



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

Camila Pereira Bruzinga

Cultivo da macroalga vermelha *Gelidium floridanum* aproveitando os resíduos da malacocultura

Florianópolis

2020

Camila Pereira Bruzinga

Cultivo da macroalga vermelha *Gelidium floridanum* aproveitando os resíduos da malacocultura

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: Prof.^a Leila Hayashi, Dra.
Coorientadora: Carmen Simioni, Dra

Florianópolis

2020

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

Bruzinga, Camila Pereira

Cultivo da macroalga vermelha *Gelidium floridanum*
aproveitando os resíduos da malacocultura / Camila Pereira
Bruzinga ; orientadora, Leila Hayashi, coorientadora,
Carmen Simioni, 2020.

47 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Carbonato de cálcio. 3. Rhodophyta.
I. Hayashi, Leila. II. Simioni, Carmen. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Aquicultura. IV. Título.

Camila Pereira Bruzinga

Cultivo da macroalga vermelha *Gelidium floridanum* aproveitando os resíduos da malacocultura

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

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

Profa. Aimê Rachel Magenta Magalhães, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Estela Maria Plastino, Dra.
Universidade de São Paulo

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em aquicultura.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura

Profa. Dra. Leila Hayashi, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2020.

Este trabalho é dedicado à ciência e
aos meus queridos pais e irmã.

AGRADECIMENTOS

À Professora Leila Hayashi, pela confiança e oportunidade de realizar este trabalho, e que mesmo com tanto trabalho não mediu esforços para me orientar.

À coorientadora Carmen Simioni, pelas orientações, ensinamentos, pelas conversas, as idas nas coletas e preparação dos experimentos que duravam horas.

À Professora Aimê Magalhães, pela oportunidade de iniciação científica, pela confiança e ensinamentos, por todo o apoio e amizade.

À Luciany Sampaio, pela amizade, por tudo que aprendi com você, por seu apoio nos momentos felizes e difíceis, por acreditar em meu potencial e me incentivar sempre.

Aos amigos, em especial, Robson Abrahão, Fernanda Bittencourt, Diego Mezzogiorno e Julien Fils, por todo o apoio, pelas conversas engraçadas, pelos brainstorms, pelas procuras de artigos e trabalhos. A ajuda que cada um de vocês me deu, em vários momentos nestes últimos anos, foi muito importante e levarei para sempre comigo.

Ao técnico Fernando da Silva, pela paciência em ouvir e responder todas as minhas perguntas e por me ajudar nos experimentos.

Aos Laboratórios de Biologia Celular Vegetal (LABCEV), Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (VITROCER), Central de Análises do Laboratório de Química (EQA), Seção de Macroalgas e Laboratório de Cultivo de Camarões Marinhos (LCM), pela disponibilidade dos equipamentos e aos colegas de laboratório pela ajuda da realização dos meus experimentos.

À Fazenda Marinha Atlântico Sul e à empresa Marpesc, por cederem as conchas de moluscos e ostras.

Aos colegas da Seção de Macroalgas do LCM, pelas ideias trocadas, piadas e brincadeiras que ajudaram a deixar tudo mais leve e divertido.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, pela oportunidade de realizar o mestrado.

Ao corpo docente do PPGAQI, pela competência e profissionalismo.

À Universidade Federal de Santa Catarina, pela concretização do mestrado.

Às agências de fomento FAPESC, CAPES e CNPq, em especial à FAPESC pela bolsa de mestrado concedida.

Aos meus pais, Geraldo e Rúbia, pela educação que me deram, por sempre acreditarem em mim e pelo apoio que sempre vêm me dando, a nunca desistir e seguir em frente, sempre.

À minha irmã Letícia, que sempre torceu por mim e sempre será meu “potinho”, mesmo crescendo.

Ao meu afilhado canino Milou, que foi meu companheiro nesta reta final e me enchia de “lambeijos” e pelos e a todos, que de certa forma, me incentivaram a superar os obstáculos.

RESUMO

A macroalga *Gelidium* tem grande importância comercial por ser fonte de ágar, um polissacarídeo amplamente utilizado pela indústria. Porém, grande parte da produção mundial é obtida quase que exclusivamente da sua extração de bancos naturais, estimulando pesquisas que visem o cultivo deste gênero. Recentemente, a importância dos íons de cálcio no processo germinativo de esporos foi demonstrada, promovendo um importante avanço no conhecimento de tecnologias de cultivo. Por outro lado, o cultivo de mexilhões e ostras no Sul do Brasil, desempenha um papel significativo na maricultura, gerando grande quantidade de resíduos em forma de conchas. Essas, formadas em sua maior parte por carbonato de cálcio, são descartadas em vez de serem reutilizadas para produzir material de valor agregado provocando, conseqüentemente, impactos ambientais, sociais e econômicos negativos. Este trabalho teve como objetivo melhorar as técnicas para o cultivo da espécie *G. floridanum*, aproveitando os sais de cálcio das conchas. Tetrásporos e explantes foram cultivados em laboratório por 20 dias com água do mar enriquecida com solução von Stosch a 50% nos seguintes tratamentos: 252 mg L⁻¹ (Os1) e 336 mg L⁻¹ (Os2) de pó de concha de ostra *Crassostrea gigas*, 252 mg L⁻¹ (Mx1) e 336 mg L⁻¹ (Mx2) de pó de concha de mexilhão *Perna perna* e 147 mg L⁻¹ (Ca1) e 295 mg L⁻¹ (Ca2) de solução de cloreto de cálcio (CaCl₂). No controle, não foi acrescentado sais de cálcio nem pó de conchas. Os resultados mostraram que, para a germinação dos tetrásporos, não há diferença significativa entre os tratamentos e controle. Os tratamentos com pó de concha prejudicaram a viabilidade dos tetrásporos, refletida pela presença de massa esverdeada, além de ser observado desorganização celular e atraso no desenvolvimento do tubo germinativo. As plântulas dos tratamentos Mx1 e Os1 apresentaram os menores comprimentos médios em relação ao controle e apenas o tratamento Os1 apresentou taxa de crescimento inferior ao controle. Entretanto, em todos os tratamentos, plântulas com rizoides bem desenvolvidos foram observadas após 20 dias de cultivo. Em relação aos explantes, os tratamentos Mx1 e Mx2 apresentaram a maior taxa de crescimento com 3,92 e 4,28 % dia⁻¹ e Mx1 apresentou maior formação de eixos eretos com média de 10,15 eixos eretos em relação ao controle. Os resultados indicam que o CaCl₂ confere melhor desenvolvimento às plântulas, porém não trouxe melhora na germinação dos tetrásporos, no comprimento e crescimento médio das plântulas de *Gelidium floridanum*. O uso do pó da concha de mexilhão na concentração 252 mg L⁻¹ é recomendada para otimizar o cultivo de explantes.

Palavras-chave: Aquicultura. Carbonato de cálcio. Rhodophyta.

ABSTRACT

The red seaweed *Gelidium* has commercial importance as source of agar, a polysaccharide widely used by industry. However, the world's production of this genus is based on harvesting from natural beds, stimulating research to the development of cultivation. Recently, the importance of calcium ions in the germinative process of spores was demonstrated, promoting an important advance in the knowledge for the development of cultivation technologies. On the other hand, the cultivation of mussels and oysters in the South of Brazil plays a significant role in aquaculture, generating a large amount of shells waste. These shells, composed mostly by calcium carbonate, are discarded rather than reused to produce added value material. This work aimed to improve techniques for the cultivation of *G. floridanum* species, using the calcium salts of the shells. Tetraspores and explants were cultured in laboratory for 20 days in seawater enriched with 50% von Stosch solution and the following treatments,: 252 mg L⁻¹ (Os1) and 336 mg L⁻¹ (Os2) of *Crassostrea gigas* oyster shell powder, 252 mg L⁻¹ (Mx1) and 336 mg L⁻¹ (Mx2) of *Perna perna* mussel shell powder and 147 mg L⁻¹ (Ca1) and 295 mg L⁻¹ (Ca2) of calcium chloride solution (CaCl₂). In control, no calcium salt or shell powder was used. The results showed that there is no significant difference between treatments and control in the germination of tetraspores. Treatments with shell powder impaired the viability of the tetraspores, reflected by the presence of green mass, cell disorganization and delay in germ tube development. The seedlings of treatments Mx1 and Os1 had the lowest average lengths in relation to the control and only the Os1 treatment obtained a growth rate lower than the control. However, in all treatments, seedlings with well-developed rhizoid were observed after 20 days of cultivation period. In relation to the explants, Mx1 and Mx2 treatments showed the highest growth rates, between 3.92 and 4.28% day⁻¹ and Mx1 presented a greater formation of erect axes with an average of 10.15 axes in relation to the control. The results indicate that CaCl₂ gives better development to the seedlings, but it did not improve the germination of the tetraspores, the average length and growth of the seedlings of *Gelidium floridanum*. The use of mussel shell powder at a concentration of 252 mg L⁻¹ is recommended to optimize explant cultivation.

Keywords: Aquaculture. Calcium carbonate. Rhodophyta.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema do ciclo de vida do *Gelidium floridanum*. 16
- Figura 2 - a) *G. floridanum* em Sambaqui b) Seleção dos talos tetrasporofíticos. 24
- Figura 3 - a) *Crassostrea gigas*. b) Perna perna. 25
- Figura 4 - Tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 24 horas cultivados em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% e diferentes fontes de cálcio. a: Controle (sem adição de fontes de Ca); b: Ca1 (147 mg L⁻¹ de CaCl₂); c: Ca2 (295 mg L⁻¹ de CaCl₂); d: Mx1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão a); e: Mx2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão a); f: Os1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra a); g: Os2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra). Presença de tetrásporos viáveis e maior presença de tetrásporos com o tubo germinativo desenvolvido no controle (a) e em Ca2 (c). Maior quantidade de tetrásporos com o início da formação do tubo germinativo foram visualizados no tratamento Ca1 (b). Tratamentos com pó de conchas apresentaram desorganização celular e atraso na formação do tubo germinativo (d, e, f e g). Maior presença de tetrásporos inviáveis (e e g). Tratamentos com pó de conchas apresentaram poucos tetrásporos germinados. (▲) indica tubos germinativos desenvolvidos; (*) indica esporos viáveis; (■) indica esporos inviáveis. Escala: 15 µm. 29
- Figura 5 - Percentual de germinação dos tetrásporos de *Gelidium floridanum* cultivados em diferentes fontes de cálcio após 24 horas. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média e as barras verticais representam o desvio padrão. 30
- Figura 6 - Plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% e diferentes fontes de cálcio. a: Controle (sem adição de fontes de Ca); b: Ca1 (147 mg L⁻¹ de CaCl₂); c: Ca2 (295 mg L⁻¹ de CaCl₂); d: Mx1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão); e: Mx2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão a); f: Os1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra a); g: Os2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra). As setas indicam os agrupamentos de plântulas. Controle e Ca1 com semelhanças na formação de agrupamentos e tamanho das plântulas (a e b); Ca2 formação de agrupamentos mais densos e plântulas maiores (c); formação desorganizada e menos densa de agrupamentos com desenvolvimento tardio das plântulas (d, e, f e g). Escala: 500 µm. 31

- Figura 7 - Plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo. A seta mostra a formação de rizoides aderidos à lâmina após 20 dias de cultivo. Escala: 200 μm32
- Figura 8 - Comprimento médio das plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média ($n=3$) e as barras verticais representam o desvio padrão.33
- Figura 9 - Percentual do crescimento das plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum*, após 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média ($n=3$) e as barras verticais representam o desvio padrão.33
- Figura 10 - Explantes de *Gelidium floridanum* após 20 dias de dias de cultivo em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% e diferentes fontes de cálcio. a: Controle (sem adição de fontes de Ca); b: Ca1 (147 mg L^{-1} de CaCl_2); c: Ca2 (295 mg L^{-1} de CaCl_2); d: Mx1 (252 mg L^{-1} de pó de concha do mexilhão); e: Mx2 (336 mg L^{-1} de pó de concha do mexilhão a); f: Os1 (252 mg L^{-1} de pó de concha de ostra a); g: Os2 (336 mg L^{-1} de pó de concha de ostra). Desenvolvimento concentrado dos eixos eretos em apenas uma das extremidades dos explantes no controle, Ca1 e Ca2 (a, b e c); presença de eixos maiores e com mais quantidade nas extremidades dos explantes Mx1 e Mx2 (d e e); degradação nos talos Os1 e Os2 (f e g). Setas mostram a maior concentração de eixos eretos formados (d e e). Escala: 1 mm. 34
- Figura 11 - Número médio de eixos eretos formados nas extremidades dos explantes de *Gelidium floridanum* com 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças estatísticas. Os valores estão apresentados em média ($n=4$) e as barras verticais representam o desvio padrão.35
- Figura 12 - Taxa de crescimento dos explantes de *Gelidium floridanum* com 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média ($n=4$) e as barras verticais representam o desvio padrão.35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração de Ca^{2+} (mg L^{-1}) das soluções.....	26
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μm	Micrômetro
Al_2O_3	Óxido de alumínio
ANOVA	Análise de variância fatorial
Ca^{2+}	Íon cálcio
CaCl_2	Cloreto de cálcio
CaCO_3	Carbonato de cálcio
cm	Centímetro
CV	Cavalos
K_2O	Óxido de potássio
L	Litro
LABCEV	Laboratório de Célula Vegetal
LCM	Laboratório de Cultivo de Camarões
LCME	Laboratório Central de Microscopia Eletrônica
M	Molar
mg	Miligrama
ML	Microscopia de luz
mL	Mililitro
mM	Micromolar
MgO	Óxido de magnésio
$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Metros por segundo
Na_2O	Óxido de sódio
P_2O_5	Óxido de fósforo
SAS	Estruturas secundárias de adesão
SiO_2	Óxido de silício
SrO	Óxido de estrôncio
T	Tonelada
TiO_2	Óxido de titânio
UV	Ultra violeta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVOS.....	19
1.1.1	Objetivo geral.....	19
1.1.2	Objetivos específicos	19
2	ARTIGO CIENTÍFICO	20
2.1	DESENVOLVIMENTO	21
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	24
2.2.1	Material Biológico.....	24
2.2.2	Processamento das Conchas de Moluscos Bivalves	24
2.2.3	Preparação da Água do Mar Esterilizada.....	25
2.2.4	Tratamentos	25
2.2.5	Cultivo de Tetrásporos	26
2.2.6	Cultivo de Explantes.....	27
2.2.7	Análise da Morfologia e Taxa de Germinação dos Tetrásporos	27
2.2.8	Análise da Morfologia, do Comprimento Médio e Taxa de Crescimento de Plântulas e Explantes.....	27
2.2.9	Análise Estatística	28
2.3	RESULTADOS	28
2.3.1	Morfologia e Taxa Percentual de Germinação dos Tetrásporos.....	28
2.3.2	Morfologia, Comprimento Médio e Taxa Percentual de Crescimento das Plântulas.....	30
2.3.3	Morfologia, Número Médio de Eixos Eretos e Taxa Percentual de Crescimento dos Explantes.....	33
2.4	DISCUSSÃO.....	36
2.5	CONCLUSÃO.....	38
	REFERÊNCIAS	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	44

1 INTRODUÇÃO

As espécies de *Gelidium* estão entre as agarófitas mais importantes do mundo (SANTELICES & STEWART, 1985). Cerca de 35 espécies são colhidas em várias regiões, contribuindo para a exploração anual mundial de agarófitas, embora dados atualizados não tenham sido encontrados (WHYTE & ENGLAR, 1981; MELO, 2002). Por ano, são produzidas 14.500 toneladas (T) de ágar que movimentam cerca de 246 milhões de dólares (PORSE & RUDOLPH, 2017). Grande parte da produção mundial de ágar resulta das algas do gênero *Gracilaria* e *Gelidium*, sendo que apenas uma pequena quantidade é produzida a partir de agarófitas como *Gelidiella* e *Pterocladia* (MARINHO-SORIANO & BOURRET, 2003). Ao contrário do ágar de *Gracilaria*, o ágar do *Gelidium* não precisa de qualquer tipo de pré-tratamento para a sua extração (PORSE & RODOLPH, 2017). Embora o ágar extraído de *Gelidium* represente atualmente apenas cerca de 1,6% da produção mundial de ficocolóides, sua alta resistência à gelificação natural assim como baixas temperaturas de gelificação dificultam a substituição por ágar extraído de outras espécies (SANTOS & MELO, 2018).

As aplicações de ágar são principalmente na área alimentícia, farmacêutica e biotecnológica. Na indústria alimentícia, por sua capacidade gelificante e espessante, é comum a aplicação em sobremesas gelificantes à base de água, gelatinas de baixas calorias, geleias e compotas, leites achocolatados, pudins, derivados de leite, leite de soja, carne processada e enlatada, cerveja, molhos, temperos e outros alimentos processados (PEREIRA *et al.* 2013). Na indústria farmacêutica e biotecnologia, o ágar pode ser utilizado em meios de separação e purificação como eletroforese em gel, cromatografia de grânulos de gel, cromatografia de exclusão de tamanho, em produtos de química fina, hormônios, enzimas, vacinas, suspensão para radiografar o trato gastrointestinal, dispositivos de liberação contínua, produção de moldes utilizados em odontologia, criminologia, substituto de gelatina e refeição vegetariana (RINAUDO, 2008). Em cosméticos naturais bifásicos, o ágar pode ser utilizado como emulsão rica em vários componentes naturais, destinados especialmente para o tratamento da pele e do cabelo. Uma importante aplicação do ágar consiste no desenvolvimento de um curativo tópico para o revestimento de uma área de queimadura ou outro local da deficiência de pele (VASCONCELOS *et al.* 2015).

Um dos maiores fatores limitantes da produção de ágar a partir de *Gelidium* é o fato de não existirem ainda cultivos comerciais massivos. A indústria depende dos estoques naturais em todo o mundo, que estão sendo exauridos a um ritmo alarmante. O cultivo massivo de *Gelidium* ainda está em fase experimental e poucas tentativas foram realizadas em laboratório

e campo (SANTELICES, 1987; CALLAWAY, 2015; PORSE & RODOLPH, 2017). Estratégias para o cultivo de *Gelidium* em pequena escala em tanques foram realizados no Chile (SANTELICES, 1976), Índia (MAIRH & SREENIVA RAO, 1978), Califórnia, Estados Unidos (HANSEN, 1980) e Noruega (FREDRIKSEN & RUENESS, 1989). Cultivo em long-lines com o método de propagação vegetativa foram realizados na China, em pequena e grande escala (FEI & HUANG, 1991), na África do Sul, em fazendas experimentais de *G. robustum* e *G. nudifrons* (MELO *et al.* 1991) e na Índia, com *G. pristoides* e *G. pusillum* (AKEN *et al.* 1993; VEERAGURUNATHAN *et al.* 2018).

Para que o cultivo seja expandido em escala comercial, muitos problemas ainda precisam ser resolvidos, como por exemplo a identificação de locais adequados para o cultivo, instalação das estruturas de cultivo, manutenção de estoque de esporos e linhagens e um sistema de plantio e colheita (MELO *et al.* 1991), além de alteração das correntes marinhas, força da movimentação da água, herbivoria, tempo de crescimento, epífitas e parasitas e eliminação da raspagem como forma de colheita (SANTELICES, 1987). Outros fatores importantes que determinam a viabilidade comercial incluem custos de colheita (mão-de-obra e/ou equipamento), secagem, transporte, necessidade de utilização de produtos químicos, abastecimento de água e medidas de proteção ao meio ambiente (MCHUGH, 1991).

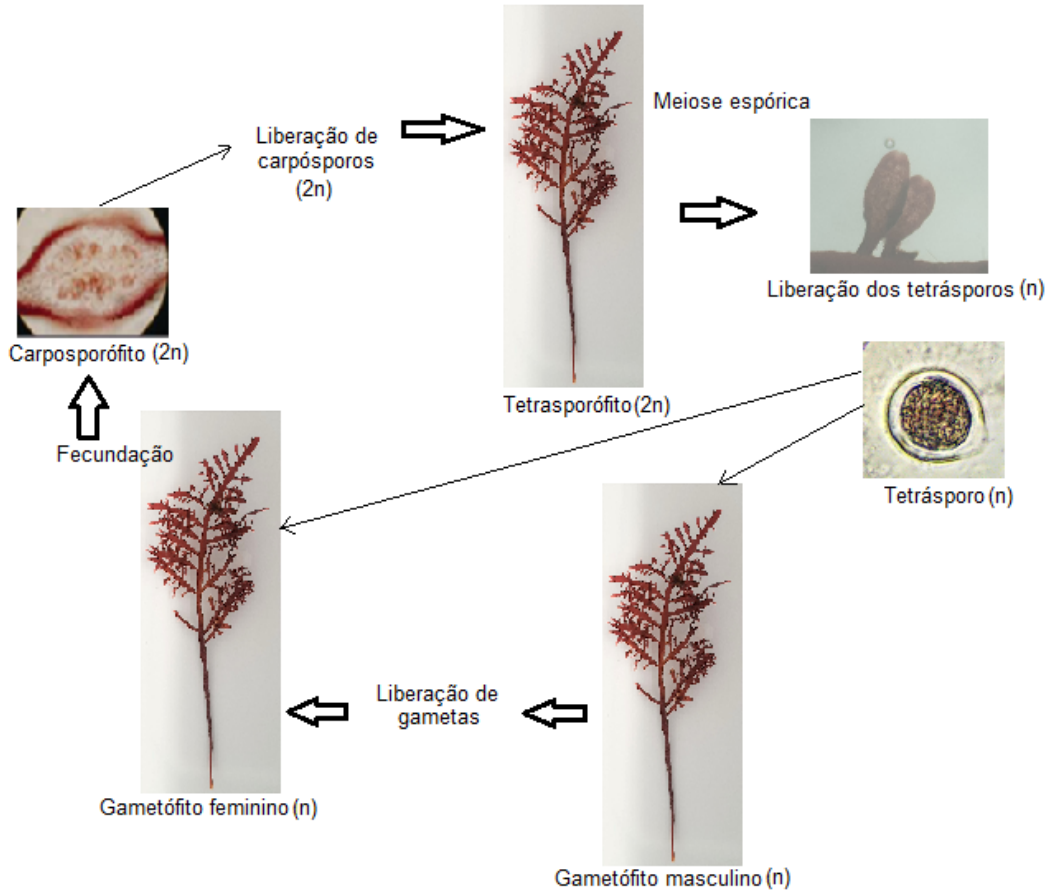
A espécie *Gelidium floridanum* W. R. Taylor (1943) é caracterizada pela presença de um talo com coloração vermelho vináceo com eixo principal evidente e ramificado (TAYLOR, 1960) e o ágar presente na parede celular possui função biológica análoga à hemicelulose em plantas terrestres (LEE *et al.* 2017). Seu crescimento é dificilmente isolado, formando tufo fortemente fixados ao substrato por apressórios especializados, podendo medir entre 6,0 a 15,0 cm de altura.

A espécie apresenta o ciclo de vida trifásico isomórfico (Figura 1) constituído por uma fase gametofítica haploide (gametófito) e duas fases esporofíticas diploides: o carposporófito e o tetrásporófito (SCARIOT *et al.* 2012). Os esporos viáveis são de coloração vermelho escuro devido a presença de muitos cloroplastos e os esporos inviáveis apresentam cloroplastos esverdeados (SIMIONI *et al.* 2015). Os tetrásporos se originam do tetrásporângio após a meiose espórica. Os carpósporos estão localizados no carposporófito, formado após a fecundação no carpogônio e germinação do zigoto (OLIVEIRA, 2003).

A germinação dos tetrásporos e carpósporos passa por eventos iniciais bem caracterizados. O processo se inicia com a liberação dos tetrásporos ou carpósporos que ficam isentos de parede celular e são recobertos por uma mucilagem transparente, composta por glicoproteínas e polissacarídeos sulfatados (BOUZON *et al.* 2006). Após a fixação ao substrato

e a formação da parede celular, o tetráspero (ou carpósporo) inicia os processos metabólicos de germinação, sendo possível observar a polarização do conteúdo citoplasmático (BOUZON *et al.* 2006; FERARU *et al.* 2011).

Figura 1- Esquema do ciclo de vida do *Gelidium floridanum*.



Fonte: Própria autora (2019).

A germinação começa com a produção de uma estrutura semelhante a um tubo para o qual o conteúdo do tetráspero ou carpósporo migra. O tetráspero ou carpósporo original permanece como um saco aparentemente vazio, ligado ao crescente tubo germinativo. Ao mesmo tempo, uma fina camada de parede celular é sintetizada envolta do tubo. Em seguida, há a formação de um septo, o qual separa o tetráspero ou carpósporo inicial do tubo (BOUZON *et al.* 2005; SIMIONI *et al.* 2015).

Para que a plântula seja formada, é necessário que o tubo germinativo inicie sucessivas divisões celulares, oblíquas e depois em vários planos. Na sua região distal surgirá uma célula rizoidal que dará origem ao sistema de rizoides. A partir da fixação do rizoide ao substrato, origina-se a parte ereta da planta na região oposta (BOUZON *et al.* 2005; 2006; SIMIONI *et al.* 2015). A divisão celular apical é responsável pelo aumento do número de células em um

filamento, definindo a orientação, a taxa de crescimento, a ramificação e morfologia do talo. A região apical apresenta intensa atividade metabólica e é estruturalmente diferenciada do resto do talo (SCARIOT *et al.* 2012). Nessa fase de desenvolvimento, o crescimento das plântulas se dá por proliferação das células nessa região, com estrutura em forma cilíndrica na base e achatada em direção ao ápice. O talo é constituído por numerosas células pigmentadas, e sua base se fixa ao substrato pelos rizoides hialinos em diferentes quantidades por plântula (SANTOS, 2009).

Para que todo este processo aconteça, a presença de sais de cálcio (Ca^{2+}) é de suma importância (SIMIONI *et al.* 2015). O Ca^{2+} entra através de canais de cálcio aumentando seu gradiente de concentração na região de formação do tubo. É responsável pela sinalização e organização dos filamentos de actina que direcionam as organelas e vesículas do Golgi durante a formação do tubo germinativo e participa indiretamente na formação da parede celular (DERKSEN *et al.* 1995; HABLE & HART, 2010). O papel do Ca^{2+} é fundamental para a formação do tubo germinativo durante o desenvolvimento de tetrásporos do *Gelidium* sp. (BOUZON *et al.* 2006; SIMIONI *et al.* 2015), conchósporos de *Porphyra yezoensis* (LI *et al.* 2009) e na polarização de zigotos de algas fucóides (ROBINSON, 1996).

Mesmo sabendo da importância do cálcio no desenvolvimento de Rhodophyta, existem poucos trabalhos relacionados à sua utilização em cultivo em campo ou em laboratório. Bouvie (2018) realizou experimentos com esporos de *Gelidium floridanum* utilizando diferentes concentrações de CaCl_2 e observou aceleração no tempo de formação do tubo germinativo em comparação à amostra controle. Otaíza & Fonseca (2011) realizaram experimentos para avaliar os possíveis efeitos do cálcio na formação de estruturas secundárias de adesão (SAS) em talos de *Chondracanthus chamissoi*. Os resultados mostraram que a adição de cálcio aumentou significativamente a proporção de fragmentos que desenvolveram SAS nesta espécie, acelerando o estágio de desenvolvimento dessas estruturas e contribuindo para a propagação vegetativa após a fragmentação dos talos.

Conchas de moluscos podem fornecer cálcio ao meio além de serem parte do firmamento do substrato marinho (van den HOEK *et al.* 1979; OTAÍZA & FONSECA, 2011). De acordo com a FAO (2018), a produção mundial de moluscos foi de 17,1 milhões de toneladas, gerando 29.200 bilhões de dólares. No Brasil, o estado de Santa Catarina é responsável por quase 95% da produção brasileira de moluscos bivalves, que inclui mexilhões marrons (*Perna perna*), ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) e vieiras (*Nodipecten nodosus*). O estado possui baías espalhadas por 561 km de costa de frente para o Oceano Atlântico e o cultivo está concentrado em torno da Ilha de Santa Catarina, município de Florianópolis

(SUPLICY *et al.* 2017). A produção destes moluscos comercializados em 2017 no Estado foi de 13.466 toneladas (EPAGRI, 2017).

Quando jogados ao mar, os resíduos do cultivo de moluscos podem modificar o hábitat dos organismos bentônicos e alterar seu equilíbrio ecológico, além das possíveis reclamações dos usuários das praias, provocando odores e turvando os primeiros metros da água do mar (SANTOS *et al.* 2014). Além disso, podem tornar as baías rasas e assim impedir a circulação normal da água, provocar o esgotamento de oxigênio no fundo dos sedimentos e promover o aparecimento de gás sulfídrico. Isso altera drasticamente a fauna e flora marinha dessas localidades. Em terrenos baldios, podem atrair animais e insetos transmissores de doenças, como ratos, baratas e moscas e provocar mau cheiro devido a matéria orgânica (ARANA & VIEIRA, 2005). Pela grande quantidade de conchas e à sua natureza calcária, estes resíduos podem ser fonte de matéria-prima em vários processos, desde que suas propriedades físico-químicas sejam conhecidas, para produzir produtos nobres e de interesse comercial (KWON *et al.* 2004; SILVA *et al.* 2010; CHIERIGHINI *et al.* 2011).

Conchas de moluscos já são utilizadas em grande escala nos cultivos de *Pyropia* sp. (PEREIRA & YARISH, 2008). Pariona & Gil-Kodaka (2011) realizaram experimentos de colonização de *Chondracanthus chamissoi* sobre substratos feitos com conchas do gastrópode *Stramonita chocolata*. Foi observado que a porosidade das conchas de *S. chocolata* favoreceu o estabelecimento, adesão e germinação de esporos de várias espécies de macroalgas, as quais competiram entre si, evidenciando processos e sucessões que estimularam no final o desenvolvimento de *C. chamissoi*. A utilização de conchas também foi relatada no trabalho de Otaíza *et al.* (2018), que compararam a frequência com que diferentes partes do talo de *Gelidium lingulatum* produziram SAS, utilizando três tipos de substratos: rocha, cascas escuras do mexilhão *Perumytilus purpuratus* e conchas claras da craca *Austromegabalanus psittacus*. Os resultados mostraram que os eixos basais de *G. lingulatum* formaram altas densidades de SAS nos três substratos testados, mas nenhuma diferença consistente entre as conchas claras (craca) e escuras (mexilhão) foi detectada, ou entre as conchas e o substrato rochoso.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a influência de sais de cálcio proveniente de conchas de moluscos bivalves cultivados no desenvolvimento de *Gelidium floridanum*.

1.1.2 Objetivos específicos

- Analisar e comparar a morfologia e processos de germinação dos tetrásporos cultivados nas diferentes fontes de cálcio de conchas de moluscos e solução de cloreto de cálcio
- Analisar e comparar a morfologia e taxa de crescimento das plântulas e explantes cultivados nas diferentes fontes de cálcio de conchas de moluscos e solução de cloreto de cálcio.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo gerado por este trabalho será submetido para publicação à *Journal of Applied Phycology*.

CULTIVO DA MACROALGA VERMELHA *Gelidium floridanum* APROVEITANDO OS RESÍDUOS DA MALACOCULTURA

Camila Pereira Bruzina^{1*}; Carmen Simioni¹; Leila Hayashi¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina - (UFSC), Centro de Ciências Agrárias - (CCA), Departamento de Aquicultura, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

*Autor correspondente. Tel: +55 48 99662-8166

Endereço de e-mail:camila.p.b@outlook.com

2.1 DESENVOLVIMENTO

As espécies de *Gelidium* estão em uma posição importante no mercado devido a demanda por ágares purificados de grau superior utilizados em aplicações farmacológicas, biomédicas, biotecnológicas e outras específicas, que são extraídos exclusivamente desse gênero (ARMISÉN, 1991; SANTOS & MELO, 2018). A produção mundial de ágar proveniente de *Gelidium* vem das populações existentes em Portugal, Espanha, Marrocos, Chile, Japão, Indonésia e México (SANTELICES, 1991; MELO, 2002; SANTOS & MELO, 2018). Um dos maiores fatores limitantes da produção de ágar a partir de *Gelidium*, é o fato de não existirem ainda cultivos comerciais massivos. A indústria depende dos estoques naturais em todo o mundo, que estão sendo exauridos a um ritmo alarmante (CALLAWAY, 2015; PORSE & RODOLPH, 2017).

A expansão do cultivo de *Gelidium* em fazendas comerciais depende de locais adequados para o cultivo, instalação das estruturas, manutenção de estoque de linhagens (MELO *et al.* 1991), movimentação da água, herbivoria, tempo de crescimento, presença de epífitas e parasitas e eliminação da raspagem como forma de colheita (SANTELICES, 1987), além de custos de colheita (mão-de-obra e/ou equipamento), secagem, transporte, necessidade de produtos químicos, abastecimento de água e medidas de proteção ao meio ambiente (MCHUGH, 1991).

O *Gelidium* é cultivado na China (FEI & HUANG 1991) e na Coreia do Sul desde 1989 (MELO, 1998), porém foi também descrito na Espanha e Portugal (SALINAS 1991; SEOANE-CAMBA 1997; MELO, 1998). Duas principais tecnologias foram sugeridas: em fazendas marinhas e em tanques, onde a espécie é cultivada a partir de fragmentos para o início das culturas (FRIEDLANDER, 2007). Tentativas de crescimento do *Gelidium* no mar foram feitas em Israel, com o uso de long-lines e cestos (FRIEDLANDER & LIPKIN, 1982), no Chile, com remoção manual de algas concorrentes e uso de culturas líquidas em voçorocas entre marés e corredeiras, e com talos e esporos de *G. rex* cultivados sobre conchas (SANTELICES, 1987; ROJAS *et al.* 1996), na China com o método de jangada (FEI & HUANG, 1991), na África do Sul com cultura de cordas e saco de rede (AKEN *et al.* 1993), na Espanha com fragmentos de *G. sesquipedale* presos a cilindros de calcário colocados no mar (SEOANE-CAMBA, 1997). Estratégias para cultivo em sistema fechado, foram relatados no Chile (SANTELICES, 1976), na Califórnia, Estados Unidos (HANSEN, 1980), Noruega (FREDRIKSEN & RUENESS, 1989), Israel (BOULUS *et al.* 2007) e Espanha (SOSA *et al.* 2006). Entretanto, nenhum dos experimentos com *Gelidium* citados conseguiu expandir para

grande escala, mesmo com métodos mostrando resultados para justificar estas tentativas (PEREIRA & YARISH, 2008).

O ciclo de vida do *Gelidium* é complexo, com três fases distintas: a fase tetrasporofítica, a fase gametofítica e a fase carposporofítica (HAWKES, 1990). Além desses, ocorre ainda a reprodução vegetativa, que consiste na emissão de eixos eretos a partir do sistema de eixos prostrados. Os eixos se desenvolvem e se fixam ao substrato através de rizoides (DIXON, 1958). Os rizoides são responsáveis pela reposição dos talos destruídos por tempestades, herbivoria ou outros fatores (SANTELICES, 1991), permitindo assim a perenização das populações, inclusive nas áreas explotadas comercialmente (SANTOS, 1994).

Para que o desenvolvimento aconteça, em esporos ou na propagação vegetativa, a presença do íon cálcio (Ca^{2+}) é de suma importância (SANTELICES, 1991; SIMIONI *et al.* 2015). O Ca^{2+} entra através de canais de cálcio aumentando seu gradiente de concentração na região de formação do tubo, sendo responsável pela regulação dos filamentos de actina, induzindo o crescimento da alga (DERKSEN *et al.* 1995). O Ca^{2+} é fundamental também na formação do tubo germinativo durante o desenvolvimento de conchósporos de *Porphyra yezoensis* (LI *et al.* 2009) e na polarização de zigotos de algas fucóides (ROBINSON, 1996). Segundo Hönisch *et al.* (2012), o cálcio está disponível nos oceanos na forma iônica, sendo um dos principais sais utilizados por organismos calcificadores, como alguns tipos de algas, corais, plânctons e mariscos. Reações químicas favorecem a transformação do Ca^{2+} em carbonato de cálcio (CaCO_3), que será utilizado no estágio inicial de vida desses organismos em sua fisiologia, reprodução, distribuição geográfica, morfologia, crescimento, desenvolvimento e tempo de vida.

Conchas de moluscos bivalves podem ser excelentes fontes de cálcio. De acordo com a FAO (2018), a produção mundial de moluscos foi de 17,1 milhões de toneladas, gerando 29.200 bilhões de dólares. No Brasil, 95% da produção nacional de moluscos bivalves do país localiza-se em torno da Ilha de Santa Catarina, município de Florianópolis (EPAGRI, 2017). As espécies mais cultivadas são os moluscos bivalves da família Mytilidae, representada pelo mexilhão nativo *Perna perna* (CUNHA *et al.* 2016) e da família Ostreidae, representada pela ostra-do-pacífico *Crassostrea gigas* (POLI *et al.* 2004). A produção destes moluscos comercializados em 2017 no Estado foi de 13.466 toneladas (EPAGRI, 2017). Mas existe uma dificuldade em relação à destinação dos resíduos provenientes do cultivo. As conchas equivalem a aproximadamente 70% do peso total dos moluscos bivalves gerando grande volume de resíduo. Além disso, a maior parte desses não recebe o processamento adequado (SILVA *et al.* 2010). Estes resíduos, quando são descartados inadequadamente, modificam o

hábitat aquático, alterando o equilíbrio ecológico (SANTOS *et al.* 2014). Podem tornar as baías rasas impedindo a circulação normal da água e provocar o esgotamento de oxigênio no fundo dos sedimentos, alterando a fauna e flora marinha desses ambientes. Em terrenos baldios, animais e insetos transmissores de doenças, como ratos, baratas e moscas são atraídos (ARANA & VIEIRA, 2005). Devido à grande quantidade de conchas e à sua natureza calcária, estes resíduos podem ser fonte de matéria-prima em vários processos, para produzir produtos nobres e de interesse comercial (KWON *et al.* 2004; SILVA *et al.* 2010; CHIERIGHINI *et al.* 2011).

Uma alternativa de mitigar os impactos gerados pelo resíduo da malacocultura é a utilização das conchas como substrato e ou fonte de cálcio no cultivo de *Gelidium floridanum*. Substratos calcários demonstraram melhorar a formação e fixação das estruturas secundárias de adesão (SAS) em espécies de *Gelidium* e em outras agarófitas (SALINAS 1991; JUANES & PUENTE, 1993), assim como o cálcio adicionado ao meio de cultura (SANTELICES & VARELA, 1994). Trabalhos em cultivos experimentais mostraram a adesão dos fragmentos de *Chondracanthus chamissoi* em substratos formados por conchas de moluscos e cordas de polipropileno (MACCHIAVELLO *et al.* 2003; BULBOA *et al.* 2005; FONCK *et al.* 2008; SÁEZ *et al.* 2008). Segundo Otaíza *et al.* (2018), o uso de rocha, cascas escuras do mexilhão *Perumytilus purpuratus* e conchas claras da craca *Austromegabalanus psittacus* foi eficiente para que os eixos basais de *Gelidium lingulatum* formassem altas densidades de SAS, sem haver diferença entre as conchas claras (craca) e escuras (mexilhão) ou entre as conchas e o substrato rochoso. Bruzinga *et al.* (2019) observaram maior presença de *Gracilaria* sp. no substrato com predominância calcária, formado principalmente por conchas de *Anomalocardia brasiliana* na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé (RESEX), em Florianópolis/SC. van den Hoek *et al.* (1979) também verificaram o crescimento de várias espécies de algas vermelhas e pardas sobre conchas do mexilhão azul *Mytilus edulis* na zona entremarés do Mar de Wadden. Conchas de ostra são utilizadas nos cultivos de *Pyropia* sp. em grande escala (PEREIRA & YARISH, 2008). Por ainda existirem poucos trabalhos relacionados à eficácia do cálcio no desenvolvimento de Gelidiales e pela grande oferta de cálcio presente nos resíduos da malacocultura, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do uso de sais de cálcio provenientes de conchas de moluscos cultivados, no cultivo de tetrásporos e explantes da espécie *Gelidium floridanum*.

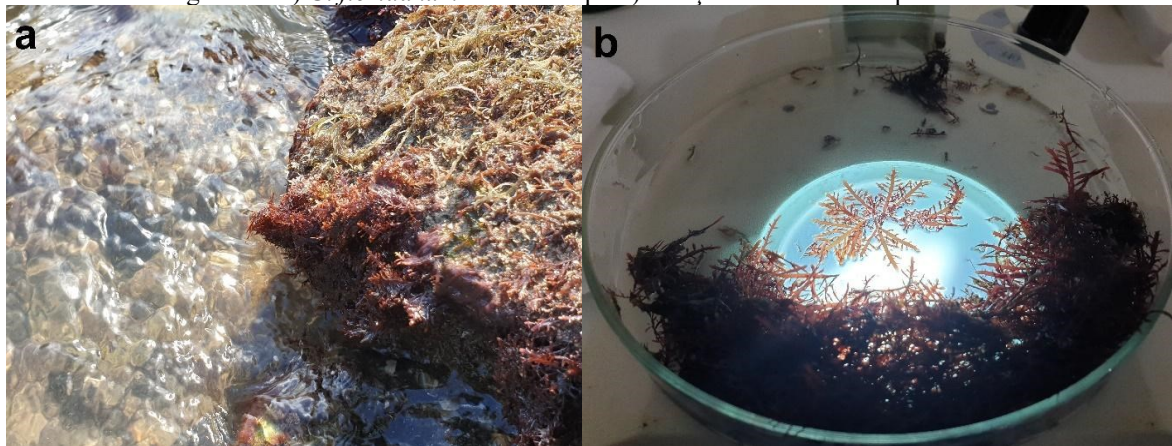
2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O cultivo foi realizado na Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina – LCM/UFSC. O cultivo de tetrásporos e de explantes foi realizado com pó de conchas proveniente de conchas de ostras *Crassostrea gigas* e mexilhões *Perna perna* e em duas concentrações de CaCl_2 (solução).

2.2.1 Material Biológico

Talos tetrásporófitos de *Gelidium floridanum* foram coletados durante a maré baixa, no costão rochoso da praia de Sambaqui (27° 29'18.8" S e 48° 32'12.9" W), localizada em Florianópolis, Estado de Santa Catarina (Figura 2a). Os talos foram acondicionados em um recipiente escuro e transportados em temperatura ambiente até a Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LCM/UFSC). Os talos férteis foram limpos e selecionados, livres de epífitas e invertebrados (Figura 2b).

Figura 2 – a) *G. floridanum* em Sambaqui b) Seleção dos talos tetrásporófitos.



Fonte: Própria autora (2019).

2.2.2 Processamento das Conchas de Moluscos Bivalves

As conchas utilizadas foram das espécies *Crassostrea gigas* (ostra do Pacífico) (Figura 3a) e *Perna perna* (mexilhão) (Figura 3b), provenientes da Fazenda Marinha Atlântico Sul - Ribeirão da Ilha/SC e da empresa Marpesc – Palhoça/SC, respectivamente.

Figura 3 – a) *Crassostrea gigas*. b) *Perna perna*.



Fonte: Própria autora (2019).

As conchas foram limpas, sanitizadas com hipoclorito de sódio a 2%, enxaguadas abundantemente em água doce e colocadas na estufa por 48 horas a 100 °C. Após a secagem, foram levadas ao Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (VidroCer) no Departamento de Engenharia Mecânica – UFSC para o processo de moagem. Para a transformação das conchas em pó foram utilizados o Moinho de Martelos (SERVITECH CT-058) para a obtenção de partes menores e do Moinho Planetário (SERVITECH CT-242) para a transformação das partículas em pó.

2.2.3 Preparação da Água do Mar Esterilizada

A água do mar utilizada foi adquirida pelo sistema de captação angular de água salina, localizada na Praia da Barra da Lagoa, em Florianópolis/SC, que abastece o Laboratório de Camarões Marinhos (LCM/UFSC). A esterilização da água do mar foi através de uma sequência de filtros de 25, 10 e 5 µm seguidos por esterilização com lâmpada ultravioleta (UV) (UCEDO, 2019).

2.2.4 Tratamentos

Quatro soluções padrão de **pó de concha de bivalves (CaCO₃)** foram preparadas, adaptadas com base nos dois melhores resultados do trabalho de Zhou *et al.* (2016):

- Os1 e Os2, correspondente a água do mar esterilizada enriquecida com pó de concha de ostra a 252 e 336 mg L⁻¹, respectivamente;

- Mx1 e Mx2, correspondente a água do mar esterilizada enriquecida com pó de concha do mexilhão a 252 e 336 mg L⁻¹, respectivamente.

As soluções foram colocadas em béqueres com aeração durante 5 dias. Após este período, foram filtradas com o auxílio da bomba a vácuo e microfiltro de fibra de vidro 47 mm para a retirada dos resíduos de pó.

Duas soluções padrão **Cloreto de cálcio (CaCl₂)** foram preparadas, adaptadas com base nos dois melhores resultados do trabalho de Bouvie (2018):

- Ca1 e Ca2, correspondente a água do mar esterilizada enriquecida com cloreto de cálcio (CaCl₂) a 147 mg L⁻¹ (1 mM) e 295 mg L⁻¹ (2 mM), respectivamente.

Como controle, foi utilizado somente água do mar esterilizada enriquecida com solução de von Stosch (50%) (MCLACHLAN, 1973).

Amostras das soluções padrão e da água do mar da Seção de Macroalgas – LCM/ UFSC foram recolhidas e levadas à Central de Análises do Laboratório de Química (EQA) – UFSC para análise de concentração de íons cálcio (Ca²⁺) (Tabela 1).

A concentração de Ca²⁺ presente na água do mar esterilizada foi de 360 mg L⁻¹. Após a análise das amostras das soluções, foi possível verificar que em todas ocorreu um acréscimo de cálcio na água do mar esterilizada que foi utilizada (Tabela 1). O pó de concha de ostra disponibilizou mais cálcio em comparação ao pó de concha de mexilhão. As soluções de CaCl₂ disponibilizaram uma quantidade de cálcio menor em comparação ao pó de conchas.

Tabela 1 - Concentração de Ca²⁺ (mg L⁻¹) das soluções.

	Pó de concha Mexilhão	Pó de concha Ostra	CaCl₂
252 mg L⁻¹	68	84	-
336 mg L⁻¹	106	133	-
1 mM	-	-	39,2
2 mM	-	-	78,4

Fonte: Própria autora (2019).

2.2.5 Cultivo de Tetrásporos

Talos tetrásporofíticos férteis foram dispostos sobre lâminas (4 lâminas por repetição) com o auxílio de uma pinça, dentro de caixas plásticas brancas de 2 L para a liberação e germinação de tetrásporos, sendo cultivados em 500 mL de acordo com cada tratamento ou controle. Todos os tratamentos foram enriquecidos com solução von Stosch (50%) (MCLACHLAN, 1973). Durante as primeiras 24 h, os talos foram cuidadosamente retirados com o auxílio de uma pinça. Uma lâmina de cada repetição foi coletada para as análises

morfológicas e taxa de germinação. Foi acrescido aeração leve e constante, durante um período de 20 dias. Após este período de cultivo em laboratório, foram novamente realizadas as análises morfológicas, taxa de crescimento percentual e comprimento médio. O cultivo foi realizado em triplicata (n=3), com troca do meio de cultura a cada cinco dias nas seguintes condições: temperatura de $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, irradiância de $37 \pm 3\text{ }\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$, salinidade 33‰, pH 7,4 e fotoper\u00edodo de 12 h.

2.2.6 Cultivo de Explantes

Talos saud\u00e1veis foram selecionados e aclimatados por 7 dias, sendo que nos \u00faltimos 2 dias foram adicionados com 2 mL L^{-1} de solu\u00e7\u00e3o antimic\u00f3tica e antibi\u00f3tica (SIGMA). Posteriormente, os ramos laterais foram retirados com o aux\u00edlio de um bisturi e apenas os talos principais foram seccionados em 5 mil\u00edmetros (explantes), segundo a metodologia descrita por Yokoya & Handro (1996). Dez explantes foram colocados em Erlenmeyers de 250 mL com \u00e1gua do mar esterilizada enriquecida com solu\u00e7\u00e3o von Stosch (50%) (MCLACHLAN, 1973) e aera\u00e7\u00e3o constante de acordo com os tratamentos e controle descritos anteriormente durante 20 dias. O cultivo foi realizado em quadruplicata (n=4), com troca de meio de cultura. Ao final deste per\u00edodo, foram realizadas as an\u00e1lises morfol\u00f3gicas, comprimento m\u00e9dio dos eixos eretos e taxa de crescimento das pl\u00e2ntulas.

2.2.7 An\u00e1lise da Morfologia e Taxa de Germinação dos Tetr\u00e1sporos

Dois pontos de amostragem foram selecionados ao acaso, das lâminas retiradas de cada tratamento e controle, para avaliar os esporos liberados. Estas foram fotografadas com o aux\u00edlio do microsc\u00f3pio Leica DM500 e do software OPTHD 3.7. Para avaliar a germinação, foram selecionados 100 tetr\u00e1sporos ao acaso, visualizados e classificados de acordo com as seguintes caracter\u00edsticas: 1) tetr\u00e1sporos germinados (com forma\u00e7\u00e3o do tubo germinativo); 2) tetr\u00e1sporos n\u00e3o germinados, mas vi\u00e1veis e 3) tetr\u00e1sporos invi\u00e1veis, com pigmenta\u00e7\u00e3o verde.

2.2.8 An\u00e1lise da Morfologia, do Comprimento M\u00e9dio e Taxa de Crescimento de Pl\u00e2ntulas e Explantes

Ap\u00f3s 20 dias de cultivo, as an\u00e1lises das caracter\u00edsticas morfol\u00f3gicas das pl\u00e2ntulas e explantes foram feitas com o aux\u00edlio do estereosc\u00f3pio Olympus SZX16, acoplado com sistema

de captura de imagens CellSens Dimension 1.12 no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB).

As plântulas foram analisadas a partir de três lâminas de cada réplica, sendo observados 30 plântulas em cada lâmina e realizadas as medidas de comprimento.

Para os explantes foram realizadas as medidas do comprimento de todos os eixos eretos nas extremidades e número de ramos desenvolvidos em cada extremidade.

A taxa de crescimento das plântulas e dos explantes foi avaliada por meio da seguinte equação:

$$TC = \left(\frac{InCf - InCi}{t} \right) \times 100$$

onde TC = taxa de crescimento; $InCi$ = comprimento inicial e $InCf$ = comprimento final; t = total de dias (ALTAMIRANO *et al.* 2003).

2.2.9 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância one-way (ANOVA) e teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote de software *Statistica* (versão 10.0) considerando $p < 0,05$.

2.3 RESULTADOS

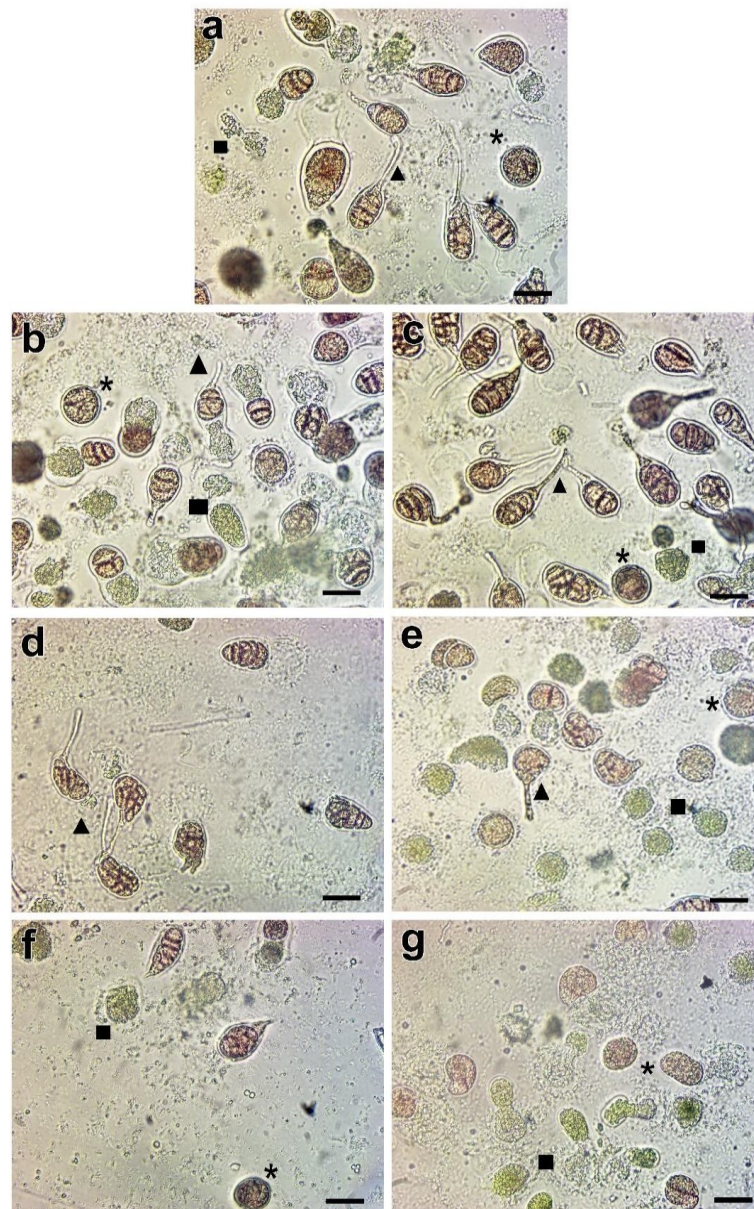
2.3.1 Morfologia e Taxa Percentual de Germinação dos Tetrásporos

Após 24 horas, foi possível observar através da microscopia de luz tetrásporos viáveis e tubo germinativo bem desenvolvido no controle e no tratamento Ca2 (Figura 4). Tanto o controle quanto Ca2, apresentaram o maior percentual médio de germinação foi de $53,3 \pm 10\%$ e $66 \pm 7\%$, respectivamente, significativamente diferente em comparação aos outros tratamentos (Figura 5).

No tratamento Ca1 também foi possível visualizar a formação do tubo germinativo (Figura 4). Esse tratamento apresentou percentual de esporos viáveis significativamente maior que o controle e Mx 1, com $37,16 \pm 8$. Não foram observadas diferenças significativas em relação aos demais tratamentos (Figura 5).

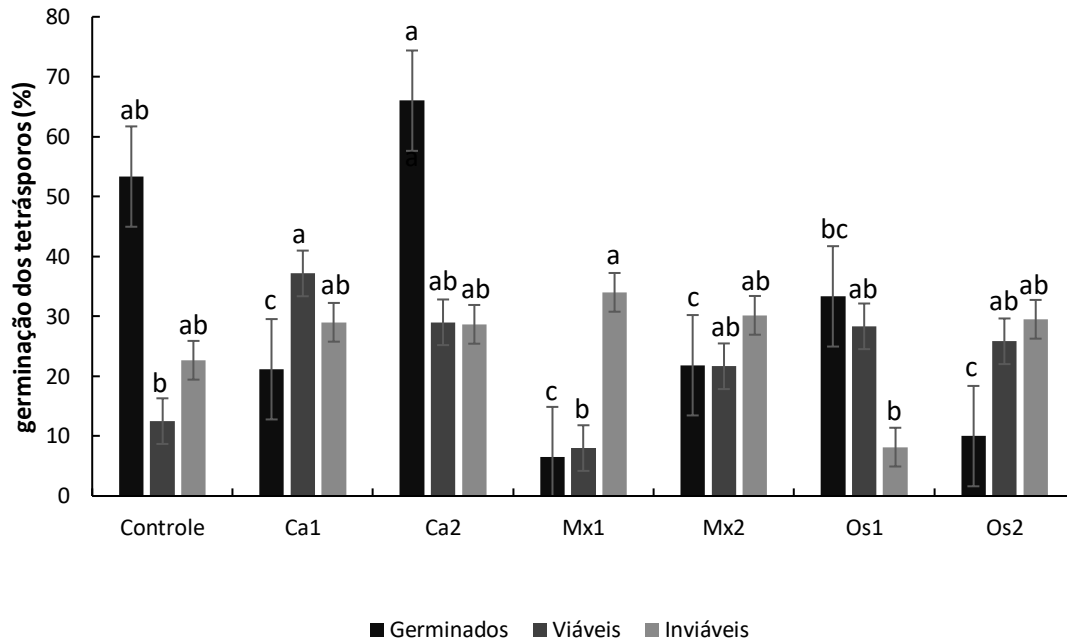
Não foram observadas diferenças significativas na porcentagem de tetrásporos inviáveis nos tratamentos em relação ao controle (Figura 5). Nos tratamentos com pó de conchas os tetrásporos apresentaram desorganização celular e atraso na formação do tubo germinativo além de pouca quantidade de esporos germinados (Figura 4).

Figura 4 - Tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 24 horas cultivados em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% e diferentes fontes de cálcio. a: Controle (sem adição de fontes de Ca); b: Ca1 (147 mg L⁻¹ de CaCl₂); c: Ca2 (295 mg L⁻¹ de CaCl₂); d: Mx1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão a); e: Mx2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão a); f: Os1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra a); g: Os2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra). Presença de tetrásporos viáveis e maior presença de tetrásporos com o tubo germinativo desenvolvido no controle (a) e em Ca2 (c). Maior quantidade de tetrásporos com o início da formação do tubo germinativo foram visualizados no tratamento Ca1 (b). Tratamentos com pó de conchas apresentaram desorganização celular e atraso na formação do tubo germinativo (d, e, f e g). Maior presença de tetrásporos inviáveis (e e g). Tratamentos com pó de conchas apresentaram poucos tetrásporos germinados. (▲) indica tubos germinativos desenvolvidos; (*) indica esporos viáveis; (■) indica esporos inviáveis. Escala: 15 µm.



Fonte: Própria autora (2019).

Figura 5- Percentual de germinação dos tetrásporos de *Gelidium floridanum* cultivados em diferentes fontes de cálcio após 24 horas. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média e as barras verticais representam o desvio padrão.

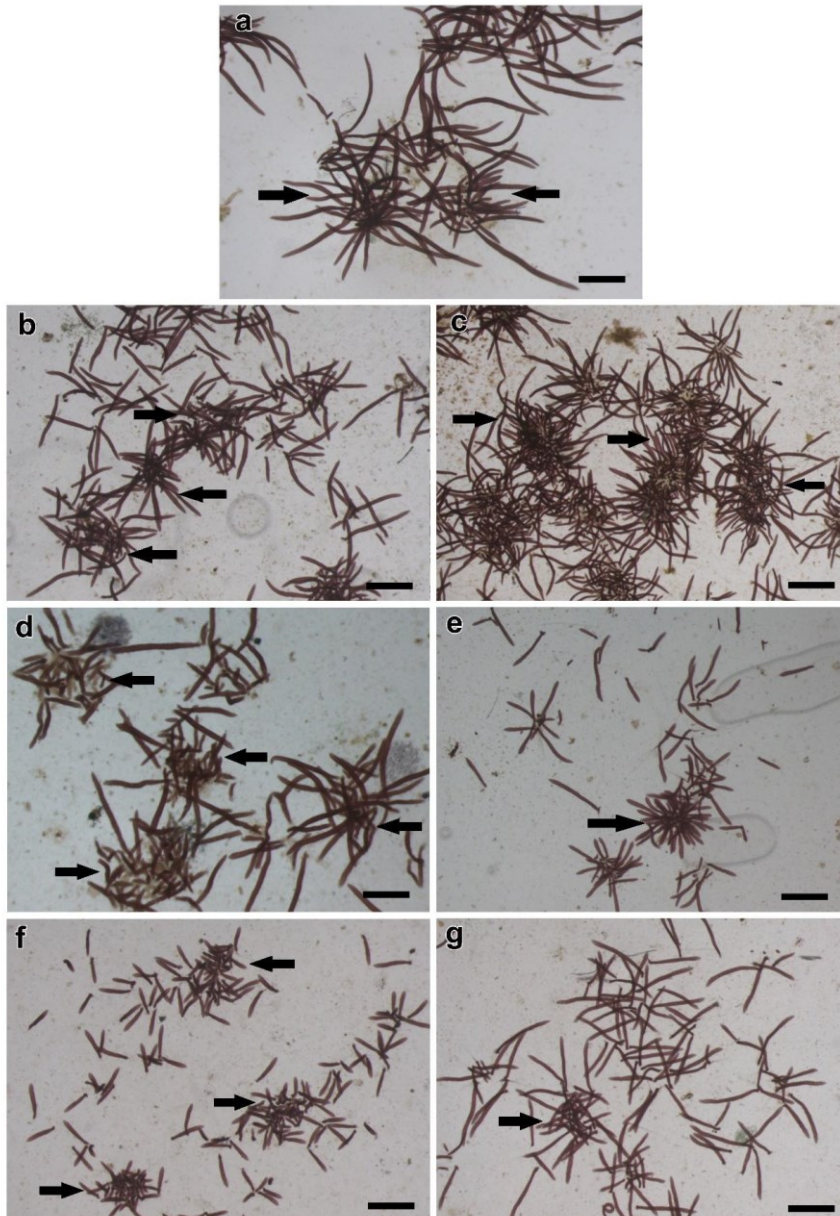


Fonte: Própria autora (2019).

2.3.2 Morfologia, Comprimento Médio e Taxa Percentual de Crescimento das Plântulas

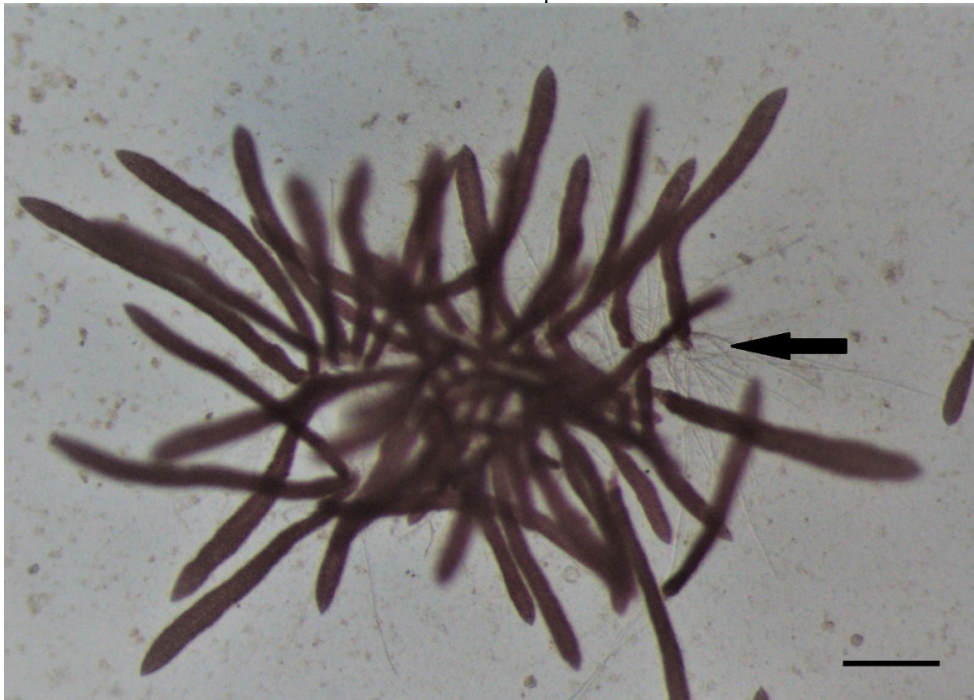
Após os 20 dias de experimento, foi visualizado formação de agrupamentos e plântulas bem desenvolvidas no controle. Foi possível observar dois padrões específicos entre as plântulas tratadas com conchas e CaCl_2 (Figura 6). O primeiro padrão é relacionado à presença de agrupamentos desorganizados com pouca densidade e ao encurtamento das plântulas, observado nos tratamentos com pó de conchas. O segundo padrão está relacionado à presença de agrupamentos organizados e ao aumento do tamanho das plântulas, observado nos tratamentos Ca1 e Ca2. Em todos os tratamentos houve a formação de rizoides (Figura 7).

Figura 6 - Plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% e diferentes fontes de cálcio. a: Controle (sem adição de fontes de Ca); b: Ca1 (147 mg L⁻¹ de CaCl₂); c: Ca2 (295 mg L⁻¹ de CaCl₂); d: Mx1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão); e: Mx2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão); f: Os1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra); g: Os2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra). As setas indicam os agrupamentos de plântulas. Controle e Ca1 com semelhanças na formação de agrupamentos e tamanho das plântulas (a e b); Ca2 formação de agrupamentos mais densos e plântulas maiores (c); formação desorganizada e menos densa de agrupamentos com desenvolvimento tardio das plântulas (d, e, f e g). Escala: 500 µm.



Fonte: Própria autora (2019).

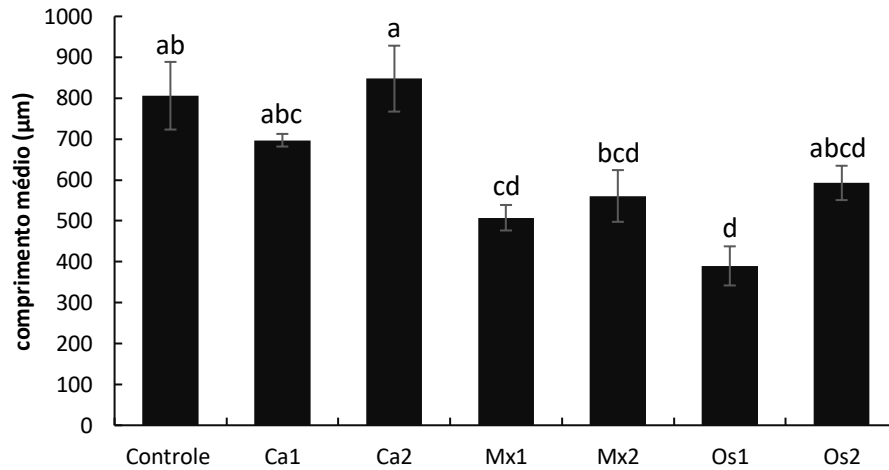
Figura 7 - Plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo. A seta mostra a formação de rizoides aderidos à lâmina após 20 dias de cultivo. Escala: 200 μm .



Fonte: Própria autora (2019).

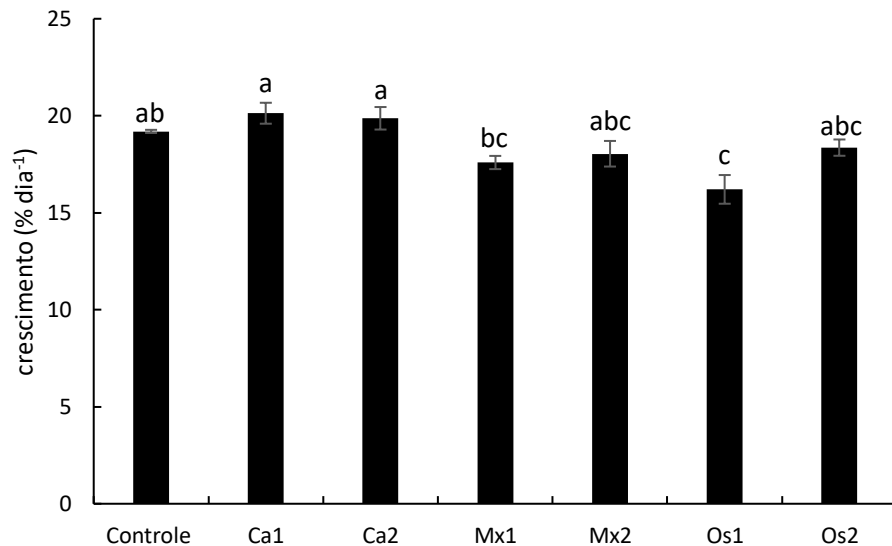
Em relação ao comprimento médio das plântulas, não houve diferença significativa entre o controle ($805,9 \pm 8 \mu\text{m}$) e os tratamentos Ca1, Ca2, Mx2 e Os2 ($697,1 \pm 1$; $847,7 \pm 8$; $560,7 \pm 6$ e $592,6 \pm 4 \mu\text{m}$, respectivamente). Os tratamentos Mx1 e Os1 tiveram as menores médias de crescimento em comparação ao controle com $507,5 \pm 3 \mu\text{m}$ e $389,7 \pm 4 \mu\text{m}$, respectivamente (Figura 8). Em relação a taxa de crescimento das plântulas, os tratamentos controle, Ca1, Ca2, Os2 e Mx2 apresentaram as maiores taxas com $19,19 \pm 0,0$; $20,13 \pm 0,5$; $19,87 \pm 0,5$; $18,36 \pm 0,4$ e $18,04 \pm 0,6\% \text{ dia}^{-1}$, respectivamente, não havendo diferenças significativas entre eles. O tratamento Os1 apresentou menor taxa de crescimento ($16,20 \pm 0,7\% \text{ dia}^{-1}$) quando comparado ao controle e aos tratamentos Ca1 e Ca2 (Figura 9).

Figura 8 - Comprimento médio das plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média (n=3) e as barras verticais representam o desvio padrão.



Fonte: Própria autora (2019).

Figura 9 - Percentual do crescimento das plântulas derivadas de tetrásporos de *Gelidium floridanum*, após 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média (n=3) e as barras verticais representam o desvio padrão.



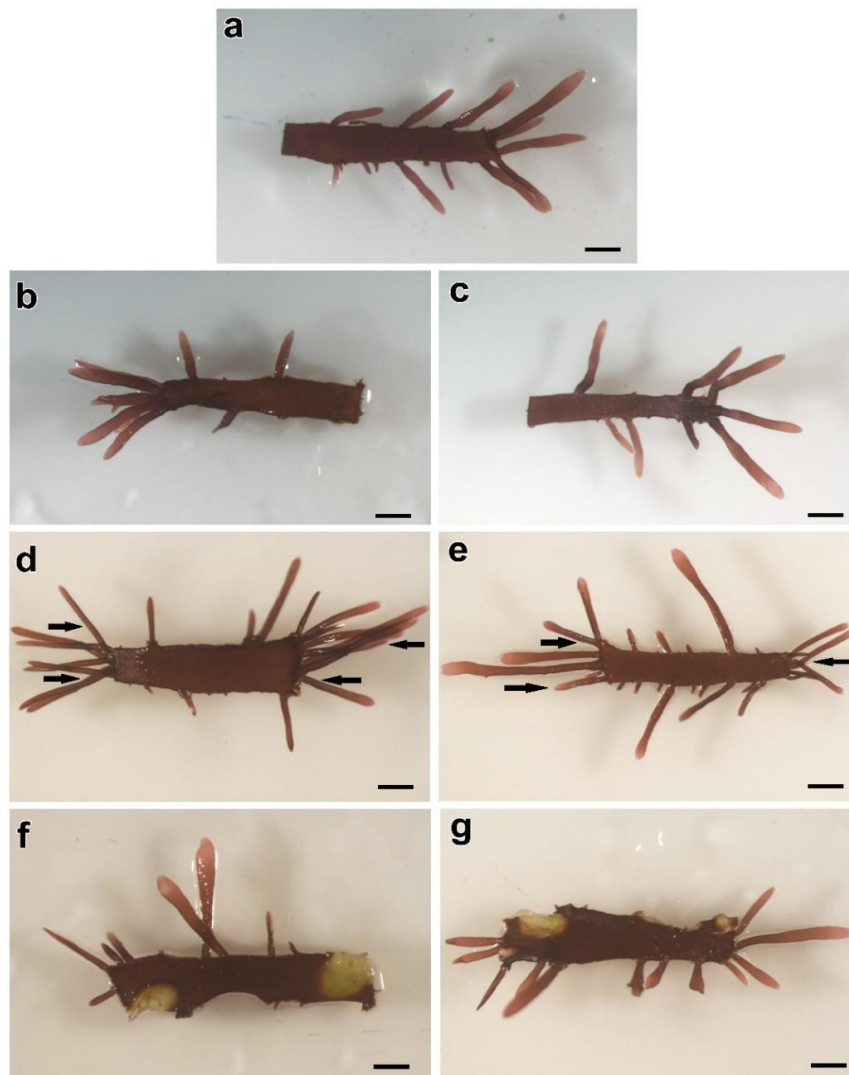
Fonte: Própria autora (2019).

2.3.3 Morfologia, Número Médio de Eixos Eretos e Taxa Percentual de Crescimento dos Explantes

Ao longo dos 20 dias do experimento, foi possível observar que os explantes do controle, Ca1 e Ca2 concentraram o crescimento dos eixos eretos em uma das extremidades. Os tratamentos Mx1 e Mx2 tiveram os eixos eretos formados nas duas extremidades e

visivelmente maiores em comparação aos outros tratamentos (Figura 10). A concentração de eixos eretos formados nas extremidades foi maior nos tratamentos Mx1 e Mx2 (Figura 10 d e e). Nos grupos tratados com pó de concha de ostra, foi observado degradação de algumas partes do talo com posterior mortes dos explantes. Devido a isso, não há resultados para Os1 e Os2 a seguir.

Figura 10 - Explantes de *Gelidium floridanum* após 20 dias de cultivo em água do mar enriquecida com solução von Stosch 50% e diferentes fontes de cálcio. a: Controle (sem adição de fontes de Ca); b: Ca1 (147 mg L⁻¹ de CaCl₂); c: Ca2 (295 mg L⁻¹ de CaCl₂); d: Mx1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão); e: Mx2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha do mexilhão); f: Os1 (252 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra); g: Os2 (336 mg L⁻¹ de pó de concha de ostra). Desenvolvimento concentrado dos eixos eretos em apenas uma das extremidades dos explantes no controle, Ca1 e Ca2 (a, b e c); presença de eixos maiores e com mais quantidade nas extremidades dos explantes Mx1 e Mx2 (d e e); degradação nos talos Os1 e Os2 (f e g). Setas mostram a maior concentração de eixos eretos formados (d e e). Escala: 1 mm.

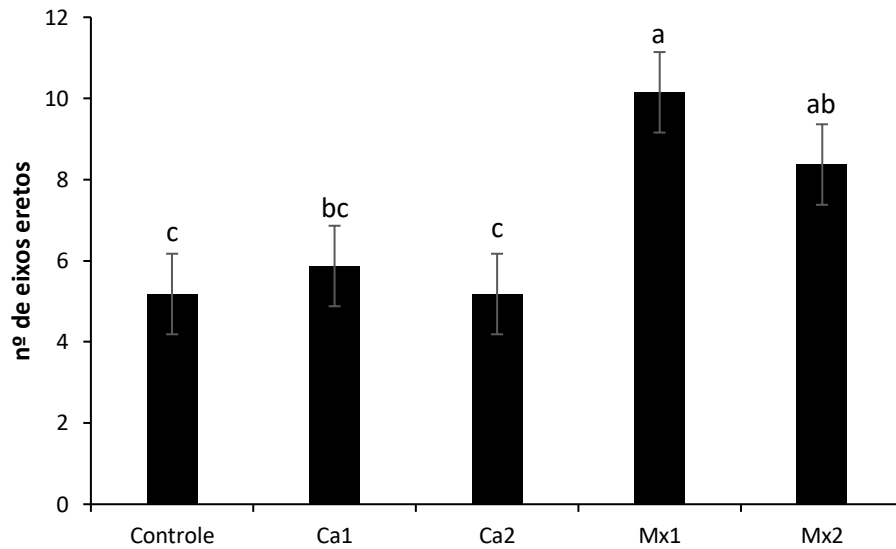


Fonte: Própria autora (2019).

Diferenças significativas foram observadas na formação de novos eixos eretos, onde a maior quantidade foi presente no tratamento Mx1 com formação média de 10,15 eixos em

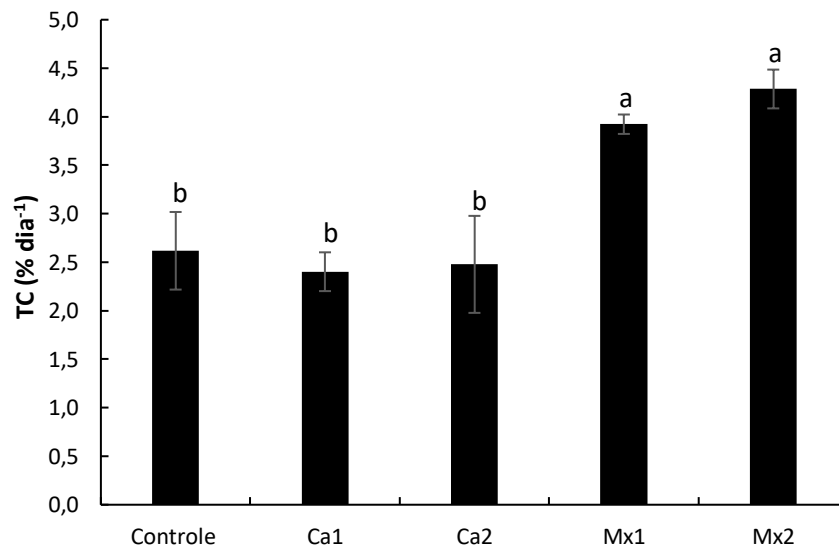
relação ao controle, Ca1 e Ca2 (Figura 11). Em relação ao percentual de crescimento dos explantes, os que foram cultivados com os tratamentos Mx1 e Mx2 apresentaram taxas percentuais de crescimento significativamente maiores em relação ao controle e aos demais tratamentos com $3,92 \pm 0,1$ e $4,29 \pm 0,2$ %dia⁻¹, respectivamente, não havendo diferença significativa entre eles (Figura 12).

Figura 11 - Número médio de eixos eretos formados nas extremidades dos explantes de *Gelidium floridanum* com 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças estatísticas. Os valores estão apresentados em média (n=4) e as barras verticais representam o desvio padrão.



Fonte: Própria autora (2019).

Figura 12 - Taxa de crescimento dos explantes de *Gelidium floridanum* com 20 dias de cultivo em diferentes fontes de cálcio. As letras indicam as diferenças significativas. Os valores estão apresentados em média (n=4) e as barras verticais representam o desvio padrão.



Fonte: Própria autora (2019).

2.4 DISCUSSÃO

Para a germinação dos tetrásporos de *Gelidium floridanum* a adição de CaCl_2 não apresentou melhora no desenvolvimento, pois não houve diferença significativa em comparação ao controle. Este resultado difere do observado por Bouvie (2018) onde o percentual dos tetrásporos tratados com 2 mM de CaCl_2 apresentou melhor taxa de germinação em comparação ao grupo controle. Segundo a autora, os grupos tratados com CaCl_2 tiveram a formação do tubo germinativo favorecida, ocorrendo em apenas 4 horas de cultivo em comparação ao grupo controle.

A utilização de pó de conchas obteve a menor taxa de germinação em comparação ao controle. Estes tetrásporos apresentaram formação de tubo germinativo limitada ou tardia, além de poucos tetrásporos viáveis e desorganização celular. Os tratamentos com pó de conchas de ostras, também não resultaram em um bom desenvolvimento dos tetrásporos. Estes apresentaram tubos germinativos menos desenvolvidos e poucos tetrásporos viáveis foram encontrados. Alguns iniciaram a germinação, mas morreram durante o processo. A presença de uma massa esverdeada indicou a morte precoce de mais tetrásporos além dos que foram contabilizados. Estima-se que a presença dessa massa esverdeada seja proveniente de tetrásporos que não se aderiram, morrendo e se desintegrando, sobrando poucos inteiros para a contagem. É possível que, mesmo após a filtragem, as soluções com pós continham micropartículas que se depositaram nas lâminas dificultando a adesão dos tetrásporos, causando a inviabilidade destes e sua consequente degradação. Devido a concha de ostra ter em sua composição como elemento principal a calcita, que possui uma estrutura menos organizada e ligações frágeis, o pó se tornou mais fino, o que pode ter influenciado na formação de uma película mais densa sobre as lâminas, em comparação ao tratamento com pó de concha de mexilhão. Foi visível a diferença na morfologia de tetrásporos entre os tratamentos com pó de concha de ostra e mexilhão.

Após os 20 dias de cultivo, a morfologia das plântulas apresentou melhor desenvolvimento no tratamento Ca2 com formação de densos agrupamentos de plântulas em comparação ao controle. As plântulas do tratamento Ca1 e controle foram semelhantes na formação e densidade desses agrupamentos. O comprimento médio e taxa percentual de crescimento não apresentaram diferenças significativas. Nos tratamentos onde foram utilizados o pó de conchas, as plântulas apresentaram agrupamentos menores e desorganizados com densidade bem menor ao comparado ao controle, além de encurtamento das plântulas em Os1, Mx1 e Mx2. Estes resultados são consequência do que ocorreu na primeira fase de

desenvolvimento dos seus respectivos tetrásporos, confirmando a importância de uma superfície adequada para a adesão destes. Com relação ao comprimento médio, os tratamentos Mx1 e Os1 apresentaram valores menores ao serem comparados ao controle. Sobre a taxa percentual de crescimento das plântulas, apenas o tratamento Os1 obteve valor inferior ao controle. Apesar das diferenças morfológicas entre os tratamentos com CaCl₂ e pó de concha, em todos os tratamentos houve a formação de rizoides nas lâminas de vidro. O mesmo foi observado por Otaíza & Fonseca (2011), com *Chondracanthus chamissoi* que produziu SAS em lâminas de vidro e placas de cerâmica.

Nos explantes, os tratamentos Mx1 e Mx2 tiveram as melhores taxas de comprimento médio e percentual de crescimento. No tratamento Mx1 foi observada a melhor média em ramos formados em comparação ao controle. Uma característica observada na morfologia em todos os tratamentos, foi a formação de novos eixos eretos que ocorreram nas regiões seccionadas. Essa formação começou a ser visualizada na primeira semana de cultivo. O controle, Ca1 e Ca2 concentraram o desenvolvimento de eixos eretos em uma das extremidades do explantes. Nos tratamentos Mx1 e Mx2, foi observado desenvolvimento de eixos eretos nas duas extremidades do explante. Para que haja a organização e formação dos eixos eretos nos explantes, como resultado da injúria, inicialmente ocorre a formação de uma camada de células na região (ZITTA *et al.* 2013). Isso pôde ser visto em toda a região onde o explante sofreu injúria, não somente em suas extremidades, mas também por todo o talo.

O maior aporte de cálcio na água dos tratamentos Mx1 e Mx2 pode ter contribuído na formação de cristais de oxalato de cálcio nos talos seccionados. Relatos da presença de oxalato de cálcio foram feitos pela primeira vez em algas vermelhas por Klein (1877), que observou cristais piramidais e octaédricos presentes em *Spyridia filamentosa*, *S. hypnoides* e *S. aculeata* e, posteriormente, em outras algas vermelhas como espécies de *Antithamnion* (PUESCHEL, 1995; PUESCHEL & WEST, 2007a). Pueschel & West (2007b) observaram que em talos da alga vermelha *S. filamentosa* cultivados com 1,0 mM e 2,5 mM de cloreto de cálcio, houve pouco depósito de cristais de oxalato, mas quando foram tratados com concentrações mais altas (20 mM), os cristais se formaram rapidamente e deram origem a maior quantidade de ramos formados. Isto pode explicar o motivo do melhor desenvolvimento dos eixos eretos nos explantes tratados com pó de concha de mexilhão. De acordo com a Tabela 1, a concentração de cálcio nestes tratamentos foi mais alta em comparação aos de cloreto de cálcio e ao pó de conchas de ostras. Atualmente, estudos sobre a presença desses cristais são escassos e ainda não há relatos em espécies de *Gelidium*. Os efeitos do suprimento de cálcio e a presença desses

cristais devem ser verificados para o melhor entendimento do desenvolvimento das espécies de *Gelidium*.

Em Santa Catarina, a produção de mexilhão é superior produção de ostra do Pacífico, além de ser um produto mais barato, sendo vendido por quilo, ao contrário da ostra que é mais cara e é vendida a dúzia (EPAGRI, 2017). Devido a esses fatores, a quantidade de resíduos proveniente do consumo do mexilhão *Perna perna* cultivado é maior. Estes resíduos podem ser adquiridos gratuitamente e não precisam passar por processo químico durante a transformação em pó, já que não passa por pirólise (SILVA *et al.* 2010).

Além disso, a macroalga *Gelidium* apresenta um crescimento lento e a obtenção de plantas a partir de tetrásporos para cultivo demanda tempo. A utilização de talos fragmentados para iniciar culturas tem uma importância econômica considerável. O conhecimento do processo de propagação através de regeneração, permite uma melhor interpretação dos padrões de dispersão, processo reprodutivo e ciclo de vida da alga (SANTELICES, 1991).

Sabendo que o *Gelidium floridanum* se desenvolve melhor entre final da primavera, estendendo-se até o início do outono (FREILE-PELEGRÍN *et al.* 1995), a fragmentação de seus talos nesse período, em conjunto com a adição de uma fonte de cálcio pode ser de grande importância para técnicas de cultivo.

2.5 CONCLUSÃO

O CaCl₂ promove melhor desenvolvimento às plântulas, porém no presente trabalho, não foi observado melhora na germinação dos tetrásporos *Gelidium floridanum*. Em relação aos explantes, o pó da concha de mexilhão promoveu o melhor desenvolvimento dos cultivos.

Assim, recomenda-se utilizar a água do mar enriquecida com pó de concha de *Perna perna* na concentração de 252 mg L⁻¹.

REFERÊNCIAS

AKEN, M. E.; GRIFFIN, N. J.; ROBERTSON, B. L. Cultivation of the superior quality agarophyte *Gelidium pristoides* in Algoa bay South-Africa. **Hydrobiologia**, v. 268, p: 169-178, 1993.

ALTAMIRANO, M.; FLORES-MOYA, F.; KUHLENKAMP, R.; FIGUEROA, F. L. Stage-dependent sensitivity to ultraviolet radiation in zygotes of the brown alga *Fucus serratus*. *Zygote*, v.11, p: 101–106, 2003.

ARANA, L. V.; VIEIRA, P. Modos de apropriação e gestão patrimonial de recursos costeiros: o caso do cultivo de moluscos na baía de Florianópolis, Santa Catarina. **Boletim Instituto da Pesca**, v. 31, n. 2, p: 147– 154, 2005.

ARMISÉN, R. Agar and agarose biotechnological applications. **Hydrobiologia**, v. 221, p: 157-166, 1991.

BOULUS, A.; SPANEIR, E.; FRIEDLANDER, M. Effect of outdoor conditions on growth rate and chemical composition of *Gelidium crinale* in culture. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, p: 471-478, 2007.

BOUVIE, F. **Efeitos do cálcio extracelular na germinação de *Gelidium floridanum***. 2018. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento). UFSC, Florianópolis. 2018.

BRUZINGA, C. P.; SAMPAIO, L. S. O.; ABRAHÃO, R. M.; MAGALHÃES, A. R. M. Presença da macroalga do gênero *Gracilaria* na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé, Florianópolis/SC. In: ZUFFO, A. M. (ed.). **Aquicultura e Pesca: Adversidades e Resultados**. Atena Editora, Belo Horizonte, 2019. p: 82-94.

BULBOA, C. R.; MACCHIAVELLO, J. E.; OLIVEIRA, E. C.; FONCK, E. First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützinger (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. **Aquaculture Research**, v. 36, p: 1069-1074, 2005.

CALLAWAY, E. Lab staple agar hit by seaweed shortage. **Nature**, v. 528, n. 7581, p: 171-172, 2015.

CHIERIGHINI, D.; BRIDI, R.; DA ROCHA, A. A.; LAPA, K. R. Possibilidades do uso das conchas de moluscos. In: 3rd INTERNATIONAL WORKSHOP | ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION. 2011, São Paulo. p: 1 – 5.

CUNHA, C. M.; PADUA, V.; MAGALHÃES, A. R. M.; FERREIRA, F. M.; FERREIRA, J. F. Moluscos. In: LINDNER, A (ed.). **Vida marinha de Santa Catarina**. Editora ufsc, Florianópolis, 2016. p: 38 – 51.

DERKSEN, J.; RUTTEN, T.; AMSTEL, T.V.; WIN, A.; DORIS, F.; STEER, M. Regulation of pollen tube growth. **Acta Botanica Neerlandica**. v. 44, p: 93-119, 1995.

DIXON, P. S. The structure and development of the reproductive organs and carposporophyte in two British species of *Gelidium* and *Pterocladia*. **Annals of Botany**, v. 23, n. 91, p: 397-407, 1958.

EPAGRI, 2017. **Síntese Informativa da Maricultura 2017**. Florianópolis, Brasil.

FAO, 2018. **The state of world fisheries and aquaculture 2018**. Rome, Italy.

FEI, X. G.; HUANG, L. J. Artificial sporeling and field cultivation of *Gelidium* in China. **Hydrobiologia**, n. 221, p: 119-124, 1991.

FONCK, E.; MARTÍNEZ, R.; VÁSQUEZ, J.; BULBOA, C. Factors that affect the reattachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, p: 311-314, 2008.

FREILE-PELEGRÍN, Y.; ROBLEDO, D. R.; GARCFA-REINA, G. Seasonal agar yield and quality in *Gelidium canariensis* (Grunow) Seoane-Camba (Gelidiales, Rhodophyta) from Gran Canaria, Spain. **Journal of Applied Phycology**, v. 7, p: 141-144, 1995.

FRIEDLANDER, M. Advances in cultivation of Gelidiales. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 5, 1–6, 2007.

FRIEDLANDER, M.; LIPKIN, Y. 1982. Rearing of agarophytes and carragenophytes under field conditions in Eastern Mediterranean. **Botanica Marina**, v. 25, p: 101-105, 1982.

FREDRIKSEN, S.; RUENESS, J. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. **Botanica Marina**, v. 32, n. 6, p: 539-546, 1989.

HANSEN, J. E. Physiological considerations in the mariculture of red algae. *In*: ABBOTT, I. A.; FOSTER, M. S.; EKLUND, L. (eds.). **Pacific Seaweed Aquaculture**. California Sea Grant College Program, La Jolla, 80-91. 1980.

HAWKES, M. W. Reproductive strategies. *In*: COLE, K. M & SHEATH R. G. (eds.). **Biology of the red algae**, Cambridge University Press, Cambridge, 1990. p: 455-476.

van den HOEK, C.; ADMIRAAL, W.; COLIJN, F.; JONGE, V.N. The role of algae and seagrasses in the ecosystem of the Wadden Sea: a review. *In*: WOLFF, W. J. (ed.). **Flora and vegetation of the Wadden Sea**, Balkema, Rotterdam, 1979. p: 9–31.

HÖNISCH, B.; RIDGWELL, A.; SCHMIDT, D. N.; THOMAS, E.; GIBBS, S. J.; SLUIJS, A.; ZEEBE, R.; KUMP, L.; MARTINDALE, R. C.; GREENE, S. E.; KIESSLING, W.; RIES, J.; ZACHOS, J. C.; ROYER, D. L.; BARKER, S.; MARCHITTO, T.M.; MOYER, R.; PELEJERO, C.; ZIVERI, P.; FOSTER, G. L.; WILLIAMS, B. The geological record of ocean acidification. **Science**, v. 335, p: 1058, 2012.

JUANES, J. A.; PUENTE, A. Differential reattachment capacity of isomorphic life history phases of *Gelidium sesquipedale*. **Hydrobiology**, v. 260, p: 139-144, 1993.

KLEIN, J. Algologische Mittheilungen. **Flora**, v. 60, p: 315–319, 1877.

KWON, H. B.; LEE, C. W.; JUN, B. S.; YUN, J.; WEON, S. Y.; KOOPMAN, B. Recycling waste oyster shells for eutrophication control. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 41, n. 1, p: 75-82, 2004.

LI, L.; SAGA, N.; MIKAMI, K. Ca²⁺ influx and phosphoinositide signalling are essential for the establishment and maintenance of cell polarity in monospores from the red alga *Porphyra yezoensis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 12, p: 3477–3489, 2009.

MACCHIAVELLO, J.; BULBOA, C.; EDDING, M. Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales: Rhodophyta) in Northern Chile. **Phycological Research**, v. 51, p: 45-50, 2003.

MCLACHLAN, J. Growth media - Marine. *In*: STEIN, J. R. (ed.). **Culture methods and growth measurements**. Handbook of phycological methods. Cambridge University Press, Cambridge, 1973. p 27–51.

MELO, R. A. *Gelidium* commercial exploitation: Natural resources and cultivation. **Journal of Applied Phycology**, v. 10, p: 303–314, 1998.

MELO, R. A. Exploração dos recursos algológicos em Portugal. *In*: MARTINS-LOUÇÃO, M. A. (coord.). **Fragmentos em Ecologia**. FCUL-Livraria Escolar Editora, 2002. p: 45-65.

MCHUGH, D. J. Worldwide distribution of commercial resources of seaweeds including *Gelidium*. **Hydrobiologia**, v. 221, p: 19-29, 1991.

OTAÍZA, R. D.; FONSECA, F. G. Effect of dissolved calcium on the formation of secondary attachment structures in different types of branches of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). **Biología Marina y Oceanografía**, v. 46, n. 2, p: 263-268, 2011.

OTAÍZA, R. D.; RODRÍGUEZ, C. Y.; CÁCERES, J. H.; SANHUEZA, A. G. Fragmentation of thalli and secondary attachment of fragments of the agarophyte *Gelidium lingulatum* (Rhodophyta, Gelidiales). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 3, p: 1921-1931, 2018.

PEREIRA, R.; YARISH, C. Mass production of marine macroalgae. **Ecological engineering**, v. 3, p: 2236-2247, 2008.

POLI, C. R. Aquicultura: experiências brasileiras. *In*: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). **Produtividade aquática em aquicultura**. Multifatorial Editora, Florianópolis, 2004. p: 76-92.

PORSE, H.; RODOLPH, B. The seaweed hydrocolloid industry: 2016 updates, requirements, and outlook. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 5, p: 2187-2200, 2017.

PUESCHEL, C. M. Calcium oxalate crystals in the red alga *Antithamnion kylinii* (Ceramiales): cytoplasmic and limited to indeterminate axes. **Protoplasma**, v. 189, p: 73–80, 1995.

PUESCHEL, C. M.; WEST, J. A. Effects of ambient calcium concentration on the deposition of calcium oxalate crystals in *Antithamnion* (Ceramiales, Rhodophyta). **Phycologia**, v. 46, p: 371–379, 2007a.

PUESCHEL, C. M.; WEST, J. A. Calcium oxalate crystals in the marine red alga *Spyridia filamentosa* (Ceramiales; Rhodophyta). **Phycologia**, v. 26, n. 5, p: 565-571, 2007b.

ROBINSON, K. Calcium and the photopolarization of *Pelvetia* zygotes. **Planta**, v. 198, p: 378–384, 1996.

ROJAS, R.; LEON, N. M.; ROJAS, R. O. Practical and descriptive techniques for *Gelidium rex* (Gelidiales, Rhodophyta) culture. **Hydrobiologia**, v. 326, p: 367–370, 1996.

SÁEZ, F.; MACCHIAVELLO, J.; FONCK, E.; BULBOA, C. The role of the secondary attachment discs in the vegetative propagation of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales: Rhodophyta). **Aquatic Botany**, v. 89, p: 63-65, 2008.

SALINAS, J. M. Spray system for reattachment of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Bom. efThur. (Gelidiales: Rhodophyta). **Hydrobiology**, v. 221, p: 107-117, 1991.

SANTELICES, B. Nota sobre cultivo masivo de algunas especies de Gelidiales (Rhodophyta). **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 16, p: 27-33, 1976.

SANTELICES, B. Métodos alternativos para la propagación y el cultivo de *Gelidium* en Chile Central. In: VERRETH, J. A. J.; CARRILLO, M.; ZANUY, S.; HUISMAN, E.A. (eds.). **Investigación Acuícola en América Latina**. PUDOC, Wageningen, p: 349–366. 1987.

SANTELICES, B. Production ecology of *Gelidium*. **Hydrobiologia**, v. 221, p: 31-44, 1991.

SANTELICES, B.; VARELA, D. Abiotic control of reattachment in *Gelidium chilense* (Montagne) Santelices & Montalva (Gelidiales: Rhodophyta) **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 177, p: 145-155, 1994.

SANTOS, R. Frond dynamics of the commercial seaweed *Gelidium sesquipedale*: effects of size and of frond history. **Marine Ecology Progress Series**, v. 107, p: 295-305, 1994.

SANTOS, R.; MELO, R. A. Global shortage of technical agars: back to basics (resource management). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p: 2463- 2473, 2018.

SANTOS, N. E. S.; SILVA, T. E. P.; SILVA, J. J.; DUARTE, M. M. M. B. Avaliação do uso de concha de marisco como adsorvente para remoção de corante reativo azul turquesa QG. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. 2014, Florianópolis. p: 8998 – 9005.

SEOANE-CAMBA, J. A. *Gelidium sesquipedale* cultivation in Galicia (Spain). **Lagascalia**, v. 19, p:179–186, 1997.

SILVA, D.; DEBACHER, N. A.; CASTILHOS-JUNIOR, A. B.; ROHERS, F. Caracterização físico-química e microestrutural de conchas de moluscos bivalves provenientes de cultivos da região litorânea da ilha de Santa Catarina. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p: 1053-1058, 2010.

SIMIONI, C.; SCHMIDT, E. C; ROVER, T.; SANTOS, R.; FILIPIN, E. P.; PEREIRA, D. T.; COSTA, G. B.; OLIVEIRA, E. R.; FUNGYI, C.; RAMLOV, F.; OURIQUES, L.; MARASCHIN, M.; BOUZON, Z. L. Effects of cadmium metal on young gametophytes of *Gelidium floridanum*: metabolic and morphological changes. **Protoplasma**, v. 252, n. 5, p: 1347–1359, 2015.

SOSA, P. A.; GOMEZ- PINCHETTI, J. L.; JUANES, J. A. The seaweed resources of Spain. *In: CRITCHLEY, A. T.; OHNO, M.; LARGO, D. B. (eds.). DVD ROM. World Seaweed Resources. An authoritative reference system. ETI Information, Amsterdam, ISBN: 90 75000 80 4*

UCEDO, R.M. Uso do efluente de bioflocos na manutenção da macroalga *Kappaphycus alvarezii* em laboratório e seu desenvolvimento no mar. 2019. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). UFSC, Florianópolis. 2019

YOKOYA, N. S.; HANDRO, W. Thallus regeneration and growth induced by plant growth regulators and light intensity in *Grateloupia dichotoma* (Rhodophyta). *In: KITAMURA, T. (ed.). Proceedings of International Symposium on New Technologies from Marine-Sphere. Agency of Industrial Science and Technology (AIST/MITI) and New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO), Takamatsu. p: 83-86. 1997.*

ZITTA, C. S.; ROVER, T.; HAYASHI, L.; BOUZON, Z. L. Callus ontogeny of the *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) brown tetrasporophyte strain. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, p: 615-629, 2013.

ZHOU, W.; SUI, Z.; WANG, J.; HU, Y.; KANG, K.H.; HONG, H.R; NIAZ, Z.; WEI, H.; DU,Q.; PENG, C.; MI, P.; QUE, Z. Effects of sodium bicarbonate concentration on growth, photosynthesis, and carbonic anhydrase activity of macroalgae *Gracilariopsis lemaneiformis*, *Gracilaria vermiculophylla*, and *Gracilaria chouae* (Gracilariales, Rhodophyta). **Photosynthesis Research**, v. 128, n. 3, p: 259–270, 2016.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

AKEN, M. E.; GRIFFIN, N. J.; ROBERTSON, B. L. Cultivation of the superior quality agarophyte *Gelidium pristoides* in Algoa bay South-Africa. **Hydrobiologia**, v. 268, p: 169-178, 1993.

ARANA, L. V.; VIEIRA, P. Modos de apropriação e gestão patrimonial de recursos costeiros: o caso do cultivo de moluscos na baía de Florianópolis, Santa Catarina. **Boletim Instituto da Pesca**, v. 31, n. 2, p: 147– 154, 2005.

BOUVIE, F. **Efeitos do cálcio extracelular na germinação de *Gelidium floridanum***. 2018. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento). UFSC, Florianópolis. 2018.

BOUZON, Z. L.; OURIQUES, L. C.; OLIVEIRA, E. C. 2005. Ultrastructure of tetraspore germination in the agar-producing seaweed *Gelidium floridanum* (Gelidiales, Rhodophyta). **Phycologia**, v. 44, p: 409–415, 2005.

BOUZON, Z. L.; OURIQUES, L. C.; OLIVEIRA, E. C. Spore adhesion and cell wall formation in *Gelidium floridanum* (Rhodophyta, Gelidiales). **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 3–5, p: 287–294, 2006.

CALLAWAY, E. Lab staple agar hit by seaweed shortage. **Nature**, v. 528, n. 7581, p: 171-172, 2015.

CHIERIGHINI, D.; BRIDI, R.; DA ROCHA, A. A.; LAPA, K. R. Possibilidades do uso das conchas de moluscos. *In*: 3rd INTERNATIONAL WORKSHOP | ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION. 2011, São Paulo. p: 1 – 5.

DERKSEN, J.; RUTTEN, T.; AMSTEL, T.V.; WIN, A.; DORIS, F.; STEER, M. Regulation of pollen tube growth. **Acta Botanica Neerlandica**. v. 44, p: 93-119, 1995.

EPAGRI, 2017. **Síntese Informativa da Maricultura 2017**. Florianópolis, Brasil.

FAO, 2018. **The state of world fisheries and aquaculture 2018**. Rome, Italy.

FEI, X. G.; HUANG, L. J. Artificial sporeling and field cultivation of *Gelidium* in China. **Hydrobiologia**, n. 221, p: 119-124, 1991.

FERARU, E.; FERARU, M.; KLEINE-VEHN, J.; MARTINIERE, A.; MOUILLE, G.; VANNESTE, S.; VERNHETTES, S.; RUNIONS, J.; FRIML, J. P. Polarity maintenance by the cell wall in *Arabidopsis*. **Current Biology**, v. 21, p: 338-343, 2011.

FREDRIKSEN, S.; RUENESS, J. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. **Botanica Marina**, v. 32, n. 6, p: 539-546, 1989.

- HANSEN, J. E. Physiological considerations in the mariculture of red algae. *In*: ABBOTT, I. A.; FOSTER, M. S.; EKLUND, L. (eds.). **Pacific Seaweed Aquaculture**. California Sea Grant College Program, La Jolla, 80-91. 1980.
- HABLE, W. E.; HART, P. E. Signaling Mechanisms in the Establishment of Plant and Fucoid Algal Polarity. **Molecular Reproduction & Development**, v. 77, p: 751–758, 2010.
- van den HOEK, C.; ADMIRAAL, W.; COLIJN, F.; JONGE, V. N. The role of algae and seagrasses in the ecosystem of the Wadden Sea: a review. *In*: WOLFF, W. J. (ed.). **Flora and vegetation of the Wadden Sea, Balkema**, Rotterdam, 1979. p: 9–31.
- LEE, W. K.; LIM, Y. Y.; LEOW, A. T. C.; NAMASIVAYAM, P.; ABDULLAH, J. O.; HO, C. L. Biosynthesis of agar in red seaweeds: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 169, p: 533, 2017.
- LI, L.; SAGA, N.; MIKAMI, K. Ca^{2+} influx and phosphoinositide signalling are essential for the establishment and maintenance of cell polarity in monospores from the red alga *Porphyra yezoensis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 12, p: 3477–3489, 2009.
- MAIRH, O. P.; SREENIVASA RAO, P. Culture studies on *Gelidium pusillum* (Stackh.) Le Jollis. **Botanica marina**, v. 21, p: 169-174, 1978.
- MARINHO-SORIANO, E.; BOURRET, E. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta). **Bioresour Technology**, v. 90, n. 3, p: 329-333, 2003.
- MCHUGH, D. J. Worldwide distribution of commercial resources of seaweeds including *Gelidium*. **Hydrobiologia**, v. 221, p: 19-29, 1991.
- MELO, R. A. Exploração dos recursos algológicos em Portugal. *In*: MARTINS-LOUÇÃO, M. A. (coord.). **Fragmentos em Ecologia**. FCUL-Livraria Escolar Editora, 2002. p: 45-65.
- MELO, R. A.; HARGER, B.W.W.; NEUSHUL, M. *Gelidium* cultivation in the sea. **Hydrobiologia**, v. 221, p: 91-106, 1991.
- OLIVEIRA, E. C. **Introdução à biologia vegetal**. 2ª ed. vol. 7. Editora da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2003.
- OTAÍZA, R. D.; FONSECA, F. G. Effect of dissolved calcium on the formation of secondary attachment structures in different types of branches of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). **Biología Marina y Oceanografía**, v. 46, n. 2, p: 263-268, 2011.
- OTAÍZA, R. D.; RODRÍGUEZ, C. Y.; CÁCERES, J. H.; SANHUEZA, A. G. Fragmentation of thalli and secondary attachment of fragments of the agarophyte *Gelidium lingulatum* (Rhodophyta, Gelidiales). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 3, p: 1921-1931, 2018.
- PARIONA, E. I.; GIL-KODAKA, P. Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. **Anales Científicos**, v. 72, n. 1, p: 19-26, 2011. DOI: 10.21704/ac.v76i2.854

PEREIRA, L.; GHEDA, S. F.; RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Analysis by vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides with potential use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 2013, p: 1-7, 2013.

PEREIRA, R.; YARISH, C. Mass production of marine macroalgae. **Ecological engineering**, v. 3, p: 2236-2247, 2008.

PORSE, H.; RODOLPH, B. The seaweed hydrocolloid industry: 2016 updates, requirements, and outlook. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 5, p: 2187-2200, 2017.

RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer International**, v. 57, p: 397-430, 2008.

ROBINSON, K. Calcium and the photopolarization of *Pelvetia* zygotes. **Planta**, v. 198, p: 378–384, 1996.

SANTELICES, B. Nota sobre cultivo masivo de algunas especies de Gelidiales (Rhodophyta). **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 16, p: 27-33, 1976.

SANTELICES, B. Métodos alternativos para la propagación y el cultivo de *Gelidium* en Chile Central. In: VERRETH, J. A. J.; CARRILLO, M.; ZANUY, S.; HUISMAN, E.A. (eds.). **Investigación Acuícola en América Latina**. PUDOC, Wageningen, p: 349–366. 1987.

SANTELICES, B. & STEWART, J. G. Pacific species of *Gelidium* Lamouroux and other Gelidiales (Rhodophyta), with keys and descriptions to the common or economically important species. In: ABBOTT, I. A & NORRIS, J. N (eds.). **Taxon Econ seaweeds with Ref to some Pacific Carinnean species**. California Sea Grant College Program, University of California, 1985. p: 17–31.

SANTOS, F. T. **Influência da radiação UVB no desenvolvimento de plântulas de *Gelidium floridanum* (RHODOPHYTA)**. 2009. Monografia (Graduação em Biologia). UFSC, Florianópolis. 2009.

SANTOS, R.; MELO, R. A. Global shortage of technical agars: back to basics (resource management). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p: 2463- 2473, 2018.

SANTOS, N. E. S.; SILVA, T. E. P.; SILVA, J. J.; DUARTE, M. M. M. B. Avaliação do uso de concha de marisco como adsorvente para remoção de corante reativo azul turquesa QG. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. 2014, Florianópolis. p: 8998 – 9005.

SCARIOT, L. A.; ROVER, T.; ZITTA, C. S.; HORTA, P. A.; OLIVEIRA, E. C.; BOUZON, Z. L. Effects of UV-B radiation on *Gelidium floridanum* (Rhodophyta, Gelidiales): germination of tetraspores and early sporeling development. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 2, p: 537-544, 2012.

SILVA, D.; DEBACHER, N. A.; CASTILHOS-JUNIOR, A. B.; ROHERS, F. Caracterização físico-química e microestrutural de conchas de moluscos bivalves

provenientes de cultivos da região litorânea da ilha de Santa Catarina. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p: 1053-1058, 2010.

SIMIONI, C.; SCHMIDT, E. C; ROVER, T.; SANTOS, R.; FILIPIN, E. P.; PEREIRA, D. T.; COSTA, G. B.; OLIVEIRA, E. R.; FUNGYI, C.; RAMLOV, F.; OURIQUES, L.; MARASCHIN, M.; BOUZON, Z. L. Effects of cadmium metal on young gametophytes of *Gelidium floridanum*: metabolic and morphological changes. **Protoplasma**, v. 252, n. 5, p: 1347–1359, 2015.

SUPLICY, F. M.; VIANNA, L. F. N.; RUPP, G. S.; NOVAES, A. L. T.; GARBOSSA, L.H.P.; SOUZA, R.V.; GUZENSKI, J.; COSTA, S. W.; SILVA, F. M.; SANTOS, A. A. Planejamento e gestão para o desenvolvimento sustentável da aquicultura costeira no Estado de Santa Catarina, sul do Brasil. *Reviews in Aquaculture*, v. 9, n. 2, p: 107-124, 2017.

TAYLOR, W. R. **Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas**. The University of Michigan Press, Ann Arbor, 1960. p: 1-870.

VASCONCELOS, A. G.; ARAÚJO, K. V.; SANTANA, L. A. B. Polissacarídeos extraídos de algas marinhas e suas aplicações biotecnológicas: uma revisão. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, v. 5, n. 3, p: 27-51, 2015. <https://doi.org/10.18816/r-bits.v5i3.5898>

VEERAGURUNATHAN, V.; VADODARIYA, N.; CHAUDHARY, J. P.; GOGDA, A.; SAMINATHAN, K. R.; MEENA, R. Experimental cultivation of *Gelidium pusillum* in open sea along the South east Indian coast. **Indian Journal of Geo Marine Science**, v. 47, n. 2, p: 336-345, 2018.

WHYTE, J. N. C.; ENGLAR, J. R. The agar component of the red seaweed *Gelidium purpurascens*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 2, p: 237-40, 1981.