

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

## DESENVOLVIMENTO IN VITRO DE *CLADOPHORA BRASILIANA* (CLADOPHORALES, CHLOROPHYTA) SOB CONDIÇÕES CONTROLADAS DE CULTURA

**Laíse Ferreira Gomes<sup>1</sup>; Carlos Wallace do Nascimento Moura<sup>2</sup>**

1. Bolsista FABESB, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: laisefg@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: carloswallacemoura@gmail.com

**PALAVRAS-CHAVE:** Ilha de Itaparica, desenvolvimento, *Cladophora*.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Cladophora* Kütz. é um dos maiores gêneros de algas verdes com cerca de 300 espécies descritas. Estudos recentes baseados em dados morfológicos e moleculares têm demonstrado que *Cladophora* é polifilético (Bakker *et al.*, 1994; Hanyuda *et al.*, 2002), sendo representado por um grupo heterogêneo de espécies que apresentam uma alta plasticidade fenotípica (Gestinari, 2004).

*Cladophora brasiliana*, descrita por Martens (1866) a partir de exemplares coletados na Lagoa Rodrigues de Freitas, Rio de Janeiro, é uma espécie diminuta e que apresenta características próximas a *C. dalmatica* Kütz, da qual difere por apresentar o comprimento das células apicais maior. No litoral brasileiro, a espécie foi registrada para o Rio de Janeiro, São Paulo, Atol das Rocas e, mais recentemente, para o estado da Bahia por Alves (2008) e Santos (2010). Embora existam estudos taxonômicos sobre a espécie no litoral brasileiro, até o momento, não há dados em literatura sobre o desenvolvimento do talo da espécie em cultura *in vitro*.

Embora existam estudos taxonômicos sobre a espécie, até o momento, não há dados sobre o desenvolvimento do talo da espécie em cultura *in vitro*. Estudos sobre o desenvolvimento de *Cladophora* em cultura de laboratório no Brasil é restrito aos trabalhos de Gestinari (2004), Gestinari *et al.* (2005) e Moura & Oliveira (2009) que acompanharam o desenvolvimento do talo de *Cladophora vagabunda* (L.) Hoek utilizando meios cultura enriquecidos com solução de Provasoli (PES).

Diante do exposto e visando contribuir com a biologia da espécie, o presente trabalho teve por objetivo estudar o desenvolvimento do talo de *C. brasiliana* em condições controladas de cultura.

### METODOLOGIA

O material para o presente estudo foi obtido a partir de coletas realizadas na região entremarés do corpo recifal da praia da Penha, município de Vera Cruz, Ilha de Itaparica. Os espécimes de *C. brasiliana* foram coletados crescendo sobre *Acetabularia crenulata* J.V.Lamour.; estes foram acondicionados em recipiente contendo água do mar e, posteriormente, transportados para o laboratório.

No Laboratório de Cultivo de Algas do Laboratório de Ficologia (LAFICO), os exemplares foram mantidos em água do mar estéril (Oliveira *et al.*, 1995), contendo Dióxido de Germânio (1 ml.L<sup>-1</sup> de água do mar), para minimizar contaminação por diatomáceas, durante um período de três dias para aclimação às condições controladas de cultivo:

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

temperatura de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , irradiância de  $40 \pm 5 \mu\text{mol de fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  fornecida por tubos de luz branca fria fluorescentes, dispostos horizontalmente em relação aos recipientes, e um fotoperíodo de 12:12h (luz:escuro).

Posteriormente, os talos foram selecionados e enxaguados várias vezes em água do mar esterilizada e limpos, para a retirada de epífitas e/ou outro material indesejável. Para minimizar a contaminação por macroalgas oportunistas, as frondes foram lavadas por dois segundos em uma solução de hipoclorito de sódio em água do mar estéril a 1%, e duas vezes em água do mar esterilizada.

O crescimento do talo *Cladophora brasiliana* foi acompanhado a partir de ramos apicais limpos (contendo 5-7 células), cultivados em frascos de vidro tipo “baby food” (5,5 x 5,5 cm, 140 ml), previamente autoclavados, contendo água do mar esterilizada e água do mar enriquecida com solução de Provasoli (PES, Provasoll's Enriched Seawater, 8 mL.L<sup>-1</sup>), ambos com salinidade de 36UPS, pH de 7,8 (Oliveira *et al.* 1995), com aeração e sem aeração.

O desenvolvimento do talo foi acompanhado por 30-40 dias, sendo as observações feitas semanalmente ao estereomicroscópio e/ou microscópio fotônico a partir de lâminas montadas com água do mar estéril. O crescimento foi avaliado através do número de ramificações. A razão comprimento x diâmetro foi obtida a partir da média das medidas de 15 células apicais de cada talo em cada cultivo.

A identificação do material foi realizada com base em literatura especializada. Após o estudo, o material foi tombado no HUEFS.

## RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

**Tabela 1.** Crescimento *in vitro* de *C. brasiliana* G.Martens proveniente da Praia da Penha, Ilha de Itaparica, Bahia, utilizando água do mar esterilizada e água do mar enriquecida com meio PES.

Meios de cultivo	Com aeração					Sem aeração			
	Talo Altura (cm)	Células Apicais			Ramificações	Talo Altura (cm)	Células Apicais		
		Comp. (µm)	Diâm. (µm)	Razão Comp/Diâm.			Comp. (µm)	Diâm. (µm)	Razão Comp/Diâm.
Água do mar esterilizada	0,3-0,4	200-450	20-40	10-11,25	Até 3ª ordem	0,3-0,4	210-610	20-40	8,3-15
Água do mar enriquecida com meio PES	Até 0,3	250-550	20-30	8,3-18,3	Até 3ª ordem	0,4 -0,5	250-670	20-50	6,9-20

No presente estudo, observou-se um menor desenvolvimento dos talos de *C. brasiliana* cultivados em água do mar esterilizada (sem nutrientes) quando comparado com meio contendo água do mar enriquecida com PES (Tabela 1). Isto provavelmente indica que a água do mar sem adição de vitaminas e sais minerais não é adequada para o crescimento do talo de *C. brasiliana*, visto que estes apresentaram altura, número de ramificações menores e coloração mais amarelada do que os exemplares cultivados em meio enriquecido com sais nutrientes.

Yoneshigue-Braga (1980), estudando a influência de três meios de cultivos diferentes (Erdschreiber, água de upwelling e água do mar superficial) no desenvolvimento de *Acetabularia calyculus* J.V.Lamour., também observou que a água do mar superficial, pobre

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

em nitrogênio, fósforo e substâncias quelantes, era desfavorável ao desenvolvimento dos talos em cultivo em laboratório.

Os resultados obtidos a partir do cultivo de *C. brasiliiana* em meio enriquecido com solução de Provasoli com ou sem agitação foram semelhantes aos observados por Gestinari *et al.* (2005), para espécimes de *C. vagabunda* (L.) Hoek provenientes do Rio de Janeiro e Pernambuco. No trabalho, as autoras observaram melhores resultados em cultivos onde foi empregado meio Provasoli, onde os talos apresentam coloração verde grama brilhante, maior altura (até 79 mm) e número de ramificações (até 7ª ordem). Apresentaram também dimensões celulares, médias dos valores de diâmetro e comprimento das células apicais dos tratamentos sem enriquecimento, com aeração e sem aeração, semelhantes as do presente estudo, sendo 48 µm de diâmetro × 196 µm de comprimento e 43 µm de diâmetro × 185 µm de comprimento, respectivamente. Ao contrário do que foi observado no presente estudo, Gestinari *et al.* (2005) visualizaram a liberação de estruturas reprodutivas (zoósporos) nos talos submetidos ao tratamento enriquecido com PES, onde também puderam ser vistas plântulas que se fixaram sobre os fragmentos iniciais

No presente estudo, os melhores resultados de crescimento do talo de *C. brasiliiana* foram observados nos experimentos não expostos à agitação. Tal fato pode estar relacionado ao aspecto delicado do talo de *C. brasiliiana*, onde a movimentação da água pode restringir o desenvolvimento do talo. Moura e Oliveira (2009), estudando o desenvolvimento de *C. vagabunda* em cultivo em laboratório, não observaram diferenças no crescimento do talo em meio com e sem aeração. Segundo Gestinari *et al.* (2005), as plantas que crescem em locais expostos geralmente tendem a apresentar menores dimensões do talo do que aquelas que crescem em ambientes protegidos.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, observou-se que os talos cultivados apenas em água do mar não apresentaram crescimento satisfatório em relação àqueles cultivados em meio enriquecido com solução PES, confirmando a hipótese de que este último favorece o crescimento de *C. brasiliiana*. O surgimento de novos ramos foi observado após 6 a 7 dias, em ambos os meios de cultivo. Já o meio contendo água do mar não enriquecida mostra-se favorável ao aparecimento de células férteis em ramos de *C. brasiliiana*.

As seguintes condições de cultura permitiram o desenvolvimento de *C. brasiliiana in vitro*: temperatura de  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , irradiância de  $40 \pm 5 \mu\text{mol de fótons. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 12:12h (claro:escuro), salinidade de 40 UPS, pH 7,8.

### REFERÊNCIAS

- ALVES, A.M. 2008. Estudo morfo-taxonômico de Cladophorophyceae (Chlorophyta) no litoral do estado da Bahia, Brasil. Universidade Estadual de Feira de Santana. Dissertação de Mestrado.
- BAKKER, F.T.; J.L. OLSEN; W.T.DTAN; C. VAN DEN HOEK. 1994. The *Cladophora* complex (Chlorophyta): new views base don 18S rRNA gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3:365-382.
- GESTINARI, L.M.S. 2004. Taxonomia e distribuição do gênero *Cladophora* Kutzing (Cladophorales, Chlorophyta) Para o litoral brasileiro. Tese Doutorado, Universidade Federal do Rural de Pernambuco. 110p.
- GESTINARI, L.M.S.; Y. YONESHIGUE-VALENTIN; S.M.B. PEREIRA. 2005. Influência da concentração de nutrientes e da aeração da água no desenvolvimento de *Cladophora*

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

- vagabunda* (L.) C.Hoek (Chlorophyta, Cladophorales). Anais da X Reunião Brasileira de Ficologia. Série Livros, Museu Nacional, Rio de Janeiro, 10:275-288.
- HANYUDA, T.; I. WAKANA; S. ARAI; MIYAJI; Y. WATANO; K. UEDA. 2002. Phylogenetics relationships within Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta) inferred from 18S rRNA sequences, with special referente to *Agagropila linnae*. *Journal of Phycology* 38:564-571.
- MARTENS, G. V. 1866. Die preussische Expedition nach ostasien. Botanischer Theil. Die Tange. Berlin, [s. n.], p. 152.
- MOURA, C. W. N.; OLIVEIRA, I. S. 2009. Desenvolvimento in vitro de *Cladophora vagabunda* (Cladophorales, Chlorophyta) sob condições controladas de cultura. Anais (CD-ROM) do XIII Congresso Latinoamericano de Ciencias del Mar, VIII Congreso de Ciencias del Mar. Havana: Asociación Latinoamericana de Investigadores de Ciencias del Mar. p. 1-5.
- OLIVEIRA FILHO, E.C.; E.J. PAULA.; E.M. PLASTINO; R. PETTI. 1995. Metodologias para cultivo no axenico de macroalgas marinas in vitro. In Manual de métodos ficológicos (K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar, eds.) Universidad de Concepción. p. 429-447.
- SANTOS A.A DOS. 2010. Comunidade de macroalgas epifíticas de *Acetabularia crenulata* J.V.Lamour. (Dasycladales, Chlorophyta) das Praias da Penha e Barra Grande, Ilha de Itaparica, Bahia. Universidade Estadual de Feira de Santana. Dissertação de Mestrado. 276p.
- YONESHIGUE-BRAGA, Y. 1980. Growth of *Acetabularia calyculus* in three different media. *Marine Ecology. Progress Series*, 3(2):157-161.