das condições ótimas de circulação de água em cultivo em tanques da macroalga *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales)

Figura 1 – Esquema dos pontos onde foram feitas as medições nos tanques com sistema de aeração e de circulação de água. (C) centro, (Q1) ponto oposto à bomba/compressor de ar e (Q2) ponto a 90° em relação à bomba/compressor de ar.49

Figura 2 – (A) vista lateral do tanque circular com sistema de aeração por ar difuso (AD), constituído por um anel circular tubular de diâmetro de 20 mm, com furos de diâmetro de 2 mm a cada 5 cm, por onde saíam as bolhas de ar, proporcionando um movimento ascendente. (B) vista superior do tanque com sistema de aeração por ar difuso. (C) vista lateral do tanque circular com sistema aeração por *air lift* (AL), constituído por um par de *air lifts* situados em pontos opostos ao tanque, proporcionando um movimento circular em direção ao centro do tanque. (D) vista superior do sistema de *air lift*, com detalhe da pedra porosa, no fundo do tanque para que não ocorresse a deposição das algas no centro do tanque. (E) vista lateral

do tanque circular, sem sistema de aeração, utilizado como controle (C). (F) vista superior. As medidas estão expressas em centímetros. ...	51
Figura 3 – Diagrama de caixa de velocidades nos três pontos amostrais para sistema de aeração. (Q1) ponto oposto à bomba/compressor de ar, (Q2) ponto à 90° em relação à bomba/compressor de ar e (C) ponto no centro do tanque.	52
Figura 4 – Diagrama de caixa de velocidades nos três pontos amostrais para sistema de circulação. (Q1) ponto oposto à bomba/compressor de ar, (Q2) ponto a 90° em relação à bomba/compressor de ar e (C) ponto no centro do tanque.	52
Figura 5 – Oscilação da temperatura nos sistemas de circulação de água por bomba (SC) e sistema de aeração (SA) no período de 10h. ..	53
Figura 6 – (A) Tanque de 100 L com sistema de circulação de água por moto-bomba (SC) com contaminação de metais. (B) Tanque de 100 L com água do mar como referência de cor da água do mar sem contaminação de metais.	53
Figura 7 – Ganho de biomassa de <i>Kappaphycus alvarezii</i> após 28 dias de cultivo em tanques sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por <i>air lift</i> (AL). Os valores são apresentados como médias (n=3).	55
Figura 8 – Taxa de crescimento de <i>Kappaphycus alvarezii</i> após 28 dias de cultivo em tanques sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por <i>air lift</i> (AL). Os valores são apresentados como médias (n=3), as barras verticais representam o intervalo de confiança, considerando $p < 0,05$. ..	55
Figura 9 – Diagrama de caixa da variação de temperatura medida (A) de manhã e (B) de tarde no cultivo experimental sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por <i>air lift</i> (AL). ● temperatura média de manhã; ■ temperatura média de tarde.	56
Figura 10 – Diagrama de caixa da variação de oxigênio dissolvido medido (A) de manhã e (B) de tarde no cultivo experimental sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por <i>air lift</i> (AL). ● oxigênio dissolvido médio de manhã; ■ oxigênio dissolvido médio de tarde. As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos e o controle, considerando $p < 0,05$	56
Figura 11 – Diagrama de caixa da variação de salinidade medida (A) de manhã e (B) de tarde no cultivo experimental sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com	

sistema de aeração por *air lift* (AL). ● salinidade média de manhã; ■ salinidade média de tarde.57

Figura 12 – *Kappaphycus alvarezii* cultivada em tanques por 28 dias em diferentes condições de movimentação de água: (A) sem sistema de movimentação de água (controle), (B) com sistema de aeração por ar difuso (AD) e (C) com sistema de aeração por *air lift* (AL). As setas vermelhas indicam locais de despigmentação, principalmente nas extremidades. (barra de escala = 5 cm).58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Taxas de crescimento (TC) e temperaturas (°C) de cultivo em mar de *Kappaphycus alvarezii* em diferentes países, segundo diferentes autores. 23

Avaliação da aclimação prévia com ausência ou presença de luz e pulso de nutrientes em cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* visando o cultivo em tanques

Tabela 1 – Taxa de crescimento média de *Kappaphycus alvarezii* após 42 dias de cultivo com aclimação prévia de uma semana em presença de luz (PL) e em ausência de luz (AL), com posterior pulso de nutrientes por 1h em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% (VS50). Como controle, foi realizado um pulso com água do mar esterilizada (C). Valores apresentados em média \pm intervalo de confiança. As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos, considerando $p < 0,05$ 33

Tabela 2 – Análise de variância (ANOVA) multifatorial para aclimação e regime de nutrientes. 33

Tabela 3 – Biomassa de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia na presença de luz (PL) com pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) ou apenas em água do mar (C), cultivada por 42 dias. 34

Tabela 4 – Biomassa de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia em ausência de luz (AL) com pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) ou apenas em água do mar (C), cultivada por 42 dias. 35

Tabela 5 – Taxas de crescimento (TC) e período de cultivo (expresso em dias) de cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* em diferentes concentrações e regime de nutrientes. O termo contínuo foi adotado para frequência quando havia renovação semanal do meio de cultura . 38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	19
1.1. CULTIVO de <i>Kappaphycus alvarezii</i> e IRRADIÂNCIA	21
1.2. CULTIVO de <i>Kappaphycus alvarezii</i> e TEMPERATURA	22
1.3. CULTIVO de <i>Kappaphycus alvarezii</i> e MOVIMENTAÇÃO DA ÁGUA	23
1.4. CULTIVO de <i>Kappaphycus alvarezii</i> e NUTRIENTES	24
2. OBJETIVOS	25
2.1. OBJETIVO GERAL	25
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
Avaliação da aclimatação prévia e pulso de nutrientes em cultivo <i>in vitro</i> de <i>Kappaphycus alvarezii</i> visando o cultivo em tanques	
RESUMO	29
ABSTRACT	30
3.1. INTRODUÇÃO	31
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.3. RESULTADOS	33
3.4. DISCUSSÃO	36
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
Determinação das condições ótimas de circulação de água em cultivo em tanques da macroalga <i>Kappaphycus alvarezii</i> (Rhodophyta, Gigartinales)	
RESUMO	45
ABSTRACT	46
4.1. INTRODUÇÃO	47
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	49
4.2.1. Teste preliminar	49
4.2.2. Cultivo em tanques circulares	49
4.2.3. Análise estatística	50
4.3. RESULTADOS	52
4.3.1. Teste preliminar	52
4.3.2. Cultivo em tanques circulares	54
4.4. DISCUSSÃO	59
4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO	66

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo de macroalgas representa 26,29 % da produção aquícola mundial e dentre as principais espécies cultivadas estão as macroalgas vermelhas *Eucheuma* spp. e *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva, comercialmente conhecidas como “cotonii”, que representam $\frac{1}{4}$ da porcentagem total da produção mundial de macroalgas (FAO, 2012). Alguns aspectos como facilidade de cultivo e importância socioeconômica contribuem para que a produção destas espécies seja difundida em muitos países (ASK et al., 2003).

K. alvarezii também se destaca por ser uma das principais produtoras de carragenana, um ficocolóide utilizado pelas indústrias alimentícias e farmacológicas (CRITCHLEY, 1993; McHUGH, 2003). A demanda por esse ficocolóide vem aumentando nos últimos anos e a falta de macroalgas para abastecer esse mercado é o principal entrave para suprir essa demanda (BIXLER e PORSE, 2010).

A introdução de *K. alvarezii* no Brasil foi estimulada pela pouca disponibilidade de espécies cultiváveis e produtoras de carragenana no país, para reduzir a exploração dos bancos naturais de *Hypnea musciformis* e diminuir a dependência de matéria prima importada. Assim, Oliveira (1990) sugeriu o cultivo dessa espécie na costa sul e sudeste do país. Em 2008 foram iniciados os primeiros estudos para cultivar experimentalmente a espécie em Santa Catarina em sistema de balsa flutuante, sendo constatado que as temperaturas do inverno são limitantes para a sobrevivência da espécie (HAYASHI et al., 2011).

O cultivo em tanques nos períodos de baixas temperaturas pode ser considerado como solução para esse entrave. Países como Estados Unidos, Canadá, Chile, Israel, México, Alemanha, China e Japão utilizam esse método com diversas espécies de macroalgas comerciais e obtêm produtividade superior ao cultivo em mar mesmo sendo mais custoso e exigindo investimentos elevados (TITLYANOV e TITLYANOVA, 2010). O cultivo em tanques pode também servir para manutenção de estoques de matrizes de macroalgas.

O cultivo em tanques em larga escala de macroalgas ainda é um desafio para aquicultura, pois à medida que há o aumento da densidade, diminuiu o crescimento algáceo, reduzindo a produtividade (KAKITA e KAMISHIMA, 2007). Entretanto o produto final é de melhor qualidade, devido ao controle de epífitas (FLETCHER, 1995; ISRAEL et al., 2006) e a manipulação de nutrientes orgânicos e inorgânicos para o crescimento das algas (ISRAEL et al., 2006) tornando este tipo de cultivo vantajoso frente ao cultivo em mar.

O cultivo em tanques pode ser tanto para crescimento de biomassa, como no caso de *Chondrus crispus* (BIDWELL et al., 1985) *Gracilaria chilensis* (UGARTE e SANTELICES, 1992) e *Palmaria palmata* (PANG e LÜNING, 2004), quanto para cultivo de esporos a exemplo de *Saccharina japonica*, *Undaria pinnatifida* e *Porphyra* sp. (TITLYANOV e TITLYANOVA, 2010). Tanques *raceway* com fundo em formato em “V”, com aeração por ar comprimido localizada no fundo do tanque, promovendo movimento ascendente das bolhas de ar, e fornecimento de regime contínuo de nutrientes é o mais indicado para o cultivo de algas; entretanto todo o dimensionamento do tanque é feito por suposições, sem qualquer tipo de fundamentação hidráulica e nem sempre é possível passar da escala experimental para a massiva (HUGUENIN, 1976).

A aeração em cultivos de algas é fundamental para manter as plantas em constante circulação e reduzir a camada limite entre a água e alga, melhorando a difusão de nutrientes (GUERIN e BIRD 1987). Serve também para homogeneizar a distribuição de nutrientes em todo tanque (HUGUENIN, 1976) e impulsionar o movimento da biomassa algácea para a superfície proporcionando maior exposição à luz e melhorando a eficiência fotossintética (SANTELICES e DOTY, 1989).

Cultivos experimentais em tanques com *Kappaphycus alvarezii* foram realizados em pequena escala. Aguirre-von-Wobeser et al. (2001) cultivaram *K. alvarezii* em tanques de 100 L com renovação da água do mar 2 vezes por semana, mas não especificaram o sistema utilizado para movimentar a água. Hayashi et al. (2008) utilizaram tanques circulares com capacidade de 100 L para cultivar as algas que foram suspensas por amarrações. Estes autores utilizaram aeração em intervalos de 30 min, e como fonte de nutrientes, foi utilizada água do efluente da piscicultura. Faria (2008) realizou experimentos em tanques circulares com capacidade de 500 L, sendo que as algas eram cultivadas soltas no tanque com circulação de água. Todos os experimentos tinham como objetivo analisar o ganho de biomassa (AGUIRRE-VON-WOBESER et al., 2001; HAYASHI et al., 2008; FARIA, 2008) e a capacidade de remoção de nutrientes (HAYASHI et al., 2008), mas nenhum considerou os efeitos da aeração e movimentação da água no cultivo.

Para que o cultivo em tanques seja exitoso, a irradiância, temperatura, qualidade e movimentação da água devem estar de acordo com as condições ideais de cultivo da *K. alvarezii* (DOTY, 1987; GLENN e DOTY, 1992).

1.1. CULTIVO de *Kappaphycus alvarezii* e IRRADIÂNCIA

Os primeiros estudos baseados no comportamento de *K. alvarezii* em ambiente natural davam indícios que a irradiância interferia no crescimento da alga. Doty (1973) observou que em locais com maior intensidade luminosa, as algas cresciam mais rápido e Parker (1974) constatou que cultivos de *Eucheuma* em ambientes naturais com irradiância alta e constante não obtinham sucesso, pois a alga apresentava envelhecimento precoce e branqueamento do talo devido à exposição excessiva à luz. Na Indonésia, o cultivo em mar de *K. alvarezii* ocorre em áreas com irradiância na faixa de 600–1200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em uma profundidade de 4–5m, sem apresentar fotoinibição e nem redução no crescimento (LIDEMAN et al., 2012). Ask (2006) recomenda ambientes com irradiância de entre 200 – 2000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para cultivos em fazendas marinhas de profundidade rasa.

A fotoinibição é um fenômeno causado pela irradiância excessiva que provoca danos à alga, tais quais: redução da capacidade fotossintética, pois a energia absorvida é dissipada em forma de calor, não sendo aproveitada para as reações fotoquímicas (GRAHAM et al., 2009); degradação das proteínas do centro de reação da fotossíntese II (MATOO et al., 1984); absorção excessiva de luz, aumentando a produção de espécies radioativas de oxigênio que atacam os ácidos graxos insaturados e a clorofila presentes na alga (HANELT e NULTSCH, 2003) e interrupção do transporte de elétrons na fotossíntese I e II devido à dessecação da alga (SAMPATH-WILEY et al, 2008). Já a baixa irradiância causa mudanças na estrutura celular da alga, mais precisamente nos mecanismos de captação de luz, para que a absorção de luz seja otimizada (GRAHAM et al., 2009).

Assim, a intensidade luminosa pode mudar a coloração da alga: em ambientes com alta irradiância os talos de *K. alvarezii* adquirem uma coloração escura e em condições de menor intensidade adquirem uma coloração amarelo pálido (DOTY, 1987). Essa mudança na coloração existe por causa da capacidade da alga em se adaptar ao meio; a coloração escura em ambientes de alta irradiância é um indicativo de grande quantidade de células fotoprotetoras para que não haja fotoinibição e a coloração pálida em ambientes de baixa irradiância é causada pela produção de grande quantidade de pigmentos acessórios para aumentar a captura de luz (GRAHAM et al., 2009).

Aguirre-von-Wobeser et al. (2001) estudaram o efeito da exposição de luz vermelha (0,3 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e luz branca (9.000 μmol

fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em *K. alvarezii* cultivada em laboratório e concluíram que há um melhor desenvolvimento da alga em luz vermelha, pois nesse comprimento de onda a luz é melhor capturada pelo pigmento acessório ficocianina, exclusivo de algas vermelhas e cianobactérias. Bulboa e Paula (2005) estudaram o crescimento de *K. alvarezii* em laboratório sob diferentes temperaturas (21, 24, 27 e 30 °C) e irradiância (50, 100, e 150 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e as melhores taxas de crescimento foram obtidas quando as algas foram cultivadas com irradiância de 100 e 150 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Como observado, as faixas de irradiância para o cultivo de *K. alvarezii* são bem amplas devido a sua capacidade de adaptação a ambientes de baixa ou excessiva irradiância (GUAN et al., 2013). Ainda que a irradiância seja importante para o crescimento da *K. alvarezii*, fotoperíodos de 24h não são indicados para o crescimento da alga (MTOLERA et al., 1995), pois a alga possui um ritmo circadiano (GRANBOM e PERDÉSEN, 2001).

1.2. CULTIVO de *Kappaphycus alvarezii* e TEMPERATURA

A temperatura desempenha um papel fundamental no crescimento das algas, pois está diretamente ligada às reações químicas. Quando há elevação de temperatura, um processo de desnaturação das proteínas e inativação dos cloroplastos é iniciado, diminuindo o metabolismo da alga e conseqüentemente seu crescimento (POWLES, 1984; LOBBAN, 1997). *K. alvarezii* se adapta a amplas faixas de temperatura, diminuindo ou aumentando sua capacidade fotossintética e conseqüentemente seu crescimento, conforme as condições ambientais (AGUIRRE-VON-WOBESER et al., 2001) (Tabela 1).

Por ser uma alga de origem tropical, de ocorrência desde a região do Indo-Pacífico até leste da África e em recifes de ilhas do sudeste da Ásia (DOTY, 1987), *K. alvarezii* tem melhores taxas de crescimento em águas com temperaturas entre 23–33 °C, associando o crescimento aos picos de fotossíntese encontrados nessas temperaturas (GLENN e DOTY, 1981). No cultivo em mar, Chaoyuan et al. (1989) observaram que temperaturas abaixo de 20 °C é letal; entretanto, Hayashi et al. (2011) em estudos realizados no sul do Brasil observaram que a espécie sobrevive a temperaturas entre 16–19 °C, porém deixa de crescer. Temperaturas acima de 31 °C também prejudicam o desenvolvimento da macroalga, acarretando numa diminuição na taxa de crescimento (OHNO et al., 1996).

Experimentos em laboratório mostraram que a exposição às baixas temperaturas ($< 18\text{ }^{\circ}\text{C}$) de forma abrupta ou gradual interfere negativamente na capacidade fotossintética da alga (DAWES, 1989) enquanto a temperatura de $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ é letal (BULBOA e PAULA, 2005). Assim como no cultivo em mar, experimentos em laboratório mostram que temperaturas entre $28\text{--}32\text{ }^{\circ}\text{C}$ inibem o crescimento de *K. alvarezii* (ARAÚJO et al., 2014) e a exposição a altas temperaturas ($> 33\text{ }^{\circ}\text{C}$) é letal (AGUIRRE-VON-WOBESER et al., 2001; NISHIHARA et al., 2012). O desenvolvimento ótimo de *K. alvarezii* é encontrado entre $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (NISHIHARA et al., 2012; ARAÚJO et al., 2014).

Tabela 1: Taxas de crescimento (TC) e temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) de cultivo em mar de *Kappaphycus alvarezii* em diferentes países, segundo diferentes autores.

TC (% dia ⁻¹)	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	País	Autor
3,91- 10,32	25-30	China	Chaoyuan et al., 1989
2,07-5,06	21-27	EUA	Glenn e Doty, 1990 ^a
3,72-7,17	28-30	Filipinas	Hurtado-Ponce, 1992
3,16-6,50	25-30	Vietnam	Ohno et al., 1996
0,90-4,20	28-31	Filipinas	Hurtado et al., 2001
6,50-8,10	28-30	México	Muñoz et al., 2004
5,50	25-30	Brasil	Bulboa e Paula, 2005
4,00-6,00	28-29	Quênia	Wakibia et al., 2006
9,35-13,98	25-27	Índia	Subba Rao et al., 2008
3,50-4,60	25-30	Vietnam	Hung et al., 2008
3,76	21-27	Brasil	Góes e Reis, 2011
3,50-5,00	24-27	Brasil	Hayashi et al., 2011
1,50- 6,80	28-31	Tanzânia	Msuya, 2013

1.3. CULTIVO de *Kappaphycus alvarezii* e MOVIMENTAÇÃO DA ÁGUA

Inicialmente, quando não havia muitos estudos relacionando a movimentação da água com *Eucheuma* e *Kappaphycus*, a recomendação era que o cultivo ocorresse em locais com pouco movimento de água, para que a manutenção do cultivo fosse simples e não houvesse perda da estrutura de cultivo devido à força das correntes (DOTY, 1973). Posteriormente, foi constatado que essas espécies não apresentavam bom crescimento em ambientes de água parada, mas em ambientes com considerável ação de ondas havia melhora no crescimento, presumindo assim que a ação das ondas contribui para o desenvolvimento destas espécies (PARKER, 1974).

Assim a movimentação da água se tornou o principal parâmetro para escolha da área de cultivo, pois promove mudanças no crescimento, forma, reprodução e na produção de ficocolóides. A própria morfologia da alga, rígida e com talos ramificados, é ideal para favorecer a quebra da camada limite quando exposta à movimentação da água (DOTY, 1987). Com a quebra desta camada limite há o aumento da difusão de carbono inorgânico, fosfato, nitrato e micronutrientes da água para o talo (HURD, 2000). Para o cultivo em mar de *Kappaphycus alvarezii*, normalmente a recomendação é que a movimentação da água seja de fraca a moderada (TRONO e LLUISMA, 1992), em torno de 5–15 cm s⁻¹ (GLENN e DOTY, 1992).

1.4. CULTIVO de *Kappaphycus alvarezii* e NUTRIENTES

Para o crescimento das algas é necessário que no ambiente aquático haja uma combinação de nitrogênio, carbono inorgânico, fosfato, ferro, cobalto, manganês e outros elementos (GRAHAM et al., 2009). Destes, os que mais influenciam o crescimento são o nitrogênio e o fósforo, e a disponibilidade destes nutrientes no meio ambiente marinho pode ser limitante para o crescimento de algas tropicais (FONG, 2009; GRAHAM et al., 2009). Assim, a relação de N:P na água serve como indicativo da disponibilidade de nutrientes, podendo ser comparado com a necessidade de nutrientes da alga (FONG, 2009).

As algas podem utilizar diferentes fontes de nitrogênio orgânico ou inorgânico simultaneamente, mas não necessariamente absorvem na mesma intensidade, havendo uma preferência pela amônia (NH₄) que pode inibir a absorção de nitrato e nitrito (HANISAK, 1990). Já a ureia é a fonte de nitrogênio menos usada em *Kappaphycus alvarezii* (ASK e AZANZA, 2002). Li et al. (1990) observaram que ao ser cultivada em tanques e no mar com adição de NH₄ por 1h a cada 3 dias, a espécie é capaz de crescer o dobro em comparação com as algas cultivadas sem adição de NH₄.

O nível máximo de nitrogênio encontrado em talos de *K. alvarezii* cultivadas em mar está na faixa 1,00–2,53 % de massa seca; isto significa que algas que contenham menos de um 1 % da sua massa seca em nitrogênio poderiam ter seu crescimento melhorado, pois conseguem absorver mais nitrogênio, mas a disponibilidade de nutriente no meio está limitando seu crescimento (WAKIBIA et al., 2006). Já para fosfato ainda não foi observada uma concentração máxima de absorção, sugerindo que não há uma concentração limitante (DY e YAP, 2001; WAKIBIA et al., 2006). Mesmo *K. alvarezii* sendo de águas

oligotróficas, Hayashi et al. (2008) constataram o potencial dessa alga como biofiltro em cultivo integrado com peixes, sendo capaz remover 70 % do amônio e 20 % do fosfato presentes no efluente da piscicultura de *Trachinotus coralinus*. Dy e Yap (2001) observaram um potencial de absorção de amônio da espécie de 15 a 35 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca por hora, no período de 8 horas.

K. alvarezii é considerada uma espécie bem resistente, por ter uma boa bioabsorção de metais pesados como: cádmio, cobalto e cromo. Sobrevive em ambientes contaminados, desde que a concentração desses metais não seja superior a sua capacidade de bioabsorção, de aproximadamente 0,022; 0,027 e 0,021 mg g^{-1} de massa seca para cádmio, cobalto e cromo, respectivamente (SURESH KUMAR et al. 2007).

Para o cultivo *in vitro*, os meios de cultura mais utilizados são o von Stosch (VON STOSCH, 1963) e Provasoli's (McLACHLAN, 1973). Estudos mostram que para o cultivo de *K. alvarezii*, o meio de cultura Provasoli's em regime contínuo tem ação deletéria e o von Stosch usado em concentração de 50 % resulta em taxas de crescimento entre 3-5 % dia^{-1} (ERBERT, 2001; PAULA, 2001). Outras fontes de nutrientes já foram testadas para o cultivo *in vitro* da espécie como água do mar autoclavada enriquecida com água de coco, 0,7 mM N (NaNO_3) e 13 μM P (KH_2PO_4) (DAWES et al., 1994) e solução Guillard and Rhyter (ERBERT, 2001), e mesmo apresentando taxas de crescimento altas de 8,4 % dia^{-1} e 6,5 % dia^{-1} , respectivamente, são meios de cultura usados em menor frequência.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Verificar a viabilidade do cultivo em tanques em sistema fechado de *Kappaphycus alvarezii* considerando regime de nutrientes, privação de luz e movimentação de água para manutenção de matrizes em períodos de baixa temperatura.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer um método de aclimação com privação de luz e regime de pulso de nutrientes para o cultivo em tanques de *Kappaphycus alvarezii* por meio de ensaios *in vitro*;

- Determinar o melhor método de movimentação de água para o cultivo em tanques circulares de *Kappaphycus alvarezii*: aeração constante por meio de ar difuso ou *air lift*, avaliando a adaptação da macroalga por meio da taxa de crescimento e sanidade da espécie.

Avaliação da aclimação prévia com ausência ou presença de luz e pulso de nutrientes em cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* visando o cultivo em tanques

Ana Luiza Flores*, Katt Regina Lapa, Leila Hayashi

Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, 88034-001, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: analuizaflores@hotmail.com

Avaliação da aclimação prévia com ausência ou presença de luz e pulso de nutrientes em cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* visando o cultivo em tanques

RESUMO

O uso contínuo de nutrientes em meios de cultura para cultivos em tanques é caro e não reflete o melhor desenvolvimento da alga. Este trabalho teve como objetivo estabelecer um método de aclimação com ausência ou presença de luz e regime de pulso de nutrientes para o cultivo em tanques de *Kappaphycus alvarezii* por meio de ensaios *in vitro*. Para tanto, aproximadamente 12 g do tetrasporófito verde foram aclimatados por uma semana, sendo que metade da biomassa foi aclimatada em ausência de luz (AL) e a outra metade em presença de luz (PL). Posteriormente à aclimação, foi realizado um pulso de nutrientes de 1h com a solução von Stosch a 50 % (VS50) e como controle foi realizado o mesmo pulso apenas com água do mar esterilizada. Após esse período, as algas foram cultivadas por 42 dias sem adição de nutrientes. No tratamento VS50, algas aclimatadas com AL apresentaram taxa de crescimento média de 2,20 % dia⁻¹ significativamente maior que as algas aclimatadas com PL, que apresentaram taxa de crescimento de 1,54 % dia⁻¹. No controle, não foram observadas diferenças significativas. Os ensaios *in vitro* mostraram que a aclimação por uma semana em ausência de luz e com pulso de 1h de VS50 é o melhor tratamento para a manutenção de linhagens.

Palavras-chave: macroalga vermelha, regime nutricional, privação de luz.

Evaluation of preliminary acclimation with light presence or absence and pulsing nutrients in *in vitro* culture of *Kappaphycus alvarezii* aiming tank cultivation

ABSTRACT

The continued use of nutrients in culture media for tanks cultivation is expensive and does not reflect the best development of seaweed. This work has as objective establish a method for acclimation and pulsing nutrients in *in vitro* culture aiming tanks cultivation of *Kappaphycus alvarezii*. Approximately 12 g of green tetrasporophyte were acclimated for a week, with half of the biomass acclimatized in absence of light (LA) and the other half in presence of light (PL). After acclimation, pulsing nutrients of 1 hour with 50 % von Stosch solution (VS50) or with sterile seawater, used as control, were made. After this period, seaweeds were grown without addition of nutrients for 42 days. In the treatment with VS50, plants acclimated with AL had an average growth rate of 2.20 \% day^{-1} , significantly higher than those acclimated with PL, which presented growth rate of 1.54 \% day^{-1} . No significant differences were observed in control. *In vitro* experiments showed that one week acclimation without the presence of light (LA) followed by 1h pulsing nutrients using VS50 is the best treatment for maintaining strains.

Keywords: red algae, nutritional regimen, dark treatment.

3.1. INTRODUÇÃO

O estado de Santa Catarina, localizado no Sul do Brasil, apresentou potencial para o cultivo de *Kappaphycus alvarezii* comprovado por pelo menos três ciclos produtivos durante a primavera, verão e outono. A produção no mar, porém, foi considerada inviável no inverno devido às baixas temperaturas da região, que apresenta em média valores baixo de 18 °C (Hayashi et al. 2011). O cultivo em tanques poderia ser uma alternativa para cultivo de *K. alvarezii* em épocas desfavoráveis, para manter os propágulos saudáveis até as condições ambientais melhorarem. Entretanto, um dos principais custos de produção para o cultivo em tanques é a utilização de nutrientes artificiais (Huguenin 1976).

O uso contínuo de nutrientes em meios de cultura nem sempre resulta no melhor desenvolvimento da alga (Hanisak 1990) e pode favorecer o crescimento de epífitas, consideradas um dos maiores problemas dentro do cultivo de algas (Kautsky 1990). Hanisak (1978) propôs o regime de pulso de nutrientes para cultivo de *Gracilaria tikvahiae* em tanques, onde as algas recebiam água do mar enriquecida com nitrogênio, fósforo e metais traços por dois dias. Segundo o autor, ao final do segundo dia a água era renovada em 100 % e durante duas semanas as algas eram cultivadas somente em água do mar, sem adição de nutrientes, até que outro pulso de dois dias era realizado. Com esse regime de pulso de nutrientes proposto, *G. tikvahiae* crescia e havia o controle do crescimento de epífitas no cultivo. Lapointe (1985) e Pickering et al. (1993) testaram diferentes concentrações de nutrientes em *Gracilaria tikvahiae* e *Gracilaria chilensis* e também observaram o crescimento da alga e redução no aparecimento de epífitas no cultivo em tanques.

Para o cultivo de *K. alvarezii*, poucos estudos utilizando pulso de nutrientes foram realizados. Paula (2001) comparou o uso contínuo de solução de nutrientes von Stosch a 50 % com pulso de 1h de solução Provasoli, sendo que ambos os regimes foram favoráveis para crescimento de *K. alvarezii* cultivada *in vitro*. Faria (2008) testou o regime de pulso de von Stosch 50 % por uma semana, a cada 28 dias para o cultivo de *K. alvarezii* em tanques de 500 L, e obteve taxa de crescimento baixa (1,15 % dia⁻¹), embora as algas se mantivessem saudáveis.

O cultivo de algas em laboratório tem como um dos objetivos principais encontrar respostas do comportamento da alga quando cultivadas em condições conhecidas e controladas. Para iniciar o cultivo

em laboratório, as algas passam por um processo de aclimação, essencial para sua adaptação às condições de cultivo. Normalmente para o período de aclimação, a irradiância é inferior à encontrada na natureza, em torno de 40-70 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a temperatura é controlada para que não ocorram variações superiores a 1 °C (Ramirez 1995).

Assim, este trabalho teve como objetivo estabelecer o melhor método de aclimação e pulso de nutrientes para o cultivo em tanques de *Kappaphycus alvarezii* por meio de ensaios *in vitro*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Tetrasporófitos de coloração verde de *Kappaphycus alvarezii* provenientes do banco de linhagens da Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos, do Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias da UFSC, foram utilizados, sendo mantidos em cultivo sob as seguintes condições: água do mar esterilizada enriquecida com solução von Stosch a 50 %, salinidade 35 ‰, fotoperíodo de 12h, irradiância de $50 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 25 ± 1 °C e aeração constante.

Ramos de $1 \pm 0,1$ g de *K. alvarezii* (totalizando aproximadamente 12 g) foram aclimatados por uma semana, sendo que metade da biomassa ($5,80 \pm 0,03$ g) foi aclimatada em ausência de luz (AL) e a outra metade com presença de luz (PL) em fotoperíodo de 12h, e densidade de 6 g L^{-1} . Em ambas as condições as algas foram cultivadas em água do mar esterilizada, com 35 ‰ de salinidade, em temperatura de 25 ± 1 °C e aeração constante, sem adição de nutrientes.

Posteriormente, um pulso de nutrientes de 1h foi realizado com a solução von Stosch a 50 % (VS50) e como controle, o mesmo pulso foi realizado apenas com água do mar esterilizada. As biomassas aclimatadas na presença e na ausência de luz foram divididas em triplicatas em erlenmeyer de 500 mL, tanto o tratamento quanto o controle, e foram cultivadas, com aeração constante, à temperatura de 25 ± 1 °C e irradiância de $50 \pm 10 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, totalizando 12 frascos.

Após o pulso, as algas foram transferidas para erlenmeyer de 500 mL com água do mar esterilizada e cultivadas sob as mesmas condições descritas acima sem adição de nutrientes, por 42 dias. Três vezes por semana, a renovação da água do mar esterilizada era realizada, momento em que as algas eram pesadas e a taxa de crescimento diária calculada segundo a fórmula de Lignell & Perdesén (1989):

$$TC = \left[\left(\frac{M_f}{M_i} \right)^{1/t} - 1 \right] \times 100$$

Onde M_f é a biomassa final (g), M_i é biomassa inicial (g) e t tempo de cultivo (d).

Para avaliar as diferenças entre os tratamentos nas taxas de crescimento durante todo o período experimental foi realizada ANOVA multifatorial e para a biomassa medidas entre as semanas foi utilizado ANOVA de medidas repetidas. O teste de Newman-Keuls *a posteriori* foi realizado para destacar a diferença entre os tratamentos. Para essas análises foi utilizado o *software* Statistica 7.0, considerando $p < 0,05$.

3.3. RESULTADOS

Durante o período de cultivo, as algas mantiveram a coloração verde característica desta linhagem, além de não ser observado contaminação do meio de cultura.

Tabela 1 – Taxa de crescimento média de *Kappaphycus alvarezii* após 42 dias de cultivo com aclimação prévia de uma semana em presença de luz (PL) e em ausência de luz (AL), com posterior pulso de nutrientes por 1h em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% (VS50). Como controle, foi realizado um pulso com água do mar esterilizada (C). Valores apresentados em média \pm intervalo de confiança. As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos, considerando $p < 0,05$.

Nutriente	Aclimação	
	PL	AL
C	1,60 \pm 0,62 ^a	2,21 \pm 0,06 ^a
VS50	1,49 \pm 0,11 ^a	2,20 \pm 0,09 ^b

Tabela 2 – Análise de variância (ANOVA) multifatorial para aclimação e regime de nutrientes

	SS	GL	SQ	F	p (<0,05)
Intercepção	81,4902	1	81,4902	1047,154	0,0000
Aclimação	3,4073	1	3,4073	43,784	0,0000
Nutrientes	0,2411	3	0,0804	1,033	0,4047
Interação	0,2437	3	0,0812	1,044	0,4001
Erro	1,2451	16	0,0778		

No pulso de nutrientes de 1h (VS50), as algas aclimatadas por uma semana na ausência de luz (AL) apresentaram taxas de crescimento de $2,20 \text{ \% dia}^{-1}$, significativamente maior às algas aclimatadas na presença de luz (PL) sendo que essas apresentaram taxa de crescimento de $1,49 \text{ \% dia}^{-1}$, no mesmo período (Tab. 1). Não foi observado interação entre os tratamentos e a aclimação (Tab. 2) e no controle não houve diferenças significativas entre a aclimação AL e PL. A ANOVA multifatorial apresentou apenas diferença significativa para aclimação, não havendo diferença significativa para o tratamento com nutriente (VS50) e o controle (C).

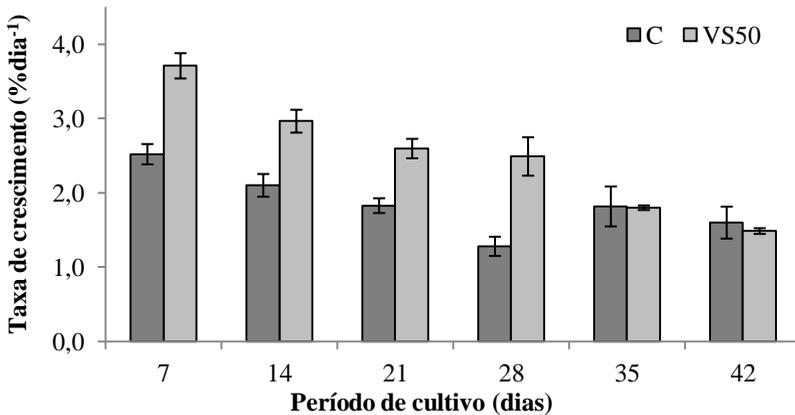


Figura 1 – Taxa de crescimento de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia na presença de luz (PL) com pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) e pulso apenas com água do mar (C), cultivadas por 42 dias. Os valores são apresentados em médias (n=3), as barras verticais representam o intervalo de confiança (considerando $p < 0,05$).

Tabela 3 – Biomassa de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia na presença de luz (PL) com pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) ou apenas em água do mar (C), cultivada por 42 dias.

Nutriente	Período de cultivo (dias)						
	0	7	14	21	28	35	42
C	1,21	1,44	1,62	1,77	1,77	2,25	2,34
	$\pm 0,21$	$\pm 0,28$	$\pm 0,32$	$\pm 0,37$	$\pm 0,35$	$\pm 0,21$	$\pm 0,21$
VS50	1,11	1,43	1,67	1,91	2,35	2,07	2,06
	$\pm 0,04$	$\pm 0,09$	$\pm 0,14$	$\pm 0,21$	$\pm 0,53$	$\pm 0,07$	$\pm 0,04$

Valores apresentados como média (n=3) \pm intervalo de confiança ($p < 0,05$).

As algas aclimatadas com presença de luz apresentaram taxa de crescimento média de 2,18 % dia⁻¹. As algas do tratamento VS50 apresentaram a maior taxa de crescimento de 3,71 % dia⁻¹ no 7º dia, e a partir do 14º dia houve uma diminuição significativa nos valores das taxas de crescimento do tratamento VS50 e controle. Não houve diferença significativa no ganho de biomassa durante o período de cultivo (Tab. 3).

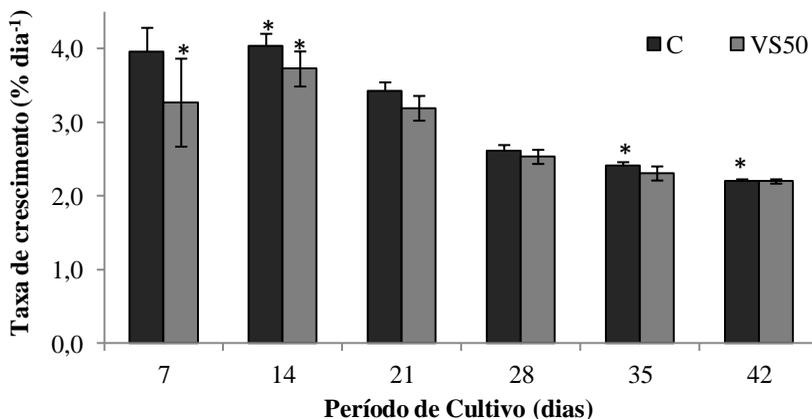


Figura 2 – Taxa de crescimento de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia em ausência de luz (AL) e pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) ou apenas com água do mar (C), cultivadas por 42 dias. Os valores são apresentados em médias (n=3) e as barras verticais representam o intervalo de confiança. Os asteriscos indicam as principais diferenças significativas entre os dias, de acordo com tratamento ou controle, considerando $p < 0,05$.

Tabela 4 – Biomassa de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação prévia em ausência de luz (AL) com pulso em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50 % (VS50) ou apenas em água do mar (C), cultivada por 42 dias.

Tratamento	Período de cultivo (semanas)						
	0	7	14	21	28	35	42
C	0,99	1,30	1,72	2,01	2,14	2,27	2,47
	±0,03	±0,11	±0,15	±0,19	±0,20	±0,18	±0,12
VS50	0,94	1,18	1,57	1,82	1,99	2,09	2,35
	±0,03	±0,17	±0,17	±0,19	±0,13	±0,09	±0,13

Valores apresentados como média (n=3) ± intervalo de confiança ($p < 0,05$).

As algas aclimatadas em ausência de luz apresentaram taxa crescimento média de $2,99 \text{ \% dia}^{-1}$. As algas do tratamento VS50 apresentaram taxa de crescimento com menor variação e o pico de crescimento foi observado no 14º dia, com taxa de crescimento de $3,73 \text{ \% dia}^{-1}$, sendo significativamente diferente das taxas de crescimento obtidas no 35º e 42º dia, no mesmo tratamento. No controle, foram observadas diferenças significativas no 7º e 14º dia. (Fig. 2). Durante o período experimental houve aumento de biomassa, entretanto não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Tab. 4).

3.4. DISCUSSÃO

O cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* com aclimação na ausência e presença de luz associado ao regime de pulso de nutrientes de 1h apresentou taxas de crescimento máximas de $2,99 \text{ \% dia}^{-1}$ e $2,18 \text{ \% dia}^{-1}$, respectivamente. Os resultados encontrados nesse estudo estão dentro da faixa de 2 a 5 \% dia^{-1} encontrada na literatura (Tab. 5). Entretanto, uma comparação mais apurada com outros estudos torna-se difícil, devido aos diferentes regimes de nutrição aplicados ao cultivo *in vitro* de *K. alvarezii*. Por exemplo, Erbert (2001) obteve taxas de crescimento comparáveis às encontradas no cultivo em mar de $7,36 \text{ \% dia}^{-1}$, mas o tempo de cultivo foi de apenas três semanas (21 dias) e os propágulos foram reduzidos ao tamanho inicial após cada troca de meio de cultura.

Além disso, a diferença entre os tratamentos pode ser explicada devido à capacidade da alga de adaptação às condições adversas. Para lidar com a baixa irradiância, a alga pode modificar suas estruturas celulares a fim de otimizar a absorção de luz tornando mais eficiente os pigmentos acessórios, como o betacaroteno, aumentando a eficiência fotossintética. Algas vermelhas possuem diversos pigmentos acessórios, como carotenóides e ficobiliproteínas, que as tornam adaptáveis em ambientes de baixa intensidade luminosa (Graham et al. 2009). Ao sair da aclimação sem presença de luz, provavelmente a absorção da luz do ambiente natural foi otimizada e conseqüentemente houve um aumento na absorção dos nutrientes disponíveis e na taxa de crescimento da alga.

Lüder et al. (2002) observaram que a macroalga vermelha *Palmaria decipiens* após 6 meses sem exposição à luz modificou sua estrutura celular para se adaptar a ausência de luminosidade; no primeiro mês houve um acréscimo de clorofila *a* e nos meses seguintes decréscimo, compatível ao processo de adaptação a ambientes de baixa luminosidade; e a partir do 3º mês sem luz, as ficobiliproteínas mudaram

estruturalmente reduzindo em tamanho, mas não perderam a capacidade de captar luz. A adaptação da alga para o ambiente com luz também foi acompanhada pelos mesmos autores, que observaram que em 24h a alga iniciou um processo de reparação de seu organismo, acumulando clorofila *a* e novas ficobiliproteínas foram produzidas após uma semana em ambiente com luz natural. Esse conjunto de mecanismos, que permite a adaptação à baixa radiância, serve para otimizar a captura de luz e suprir os requisitos energéticos para o crescimento em condições adversas, não sendo considerado para maximizar a absorção de luz em condições normais do ambiente (Boston et al. 1989).

A adaptabilidade de *K. alvarezii* foi testada para ambientes de diferentes intensidades luminosas. Guan et al. (2013) mantiveram as algas aclimatadas por 15 min no escuro e posteriormente as expuseram em cinco intensidades luminosas (10, 25, 50, 100, e 200 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), acompanhando as oscilações da radiação fotossinteticamente ativa frente a estas irradiâncias por quarto dias. Os autores concluíram que a *K. alvarezii* possui adaptabilidade tanto para alta como para baixa irradiância, pois quando exposta a ambas intensidades luminosas, uma queda na absorção da radiação fotossinteticamente ativa e no transporte de elétrons era observada e após os 4 dias, estes indicadores aumentava e voltavam para as condições iniciais.

A aclimação sem presença de luz também pode trazer benefícios na melhoria de compostos secundários das algas, como no caso de *Gracilariopsis lemaneiformis* que após o cultivo em tanques foi aclimatada por um mês no escuro e foi observada uma melhora na qualidade do agar (Rincones et al. 1993). Em *Chondrus crispus* aclimatada por 10 dias sem presença de luz, foi observada melhorias na qualidade e quantidade de carragenana, mas ao ser aclimatada por apenas 5 dias, essa melhora não foi observada (Villanueva et al. 2009). Esses dados comprovam que o tempo de aclimação sem presença de luz para obter melhorias nos compostos secundários é relativo a cada espécie

Não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de crescimento do tratamento VS50 e controle. Provavelmente, os nutrientes oferecidos pelo regime de pulso de 1h não foram suficientes para melhorar o crescimento da alga. Lapointe (1985) e Pickering et al. (1993) observaram que para o crescimento de *Gracilaria tikvahiae* e *Gracilaria chilensis* duas variáveis afetam o crescimento das algas em regime de pulso de nutrientes: a concentração dos nutrientes oferecidos e a frequência em que o mesmo é adicionado no meio. Para *G. tikvahiae* e *G. chilensis*, o crescimento aumenta quando o pulso de nutrientes

ocorre duas vezes por semana e com nutrientes em altas concentrações (solução Guillard e Rhyter concentrada 8 vezes). Estes autores associaram o crescimento das algas, no período sem nutrientes, com consumo das reservas de nitrogênio.

Tabela 5 – Taxas de crescimento (TC) e período de cultivo (expresso em dias) de cultivo *in vitro* de *Kappaphycus alvarezii* em diferentes concentrações e regime de nutrientes. O termo contínuo foi adotado para frequência quando havia renovação semanal do meio de cultura.

TC (% dia ⁻¹)	Período de cultivo (dias)	Nutriente (concentração)	Frequência	Autor
1,58	180	ESS ^a		
0,52	180	von Stosch (5 mL L ⁻¹)	Contínuo	Dawes and Koch 1991
0,32	180	von Stosch (10 mL L ⁻¹)		
0,33	180	Extrato de solo ^b		
1,0	63	Algafer (0,01 %)		
0,8	63	Algafer (0,01 %)		
0,9	63	Extrato de solo (10 mL L ⁻¹)	Contínuo	Dawes et al. 1994
1,1	63	Água de coco (0,01 %)		
1,6	63	ESS ^a		
3,73	21	PES/2 (10 mL L ⁻¹)	Contínuo	Erbert 2001
7,61	21	von Stosch (4 mL L ⁻¹)		
6,62	21	F/4 (5 mL L ⁻¹)		
2,8	ND	von Stosch (4 mL L ⁻¹)	Contínuo	
2,6	ND	f/4 (2,5 mL L ⁻¹)		
2,8	ND	PES (20 ml L ⁻¹)	Pulso de 24h	Paula 2001
1,5	ND	PES/2 (10 mL L ⁻¹)	Semanas	
3,6	ND	f/2 (5 mL L ⁻¹)	alternadas	
5	28	f/2 (diluído 50 %)	Contínuo	Bulboa and Paula 2005
2,99	45	von Stosch (4 mL L ⁻¹)	1h com aclimação prévia sem presença de luz por 1 semana	Presente trabalho
2,18	45	von Stosch (4 mL L ⁻¹)	1h sem aclimação prévia sem presença de luz por 1 semana	

^a = Saga, 1986; ^b = meio Erdschrieber, McLachlan, 1973; ND = não há dados.

No presente trabalho não foram realizadas análises de concentração de nitrogênio, e estudos mais específicos com diferentes frequências e concentrações de nutrientes devem ser realizados para o cultivo *in vitro* de *K. alvarezii*. Os ensaios *in vitro* mostraram que a aclimação por uma semana em ausência de luz e com pulso de 1h de VS50 é o melhor tratamento para a manutenção de linhagens e poderia ser aplicado no cultivo em tanques em épocas desfavoráveis ao cultivo no mar.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boston H, Adams M, Madsen J (1989) Photosynthetic strategies and productivity in aquatic systems. *Aquat Bot* 34:27–57. doi: 10.1016/0304-3770(89)90049-1
- Bulboa C, Paula E (2005) Introduction of non-native species of *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in subtropical waters: Comparative analysis of growth rates of *Kappaphycus alvarezii*. *Phycol Res* 53:183–188. doi: 10.1111/j.1440-183.2005.00385.x
- Dawes C, Lluisma A, Trono G (1994) Laboratory and field growth studies of commercial strains of *Euclidean denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. *J Appl Phycol* 6:21–24. doi: 10.1007/BF02185899
- Dawes CJ, Koch EW (1991) Branch, micropropagule and tissue culture of the red algae *Euclidean denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* farmed in the Philippines. *J Appl Phycol* 3:247–257. doi: 10.1007/BF00003583
- Erbert C (2001) Crescimento e taxas fotossintéticas da espécie de alga exótica produtora de carragenanas *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva (Rhodophyta, Gigartinales). Thesis, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- Faria GSM (2008) Cultivo *in vitro*, em tanques e no mar de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) em Santa Catarina. Monograph, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Guan X, Wang J, Zhu J, Yao C, Liu J, Qin S, Jiang P (2013) Photosystem II photochemistry and phycobiliprotein of the red

algae *Kappaphycus alvarezii* and their implications for light adaptation. *BioMed research International* 2013:256549. doi: 10.1155/2013/256549

Graham LE, Graham JM, Wilcox LW (2009) Introduction to the algal. In: Graham LE, Graham JM, Wilcox LW, Algae. 2nd, Benjamin Commings, pp.1-18.

Hayashi L, Santos A A, Faria GSM, et al. (2011) *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Areschougiaceae) cultivated in subtropical waters in Southern Brazil. *J Appl Phycol* 23:337–343. doi: 10.1007/s10811-010-9543-5

Hanisak MD (1990) The use of *Gracilaria tikvahiae* (Gracilariales, Rhodophyta) as a model system to understand the nitrogen of cultured seaweed. *Hydrobiologia* 204/205:79-87. doi: 10.1007/978-94-009-2049-1_12

Hanisak MD (1978) Cultivstion and bioenergetics of the agarophyte *Gracilaria tikvahiae*. International Council for the Exploration of the Sea, Code Number C.M. 179/F:24. 8pp

Huguenin J (1976) An examination of problems and potentials for future large-scale intensive seaweed culture systems. *Aquaculture* 9:313–342. doi: 10.1016/0044-8486(76)90074-0

Kautsky L (1990) Factors limiting seaweed production. In: Oliveira E, Kautsky N (eds) *Cultivation of Seaweed in Latin America*. USP, São Paulo, pp09-16.

Lapointe B (1985) Strategies for pulsed nutrient supply to *Gracilaria* cultures in the Florida Keys: Interactions between concentration and frequency of nutrient pulses. *J Exp Mar Bio Ecol* 93:211–222. doi: 10.1016/0022-0981(85)90240-0

Lignell A, Pedersén M (1989) Agar composition as a function of morphology and growth rate. Studies on some morphological strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Bot Mar* 32:219–227. doi: 10.1515/botm.1989.32.3.219

- Lüder UH, Wiencke C, Knoetzel J (2002) Acclimation of photosynthesis and pigments during and after six months of darkness in *Palmaria decipiens* (Rhodophyta): a study to simulate antarctic winter sea ice cover. *J Phycol* 38:904–913. doi: 10.1046/j.1529-8817.2002.t01-1-01071.x
- McLachlan J (1973) Growth media-marine. In: Stein JR (ed) *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge UP, London, pp. 25-51.
- Paula EJ de (2001) Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) *in vitro*. *Phycol Res* 49:155-161. doi: 10.1046/j.1440-1835.2001.00235.x
- Pickering TD, Gordon ME, Tong LJ (1993) Effect of nutrient pulse concentration and frequency on growth of *Gracilaria chilensis* plants and levels of epiphytic algae. *J Appl Phycol* 5:525-533. doi: 10.1007/BF02182511
- Ramirez ME (1995) Recolección y colecciones científicas de macroalgas marinas. In: Alveal K, Ferrario ME, Oliveira EC, Sar E (eds) *Manual de Métodos ficológicos*. Universidad de Concepción, Concepción, pp. 417-428.
- Rincones RE, Yu S, Pedersén M (1993) Effect of dark treatment on the starch degradation and the agar quality of cultivated *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta, Gracilariales) from Venezuela. *Hydrobiologia* 260/261: 633-640. doi: 10.1007/978-94-011-1998-6_86
- Saga N (1986) Pure culture of algae. In: Yamada Y, Okada Y (eds) *Plant Biotechnology*. Tokyo Kaymkes Dojin, Tokyo, pp 55-69 (in Japanese).
- Villanueva RD, Hilliou L, Sousa-Pinto I (2009) Postharvest culture in the dark: An eco-friendly alternative to alkali treatment for enhancing the gel quality of kappa/iota-hybrid carrageenan from *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Bioresour Technol* 100:2633–8. doi: 10.1016/j.biortech.2008.11.053

Determinação das condições ótimas de circulação de água em cultivo em tanques da macroalga *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales)

Ana Luiza Flores*, Katt Regina Lapa, Leila Hayashi

Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, 88034-001, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: analuizaflores@hotmail.com

Determinação das condições ótimas de circulação de água em cultivo em tanques circulares da macroalga *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales)

Resumo

A movimentação da água é um dos fatores fundamentais associados ao crescimento da macroalga *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) em sistemas de cultivo. Com o objetivo de determinar o melhor método de movimentação de água para o cultivo em tanques circulares da espécie, dois sistemas de aeração foram testados. Previamente, exemplares do tetrasporófito verde de *K. alvarezii* foram aclimatados sem presença de luz por uma semana. Posteriormente, um pulso de nutrientes de 1h foi realizado utilizando solução von Stosch 50% em água do mar esterilizada e aeração constante. O cultivo foi realizado em tanques circulares de 100 L, em fotoperíodo natural, temperatura de $22 \pm 0,3$ °C, em densidade de 5 g L^{-1} por 28 dias. Semanalmente as algas eram pesadas e havia renovação de 20 % da água do mar. Temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido foram medidos duas vezes por dia, três vezes por semana. Dois tratamentos foram testados: aeração constante por meio de ar difuso (AD) e *air lift* (AL). Como controle (C) foi realizado o cultivo das algas sem aeração. Cada tratamento e controle possuíam três replicas. Em todo período de cultivo foi observado ganho de biomassa, porém não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. A taxa de crescimento foi de $0,47 \pm 0,1$; $0,41 \pm 0,1$; $0,30 \pm 0,1$ % dia^{-1} nos tratamentos de AD, AL e controle, respectivamente. No controle ocorreram maiores alterações nas concentrações de oxigênio dissolvido, enquanto nos tratamentos AD e AL não foram observados variações expressivas. A salinidade se manteve na faixa dos 35,5 – 35,8 ‰ em todos os tratamentos. Foi observado que no controle, as algas começaram a apresentar sinais de *ice-ice* em algumas regiões do talo. As algas cultivadas no tratamento AL apresentaram despigmentação nas extremidades e no tratamento AD mantiveram a coloração padrão da linhagem verde. Mesmo não havendo diferenças significativas nas taxas de crescimento entre os tratamentos e controle, no sistema de ar difuso (AD) as algas aparentaram estar mais saudáveis, sendo esse o sistema escolhido para o cultivo em tanques circulares para manutenção de matrizes de *K. alvarezii*.

Palavras-chave: Macroalga vermelha, cultivo em tanque circular, *air lift*, ar difuso.

Determination of optimal conditions for the water movement in tanks cultivation of the seaweed *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales)

Abstract

Water movement is one of the key factors associated to the growth of the seaweed *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in cultivation systems. In order to determine the best method for water movement in circular tanks cultivation of *K. alvarezii*, two aeration systems were tested. Previously, green tetrasporophyte of *K. alvarezii* were acclimated in the dark for a week. Subsequently a pulsing nutrients of 1h using 50 % von Stosch solution in sterile seawater and constant aeration was made. After this period, cultivation was conducted in 100 L circular tanks, with natural photoperiod, temperature 22 ± 0.3 °C in density 5 g L^{-1} for 28 days. Plants were weighed weekly, when 20 % of seawater was renewed. Temperature, salinity, and dissolved oxygen were measured twice a day, three times a week. Two treatments were tested: constant aeration by diffused air (AD) and air lift (AL). As control (C) seaweed was cultivated without aeration. Each treatment and control had three replicates. In all cultivation period, increasing of biomass was observed, but there were no significant differences among treatments and control. Growth rates were 0.47 ± 0.1 ; 0.41 ± 0.1 ; 0.30 ± 0.1 % day^{-1} in the treatment of AD, AL and control, respectively. Higher variations in dissolved oxygen concentrations were observed in the control, while in the DA and AL treatments there were no expressive variations. Salinity was maintained in the range of 35.5 to 35.8 ‰ in all treatments, with no significant differences. In control, seaweed began to show signs of "ice-ice" in some regions of thallus. Plants cultivated in AL presented blanching in the tips and those cultivated in AD kept healthy. Even with no significant difference in the growth, plants in AD treatment remained healthier and this treatment was chosen for cultivation in circular tanks of *K. alvarezii*.

Keywords: red algal, cultivation in circular tank, air lift, diffused air.

4.1. INTRODUÇÃO

Principal matéria-prima para a produção de carragenanas, a macroalga vermelha *Kappaphycus alvarezii* possui o cultivo em mar estabelecido em muitos países (Titlyanov and Titlyanova, 2010). No Brasil, especialmente na região Sul, localizada na zona temperada meridional com clima subtropical, há limitações ambientais que são entraves no cultivo, como a baixa temperatura da água, entre de 16 °C a 19 °C no inverno, o que dificulta manter ciclos de cultivo durante todo o ano no mar (Hayashi et al., 2010a).

Deste modo, existe a necessidade de encontrar alternativas para que a produção não seja interrompida durante o inverno e não se perca todos exemplares nesse período. O cultivo em tanques seria uma alternativa para manter um estoque de matrizes da espécie até que as condições ambientais se tornassem favoráveis ao cultivo nas fazendas marinhas novamente.

O crescimento de *K. alvarezii* está relacionado a quatro principais fatores que o influenciam: temperatura, luminosidade, nutrientes e movimentação da água (Polne-Fuller, 1982; Doty, 1987; Trono and Valdestamon, 1994). Particularmente para esse último fator, a velocidade deve estar entre 5 – 15 cm s⁻¹ para obter as melhores taxas de crescimento (Glenn and Doty, 1992).

Considerando o fato de que a movimentação da água influencia a absorção de nutrientes pela alga (Gavino and Trono, 1992; Glenn and Doty, 1992; Gonen et al., 1993; Ryder et al., 2004; Santelices, 1977; Stewart, 2006), determinar a velocidade da água ótima em cultivo em tanques se torna fundamental para que se mantenha uma sobrevivência dos exemplares nessas condições.

Segundo Hurd (2000), as forças exercidas pela circulação da água são detectadas pelas macroalgas e estas respondem em nível molecular, bioquímico e fisiológico. Stewart (2006) afirma ainda que a movimentação da água é o fator mais importante para moldar a morfologia das algas.

Entre a alga e a água do mar existe uma camada limite, que dificulta a difusão de nutrientes, sendo que o movimento constante da água reduz essa camada, facilita a absorção de nutrientes inorgânicos na alga (Graham et al., 2009) e contribui para uma maior eficiência nas trocas gasosas (Ryder et al., 2004). A fotossíntese também está associada à circulação da água; a alga quando exposta a uma redução na velocidade de água tem sua produtividade fotossintética reduzida, comprometendo seu crescimento (Gonen et al., 1993; Stewart, 2006).

Em ambientes controlados, como ocorre nos cultivos em tanques, não há muitas informações disponíveis sobre o comportamento hidrodinâmico das algas, nem parâmetros hidráulicos específicos estabelecidos, como a quantidade de ar necessária para manter as algas em suspensão ou quanto a circulação de água é afetada pela densidade algácea. Assim, buscar informações sobre as relações hidrodinâmicas das algas em seu ambiente natural e adaptá-las ao ambiente controlado torna-se fundamental para o desenvolvimento deste tipo de cultivo.

Dois processos são capazes de manter a alga em movimento: a circulação de água e a aeração. No primeiro não há adição de ar na água, mas ao fazer a água circular no tanque, ocorre a redistribuição dos gases; já no segundo processo, há a transferência de ar do ar para a água e essa injeção de ar no tanque promove a movimentação de água (Rogers, 1989).

Um método de circulação de água utilizado na aquicultura é o *air lift* (Boyd, 1998), conjunto de tubulações suspensas verticalmente na coluna d'água por onde o ar é injetado, estabelecendo um fluxo ascendente de água (Ali, 2013; Parker and Suttle, 1987). Este sistema, além de misturar a água do fundo com a da superfície, também promove a circulação da água no tanque devido ao deslocamento das bolhas de ar produzidas pela injeção de ar (Parker and Suttle, 1987).

Outro método utilizado para manter a alga em movimentação constante é a aeração no fundo do tanque por ar difuso, pois o movimento ascendente das borbulhas de ar lançam as algas para camada superior do tanque aumentando a exposição à luz; além disso, a turbulência proporcionada pela aeração aumenta o fluxo de nutrientes para as frondes (Huguenin, 1976).

A aeração em cultivos de algas é um dos principais custos de produção, por ser necessária uma infraestrutura com disponibilidade de energia elétrica e tanques adequados para receber a instalação para aeração (Guerin and Bird, 1987; Huguenin, 1976). Assim, o correto dimensionamento desse sistema é primordial para que não ocorram gastos desnecessários.

Este trabalho tem como objetivo determinar as melhores condições de movimentação de água para o cultivo em tanques circulares de *Kappaphycus alvarezii*: aeração constante por meio de ar difuso ou *air lift*.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Teste preliminar

Para definir a metodologia a ser utilizada para movimentação da água, um teste preliminar foi realizado, onde dois tipos de movimentação da água foram testados: com circulação da água por bomba centrífuga (SC) e aeração (SA). Nesse teste foi utilizada apenas água do mar esterilizada e a velocidade da água foi mensurada com Flowtracker em três pontos do tanque: no centro (C); oposto à bomba/compressor de ar (Q1) e a 90° em relação à bomba/compressor de ar (Q2) (Fig.1). Os sistemas foram avaliados por um dia e a temperatura da água do mar foi monitorada de hora em hora.

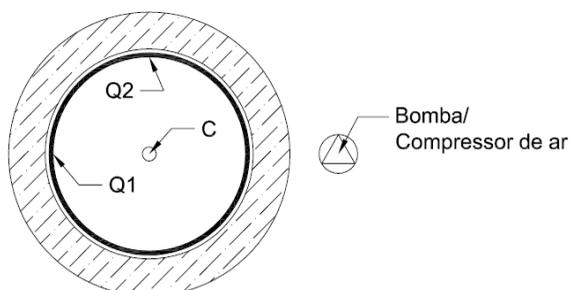


Figura 1 – Esquema dos pontos onde foram feitas as medições nos tanques com sistema de aeração e de circulação de água. (C) centro, (Q1) ponto oposto à bomba/compressor de ar e (Q2) ponto a 90° em relação à bomba/compressor de ar.

4.2.2. Cultivo em tanques circulares

Previamente, exemplares do tetrásporófito verde de *Kappaphycus alvarezii* oriundos do banco de linhagens da Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) do Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias/UFSC foram aclimatados em ausência de luz por uma semana com aeração constante em água do mar esterilizada, salinidade de 35 ‰, temperatura de 23 ± 2 °C e sem adição de nutrientes. Posteriormente um pulso de nutrientes de 1h utilizando a solução von Stosch 50 ‰ (McLachlan, 1973) foi realizado em água do mar esterilizada com salinidade de 35‰, temperatura de 23 ± 2 °C e aeração constante.

O cultivo de *K. alvarezii* foi realizado em 9 tanques circulares de polietileno de volume útil de 100 L, com 80 L de água do mar esterilizada por uma sequência de filtros de cartucho de 25, 10 e 5 μm seguido por esterilização com lâmpada UV, em fotoperíodo natural e temperatura de $22\pm 0,3$ °C (média \pm intervalo de confiança) mantida por aquecedor Roxin HT 1300 50 W.

As algas foram cultivadas nos tanques em densidade de 5 g L^{-1} , com biomassa inicial de $400\pm 0,4$ g por tanque. Uma vez por semana, 20 % da água do mar esterilizada era renovada, momento em que as algas eram pesadas para cálculo da taxa de crescimento de acordo com a fórmula: $TC = \left[\left(\frac{M_f}{M_i} \right)^{\frac{1}{t}} - 1 \right] \times 100$; onde M_f é biomassa final (g); M_i é a biomassa inicial (g) e t tempo de cultivo da biomassa (d) (Lignell & Pedersén, 1989).

O cultivo foi monitorado três vezes na semana, duas vezes ao dia (8h e 17h): a temperatura e oxigênio dissolvido foram medidos por meio de oxímetro YSI 550A e a salinidade por refratômetro, sendo corrigida a 35 ‰ sempre que necessário com adição de água doce. Dois tratamentos foram testados: aeração constante por meio de ar difuso (AD) e *air lift* (AL). Como controle (C) foi realizado o cultivo das algas sem aeração. Cada tratamento e controle possuíam três réplicas, totalizando 9 tanques (Fig. 2). A aeração nos tanques foi mantida por um compressor de ar com vazão de 100 L min^{-1} . O cultivo experimental em tanques teve duração de 28 dias.

4.2.3. Análise Estatística

Os dados de biomassa e taxa de crescimento foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) unifatorial e de medidas repetidas. Temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade foram submetidos ao Test-t para verificar diferenças significativas entre os períodos (manhã e tarde) e entre os tratamentos de aeração e o controle. Para essas análises foi utilizado o *software* Statística 7, considerando $p < 0,05$.

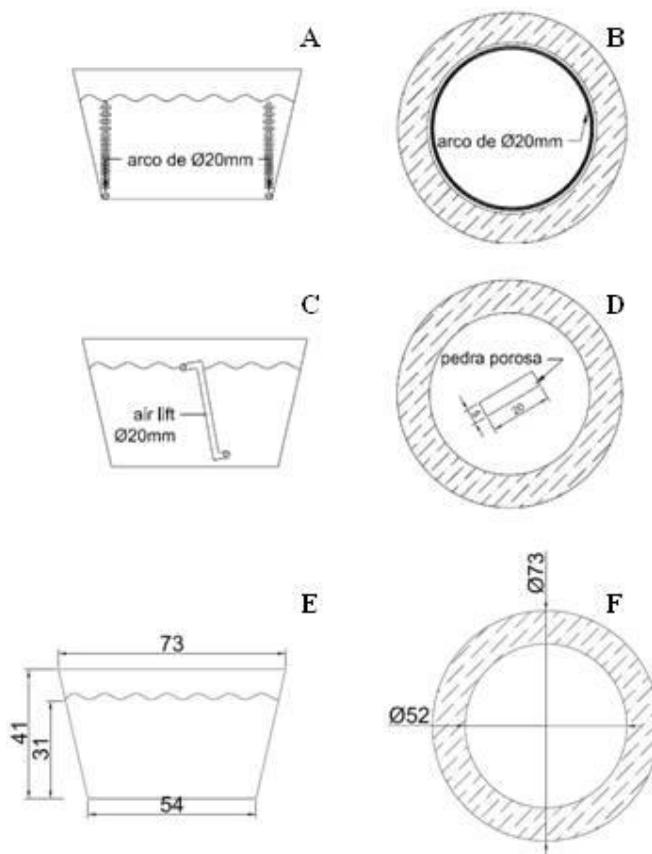


Figura 2 – (A) vista lateral do tanque circular com sistema de aeração por ar difuso (AD), constituído por um anel circular tubular de diâmetro de 20 mm, com furos de diâmetro de 2 mm a cada 5 cm, por onde saíam as bolhas de ar, proporcionando um movimento ascendente. (B) vista superior do tanque com sistema de aeração por ar difuso. (C) vista lateral do tanque circular com sistema aeração por *air lift* (AL), constituído por um par de *air lifts* situados em pontos opostos ao tanque, proporcionando um movimento circular em direção ao centro do tanque. (D) vista superior do sistema de *air lift*, com detalhe da pedra porosa, no fundo do tanque para que não ocorresse a deposição das algas no centro do tanque. (E) vista lateral do tanque circular, sem sistema de aeração, utilizado como controle (C). (F) vista superior. As medidas estão expressas em centímetros.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Teste Preliminar

No tanque com sistema de aeração, as velocidades obtidas nos quadrantes estiveram similares e dentro dos limites considerados adequados para o crescimento da espécie ($5\text{--}15\text{ cm s}^{-1}$). Já as velocidades encontradas no centro do tanque ficaram abaixo de 5 cm s^{-1} (Fig. 3). No tanque com sistema de circulação de água, as velocidades estiveram entre $5\text{--}22,5\text{ cm s}^{-1}$, sendo que as maiores velocidades foram observadas no centro do tanque ($15\text{--}22,5\text{ cm s}^{-1}$) (Fig. 4).

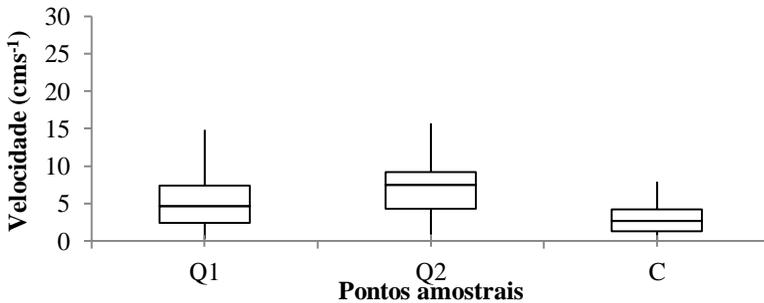


Figura 3 – Diagrama de caixa de velocidades nos três pontos amostrais para sistema de aeração. (Q1) ponto oposto à bomba/compressor de ar, (Q2) ponto à 90° em relação à bomba/compressor de ar e (C) ponto no centro do tanque.

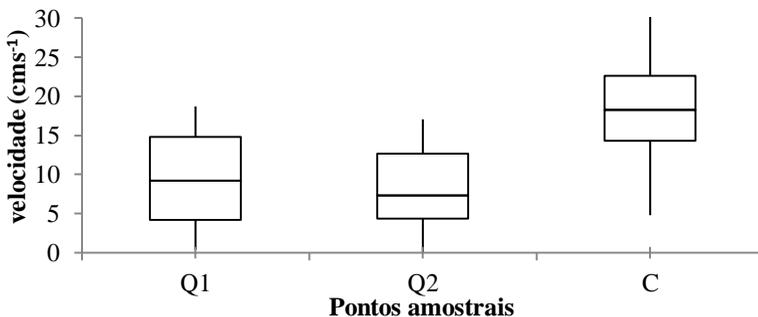


Figura 4 – Diagrama de caixa de velocidades nos três pontos amostrais para sistema de circulação. (Q1) ponto oposto à bomba/compressor de ar, (Q2) ponto a 90° em relação à bomba/compressor de ar e (C) ponto no centro do tanque.

Também foi observado um aumento na temperatura no tanque com sistema de circulação de água por bomba, alcançando 37 °C no final de um dia de teste (Fig. 5). Nesse sistema foi observado liberação de grande quantidade metais na água alterando a coloração da água (Fig. 6).

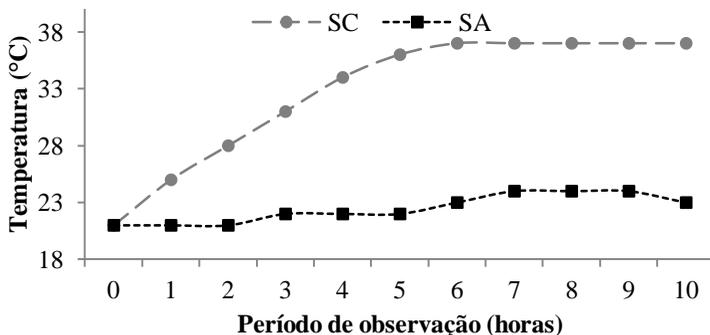


Figura 5 – Oscilação da temperatura nos sistemas de circulação de água por bomba (SC) e sistema de aeração (SA) no período de 10 h.

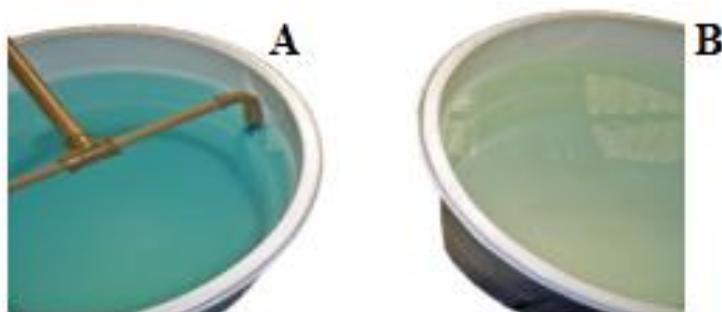


Figura 6 – (A) Tanque de 100 L com sistema de circulação de água por motobomba (SC) com contaminação de metais. (B) Tanque de 100 L com água do mar como referência de cor da água do mar sem contaminação de metais.

4.3.2. Cultivo em tanques circulares

Em todo período de cultivo foi observado ganho de biomassa, sendo que no controle, a partir do 14º dia, o ganho de biomassa diminuiu; entretanto não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. No final do experimento, as algas apresentaram médias de $439,5 \pm 5,04$ g (média \pm intervalo de confiança); $436,7 \pm 6,08$ g; $429,5 \pm 3,74$ g para tratamentos de ar difuso (AD), *air lift* (AL) e controle, respectivamente (Fig. 7).

As taxas de crescimento obtidas foram $0,47 \pm 0,1$ % dia⁻¹; $0,41 \pm 0,1$ % dia⁻¹; $0,30 \pm 0,1$ % dia⁻¹ nos tratamentos de AD, AL e controle, respectivamente (Fig. 8). Durante o cultivo de *K. alvarezii* em tanques não foi observado mortalidade em nenhuma das unidades experimentais.

As temperaturas mais baixas foram observadas no período da manhã, com mínima de 18,5 °C. No período da tarde as temperaturas foram mais altas, com máxima de 23,2 °C. De modo geral a temperatura não sofreu grandes oscilações, não apresentando diferenças significativas entre tratamentos e entre os períodos da manhã e da tarde (Fig. 9).

No controle ocorreram maiores alterações nas concentrações de oxigênio dissolvido no período da manhã e tarde, variando de $4,99$ mg L⁻¹ O₂ (manhã) a $10,3$ mg L⁻¹ O₂ (tarde). Já nos tratamentos AD e AL, variações altas de oxigênio dissolvido não foram observadas, sendo as concentrações mais elevadas de oxigênio dissolvido observadas no período da manhã, $7,04 \pm 0,15$ mg L⁻¹ O₂ (em AD) e $7,14 \pm 0,15$ mg L⁻¹ O₂ (em AL), respectivamente. Para ambos os períodos foram observadas diferenças significativas na concentração de oxigênio dissolvido ($p < 0,05$) entre o controle e tratamentos (Fig. 10).

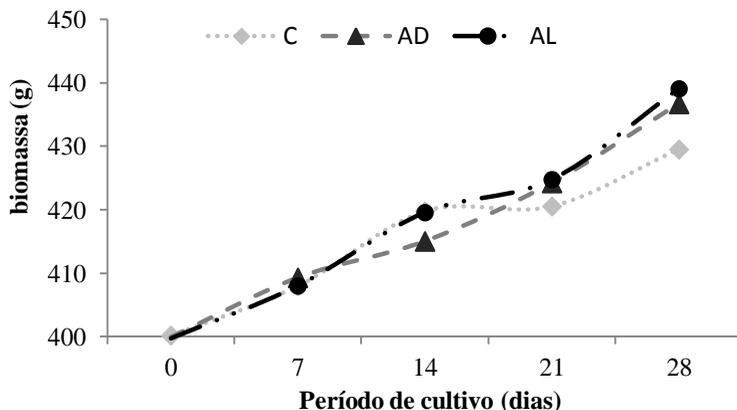


Figura 7 – Ganho de biomassa de *Kappaphycus alvarezii* após 28 dias de cultivo em tanques sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por *air lift* (AL). Os valores são apresentados como médias (n=3).

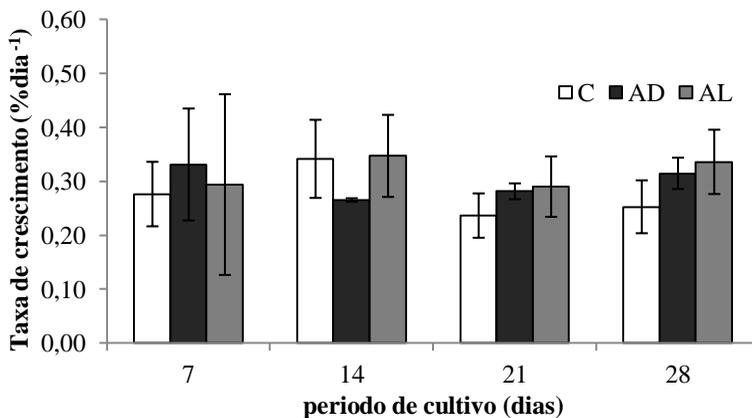


Figura 8 – Taxa de crescimento de *Kappaphycus alvarezii* após 28 dias de cultivo em tanques sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por *air lift* (AL). Os valores são apresentados como médias (n=3), as barras verticais representam o intervalo de confiança, considerando $p < 0,05$.

A salinidade se manteve na faixa dos 35,5 – 35,8 ‰ em todos os tratamentos, não apresentando diferenças significativas. Entretanto no tratamento AD no período da tarde, ocorreram as maiores oscilações de salinidade com picos de 32 ‰ (mínima) e 40 ‰ (máxima) (Fig. 11).

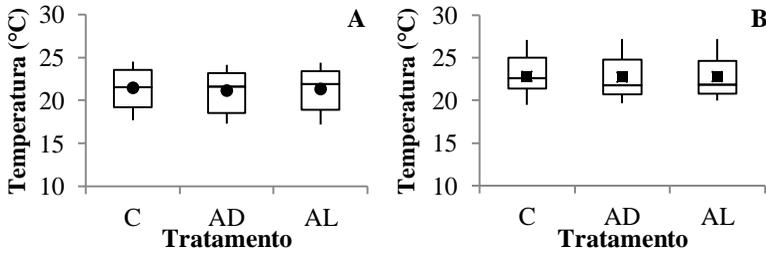


Figura 9 – Diagrama de caixa da variação de temperatura (A) da manhã e (B) da tarde do cultivo experimental sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por *air lift* (AL). ● temperatura média de manhã; ■ temperatura média de tarde.

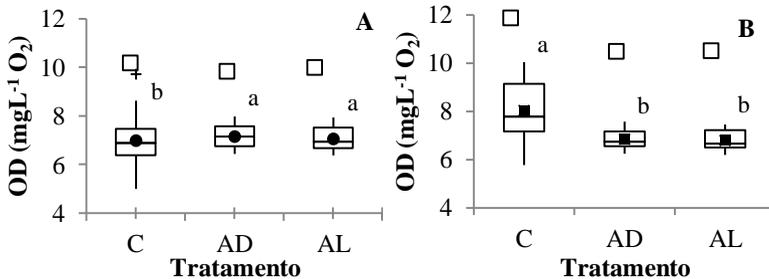


Figura 10 – Diagrama de caixa da variação de oxigênio dissolvido medido (A) de manhã e (B) de tarde no cultivo experimental sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por *air lift* (AL). ● oxigênio dissolvido médio de manhã; ■ oxigênio dissolvido médio de tarde. As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos e o controle, considerando $p < 0,05$.

A sanidade da alga também foi acompanhada durante o período experimental. Foi observado que no controle, a partir do 14º dia de cultivo, as algas começaram a apresentar despigmentação em algumas regiões do talo. No 21º dia de cultivo essas regiões perderam a rigidez, partindo o talo em partes menores, indicativo de *ice-ice*, doença degenerativa do talo quando a alga está submetida a uma condição de estresse (Fig. 12a). Já as algas cultivadas no tratamento AD mantiveram a coloração padrão da linhagem verde, não apresentando sinais de estresse (Fig. 12b). As algas cultivadas no tratamento AL, a partir 21º dia de cultivo, apresentaram despigmentação nas extremidades, mas não perderam a rigidez (Fig. 12c).

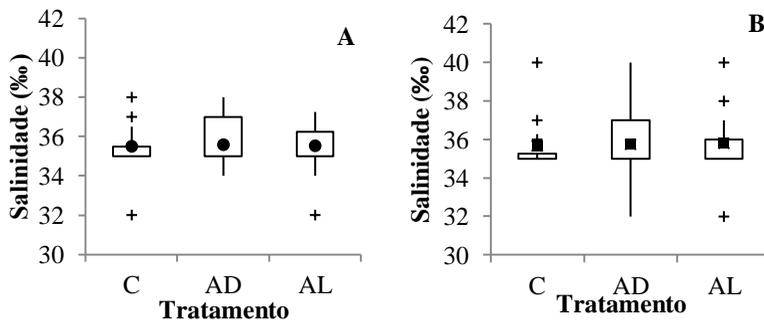


Figura 11– Diagrama de caixa da variação de salinidade medida (A) de manhã e (B) de tarde no cultivo experimental sem sistema de aeração (C); com sistema de aeração por ar difuso (AD) e com sistema de aeração por *air lift* (AL). ● salinidade média de manhã; ■ salinidade média de tarde.

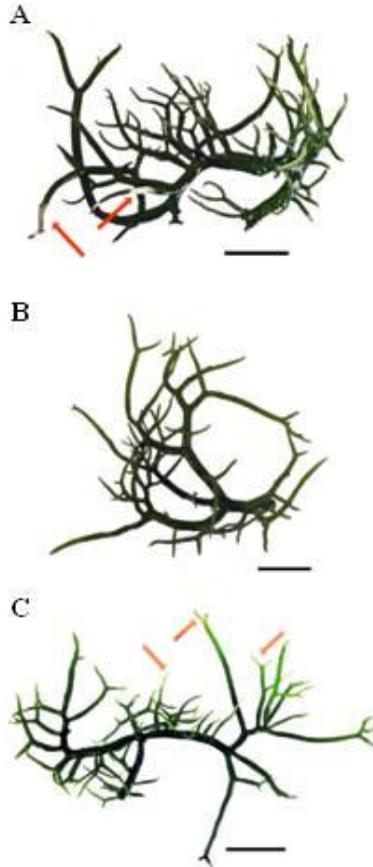


Figura 12 – *Kappaphycus alvarezii* cultivada em tanques por 28 dias em diferentes condições de movimentação de água: (A) sem sistema de movimentação de água (controle), (B) com sistema de aeração por ar difuso (AD) e (C) com sistema de aeração por *air lift* (AL). As setas vermelhas indicam locais de despigmentação, principalmente nas extremidades (barra de escala = 5 cm).

4.4. DISCUSSÃO

No teste preliminar, ambos os tratamentos SC e SA apresentaram velocidades entre 5-15 cm s⁻¹, consideradas ótimas para o crescimento de *Kappaphycus alvarezii* (Glenn and Doty, 1992). Entretanto, no tratamento com bombas SC, a temperatura da água do mar aumentou de 21 a 37 °C em 10 h de funcionamento. Nesse tipo de bomba, a movimentação da água ocorre quando a massa de água entra pela sucção, devido às forças decorrentes da rotação do eixo rotor, e ao receber o fluido, este é expulso pelo recalque. Nesse processo há a transformação de energia potencial em cinética, entretanto devido ao atrito com a água, parte dessa energia potencial é transformada em calor, contribuindo com o aumento de temperatura de água.

Temperaturas elevadas, superiores a 31 °C afetam negativamente a taxa de crescimento de *K. alvarezii* cultivadas em mar (Ohno et al., 1996; Wakibia et al., 2006) e em temperaturas superiores a 35 °C além da redução no crescimento, também foi observado o aumento da presença de epífitas (Hurtado-Ponce, 1992). Essa redução no crescimento está diretamente ligada à fotossíntese, que é sensível à elevação de temperatura acima do ideal e inativa os cloroplastos até que no ambiente haja a temperatura favorável novamente (Powles, 1984).

A bomba utilizada neste experimento especificamente possuía rotor de bronze, constituído por cobre e estanho. Um desgaste do rotor foi observado e uma grande quantidade de metais foi liberada na água, alterando sua cor de transparente para azul.

Neste teste preliminar não foi realizada análise para determinar a concentração de metais, entretanto a coloração azul na água do mar é um forte indicativo de contaminação por metais. Devido ao superaquecimento da água e ao acidente com o rotor da bomba que provocou liberação de metais na água, o sistema de circulação de água por bomba centrífuga em sistema fechado foi descartado para o cultivo de *K. alvarezii*. Assim, para os cultivos em tanques, foi definido que o sistema de aeração para movimentar a água do mar era o mais adequado.

No cultivo experimental em tanques circulares, as algas apresentaram taxas de crescimento abaixo do encontrado em cultivo *in vitro* para *K. alvarezii*, relatado como sendo aproximadamente de 2,5-5 % dia⁻¹ (Faria, 2008, Bulboa and Paula, 2005; Dawes et al., 1994; Paula, 2001) e abaixo das taxas de crescimento obtidas no cultivo experimental em tanques circulares com regime de pulso de nutrientes von Stosch 50 % de uma semana ou de três dias (2,93 e 1,17 % dia⁻¹, respectivamente) (Faria, 2008). As taxas de crescimento observadas no

presente estudo foram similares às encontradas por Hayashi et al. (2008) de 0,8 % dia⁻¹, onde *K. alvarezii* foi cultivado em tanques circulares em água do mar enriquecida com efluente de peixe por 10 dias. Possivelmente, o regime de pulso de nutrientes por uma hora adotado no presente estudo não tenha proporcionado nutrientes em quantidades suficientes para impulsionar o crescimento da alga do mesmo modo que proporcionou no cultivo *in vitro* (Capítulo I desde trabalho). Novos estudos serão realizados para definir o tempo e a concentração do pulso de nutrientes.

O oxigênio dissolvido do controle diferiu significativamente dos tratamentos, comprovando que a principal fonte de oxigênio era resultado da fotossíntese das algas. Em águas paradas, a camada superficial da água satura rapidamente, fazendo com que a difusão do oxigênio na interface água-ar seja lenta (Boyd, 1998). A oscilação de oxigênio durante o dia no controle corroborou com Kepenyés and Váradi (1983), que observaram no período da tarde uma concentração de OD mais elevada provavelmente devido aos processos fotossintéticos que normalmente alcançam atividade máxima no entardecer. Já ao anoitecer, a fotossíntese é reduzida drasticamente e a respiração das algas provoca diminuição no OD. Este processo de redução nas concentrações de OD foi constatado no período da manhã, quando a atividade fotossintética estava aumentando gradativamente. Já nos tratamentos AD e AL, a oscilação do OD não foi tão evidente, pois além da interface água-ar e fotossíntese das algas, o sistema de aeração também servia como fonte de oxigênio. Além disso, como ambos os tratamentos foram dimensionados para disponibilizar a mesma vazão de oxigênio (100 L min⁻¹) não houve diferença entre os tratamentos.

As algas do controle apresentaram *ice-ice* no 14^o dia de cultivo, uma enfermidade que a alga apresenta quando é exposta a estresse físico e químico (Doty, 1987) ou a estresse de origem biológica, causando interferência anormal, prejudicial e contínua nas atividades fisiológicas da alga (Andrews, 1979 *apud* Largo et al., 1995). Provavelmente, a ocorrência de *ice-ice* no controle foi devido à falta de agitação da água. Hayashi et al. (2008) também observou a presença dessa enfermidade em *K. alvarezii* cultivada sem aeração e sugeriu o uso de aeração visto que essa condição previne o aparecimento da enfermidade *ice-ice*. Nos cultivos em mar também são observados manifestação de *ice-ice* na espécie, normalmente relacionados à alta densidade de propágulos (Hayashi et al., 2010b), água quase parada e baixa concentração de micronutrientes (Titlyanov and Titlyanova, 2010). Nas algas cultivadas no tratamento AL foi observado despigmentação nas extremidades no

21° dia de cultivo; entretanto, estas não perderam a rigidez característica da espécie. Doty (1987) descreve essa enfermidade como “descoloração das extremidades” e o estresse à água quente ou exposição direta ao ar são os causadores dessa enfermidade. Como nesse experimento não houve diferenças significativas de temperatura entre os tratamentos e a temperatura média foi 22,8 °C, possivelmente a descoloração das extremidades foi devido à exposição aérea, uma vez que no *air lift*, a alga está em constante movimento ascendente e descendente devido à pedra porosa no fundo do tanque. Porém, muitas vezes, as algas se entrelaçavam ao chegarem à superfície, cessando os movimentos ascendentes e descendentes. As algas ficavam emaranhas na superfície do tanque e os talos maiores ficavam expostos ao ar. A própria corrente promovida pela *air lift* desfazia o emaranhado de algas, porém a exposição temporária pode ter causado a despigmentação.

Mesmo não havendo diferenças significativas nas taxas de crescimento entre os tratamentos e controle, no sistema de ar difuso (AD) as algas aparentaram estar mais saudáveis, sem ocorrência de enfermidades, sendo esse o sistema escolhido para o cultivo em tanques circulares para manutenção de matrizes de *K. alvarezii*.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrews, J.H., 1979. Pathology of seaweeds: current status and future prospects. *Experientia* 35, 429-570, *apud*: Largo, D.B., Fukami, K., Nishijima, T., Ohno, M., 1995. Laboratory-induced development of the ice-ice disease of the farmed red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Euclidean denticulatum* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 7, 539–543. doi: 10.1007/BF00003940
- Ali, S.A., 2013. Study on airlift pump as a pumping and aeration system in aquaculture. GAFRD -General Auth. Fish Resour. Dev. Disponível em: <http://www.gafrd.org/posts/574326>
- Boyd, C.E., 1998. Pond water aeration systems. *Aquac. Eng.* 18, 9–40. doi: 10.1016/S0144-8609(98)00019-3
- Bulboa C, Paula E (2005) Introduction of non-native species of *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in subtropical waters: Comparative analysis of growth rates of *Kappaphycus alvarezii*. *Phycol Res* 53:183–188. doi: 10.1111/j.1440-183.2005.00385.x

- Dawes, C., Lluisma, A., Trono, G., 1994. Laboratory and field growth studies of commercial strains of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. *J. Appl. Phycol.* 6, 21–24. doi: 10.1007/BF02185899
- Doty, M.S., 1987. The production and use of *Eucheuma*, in: Doty, M.S. Case Studies of Seven Commercial Seaweed Resources. FAO. Rome.
- Faria, G. S. M., 2008. Cultivo *in vitro*, em tanques e no mar de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) em Santa Catarina. Monograph. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Gavino, C., Trono, J., 1992. *Eucheuma* and *Kappaphycus*: taxonomy and cultivation. *Bull. Mar. Sci. Fish.* 12, 51–65.
- Glenn, E., Doty, M., 1992. Water motion affects the growth rates of *Kappaphycus alvarezii* and related red seaweeds. *Aquaculture* 108, 233–246. doi: 10.1016/0044-8486(92)90109-X
- Gonen, Y., Kimmel, E., Friedlander, M., 1993. Effect of relative water motion on photosynthetic rate of red alga *Gracilaria conferta*. *Hydrobiologia* 260/261, 493–498. doi: 10.1007/BF00049061
- Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. 2009. *Algae*. Benjamin Cummings.
- Guerin, J.M., Bird, K.T., 1987. Effects of aeration period on the productivity and agar quality of *Gracilaria sp.* *Aquaculture* 64, 105–110. doi: 10.1016/0044-8486(87)90346-2
- Hayashi, L., Faria, G.S.M., Nunes, B.G., Zitta, C.S., Scariot, L. a., Rover, T., Felix, M.R.L., Bouzon, Z.L., 2010a. Effects of salinity on the growth rate, carrageenan yield, and cellular structure of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) cultured *in vitro*. *J. Appl. Phycol.* 23, 439–447. doi:10.1007/s10811-010-9595-6
- Hayashi L., Hurtado, A.Q., Msuya, F. E., Bleicher-Lhonneur G., Critchley, A.T., 2010b. A review of *kappaphycus* farming: Prospects and constraints. In: Israel, A., Einav, R., Seckbach, J.

- (Eds). Seaweeds and their role in globally changing environments. Springer. New York. doi: 10.1007/978-90-481-8569-6
- Hayashi, L., Yokoya, N.S., Ostini, S., Pereira, R.T.L., Braga, E.S., Oliveira, E.C., 2008. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated cultivation with fishes in re-circulating water. *Aquaculture* 277, 185–191. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.024
- Huguenin, J., 1976. An examination of problems and potentials for future large-scale intensive seaweed culture systems. *Aquaculture* 9, 313–342. doi: 10.1016/0044-8486(76)90074-0
- Hurd, C., 2000. Water motion, marine macroalgal physiology, and production. *J. Phycol.* 472, 453–472. doi: 10.1046/j.1529-8817.2000.99139.x
- Hurtado-Ponce, A., 1992. Cage culture of *Kappaphycus alvarezii* var. *tambalang* (Gigartinales, Rhodophyceae). *J. Appl. Phycol.* 4, 311–313. doi: 10.1007/BF02185787
- Kepenyes, J., Váradi, L., 1983. Aeration and Oxygenation in Aquaculture, in: Food & Agriculture Org (Eds). *Inland Aquaculture Engineering*. FAO. Rome.
- Lignell, A., Pedersén, M., 1989. Agar composition as a function of morphology and growth rate. Studies on some morphological strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 32, 219–227. doi: 10.1515/botm.1989.32.3.219
- McLachlan, J., 1973. Growth media-marine. In: Stein JR (ed.), *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge UP, London. 25-51.
- Ohno, M., Nang, H., Hirase, S., 1996. Cultivation and carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. *J. Appl. Phycol.* 8, 431–437. doi: 10.1007/BF02178588
- Parker, N.C., Suttle, M.A., 1987. Design of airlift pumps for water circulation and aeration in aquaculture. *Aquac. Eng.* 6, 97–110. doi: 10.1016/0144-8609(87)90008-2

- Paula, E.J. de, 2001. Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) *in vitro*. Phycological Research 49, 155-161. doi: 10.1046/j.1440-1835.2001.00235.x
- Polne-Fuller, M., 1982. Studies Towards the Domestication of *Euclidean uncinatum* a Carrageenan Producing Red Alga. Dissertation. California Sea Grant College Program. Disponível em: <http://escholarship.org/uc/item/4h27m0nq>
- Powles, S.B., 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. Ann. Rev. Plant. Physiol. 35, 15- 44. doi: 10.1146/annurev.pp.35.060184.000311
- Rogers, G., 1989. Aeration and circulation for effective aquaculture pond management. Aquac. Eng. 8, 349–355. doi: 10.1016/0144-8609(89)90041-1
- Ryder, E., Nelson, S.G., McKeon, C., Glenn, E.P., Fitzsimmons, K., Napoleon, S., 2004. Effect of water motion on the cultivation of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) on Molokai, Hawaii. Aquaculture 238, 207–219. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.05.019
- Santelices, B., 1977. Water movement and seasonal algal growth in Hawaii. Mar. Biol. 43, 225–235. doi: 10.1007/BF00402315
- Stewart, H.L., 2006. Hydrodynamic consequences of flexural stiffness and buoyancy for seaweeds: a study using physical models. J. Exp. Biol. 209, 2170–81. doi: 10.1242/jeb.02254
- Titlyanov, E. a., Titlyanova, T. V., 2010. Seaweed cultivation: Methods and problems. Russ. J. Mar. Biol. 36, 227–242. doi:10.1134/S1063074010040012
- Trono, G.C., Valdestamon, R.G., 1994. New aspects in the ecology and culture of *Kappaphycus* and *Euclidean*. Korean J. Phycol. 9, 205–216.
- Wakibia, J.G., Bolton, J.J., Keats, D.W., Raitt, L.M., 2006. Factors Influencing the Growth Rates of Three Commercial Euclideanoids at Coastal Sites in Southern Kenya. J. Appl. Phycol. 18, 565–573. doi: 10.1007/s10811-006-9058-2

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos para cultivar *Kappaphycus alvarezii* no sul do Brasil apontaram que as baixas temperaturas (16–19 °C) do inverno são limitantes para a sobrevivência da espécie. Manter um estoque de matrizes em tanques até que as condições ambientais se tornem favoráveis ao cultivo nas fazendas marinhas é uma alternativa a ser considerada. Para isso, é importante encontrar as condições ótimas de cultivo, onde a alga se mantenha saudável.

Para tanto, inicialmente métodos de aclimação e pulso de nutrientes para o cultivo em tanques por meio de ensaios *in vitro* de *K. alvarezii* foram testados. Posteriormente a influência da movimentação de água no crescimento da espécie foi avaliada.

Os resultados encontrados para aclimação e pulso de nutrientes mostraram que ao aclimatar a alga por uma semana sem presença de luz com posterior pulso de 1h em solução von Stosch a 50 %, há uma melhora na taxa de crescimento quando comparada com as taxas de crescimento das algas aclimatadas na presença de luz, com ou sem a adição de nutrientes.

Mais estudos com aclimação e pulso de nutrientes em *K. alvarezii* devem ser realizados, pois a partir dos resultados encontrados, um leque de questionamentos foi levantado, tais como: o melhor tempo de aclimação, a influência de outros parâmetros como pH, salinidade, temperatura, no crescimento; a influência na produção de compostos secundários relacionados com a aclimação; regime de pulso adequado (considerando tempos e concentrações) para aumentar o crescimento da alga, e nutrientes alternativos que poderiam ser utilizados no cultivo de algas.

A aclimação e regime de nutrientes escolhidos para cultivar as algas em tanques circulares foi o de aclimação no escuro por uma semana, seguido de pulso de nutrientes com solução von Stosch 50 % por uma hora.

No cultivo em tanques a aclimação seguida por pulso de solução von Stosch 50 % por 1h não apresentou as mesmas taxas de crescimento encontradas no cultivo *in vitro*. Contudo, não foi observada contaminação por diatomáceas e outros micro-organismos decorrentes de nutrientes excedentes no meio de cultivo. O manejo (pesagem das algas e renovação de 20 % da água do mar) era realizado com facilidade e como o objetivo desse trabalho é manter um estoque de matrizes de *K. alvarezii*, o mais importante é que a alga se mantenha saudável e não

necessariamente obter taxas de crescimento comparáveis as encontradas em mar.

O pré-teste de sistema de circulação de água e de aeração por ar difuso mostrou resultados interessantes para o sistema de circulação de água, mas novas investigações devem ser realizadas sobre sistemas de circulação de água por meio de moto-bombas. Já sistemas de aeração por *air lift* e ar difuso não apresentaram diferenças significativas no crescimento das algas. No entanto, aquelas do tratamento AD estiveram mais saudáveis, sem presença de doenças, o que não ocorreu no tratamento AL.

Assim, o sistema de aeração por ar difuso foi escolhido como melhor para cultivo em tanques circulares de *K. alvarezii*. Os estudos com métodos de aeração devem ser continuados utilizando outros mecanismos de aeração ou aprimorando do sistema de ar difuso, em maior escala e por mais tempo, como por dois meses, tempo mínimo necessário para que condições ambientais se tornem favoráveis para o cultivo em mar, em Santa Catarina.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRRE-VON-WOBESER, E.; FIGUEROA, FL.; CABELLO-PASINI, A. Photosynthesis and growth of red and green morphotypes of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) from the Philippines. **Marine Biology**, v. 138, p. 679–686, 2001.

ARAÚJO, P. G.; RIBEIRO, A. L. N. L.; YOKOYA, N. S.; FUJII, M. T. Temperature and salinity responses of drifting specimens of *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta) farmed on the Brazilian tropical coast. In: Latin American Congress of Algae Biotechnology (CLABA) and Redealgas Workshop, 4, 2013, Florianópolis. **IV Latin American Congress of Algae Biotechnology (CLABA) and IV Redealgas Workshop**, Journal of Applied Phycology, 2014.

ASK, E. I.; AZANZA, R. V. Advances in cultivation technology of commercial eucheumatoid species: a review with suggestions for future research. **Aquaculture**, v. 206, p. 257–277, 2002.

ASK, E.; ZERTUCHE-GONZÁLEZ, J.; SAN DE, M. Three decades of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) introduction to non-endemic locations. In: International Seaweed Symposium, 17, **Proceedings of**

the Fourth International Seaweed Symposium, Oxford: Oxford University Press, 2003. p. 49–57.

ASK, E. Cultivating Cottonii and Spinosum: A “How To” Guide. In: Critchley, A.T.; OHNO, M.; LARGO, D.B. **World Seaweed Resources – An authoritative reference system**. 2006.

BIDWELL, R. G. S.; MCLACHLAN, J.; LLOYD, N. D. H. Tank cultivation of *Chondrus crispus* Stackh. **Botánica Marina**. v. 28, p. 87–97, 1985.

BIXLER, H. J.; PORSE, H. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 321–335, 2010.

Bulboa C, Paula E (2005) Introduction of non-native species of *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in subtropical waters: Comparative analysis of growth rates of *Kappaphycus alvarezii*. **Phycological Research**, v. 53, p. 183–188, 2005.

CHAOYUAN, W.; JIAJUN, L.; ENZHAN, X.; et al. On the transplanted and cultivation of *Kappaphycus alvarezii* in China. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 7, p.327–334, 1989.

CRITCHLEY, A. T. Introduction – Seaweed resources. In: OHNO, M.; CRITCHLEY, A. T. **Seaweed Cultivation and Marina Ranching**. Japão: Japan International Cooperation Agency (JICA), 1993. p.1-7.

DAWES, C. J. Temperature acclimation in cultured *Eucheuma isiforme* from Florida and *E. alvarezii* from the Philippines. **Journal of Applied Phycology**, v. 1, p. 59-65, 1989.

DAWES, C.; LLUISMA, A.; TRONO, G. Laboratory and field growth studies of commercial strains of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. **Journal of Applied Phycology**, v. 6, p. 21–24, 1994.

DOTY, M.S. Farming the red seaweed, *Eucheuma*, for carrageenans. **Micronesia**, v.9, p.59-73, 1973.

DOTY, M. S. The production and use of *Eucheuma*, in: Doty, M.S. **Case Studies of Seven Commercial Seaweed Resources**. Roma: FAO, 1987.

DY, D.; YAP, H. Surge ammonium uptake of the cultured seaweed, *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta: Gigartinales). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 265, p. 89–100, 2001.

ERBERT, C. **Crescimento e taxas fotossintéticas da espécie de alga exótica produtora de carragenanas *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva (Rhodophyta, Gigartinales)**. São Paulo, SP, 2001. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências. Departamento de Botânica. 2001.

FARIA G. S. M. **Cultivo *in vitro*, em tanques e no mar de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) em Santa Catarina**. Florianópolis, SC, 2008. Originalmente apresentado como monografia de graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, 2008.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **The state of world fisheries: fisheries and aquaculture department**. v. 154, Roma, 2012.

FLETCHER, R. L. Epiphytism and fouling in *Gracilaria* cultivation: An overview. **Journal of Applied Phycology**, v. 7, p. 325–333, 1995.

FONG, P. Macroalgal-Dominated Ecosystems. In: CAPONE, D. G.; BRONK, D. A.; MULHOLLAND, M. R.; CARPENTER, E. J. **Nitrogen in the marine environment**. Elsevier, 2ed. 2008. p. 917-947.

GLENN, E.; DOTY, M. Photosynthesis and respiration of the tropical red seaweeds, *Eucheuma striatum* (Tambalang and Elkhorn varieties) and *E. denticulatum*. **Aquatic Botany**, v. 10, p. 353–364, 1981.

GLENN, E.; DOTY, M. Growth of the seaweeds *Kappaphycus alvarezii*, *K. striatum* and *Eucheuma denticulatum* as affected by environment in Hawaii. **Aquaculture**, v. 84, p. 245–255, 1990.

GLENN, E.; DOTY, M. Water motion affects the growth rates of *Kappaphycus alvarezii* and related red seaweeds. **Aquaculture**, v. 108, p.233–246, 1992.

GÓES, H. G.; REIS, R. P. Temporal variation of the growth, carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated at Sepetiba bay, southeastern Brazilian coast. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, p. 173–180, 2011.

GRAHAM, L. E.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. W. Macroalgal and periphyton ecology. In: GRAHAM, L. E.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. **Algae**. Benjamin Commings, 2ed. 2009. p. 547-586,

GRANBOM, M.; PEDERSEN, M. Circadian rhythm of photosynthetic oxygen evolution in *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta): dependence on light quantity and quality. **Journal of Phycology**, v. 1025, p. 1020–1025, 2001.

GUAN, X.; WANG, J.; ZHU, J.; et al. Photosystem II photochemistry and phycobiliprotein of the red algae *Kappaphycus alvarezii* and their implications for light adaptation. **BioMed Research International**, v. 2013, p.256549, 2013.

GUERIN, J. M.; BIRD, K. T. Effects of aeration period on the productivity and agar quality of *Gracilaria* sp. **Aquaculture**, v. 64, p. 105-110, 1987.

HANELT, D.; NULTSCH, W. Photoinhibition in Seaweeds, **Environmental Signal Processing and Adaptation**, p. 141-167, 2003.

HANISAK, M. D. The use of *Gracilaria tikvahiae* (Gracilariales, Rhodophyta) as a model system to understand the nitrogen of cultured seaweed. **Hydrobiologia**, v. 204/ 205, p.79-87, 1990.

HAYASHI, L.; SANTOS, A. A.; FARIA, G. S. M.; et al. *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Areschougiaceae) cultivated in subtropical waters in Southern Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 337–343, 2011.

HAYASHI, L.; YOKOYA, N. S.; OSTINI, S.; et al. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated

cultivation with fishes in re-circulating water. **Aquaculture**, v. 277, p. 185–191, 2008.

HUGUENIN, J. An examination of problems and potentials for future large-scale intensive seaweed culture systems. **Aquaculture**, v. 9, p. 313–342, 1976.

HUNG, L. D.; HORI, K.; NANG, H. Q.; et al. Seasonal changes in growth rate, carrageenan yield and lectin content in the red alga *Kappaphycus alvarezii* cultivated in Camranh Bay, Vietnam. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, p. 265–272, 2008.

HURD, C. Water motion, marine macroalgal physiology, and production. **Journal of Phycology**, v. 472, p. 453–472, 2000.

HURTADO, A.; AGBAYANI, R.; SANARES, R.; CASTRO-MALLARE, M. T. R. The seasonality and economic feasibility of cultivating *Kappaphycus alvarezii* in Panagatan Cays, Caluya, Antique, Philippines. **Aquaculture**, v. 199, p. 295–310, 2001.

HURTADO-PONCE, A. Cage culture of *Kappaphycus alvarezii* var. *tambalang* (Gigartinales, Rhodophyceae). **Journal of Applied Phycology**, v. 4, p. 311–313, 1992.

ISRAEL, A.; LEVY, I.; FRIEDLANDER, M. Experimental tank cultivation of *Porphyra* in Israel. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, p. 235–240, 2006.

KAKITA, H.; KAMISHIMA, H. Effects of environmental factors and metal ions on growth of the red alga *Gracilaria chorda* Holmes (Gracilariales, Rhodophyta). In: International Seaweed Symposium, 18, **Proceedings of the Eighteenth International Seaweed Symposium. Applied Phycology**, 2007. p. 243-248.

LI, R.; LI, J.; WU, C. Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). **Hydrobiologia**, v. 204/205, p. 499-503, 1990.

LIDEMAN, NISHIHARA, G. N.; NORO, T.; TERADA, R. Effect of temperature and light on the photosynthesis as measured by chlorophyll fluorescence of cultured *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus sp.*

(Sumba strain) from Indonesia. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, p. 399–406, 2012.

LOBBAN, C. S. **Seaweed ecology and physiology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

MATTOO, A.K.; HOFFMAN-FALK, H.; MARDER, J.B.; EDELMAN, M. Regulation of protein metabolism: coupling of photosynthetic electron transport in vivo degradation of the rapidly metabolised 32-kilodalton protein of the chloroplast membranes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v.81, p 1380–1384, 1984.

McHUGH, D.J. A guide to the seaweed industry. In: FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Fisheries Technical Paper 441**. Roma: FAO, 2003.

McLACHLAN, J. Growth media-marine. In: Stein, J. R. **Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements**. London: Cambridge UP, p. 25-51. 1973.

MSUYA, F. Effects of stocking density and additional nutrients on growth of the commercially farmed seaweeds *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in Zanzibar Tanzania. **Tanzania Journal of Natural and Applied Sciences**, v. 4, p. 605–612, 2013.

MTOLERA, M. S. P.; COLLÉN, J.; PEDERSÉN, M.; SEMESI, A. K. Destructive hydrogen peroxide production in *Eucheuma denticulatum* (Rhodophyta) during stress caused by elevated pH, high light intensities and competition with other species. **European Journal of Phycology**, v. 30, p. 289–297, 1995.

MUÑOZ, J.; FREILE-PELEGRÍN, Y.; ROBLEDO, D. Mariculture of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) color strains in tropical waters of Yucatán, México. **Aquaculture**, v. 239, p. 161–177, 2004.

OHNO, M.; NANG, H.; HIRASE, S. Cultivation and carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. **Journal of Applied Phycology**, v.8, p. 431–437, 1996.

- OLIVEIRA, E. C. The rationale for seaweed cultivation in South America. In: OLIVEIRA, E. C.; KAUTSKY, N. **Cultivation of seaweeds in Latin America**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1990. p. 135-141.
- PANG, S.; LÜNING, K. Tank cultivation of the red alga *Palmaria palmata*: Effects of intermittent light on growth rate, yield and growth kinetics. **Journal of Applied Phycology**, v. 16, p. 93–99, 2004.
- PARKER, H. S. The culture of the red algal genus *Eucheuma* in the philippines. **Aquaculture**, v. 3, p. 425-439, 1974.
- PAULA, E. J. Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in vitro. **Phycological Research**, v. 49, p. 155–161, 2001.
- POWLES, S.B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 35, p. 15- 44, 1984.
- SAMPATH-WILEY, P.; NEEFUS, C.D.; JAHNKE, L.S. Seasonal effects of sun exposure and emersion on intertidal seaweed physiology: Fluctuations in antioxidant contents, photosynthetic pigments and photosynthetic efficiency in the red alga *Porphyra umbilicalis* Kützing (Rhodophyta, Bangiales). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 361, p. 83–91, 2008.
- SANTELICES, B.; DOTY, M. A review of *Gracilaria* farming. **Aquaculture**, v. 78, p. 95–133, 1989.
- SUBBA RAO, P. V.; SURESH KUMAR, K.; GANESAN, K.; THAKUR, M. C. Feasibility of cultivation of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty at different localities on the Northwest coast of India. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1107–1114, 2008.
- SURESH KUMAR, K.; GANESAN, K.; SUBBA RAO, P. V. (2007) Phycoremediation of heavy metals by the three-color forms of *Kappaphycus alvarezii*. **Journal of Hazardous Materials**, v.143, p. 590–592, 2007.

TITLYANOV, E. A.; TITLYANOVA, T. V. Seaweed cultivation: Methods and problems. **Russian Journal of Marine Biology**, v. 36, p. 227–242, 2010.

TRONO, G. C.; LLUISMA, A. O. Differences in biomass production and carrageenan yields among four strains of farmed carrageenophytes in Northern Bohol, Philippines. **Hydrobiologia**, v. 247, p. 223–227, 1992.

UGARTE, R.; SANTELICES, B. Experimental tank cultivation of *Gracilaria chihsis* in central Chile. **Aquaculture**, v. 101, p. 7-16, 1992.
VON STOSCH, H. Wirkungen von Jod und Arsenit auf Meeresalgen in Kultur. In: International Seaweed Symposium , 14, **Proceedings of the Fourth International Seaweed Symposium**. Oxford: Pergamon Press, 1963. p. 142-150.

WAKIBIA, J. G.; BOLTON, J. J.; KEATS, D. W.; RAITT, L. M. Factors Influencing the Growth Rates of Three Commercial Eucheumoids at Coastal Sites in Southern Kenya. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, p. 565–573, 2006.