

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Paulo Nelo Medeiros Perfeto**

**EFEITOS DE VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA DE *GELIDIUM CRINALE* (GELIDIACEAE,  
RHODOPHYTA) EM CULTIVO UNIALGAL**

**Tese apresentada ao programa de  
Pós Graduação em Botânica do  
Instituto de Biociências da  
Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências.**

**Orientadores: Prof. Dr. Albano Schwarzbold**

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lúcia Rebello Dillenburg**

**Porto Alegre (RS)**

**2004**

**À minha esposa,  
meus filhos e  
meus pais.**

**Ao meu avô Fulvio José Perfeto,  
em memória. Missão cumprida.**

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar à DEUS e Nossa Senhora do Rosário de Fátima a quem sempre recorri nas horas mais difíceis, principalmente quando me faltavam ânimo e inspiração para desenvolver este trabalho.

À Maria do Carmo, Leonardo e Marcelo Wigg Perfeto pelo carinho, compreensão e incentivo que sempre me deram nas horas mais difíceis ao longo destes anos e pelo financiamento de grande parte deste trabalho.

Aos meus pais, Elvio e Noely, que sempre acreditaram e me incentivaram durante os longos anos de estudo pelos quais passei.

Ao Prof. Dr. Albano Schwarzbold pela oportunidade, confiança depositada e orientação dedicada ao longo deste trabalho.

À Prof. Dra. Lucia Rebello Dillenburg pela confiança, orientação, inúmeras sugestões e críticas feitas as versões anteriores do manuscrito e pelo apoio na escrita do “summary”.

Ao Prof. Dr. Danilo Calazans, Laboratório de Crustáceos, Departamento de Oceanografia da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, por permitir a utilização de seu laboratório para realização dos cultivos.

Ao Prof. Dr. Luiz Felipe Niencheski, Laboratório de Hidroquímica, Departamento de Química da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, por permitir a utilização de seu laboratório para a realização das análises químicas.

Ao Prof. Dr. Tabajara Lucas de Almeida, Departamento de Matemática da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, pelo auxílio na preparação dos dados estatísticos.

Ao Prof. Dr. Rui Orlando dos Santos pela orientação inicial deste trabalho e pela receptividade que me foi dispensada durante o tempo em que estive na Universidade do Algarve, Faro, Portugal.

Ao Prof. Milton Luis Simões Piragine por ter me ensinado e mostrado o quanto é interessante a Ficologia.

À Dr<sup>a</sup> Lezilda C. Torgan, Dra. Iara Maria Franceschini e Dr. João Ito Bergonci pela participação na banca examinadora e pelas sugestões apresentadas a este trabalho.

Aos Técnicos em Química Lúcia Helena Böhmer, José Vanderlen Veigas Miranda e Roque Zílio, Departamento de Química da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, pelo valioso auxílio na execução de grande parte das análises químicas.

Aos colegas e professores do Programa de Pós Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela acolhida e apoio durante o período em que estivemos juntos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que financiou, através do processo 200553/94, nossa estada na Universidade do Algarve, cidade de Faro, Portugal, onde foi possível ampliar nossos conhecimentos na área de Ficologia.

À todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho de tese fosse realizado.

Expressar meu reconhecimento àqueles que me auxiliaram neste trabalho de tese é uma tarefa muito grata e ao mesmo tempo difícil, pois não é possível aqui mencionar o nome de todos, porém quero que saibam o quanto lhes sou grato.

## RESUMO

Os efeitos individuais e interativos dos parâmetros ambientais físicos e químicos, como temperatura, intensidade luminosa, salinidade e concentração de fósforo inorgânico dissolvido na água do mar, na produção de proteínas, carboidratos, acúmulo de fósforo tecidual e taxa de absorção do fósforo inorgânico disponível no meio de cultura em *Gelidium crinale* (Turner) Lamouroux, foram investigados durante um período de sete dias de cultivo laboratorial, em condições controladas. A ação dos parâmetros abióticos foi analisada de três maneiras diferentes.

A primeira avaliação integrou a ação de temperatura, intensidade luminosa e fósforo inorgânico dissolvido, mantendo-se fixa a salinidade em 25 ups, onde se constatou que em todos os componentes químicos algais ocorreram interações de terceira ordem. O incremento de 2,28 a 2,67 % nos teores de proteínas foram obtidos à temperatura de 25 °C e 12  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa, diminuindo com a elevação da intensidade luminosa para 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Para carboidratos, ocorreram interações significativas entre os três parâmetros, com um aumento de 6,85 % sendo registrado a 25 °C de temperatura, 24  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa e 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico. O aumento máximo na taxa de fósforo tecidual (0,56 %) ocorreu em talos cultivados nas menores temperatura e intensidade luminosa e na maior concentração de fósforo inorgânico dissolvido. Com relação à intensidade luminosa, foi observada uma correlação negativa entre proteínas e carboidratos.

A segunda avaliação estabeleceu a ação independente e sinérgica de temperatura, salinidade e fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo, fixando-se a intensidade luminosa em 24  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A maior produção de proteínas ocorreu em cultivos onde a temperatura foi de 25 °C, com uma concentração de 5,0 e 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido e salinidade entre 15 e 20 ups, cujos valores médios do incremento variaram

entre 2,62 a 2,83 % peso seco de alga, resultando em uma interação de terceira ordem altamente significativa. Para carboidratos a elevação de 6,85 % em sua concentração está associada à maior temperatura (25 °C), maior salinidade (25 ups) e maior quantidade de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo (10,0 µM). Contudo, não foi observada uma interação de terceira ordem através da análise estatística. Para esta biomolécula observaram-se interações de segunda ordem altamente significativa ( $P < 0,005$ ) entre temperatura e diferentes concentrações de fósforo inorgânico e entre temperatura e salinidade ( $P < 0,000$ ). O acúmulo de fósforo nos talos da alga foi menor durante os cultivos em que a salinidade foi de 25 ups, nas temperaturas de 20 e 25 °C e concentração de fósforo disponível de 2,5 µM, com percentuais entre 0,08 a 0,11 % em peso de cinzas. O maior incremento ocorreu na menor temperatura, associada à baixa salinidade e alta concentração de fósforo inorgânico no meio. O coeficiente de correlação de Pearson revelou correlações positivas, altamente significativas ( $P < 0,001$ ) entre teor de proteína, temperatura e disponibilidade de fósforo inorgânico no meio de cultivo. Para carboidratos, as correlações foram positivas com os três parâmetros abióticos. Para fósforo tecidual somente com o fósforo inorgânico disponível no cultivo foi que ocorreu uma relação positiva; com os outros dois parâmetros esta correlação foi negativa. Entre os componentes químicos encontrados nas algas, proteínas e carboidratos apresentaram uma relação positiva, porém fósforo tecidual apresentou uma correlação negativa com ambos, embora com proteínas esta relação não tenha sido significativa.

A terceira avaliação estudou a ação individual e o sinergismo entre os parâmetros ambientais, temperatura, intensidade luminosa e salinidade, a uma concentração fixa de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo (10,0 µM), sobre a composição química, bem como na taxa de absorção de fósforo inorgânico disponível. Observou-se a ocorrência de interações de terceira ordem em todos as variáveis estudadas. O teor de proteínas

apresentou um aumento de 3,72 % durante o período de cultivo, passando de 20,63 % antes do cultivo, para 24,35 % após o término do experimento, principalmente nas condições de 25 °C de temperatura, 12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa e 15 ups de salinidade. Para carboidratos, nas condições de baixa intensidade luminosa (12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), a uma temperatura de 20 °C e salinidades de 10 e 15 ups, foram registrados valores inferiores à amostra controle, caracterizando um consumo desta biomolécula por parte das algas. Nestas mesmas condições ambientais, foram registrados os maiores teores de fósforo tecidual, variando entre 0,86 a 1,09 % do peso das cinzas. As maiores taxas de absorção do fósforo do meio ocorreram na salinidade de 25 ups e 25 °C de temperatura, diminuindo da intensidade luminosa de 12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . As maiores concentrações de fósforo inorgânico residual na água do meio de cultivo ocorreram nas salinidades de 10 e 15 ups, em todas as intensidades luminosas e temperaturas estudadas. Através do coeficiente de correlação de Pearson, observou-se que os teores de proteínas apresentaram uma forte correlação negativa com a intensidade luminosa e positiva com a temperatura e salinidade, embora com esta última não tenha sido significativa. Para carboidratos, as correlações com os parâmetros abióticos foram todas positivas. Correlações negativa e positiva, não significativas, foram observadas entre esta biomolécula e o teor de proteínas e a taxa de absorção de fósforo disponível no meio, respectivamente. Por outro lado, com fósforo tecidual, ocorreu uma correlação negativa, altamente significativa.

Este estudo mostra o estado fisiológico de *Gelidium crinale* e contribui para o estabelecimento das melhores condições de cultivo para produção de proteína, carboidrato e fósforo tecidual e indicação do uso racional de nutrientes, fornecendo informações para a otimização de processos de maricultura, tanto em termos de cultivo bem sucedido de algas, quanto de redução no impacto sobre o ambiente.



## SUMMARY

The individual and interactive effects of the physical and chemical environmental parameters such as temperature, light intensity, salinity and dissolved inorganic phosphorus concentration in the sea water, on protein and carbohydrate production, tissue phosphorus accumulation and absorption rate of inorganic phosphorus available in the culture medium by *Gelidium crinale*, were investigated in laboratory cultures, for seven days, under controlled conditions. The action of the abiotic parameters was analyzed in three different ways.

The first evaluation integrated the action of temperature, light intensity and dissolved inorganic phosphorus, at a constant salinity of 25 ups, where third-order interactions were verified for all algal chemical compounds. The increase of 2,28 to 2,76 % in the protein content was obtained at a temperature of 25 °C and 12  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of light intensity, decreasing with an increase in light intensity towards 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . For carbohydrates there was a significant interaction among the abiotic parameters, with a maximum increment of 6.85 % at 25 °C of temperature, 24  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of light intensity and 10.0  $\mu\text{M}$  of inorganic phosphorus. The highest increase on tissue phosphorus concentration (0.56 %) occurred in thalli grown under the lowest temperature and light intensity and the highest dissolved inorganic phosphorus concentration used in this study. With regard to light intensity, was observed a negative correlation between proteins and carbohydrates.

The second evaluation established the independent and synergic action of temperature, salinity and available inorganic phosphorus, setting the light intensity at 24  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . The maximum production of proteins occurred in cultures where the temperature was 25 °C, with a concentration of 5,0 and 10,0  $\mu\text{M}$  of dissolved inorganic

phosphorus and salinity between 15 and 20 ups, with values varying among 2,62 to 2,83% of algae dry weight, resulting in a highly third order significant interaction. For carbohydrates the elevation of 6,85% in concentration is associated to the greatest temperature (25 °C), salinity (25 psu) and amount of available inorganic phosphorus in the culture (10,0µM). However, a third-order interaction was not observed in the statistical analysis. For this biochemical compound, only a second order interaction was observed between temperature and inorganic phosphorus concentrations ( $P < 0,005$ ) and between temperature and salinity ( $P < 0,000$ ). The phosphorus accumulation in the thalli was minor during growth under salinity of 25 ups, temperatures of 20 and 25 °C and dissolved inorganic phosphorus concentration of 2,5 µM, with values of 0,08 and 0,11% on an ash weight basis. The greatest increase occurred in the smallest temperature, associated to low salinity and high inorganic phosphorus concentration in the culture. The Pearson's correlation coefficient revealed highly significant ( $P < 0,001$ ) positive correlations among protein content, temperature and inorganic phosphorus availability in the growth medium. For carbohydrates, correlations were positive with all three abiotic parameters. For tissue phosphorus, a positive correlation occurred only with dissolved inorganic phosphorus; with temperature and salinity the correlations were negative. Among the chemical components present in the algae, proteins and carbohydrates showed a positive relation, while tissue phosphorus presented a negative correlation with both, although this correlation was not significant with regard to protein.

The third evaluation looked at the individual and synergic action among the environmental parameters of temperature, light intensity and salinity, at a constant concentration of dissolved inorganic phosphorus (10,0 µM) on the chemical composition, as well as in absorption rates of available inorganic phosphorus. Third-order interactions were observed for all the studied variables. Proteins presented an increase of 3,72% during

the growth period, ranging from 20,63 %, before cultivation to 24,35% by the end of the experiment, especially at 25 °C of temperature, 12  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  of light intensity and salinity of 15 ups. For carbohydrates, under conditions of low light intensity (12  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), a temperature of 20 °C and salinities of 10 and 15 ups, concentrations were below the control values, characterizing a consumption of this component by the algae. In these same environmental conditions, the largest quantity of tissue phosphorus was registered, varying from 0,86 to 1,09% of ash weight. The highest absorption rates of the phosphorus available in the medium took place under salinity of 25 ups and 25 °C of temperature, decreasing from a light intensity of 12  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  to 40  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ . The highest concentrations of residual inorganic phosphorus in the medium seawater were measured for salinities of 10 and 15 ups, for all the light intensities and temperatures studied. Analysis of the Pearson's correlation coefficient demonstrated that proteins content had a strong negative correlation with light intensity and positive correlation with temperature and salinity, although with this last one the correlation was not significant. For carbohydrates, the correlations with the abiotic parameters were all positive. Negative and positive correlations, though not significant, were observed among this biochemical component and protein content and absorption rate of available inorganic phosphorus, respectively. On the other hand, with tissue phosphorus, carbohydrates showed a highly significant negative correlation.

This study reveals the physiological behavior of *Gelidium crinale*, and contributes to the establishment of the optimum conditions of the growth medium and to the rational use of nutrients, providing valuable information for optimizing processes of marine culture, both in terms of successful growth of algae and reduced impact on the environment.

# SUMÁRIO

	<b>Página</b>
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
1 – Coleta e Limpeza do material.....	17
2 – Condições de cultivo das algas.....	17
3 – Condições físicas e químicas do meio de cultivo.....	21
4 – Análise dos processos metabólicos.....	24
5 – Análise estatística.....	25
Temperatura X Intensidade Luminosa X Fósforo Inorgânico Dissolvido.....	27
RESULTADOS.....	27
1 – Proteínas.....	29
2 – Carboidratos solúveis.....	29
3 – Fósforo tecidual.....	31
DISCUSSÃO.....	33
Temperatura X Fósforo inorgânico dissolvido X Salinidade.....	38
RESULTADOS.....	38
1 – Proteínas.....	40
2 – Carboidratos.....	41
3 – Fósforo tecidual.....	45
DISCUSSÃO.....	47
Temperatura x Intensidade luminosa x Salinidade.....	53
RESULTADOS.....	53

1 – Proteínas.....	54
2 – Carboidratos solúveis.....	56
3 – Fósforo tecidual.....	58
4 – Absorção de fósforo inorgânico.....	60
DISCUSSÃO.....	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
ANEXOS.....	87

## LISTA DE FIGURAS

1. Mapa da área estuarina da Laguna dos Patos. Seta mostra a localização do ponto de coleta dos talos de *Gelidium crinale*..... 18
2. Foto de satélite mostrando em cor mais escura a massa de água continental que desemboca, através dos molhes da barra do Rio Grande, no Oceano Atlântico..... 19
3. Frondes de *Gelidium crinale* durante o processo de limpeza para retirada de epífitas, fauna acompanhante e sedimento..... 20
4. Manutenção dos frascos de cultivos em imersão a temperatura constante..... 21
5. Ambiente utilizado para o controle dos parâmetros abióticos durante o período de cultivo..... 22
6. Aparelho utilizado para refrigeração de água, no controle das temperaturas baixas durante o cultivo unialgal..... 23
7. Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (2,5 µM; 5,0 µM e 10,0 µM)..... 30
8. Valores médios do incremento de carboidratos em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (2,5 µM; 5,0 µM e 10,0 µM)..... 32
9. Valores médios do incremento de fósforo tecidual em porcentagem de peso de cinzas, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (2,5 µM; 5,0 µM e 10,0 µM)..... 33
10. Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre fósforo inorgânico dissolvido no meio, temperatura (A= 15 °C; B= 20 °C; C= 25 °C) e salinidade (10; 15; 20; 25 ups)..... 41

- 11.** Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de segunda ordem entre temperatura e fósforo inorgânico dissolvido no meio (2,5  $\mu\text{M}$ ; 5,0  $\mu\text{M}$  e 10,0  $\mu\text{M}$ ), submetidos ao teste de Duncan, onde médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5%..... 43
- 12.** Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de segunda ordem entre temperatura e salinidade (10; 15; 20; 25 ups), submetidos ao teste de Duncan, onde médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5%..... 44
- 13.** Valores médios do incremento de fósforo tecidual em porcentagem de peso de cinzas, obtidos pela interação de terceira ordem entre fósforo inorgânico dissolvido no meio, temperatura (A= 15 °C; B= 20 °C; C= 25 °C) e salinidade (10; 15; 20; 25 ups)..... 46
- 14.** Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C), e salinidade (10; 15; 20; 25 ups)..... 56
- 15.** Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre salinidade, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C), intensidade luminosa (12  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; 24  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; 40  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) ..... 58
- 16.** Valores médios do incremento de fósforo tecidual, em porcentagem de peso de cinzas, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C), e salinidade (10; 15; 20; 25 ups)..... 60
- 17.** Valores médios da taxa de absorção de fósforo disponível no meio de cultura, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A= 20 °C; B= 25 °C), e salinidade (10; 15; 20; 25 ups)..... 63
- 18.** Valores residuais de fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultivos, referente a concentração de 10,0  $\mu\text{M}$ , nas diferentes salinidades, intensidade luminosas e temperaturas (LUZ/TEMP)..... 64

## LISTA DE TABELAS

1. Diferentes tratamentos entre as variáveis abióticas utilizadas durante o cultivo de *Gelidium crinale* em laboratório..... 26
2. Valores médios dos componentes químicos nas diferentes condições de cultivo (**A**) e a diferença entre cada um dos valores médios e os controles (**B**), expressos em % de peso seco de alga para os teores de proteínas e carboidratos e % de peso de cinzas para fósforo tecidual. Médias em **B** com letras iguais sobrescritas não diferem estatisticamente entre si (Duncam,  $P = 0,05$ ). F I D = Fósforo inorgânico dissolvido..... 28
3. Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e das distintas interações sobre a quantidade de proteínas produzida durante o experimento..... 31
4. Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e das distintas interações sobre a quantidade de carboidratos produzida durante o experimento..... 31
5. Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e das distintas interações sobre a quantidade de fósforo tecidual armazenada durante o experimento..... 32
6. Valores médios dos componentes químicos nas diferentes condições de cultivo (**A**) e a diferença entre cada um dos valores médios e os controles (**B**), expressos em % de peso seco de alga para os teores de proteínas e carboidratos e % de peso de cinzas para fósforo tecidual. Médias em **B** com letras iguais sobrescritas não diferem estatisticamente entre si (Duncam,  $P = 0,05$ ). TEMP = Temperatura; F I D = Fósforo inorgânico dissolvido..... 39
7. Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (2), da salinidade (3) e



das distintas interações sobre a quantidade de proteínas produzida durante o experimento.....	40
<b>8.</b> Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de carboidratos produzida durante o experimento.....	42
<b>9.</b> Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de fósforo tecidual armazenada durante o experimento.....	45
<b>10.</b> Análises do coeficiente de correlação de Pearson para fatores abióticos, temperatura, fósforo inorgânico dissolvido (F I D), salinidade e componentes químicos, proteínas, carboidrato fósforo tecidual de <i>G. crinale</i> . Correlações significativas estão marcadas com * ( $P = 0,05$ ).....	47
<b>11.</b> Valores médios dos componentes químicos nas diferentes condições de cultivo ( <b>A</b> ) e a diferença entre cada um dos valores médios e os controles ( <b>B</b> ), expressos em % de peso seco de alga para os teores de proteínas e carboidratos e % de peso de cinzas para fósforo tecidual. Médias em <b>B</b> com letras iguais sobrescritas não diferem estatisticamente entre si (Duncam, $P = 0,05$ ).....	54
<b>12.</b> Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de proteínas produzida durante o experimento.....	55
<b>13.</b> Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de carboidratos produzida durante o experimento.....	57
<b>14.</b> Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de fósforo tecidual armazenada durante o experimento.....	59

- 15.** Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a taxa de absorção de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo..... 61
- 16.** Análises do coeficiente de correlação de Pearson para fatores abióticos, temperatura, Intensidade luminosa (luz), salinidade e componentes químicos, proteínas, carboidrato fósforo tecidual de *G. crinale* e absorção de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo. Correlações significativas estão marcadas com \* ( $P = 0,05$ )..... 61

## LISTA DE ANEXOS

1. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de proteínas, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ), e fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 88
2. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de carboidrato, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ), e fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 89
3. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de fósforo tecidual, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ), e fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 90
4. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de proteínas, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), fósforo inorgânico disponível (FID) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 91
5. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de carboidratos, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 94
6. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de carboidratos, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 94
7. Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de fósforo tecidual, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), fósforo inorgânico disponível (FID) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 95

- 8.** Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de proteínas, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 98
- 9.** Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de carboidratos, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 100
- 10.** Diferença mínima significativa entre médias relativas ao incremento de fósforo tecidual, teste de “posthoc” de Duncam ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si..... 102

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, foram realizadas pesquisas sobre os recursos naturais mundiais de várias espécies de algas marinhas de importância econômica. As algas são exploradas comercialmente para o uso na alimentação humana, principalmente nos países asiáticos, na obtenção de polissacarídeos – alginatos, carrageninas e ágar – utilizados em biotecnologia, na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, entre outras. (Chapman 1970; McHugh 1991; Skjak-Broek & Martinsen 1991; Indergaard & Minsaas 1991; Indergaard & Østgaard 1991; De Roeck-Holtzhauer 1991; Tseng 2001).

Entre as espécies exploráveis estão as algas agarófitas dos gêneros *Gracilaria* Greville e *Gelidium* Lamouroux e com menor contribuição as dos gêneros *Pterocladia* Santelices *et* Hommersand e *Gelidiella* Feldmann *et* Hamel. Anualmente são coletadas várias toneladas de biomassa seca de espécies de *Gelidium* e *Pterocladia*, responsáveis pelo agar de melhor qualidade e maior valorização no mercado (Santelices 1988; McHugh 1991, Santos & Duarte 1991).

As espécies de *Gelidium*, usadas em seu estado natural, desempenham um papel importante na indústria, sendo comercialmente exploradas para obtenção de agar. Possuem uma larga distribuição em águas tropicais e temperadas (Santelices 1991), crescendo em praias rochosas, em profundidades de zero a dezessete metros (De Craene 1971; Salinas 1991a; 1991b; Santos & Duarte 1991; McHugh 1991; Torres *et al.* 1991).

A intensa exploração das espécies economicamente viáveis, associada ao aperfeiçoamento de métodos de coletas, seja manual ou mecânico (Juanes & Borja 1991; Briand 1991), provoca um efeito destrutivo nas populações naturais devido à relativa fragilidade das mesmas. Este fato desencadeou estudos ecológicos (Carter & Simons 1987; Anderson *et al.* 1991; Santos 1993b; Engel & Destombe 2002; Orduna-Rojas *et al.*

2002) e cultivos em ambientes naturais (Buschman *et al.* 1990; Fei & Huang 1991; Wakibia *et al.* 2001; Jayasankar & Varghese 2002;), em tanques de cultura massiva (Hurtado-Ponce & Pondevida 1997; Nagler *et al.* 2003) e laboratoriais (Oliveira *et al.* 1990; Ugarte & Santelices 1992; Vergara *et al.* 1993; Wilson & Critchley 1997; Israel *et al.* 1999), principalmente para as espécies dos gêneros *Gelidium* e *Gracilaria*.

Para avaliar a estrutura e funcionamento das populações, ecologistas estudaram a dinâmica temporal e a distribuição de frequência de algumas medidas individuais, tais como comprimento do talo, biomassa, diâmetro do eixo do talo e área dos filóides. A evolução destas distribuições através do tempo reflete o efeito combinado dos parâmetros demográficos de crescimento, sobrevivência e recrutamento (Carter & Anderson 1985; Santos 1993a).

O crescimento vegetativo é um fenômeno importante na propagação das espécies de algas marinhas. Ele ocorre espontaneamente na natureza, apresentando vantagens sobre a multiplicação através de esporos (Friedlander & Lipkin 1982; Macler & Zupan 1991; Juanes & Puente 1993) e de reprodução sexuada, uma vez que frondes gametofíticas consistem minoria dentro de uma população. No crescimento vegetativo os novos talos são produzidos a partir de eixos prostrados perenes (Hansen 1977, *apud* Santelices 1990). Em algumas espécies, estas estruturas de fixação são tolerantes as variações físico-químicas do ambiente e, devido a sua perenidade através do tempo, sobrevivem melhor onde as competições por espaço podem limitar o desenvolvimento dos elementos de reprodução.

Trabalhos como de Juanes & Borja (1991), Santelices (1991) e Salinas & Valdes (1993) afirmam que a formação de frondes eretas, iniciadas a partir dos eixos prostrados, é o principal mecanismo de colonização de novos indivíduos entre as algas da Ordem Gelidiales. A capacidade dos fragmentos apicais em aderirem ao substrato, através da formação de rizóides, indica que a propagação vegetativa é um processo importante na

reprodução e produção de biomassa das espécies de *Gelidium*, podendo ser interpretada como mecanismo ativo de dispersão e colonização de praias rochosas (Salinas 1991a; 1991b; Juanes & Puentes 1993). Prova experimental da importância da emissão de rizóides na colonização de substrato artificial, sob condições laboratoriais, foram obtidas por Salinas (1991a; 1991b), Salinas & Valdes (1993) e Santelices & Varela (1994).

As informações relativas aos parâmetros abióticos são fundamentais para que um sistema de cultivo algal se torne efetivo, permitindo o controle do crescimento, reprodução, ciclo de vida, produção de biomassa e composição química de várias espécies de algas (Perfeto 1998; Sousa-Pinto *et al.* 1999; Hernandez-Guerrero *et al.* 2000; Raikar *et al.* 2001; Orduna-Rojas *et al.* 2002), que são regulados por uma complexa interação entre os parâmetros ambientais como, por exemplo, temperatura, luz, nutriente e movimento de massas d'água, e, quando um destes fatores se torna limitante, o efeito dos demais pode não ser completamente manifestado (Santelices 1978; 1987a; 1987b; 1991; Santelices *et al.* 1981; Vergara *et al.* 1993; Bellorín & Castro 1997; Hernández – Guerrero *et al.* 2000).

Em laboratório e ao ar livre, foram realizados trabalhos para produção de algas, em tanques de cultivo, sob condições de cultura contínua. Nestes cultivos a remoção de água, parcial ou total, era periódica (7 a 15 dias), tornando difícil o controle e a otimização dos fatores ambientais (Lignell *et al.* 1987; Ugarte & Santelices 1992). Assim, o sistema mais apropriado para determinar o efeito de qualquer fator limitante no crescimento e produção de macroalgas em cultivo é aquele que possui a capacidade de manter uma cultura sob fluxo constante e controlado de nutrientes e outros fatores abióticos (Loban *et al.* 1985; Loban & Harrison 1994).

O conhecimento das condições fisiológicas das espécies de *Gelidium* em cultivo é de particular interesse, principalmente pela importância na produção e na alta qualidade do ágar extraído deste gênero. As algas utilizadas em experimentos de fisiologia são

normalmente provenientes do meio ambiente, através da coleta de diversos indivíduos. A variação na idade do talo, exposição ao ambiente, disponibilidade de nutrientes e localização física e sazonal podem produzir grandes diferenças nas respostas fisiológicas destes organismos, favorecendo ou não o processo de adaptação às condições de cultivo a que foram submetidas (Macler & West 1987; Fredriksen & Rueness 1989; Bellorín & Castro 1997).

Além do crescimento das espécies de *Gelidium*, bem como de outras algas vermelhas, ser regulado por essa complexa interação entre os fatores ambientais, ficou constatado que estes também afetam a morfologia e a distribuição das Gelidiales, que tendem a viver em habitats com baixa intensidade luminosa (Santelices 1987b; Santelices *et al.* 1981). Sob condições de sombreamento, algumas espécies tornam-se mais escuras e maiores (Stewart 1968, Durako & Dawes 1980; Orduña-Rojas *et al.* 2002), enquanto que sob condições de elevada intensidade luminosa ocorre a destruição dos pigmentos (fotooxidação das ficobilinas), o conseqüente branqueamento e o aparecimento de lesões no talo das algas (Bellorín & Castro 1997; Tasende & Fraga 1999).

O objetivo biológico primário em um sistema de cultivo, fora do ambiente natural, é obter a máxima produção algal através da efetiva captação de energia luminosa pelas estruturas vegetativas, transformando-a em energia química, que é utilizada diretamente nos processos vitais de manutenção ou acumulada sob forma de biomassa quando em condições favoráveis (Kautsky 1990; McLachlan 1991; Macchiavello *et al.* 1998; Wong & Chang 2000).

Em *Gelidium coulteri* a reprodução pode ser induzida pela variação da intensidade luminosa. Isto ocorre quando os talos da alga, submetidos a ambiente com baixa intensidade luminosa ( $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), são expostos a uma elevação deste parâmetro ( $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Por outro lado, o aumento na sua taxa de crescimento e no conteúdo



de polissacarídeos (agar) é estimulado pela elevação contínua da intensidade luminosa de 150 a 250  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Macler & West, 1987; Macler & Zupan, 1991). Dentro desta faixa de radiação, Sousa-Pinto *et al.* (1999) determinaram um aumento na taxa de crescimento e fotossíntese em *G. pulchellum*, resultando preferencialmente na síntese de polissacarídeos de reserva (amido) em detrimento dos constituintes da parede celular (ágar).

Oliger & Santelices (1981), ao estudarem o efeito combinado de intensidade luminosa e fotoperíodo na taxa de crescimento de diferentes espécies de *Gelidium* e *Pterocladia*, constataram que as espécies de zona intertidal, horizonte inferior, apresentam menor tolerância à elevada intensidade luminosa ( $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), quando submetidas a períodos longos de luz (16Luz : 8Escuro), diminuindo desta forma a taxa de crescimento, pois em seu habitat natural crescem em locais sombreados (Santelice 1988; 1991).

O efeito da radiação e fotoperíodo no desenvolvimento de rizóides em *G. robustum* foi demonstrado por D'Antonio & Gibor (1985), quando observaram o maior número de estruturas celulares de fixação ocorrendo sob condições de longo fotoperíodo e baixa intensidade luminosa. Mudanças na morfologia de *G. latifolium* ocorreram quando a alga foi submetida a intensidades luminosas entre 40 e 100  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , modificando os eixos do talo, inicialmente achatados, em estreitos e cilíndricos. Com a elevação deste parâmetro para 200 e 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , a espécie apresentou um aumento na taxa de crescimento e no número de ramos laterais (Fredriksen & Rueness 1989; Ruenes & Fredriksen, 1989).

Em experimentos realizados com *Gelidium sesquipedale* (Salinas, 1991a; 1991b), ficou demonstrada uma relação direta entre a intensidade luminosa estudada (15 a 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), o aumento no crescimento e abundância dos novos talos provenientes dos eixos

refixados. Salinas & Valdes (1993) obtiveram para esta mesma espécie uma maior produção de bandas de rizóides em experimentos com fotoperíodo de 14L (Luz):10E (Escuro) e 16L:8E do que em 8L:16E, a uma intensidade luminosa de  $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , cujos resultados foram similares aos de D'Antonio & Gibor (*op. cit.*), na mesma temperatura.

A temperatura é um fator fundamental, devido aos seus efeitos nas atividades e propriedades moleculares e, portanto, em praticamente todos aspectos metabólicos. No ambiente pode variar marcadamente desde próximo ao congelamento no inverno a valores letais no verão, ou manter-se a níveis constantes, considerados não satisfatórios às atividades biológicas (Lobban *et al.* 1985; Lobban & Harrison 1994). Nos sistemas de cultivo, a temperatura pode ser mantida em níveis ótimos e constantes, oferecendo oportunidades para maximizar o crescimento em culturas massivas de algas (Macler & West 1987; Fredriksen & Rueness 1989; Macler & Zupan 1991; Bellorín & Castro 1997; Pftzing *et al.* 2000), acelerar o processo de refixação através de produção de rizóides (Salinas & Valdes 1993), e promover a liberação, fixação e sobrevivência de esporos (Garza-Sanchez *et al.* 2000).

Bellorín & Castro (1997) constataram que as diferenças observadas entre as temperaturas responsáveis pelo maior índice de crescimento de *Gracilariopsis tenuifrons* estão relacionadas com as diferenças que existem na temperatura da água do mar dos diferentes locais de coletas. Pftzing *et al.* (2000) observaram que o crescimento das algas está associado, além do local de coleta, à época do ano em que foram efetivadas as coletas, ou seja, para os exemplares de *Pelvetia canaliculata* coletados durante o inverno, o intervalo ótimo de temperatura para uma maior taxa de crescimento das algas variou entre 10 e 20 °C, enquanto as coletadas na primavera este intervalo foi mais restrito, entre 20 e 23 °C. Para a maioria das espécies de *Gracilaria* de águas quentes a maior taxa de

crescimento ocorreu em temperaturas entre 25 e 30 °C, tornando-se letal acima deste nível (McLachlan & Bird 1986; Levy *et al.* 1990), embora várias espécies tropicais apresentem ótimos crescimentos em temperaturas superiores a estes valores (Yokoya & Oliveira 1992).

De um modo geral, todas as espécies de algas apresentam um ótimo de temperatura para a realização de seus processos fisiológicos. Em *Gelidium coulteri* (Macler & West 1987) e em *Gelidium latifolium* (Fredriksen & Rueness 1989), o aumento da taxa de crescimento ocorreu em temperaturas cujos valores considerados ótimos variaram entre 14 e 28 °C, acima dos quais o crescimento é inibido, surgindo o branqueamento e por fim a morte da alga. Em *Gelidium sesquipedale* os melhores resultados para o processo de refixação e produção de rizóides foram obtidos na faixa de temperatura entre 16 - 18 °C. Embora as temperaturas de 20 e 22 °C favoreçam o aumento da produção de rizóides, aumentam também a produção de manchas necróticas que finalmente levam à morte da alga (Salinas 1991a; Salinas & Valdes 1993). As altas temperaturas também ocasionam o decréscimo no processo fotossintético e em níveis bioquímicos, as assimilações de carbono e nitrogênio são inibidas, decrescendo os compostos de carbono com baixo peso molecular (Macler & Zupan 1991).

Como todos organismos eucariontes, as macroalgas não possuem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico. Em geral amônio e nitrato são as maiores fontes de nitrogênio no seu habitat natural, sendo efetivamente utilizados como fontes de nutrientes nos sistemas de cultivo algais (Hafting 1999; Naldi & Wheeler 1999; 2002; Lotze & Schramm 2000; Friedlander 2001; Smit 2002). A utilização destas fontes de nitrogênio inorgânico pelas algas varia com as espécies e suas populações (DeBoer 1981; Fong *et al.* 1996). A taxa de absorção destes nutrientes depende da preferência da alga pela fonte de nitrogênio e está influenciada pela disponibilidade deste elemento nos talos da alga

(D'Elias & DeBoer 1978; Ryther *et al.* 1982; Hanisak 1990). Em *Codium fragile* (Hanisak & Harlin 1978), *Laminaria japonica* (Mizuta & Maita 1991), *L. abyssalis* (Braga & Yoneshigue-Valentin 1996), *Gracilaria cornea* (Navarro-Ângulo & Robledo 1999) e *G. gracilis* (Smith 2002), foi registrada uma preferência pela absorção de amônio, mesmo quando o nitrato estava disponível no meio. Porém, a assimilação simultânea das duas fontes de nitrogênio foi determinada em trabalhos realizados em *Gelidium nudifrons* (Bird 1976) e em algas pardas (Topinka 1978; Harlin & Craigie 1978).

Uma das vantagens que as algas apresentam é a capacidade de armazenar nitrogênio, tanto na forma de nitrato como amônio, particularmente quando este elemento se encontra sob condições limitantes na água do mar (Bird *et al.* 1982; Thomas & Harrison 1987; Hurtado-Ponce & Pondevida 1997). Estas reservas são utilizadas posteriormente no processo de crescimento, durante períodos de baixa concentração externa (Chapman & Craigie 1977; Chapman & Lyndley 1980; Rosenberg & Ramus 1982), ao mesmo tempo em que outros parâmetros como radiação solar e temperatura apresentam índices ideais para a realização deste processo (Ryther *et al.* 1982).

As concentrações deste elemento são críticas para culturas massivas de algas vermelhas, tanto para o crescimento quanto para a regulação do metabolismo e reprodução (Macler & West 1987; Israel *et al.* 1999), sendo elemento necessário para a biossíntese de aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos. Uma considerável quantidade de nitrogênio é também encontrada nos pigmentos, principalmente nas ficobiliproteínas (ficoeritrina e ficocianina) (Lapointe 1981; Bird *et al.* 1982; Fredriksen & Rueness 1989).

Em cultivo de *G. coulteri* (Macler 1986; 1988; Macler & Zupan 1991), quando se esgota o nitrogênio do meio, a alga perde inicialmente as ficobiliproteínas. Como a taxa de crescimento torna-se nitrogênio-limitante e a fotossíntese continua, ocorre uma mudança metabólica da síntese de proteínas e aminoácidos para a síntese de

polissacarídeos, agar e amido de florídeas. Com a contínua diminuição do nitrogênio, a clorofila é perdida, a fotossíntese declina e a taxa de crescimento decresce. Eventualmente a planta cataboliza suas reservas e morre. Como a concentração ótima de nitrogênio permanece desconhecida, continua a prática de fertilização dos meios de cultivos com fontes de nitrogênio (amônio e nitrato).

Berchez & Oliveira (1990) constataram que fragmentos do talo de *Hypnea musciformis*, ao serem imersos em uma solução de água do mar enriquecida com nitrato de sódio, durante um determinado período, e depois transplantados para o meio ambiente, apresentaram um aumento de 25% na sua taxa de crescimento. Isto demonstra o importante papel que o nitrogênio desempenha no controle da produtividade desta alga, pois altas taxas de crescimento podem ser obtidas em períodos de alta temperatura e alta irradiação, desde que o nutriente nitrogenado seja anteriormente administrado à planta.

Vários foram os trabalhos realizados, principalmente na década de 1970, que apontaram o nitrogênio como o mais importante elemento disponível no meio marinho, responsável pela limitação do crescimento das algas em águas costeiras, além de ser o responsável pela variação de outros processos fisiológicos (DeBoer *et al.* 1978; Mathieson & Tverter 1975; Neish *et al.* 1977; Lapointe & Ryther 1979). Estes estudos levaram ao conceito do chamado “Efeito Neish”, isto é, algas que crescem em cultivos não enriquecidos com nitrogênio apresentam maior quantidade de ficocolóides (carragenina ou agar) do que aquelas espécies que crescem em água do mar enriquecida por este elemento.

Em função desta valorização dispensada ao nitrogênio, o elemento fósforo recebeu pouca atenção como um fator limitante. O efeito da variação na disponibilidade de fósforo não tem sido muito estudado em macroalgas, embora seja um elemento que atue diretamente em quase todas as fases do metabolismo, particularmente nas reações de

transformação de energia (Kuhl 1962; 1968; 1974). O fósforo normalmente não é considerado um elemento limitante no meio marinho (Lobban *et al.* 1985); contudo, trabalhos mais recentes (Chopin *et al.* 1995; Chopin & Wagey 1999) sugerem que este elemento possa ser mais limitante do que o nitrogênio em sistemas costeiros, principalmente em espécies de águas tropicais e sub-tropicais e em algumas de águas temperadas. Sua presença, associada a compostos como nitrato e amônio em meio de cultivos, interfere na taxa de crescimento e no conteúdo de proteínas, polissacarídeos de reserva e/ou estrutural, cinzas e pigmentos (Chopin *et al.* 1990a; 1991; Hemalatha & Rengasamy 1993; Sousa-Pinto *et al.* 1996; Hafting 1999).

Fontes de nutrientes são, portanto, as principais variáveis operacionais no manejo do cultivo de algas marinhas. Combinações adequadas na quantidade de nitrogênio e de fósforo, para o enriquecimento dos meios de cultura, seriam mais providenciais do que os valores para razão entre nitrogênio:fósforo (N:P). Isto foi demonstrado em trabalhos realizados com *Chondrus crispus* (Chopin & Wagey 1999), onde constatou-se que os teores de carboidratos produzidos pelo enriquecimento semanal do meio de cultivo com 20  $\mu\text{M}$  de nitrogênio e 3  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico foram superiores aos obtidos com 40  $\mu\text{M}$  de nitrogênio e 6  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico, sendo que nos dois casos o valor para a razão N:P é a mesma (6,67).

A salinidade é um parâmetro tipicamente mais local do que global e altamente variável em regiões costeiras, especialmente em zonas intertidal e estuarina (Kirst 1989). Segundo Lobban & Harrison (1994), os efeitos mais importantes da salinidade nas algas são o fluxo de íons ao longo de um potencial eletroquímico e as conseqüências osmóticas do movimento de moléculas de água ao longo do gradiente do potencial hídrico.

Como uma adaptação às flutuações de salinidade, em seus habitats, espécies de algas de zona litoral e eulitoral alteram suas concentrações iônicas, principalmente de

sódio, potássio e cloro, além das concentrações de solutos orgânicos, como manitol em Phaeophyta, floridosídeo em Rhodophyta e sacarose em Chlorophyta (Lüning 1990).

O ajuste osmótico pode ocorrer aparentemente sob várias formas, utilizando aminoácidos ou vários carboidratos. Os aminoácidos que estão mais relacionados com este processo parecem estar associados às enzimas da glicólise e do Ciclo de Krebs (Dawes, 1986). Em estudos com *Compsopogon coeruleus* (Glazer *et al.* 1994), os autores encontraram uma relação direta entre o aumento do polissacarídeo iso-floridosídeo (D-galactopiranosil-glicerol) e o aumento da salinidade. Vários outros solutos orgânicos podem contribuir para o equilíbrio osmótico, incluindo sorbitol e prolina em *Klebsormidium marinum* e sacarose e ácido glutâmico em *Ulothrix fimbriata* (Kirst 1989). O aumento na quantidade de proteínas totais em *Gracilaria tenuistipitata* (Israel *et al.* 1999) e em *Gelidium coulteri* (Macler 1988) ocorreu em ambientes com altos níveis de salinidade. Wong & Chang (2000) sugerem que, para a obtenção de bons resultados na produção e crescimento, principalmente de *Grateloupia filicina*, os níveis de irradiação e de salinidade devem ser cuidadosamente controlados durante os cultivos massivos.

Em trabalhos realizados por Bidwell *et al.* (1985) e Guerin & Bird (1987), o movimento d'água foi mencionado como fator essencial no auxílio das altas taxas de crescimento e densidade das algas em cultivo. Muitas vezes a limitação de nutrientes para as algas não é necessariamente resultado das suas baixas concentrações no ambiente, mas sim da falta de ressuspensão destes elementos pela ausência do movimento da massa d'água. Além do aumento do fluxo de nutrientes disponíveis na água para as algas, tem-se observado um decréscimo na contaminação por epífitas e no prejuízo causados pelo pastoreio dos organismos herbívoros (Santelices 1987a).

A falta de hidrodinâmica direcional nos tanques de cultivos massivos de *Gelidium sesquipedale* faz com que esta espécie apresente modificações na sua morfologia,

transformando seus ápices de aspecto elíptico em formas cilíndricas e afiladas; contudo, esta ausência de movimento de água pode ser o principal estímulo para iniciação dos rizóides e, conseqüentemente, de grupos de rizóides. Porém quando um fluxo d'água é adicionado nos tanques de cultivo, as algas com frondes cilíndricas tornam-se gradualmente achatadas e arredondadas (Salinas 1991a; 1991b).

O acréscimo de nutrientes pode compensar o movimento inadequado da massa de água, com um aumento na taxa de crescimento das algas, principalmente quando este é relativamente baixo. O movimento da massa de água interage fortemente com a concentração de nutrientes e pode aliviar a limitação do nitrogênio, reduzindo a resistência imposta ao processo de difusão (Smit 2002). A alta difusão dos nutrientes, resultante do maior movimento de água ou adição destes elementos nutritivos, resulta no uso mais efetivo dos níveis de radiação e temperatura, promovendo assim um maior crescimento e altas concentrações de pigmentos em espécies de *Gelidium* (Santelices 1991).

Diferenças na composição dos pigmentos das algas vermelhas podem aparecer como respostas às trocas das condições ambientais. Há ampla evidência de que a concentração dos pigmentos aumenta ou diminui em respostas às baixas e altas intensidades luminosas e não em resposta à qualidade de luz (Ramus *et al.* 1976; Dring 1981; Ramus & van der Meer 1983). É também conhecida a existência de uma correlação entre a deficiência de nitrogênio e a redução do conteúdo de pigmentos nas células das algas (DeBoer 1981; Macler & West 1987). Assim o branqueamento que ocorre no talo da alga pode ser atribuído à intensidade luminosa e à concentração de nitrogênio (Fredriksen & Rueness 1989; Bellorín & Castro 1997; Tasende & Fraga 1999).

O decréscimo no conteúdo de ficobiliproteínas e clorofila *a* ocorre quando determinadas espécies de algas marinhas ficam sujeitas a altas intensidades luminosas e condições deficientes de nutrientes nitrogenados. Esta observação sugere que os



pigmentos vermelhos são usados como fonte de nitrogênio por parte das algas, principalmente quando este elemento torna-se limitante. A vantagem ecológica dos elevados conteúdos de ficobiliproteínas está na capacidade de absorver o máximo de luz em períodos com baixa radiação e, ao mesmo tempo, proteger o vegetal contra a fotossíntese da clorofila *a* durante períodos de altas intensidades luminosas (Fredriksen & Rueness 1989; Santelices 1991; Vergara *et al.* 1995).

Tentativas foram feitas para avaliar as condições de nitrogênio nas macroalgas marinhas, utilizando a razão carbono:nitrogênio (C:N). De uma maneira geral os valores da razão C:N, para as algas marinhas, variam entre 5 e 40, sendo considerados valores estáveis para esta razão aqueles que estão entre 10 e 15, pois valores acima deste intervalo indicam uma limitação no teor de nitrogênio, enquanto os inferiores acusam uma elevação no conteúdo deste elemento na alga (Niell 1976; DeBoer & Ryther 1977). A estabilidade da relação C:N, dentro dos valores propostos, em espécies de *Gelidium*, é provavelmente devido aos elevados conteúdos de carbono, principalmente presente na parede celular (Torres *et al.* 1991). Valores em torno de 42 para a razão C:N foram observados em *Gelidium latifolium* quando cultivada em meio com deficiência de nitrogênio, sugerindo desta maneira que esta relação pode ser usada como um indicador da disponibilidade de nitrogênio nas células da alga (Fredriksen & Rueness 1989).

Uma relação inversa entre a disponibilidade de nitrogênio e a produção de polissacarídeos, principalmente ágar, foi observado em trabalhos realizados por Dawes *et al.* (1974), Bird *et al.* (1981), Macler & West (1987), Smit *et al.* (1997). A disponibilidade de nitrogênio regula a biossíntese de ágar. Quando o nitrogênio torna-se limitante, o carbono fixado é direcionado para a síntese do polissacarídeo e quando há uma atividade assimiladora de nitrogênio, o carbono é então direcionado para compostos orgânicos nitrogenados, em detrimento das estruturas de reservas de carbono (Macler 1986).

Em cultivo laboratorial de *Gelidium sequipedale*, Vergara *et al.* (1993; 1995) constataram que, em condições suficientes de nitrogênio a baixos níveis de radiação, não houve um acúmulo de carbono em reservas estruturais. Por outro lado, Arano *et al.* (2000), em estudos com *Gracilaria* sp, *Gracilaria firma* e *Gracilariopsis bailinae*, observaram que em condições limitantes de nitrogênio e altos níveis de intensidade luminosa, ocorreram valores elevados para carboidratos (ágar).

Outro fator importante a considerar, para uma perspectiva aplicada da relação C:N, é a qualidade do polissacarídeo produzido, pois ficou constatado que o decréscimo do conteúdo de nitrogênio no talo da alga pode produzir um ágar de baixa qualidade em termos de resistência do gel, temperatura de solidificação e de fusão, fato este que pode estar relacionado com o tipo de nitrogênio utilizado na fertilização ou a outro fator ambiental (Bird *et al.* 1981; Craigie *et al.* 1984).

O metabolismo dos carboidratos está correlacionado com a intensidade luminosa, enquanto que o aumento nos teores de proteínas está relacionado com as altas concentrações de nutriente nitrogenado na água do mar. O período de aumento na concentração de polissacarídeo está caracterizado pelo de diminuição na quantidade de proteínas na alga e vice-versa (Rosenberg & Ramus 1982; Mouradi-Givernaud *et al.* 1993; Perfeto 1998; Orduña-Rojas *et al.* 2002).

A maioria dos trabalhos experimentais, de campo ou laboratoriais, já realizados indica que as diferenças específicas nas taxas de tolerância, nos níveis ótimos de intensidade luminosa, movimento de água e seus efeitos combinados, são as causas mais prováveis da distribuição das algas da ordem Gelidiales. Luz, temperatura e salinidade produzem efeitos significativos na taxa de crescimento e de absorção de nutrientes nitrogenados; entretanto, o crescimento algal e absorção de nitrogênio não são, necessariamente, regulados por estes fatores com o mesmo grau de intensidade

(Santelices, 1978; Duke *et al*, 1989). O efeito de difusão do movimento da água pode controlar os danos causados pela intensidade luminosa, como pode ser observado para *Pterocladia capillacea*, que suporta altas intensidades luminosas, quando expostas a altos níveis de movimento d'água. Em laboratório, ficou constatado que o elevado movimento das massas de água, suas taxas de renovação ou adição de nutrientes permitiram que as macroalgas, dentro de seus limites individuais, utilizassem mais efetivamente os altos níveis de luz e temperatura. Isto ficou demonstrado pela ausência de branqueamento do talo e pelo crescimento mais rápido das espécies (Santelices, 1978; Ugarte & Santelices, 1992).

## **OBJETIVOS**

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos individuais e interativos (sinérgicos) de variáveis físicas (temperatura, intensidade luminosa) e químicas (salinidade, concentração de fósforo inorgânico) sobre os processos metabólicos (produção de proteína, carboidrato solúvel, acúmulo de fósforo tecidual e taxa de absorção de fósforo inorgânico disponível) de *Gelidium crinale*, mantida em diferentes condições controladas de cultivo unialgal, por ser uma espécie produtora de ágar de ótima qualidade e por sua alta densidade no local de coleta.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1 - Coleta e limpeza do material**

As amostras de talo de *Gelidium crinale* (Turner) Lamouroux, coletadas no Molhe Oeste de Rio Grande, RS, Brasil (32°09'54''LS; 52°05'35''LW) (figs. 1 e 2), foram colocadas em sacos plásticos com água do ambiente, acondicionadas em caixas térmicas e transportadas para o laboratório da Fundação Universidade do Rio Grande (FURG).

No laboratório as amostras foram colocadas em aquários e posteriormente limpas com água do mar filtrada, para remoção de epífitas, fauna acompanhante e sedimento, que se localizam na porção prostrada da alga (fig. 3). Durante a limpeza, os talos eram transferidos para outro aquário, onde permaneceram por duas semanas na temperatura de 20 °C e intensidade luminosa ambiente ( $8 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), para adaptação.

Antes de iniciar o cultivo, os talos da alga foram mantidos por um minuto em uma solução de hipoclorito de sódio em água do mar numa concentração de 1:1000 (v:v) (Salinas, 1991a), e em seguida em uma solução de dióxido de germânio ( $\text{GeO}_2$ ), por duas horas, na concentração de 6 mg/L, para eliminação de diatomáceas, segundo procedimento modificado de Polne-Fuller & Gibor (1987) e Vergara *et al.* (1993). Após este processo, selecionaram-se talos íntegros, que foram divididos em duas partes, sendo uma utilizada para o cultivo e a outra definida como controle, que foi armazenada seca, conforme descrito abaixo.

### **2 – Condições de cultivo das algas**

Os talos de *G. crinale* foram cultivados em frascos de Erlenmeyer de 1.000 mL, durante sete dias, mantidos em caixas com água (fig. 4), em um armário com prateleiras (fig. 5). Os meios de cultivo foram preparados com água do mar com salinidades de 25 ou 30 ups (unidade padrão de salinidade) e água potável, filtradas em filtro para água

Aqualar<sup>®</sup>, modelo APL 230F em elemento filtrante Micro-Wynd<sup>®</sup> de 1,0 µm de poro, autoclavada a uma pressão de 1,5 atm. Após foi realizada a diluição da água do mar com

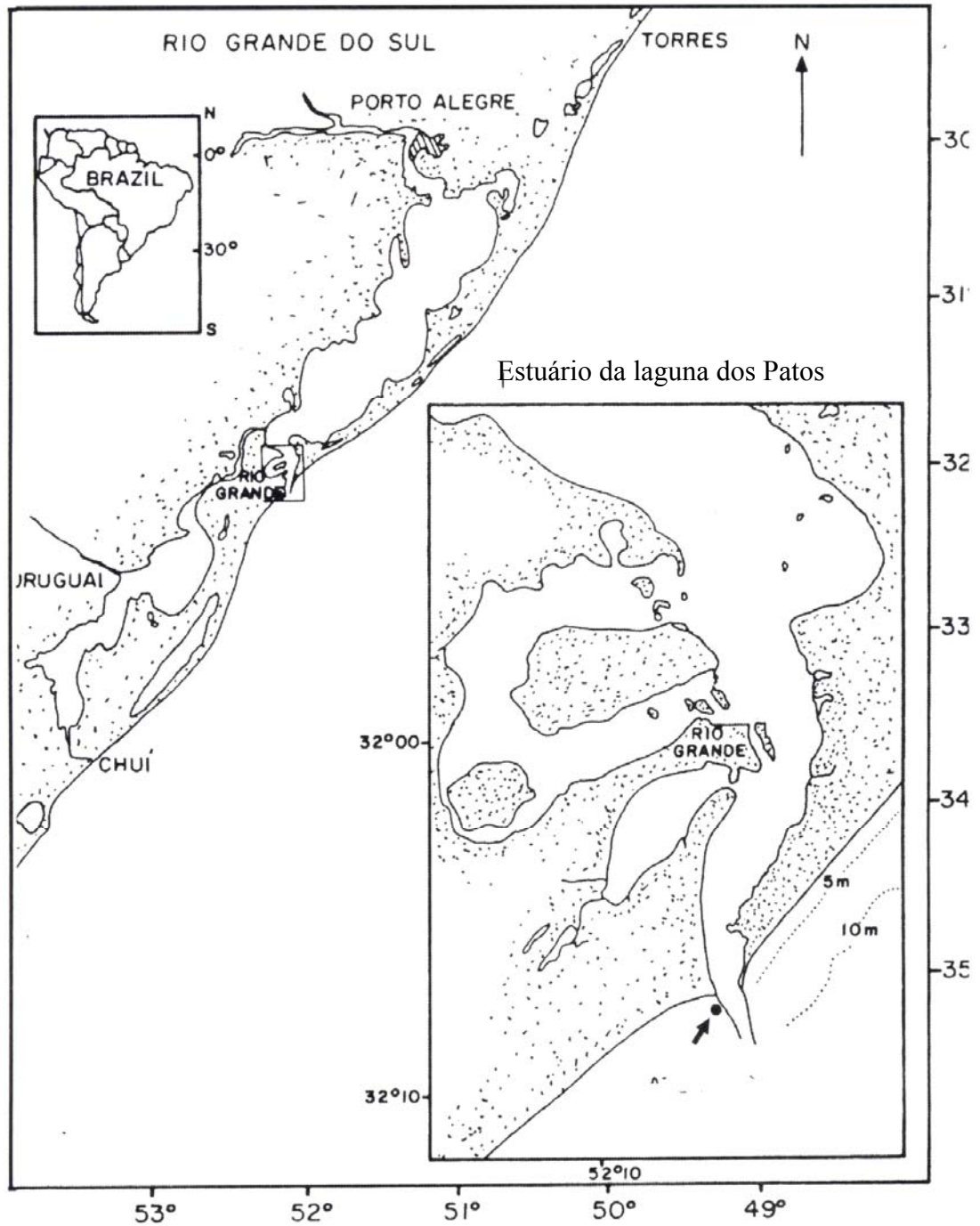


Figura 1 – Mapa da área estuarina da laguna dos Patos. Seta mostra a localização do ponto de coleta dos talos de *Gelidium crinale*.

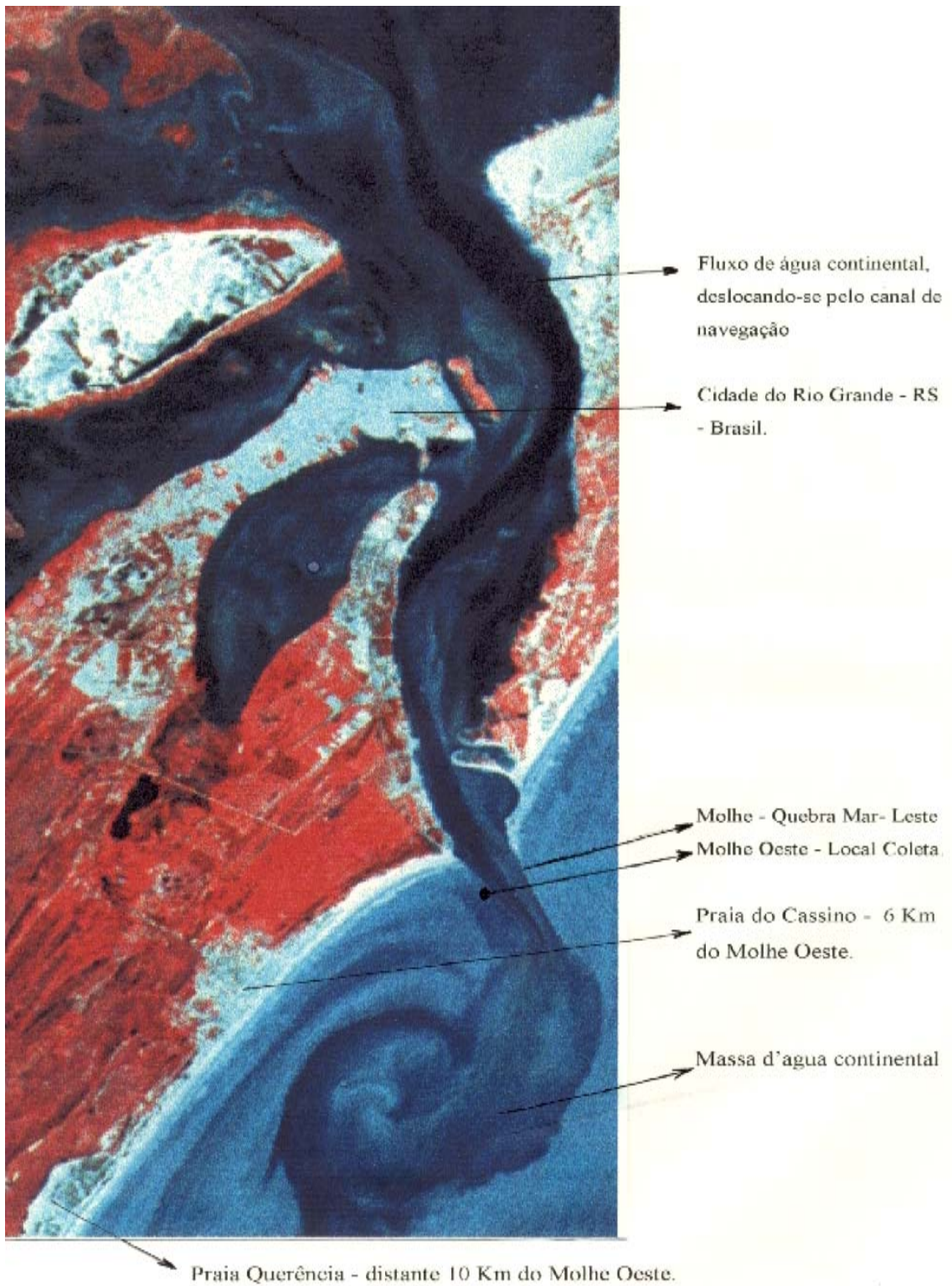


Figura 2 – Foto de satélite mostrando em cor mais escura a massa de água continental que desemboca, através dos molhes da barra do Rio Grande, no oceano Atlântico.

água potável até atingir as salinidades de 10, 15, 20 e 25 ups. Em seguida foram enriquecidas com diferentes concentrações de fósforo (2,5; 5,0 ou 10,0  $\mu\text{M}$ ), na forma de ortofosfato ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  p.a.) e com concentração constante (50  $\mu\text{M}$ ) de nitrogênio na forma do íon amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  p.a.), mantida através de adição do composto a cada 48 horas.



Figura 3 – Frondes de *Gelidium crinale* durante o processo de limpeza para retirada de epífitas, fauna acompanhante e sedimento.

As frondes em cultivo, além das diferentes concentrações de nutrientes, foram submetidas às temperaturas de 15, 20 ou 25  $^{\circ}\text{C}$ , com variação de  $\pm 1$   $^{\circ}\text{C}$ , intensidades luminosas de 12, 24 ou 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (400-700nm), com fotoperíodo de 12:12



(luz:escuro), pH variando entre 7,0 e 8,5 e aeração constante. As combinações entre os parâmetros abióticos estudados estão representadas na tabela 1. Na temperatura de 15 °C não foi realizado o experimento com intensidade luminosa de  $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , por falta de material algológico, devido a recuperação do molhe oeste, com a colocação de blocos de granito, cobrindo os antigos já colonizados, tornando o local de coleta inacessível. Cada condição experimental foi realizada em duplicata.



Figura 4 – Manutenção dos frascos de cultivo em imersão à temperatura constante.

### **3 – Condições físicas e químicas do meio de cultivo**

Para ajustar as concentrações de fosfato e amônio nos meios de cultivo, a água do mar, antes e após o enriquecimento com estes nutrientes, assim como durante o cultivo,

foi filtrada em filtro de  $0,45 \pm 0,02 \mu\text{m}$  (Millipore HA) e a determinação das concentrações seguiu os métodos colorimétricos descritos em Baumgarten *et al.* (1996).



Figura 5 – Ambiente utilizado para controle dos parâmetros abióticos durante o período de cultivo, no laboratório do Departamento de Oceanografia (FURG).

Nos experimentos, a temperatura pré-estabelecida foi controlada através de um aparelho de resfriamento de água (fig. 6) para baixas temperaturas e com aquecedores munidos de termostato para temperaturas mais elevadas, instalados no sistema de cultivo. A salinidade foi determinada por salinômetro manual (refratômetro). O fornecimento de luz foi feito com lâmpadas fluorescentes (luz do dia). A intensidade luminosa foi medida por luxímetro digital LD 500 e os valores em lux convertidos para  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Thimijan & Heins 1983). O pH foi estimado por pHmetro digital Checker (0,00 - 14,00  $\pm$  0,2 pH).

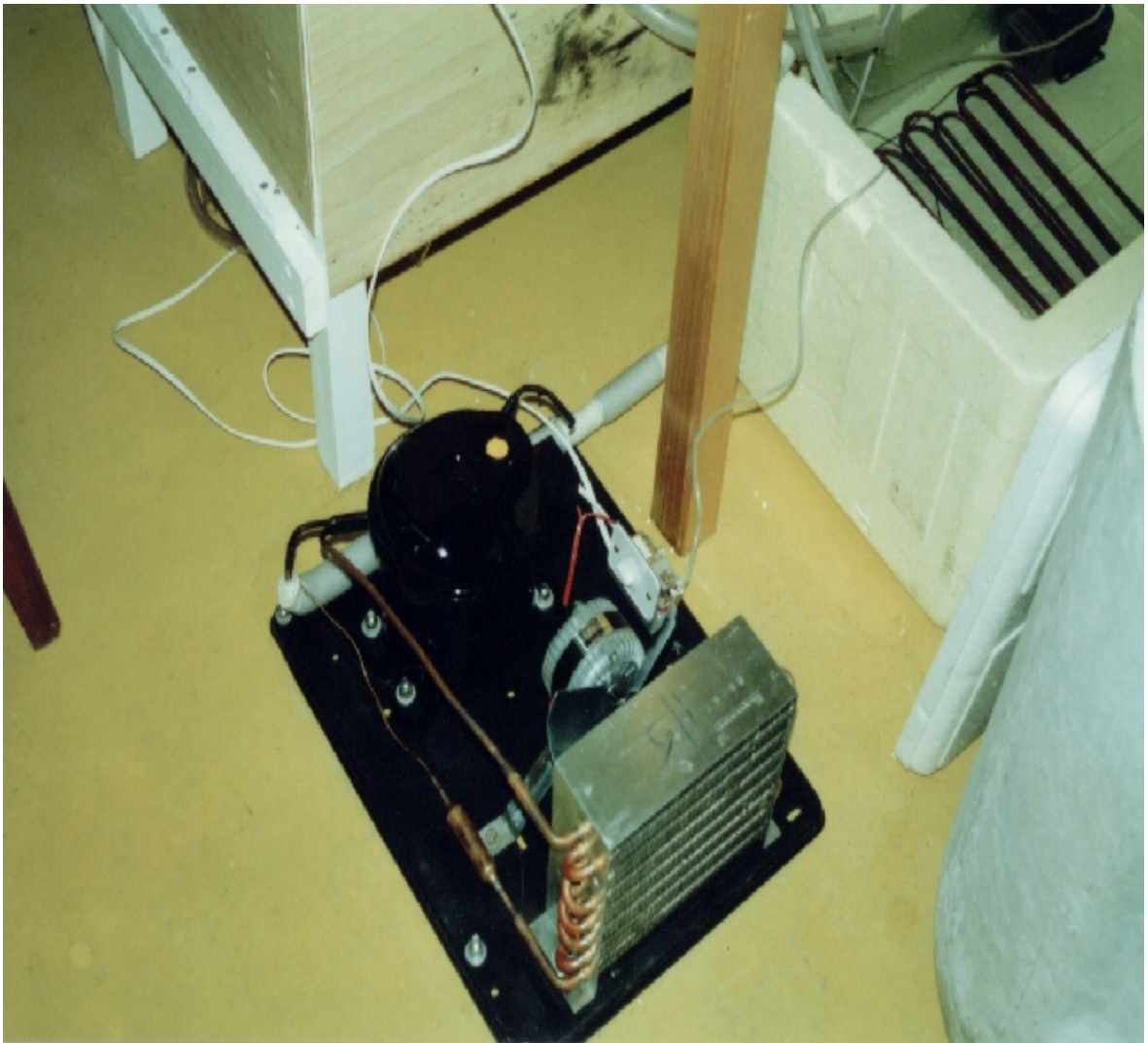


Figura 6 – Aparelho utilizado para refrigeração de água, no controle das temperaturas baixas durante o cultivo unialgal.

#### 4 – Análises dos processos metabólicos

Através dos cultivos realizados em Erlenmeyer foi determinada a taxa de absorção de fósforo por parte da alga, de acordo com Lotze & Schramm (2000), substituindo peso seco por peso úmido, devido ao fato de não ter ocorrido mudança de peso na alga ao longo do experimento, e substituindo o tempo estimado de horas para dias:

$$\text{Taxa de absorção } (\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{d}^{-1}) = [(S_i \times V_i) - (S_f \times V_f)] (\text{Pu} \times t)^{-1} \text{ onde:}$$

$S_i$  = concentração inicial ( $\mu\text{M}$ );

$S_f$  = concentração final ( $\mu\text{M}$ );

$V_i$  = volume inicial (mL);

$V_f$  = volume final (mL);

Pu: peso úmido (g);

t = tempo do experimento (dias).

Esta análise foi realizada para as diferentes combinações entre temperatura, intensidade luminosa e salinidade, onde o nível de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo foi mantido constante na concentração de 10,0  $\mu\text{M}$ .

As algas provenientes do cultivo e as do controle foram secas em estufa a 60 °C por 24 horas. Após terem sido trituradas em moedor portátil elétrico de café (Moulinex<sup>®</sup>, type 980, 150 W) e macerada em “Gral” de porcelana, foram conservadas em sacos plásticos herméticos a uma temperatura de 15 °C negativos (Perfeto 1983), até o momento da análise das biomoléculas (proteínas e carboidratos) e do fósforo tecidual.

Os teores de proteínas foram determinados a partir do nitrogênio total obtido pelo método de Microkjeldhal (A.O.A.C. 1980), multiplicado pelo fator padrão de 6,25 (Abdel-Fatah *et al*, 1973).

O conteúdo de carboidratos solúveis foi determinado, após extração com ácido tricloro acético (T.C.A.) 5% a quente, pelo método colorimétrico fenol-sulfúrico (Dubois *et al*, 1956), usando glicose como padrão.

Os teores de cinzas nas algas, para determinação de fósforo tecidual, foram obtidos por calcinação em forno mufla à temperatura de 450 a 500 °C durante cinco horas (Dawes, 1986). Os teores de fósforo tecidual foram determinados por método colorimétrico, usando reagente vanadomolibdato (APHA, 1989).

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

## **5 - Análise Estatística**

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ( $P < 0,05$ ), utilizando modelos fatoriais de 2x3x3 (temperatura, intensidade luminosa e fósforo inorgânico dissolvido), de 3x3x4 (temperatura, fósforo inorgânico dissolvido e salinidade) e de 2x3x4 (temperatura, intensidade luminosa e salinidade), para determinar o efeito isolado e interativo destes parâmetros abióticos na produção de proteínas, carboidratos e nível de fósforo tecidual. Os valores submetidos à análise estatística foram as diferenças entre os valores medidos nas amostras submetidas aos diferentes tratamentos e aqueles medidos nas amostras controle. O teste de comparações múltiplas de Duncan foi utilizado para comparar as médias, e o coeficiente de correlação de Pearson ( $P = 0,05$ ) foi usado para determinar correlações entre parâmetros abióticos e componentes químicos (StatSoft, Inc. 1995). Foram verificados os pré-requisitos da análise.

Tabela 1 – Diferentes tratamentos entre as variáveis abióticas utilizadas durante o cultivo de *Gelidium crinale* em laboratório.

Temperatura °C	Intensidade luminosa $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Fósforo Inorgânico dissolvido - $\mu\text{M}$	Salinidade - ups
15	24	2,5	10; 15; 20; 25
15	24	5,0	10; 15; 20; 25
15	24	10,0	10; 15; 20; 25
15	40	2,5	10; 15; 20; 25
15	40	5,0	10; 15; 20; 25
15	40	10,0	10; 15; 20; 25
20	12	2,5	10; 15; 20; 25
20	12	5,0	10; 15; 20; 25
20	12	10,0	10; 15; 20; 25
20	24	2,5	10; 15; 20; 25
20	24	5,0	10; 15; 20; 25
20	24	10,0	10; 15; 20; 25
20	40	2,5	10; 15; 20; 25
20	40	5,0	10; 15; 20; 25
20	40	10,0	10; 15; 20; 25
25	12	2,5	10; 15; 20; 25
25	12	5,0	10; 15; 20; 25
25	12	10,0	10; 15; 20; 25
25	24	2,5	10; 15; 20; 25
25	24	5,0	10; 15; 20; 25
25	24	10,0	10; 15; 20; 25
25	40	2,5	10; 15; 20; 25
25	40	5,0	10; 15; 20; 25
25	40	10,0	10; 15; 20; 25

## Temperatura x Intensidade luminosa x Fósforo inorgânico dissolvido

### RESULTADOS

Para o estudo da ação individual e sinérgica dos parâmetros abióticos, temperatura, intensidade luminosa e fósforo inorgânico dissolvido, sobre os processos metabólicos dos talos de *Gelidium crinale*, fixou-se a salinidade em 25 ups; valor este encontrado no ambiente durante a estação do ano em que ocorre a maior taxa de crescimento da espécie em estudo.

Os valores médios dos componentes químicos desta espécie (proteínas, carboidratos e fósforo tecidual), após cultivos dos talos nos diferentes tratamentos físicos e químicos e da amostra definida como controle, estão representados na tabela 2, onde “A” corresponde à média dos valores determinados através de análises químicas e “B” à diferença entre as médias obtidas e as médias das amostras controle.

Os resultados apresentados na tabela 2B mostram que as maiores produções de proteínas ocorreram quando os talos da alga estavam submetidos à intensidade luminosa de  $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , em particular na temperatura de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , sendo o incremento máximo (2,67 %) obtido na concentração de  $10,0 \mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido. Para carboidratos, as maiores percentagens ocorreram quando os talos foram cultivados em intensidade luminosa de  $24 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , principalmente a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura, sendo registrado um aumento máximo de 6,85 %, em relação a amostra controle, no meio de cultivo com concentração de  $10,0 \mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido. Os incrementos nos percentuais de fósforo tecidual foram maiores (0,56 %) em cultivos sujeitos a intensidade luminosa de  $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  e concentração de  $10,0 \mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido. Por outro lado, a diferença no conteúdo de fósforo

tecidual atingiu valores negativos em talos cultivados em meio cuja concentração de fósforo inorgânico foi de 2,5  $\mu\text{M}$ , em uma intensidade luminosa de 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e temperatura de 25 °C.

Tabela 2 – Valores médios dos componentes químicos nas diferentes condições de cultivo (**A**) e a diferença entre cada um dos valores médios e os controles (**B**), expressos em % de peso seco de alga para os teores de proteínas e carboidratos e % de peso de cinzas para fósforo tecidual. Médias em **B** com letras iguais sobrescritas não diferem estatisticamente entre si (Duncan,  $P = 0,05$ ). F I D = Fósforo inorgânico dissolvido.

Proteínas F I D	A				B		
	2,5 $\mu\text{M}$	5,0 $\mu\text{M}$	10,0 $\mu\text{M}$	Controle	2,5 $\mu\text{M}$	5,0 $\mu\text{M}$	10,0 $\mu\text{M}$
Luz/Temperatura							
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	22,63	22,42	23,05	20,72	1,90 <sup>ef</sup>	1,69 <sup>e</sup>	2,33 <sup>fg</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	21,8	21,37	21,68	21,15	0,65 <sup>bcd</sup>	0,22 <sup>abc</sup>	0,53 <sup>abcd</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	20,56	20,55	21,13	20,47	0,09 <sup>ab</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,66 <sup>bcd</sup>
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	22,96	22,91	23,3	20,63	2,33 <sup>fg</sup>	2,28 <sup>fg</sup>	2,67 <sup>g</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	21,89	22,15	23,3	21,19	0,69 <sup>cd</sup>	0,96 <sup>d</sup>	2,11 <sup>ef</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	20,77	20,76	21,26	20,54	0,24 <sup>abc</sup>	0,22 <sup>abc</sup>	0,73 <sup>cd</sup>
<b>Carboidratos</b>							
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	46,25	46,23	46,08	45,68	0,57 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	48,92	50,28	51,94	47,22	1,70 <sup>b</sup>	3,06 <sup>cd</sup>	4,72 <sup>e</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	51,37	51,89	52,6	49,27	2,10 <sup>bc</sup>	2,62 <sup>bcd</sup>	3,33 <sup>d</sup>
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	44,35	46,65	48,51	43,83	0,52 <sup>a</sup>	2,81 <sup>cd</sup>	4,68 <sup>e</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	53,37	54,35	55,54	48,69	4,68 <sup>e</sup>	5,67 <sup>e</sup>	6,85 <sup>f</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	51,7	52,35	53,46	48,73	2,97 <sup>cd</sup>	3,61 <sup>d</sup>	4,72 <sup>e</sup>
<b>Fósforo Tecidual</b>							
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	1,88	2,05	2,24	1,68	0,20 <sup>de</sup>	0,37 <sup>fg</sup>	0,56 <sup>i</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	1,87	1,98	2,18	1,76	0,11 <sup>bc</sup>	0,22 <sup>de</sup>	0,42 <sup>gh</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$	1,77	1,8	1,97	1,61	0,16 <sup>cd</sup>	0,19 <sup>de</sup>	0,36 <sup>fg</sup>
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	1,84	1,95	2,09	1,62	0,21 <sup>de</sup>	0,33 <sup>f</sup>	0,47 <sup>h</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	1,85	2,11	2,14	1,77	0,08 <sup>b</sup>	0,34 <sup>fg</sup>	0,37 <sup>fg</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$	1,79	2,09	2,18	1,84	-0,04 <sup>a</sup>	0,26 <sup>e</sup>	0,35 <sup>fg</sup>

Os resultados dos componentes químicos estudados, apresentados na tabela 2B, foram submetidos à análise de variância fatorial. Para a comparação das médias de



proteínas, carboidratos e fósforo tecidual determinou-se a diferença mínima significativa (d.m.s.), obtidas através do teste “posthoc” de Duncan, mostrada pelos anexos 1, 2 e 3 respectivamente.

## **Proteínas**

A ação independente, assim como a interação de terceira ordem dos parâmetros abióticos intensidade luminosa, temperatura e fósforo inorgânico dissolvido, afetaram significativamente a produção desta molécula (tabela 3).

De uma forma geral o aumento nos teores de proteínas está inversamente relacionado com a intensidade luminosa e diretamente relacionado a temperatura e fósforo inorgânico dissolvido (fig. 7). Na temperatura de 20 °C ocorreu uma queda acentuada nos valores médios de proteínas, na intensidade luminosa de 12 para 24  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , seguido de uma estabilização na intensidade de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , nas concentrações de 5,0 e 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido. Por outro lado, em 25 °C de temperatura, a queda na produção de proteínas, em direção à maior intensidade luminosa, foi acentuada nas três concentrações de fósforo inorgânico. Nesta temperatura não ocorreram diferenças significativas, ao nível de 5 % (tabela 2B), entre os percentuais obtidos nas concentrações de 2,5 e 5,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido, para as diferentes intensidades de luz a que foram submetidos os talos.

## **Carboidratos solúveis**

A quantidade de carboidratos produzida pelos talos foi significativamente dependente da ação individual dos fatores abióticos estudados e da interação de terceira ordem que ocorreu entre os parâmetros temperatura, intensidade luminosa e concentração

de fósforo inorgânico dissolvido (tabela 4).

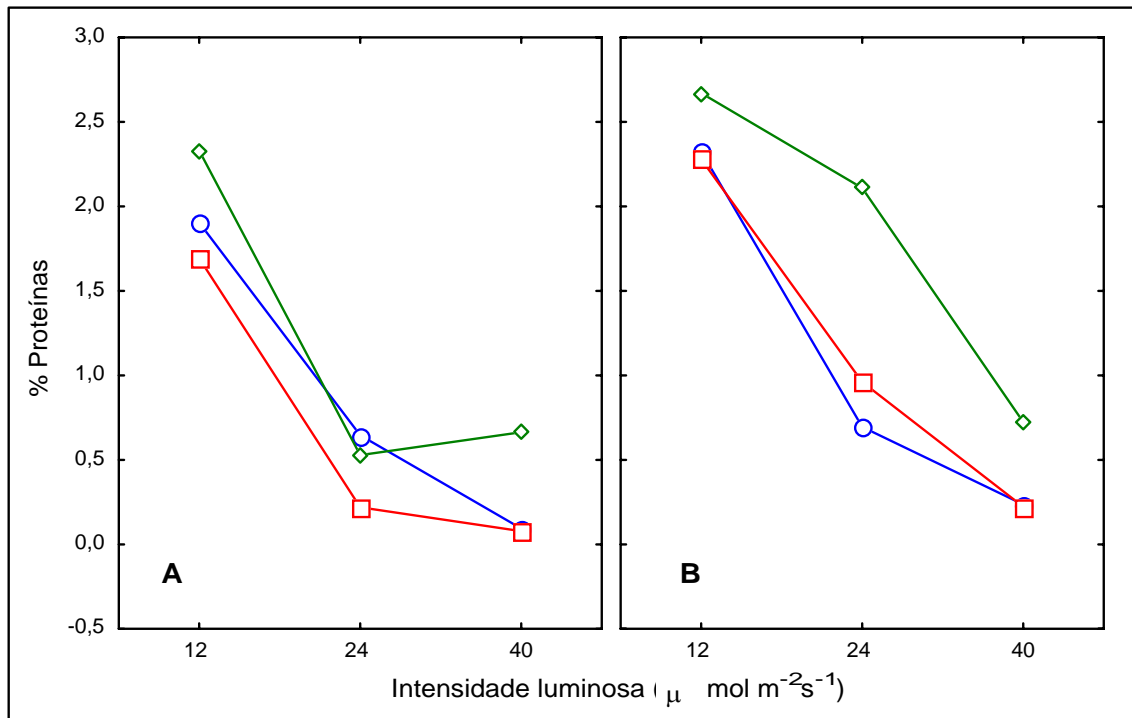


Figura 7 – Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (**A** = 20 °C; **B** = 25 °C), e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5 $\mu\text{M}$ ; —□— 5,0 $\mu\text{M}$ ; —◇— 10,0 $\mu\text{M}$ ).

Como padrão geral, os teores de carboidratos atingiram um pico na intensidade luminosa de 24  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (fig. 8). Este pico foi mais evidente a 25 °C do que a 20 °C, visto que nesta temperatura os teores de carboidratos não diferiram consistentemente entre os dois níveis mais elevados de luz, sendo que na menor intensidade luminosa, os valores são estatisticamente iguais nas três concentrações de fósforo inorgânico. Os dados também mostram que os teores de carboidratos aumentam com a disponibilidade de fósforo no meio, cujas diferenças entre estes níveis foram mais evidentes na temperatura de 25 °C.

Tabela 3 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e das distintas interações sobre a quantidade de proteínas produzida durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	P
1	1	2,76	2,76	25,97	0,00*
2	2	16,63	8,31	156,63	0,00*
3	2	1,89	0,95	17,83	0,00*
1x2	2	0,51	0,26	4,82	0,01*
1x3	2	0,24	0,12	2,25	0,12ns
2x3	4	0,03	0,01	0,32	0,86ns
1x2x3	4	0,33	0,08	3,16	0,02*
Resíduo	36	0,11	0,00		
Total	53	22,51			

Tabela 4 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e das distintas interações sobre a quantidade de carboidratos produzida durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	P
1	1	50,77	50,77	126,52	0,00*
2	2	37,02	18,51	92,25	0,00*
3	2	18,51	9,26	46,13	0,00*
1x2	2	2,67	1,33	6,64	0,00*
1x3	2	2,00	1,00	4,98	0,01*
2x3	4	0,51	0,13	1,26	0,30ns
1x2x3	4	2,72	0,68	6,79	0,00*
Resíduo	36	0,40	0,01		
Total	53	114,60			

## Fósforo tecidual

Os valores médios das percentagens de fósforo, encontrados nas cinzas das algas, submetidos à análise de variância apresentaram diferenças significantes entre si como resposta à ação dos três parâmetros ambientais e a suas interações (tabela 5).

À semelhança do que se observou para os teores de proteínas, as concentrações de fósforo tecidual diminuíram com o aumento da intensidade luminosa (fig. 9). Com o aumento da temperatura estas concentrações em geral diminuíram e apresentaram uma

redução mais pronunciada com o aumento da intensidade luminosa na menor concentração de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo. Os teores de fósforo tecidual aumentaram com o aumento da disponibilidade deste elemento no meio, mas a magnitude deste aumento variou em função da temperatura e intensidade luminosa.

Tabela 5 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (3) e das distintas interações sobre a quantidade de fósforo tecidual armazenada durante o experimento.

Fatores variáveis	Gl	SQ	QM	F	P
1	1	0,01	0,01	4,83	0,03*
2	2	0,10	0,05	54,12	0,00*
3	2	0,41	0,20	216,57	0,00*
1x2	2	0,00	0,00	2,63	0,09ns
1x3	2	0,02	0,01	10,56	0,00*
2x3	4	0,00	0,00	0,72	0,58ns
1x2x3	4	0,01	0,00	6,93	0,00*
Resíduo	36	0,00	0,00		
Total	53	0,559891			

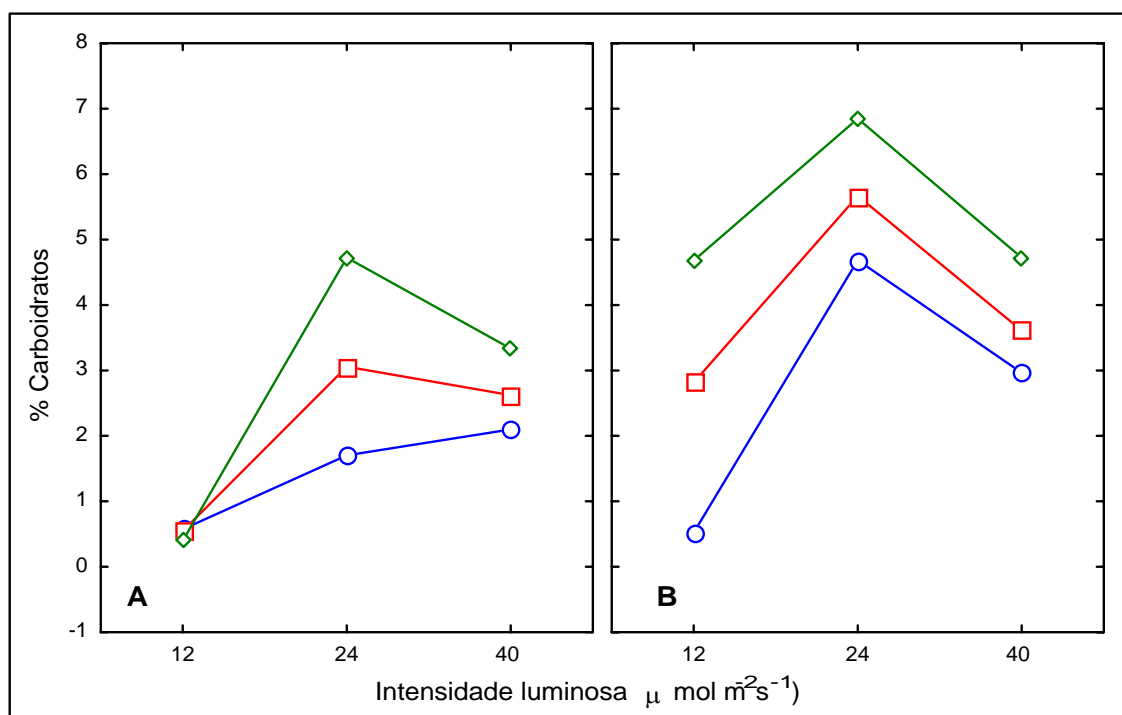


Figura 8 – Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (**A** = 20 °C; **B** = 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5 $\mu\text{M}$ ; —□— 5,0 $\mu\text{M}$ ; —◇— 10,0 $\mu\text{M}$ )

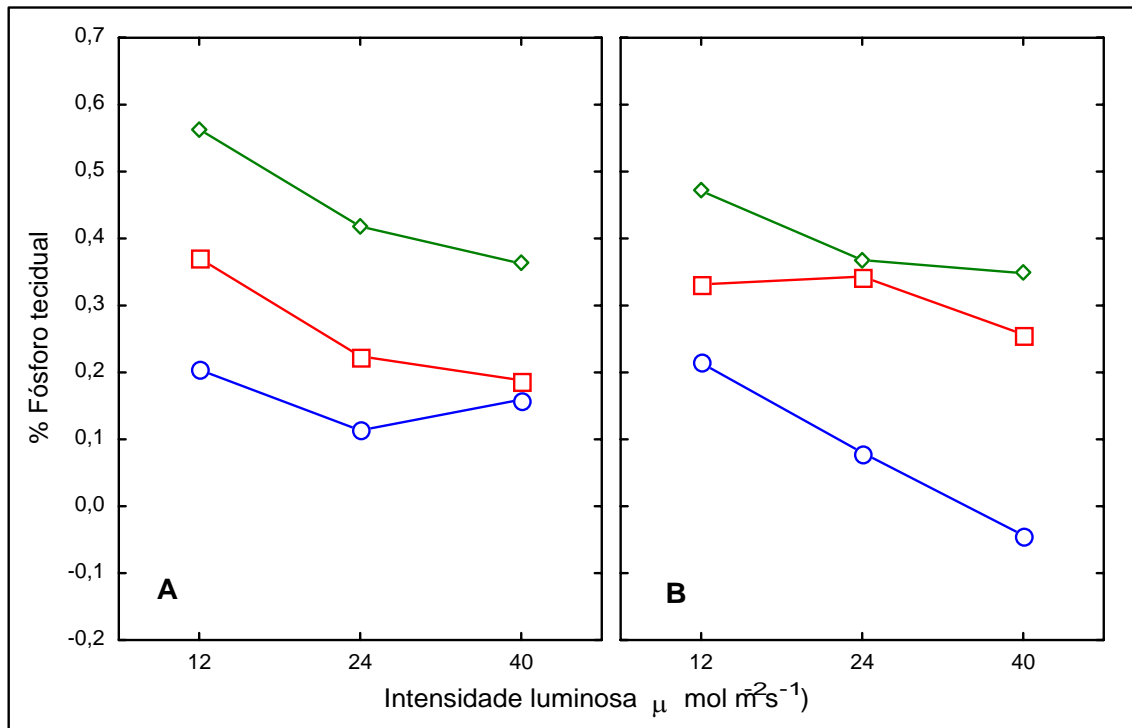


Figura 9 – Valores médios do incremento de fósforo tecidual em porcentagem de peso cinzas, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5 $\mu\text{M}$ ; —□— 5,0 $\mu\text{M}$ ; —◇— 10,0 $\mu\text{M}$ ).

## DISCUSSÃO

Os efeitos dos parâmetros abióticos, estudados em cultivos laboratoriais, estão relacionados com o local e época de coletas, os quais interferem na fisiologia das espécies estudadas (Pfetzing *et al.* 2000). *Gelidium crinale* foi coletada em ambiente que recebe grande contribuição de água proveniente da Laguna dos Patos (fig. 2), cujos parâmetros abióticos apresentam marcadas flutuações ao longo do ano, com grande carga de material em suspensão, o que impede a penetração de luz na água (Kantin & Baumgarten 1982; Perfeto 1998). Estudos revelaram que determinadas espécies de *Gelidium* podem crescer em meios de cultivos onde a intensidade de luz varia entre 40 a 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

(Fredriksen & Ruenes 1989; Sousa-Pinto *et al.* 1999). Contudo, em ambientes naturais, espécies deste gênero (Santelices 1988) tendem a crescer melhor em locais sombreados.

Em laboratório, os talos de *Gelidium crinale* foram inicialmente cultivados em alta intensidade luminosa ( $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), onde ocorreu um processo de foto-oxidação em seus pigmentos vermelhos, sendo posteriormente abandonado esta intensidade luminosa. Por outro lado, os talos que foram mantidos em baixa intensidade luminosa ( $8 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), durante processo de adaptação, mantiveram sua coloração natural. Provavelmente isto ocorra porque em seu habitat natural os talos desta alga crescem em locais protegidos da luz, além da presença de materiais em suspensão (observação pessoal). Em populações naturais de *Hypnea musciformis* (Durako & Dawes 1980) e de *Gracilaria cornea* (Orduña-Rojas *et al.* 2002), a manutenção da coloração dos talos, função dos elevados índices de pigmentos vermelhos (ficobilinas), está associada às baixas intensidades luminosas.

A concentração de proteínas nos talos das algas está associada ao tipo de íon nitrogênio disponível no meio, variando de acordo com sua concentração (Navaro-Ângulo & Robledo 1999). Ao longo de todo experimento com *G. crinale* a concentração deste íon foi mantida constante, sendo a produção de proteínas resultado da ação dos outros fatores estudados. Observou-se que a menor intensidade luminosa ( $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), associada aos maiores valores de temperatura ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e fósforo disponível no meio ( $10 \mu\text{M}$ ), foram os responsáveis pelo maior incremento de proteínas no talo da espécie estudada. Nossos resultados são consistentes em relação aos encontrados por Floreto & Thesima (1998) em talos de *Ulva pertusa*, onde constataram que em baixa intensidade luminosas ( $15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) ocorreu um aumento no teores de proteínas.

A ação sinérgica dos três parâmetros abióticos estudados interferiu de maneira significativa na produção de carboidratos solúveis nos talos de *G. crinale*. Este efeito pode ser observado quando um aumento de 5 °C na temperatura dos meios de cultivos (Fig. 8) ocasionou um aumento nos teores de carboidratos, acentuando as diferenças resultantes nas distintas concentrações de fósforo inorgânico dissolvido, quando comparados com a temperatura de 20 °C, sendo que os maiores percentuais de carboidratos foram observados nos maiores níveis de fósforo inorgânico dissolvido. A semelhança dos resultados aqui mostrados, Chopin *et al.* (1991) constataram que o aumento nos teores de carboidratos de reserva estava associado a elevadas concentrações de fósforo disponível no meio.

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

Nas temperaturas analisadas, observamos a existência de uma relação inversa entre as concentrações de proteínas e de carboidratos em resposta à intensidade luminosa a que foram submetidos os talos de *G. crinale*. Os teores elevados de proteínas ocorreram na intensidade luminosa de 12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , valor no qual foram registrados os menores valores de carboidratos, sendo que o oposto ocorreu em algas cultivadas a 24  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Esta relação inversa também foi observada na natureza através de avaliação sazonal com *Gymnogongrus griffithsiae* e *Grateloupia doryphora* (Perfeto, 1998) e em meios de cultivo com *Ulva pertusa* (Floreto & Thesima, 1998). Assim o período de síntese ativa de

proteínas está caracterizado pelo decréscimo da quantidade de carboidratos nas algas e vice-versa (Mouradi-Givernaud *et al.* 1993; Perfeto, 1998).

Na natureza, o acúmulo de fósforo nos tecidos algais é uma adaptação estratégica para manter o crescimento das algas, durante período de baixa concentração deste elemento na água do mar. Em culturas esta estratégia não se torna necessária, pois os nutrientes são mantidos em altos níveis, evitando a limitação do elemento fósforo (Chopin & Wagey, 1999).

Os resultados obtidos demonstraram que, além da elevada concentração do fósforo inorgânico dissolvido no meio, os baixos índices de intensidade luminosa e de temperatura foram responsáveis pelo acúmulo de fósforo tecidual em *G. crinale*. Os baixos níveis destes parâmetros físicos são responsáveis pelo retardamento no crescimento (Bellorin & Castro 1997; Hurtado-Ponde & Pondevida 1997) e diminuição das atividades metabólicas (Lobban & Harrison 1994), o que pode ser constatado na alga em estudo, quando ocorreu uma menor produção de carboidratos, permitindo que a concentração do fósforo inorgânico acumulado nos talos de *G. crinale* se mantivesse elevada.

A medida em que a intensidade luminosa e temperatura foram elevadas, associada à baixa concentração de fósforo inorgânico no meio (2,5  $\mu\text{M}$ ), provocaram uma diminuição dos teores de fósforo tecidual, resultando inclusive em valor negativo, quando comparado com a amostra controle. Estas reduções na concentração de fósforo tecidual não são resultantes de diluição por crescimento, pois durante o período experimental a alga não apresentou variação no seu crescimento. Porém, a partir do quinto dia de cultura, constatou-se que o fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultivos, com concentração inicial de 2,5  $\mu\text{M}$ , tinha sido totalmente absorvido, permanecendo ausente até o final do experimento. O fosfato inorgânico é transportado através da plasmalema das células, constituindo um grupo de fosfato intracelular incorporado em metabólitos fosforilados



(Chopin *et al.* 1990b) e armazenados em vacúolos ou em vesículas polifosfáticas (Lundberg *et al.* 1989); contudo, dependendo das condições ambientais alguns grupos de fosfato citoplasmático atravessam a membrana celular e reaparecem no meio como fosfato externo (Lobban & Harrison 1994). Portanto, acredita-se que tenha ocorrido uma perda do fósforo inorgânico das células de *G. crinale* para o meio, em função da falta deste elemento no meio de cultivo.

Como resposta às diferentes concentrações de fósforo inorgânico dissolvido, aplicadas aos meios de cultivos, os talos de *G. crinale* aumentaram a armazenagem deste nutriente, principalmente na maior concentração (10,0  $\mu\text{M}$ ). Esta capacidade de incorporar fósforo inorgânico e armazená-lo no interior das células, quando suas concentrações estão elevadas no meio, é denominada “consumo de luxo” (Salisbury & Ross, 1994), sendo uma estratégia considerada ecologicamente importante, pois esta quantidade excedente permite que as algas cresçam mesmo em situações onde o fósforo é limitante (Kuhl, 1974). O aumento na concentração de fósforo tecidual em *G. crinale* foi proporcional ao aumento da concentração de fósforo inorgânico nos meios de cultivo, coincidindo com resultados encontrados por Chopin *et al.* (1995), cujos teores de fósforo tecidual em *Chondrus crispus* aumentaram diretamente com o enriquecimento da água do mar com fósforo inorgânico, até uma concentração de 15,0  $\mu\text{M}$ .

## **Temperatura x Fósforo inorgânico dissolvido x Salinidade**

### **RESULTADOS**

Com a fixação da intensidade luminosa em  $24 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , estudou-se a ação individual e o sinergismo dos parâmetros ambientais temperatura, salinidade e fósforo inorgânico dissolvido no meio de cultivo sobre a composição química dos talos de *G. crinale*.

Os resultados obtidos estão registrados na tabela 6. O maior incremento na produção de proteínas ocorreu na maior temperatura e maior concentração de fósforo inorgânico dissolvido, com valores máximos entre 2,62 e 2,83 % nas salinidades de 20 e 15 ups, respectivamente. Para carboidratos, a maior salinidade (25 ups), associada à temperatura de 25 °C e concentração elevada de fósforo inorgânico disponível no meio, proporcionou uma elevação de 6,85 % na concentração desta biomolécula, em relação à amostra controle. Após o cultivo o menor incremento nos teores de fósforo nos talos da alga ocorreu nas culturas cuja salinidade foi de 25 ups, nas temperaturas de 20 e 25 °C e concentração de fósforo inorgânico de 2,5  $\mu\text{M}$ , com valores variando entre 0,08 e 0,11 %, enquanto o maior aumento de fósforo tecidual (0,80 %) em relação à amostra controle foi registrado na menor temperatura de cultivo, associada à baixa salinidade (15 ups) e alta concentração de fósforo inorgânico (10,0  $\mu\text{M}$ ) dissolvido no meio de cultivo.

A diferença entre os valores dos componentes químicos, obtidos após análises químicas, e os relativos à amostra controle está registrada na tabela 6B, cujos valores foram submetidos à análise de variância fatorial. Para comparação de médias foi determinada a diferença mínima significativa (d.m.s.) obtida através do teste de “posthoc” de Duncan, apresentada nos anexos 4 para proteínas, 5 e 6 para carboidratos e 7 para fósforo tecidual.

Tabela 6 – Valores médios dos componentes químicos nas diferentes condições de cultivo (A) e a diferença entre cada um dos valores médios e os controles (B), expressos em % de peso seco de alga para os teores de proteínas e carboidratos e % de peso de cinzas para fósforo tecidual. Médias em B com letras iguais sobrescritas não diferem estatisticamente entre si (Duncan,  $P = 0,05$ ); TEMP = Temperatura; F I D = Fósforo inorgânico dissolvido.

Proteínas	A					B				
	Salinidade	10 ups	15 ups	20 up	25 ups	Controle	10 ups	15 ups	20 ups	25 ups
TEMP/F I D										
15°C/2,5 µM		22,93	22,98	22,97	23,03	22,36	0,57 <sup>abc</sup>	0,62 <sup>abcd</sup>	0,61 <sup>abc</sup>	0,67 <sup>abcde</sup>
15°C/5,0 µM		23,16	23,10	22,76	22,90	22,36	0,80 <sup>bcdef</sup>	0,74 <sup>bcde</sup>	0,40 <sup>ab</sup>	0,54 <sup>abc</sup>
15°C/10,0 µM		23,29	23,10	23,02	22,74	22,36	0,93 <sup>cdefg</sup>	0,74 <sup>bcde</sup>	0,66 <sup>abcde</sup>	0,38 <sup>ab</sup>
20°C/2,5 µM		21,54	21,75	21,93	21,80	21,15	0,38 <sup>ab</sup>	0,60 <sup>abc</sup>	0,78 <sup>bcdef</sup>	0,65 <sup>abcd</sup>
20°C/5,0 µM		21,75	22,28	22,13	21,37	21,15	0,60 <sup>abc</sup>	1,13 <sup>defgh</sup>	0,98 <sup>cdefg</sup>	0,22 <sup>a</sup>
20°C/10,0 µM		21,78	22,40	22,86	21,68	21,15	0,63 <sup>abcd</sup>	1,25 <sup>fghi</sup>	1,71 <sup>ij</sup>	0,53 <sup>abc</sup>
25°C/2,5 µM		22,14	22,54	22,72	21,89	21,19	0,95 <sup>cdefg</sup>	1,35 <sup>ghi</sup>	1,53 <sup>hi</sup>	0,70 <sup>abcde</sup>
25°C/5,0 µM		22,34	23,61	23,24	22,15	21,19	1,15 <sup>efgh</sup>	2,42 <sup>kl</sup>	2,05 <sup>jk</sup>	0,96 <sup>cdefg</sup>
25°C/10,0 µM		22,56	24,03	23,81	23,30	21,19	1,37 <sup>ghi</sup>	2,83 <sup>l</sup>	2,62 <sup>l</sup>	2,11 <sup>jk</sup>
<b>Carboidratos</b>										
15°C/2,5 µM		49,8	49,63	49,89	50,34	48,99	0,81	0,65	0,90	1,35
15°C/5,0 µM		50,15	49,9	50,19	50,56	48,98	1,17	0,92	1,20	1,58
15°C/10,0 µM		50,63	51,44	51,67	52,11	48,99	1,64	1,88	1,96	2,19
20°C/2,5 µM		47,97	48,26	48,49	48,92	47,22	0,75	1,04	1,27	1,70
20°C/5,0 µM		49,31	49,45	49,64	50,28	47,22	2,09	2,23	2,42	3,06
20°C/10,0 µM		49,41	49,40	51,05	51,94	47,22	2,19	2,18	3,83	4,72
25°C/2,5 µM		49,29	51,09	52,43	53,37	48,69	1,07	2,40	3,74	4,68
25°C/5,0 µM		50,27	52,34	53,40	54,35	48,69	1,58	3,65	4,71	5,66
25°C/10,0 µM		51,48	53,17	54,45	55,54	48,69	2,79	4,48	5,76	6,85
<b>Fósforo Tecidual</b>										
15°C/2,5 µM		2,26	2,17	2,04	1,94	1,66	0,60 <sup>m</sup>	0,51 <sup>kl</sup>	0,38 <sup>fghi</sup>	0,27 <sup>bcd</sup>
15°C/5,0 µM		2,39	2,23	2,09	1,96	1,66	0,73 <sup>n</sup>	0,57 <sup>lm</sup>	0,43 <sup>hij</sup>	0,30 <sup>bcde</sup>
15°C/10,0 µM		2,47	2,28	2,16	1,98	1,66	0,80 <sup>o</sup>	0,62 <sup>m</sup>	0,50 <sup>kl</sup>	0,31 <sup>cdef</sup>
20°C/2,5 µM		2,17	1,98	1,93	1,77	1,66	0,51 <sup>kl</sup>	0,32 <sup>cdef</sup>	0,27 <sup>bcd</sup>	0,11 <sup>a</sup>
20°C/5,0 µM		2,23	2,01	1,92	1,88	1,66	0,57 <sup>lm</sup>	0,36 <sup>efgh</sup>	0,26 <sup>bc</sup>	0,22 <sup>b</sup>
20°C/10,0 µM		2,35	2,20	2,07	2,08	1,66	0,69 <sup>n</sup>	0,54 <sup>lm</sup>	0,41 <sup>ghi</sup>	0,42 <sup>ghi</sup>
25°C/2,5 µM		2,20	2,07	2,02	1,85	1,77	0,43 <sup>hij</sup>	0,30 <sup>bcde</sup>	0,25 <sup>bc</sup>	0,08 <sup>a</sup>
25°C/5,0 µM		2,29	2,22	2,04	2,11	1,77	0,52 <sup>kl</sup>	0,45 <sup>ijk</sup>	0,27 <sup>bcd</sup>	0,34 <sup>defg</sup>
25°C/10,0 µM		2,37	2,22	2,19	2,14	1,77	0,60 <sup>m</sup>	0,45 <sup>ijk</sup>	0,42 <sup>ghi</sup>	0,37 <sup>efgh</sup>

## Proteínas

A análise de variância, através da qual foi avaliada a ação individual e interativa dos parâmetros abióticos, está mostrada na tabela 7. O incremento da quantidade de proteínas nos talos de *G. crinale* foi significativamente afetado pela ação individual de cada parâmetro estudado, assim como pela ação sinérgica dos mesmos.

Através do coeficiente de correlação de Pearson (tabela 10), os valores médios do incremento de proteínas apresentaram correlações positivas, altamente significativas, com temperatura e fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultivos, porém com a salinidade esta correlação foi negativa, porém não significativa.

Tabela 7 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de proteínas produzida durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	P
1	2	11,20	5,60	139,61	0,00*
2	2	2,55	1,28	31,84	0,00*
3	3	2,22	0,74	27,72	0,00*
1x2	4	0,84	0,21	10,45	0,00*
1x3	6	0,77	0,13	9,62	0,00*
2x3	6	0,24	0,04	2,97	0,01*
1x2x3	12	0,17	0,01	2,12	0,03*
Resíduo	72	0,08	0,00		
Total	107	18,08			

Em todas as condições de cultivo constatou-se um incremento na produção de proteínas (fig. 10). Os menores valores foram registrados na temperatura de 15 °C, sob a qual não se verificou uma variação acentuada entre os valores médios, quando analisados em função da salinidade e fósforo inorgânico dissolvido, formando agrupamentos estatisticamente iguais, ao nível de 5% de significância, segundo teste de Duncan (anexo 4). Por outro lado, o aumento da temperatura revelou uma elevação no acúmulo de

proteínas nos talos da alga, principalmente nas salinidades intermediárias de 15 e 20 ups e nas concentrações de 5,0 e 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo.

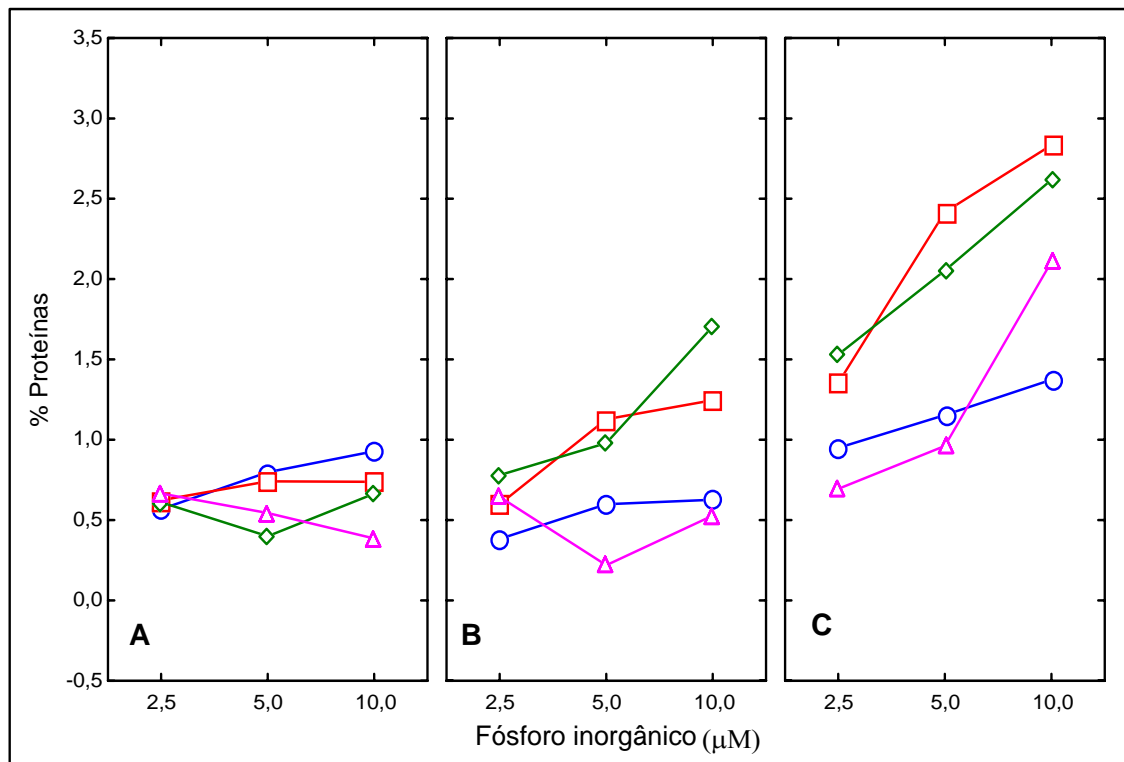


Figura 10 – Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre fósforo inorgânico dissolvido no meio temperatura (A = 15 °C B = 20 °C; C = 25 °C), salinidade (—□— 10 ups; —□— 15 ups; —◇— 20 ups; —△— 25 ups)

## Carboidratos solúveis

A tabela 8 representa a análise de variância, onde foram avaliados a ação independente dos parâmetros abióticos e suas interações sobre os componentes químicos estudados nos talos de *G. crinale*. Diferente do que ocorreu com os valores para proteínas, a interação de terceira ordem não afetou significativamente a produção de carboidratos solúveis. Contudo, a interação de segunda ordem mostrou que as ações da temperatura, associada às diferentes concentrações de fósforo inorgânico dissolvido, agiram independentemente do parâmetro salinidade sobre a produção de carboidratos. Por outro lado, uma outra interação, também de segunda ordem ocorreu entre salinidade e

temperatura, interferindo sobre o aumento do conteúdo de carboidratos, independente da ação de fósforo inorgânico disponível no meio.

A tabela 10, correspondente ao coeficiente de correlação de Pearson, mostra que o incremento nos valores médios desta biomolécula está diretamente relacionado com os valores dos parâmetros abióticos e com o incremento nos teores de proteínas, com correlações altamente significativas.

Tabela 8 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de carboidratos produzida durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	P
1	2	62,23	31,11	194,54	0,00*
2	2	25,31	12,65	79,12	0,00*
3	3	19,66	6,55	61,46	0,00*
1x2	4	1,27	0,32	3,97	0,01*
1x3	6	5,38	0,90	16,83	0,00*
2x3	6	0,30	0,05	0,95	0,47ns
1x2x3	12	0,31	0,03	0,96	0,49ns
Resíduo	72	0,32	0,00		
Total	107	114,78			

De uma maneira geral, os teores de carboidratos aumentaram significativamente com a elevação da temperatura e disponibilidade de fósforo nos meios de cultivos (Fig. 11), atingindo valores máximos a 25 °C de temperatura e alta concentração de fósforo inorgânico dissolvido. Na temperatura de 15 °C a produção desta biomolécula foi baixa, com valores médios de incrementos considerados iguais estatisticamente nas concentrações de 2,5 e 5,0 µM de fósforo inorgânico dissolvido no meio.

A figura 12 revela mais uma vez que a elevação da temperatura é responsável pelo incremento de carboidrato nos talos da espécie estudada. Contudo, em virtude da interação significativa da temperatura e salinidade, observou-se que as diferenças registradas nos teores desta biomolécula entre as diferentes temperaturas dependeram das diferentes

concentrações de salinidade, aumentando diretamente com o aumento deste parâmetro. Na temperatura de 15 °C, as diferentes salinidades não interferiram na produção de carboidratos, pois os valores obtidos mantiveram-se estatisticamente semelhantes.

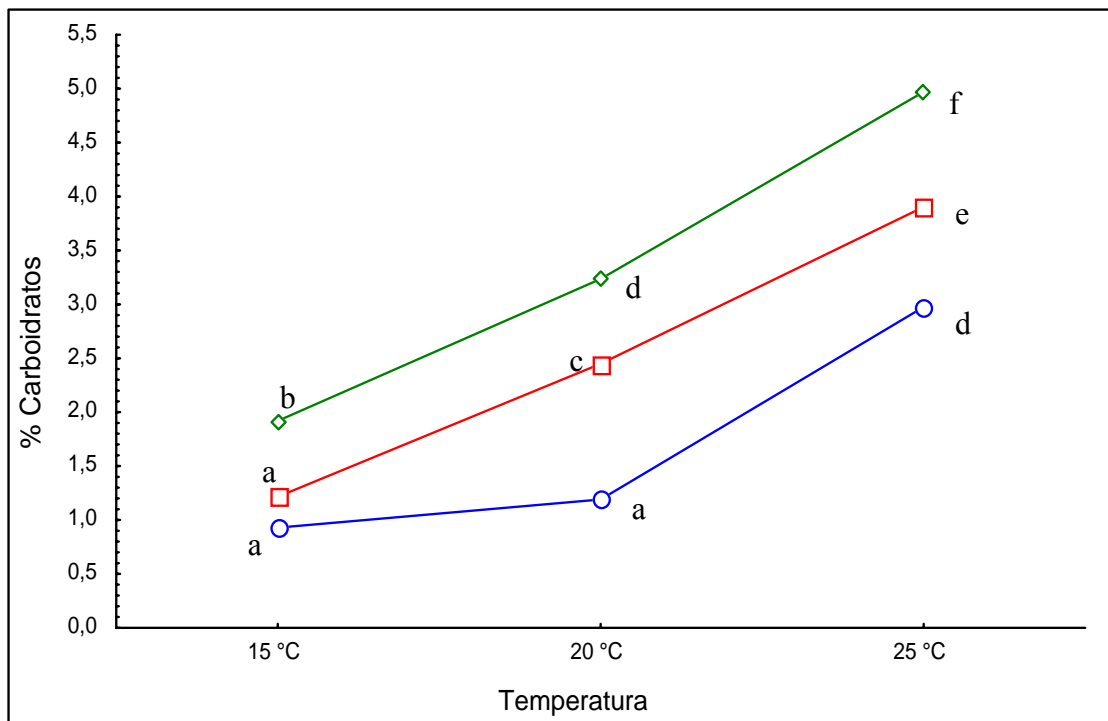


Figura 11 – Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de segunda ordem entre temperatura e fósforo inorgânico dissolvido no meio (—○— 2,5µM; —□— 5,0µM; —◇— 10,0µM) submetidos ao Teste de Duncan, onde médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5%.

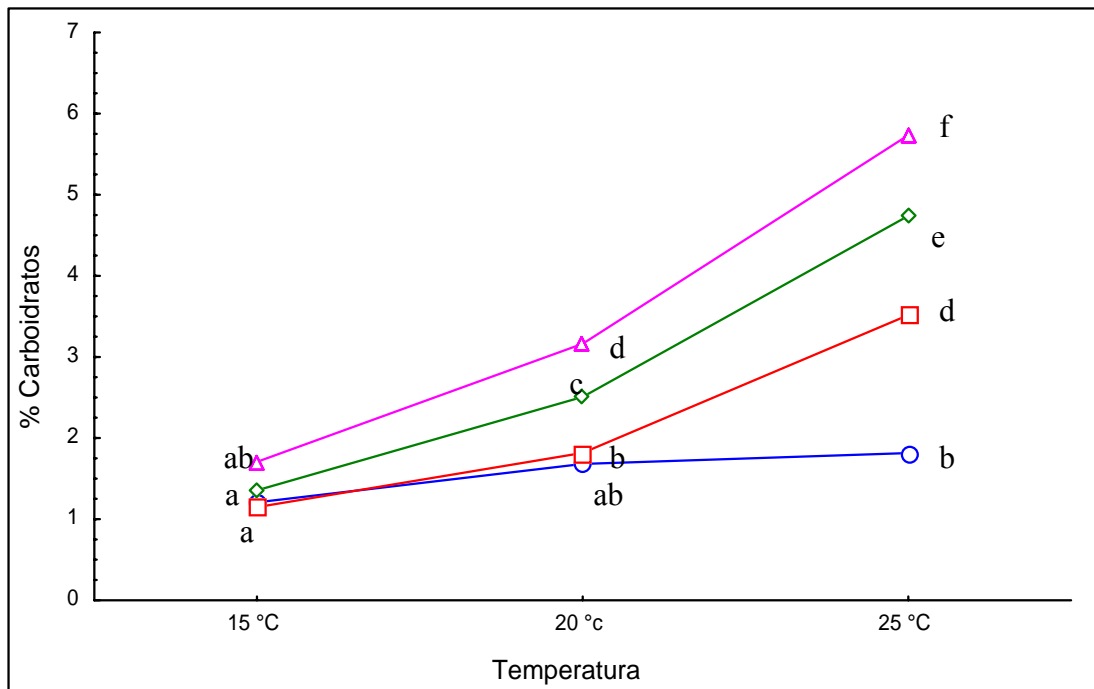


Figura 12 – Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de segunda ordem entre temperatura e salinidade (—○— 10 ups; —□— 15 ups; —◇— 20 ups; —△— 25 ups), submetidos ao Teste de Duncan, onde médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5%.



## Fósforo tecidual

Através da análise de variância apresentada na tabela 9, observou-se a ação individual dos parâmetros abióticos afetando significativamente o aumento das concentrações internas de fósforo nos talos de *G. crinale*, o mesmo ocorrendo com a interação de terceira ordem entre os parâmetros analisados.

Tabela 9 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da concentração de fósforo inorgânico adicionado ao meio de cultivo (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de fósforo tecidual armazenada durante o experimento.

Fatores variáveis	GI	SQ	QM	F	P
1	2	0,17	0,09	98,76	0,00*
2	2	0,27	0,14	154,99	0,00*
3	3	0,56	0,19	319,82	0,00*
1x2	4	0,02	0,00	8,74	0,00*
1x3	6	0,01	0,00	7,55	0,00*
2x3	6	0,01	0,00	3,00	0,01*
1x2x3	12	0,01	0,00	3,57	0,00*
Residuo	72	0,00	0,00		
Total	107	1,05			

Os teores de fósforo tecidual, acumulados durante os experimentos, ao serem analisados através do coeficiente de correlação de Pearson (tabela 10), apresentaram-se diretamente relacionados com os índices de fósforo inorgânico disponível nos meios de cultivos. Com os demais parâmetros abióticos analisados, temperatura e salinidade e com os incrementos nos valores de carboidratos, a correlação observada foi negativa e altamente significativa. Contudo, com os incrementos de proteínas, a correlação embora negativa, não foi altamente significativa, com  $P > 0,001$ .

A partir dos resultados analisados pela interação de terceira ordem, observou-se que a quantidade de fósforo acumulada nos talos da alga decresceu significativamente com o aumento da temperatura, da salinidade e com a diminuição da concentração de fósforo inorgânico disponível nos meios de cultivo. O aumento nos valores de fósforo tecidual está relacionado com a elevação da concentração deste elemento no meio de cultivo. Por outro lado, a salinidade também é um fator preponderante no processo de armazenamento deste componente celular, principalmente quando a temperatura é baixa (fig. 13).

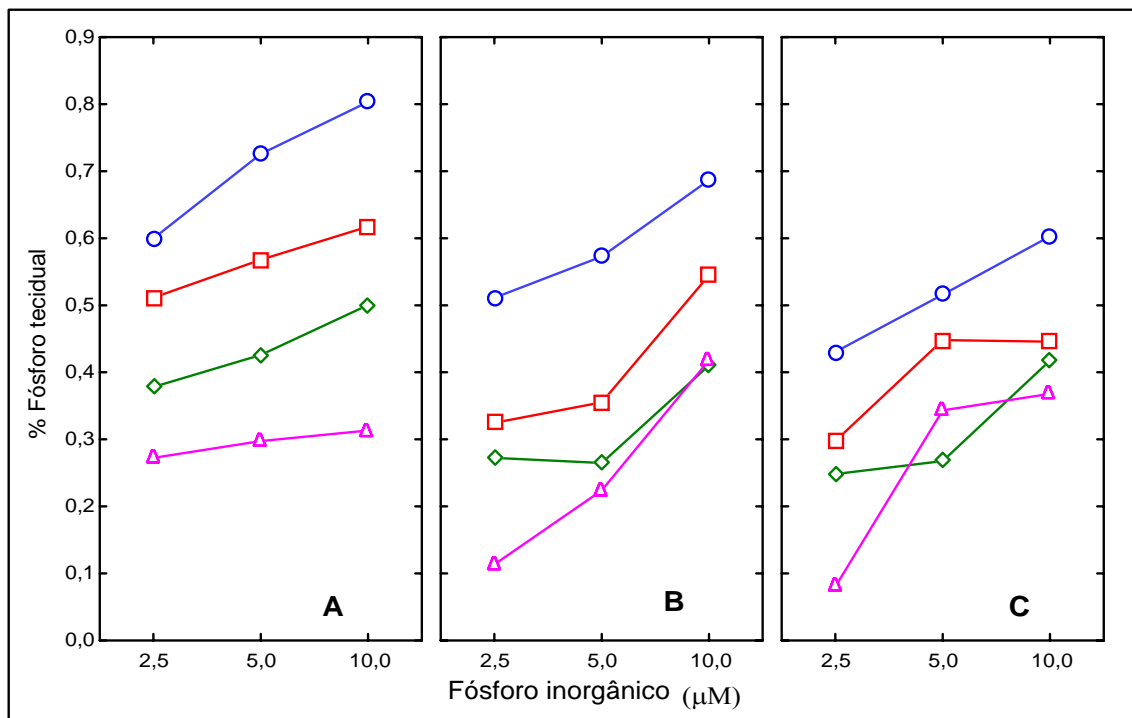


Figura 13 – Valores médios do incremento de fósforo tecidual em porcentagem de peso cinzas, obtidos pela interação de terceira ordem entre concentração de fósforo inorgânico dissolvido no meio, temperatura (**A** = 15 °C; **B** = 20 °C; **C** = 25 °C) e salinidade (—○— 10 ups; —□— 15 ups; —◇— 20 ups; —△— 25 ups).

Tabela 10 - Análises do coeficiente de correlação de Pearson para fatores abióticos temperatura, fósforo inorgânico dissolvido (F I D), salinidade e componentes químicos, proteínas, carboidrato fósforo tecidual de *G. crinale*. Correlações significativas estão marcadas com \* ( $P = 0,05$ ).

VARIÁVEIS	Temperatura	F. I. D.	Salinidade	Proteínas	Carboidrato	Fósforo Tecidual
Temperatura	1,00	0,00	0,00	0,61*	0,64*	- 0,32*
	p= ---	p=1,00	p=1,00	p=,000*	p=,000*	p=,001*
F I D		1,00	0,00	0,32*	0,41*	0,43*
		p= ---	p=1,00	p=0,001*	p=0,000*	p=0,000*
Salinidade			1,00	- 0,04	0,44*	- 0,75*
			p= ---	p=0,681	p=0,000*	p=0,000*
Proteínas				1,00	0,58*	- 0,02
				p= ---	p=0,000*	p=0,801
Carboidrato					1,00	- 0,29*
					p= ---	p=0,004*
Fósforo Tecidual						1,00
						p= ---

## DISCUSSÃO

Em *G. crinale* os teores de proteínas apresentaram uma correlação positiva altamente significativa com os parâmetros temperatura e fósforo inorgânico dissolvido, porém com salinidade foi observada uma correlação negativa não significativa (tabela 10). Esta relação com a salinidade pode ser reflexo dos elevados teores desta biomolécula (23,24 % a 24,03%) terem ocorrido nos valores intermediários (15 e 20 ups) deste parâmetro físico. A interação entre salinidade e fósforo inorgânico dissolvido permitiu observar que, para obter um incremento máximo nos teores de proteínas entre 2,42 a 2,83 %, os talos de *G. crinales* podem ser cultivados em condições onde a concentração do fósforo inorgânico disponível no meio seja de 5,0 ou 10,0  $\mu\text{M}$ , na salinidade de 15 ups, ou de 10,0  $\mu\text{M}$  na salinidade de 20 ups, desde que a temperatura seja constante a 25 °C, pois os valores médios, relativos ao incremento da biomolécula, nestas combinações, formam

entre si grupos estatisticamente iguais ao nível de significância de 5 % (tabela 6B). Em *Gracilaria tenuistipitata* var. *liuu* (Israel *et al.* 1999), os teores de proteínas variaram de 20 a 22,5 % de peso seco entre as salinidades de 20 ups e 30 ups e temperaturas de 20 °C e 30 °C . Estes resultados foram similares aos encontrados para *G. crinale*, embora para os autores (*op. cit.*) nem a salinidade nem a temperatura influenciaram na quantidade de proteínas encontrada nos talos das algas, a qual se manteve constante nos tratamentos avaliados. Estudo realizado com *Gelidium coulteri* (Macler, 1988) demonstrou que os teores de proteínas foram elevados quando os talos da alga estavam expostos a salinidades elevadas, entre 25 a 50 ups. Porém, estes valores foram inferiores aos obtidos para o material coletado no ambiente, antes de serem colocados em cultivo, havendo desta forma uma diminuição na quantidade de proteína nos talos da alga, fato que não foi constatado em nossos experimentos, pois após o término do cultivo observou-se um incremento de proteínas nos talos de *G. crinale*.

Os conteúdos de carboidratos apresentaram uma correlação positiva, altamente significativa, com temperatura, salinidade e fósforo inorgânico dissolvido. Contudo, uma interação entre os três parâmetros, agindo efetivamente sobre o aumento dos teores desta biomolécula, não foi observada. Orduña-Rojas *et al.* (2002) constataram que os altos níveis de carboidratos, observados em *Gracilaria cornea*, ocorreram durante os meses em que os níveis de salinidade e temperatura foram elevados, atingindo valor máximo de 56 % do peso seco da alga. Ao relacionar o conteúdo de carboidratos com a variação da temperatura, Pfetzing *et al.* (2000) constataram que em *Pelvetia canaliculata* ocorreu um aumento de 50 % nos teores de manitol e de volemitol em ambientes cuja temperatura variou entre 20 e 27 °C. Quando a temperatura do meio de cultivo de *G. crinale* foi elevada para o valor máximo de 25 °C ocorreu um aumento considerável nos valores de

carboidratos, com um máximo de 55,54 % (tabela 6A). Nesta temperatura observou-se que as diferenças no incremento desta biomolécula estão relacionadas com os distintos níveis de salinidade, enquanto que nas demais temperaturas estudadas estas diferenças não foram tão marcantes (fig. 12). Em estudos realizados por Macler (1988) em *Gelidium coulteri* ficou constatado que o aumento no conteúdo de floridosídeo, carboidrato de baixo peso molecular, estava diretamente relacionado com o aumento da salinidade do meio.

As algas marinhas parecem ajustar um balanço no fluxo de carbono, direcionando-o para produção e armazenamento de carboidratos de reserva e/ou estrutural em resposta a suas necessidades fisiológicas. O enriquecimento da água do mar com fósforo inorgânico afeta significativamente o conteúdo de polissacarídeos. Chopin *et al.* (1991), Chopin & Wagey (1999) sugerem que este elemento pode ser um importante regulador do fluxo de carbono, particularmente em *Chondrus crispus* e *Agardhiella subulata*, principalmente para a síntese de glicose e amido ou de galactose e carragenina.

No presente estudo, observou-se uma correlação positiva entre o conteúdo de carboidratos e fósforo inorgânico disponível nos meios de cultivo ( $r = 0,407$ ;  $p = 0,000$ ). O incremento no conteúdo de carboidratos atingiu um pico nas máximas concentrações de fósforo inorgânico dissolvido (fig. 11). Nossos resultados são consistentes com os encontrados em *Gelidium robustum* (Sousa-Pinto *et al.* 1999) e *Agardhiella subulata* (Chopin *et al.* 1991), sendo que nestas espécies os carboidratos como ágar e amido de florídea, respectivamente, apresentaram teores elevados quando estas espécies estavam sujeitas a regimes de alta concentração de fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultivo.

De uma maneira geral as macroalgas apresentam diferentes necessidades e tolerâncias às concentrações de fósforo inorgânico disponível no meio marinho. Algumas

espécies são tolerantes a altas concentrações deste elemento no meio marinho, muitas vezes proveniente da poluição doméstica (Santelices 1988), enquanto outras não o são, interferindo inclusive em seus processos metabólicos.

O conteúdo de fósforo tecidual, em função da concentração deste elemento disponível no meio de cultivo, varia de espécie para espécie. Em *Chondrus crispus* (Chopin *et al.* 1995) o nível de saturação de fósforo tecidual ocorreu quando foi adicionado ao meio de cultivo uma concentração de 6,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico. Para *Agardhiella subulata* (Chopin *et al.* 1990a), o conteúdo de fósforo tecidual aumentou constantemente com a elevação de fósforo inorgânico dissolvido até a concentração de 15,0  $\mu\text{M}$ . Nos experimentos realizados com *G. crinale* observou-se que os altos teores deste elemento tecidual ocorreram nos cultivos com máxima concentração de fósforo disponível (10,0  $\mu\text{M}$ ), principalmente quando a temperatura aplicada ao meio de cultivo foi a mais baixa (15 °C). A ação da salinidade no acúmulo de fósforo tecidual está perfeitamente caracterizada através de uma forte correlação negativa ( $r = - 0,749$ ;  $p = 0,000$ ), onde os baixos níveis deste parâmetro são responsáveis pelo incremento deste componente químico nos talos da alga. Esta elevação de fósforo tecidual em *G. crinale* aconteceu durante um período totalmente adverso à produção de proteínas e carboidratos.

Segundo Kuhl (1968, 1974), o fósforo possui um papel importante nos processos celulares, envolvendo a geração e transformação da energia metabólica, constatando que células com altos conteúdos de carboidratos são deficientes em quantidade de fósforo tecidual. Neste estudo com *G. crinale* pode-se observar uma correlação negativa, altamente significativa, entre os teores de carboidratos e fósforo tecidual (tabela 10). Esta relação inversa pode ser uma resposta ao processo de absorção de fósforo inorgânico dissolvido no meio por parte da alga, utilizando energia proveniente dos carboidratos de

reserva e/ou da parede celular, para acumulá-lo em seus tecidos. Dentro de determinados níveis de concentração, os teores de fósforo tecidual controlam o conteúdo de carboidratos (carragenina) em *Chondrus crispus* (Chopin *et al.* 1995), e quando estes níveis se elevam muito ocorre uma queda acentuada nos teores deste polissacarídeo. Para Chopin *et al.* (1990 a,b, 1991), quando a atividade fotossintética não produz energia suficiente para os processos metabólicos, as algas podem utilizar suas reservas de carboidratos.

Normalmente os estudos com algas marinhas revelam uma correlação negativa entre os teores de proteínas (nitrogênio tecidual) e a concentração de carboidratos, principalmente em seu habitat natural, onde a variação dos parâmetros físicos e químicos está relacionada com a sua sazonalidade (Dawes *et al.* 1974; Durako & Dawes 1980, Mouradi-Givernaud *et al.* 1993; Perfeto 1998; Orduña-Rojas *et al.* 2002). Esta mesma correlação também foi observada neste trabalho, quando se estudou o efeito sinérgico da temperatura, intensidade luminosa e fósforo inorgânico dissolvido no meio de cultura, mantendo-se constante a salinidade do cultivo (dados não mostrados). Porém ao avaliar-se a ação de diferentes níveis de salinidade, associados a temperatura e concentração de fósforo inorgânico disponível no meio, em uma intensidade luminosa constante, a relação entre os teores de proteínas e carboidratos revelaram uma correlação positiva ( $r = 0,576$ ;  $p = 0,000$ ) altamente significativa. Acredita-se que esta interação possa ser uma resposta de ajuste osmótico, por parte de *G. crinale*, às flutuações de salinidade nos meios de cultivo, pois as algas marinhas procuram manter sua pressão de turgor constante acima das concentrações osmóticas externas (Kirst & Bisson 1979; Kirst 1989). Este balanço osmótico também pode ser alcançado através do acúmulo dos solutos orgânicos como aminoácidos e/ou carboidratos (Dawes, 1986; Lüning, 1990). Para Floreto & Teshima (1998) o aumento significativo nos níveis de proteínas e carboidratos em *Ulva pertusa*, quando exposta à baixa salinidade não reflete a adaptação de osmorregulação. Em *G.*

*crinales* os resultados obtidos não são consistentes com os encontrados para *U. pertusa*, pois o aumento nos teores destes componentes está relacionado diretamente com a elevação dos níveis deste parâmetro abiótico. Por outro lado, Glazer *et al.* (1994) observaram uma relação direta entre o aumento de carboidrato de baixo peso molecular (floridosídeo) com a elevação dos níveis de salinidade, acreditando que este aumento seja em função do processo de osmoaclimação.



## Temperatura x Intensidade luminosa x Salinidade

### RESULTADOS

Nas interações anteriores observou-se que o aumento no conteúdo de proteínas, carboidratos e fósforo tecidual ocorreu quando a concentração de fósforo inorgânico dissolvido no meio de cultivo era a mais elevada (10,0  $\mu\text{M}$ ). Com base nestes resultados, fixou-se o teor deste elemento químico em sua maior concentração, com o intuito de estudar-se a ação individual e sinérgica dos parâmetros abióticos como temperatura, intensidade luminosa e salinidade, nos diferentes meios de cultivos a que foram submetidos os talos vegetativos de *G. crinale*.

Através da tabela 11 pode-se observar que a quantidade de proteínas foi elevada, em média 24,35 % de peso seco de alga, com um incremento médio de 3,72 % em relação á amostra controle, principalmente em condições de cultivo onde a salinidade de 15 ups estava associada a baixa intensidade luminosa (12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e alta temperatura (25 °C). Contudo, em carboidratos o pico máximo de saturação ocorreu em meio de cultivo onde o índice de salinidade foi máxima (25 ups), em nível médio de intensidade luminosa para o experimento (24  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e temperatura de 25 °C, com um valor de 55,54 % de peso seco, correspondendo ao incremento máximo de 6,85 %. A baixa salinidade (10 ups), associada à baixa intensidade luminosa (12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e baixa temperatura (20 °C), foram responsáveis pelo acúmulo de fósforo tecidual, com um incremento máximo de 1,09 % em base ao peso de cinzas nos talos da espécie em estudo.

Os resultados registrados na tabela 11B foram submetidos ao teste estatístico “posthoc” de Duncan, onde a comparação das médias, para a determinação da diferença mínima significativa entre elas, está apresentada nos anexos 8, 9 e 10, referentes aos componentes químicos proteínas, carboidratos e fósforo tecidual, respectivamente.

Tabela 11 – Valores médios dos componentes químicos nas diferentes condições de cultivo (**A**) e a diferença entre cada um dos valores médios e os controles (**B**), expressos em % de peso seco de alga para os teores de proteínas e carboidratos e % de peso de cinzas para fósforo tecidual. Médias em **B** com letras iguais sobrescritas não diferem estatisticamente entre si (Duncan,  $P = 0,05$ ).

Proteínas	A					B				
	Salinidade	10 ups	15 ups	20 ups	25 ups	Controle	10 ups	15 ups	20 ups	25 ups
Luz/Temperatura										
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		22,77	23,31	23,37	23,05	20,72	2,04 <sup>fg</sup>	2,59 <sup>hij</sup>	2,64 <sup>hij</sup>	2,33 <sup>ghi</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		21,99	22,4	22,86	21,68	21,15	0,84 <sup>abc</sup>	1,25 <sup>cde</sup>	1,71 <sup>ef</sup>	0,53 <sup>a</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		20,9	21,3	21,63	21,13	20,47	0,43 <sup>a</sup>	0,83 <sup>abc</sup>	1,16 <sup>bcd</sup>	0,66 <sup>ab</sup>
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		22,36	24,35	23,83	23,3	20,63	1,73 <sup>fgh</sup>	3,72 <sup>l</sup>	3,20 <sup>k</sup>	2,67 <sup>ij</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		22,57	24,03	23,81	23,3	21,19	1,37 <sup>de</sup>	2,83 <sup>jk</sup>	2,62 <sup>hij</sup>	2,11 <sup>fg</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		21,46	21,93	21,58	21,26	20,54	0,92 <sup>abcd</sup>	1,39 <sup>de</sup>	1,04 <sup>bcd</sup>	0,72 <sup>ab</sup>
<b>Carboidratos</b>										
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		45,33	45,55	45,76	46,08	45,68	-0,35 <sup>a</sup>	-0,13 <sup>ab</sup>	0,08 <sup>ab</sup>	0,40 <sup>bc</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		49,08	49,74	50,49	51,94	47,22	1,86 <sup>ef</sup>	2,52 <sup>fg</sup>	3,27 <sup>hi</sup>	4,72 <sup>j</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		50,04	50,84	51,80	52,60	49,27	0,77 <sup>cd</sup>	1,57 <sup>e</sup>	2,53 <sup>ig</sup>	3,33 <sup>hi</sup>
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		44,27	45,19	46,09	47,21	43,83	0,44 <sup>bc</sup>	1,36 <sup>de</sup>	2,26 <sup>fg</sup>	3,38 <sup>hi</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		51,48	53,17	54,45	55,54	48,69	2,79 <sup>gh</sup>	4,48 <sup>j</sup>	5,76 <sup>k</sup>	6,85 <sup>l</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		50,06	51,22	52,47	53,63	48,73	1,32 <sup>ef</sup>	2,49 <sup>fg</sup>	3,74 <sup>i</sup>	4,89 <sup>j</sup>
<b>Fósforo tecidual</b>										
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		2,77	2,54	2,32	2,24	1,68	1,09 <sup>m</sup>	0,86 <sup>k</sup>	0,64 <sup>gh</sup>	0,56 <sup>ef</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		2,35	2,2	2,07	2,08	1,66	0,69 <sup>hi</sup>	0,54 <sup>def</sup>	0,41 <sup>ab</sup>	0,42 <sup>ab</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$		2,02	2,13	1,96	1,97	1,61	0,41 <sup>ab</sup>	0,52 <sup>cde</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>
12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		2,56	2,43	2,37	2,09	1,62	0,94 <sup>l</sup>	0,81 <sup>jk</sup>	0,75 <sup>ij</sup>	0,47 <sup>bcd</sup>
24 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		2,37	2,22	2,19	2,14	1,77	0,60 <sup>fg</sup>	0,45 <sup>bc</sup>	0,42 <sup>ab</sup>	0,37 <sup>a</sup>
40 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$		2,26	2,3	2,24	2,08	1,74	0,52 <sup>de</sup>	0,56 <sup>ef</sup>	0,50 <sup>cde</sup>	0,35 <sup>a</sup>

## Proteínas

A avaliação dos efeitos individual e sinérgico dos parâmetros abióticos sobre a produção de proteínas, nos diferentes meios de cultivos a que estavam submetidos os talos de *G. crinale*, foi obtida através da análise de variância (tabela 12), onde se observou que o

aumento desta biomolécula foi altamente significativo ( $P < 0,000$ ), dependendo da ação individual de cada parâmetro, assim como da ação sinérgica destas variáveis, resultando em uma interação de terceira ordem ( $P < 0,038$ ).

Ao avaliar-se os resultados obtidos para proteínas, através do coeficiente de correlação de Pearson (tabela 16), observou-se que estes apresentaram uma correlação positiva com temperatura e salinidade, embora com este último parâmetro a correlação não tenha sido significativa. O decréscimo nos incrementos desta biomolécula em direção a maior intensidade luminosa, proporcionou uma correlação negativa altamente significativa entre ambos.

Tabela 12 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de proteínas produzida durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	p
1	1	7,42	7,42	92,18	0,00*
2	2	19,14	9,57	237,78	0,00*
3	3	2,88	0,96	35,79	0,00*
1x2	2	1,32	0,66	16,40	0,00*
1x3	3	0,44	0,15	5,42	0,00*
2x3	6	0,19	0,03	2,38	0,04*
1x2x3	6	0,20	0,03	2,45	0,04*
Residuo	48	0,08	0,00		
Total	71	31,66			

O aumento no conteúdo de proteínas ocorreu para todos os tratamentos analisados. Na temperatura de 20 °C o máximo valor no incremento deste componente bioquímico ocorreu em cultivos com salinidades de 15 e 20 ups, cujos valores médios não apresentaram diferenças mínimas significativas entre si, na menor intensidade luminosa estudada, formando um único agrupamento estatístico, representado por letras iguais (tabela 11B).

Em meios de cultivos com temperatura de 25 °C foram registrados os maiores incrementos de proteínas com valores médios entre 3,20 e 3,72 %, em relação à amostra controle, quando os talos de *G. crinale* estavam sujeitos à ação de baixa intensidade luminosa ( $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e nas salinidades de 20 ups e 15 ups, respectivamente. (fig. 14). Em ambas as temperaturas, os teores de proteínas sofreram uma queda acentuada em relação ao aumento da intensidade luminosa.

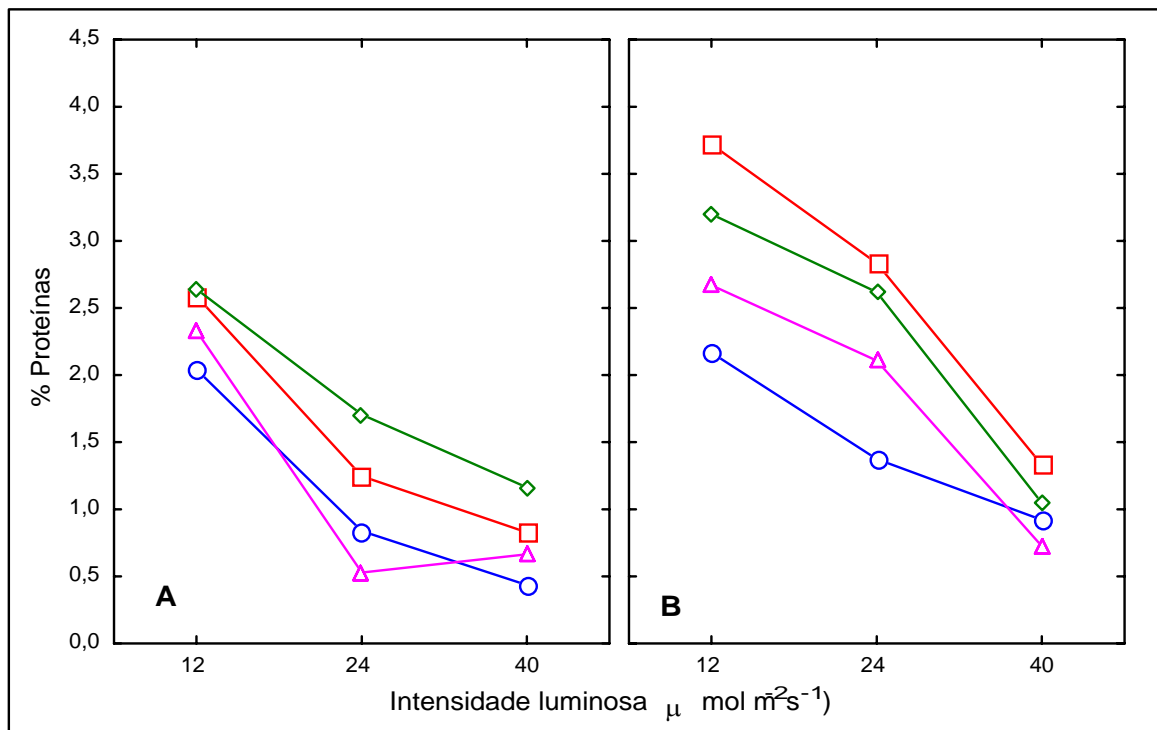


Figura 14 – Valores médios do incremento de proteínas em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e salinidade (—○— 10 ups; —□— 15 ups; —◇— 20 ups; —△— 25 ups).

## Carboidratos solúveis

A análise de variância, para comparação dos efeitos individuais e as interações dos parâmetros abióticos, temperatura, intensidade luminosa e salinidade entre si, sobre a concentração de carboidratos na espécie estudada, está apresentada na tabela 13, onde se

constatou que as ações individuais destes parâmetros e suas interações de segunda ordem foram altamente significativas na produção desta biomolécula ( $P < 0,000$ ), ocorrendo também uma interação significativa de terceira ordem ( $P < 0,044$ ).

A semelhança do que ocorreu com os resultados obtidos através das correlações entre esta biomolécula e os parâmetros abióticos, nos tratamentos envolvendo temperatura, fósforo inorgânico dissolvido e salinidade, constatou-se que as correlações também foram positivas e altamente significativas com os parâmetros abióticos estudados neste capítulo. Contudo, com os teores de proteínas ocorreu uma correlação negativa, porém esta não foi significativa (tabela 16).

Tabela 13 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de carboidratos produzida durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	P
1	1	49,24	49,24	311,30	0,00*
2	2	58,11	29,05	367,35	0,00*
3	3	23,96	7,99	151,47	0,00*
1x2	2	0,82	0,41	5,19	0,01*
1x3	3	1,36	0,45	8,57	0,00*
2x3	6	0,75	0,12	4,73	0,00*
1x2x3	6	0,37	0,06	2,36	0,04*
Residuo	48	0,16	0,00		
Total	71	134,76			

A figura 15 revela que, nos cultivos a 20 °C de temperatura e intensidade luminosa de 12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , foram registrados os menores incrementos nos conteúdos de carboidratos, ocorrendo valores negativos de 0,348 e 0,132 % nas menores salinidades de 10 e 15 ups, respectivamente. Nesta temperatura os maiores teores estão associados a uma intensidade luminosa média (24  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e alta salinidade (25 ups). Com uma diferença de cinco graus na temperatura dos meios de cultivos, constatou-se que os gráficos relativos às temperaturas de 20 e 25 °C apresentaram padrões semelhantes entre si

(fig.15), quando se avaliaram as diferentes intensidades luminosas e diferentes salinidades. Os menores incrementos de carboidratos ocorreram na intensidade luminosa de  $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , passando por valores intermediários a  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  até atingir valores máximos a  $24 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , e este aumento ocorreu da menor salinidade (10 ups) em direção a maior (25 ups).

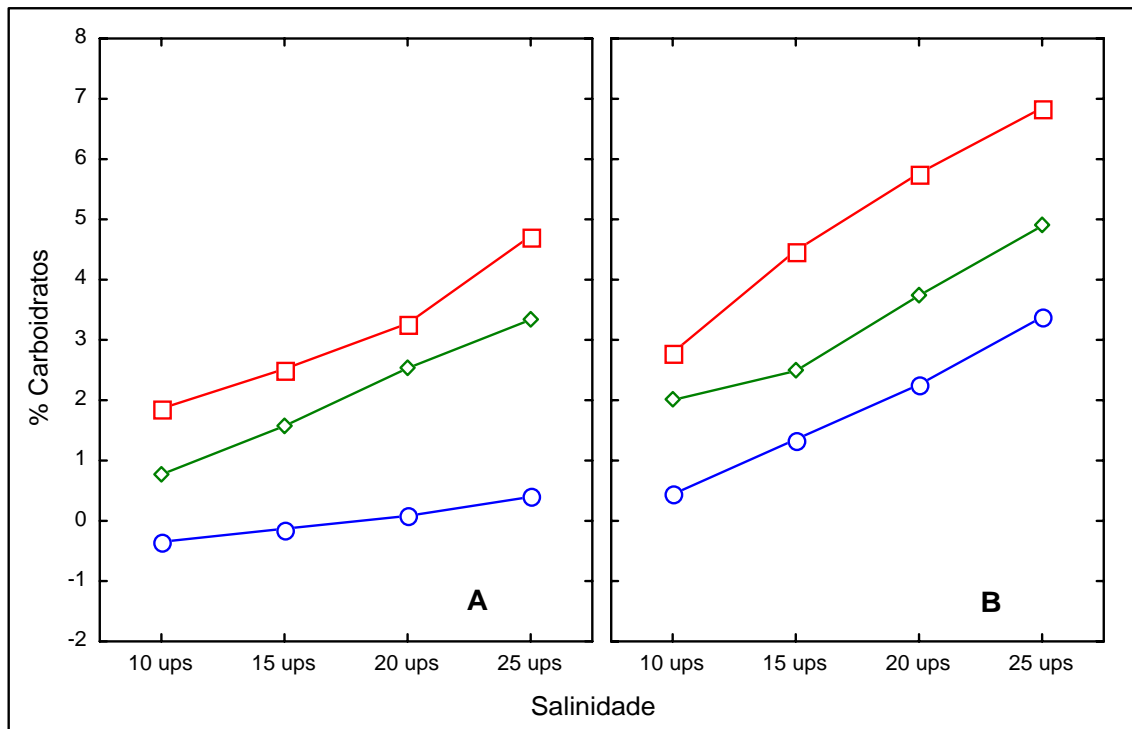


Figura 15 - Valores médios do incremento de carboidratos solúveis em porcentagem de peso seco, obtidos pela interação de terceira ordem entre salinidade, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e intensidade luminosa (-□-  $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; -□-  $24 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; -□-  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )

### Fósforo tecidual

A tabela 14 mostra as respostas dos efeitos individuais e interativos dos parâmetros físicos estudados durante o período de cultivo através da análise de variância. A variável

temperatura isoladamente não influenciou de maneira significativa ( $P > 0,05$ ) o aumento nos teores de fósforo tecidual, porém é altamente significativa a interação das três variáveis ( $P < 0,000$ ) sobre o acúmulo de fósforo nas células de *G. crinale*.

A análise dos resultados obtidos para fósforo tecidual, através do coeficiente de correlação de Pearson (tabela 16) apresentou correlações negativas entre este componente químico, os parâmetros abióticos e os conteúdos de carboidratos. A semelhança do que ocorreu com o resultado da análise de variância o incremento dos teores de fósforo tecidual não apresentou uma relação significativa com os índices de temperatura aplicados aos meios de cultivos.

Tabela 14 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a quantidade de fósforo tecidual armazenada durante o experimento.

Fatores variáveis	gl	SQ	QM	F	P
1	1	0,00	0,00	0,95	0,33ns
2	2	0,72	0,36	369,72	0,00*
3	3	0,28	0,09	144,68	0,00*
1x2	2	0,03	0,02	17,38	0,00*
1x3	3	0,02	0,01	10,75	0,00*
2x3	6	0,05	0,01	24,42	0,00*
1x2x3	6	0,01	0,00	2,64	0,03*
Resíduo	48	0,00	0,00		
Total	71	1,12			

Durante os cultivos realizados com a menor salinidade (10 ups) e menor intensidade luminosa ( $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), foram registrados os maiores valores de fósforo tecidual, cujos teores variaram de 0,93 a 1,09 % respectivamente nas temperatura de 25 e 20 °C (fig. 16). Com o aumento da intensidade luminosa, observou-se uma queda acentuada no incremento deste componente químico, diminuindo de 1,09 % a  $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  intensidade luminosa para 0,41 % a  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , particularmente na temperatura de

20 °C. Nesta temperatura, nas salinidades de 20 e 25 ups, onde foram registrados os menores valores de fósforo tecidual, observou-se que, nas intensidades luminosas de 24 e 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , não ocorreu diferença mínima significativa entre suas médias, formando grupos estatísticos iguais, segundo teste “posthoc” de Duncan a 5 % de significância (tabela 11B)

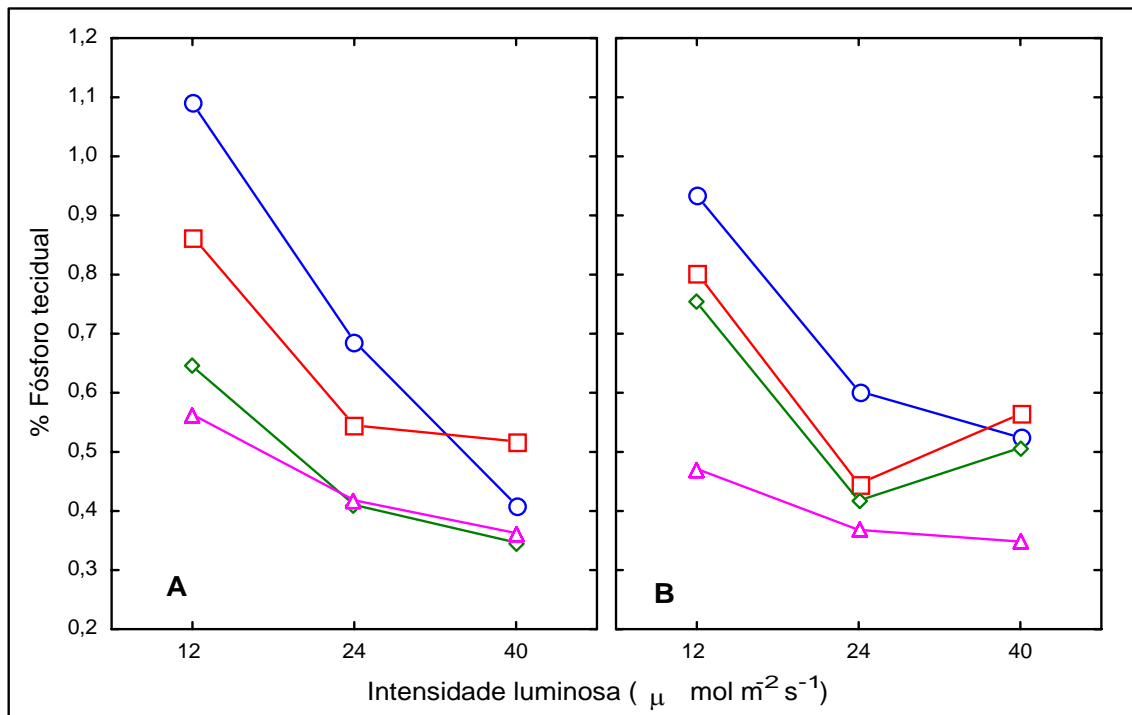


Figura 16 – Valores médios do incremento de fósforo tecidual em porcentagem de peso de cinzas, obtido pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e salinidade (–○– 10 ups; –□– 15 ups; –◇– 20 ups; –△– 25 ups).

### Absorção de fósforo inorgânico

Como a concentração de 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico dissolvido no meio foi uma das variáveis responsável pelo aumento nos teores de proteínas, carboidratos e fósforo tecidual encontrados nos talos de *G. crinale*, procurou-se avaliar a ação dos parâmetros temperatura, intensidade luminosa e salinidade, através de análise de variância



(tabela 15), sobre a taxa de absorção deste elemento, onde todos os fatores apresentaram uma ação altamente significativa ao nível de 5% de confiabilidade.

Tabela 15 – Tabela ANOVA fatorial onde se comparam os efeitos da temperatura (1), da intensidade luminosa (2), da salinidade (3) e das distintas interações sobre a taxa de absorção de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo.

Fatores variáveis	GI	SQ	QM	F	p
1	1	0,04	0,04	280,23	0,00*
2	2	0,20	0,10	1572,15	0,00*
3	3	0,20	0,07	1564,00	0,00*
1x2	2	0,01	0,00	78,02	0,00*
1x3	3	0,01	0,00	61,69	0,00*
2x3	6	0,00	0,00	17,68	0,00*
1x2x3	6	0,00	0,00	25,29	0,00*
Residuo	48	0,00	0,00		
Total	71	0,45			

Tabela 16 – Análises do coeficiente de correlação de Pearson para fatores abióticos, temperatura, Intensidade luminosa (luz), salinidade e componentes químicos, proteínas, carboidrato fósforo tecidual de *G. crinale* e absorção de fósforo inorgânico disponível no meio de cultivo. Correlações significativas estão marcadas com \* ( $P = 0,05$ ).

VARIÁVEIS	Temperatura	Luz	Salinidade	Proteínas	Carboidrato	Fósforo tecidual	Absorção
Temperatura	1,00	0,00	0,00	0,34*	0,44*	- 0,03	0,18
	P= ---	p=1,00	p=1,00	p=0,004*	p=0,000*	p=0,831	p=0,133
Luz		1,00	0,00	- 0,76*	0,33*	- 0,63*	- 0,59*
		p= ---	p=1,00	p=0,000*	p=0,005*	p=0,000*	p=0,000*
Salinidade			1,00	0,07	0,53*	- 0,55*	0,73*
			p= ---	p=0,557	p=0,000*	p=0,000*	p=0,000*
Proteínas				1,00	- 0,14	0,41*	0,56*
				p= ---	p=0,248	p=0,000*	P=0,000*
Carboidrato					1,00	-0,68*	0,20
					p= ---	p=0,000*	p=0,092
Fósforo tecidual						1,00	- 0,06
						p= ---	p=0,62
Absorção							1,00
							p= ---

Os valores médios relativos à taxa de absorção de fósforo inorgânico estão registrados na figura 17, representando a interação de terceira ordem relativa a ação sinérgica dos parâmetros físicos estudados. As temperaturas de 20 °C como na de 25 °C,

apresentaram modelos gráficos semelhantes em relação à variação dos níveis de salinidade e da intensidade luminosa. O aumento na taxa de absorção de fósforo disponível no meio, pelos talos da alga, ocorreu da menor salinidade (10 ups) em direção a maior (25 ups) e diminuiu da menor intensidade luminosa ( $12 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) para a maior ( $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Os menores índices de absorção variaram de 0,31 a  $0,33 \mu\text{M g}^{-1} \text{d}^{-1}$  nas intensidades luminosas de 24 e  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , na salinidade de 10 ups e a  $20^\circ\text{C}$  de temperatura. A maior taxa de absorção ( $0,76 \mu\text{M g}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) ocorreu na salinidade de 25 ups, menor intensidade luminosa e  $25^\circ\text{C}$  de temperatura.

Como resposta à absorção de fósforo inorgânico dissolvido por parte das algas em cultivo avaliou-se a taxa residual deste elemento no meio de cultura. A figura 18 representa os valores residuais de fósforo inorgânico, após o período de sete dias de cultivo. Os maiores teores residuais ocorreram quando os talos de *G. crinale* permaneceram sujeitos a salinidade de 10 ups e a todas condições de temperatura e intensidade luminosa, com concentrações residuais que variaram de 0,90 a  $1,72 \mu\text{M}$  de fósforo inorgânico. Estes valores tendem a diminuir com a elevação dos índices de salinidade, sendo que a menor concentração residual ocorreu à temperatura de  $25^\circ\text{C}$ , na salinidade de 25 ups e na menor intensidade luminosa estudada.

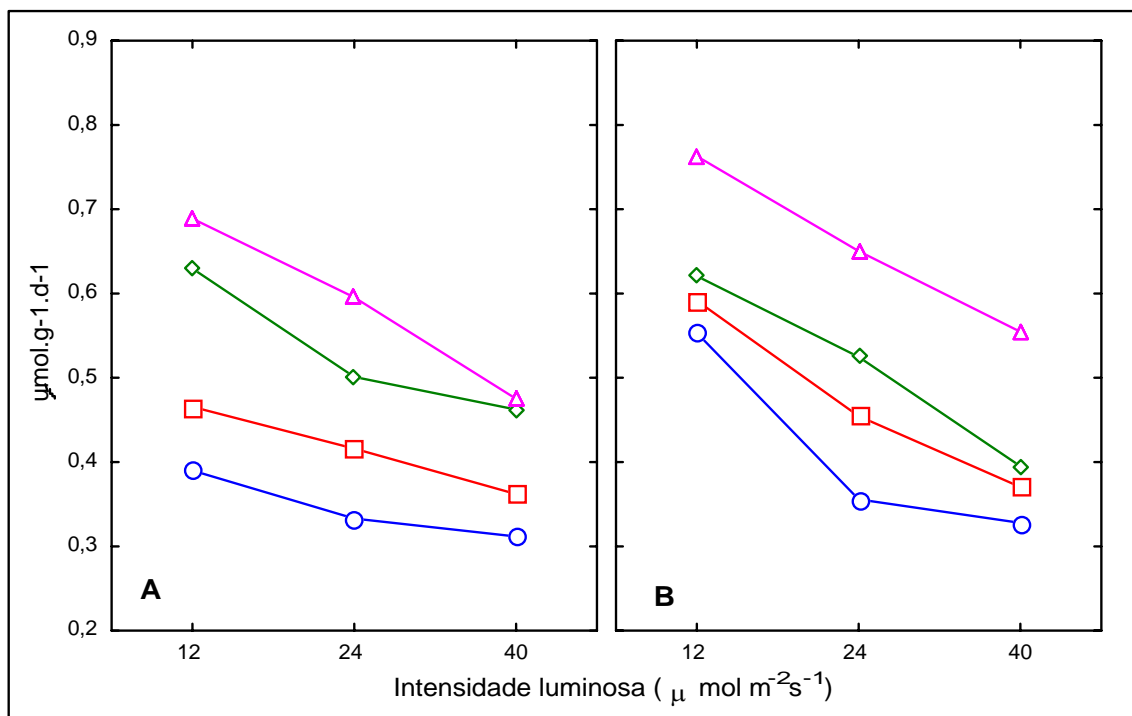


Figura 17 – Valores médios da taxa de absorção de fósforo disponível no meio de cultura, obtidos pela interação de terceira ordem entre intensidade luminosa, temperatura (A = 20 °C; B = 25 °C) e salinidade (—○— 10 ups; —□— 15 ups; —◇— 20 ups; —△— 25 ups).

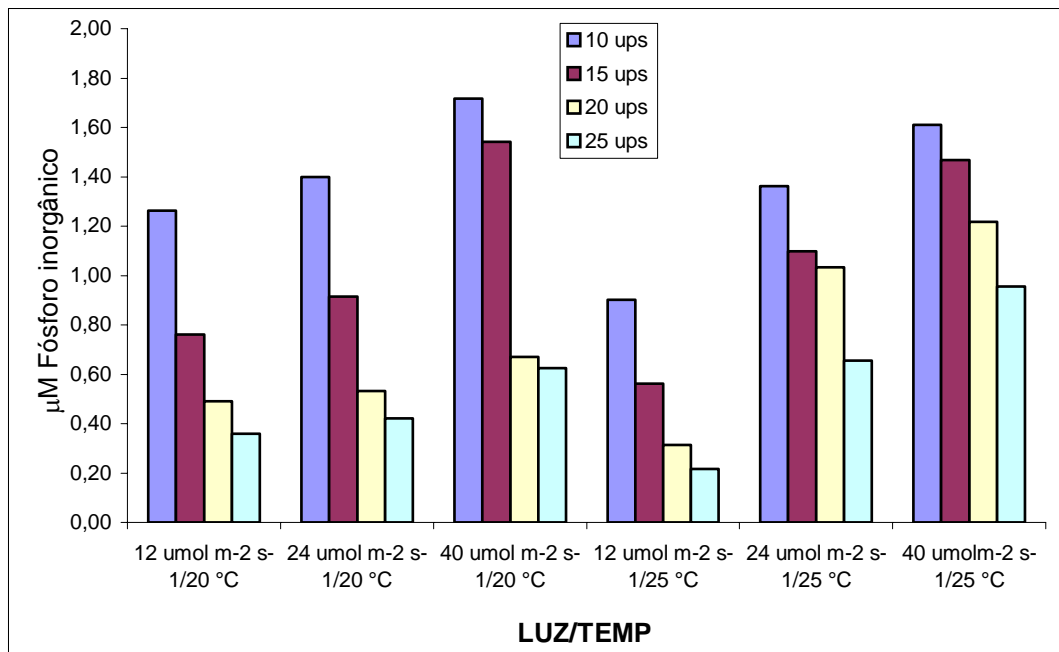


Figura 18 – Valores residuais de fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultivo, referente a concentração de 10,0 µM, nas diferentes salinidades, intensidades luminosas e temperatura (LUZ/TEMP).

## DISCUSSÃO

Muitos trabalhos relacionam o aumento da quantidade de proteínas ou nitrogênio tecidual às fontes de nitrogênio, principalmente amônio e nitrato, e às suas concentrações disponíveis no meio em que estão os talos das algas (Morgan & Simpson 1981; Fong *et al.* 1996; Smit *et al.* 1997; Israel *et al.* 1999; Navaro-Ângulo & Robledo 1999). Neste trabalho, no entanto, procurou-se manter a concentração desta fonte de nutriente constante ao longo do experimento, buscando desta forma relacionar o aumento nos teores de proteínas com a variação dos parâmetros físicos a que foram submetidos os talos de *G. crinale*.

O aumento máximo de 3,72 % no teor deste componente bioquímico, em relação à amostra controle, ocorreu durante o período em que a espécie em estudo estava sendo cultivada em meio onde a intensidade luminosa era  $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , diminuindo este valor com o aumento nos índices deste parâmetro abiótico, observando-se desta forma uma forte correlação negativa e altamente significativa entre ambos ( $r = -0,760$ ;  $P = 0,000$ ). Os experimentos foram realizados apenas com dois índices de temperatura, porém constatou-se que o aumento no incremento de proteínas ocorre na temperatura mais elevada (25 °C), proporcionando uma correlação positiva regular entre os teores de proteínas e este parâmetro físico ( $r = 0,339$ ;  $P = 0,004$ ). O estudo sazonal, realizado por Friedlander *et al.* (1987), com *Gracilaria cf. conferta* em tanques de cultivo externo, demonstrou que os valores elevados de proteínas estavam associados a baixas intensidades luminosas e baixas temperaturas. Nos cultivos realizados com *G. crinale*, o fator temperatura, responsável pelo incremento de proteínas nos talos da alga, foi elevado, coincidindo os nossos resultados com os apresentados por Friedlander *et al.* (*op. cit.*) apenas em relação à variação da intensidade luminosa.

Entre os índices de salinidade estudados e os valores obtidos para proteínas, observou-se uma correlação positiva não significativa ( $r = 0,070$ ;  $P = 0,557$ ), o que pode ser explicado pelo fato dos maiores valores de incremento da biomolécula terem ocorrido nas salinidades de 15 e 20 ups, em ambas as temperaturas avaliadas (fig.14). Os maiores incrementos nos índices de proteínas elevaram o percentual inicial da amostra controle de 20,63 % para 23,83 % (20 ups) e 24,35 % (15 ups) em base a peso seco. Estes valores de proteínas foram superiores aos 12,60 % encontrados em *Eucheuma isiforme* por Robledo & Pelegrini (1997) e os 5,1 % registrados para *Gracilaria cornea* (Orduña-Rojas *et al.* 2002), porém semelhantes aos observados por Israel *et al.* (1999) em *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* cujos valores oscilaram entre 20 e 27,5 % de peso seco. Por outro lado esses valores foram inferiores quando comparados com os 35 % de proteínas em base ao peso seco obtidos em populações naturais de *Hypnea musciformis* (Durako & Dawes, 1980). Em *Grateloupia sparsa* e na alga verde *Ulva pertusa* (Floreto & Teshima 1998) os valores de proteínas foram similares entre si, ao redor de 30 % do peso seco da alga, em condições de baixa salinidade e baixa intensidade luminosa, com os quais os resultados de proteínas encontrados nos talo de *G. crinale* foram consistentes, principalmente com as variações nas condições abióticas.

Os parâmetros abióticos, temperatura, intensidade luminosa e salinidade apresentaram uma correlação positiva significativa ( $P = 0,005$ ) com o conteúdo de carboidratos. O máximo valor registrado para esta biomolécula de 55,54 % de peso seco ocorreu em meio de cultivo cujas condições ambientais apresentaram uma temperatura de 25 °C, associada a  $24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e salinidade de 25 ups, proporcionando um incremento de 6,85 % (fig.15) em relação a amostra controle. Estes valores registrados em *G. crinale* são consistentes com os 56 % de carboidratos encontrados em *Gracilaria cornea*, coletadas por Orduña-Rojas *et al.* (2002) na Península de Yucatán, México, durante o

período em que os parâmetros abióticos, salinidade e temperatura, foram elevados no meio ambiente.

Benevides *et al.* (1999), ao estudarem a variação sazonal da composição química de duas espécies de algas vermelhas, registraram valores de carboidratos que variaram entre um mínimo de 66,10 % a um máximo de 90,80 % em base a peso seco para *Gracilaria domigensis* e de 71,10 % a 89,50 % em *Gelidium pusillum*. Em estudos laboratoriais realizados com *Gelidium crinale*, o valor mínimo de 45,33 % e máximo de 55,54 % desta biomolécula, em base a peso seco, foram bem inferiores aos citados pelos autores (op.cit). Por outro lado, foram superiores aos 36,29 % registrados em *Gracilaria cornea* coletada na Península de Yucatán, México (Robledo & Pelegrin 1997).

Após período de cultivo, nas condições de baixa salinidade e baixa intensidade luminosa, os valores registrados para carboidrato foram inferiores a aqueles encontrados na amostra controle, caracterizando um consumo desta biomolécula. Nestas condições abióticas observou-se uma elevação nos valores de proteínas e principalmente nos teores de fósforo tecidual. Esta mesma relação foi registrada por Kuhl (1968, 1974), quando definiu que células com baixa concentração de fósforo inorgânico apresentaram baixa produção de proteínas, enquanto os conteúdos de carboidratos foram significativamente elevados.

Esta correlação negativa entre estes componentes químicos foi observada através do coeficiente de correlação de Pearson (tabela 16), e a relação entre carboidratos e fósforo tecidual foi altamente significativa ( $r = - 0,683$ ;  $p = 0,000$ ). Chopin *et al.* (1991, 1995) sugerem que determinados níveis de fósforo tecidual controlam o conteúdo de polissacarídeos nas células de *Chondrus crispus*, podendo ser um importante regulador do fluxo de carbono, direcionando-o para a formação de glicose e amido ou galactose e carragenina.

As vias metabólicas pelas quais é formada ou inibida a produção de carboidratos, reguladas pela concentração de fósforo inorgânico nas células das algas, ainda não estão bem elucidadas. Embora as algas apresentem um comportamento bem distinto dos vegetais superiores, poder-se-ia traçar um paralelo com os mecanismos de síntese de carboidratos (amido) que ocorrem nestes vegetais. Segundo Marschner (1995) a inibição da síntese de amido em plantas superiores, pela alta concentração de fósforo inorgânico celular, é causada, separadamente, por duas maneiras distintas nos cloroplastos. A enzima responsável pela síntese de amido é ADP-Glicose pirofosforilase, que é inibida pela concentração de fósforo inorgânico e estimulada pela presença de triosefosfato (Gliceraldeído-3-fosfato e Dihidroxiacetona fosfato). Quando a razão entre fósforo inorgânico e triosefosfato torna-se elevada ocorre uma inibição da ação enzimática, influenciando na velocidade de síntese de amido. Outro mecanismo regulado pelo fósforo inorgânico é a liberação de triosefosfato do cloroplasto para o citoplasma, utilizando um transportador específico localizado na membrana interna, interrompendo nesta organela a síntese de glicose-1-fosfato e subsequente formação de amido. Partindo-se do princípio que este mecanismo ou parte dele ocorra dentro das células das macroalgas, estaria desta forma justificada a correlação negativa entre o fósforo inorgânico tecidual e a concentração de carboidratos em *G.crinale*. Contudo, trabalhos específicos com algas marinhas deveriam ser realizados para poder justificar se há analogia entre estas e os vegetais superiores.

Com proteínas, esta relação, embora negativa, não foi significativa. A relação inversa entre estas duas biomoléculas foi previamente demonstrada para um grande número de espécies, em vários trabalhos sazonais (Durako & Dawes 1980; Morgan & Simpson 1981a; 1981b; Rosenberg & Ramus 1982, Perfeto 1983; 1998; Mouradi-Givernaud *et al.* 1993; Smit *et al.* 1997), significando que os níveis de proteínas



aumentam significativamente às expensas das quantidades de carboidratos (Floreto & Teshima 1998).

A capacidade das algas marinhas em absorver e acumular fósforo em seus tecidos está relacionada principalmente com a concentração de fósforo inorgânico disponível no meio marinho (Chopin *et al.* 1995; Chopin & Wagey 1999). Com a fixação da concentração deste elemento químico, nos cultivos com *G. crinale*, foi possível observar, através do coeficiente de correlação de Pearson (tabela 16), que ocorreram correlações negativas, altamente significativas entre as variáveis, intensidade luminosa e salinidade, com a concentração de fósforo tecidual. Estas correlações são função das variações obtidas nos teores deste componente químico ao longo dos experimentos e nos diferentes tratamentos, sendo que os máximos incrementos foram registrados nas condições de mínima intensidade luminosa estudada, diminuindo à medida que os índices deste parâmetro tornam-se elevados, ocorrendo o mesmo em relação ao aumento da salinidade, tanto nas temperaturas de 20 e 25 °C.

Em *G. crinale* o aumento nos valores médios da taxa de absorção de fósforo inorgânico do meio ocorreram durante o período de intensa atividade metabólica, apresentando uma correlação positiva e altamente significativa com a produção de proteínas e com a de carboidratos, a correlação embora positiva, não foi significativa (tabela 16), ocasionando uma consideravelmente diminuição na concentração de fósforo inorgânico residual nos meios de cultivo. Contudo, após o encerramento dos cultivos (período de sete dias), registraram-se valores residuais de fósforo inorgânico em todas as condições de cultivo a que estiveram submetidos os talos da alga estudada (fig. 18).

Segundo Chopin *et al.* (1990a; 1991; 1995) e Chopin & Wagey (1999), a concentração de fósforo inorgânico residual aumenta drasticamente quando meios de cultivo são enriquecidos com 4,5 µM de fósforo por semana e mais ainda a 6,0 µM de

fósforo por semana, concomitante com a saturação do conteúdo total de fósforo nos tecidos algais. Portanto, determinar o conteúdo crítico de fósforo inorgânico para utilização por parte das algas é importante, não somente para minimizar o uso de fertilizante e seu custo, mas também para maximizar a produção de biomassa.

Para uma perspectiva de aquacultura, a definição do enriquecimento necessário de nutrientes tem uma dupla importância. Em primeiro lugar, um enriquecimento excessivo não seria efetivamente vantajoso, assim como o acúmulo de fósforo inorgânico residual não beneficiaria as algas e se tornaria um desperdício de nutrientes. Em segundo lugar os altos níveis residuais de fósforo inorgânico dissolvido nos meios de cultura seriam lançados nos efluentes do sistema de aquacultura e depositados no ambiente natural (Harrison *et al.* 1990; Chopin & Wagey 1999). Isto ocasionaria uma grande descarga de nutrientes no ambiente costeiro, alterando-o e proporcionando fenômenos como eutroficação, levando a formação de marés verdes (green tides) e “blooms” de espécies tóxicas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos para os teores de proteínas, carboidratos e fósforo tecidual, nos diferentes meios de cultivos estudados, permitiram constatar que:

- Nos cultivos onde se estudou a ação da temperatura, intensidade luminosa e fósforo inorgânico dissolvido, as melhores condições para produção de proteínas em talos de *Gelidium crinale* foram sob os máximos valores de temperatura e concentração de fósforo inorgânico e sob a menor intensidade luminosa utilizada. Para o aumento nos conteúdos de carboidratos solúveis, as melhores condições de cultivo ocorreram quando a temperatura e fósforo inorgânico também foram elevados, porém em uma intensidade luminosa intermediária, isto é,  $24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . O acúmulo de fósforo tecidual, nos talos da alga, teve sua saturação associada à alta concentração de fósforo inorgânico disponível no meio, quando temperatura e intensidade luminosa foram baixas. Valores inferiores aos encontrados na amostra controle ocorreram quando os índices de temperatura e intensidade luminosa foram elevados, associados à menor concentração de fósforo inorgânico disponível, o qual foi totalmente consumido após o quarto dia de cultivo, pressupondo-se que houve uma perda do fósforo tecidual para o meio de cultivo.
- No estudo interativo de temperatura, fósforo inorgânico dissolvido e salinidade, observou-se que o incremento nos teores de proteínas ocorreu quando a concentração de fósforo inorgânico e o valor de temperatura foram elevados, em uma salinidade que variou entre 15 e 20 ups. Os teores máximos de carboidratos ocorreram quando todos os parâmetros abióticos analisados apresentaram os maiores níveis. Porém a ação das três variáveis não ocorreu conjuntamente. O que se pode observar estatisticamente foi que o aumento na quantidade da biomolécula

está condicionado à ação conjunta de temperatura e fósforo inorgânico e da temperatura com salinidade. A máxima concentração de fósforo tecidual ocorreu nos cultivos onde a temperatura e salinidade foram menores, enquanto a concentração de fósforo inorgânico foi elevada. Nestas condições observou-se que este elemento tecidual apresentou uma correlação negativa com proteínas e carboidratos. Isto é justificado porque nestas condições o aumento nos teores de proteínas e carboidratos não foi acentuado.

- Nas condições de cultivo onde os parâmetros abióticos avaliados foram salinidade, temperatura e intensidade luminosa, os teores de proteínas tiveram um incremento em baixa intensidade luminosa, baixa salinidade (15 ups) e alto índice de temperatura. Foi observada uma correlação negativa entre esta biomolécula e carboidratos. Durante este experimento foi constatado um consumo de carboidratos, isto é, valores inferiores em relação à amostra controle foram registrados nos cultivos em que a temperatura e intensidade luminosa foram baixas e cuja salinidade variou entre 10 e 15 ups. Os teores de fósforo tecidual foram máximos durante o período em que todos os parâmetros físicos apresentaram os menores índices. Os valores médios relativos à taxa de absorção de fósforo inorgânico disponível foram elevados durante os cultivos onde a temperatura e salinidade foram máximas, período em que foram registrados os maiores teores de carboidratos e menores valores para fósforo tecidual, caracterizando que o fósforo absorvido durante este período, provavelmente tenha sido destinado a produção desta biomolécula.

De uma maneira geral, avaliando-se a ação dos quatro parâmetros ambientais, embora estudados em condições distintas, poderia deduzir-se que, para um aumento dos teores de proteínas, os talos de *Gelidium crinale* deveriam ser cultivados em condições

onde a temperatura ideal seria 25 °C, com intensidade luminosa de 12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , salinidade entre 15 e 20 ups e concentração de fósforo inorgânico de 10,0  $\mu\text{M}$ . Para carboidratos solúveis as condições ideais seriam de 24  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa, temperatura de 25 °C, salinidade de 25 ups e 10,0  $\mu\text{M}$  de concentração de fósforo inorgânico dissolvido no meio de cultivo. Para que ocorra o acúmulo de fósforo nos tecidos da alga, esta espécie deveria ser cultivada a temperatura de 15 °C, salinidade de 10 ups e 12  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa, associados à máxima concentração de fósforo inorgânico do meio.

Como pode-se observar, as biomoléculas (proteínas e carboidratos) assim como o fósforo tecidual tiveram suas maiores taxas de concentração a níveis de 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico disponível. Contudo, em todos os casos analisados, observaram-se resíduos de fósforo inorgânico na água do mar dos meios de cultivo. Preocupados com os resíduos que permanecem e que normalmente são lançados nos efluentes dos sistemas de cultivo e depositados no ambiente natural, é importante definir concentrações, não só de fósforo, mas também de nitrogênio, suficientes para a realização dos processos fisiológicos das algas. Através dos resultados obtidos, sugere-se a execução de cultivos, principalmente entre as concentrações de 5,0 a 10,0  $\mu\text{M}$  de fósforo inorgânico para determinar a quantidade ideal deste elemento, quando da realização de novos cultivos unialgais de *Gelidium crinale*.

O estudo dos componentes bioquímico e químico mostra o estado fisiológico das algas, auxiliando no conhecimento de seu comportamento perante as diversas condições ambientais a que estão submetidas, sendo que estes conhecimentos poderão contribuir para a realização de futuros trabalhos em maricultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Fattah, A. F.; N. M. Abed & M. Edrees. 1973. Seasonal variation in the chemical composition of agarophyte *Pterocladia capillaceae*. **Australian Journal of Marine Freshwater Research** 24:177-181
- Anderson, R. J.; R. H. Simons; N. G. Jarman & G.J. Levitt. 1991. *Gelidium pristoides* in South Africa. **Hydrobiologia**, **221**:55-66.
- A.O.A.C. 1980. **Official methods of analysis of the association of official agriculture chemistry**. (William Horwitz, Ed.). Washington, D.C.20044.
- APHA, 1989 - **American Public Health Association. Standard methods for examination of water and wastewater**, 1989. Vanadomolybdo-phosphoric Acid Colorimetric Method 4500-PC. Pp. 4-112; 17<sup>th</sup> Edição. In: Clesceri, L. S.; Greenberg, E. & Trussel, R.(Editores). Washington.
- Baumgarten, M. G. Z.; J. M. B. Rocha, & L. F. Niencheski, 1996. **Manual de Análises em Oceanografia Química**. (FURG Ed.) 132 p.
- Araño, K. G.; G. C. Trono Jr; N. E. Montaña; A. Q. Hurtado & R. D. Villanueva. 2000. Growth, agar yield and quality of selected agarophyte species from the Philippines. **Botanica Marina** **43**(6):517-524
- Bellorín, A. M. & A. J. L. Castro 1997. Efecto de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento *in vitro* del alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Bird & Oliveira) Fredericq & Hommersand (Gracilariales, Rhodophyta). **Boletín Instituto Oceanográfico de la Venezuela, Universidad Oriente** **36**(1&2): 61-67.
- Benevides, N. M. B.; S. R. M. Oliveira; M. L. Holanda; F. R. Melo; <sup>a</sup> N. P. Freitas & A. H. Sampaio 1999. Seasonal variations in hemagglutinating activity and chemical composition of two red marine algae *Gracilaria domiguensis* and *Gelidium pusillum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **11**(2):91-95.
- Berchez, F. A. S. & E. C. de Oliveira. 1990. Maricultural assays with the carrageenophyte *Hypnea musciformis*, in São Paulo, Brazil. In: **Workshop on Cultivation of Seaweeds in Latin America**. pp. 89-94.
- Bidwell, R. G. S.; J. McLachlan & N. D. H. Lloyd. 1985. Tank cultivation of Irish moss, *Chondrus crispus* Stackh. **Botanica Marina** **28**:87-97.
- Bird, K. T. 1976. Simultaneous assimilation of ammonium and nitrate by *Gelidium nudifrons* (Gelidiales:Rhodophyta) **Journal of Phycology** **12**:238-241.

- Bird, K. T.; M. D. Hanisak & J. Ryther. 1981. Chemical quality and production of agars extracted from *Gracilaria tikvahiae* Grown in different nitrogen enrichment conditions. **Botanica Marina** **24**(8):441-444.
- Bird, K. T.; C. Habig & T. DeBusk. 1982. Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta). **Journal of Phycology** **18**:344-348.
- Braga, A. da C. & Y. Yoneshigue-Valentin 1996. Nitrogen and phosphorus uptake by the Brazilian kelp *Laminaria abyssalis* (Phaeophyta) in culture. **Hydrobiologia** **326/327**:445-450.
- Briand, X. 1991. Seaweed harvesting in Europe. In: Guiry, M. D. & G. Bluden Ed. **Seaweed resources in Europe uses and potential**. Cap. 10 pp.259-308.
- Buschman, A. H.; F. A. Kuschel & E. Perez. 1990. Field assessment of intertidal culture of *Gracilaria* sp. in southern Chile. In: Oliveira E. C. de & N. Kautsky Ed. **Cultivation of seaweeds in Latin America**. p.69-74
- Carter, A. R. & H. Simons. 1987. Regrowth and production capacity of *Gelidium pristoides* (Gelidiales, Rhodophyta) under various harvesting regimes at Port Alfred, South Africa. **Botanica Marina** **30**(3):227-231.
- Carter, A. R. & J. Anderson. 1985. Regrowth after experimental harvesting of the agarophyte *Gelidium pristoides* (gelidiales: Rhodophyta) in the Eastern Cape Province. **South African Journal Marine Science** **3**:111-118.
- Carter, A. R. & H. Simons. 1987. Regrowth and production capacity of *Gelidium pristoides* (Gelidiales, Rhodophyta) under various harvesting regimes at Port Alfred, South Africa. **Botanica Marina** **30**(3):227-231.
- Chapman, V. J. 1970. **Seaweeds and their uses**. The Camelot Press Ltd. Second Edition. 304p.
- Chapman, A. R. O. & J. S. Craigie. 1977. Seasonal growth in *Laminaria longicuris*: Relations with dissolved inorganic nutrients and internal reserves of nitrogen. **Marine Biology** **40**:197-205.
- Chapman, A. R. O. & J. E. Lindley. 1980. Seasonal growth of *Laminaria solidungula* in the Canadian High Arctic in relation to irradiance and dissolved nutrients concentrations. **Marine Biology** **57**:1-5.
- Chopin, T.; M.D. Hanisak; F.E. Koehn; J. Mollion; S. Moreau. 1990a. Studies on carrageenans and effects of seawater phosphorus concentration on carrageenan content

- and growth of *Agardhiella subulata* (C.Agardh) Kraft and Wynne (Rhodophyceae, Solieriaceae). **Journal of Applied Phycology** **2**:3-16.
- Chopin, T.; Hourmant, A.; Floc'h, J-Y. & Penot, M. 1990b. Seasonal variations of growth in the red algae *Chondrus crispus* on the Atlantic French coasts. II. Relations with phosphorus concentration in seawater and internal phosphorylated fractions. **Canadian Journal of Botany** **68**:512-517.
- Chopin, T.; M. D. Hanisak; F. E. Koehn, 1991. Effects of seawater phosphorus concentration on floridean starch content in *Agardhiella subulata* (C: Agardh) Kraft et Wynne (Rhodophyceae), **Botanica Marina** **34(4)**:369-373.
- Chopin, T.; T. Gallant & I. Davison. 1995. Phosphorus and nitrogen nutrition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta): Effects on total phosphorus and nitrogen content, carrageenan production and photosynthetic pigments. **Journal of Phycology** **31**:283-293.
- Chopin, T. & B.T. Wagey. 1999. Factorial study of the effects of phosphorus and nitrogen enrichments on nutrient and carrageenan content in *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and on residual nutrient concentration in seawater. **Botanica Marina** **42**:23-31.
- Craigie, J. S.; Z. J. Wen & van der Meer. 1984. Interspecific, intraspecific and nutritionally determined variations in the composition of agars from *Gracilaria* spp. **Botanica Marina** **27**:55-61.
- D'Antonio, C. M. & A. Gibor. 1985. A note on some influences of photon flux density on the morphology of germlings of *Gelidium robustum* (gelidiales, Rodhophyta) in culture. **Botanica Marina** **28**:313-316.
- Dawes, C. J. 1986. **Botanica Marina**. Editorial Limusa, S. A. de C. V.- México. 673p.
- Dawes, C. J.; A. C. Mathieson & D. P. Cheney. 1974. Ecological studies of Floridian *Eucheuma* (Rhodophyta, Gigartinales). I. Seasonal growth and reproduction. **Bulletin Marine Science** **24**:235-273.
- DeBoer, J. A. & J. H. Ryther. 1977. Potential yields from a waste-recycling algal mariculture system. In: **The Marine Plant Biomass of the Pacific Northwest Coast**. Ed. R.Krauss. Oregon States Univ. Press. pp. 231-249.
- DeBoer, J. A.; H. J. Guigli; J. Harry; T. L. Israel & C. F. D'Elias 1978. Nutritional studies of two red algae. I. Growth rate as a function of nitrogen source and concentration. **Journal of Phycology** **14**:261-266.
- DeBoer, J. A. 1981. Nutrients. In. **The Biology of Seaweeds** Ed. C. S. Lobban & M. J. Wynne. Univ. of California Press. pp. 356-392.



- De Craene, R. J. A. 1971: Les algues en général et leur exploration au Maroc. **Revue de l'Agriculture** **6/7**:815-836.
- D'Elia, C. E. & J. A. DeBoer. 1978. Nutritional studies of two red algae. Kinetics of ammonium and nitrate uptake. **Journal of Phycology** **14**:266-272.
- De Roeck-Holtzhauer, Y. 1991. Use of seaweeds in cosmetics. In: Guiry, M. D. & G. Bluden Ed. **Seaweed resources in Europe uses and potential**. Cap. 4 pp.83-94.
- Dring, M. J. 1981. Chromatic adaptation of photosynthesis in benthic marine algae: An examination of its ecological significance using a theoretical model. **Limnology and Oceanography** **26**:271-284.
- Dubois, M.; K. A. Gilles; J. K. Hamilton; P. A. Rebers & F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry** **28**(3):352-356.
- Duke, C. S.; W. Litaker & J. Ramus. 1989. Effects of temperature, nitrate supply and tissue, nitrogen and ammonium uptake, rates of the Chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* and *Codium decorticans*. **Journal of Phycology** **25**(1):113-120.
- Durako, M. J. & C. J. Dawes 1980. A comparative seasonal study of two populations of *Hypnea musciformis* from the east and west coast of Florida, USA. **Marine Biology** **59**:151-156.
- Engel, C. R. & C. Destombe. 2002. Reproductive ecology of an intertidal red seaweed, *Gracilaria gracilis*: influence of high and low tides on fertilization success. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** **82**:189-192.
- Fei, X. G. & L. J. Huang. 1991. Artificial sporeling and field cultivation of *Gelidium* in China. **Hydrobiologia**, **221**:119-124.
- Floreto, E.A.T. & S. Teshima. 1998. The fatty acid composition of seaweeds exposed to different levels of light intensity and salinity. **Botanica Marina** **41**:467-481
- Fong, P.; K. E. Boyer; J. S. Desmond & J. B. Zedler 1996. Salinity stress, nitrogen competition and facilitation: what controls seasonal succession of two opportunist green macroalgae? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** **206**:203-221.
- Fredriksen, S. & J. Rueness. 1989. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born et Thurn. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. **Botanica Marina** **32**(6):539-546.

- Friedlander M. & Y. Lipkin. 1982. Rearing of agarophytes and carrageenophytes under field conditions in the Easter Mediterranean. **Botanica Marina** **25**(2):101-105.
- Friedlander, M.; R. Shalev; T. Ganor; S. Strimling; A. Ben-Amotz, H. Klar & Y. Wax. 1987. Seasonal fluctuations of growth rate and chemical composition of *Gracilaria* cf. *conferta* in outdoor culture in Israel. **Hydrobiologia** **151/152**:501-507.
- Friedlander, M. 2001. Inorganic nutrition in pond cultivated *Gracilaria conferta* (Rhodophyta): nitrogen, phosphate and sulfate. **Journal of Applied Phycology** **13**:279-286.
- Garza-Sánchez, F. J. A. Zertuche –González & D. J. Chapman. 2000. Effect of temperature and irradiance on the release, attachment and survival of spores of *Gracilaria pacifica* Abbott (Rhodophyta). **Botanica Marina** **40**(3):205-212.
- Glazer, A. N.; C. F. Chan; U. Karsten & J. A. West 1994. Salinity tolerance, biliproteins, and floridoside content of *Compsopogon coeruleus* (Rhodophyta). **Journal of Phycology** **30**:457-461.
- Guerin, J. M. & K. T. Bird. 1987. Effects of aeration period on the productivity and agar quality of *Gracilaria* sp. **Aquaculture**, **64**:105-110.
- Hafting, J. T. 1999. Effect of tissue nitrogen and phosphorus quota on growth of *Porphyra yezoensis* blades in suspension cultures. **Hydrobiologia** **398/399**:305-314.
- Hanisak, M. D. & M. M. Harlin. 1978. Uptake of inorganic nitrogen by *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* (Chlorophyta). **Journal of Phycology** **14**:450-454.
- Hanisak, M. D. 1990. The use of *Gracilaria tikvahiae* (Gracilariales, Rhodophyta) as a model system to understand the nitrogen nutrition of culture seaweeds. **Hydrobiologia** **204/205**:79-87.
- Harlin, M. M. & J. S. Craigie. 1978. Nitrate uptake by *Laminaria longicruris* (Phaeophyta). **Journal of Phycology** **14**:464-467.
- Harrison, P. J.; M. H. Hu; Y. P. Yang & X. Lu. 1990. Phosphate limitation in estuarine and coastal waters of China. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** **140**:79-87.
- Hemalatha, R & R. Rengasamy, 1993. Studies on *Gracilaria edulis* (Gmelin) Silva. **Phykos** **32**(12):65-75.
- Hernandez-Guerrero, C. J.; M. Casas-Valdez; S. Ortega-Garcia & S. Hernandez-Vasquez. 2000. Effect of climatic variation on the relative abundance of the red alga *Gelidium*

- robustum* in Baja California Sur, Mexico. **Journal of Applied Phycology** **12**:177-183.
- Hurtado-Ponce, A. Q. & H. B. Pondevida. 1997. The interactive effect of some environmental factors on the growth, agar yield and quality of *Gracilariopsis bailinae* (Zhang et Xia) cultured in tanks. **Botanica Marina** **40**(3):217-223.
- Indergaard, M & J. Minsaas. 1991. Animal and human nutrition. In: Guiry, M. D. & G. Bluden Ed. **Seaweed resources in Europe uses and potential**. Cap. 2 pp.21-64.
- Indergaard, M & K. Østgaard. 1991. Polysaccharides for food and pharmaceutical uses. In: Guiry, M. D. & G. Bluden Ed. **Seaweed resources in Europe uses and potential**. Cap.7 pp.169-183.
- Israel, A.; M. Martinez-Goss & M. Friedlander. 1999. Effects of salinity and pH on growth and agar yield of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* in laboratory and outdoor cultivation. **Journal of Applied Phycology**, **11**:543-549.
- Jayasankar, R. & S. Varghese. 2002. Cultivation of marine red alga *Gracilaria edulis* (Gigartinales, Rhodophyta) from spores. **Indian Journal of Marine Sciences** **31**:75-77.
- Juanes, J. A. & A. Borja. 1991. Biological criteria for the exploitation of the commercially important species of *Gelidium* in Spain. **Hydrobiologia** **221**:45-54.
- Juanes, J. A. & A. Puente. 1993. Differential reattachment capacity of isomorphic life history phases of *Gelidium sesquipedale*. **Hydrobiologia** **260/261**:139-144.
- Kantin, R. & M. G. Z. Baumgarten. 1982. Observações hidrográficas no estuário da lagoa dos patos: distribuição e flutuação dos sais nutrientes. **Atlântica** **5**(1):76-92.
- Kaustky, L. 1990. Factors limiting seaweeds production. In: **Workshop On Cultivation Of Seaweeds In Latin America**. pp. 09-16.
- Kirst. G.O. 1989. Salinity Tolerance of Eukaryotic Marine Algae. **Annual Review Plant. Physiology, Plant Molecular Biology** **40**:21-53.
- Kirst, G. O. & Bisson, M. A. 1979. Regulation of turgor pressure in marine algae: ion and low-molecular-weight organic compounds. **Australian Journal of Plant Physiology** **6**:539-56.
- Kuhl, A. 1962. Inorganic phosphorus uptake and metabolism. In: **Physiology And Biochemistry Of Algae**. Ed. Lewin, R. A. Cap. 12, p. 211-229.
- \_\_\_\_\_. 1968. Phosphate metabolism of green algae. In: **ALGAE, Man And Environment**. Ed. Jackson, D. F. cap. 4, p.37-52.

- \_\_\_\_\_. 1974. Phosphorus. In: **Algal Physiology And Biochemistry**. Ed. Stewart, W. D. P. Cap. 23, p.636-654.
- Lapointe, B. E. & J. H. Ryther. 1979. The effects of nitrogen and seawater flow rate on the growth and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima* in mass outdoor culture. **Botanica Marina** **22**(8):529-537.
- Lapointe, B. E. 1981. The effects of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Phycology** **17**:90-95.
- Levy, I.; S. Beer & M. Friedlander. 1990. Growth, photosynthesis and agar in wild-type strains of *Gracilaria verrucosa* and *G. conferta* (Gracilariales, Rhodophyta), as a strain selection experiment. **Hydrobiologia** **204/205**:381-387, 1990.
- Lignell, A.; P. Ekman & M. Pedersén. 1987. Cultivation for marine seaweeds allowing controlled and optimized conditions in the laboratory and on pilot scale. **Botanica Marina** **30**(5):417-424.
- Lobban, C. S.; P. J. Harrison & M. J. Ducan. 1985. **The Physiological Ecology of Seaweeds**. Cambridge University Press. 242 p.
- Lobban, C.S & P.J. Harrison, 1994. **Seaweeds Ecology and Physiology**. Cambridge University Press, 366 p.
- Lotze, H. K. & W. Schramm. 2000. Ecophysiological traits explain species dominance patterns in macroalgal blooms. **Journal of Phycology** **36**:287-295.
- Lundberg, P.; Weich, R.G.; Jesén, P. & Vogel, H.J. 1989. Phosphorus-31 and Nitrogen-14 NMR studies of the uptake of phosphorus and nitrogen compounds in the marine macroalgae *Ulva lactuca*. **Plant Physiology** **89**:1380-1387.
- Lüning, K. 1990. **Seaweeds, their Environment, Biogeography and Ecophysiology**. A. Wiley-Interscience. John Wiley & Sons, Inc. New York, 527 p.
- Macchiavello, J. E.; E. J. de Paula & E. C. Oliveira. 1998. Growth rate responses of five commercial strains of *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales) to temperature and light. **Journal of the World Aquaculture Society** **29**(2): 259-266.
- Macler, B. A. 1986. Regulation of carbon flow by nitrogen and light in red alga *Gelidium coulteri*. **Plant Physiology** **82**:136-141.
- Macler, B. A. 1988. Salinity effects on photosynthesis, carbon allocation and nitrogen assimilation in the red alga, *Gelidium coulteri*. **Plant Physiology** **88**:690-694.

- Macler, B. A. & J. A. West. 1987. Life history and physiology of the red alga, *Gelidium coulteri*, in unialgal culture. **Aquaculture** **61**:281-293.
- Macler B. A. & J. R. Zupan. 1991. Physiological basis for the cultivation of Gelidiales. **Hydrobiologia** **221**:83-90.
- Mairh, O. P. & P. S. Rao. 1978. Culture Studies on *Gelidium pusillum* (Stackh) Le Jolis. **Botanica Marina** **21**(3):169-174.
- Marschner, H. 1995. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. Academic Press, London 2<sup>a</sup>Edition, p.
- Mathieson, A. C. & E. Tveter. 1975. Carrageenan ecology of *Chondrus crispus* Stackhouse. **Aquatic Botany** **1**:25-43.
- McHugh, D. J. 1991. Worldwide distribution of commercial resources of seaweeds including *Gelidium*. **Hydrobiologia** **221**:19-29.
- McLachlan, J. L. 1991. General principles of on-shore cultivation of seaweeds: effects of light on production. **Hydrobiologia** **221**:125-135.
- McLachlan, J. L. & C. J. Bird. 1986. *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. **Aquatic Botany** **26**:27-49.
- Mizuta, H. & Y. Maita. 1991. Effects of nitrate supply on ammonium assimilations in the blade of *Laminaria japonica* (Phaeophyta). **Bulletin of Faculty of Fishery, Hokkaido University** **42**(3):107-114.
- Morgan, K. C. & F. J. Simpson. 1981a. The cultivation of *Palmaria palmate*. Effect of light intensity and nitrate supply on growth and chemical composition. **Botanica Marina** **24**(5):273-277.
- \_\_\_\_\_. 1981b. The cultivation of *Palmaria palmate*. Effect of light intensity and temperature on growth and chemical composition. **Botanica Marina** **24**(10):547-552.
- Mouradi-Givernaud, A.; T. Givernaud; H. Morva & J. Cosson. 1993. Annual variations of the biochemical composition of *Gelidium latifolium* (Greville) Thuret et Bornet. **Hydrobiologia** **260/261**:607-612.
- Nagler, P. L.; E.P. Glenn; S.G. Nelson & S. Napolean. 2003. Effects of fertilization treatment and stocking density on the growth and production of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in cage culture at Molokai, Hawaii. **Aquaculture** **219**:379-391.

- Naldi, M. & P.A. Wheeler. 1999. Change in nitrogen pools in *Ulva fenestra* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) under nitrate and ammonium enrichment. **Journal of Phycology** **35**:70-77.
- \_\_\_\_\_. 2002. N-15 measurements of ammonium and nitrate uptake by *Ulva fenestra* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta): Comparison of net nutrients disappearance, release of ammonium and nitrate, and N-15 accumulation in algal tissue. **Journal of Phycology** **38**:135-144.
- Navarro-Angulo, L & D. Roblebo 1999. Effects of nitrogen source, N:P ratio and pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. **Hydrobiologia** **398/399**:315-320.
- Neish, A. C.; P. F. Shacklock; C. H. Fox & F. J. Simpson. 1977. The cultivation of *Chondrus crispus*. Factors affecting growth under greenhouse conditions. **Canadian Journal Botany** **55**:2263-2271.
- Niell, F. X. 1976. C:N ratio in some marine macrophytes and its possible ecological significance. **Botanica Marina** **19**:347-350.
- Oliger, P. & B. Santelices. 1981. Phycological ecology studies on Chilean Gelidiales. **Journal Experimental Marine Botany** **53**:65-75.
- Oliveira, E. C.; E. J. de Paula & F. A. S. Berchez. 1990. Essays on the cultivation of tropical seaweeds in tanks. In: Oliveira E. C. de & N. Kautsky Ed. **Cultivation of seaweeds in Latin America**. P.69-74
- Orduña-Rojas, J.; D. Robledo & C. J. Dawes. 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatan, Mexico. I. Seasonal physiological and biochemical responses. **Botanica Marina** **45**(5):453-458.
- Perfeto, P. N. M. 1983. **Eco-bioquímica de algas marinhas bentônicas do molhe oeste do Rio Grande - RS**. Dissertação de Mestrado. Universidade do Rio Grande, RS, Brasil. 109 p.
- \_\_\_\_\_. 1998. Relation between chemical composition of *Grateloupia doryphora* (Montagne) Howe, *Gymnogongrus griffithsiae* (turner) Martius and abiotic parameters. **Acta Botânica Brasilica** **12**(1):77-88.
- Pfetzinger, J. D.; B. Stengel; M. M. Cuffe; A. V. Savage & M. D. Guiry. 2000. Effects of temperature and prolonged emersion on photosynthesis, carbohydrate content and growth on the brown intertidal alga *Pelvetia canaliculata*. **Botanica Marina** **40**(4):399-407.

- Polne-Fuller, M. & A. Gibor, 1987. Callus and callus-like growth in seaweeds: induction and culture. **Hydrobiologia** **151/152**:131-138.
- Raikar, S. V.; M. Iima & Y. Fujita. 2001. Effect of temperature, salinity and light intensity on the Growth of *Gracilaria* spp. (Gracilariales, Rhodophyta) from Japan, Malasia and India. **Indian Journal of Marine Science** **30**:98-104.
- Ramus, J; J. I. Beale; D. Mauzerall & K. L. Howard. 1976. Change in photosynthetic pigment concentration in seaweeds in function of water depth. **Marine Biology** **37**:223-229.
- Ramus, J. & J. P. van der Meer. 1983. A physiological test of the theory of complementary chromatic adaption. I. Color mutans of red seaweeds. **Journal of Phycology** **19**:86-91.
- Robledo, D. & Y. F. Pelegrín. 1997. Chemical and mineral composition of six edible seaweed species of Yucatán. **Botanica Marina** **40**(4):301-306.
- Rosenberg, G. & J. Ramus. 1982. Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): Soluble nitrogen and reserves of carbohydrates. **Marine Biology** **66**:251-259.
- Rueness, J. & S. Fredriksen. 1989. Field and culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. & Thur. (Rhodophyta) from Norway. **Sarsia** **74**:177-185.
- Ryther, J. H.; N. Corwin; T. A. DeBusk & L. D. Williams. 1982. Nitrogen uptake and storage by the red alga *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan,1979). **Aquaculture** **26**:107-115.
- Salinas, J. M. 1991a. El proceso de refijación en *Gelidium sesquipedale*(Clem.)Born. et Thur. (Gelidiales:Rhodophyta). **Boletín Instituto Español de Oceanografía** **7**(2):3-58.
- Salinas, J. M. 1991b. Spray system for re-attachment of *Gelidium sesquipedale* (Clem.)Born. et Thur.(Gelidiales-Rhodophyta). **Hydrobiologia** **221**:107-117.
- Salinas, J. M. & L. Valdés. 1993. Influence of temperature and photoperiod on the re - attachment process of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thurn. (Gelidiales: Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology** **5**:317-326.
- Salisbury, F. B & C. W. Ross. 1994. **Fisiología Vegetal**. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C.V. Ed.española. México. 759p.
- Santelices, B. 1978. Multiple interactions of factors in the distribution of some Hawaiian Gelidiales (Rhodophyta). **Pacific Science** **32**(2):119-147.

- Santelices, B.; P. Oligier & S. Montalva. 1981. Production ecology of Chilean Gelidiales. In: **Xth International seaweed Symposium**. Ed. Tore Levring. pp. 351-356.
- Santelices, B. 1987a. Métodos alternativos para la propagación y cultivo de *Gelidium* in Chile Central. In: **Proceedings of the Latin American Seminar on Aquaculture in Lima, Peru**. pp. 349-366.
- Santelices, B. 1987b. The wild harvest and culture of economically important species of *Gelidium* in Chile. **Fao Fisheries Technology Paper 28**:165-192.
- Santelices, B. 1988. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). **FAO Fisheries Synopsis 145**:1-5.
- Santelices, B. 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. **Oceanographic Marine Biology Annual Review 28**:177-276.
- Santelices, B. 1991. Production ecology of *Gelidium*. **Hydrobiologia 221**:31-44.
- Santelices, B. & D. Varela 1994. Abiotic control of reattachment in *Gelidium chilensis* (Montagne) Santelices & Montalva (Gelidiales; Rhodophyta). **Journal Experimental Marine Biology Ecology 177**:145-155.
- Santos, R. 1993a. A multivariate study of biotic and abiotic relationship in subtidal algal stand. **Marine Ecology Progress Series 94**:181-190.
- Santos, R. 1993b. Plucking or cutting *Gelidium sesquipedale*? A demographic simulation of harvest impact a population projection matrix model. **Hydrobiologia 260/261**:269-276.
- Santos R. & P. Duarte. 1991. Marine plant harvest in Portugal. **Journal of Applied Phycology 3**:11-18.
- Sivalingam, P.M. 1989. Environmental factors governing mariculture of algae in Malaysia. In: **Program of First International Marine Biotechnology Conference**, p. 28 - Summary.
- Skjak-Broek, G. & A. Martinsen. 1991. Applications of some algal polysaccharides in biotechnology. In: Guiry, M. D. & G. Bluden Ed. **Seaweed resources in Europe uses and potential**. Cap. 9 pp.219-257.
- Smit, A. J.; B. L. Robertson & D. R. du Preez. 1997. Influence of ammonium-N pulse concentrations and frequency, tank condition and nitrogen starvation on growth rate and biochemical composition of *Gracilaria gracilis*. **Journal of Applied Phycology 8**:473-481.



- Smit, A. J. 2002. Nitrogen uptake by *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta): Adaptations to a temporally variable nitrogen environment. **Botanica Marina** **45**(2):196-209.
- Sousa-Pinto, I.; R. Lewia & M. Polne-Füller. 1996. The effect of phosphate concentration on growth and agar content of *Gelidium robustum* (Gelidiaceae, Rhodophyta) in culture. **Hydrobiologia** **326/327**:437-443.
- Sousa-Pinto, I.; E. Murano; S. Coelho; A. Felga & R. Pereira. 1999. The effect of light on growth and agar content of *Gelidium pulchellum* (Gelidiaceae, Rhodophyta) in culture. **Hydrobiologia** **398/399**:329-338.
- StatSoft, Inc. 1995. **Statistica for Windows [Computer Program Manual]**. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2325 East 13<sup>th</sup> street, Tulsa, OK, 74104.
- Stewart, J.G. 1968. Morphological variation in *Pterocladia pyramidale*. **Journal of Phycology** **4**:76-84.
- Tasende, M. G. & M. I. Fraga. 1999. Growth of *Chondrus crispus* Stackhouse (Rhodophyta, Gigartinaceae) in laboratory culture. **Ophelia** **51**:203-213.
- Thimijan, R. W. & R. D. Heins. 1983. Photometric, Radiometric, and Quantum light Units of Measure: A Review of Procedures for Interconversion. **HortScience** **18**(6):818-822.
- Thomas, T. E. & P. J. Harrison. 1987. Rapid ammonium uptake and interactions in five intertidal seaweeds grown under field condition. **Journal Experimental Marine Biology Ecology** **107**:1-8.
- Topinka, J. A. 1978. Nitrogen uptake by *Fucus spiralis* (Phaeophyta). **Journal of Phycology** **14**:241-247.
- Torres, M.; F. X. Niell & P. Algarra. 1991. Photosynthesis of *Gelidium sesquipedale*: effects of temperature and light on pigment concentration, C/N ratio and cell-wall polysaccharides. **Hydrobiologia** **221**:77-82.
- Tseng, C. K. 2001. Algal biotechnology industries and research activities in China. **Journal of Applied Phycology** **13**:375-380.
- Ugarte, R. & B. Santelices. 1992. Experimental tank cultivation of *Gracilaria chilensis* in Central Chile. **Aquaculture** **101**:7-16.
- Vergara, J. J.; F. X. Niell & M. Torres. 1993. Culture of *Gelidium sesquipedale*(Clem.) Born et Thurn. in chemostat system. Biomass production and metabolic responses affected by N flow. **Journal of Applied Phycology** **5**:405-415.

- Vergara, J. J.; K. T. Bird & F. X. Niell. 1995. Nitrogen assimilation following  $\text{NH}_4^+$  pulses in the red alga *Gracilariopsis lemaneiformis*: effect on C metabolism. **Marine Ecology Progress Series** **122**:253-263.
- Wakibia, J. G., R. J. Anderson & D. W. Keats. 2001. Growth rates and agar properties of three gracilarioids in suspended open water cultivation in St. Helena Bay, South Africa. **Journal of Applied Phycology** **13**:195-207.
- Wilson, A. J. & A. T. Critchley. 1997. Studies on *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft, Farnham and Irvine and *Gracilaria aculeate* (Hering) Papenfuss from southern Africa. I. The influence of temperature, irradiance, salinity and nitrogen-nutrition on growth. **South African Journal of Botany** **63**:465-473.
- Wong, S-L. & J. Chang. 2000. Salinity and light effects on growth, photosynthesis, and respiration of *Grateloupia filicina* (Rhodophyta). **Aquaculture** **182**:387-395.
- Yokoya, N. S. & E. C. Oliveira. 1992. Temperature responses of economically important red algae and their potential for mariculture in Brazilian. **Journal of Applied Phycology** **4**:339-354.

# **A N E X O S**

Anexo 1 - Diferença mínima significante entre as médias relativas ao incremento de proteínas, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	LUZ	FID	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}
			1,90	1,69	2,33	0,65	0,22	0,53	0,09	0,08	0,66	2,33	2,28	2,67	0,69	0,96	2,11	0,24	0,22	0,73
20	12	2,5	{1}	0,43	0,16	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,16	0,19	,01*	,00*	,00*	0,45	,00*	,00*	,00*
20	12	5,0	{2}	0,43	,04*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,04*	,05*	,00*	,00*	,01*	0,15	,00*	,00*	,00*
20	12	10,0	{3}	0,16	,04*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,99	0,86	0,21	,00*	,00*	0,46	,00*	,00*	,00*
20	24	2,5	{4}	,00*	,00*	,00*	0,16	0,66	0,08	0,07	0,94	,00*	,00*	,00*	0,86	0,3	,00*	0,16	0,16	0,79
20	24	5,0	{5}	,00*	,00*	,00*	0,16	0,3	0,64	0,62	0,15	,00*	,00*	,00*	0,13	,02*	,00*	0,95	0,99	0,11
20	24	10,0	{6}	,00*	,00*	,00*	0,66	0,3	0,15	0,15	0,63	,00*	,00*	,00*	0,57	0,16	,00*	0,28	0,29	0,52
20	40	2,5	{7}	,00*	,00*	,00*	0,08	0,64	0,15	0,95	0,07	,00*	,00*	,00*	0,06	,01*	,00*	0,63	0,65	,05*
20	40	5,0	{8}	,00*	,00*	,00*	0,07	0,62	0,15	0,95	0,06	,00*	,00*	,00*	0,05	,01*	,00*	0,6	0,63	,04*
20	40	10,0	{9}	,00*	,00*	,00*	0,94	0,15	0,63	0,07	0,06	,00*	,00*	,00*	0,91	0,32	,00*	0,15	0,15	0,83
25	12	2,5	{10}	0,16	,04*	0,99	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,86	0,23	,00*	,00*	0,45	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	5,0	{11}	0,19	,05*	0,86	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,86	0,19	,00*	,00*	0,53	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	10,0	{12}	,01*	,00*	0,21	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,23	0,19	,00*	,00*	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	2,5	{13}	,00*	,00*	,00*	0,86	0,13	0,57	0,06	0,05	0,91	,00*	,00*	,00*	0,35	,00*	0,13	0,13	0,91
25	24	5,0	{14}	,00*	,01*	,00*	0,3	,02*	0,16	,01*	,01*	0,32	,00*	,00*	,00*	0,35	,00*	,02*	,02*	0,38
25	24	10,0	{15}	0,45	0,15	0,46	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,45	0,53	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	40	2,5	{16}	,00*	,00*	,00*	0,16	0,95	0,28	0,63	0,6	0,15	,00*	,00*	,00*	0,13	,02*	,00*	0,96	0,12
25	40	5,0	{17}	,00*	,00*	,00*	0,16	0,99	0,29	0,65	0,63	0,15	,00*	,00*	,00*	0,13	,02*	,00*	0,96	0,11
25	40	10,0	{18}	,00*	,00*	,00*	0,79	0,11	0,52	,05*	,04*	0,83	,00*	,00*	,00*	0,91	0,38	,00*	0,12	0,11

Anexo 2 - Diferença mínima significante entre as médias relativas ao incremento de carboidratos, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	LUZ	PPO4	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}
			0,57	0,55	0,4	1,7	3,06	4,72	2,1	2,62	3,33	0,52	2,81	4,68	4,68	5,67	6,85	2,97	3,61	4,72
20	12	2,5 {1}		0,96	0,76	,04*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	0,92	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	5,0 {2}	0,96		0,79	,04*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	0,96	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	10,0 {3}	0,76	0,79		,03*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	0,81	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	2,5 {4}	,04*	,04*	,03*		,02*	,00*	0,45	0,1	,01*	,04*	0,06	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	,00*
20	24	5,0 {5}	,00*	,00*	,00*	,02*		,01*	0,11	0,45	0,6	,00*	0,66	,01*	,01*	,00*	,00*	0,86	0,32	,01*
20	24	10,0 {6}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*		,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	0,94	0,94	0,08	,00*	,00*	0,06	1
20	40	2,5 {7}	,01*	,01*	,01*	0,45	0,11	,00*		0,32	,04*	,01*	0,2	,00*	,00*	,00*	,00*	0,13	,01*	,00*
20	40	5,0 {8}	,00*	,00*	,00*	0,1	0,45	,00*	0,32		0,23	,00*	0,71	,00*	,00*	,00*	,00*	0,54	0,1	,00*
20	40	10,0 {9}	,00*	,00*	,00*	,01*	0,6	,02*	,04*	0,23		,00*	0,37	,02*	,02*	,00*	,00*	0,51	0,6	,02*
25	12	2,5 {10}	0,92	0,96	0,81	,04*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	5,0 {11}	,00*	,00*	,00*	0,06	0,66	,00*	0,2	0,71	0,37	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	0,77	0,18	,00*
25	12	10,0 {12}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	0,94	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*		0,99	0,1	,00*	,00*	,05*	0,94
25	24	2,5 {13}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	0,94	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	0,99		0,09	,00*	,00*	0,06	0,94
25	24	5,0 {14}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,08	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,1	0,09		,03*	,00*	,00*	0,09
25	24	10,0 {15}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*		,00*	,00*	,00*
25	40	2,5 {16}	,00*	,00*	,00*	,03*	0,86	,00*	0,13	0,54	0,51	,00*	0,77	,00*	,00*	,00*	,00*		0,26	,00*
25	40	5,0 {17}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,32	0,06	,01*	0,1	0,6	,00*	0,18	,05*	0,06	,00*	,00*	0,26		0,06
25	40	10,0 {18}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	1	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	0,94	0,94	0,09	,00*	,00*	0,06	

Anexo 3 - Diferença mínima significativa entre as médias relativas ao incremento de fósforo tecidual, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e fósforo inorgânico disponível (FID), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	LUZ	PPO4	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}
			0,2	0,37	0,56	0,11	0,22	0,42	0,16	0,19	0,36	0,21	0,33	0,47	0,08	0,34	0,37	-0,04	0,26	0,35
20	12	2,5	{1}	,00*	,00*	,02*	0,6	,00*	0,24	0,66	,00*	0,78	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,18	,00*
20	12	5,0	{2}	,00*		,00*	,00*	0,19	,00*	,00*	0,84	,00*	0,34	,01*	,00*	0,5	0,94	,00*	,01*	0,57
20	12	10,0	{3}	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	2,5	{4}	,02*	,00*	,00*		,01*	,00*	0,2	0,05	,00*	,01*	,00*	,00*	0,35	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	5,0	{5}	0,6	,00*	,00*	,01*		,00*	0,11	0,36	,00*	0,78	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,36	,00*
20	24	10,0	{6}	,00*	0,19	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	0,16	,00*	,04*	0,14	,00*	0,07	0,19	,00*	,00*
20	40	2,5	{7}	0,24	,00*	,00*	0,2	0,11	,00*		0,42	,00*	0,17	,00*	,00*	,04*	,00*	,00*	,02*	,00*
20	40	5,0	{8}	0,66	,00*	,00*	0,05	0,36	,00*	0,42		,00*	0,5	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	0,09	,00*
20	40	10,0	{9}	,00*	0,84	,00*	,00*	,00*	0,16	,00*	,00*		,00*	0,43	,01*	,00*	0,61	0,88	,00*	,01*
25	12	2,5	{10}	0,78	,00*	,00*	,01*	0,78	,00*	0,17	0,5	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,26
25	12	5,0	{11}	,00*	0,34	,00*	,00*	,01*	,04*	,00*	,00*	0,43	,00*		,00*	,00*	0,74	0,37	,00*	,04*
25	12	10,0	{12}	,00*	,01*	,01*	,00*	,00*	0,14	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*		,00*	,01*	,00*	,00*	,00*
25	24	2,5	{13}	,00*	,00*	,00*	0,35	,00*	,00*	,04*	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	5,0	{14}	,00*	0,5	,00*	,00*	,00*	0,07	,00*	,00*	0,61	,00*	0,74	,00*	,00*		0,53	,00*	,03*
25	24	10,0	{15}	,00*	0,94	,00*	,00*	,00*	0,19	,00*	,00*	0,88	,00*	0,37	,01*	,00*	0,53		,00*	,01*
25	40	2,5	{16}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*			,00*
25	40	5,0	{17}	0,18	,01*	,00*	,00*	0,36	,00*	,02*	0,09	,01*	0,26	,04*	,00*	,00*	,03*	,01*	,00*	
25	40	10,0	{18}	,00*	0,57	,00*	,00*	,00*	0,09	,00*	,00*	0,69	,00*	0,66	,00*	,00*	0,89	0,6	,00*	,02*



## Anexo 4 - Continuação.

	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}	{21}	{22}	{23}	{24}
TEMP FID SAL	0,38	0,6	0,78	0,65	0,6	1,13	0,98	0,22	0,63	1,25	1,71	0,53
15 2,5 10 {1}	0,49	0,89	0,46	0,78	0,9	0,05	0,15	0,2	0,83	,02*	,00*	0,87
15 2,5 15 {2}	0,39	0,93	0,58	0,93	0,92	0,08	0,21	0,15	0,99	,03*	,00*	0,73
15 2,5 20 {3}	0,41	0,96	0,55	0,9	0,96	0,07	0,2	0,16	0,95	,03*	,00*	0,76
15 2,5 25 {4}	0,32	0,81	0,67	0,93	0,81	0,1	0,26	0,12	0,88	,04*	,00*	0,63
15 5,0 10 {5}	0,15	0,49	0,94	0,58	0,48	0,22	0,49	,05*	0,54	0,1	,00*	0,35
15 5,0 15 {6}	0,21	0,62	0,87	0,72	0,61	0,16	0,38	0,07	0,68	0,07	,00*	0,46
15 5,0 20 {7}	0,94	0,45	0,19	0,38	0,46	,01*	,05*	0,48	0,42	,00*	,00*	0,58
15 5,0 25 {8}	0,54	0,83	0,41	0,72	0,83	,04*	0,13	0,23	0,77	,01*	,00*	0,94
15 10,0 10 {9}	0,06	0,25	0,55	0,31	0,25	0,45	0,85	,01*	0,28	0,25	,00*	0,16
15 10,0 15 {10}	0,22	0,62	0,87	0,73	0,62	0,16	0,38	0,07	0,68	0,07	,00*	0,46
15 10,0 20 {11}	0,32	0,81	0,67	0,93	0,81	0,1	0,26	0,12	0,88	,04*	,00*	0,63
15 10,0 25 {12}	0,99	0,43	0,17	0,36	0,44	,01*	,04*	0,5	0,39	,00*	,00*	0,57
20 2,5 10 {13}		0,43	0,17	0,35	0,43	,01*	,04*	0,48	0,39	,00*	,00*	0,57
20 2,5 15 {14}	0,43		0,53	0,87	1	0,07	0,19	0,17	0,92	,02*	,00*	0,78
20 2,5 20 {15}	0,17	0,53		0,62	0,52	0,2	0,46	0,05	0,58	0,09	,00*	0,38
20 2,5 25 {16}	0,35	0,87	0,62		0,87	0,09	0,24	0,13	0,94	,03*	,00*	0,68
20 5,0 10 {17}	0,43	1	0,52	0,87		0,07	0,18	0,17	0,92	,02*	,00*	0,79
20 5,0 15 {18}	,01*	0,07	0,2	0,09	0,07		0,52	,00*	0,08	0,63	,03*	,04*
20 5,0 20 {19}	,04*	0,19	0,46	0,24	0,18	0,52		,01*	0,22	0,3	,01*	0,12
20 5,0 25 {20}	0,48	0,17	0,05	0,13	0,17	,00*	,01*		0,15	,00*	,00*	0,24
20 10,0 10 {21}	0,39	0,92	0,58	0,94	0,92	0,08	0,22	0,15		,03*	,00*	0,72
20 10,0 15 {22}	,00*	,02*	0,09	,03*	,02*	0,63	0,3	,00*	,03*		0,08	,01*
20 10,0 20 {23}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	,01*	,00*	,00*	0,08		,00*
20 10,0 25 {24}	0,57	0,78	0,38	0,68	0,79	,04*	0,12	0,24	0,72	,01*	,00*	
25 2,5 10 {25}	0,05	0,22	0,51	0,28	0,22	0,49	0,9	,01*	0,25	0,27	,01*	0,14
25 2,5 15 {26}	,00*	,01*	,04*	,01*	,01*	0,38	0,16	,00*	,01*	0,64	0,17	,00*
25 2,5 20 {27}	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	0,13	,04*	,00*	,00*	0,27	0,45	,00*
25 2,5 25 {28}	0,28	0,73	0,74	0,85	0,73	0,12	0,31	0,1	0,8	,05*	,00*	0,56
25 5,0 10 {29}	,01*	0,05	0,17	0,07	0,05	0,91	0,48	,00*	0,07	0,69	,04*	,03*
25 5,0 15 {30}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*
25 5,0 20 {31}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,14	,00*
25 5,0 25 {32}	,05*	0,21	0,49	0,26	0,21	0,5	0,94	,01*	0,24	0,28	,01*	0,13
25 10,0 10 {33}	,00*	,01*	,03*	,01*	,01*	0,35	0,14	,00*	,01*	0,61	0,18	,00*
25 10,0 15 {34}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25 10,0 20 {35}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25 10,0 25 {36}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,1	,00*



## Anexo 4 - Continuação

	{25}	{26}	{27}	{28}	{29}	{30}	{31}	{32}	{33}	{34}	{35}	{36}
TEMP FID SAL	0,95	1,35	1,53	0,69	1,15	2,42	2,05	0,96	1,37	2,83	2,62	2,11
15 2,5 10 {1}	0,18	,01*	,00*	0,65	,04*	,00*	,00*	0,17	,00*	,00*	,00*	,00*
15 2,5 15 {2}	0,25	,01*	,00*	0,8	0,06	,00*	,00*	0,24	,01*	,00*	,00*	,00*
15 2,5 20 {3}	0,23	,01*	,00*	0,76	0,06	,00*	,00*	0,22	,01*	,00*	,00*	,00*
15 2,5 25 {4}	0,31	,01*	,00*	0,9	0,08	,00*	,00*	0,29	,01*	,00*	,00*	,00*
15 5,0 10 {5}	0,54	,04*	,01*	0,7	0,19	,00*	,00*	0,53	,04*	,00*	,00*	,00*
15 5,0 15 {6}	0,43	,03*	,00*	0,85	0,14	,00*	,00*	0,42	,02*	,00*	,00*	,00*
15 5,0 20 {7}	0,06	,00*	,00*	0,3	,01*	,00*	,00*	0,05	,00*	,00*	,00*	,00*
15 5,0 25 {8}	0,16	,00*	,00*	0,6	,04*	,00*	,00*	0,15	,00*	,00*	,00*	,00*
15 10,0 10 {9}	0,93	0,12	,03*	0,38	0,41	,00*	,00*	0,9	0,11	,00*	,00*	,00*
15 10,0 15 {10}	0,43	,03*	,00*	0,85	0,14	,00*	,00*	0,42	,02*	,00*	,00*	,00*
15 10,0 20 {11}	0,31	,01*	,00*	0,91	0,08	,00*	,00*	0,29	,01*	,00*	,00*	,00*
15 10,0 25 {12}	0,05	,00*	,00*	0,28	,01*	,00*	,00*	,05*	,00*	,00*	,00*	,00*
20 2,5 10 {13}	0,05	,00*	,00*	0,28	,01*	,00*	,00*	,05*	,00*	,00*	,00*	,00*
20 2,5 15 {14}	0,22	,01*	,00*	0,73	0,05	,00*	,00*	0,21	,01*	,00*	,00*	,00*
20 2,5 20 {15}	0,51	,04*	,01*	0,74	0,17	,00*	,00*	0,49	,03*	,00*	,00*	,00*
20 2,5 25 {16}	0,28	,01*	,00*	0,85	0,07	,00*	,00*	0,26	,01*	,00*	,00*	,00*
20 5,0 10 {17}	0,22	,01*	,00*	0,73	0,05	,00*	,00*	0,21	,01*	,00*	,00*	,00*
20 5,0 15 {18}	0,49	0,38	0,13	0,12	0,91	,00*	,00*	0,5	0,35	,00*	,00*	,00*
20 5,0 20 {19}	0,9	0,16	,04*	0,31	0,48	,00*	,00*	0,94	0,14	,00*	,00*	,00*
20 5,0 25 {20}	,01*	,00*	,00*	0,1	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*
20 10,0 10 {21}	0,25	,01*	,00*	0,8	0,07	,00*	,00*	0,24	,01*	,00*	,00*	,00*
20 10,0 15 {22}	0,27	0,64	0,27	,05*	0,69	,00*	,00*	0,28	0,61	,00*	,00*	,00*
20 10,0 20 {23}	,01*	0,17	0,45	,00*	,04*	,01*	0,14	,01*	0,18	,00*	,00*	0,1
20 10,0 25 {24}	0,14	,00*	,00*	0,56	,03*	,00*	,00*	0,13	,00*	,00*	,00*	,00*
25 2,5 10 {25}		0,14	,03*	0,35	0,44	,00*	,00*	0,96	0,12	,00*	,00*	,00*
25 2,5 15 {26}	0,14		0,48	,02*	0,42	,00*	,01*	0,14	0,93	,00*	,00*	,00*
25 2,5 20 {27}	,03*	0,48		,00*	0,15	,00*	,03*	,04*	0,5	,00*	,00*	,02*
25 2,5 25 {28}	0,35	,02*	,00*		0,1	,00*	,00*	0,33	,02*	,00*	,00*	,00*
25 5,0 10 {29}	0,44	0,42	0,15	0,1		,00*	,00*	0,46	0,39	,00*	,00*	,00*
25 5,0 15 {30}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*		0,14	,00*	,00*	0,09	0,39	0,19
25 5,0 20 {31}	,00*	,01*	,03*	,00*	,00*	0,14		,00*	,01*	,00*	,03*	0,81
25 5,0 25 {32}	0,96	0,14	,04*	0,33	0,46	,00*	,00*		0,13	,00*	,00*	,00*
25 10,0 10 {33}	0,12	0,93	0,5	,02*	0,39	,00*	,01*	0,13		,00*	,00*	,00*
25 10,0 15 {34}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,09	,00*	,00*	,00*		0,35	,00*
25 10,0 20 {35}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,39	,03*	,00*	,00*	0,35		,04*
25 10,0 25 {36}	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	0,19	0,81	,00*	,00*	,00*	,04*	



Anexo 7 - Diferença mínima significativa entre as médias relativas ao incremento de fósforo tecidual, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), fósforo inorgânico disponível (FID) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	FID	SAL	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	
			0,6	0,51	0,38	0,27	0,73	0,57	0,43	0,3	0,8	0,62	0,5	0,31	
15	2,5	10	{1}		,02*	,00*	,00*	,00*	0,39	,00*	,00*	,00*	0,63	,01*	,00*
15	2,5	15	{2}	,02*		,00*	,00*	,00*	0,14	,03*	,00*	,00*	,01*	0,76	,00*
15	2,5	20	{3}	,00*	,00*		,01*	,00*	,00*	0,22	,04*	,00*	,00*	,00*	0,1
15	2,5	25	{4}	,00*	,00*	,01*		,00*	,00*	,00*	0,51	,00*	,00*	,00*	0,3
15	5,0	10	{5}	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	,00*	,00*
15	5,0	15	{6}	0,39	0,14	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	0,21	0,09	,00*
15	5,0	20	{7}	,00*	,03*	0,22	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	0,06	,01*
15	5,0	25	{8}	,00*	,00*	,04*	0,51	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	0,65
15	10,0	10	{9}	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*
15	10,0	15	{10}	0,63	,01*	,00*	,00*	,00*	0,21	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*
15	10,0	20	{11}	,01*	0,76	,00*	,00*	,00*	0,09	0,06	,00*	,00*	,00*		,00*
15	10,0	25	{12}	,00*	,00*	0,1	0,3	,00*	,00*	,01*	0,65	,00*	,00*	,00*	
20	2,5	10	{13}	,03*	0,99	,00*	,00*	,00*	0,15	,03*	,00*	,00*	,01*	0,75	,00*
20	2,5	15	{14}	,00*	,00*	0,17	0,19	,00*	,00*	,01*	0,46	,00*	,00*	,00*	0,74
20	2,5	20	{15}	,00*	,00*	,01*	1	,00*	,00*	,00*	0,5	,00*	,00*	,00*	0,29
20	2,5	25	{16}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	5,0	10	{17}	0,43	0,12	,00*	,00*	,00*	0,89	,00*	,00*	,00*	0,24	0,07	,00*
20	5,0	15	{18}	,00*	,00*	0,54	,04*	,00*	,00*	0,08	0,14	,00*	,00*	,00*	0,27
20	5,0	20	{19}	,00*	,00*	,01*	0,84	,00*	,00*	,00*	0,41	,00*	,00*	,00*	0,23
20	5,0	25	{20}	,00*	,00*	,00*	0,22	,00*	,00*	,00*	0,07	,00*	,00*	,00*	,03*
20	10,0	10	{21}	,02*	,00*	,00*	,00*	0,26	,00*	,00*	,00*	,00*	,05*	,00*	,00*
20	10,0	15	{22}	0,15	0,36	,00*	,00*	,00*	0,5	,00*	,00*	,00*	0,07	0,26	,00*
20	10,0	20	{23}	,00*	,01*	0,35	,00*	,00*	,00*	0,68	,00*	,00*	,00*	,03*	,01*
20	10,0	25	{24}	,00*	,02*	0,29	,00*	,00*	,00*	0,82	,00*	,00*	,00*	,04*	,01*
25	2,5	10	{25}	,00*	,04*	0,19	,00*	,00*	,00*	0,9	,00*	,00*	,00*	0,07	,00*
25	2,5	15	{26}	,00*	,00*	,05*	0,5	,00*	,00*	,00*	1	,00*	,00*	,00*	0,67
25	2,5	20	{27}	,00*	,00*	,00*	0,53	,00*	,00*	,00*	0,22	,00*	,00*	,00*	0,11
25	2,5	25	{28}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	5,0	10	{29}	,03*	0,9	,00*	,00*	,00*	0,16	,03*	,00*	,00*	,01*	0,68	,00*
25	5,0	15	{30}	,00*	0,1	0,08	,00*	,00*	,00*	0,56	,00*	,00*	,00*	0,13	,00*
25	5,0	20	{31}	,00*	,00*	,01*	0,89	,00*	,00*	,00*	0,45	,00*	,00*	,00*	0,25
25	5,0	25	{32}	,00*	,00*	0,36	0,08	,00*	,00*	,04*	0,23	,00*	,00*	,00*	0,41
25	10,0	10	{33}	0,93	,02*	,00*	,00*	,00*	0,36	,00*	,00*	,00*	0,67	,01*	,00*
25	10,0	15	{34}	,00*	0,09	0,09	,00*	,00*	,00*	0,59	,00*	,00*	,00*	0,14	,00*
25	10,0	20	{35}	,00*	,02*	0,28	,00*	,00*	,00*	0,82	,00*	,00*	,00*	,04*	,01*
25	10,0	25	{36}	,00*	,00*	0,77	,02*	,00*	,00*	0,14	0,07	,00*	,00*	,00*	0,16

## Anexo 7 - Continuação

	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}	{21}	{22}	{23}	{24}
TEMP FID SAL	0,51	0,32	0,27	0,11	0,57	0,36	0,26	0,22	0,69	0,54	0,41	0,42
15 2,5 10 {1}	,03*	,00*	,00*	,00*	0,43	,00*	,00*	,00*	,02*	0,15	,00*	,00*
15 2,5 15 {2}	0,99	,00*	,00*	,00*	0,12	,00*	,00*	,00*	,00*	0,36	,01*	,02*
15 2,5 20 {3}	,00*	0,17	,01*	,00*	,00*	0,54	,01*	,00*	,00*	,00*	0,35	0,29
15 2,5 25 {4}	,00*	0,19	1	,00*	,00*	,04*	0,84	0,22	,00*	,00*	,00*	,00*
15 5,0 10 {5}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,26	,00*	,00*	,00*
15 5,0 15 {6}	0,15	,00*	,00*	,00*	0,89	,00*	,00*	,00*	,00*	0,5	,00*	,00*
15 5,0 20 {7}	,03*	,01*	,00*	,00*	,00*	0,08	,00*	,00*	,00*	,00*	0,68	0,82
15 5,0 25 {8}	,00*	0,46	0,5	,00*	,00*	0,14	0,41	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*
15 10,0 10 {9}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
15 10,0 15 {10}	,01*	,00*	,00*	,00*	0,24	,00*	,00*	,00*	,05*	0,07	,00*	,00*
15 10,0 20 {11}	0,75	,00*	,00*	,00*	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*	0,26	,03*	,04*
15 10,0 25 {12}	,00*	0,74	0,29	,00*	,00*	0,27	0,23	,03*	,00*	,00*	,01*	,01*
20 2,5 10 {13}		,00*	,00*	,00*	0,12	,00*	,00*	,00*	,00*	0,38	,01*	,02*
20 2,5 15 {14}	,00*		0,18	,00*	,00*	0,41	0,14	,01*	,00*	,00*	,03*	,02*
20 2,5 20 {15}	,00*	0,18		,00*	,00*	,04*	0,84	0,22	,00*	,00*	,00*	,00*
20 2,5 25 {16}	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20 5,0 10 {17}	0,12	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	0,45	,00*	,00*
20 5,0 15 {18}	,00*	0,41	,04*	,00*	,00*		,03*	,00*	,00*	,00*	0,15	0,11
20 5,0 20 {19}	,00*	0,14	0,84	,00*	,00*	,03*		0,27	,00*	,00*	,00*	,00*
20 5,0 25 {20}	,00*	,01*	0,22	,00*	,00*	,00*	0,27		,00*	,00*	,00*	,00*
20 10,0 10 {21}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*
20 10,0 15 {22}	0,38	,00*	,00*	,00*	0,45	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*
20 10,0 20 {23}	,01*	,03*	,00*	,00*	,00*	0,15	,00*	,00*	,00*	,00*		0,83
20 10,0 25 {24}	,02*	,02*	,00*	,00*	,00*	0,11	,00*	,00*	,00*	,00*	0,83	
25 2,5 10 {25}	,04*	,01*	,00*	,00*	,00*	0,06	,00*	,00*	,00*	,00*	0,61	0,74
25 2,5 15 {26}	,00*	0,48	0,47	,00*	,00*	0,15	0,41	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*
25 2,5 20 {27}	,00*	0,06	0,54	,00*	,00*	,01*	0,63	0,48	,00*	,00*	,00*	,00*
25 2,5 25 {28}	,00*	,00*	,00*	0,33	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25 5,0 10 {29}	0,9	,00*	,00*	,00*	0,13	,00*	,00*	,00*	,00*	0,4	,01*	,02*
25 5,0 15 {30}	0,09	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	,00*	,01*	0,35	0,44
25 5,0 20 {31}	,00*	0,16	0,9	,00*	,00*	,03*	0,93	0,25	,00*	,00*	,00*	,00*
25 5,0 25 {32}	,00*	0,59	0,07	,00*	,00*	0,73	0,05	,00*	,00*	,00*	0,08	0,06
25 10,0 10 {33}	,02*	,00*	,00*	,00*	0,41	,00*	,00*	,00*	,02*	0,14	,00*	,00*
25 10,0 15 {34}	0,09	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	,00*	,00*	,01*	0,37	0,47
25 10,0 20 {35}	,02*	,02*	,00*	,00*	,00*	0,11	,00*	,00*	,00*	,00*	0,84	0,99
25 10,0 25 {36}	,00*	0,26	,02*	,00*	,00*	0,71	,01*	,00*	,00*	,00*	0,25	0,2

## Anexo 7 - Continuação.

	{25}	{26}	{27}	{28}	{29}	{30}	{31}	{32}	{33}	{34}	{35}	{36}
TEMP FID SAL	0,43	0,3	0,25	0,08	0,52	0,45	0,27	0,34	0,6	0,45	0,42	0,37
15 2,5 10 {1}	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	,00*	,00*	0,93	,00*	,00*	,00*
15 2,5 15 {2}	,04*	,00*	,00*	,00*	0,9	0,1	,00*	,00*	,02*	0,09	,02*	,00*
15 2,5 20 {3}	0,19	,05*	,00*	,00*	,00*	0,08	,01*	0,36	,00*	0,09	0,28	0,77
15 2,5 25 {4}	,00*	0,5	0,53	,00*	,00*	,00*	0,89	0,08	,00*	,00*	,00*	,02*
15 5,0 10 {5}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
15 5,0 15 {6}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,16	,00*	,00*	,00*	0,36	,00*	,00*	,00*
15 5,0 20 {7}	0,9	,00*	,00*	,00*	,03*	0,56	,00*	,04*	,00*	0,59	0,82	0,14
15 5,0 25 {8}	,00*	1	0,22	,00*	,00*	,00*	0,45	0,23	,00*	,00*	,00*	0,07
15 10,0 10 {9}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
15 10,0 15 {10}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	,00*	0,67	,00*	,00*	,00*
15 10,0 20 {11}	0,07	,00*	,00*	,00*	0,68	0,13	,00*	,00*	,01*	0,14	,04*	,00*
15 10,0 25 {12}	,00*	0,67	0,11	,00*	,00*	,00*	0,25	0,41	,00*	,00*	,01*	0,16
20 2,5 10 {13}	,04*	,00*	,00*	,00*	0,9	0,09	,00*	,00*	,02*	0,09	,02*	,00*
20 2,5 15 {14}	,01*	0,48	0,06	,00*	,00*	,00*	0,16	0,59	,00*	,00*	,02*	0,26
20 2,5 20 {15}	,00*	0,47	0,54	,00*	,00*	,00*	0,9	0,07	,00*	,00*	,00*	,02*
20 2,5 25 {16}	,00*	,00*	,00*	0,33	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20 5,0 10 {17}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,13	,00*	,00*	,00*	0,41	,00*	,00*	,00*
20 5,0 15 {18}	0,06	0,15	,01*	,00*	,00*	,02*	,03*	0,73	,00*	,03*	0,11	0,71
20 5,0 20 {19}	,00*	0,41	0,63	,00*	,00*	,00*	0,93	0,05	,00*	,00*	,00*	,01*
20 5,0 25 {20}	,00*	0,07	0,48	,00*	,00*	,00*	0,25	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20 10,0 10 {21}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	,00*
20 10,0 15 {22}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,4	,01*	,00*	,00*	0,14	,01*	,00*	,00*
20 10,0 20 {23}	0,61	,00*	,00*	,00*	,01*	0,35	,00*	0,08	,00*	0,37	0,84	0,25
20 10,0 25 {24}	0,74	,00*	,00*	,00*	,02*	0,44	,00*	0,06	,00*	0,47	0,99	0,2
25 2,5 10 {25}		,00*	,00*	,00*	,03*	0,63	,00*	,03*	,00*	0,65	0,74	0,12
25 2,5 15 {26}	,00*		0,22	,00*	,00*	,00*	0,44	0,24	,00*	,00*	,00*	0,08
25 2,5 20 {27}	,00*	0,22		,00*	,00*	,00*	0,6	,02*	,00*	,00*	,00*	,00*
25 2,5 25 {28}	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25 5,0 10 {29}	,03*	,00*	,00*	,00*		0,08	,00*	,00*	,03*	0,08	,02*	,00*
25 5,0 15 {30}	0,63	,00*	,00*	,00*	0,08		,00*	,01*	,00*	0,94	0,44	,05*
25 5,0 20 {31}	,00*	0,44	0,6	,00*	,00*	,00*		0,06	,00*	,00*	,00*	,01*
25 5,0 25 {32}	,03*	0,24	,02*	,00*	,00*	,01*	0,06		,00*	,01*	0,06	0,5
25 10,0 10 {33}	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*
25 10,0 15 {34}	0,65	,00*	,00*	,00*	0,08	0,94	,00*	,01*	,00*		0,47	0,05
25 10,0 20 {35}	0,74	,00*	,00*	,00*	,02*	0,44	,00*	0,06	,00*	0,47		0,19
25 10,0 25 {36}	0,12	0,08	,00*	,00*	,00*	,05*	,01*	0,5	,00*	0,05	0,19	

Anexo 8 - Diferença mínima significativa entre as médias relativas ao incremento de proteínas, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	LUZ	SAL	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}
			2,04	2,59	2,64	2,33	0,84	1,25	1,71	0,53	0,44	0,83	1,16	0,66
20	12	10	{1}	,04*	,03*	0,26	,00*	,00*	0,15	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	15	{2}	,04*		0,83	0,27	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	20	{3}	,03*	0,83		0,23	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	25	{4}	0,26	0,27	0,23		,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	10	{5}	,00*	,00*	,00*	,00*		0,12	,00*	0,24	0,13	0,97	0,21
20	24	15	{6}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,12		0,07	,01*	,00*	0,12	0,72
20	24	20	{7}	0,15	,00*	,00*	,02*	,00*	0,07		,00*	,00*	,00*	,04*
20	24	25	{8}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,24	,01*	,00*		0,69	0,24	,02*
20	40	10	{9}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,13	,00*	,00*	0,69		0,14	,01*
20	40	15	{10}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,97	0,12	,00*	0,24	0,14		0,21
20	40	20	{11}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,21	0,72	,04*	,02*	,01*	0,21	
20	40	25	{12}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,5	,03*	,00*	0,56	0,36	0,51	0,07
25	12	10	{13}	0,61	0,09	0,07	0,49	,00*	,00*	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	15	{14}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	20	{15}	,00*	,02*	,03*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	25	{16}	,02*	0,75	0,9	0,2	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	10	{17}	,01*	,00*	,00*	,00*	,05*	0,61	0,16	,00*	,00*	,05*	0,42
25	24	15	{18}	,00*	0,35	0,44	0,06	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	20	{19}	,03*	0,9	0,92	0,25	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	25	{20}	0,78	0,06	,05*	0,37	,00*	,00*	0,11	,00*	,00*	,00*	,00*
25	40	10	{21}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,72	0,21	,00*	0,14	0,07	0,71	0,33
25	40	15	{22}	,01*	,00*	,00*	,00*	0,07	0,72	0,13	,00*	,00*	0,06	0,5
25	40	20	{23}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,4	0,42	,01*	0,06	,03*	0,4	0,62
25	40	25	{24}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,65	0,06	,00*	0,43	0,26	0,66	0,1

## Anexo 8 - Continuação

TEMP	LUZ	SAL	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}	{21}	{22}	{23}	{24}	
			2,17	3,72	3,2	2,67	1,37	2,83	2,62	2,11	0,92	1,33	1,05	0,73	
20	12	10	{1}	0,61	,00*	,00*	,02*	,01*	,00*	,03*	0,78	,00*	,01*	,00*	,00*
20	12	15	{2}	0,09	,00*	,02*	0,75	,00*	0,35	0,9	0,06	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	20	{3}	0,07	,00*	,03*	0,9	,00*	0,44	0,92	,05*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	25	{4}	0,49	,00*	,00*	0,2	,00*	0,06	0,25	0,37	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	10	{5}	,00*	,00*	,00*	,00*	,05*	,00*	,00*	,00*	0,72	0,07	0,4	0,65
20	24	15	{6}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,61	,00*	,00*	,00*	0,21	0,72	0,42	0,06
20	24	20	{7}	0,07	,00*	,00*	,00*	0,16	,00*	,00*	0,11	,00*	0,13	,01*	,00*
20	24	25	{8}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,14	,00*	0,06	0,43
20	40	10	{9}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,07	,00*	,03*	0,26
20	40	15	{10}	,00*	,00*	,00*	,00*	,05*	,00*	,00*	,00*	0,71	0,06	0,4	0,66
20	40	20	{11}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,42	,00*	,00*	,00*	0,33	0,5	0,62	0,1
20	40	25	{12}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	,00*	0,33	,02*	0,15	0,79
25	12	10	{13}		,00*	,00*	0,06	,00*	,01*	0,08	0,8	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	15	{14}	,00*		,03*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	20	{15}	,00*	,03*		,03*	,00*	0,12	,03*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	25	{16}	0,06	,00*	,03*		,00*	0,48	0,84	,04*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	10	{17}	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	0,09	0,86	0,22	,02*
25	24	15	{18}	,01*	,00*	0,12	0,48	,00*		0,4	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	20	{19}	0,08	,00*	,03*	0,84	,00*	0,4		0,05	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	25	{20}	0,8	,00*	,00*	,04*	,00*	,01*	0,05		,00*	,00*	,00*	,00*
25	40	10	{21}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,09	,00*	,00*	,00*		0,12	0,59	0,45
25	40	15	{22}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,86	,00*	,00*	,00*	0,12		0,27	,03*
25	40	20	{23}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,22	,00*	,00*	,00*	0,59	0,27		0,22
25	40	25	{24}	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*	,00*	0,45	,03*	0,22	

Anexo 9 - Diferença mínima significante entre as médias relativas ao incremento de carboidratos, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	LUZ	SAL	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}
			-0,3	-0,1	0,08	0,4	1,86	2,52	3,27	4,72	0,77	1,57	2,53	3,33
20	12	10	{1}	0,51	0,22	,04*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	15	{2}	0,51	0,52	0,13	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,00*	,00*
20	12	20	{3}	0,22	0,52	0,33	,00*	,00*	,00*	,00*	0,06	,00*	,00*	,00*
20	12	25	{4}	,04*	0,13	0,33	,00*	,00*	,00*	,00*	0,29	,00*	,00*	,00*
20	24	10	{5}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,08	,00*	,00*	,00*	0,38	0,07	,00*
20	24	15	{6}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,08	,04*	,00*	,00*	,01*	0,97	,03*
20	24	20	{7}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,04*	,00*	,00*	,00*	,03*	0,85
20	24	25	{8}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	40	10	{9}	,00*	,01*	0,06	0,29	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	,00*	,00*
20	40	15	{10}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,38	,01*	,00*	,00*	,02*	,01*	,00*
20	40	20	{11}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,07	0,97	,03*	,00*	,00*	,01*	,03*
20	40	25	{12}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,03*	0,85	,00*	,00*	,00*	,03*
25	12	10	{13}	,03*	0,11	0,31	0,9	,00*	,00*	,00*	,00*	0,31	,00*	,00*
25	12	15	{14}	,00*	,00*	,00*	,01*	0,14	,00*	,00*	,00*	0,08	0,5	,00*
25	12	20	{15}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,26	0,46	,01*	,00*	,00*	0,06	0,45
25	12	25	{16}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	0,76	,00*	,00*	,02*	0,89
25	24	10	{17}	,00*	,00*	,00*	,00*	,01*	0,44	0,14	,00*	,00*	,00*	0,43
25	24	15	{18}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,46	,00*	,00*	,00*
25	24	20	{19}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	24	25	{20}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	40	10	{21}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,67	0,15	,00*	,00*	,00*	0,22	0,15
25	40	15	{22}	,00*	,00*	,00*	,00*	0,08	0,92	,03*	,00*	,00*	,01*	0,89
25	40	20	{23}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,2	,01*	,00*	,00*	,00*
25	40	25	{24}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,61	,00*	,00*	,00*



## Anexo 9 - Continuação

TEMP	LUZ	SAL	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}	{21}	{22}	{23}	{24}
			0,44	1,35	2,26	3,38	2,79	4,48	5,76	6,85	2,00	2,49	3,74	4,89
20	12	10	{1}	,03*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	15	{2}	0,11	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	20	{3}	0,31	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	25	{4}	0,9	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	10	{5}	,00*	0,14	0,26	,00*	,01*	,00*	,00*	0,67	0,08	,00*	,00*
20	24	15	{6}	,00*	,00*	0,46	,02*	0,44	,00*	,00*	0,15	0,92	,00*	,00*
20	24	20	{7}	,00*	,00*	,01*	0,76	0,14	,00*	,00*	,00*	,03*	0,2	,00*
20	24	25	{8}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,46	,00*	,00*	,00*	,01*	0,61
20	40	10	{9}	0,31	0,08	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	40	15	{10}	,00*	0,5	0,06	,00*	,00*	,00*	,00*	0,22	,01*	,00*	,00*
20	40	20	{11}	,00*	,00*	0,45	,02*	0,43	,00*	,00*	0,15	0,89	,00*	,00*
20	40	25	{12}	,00*	,00*	,00*	0,89	0,12	,00*	,00*	,00*	,02*	0,25	,00*
25	12	10	{13}		,01*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	15	{14}	,01*		,01*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,07	,00*	,00*	,00*
25	12	20	{15}	,00*	,01*		,00*	0,15	,00*	,00*	0,43	0,49	,00*	,00*
25	12	25	{16}	,00*	,00*	,00*		0,1	,00*	,00*	,00*	,02*	0,28	,00*
25	24	10	{17}	,00*	,00*	0,15	0,1		,00*	,00*	,04*	0,4	,01*	,00*
25	24	15	{18}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,03*	0,24
25	24	20	{19}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,01*
25	24	25	{20}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*
25	40	10	{21}	,00*	0,07	0,43	,00*	,04*	,00*	,00*		0,17	,00*	,00*
25	40	15	{22}	,00*	,00*	0,49	,02*	0,4	,00*	,00*	0,17		,00*	,00*
25	40	20	{23}	,00*	,00*	,00*	0,28	,01*	,03*	,00*	,00*	,00*		,00*
25	40	25	{24}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,24	,01*	,00*	,00*	,00*	

Anexo 10 - Diferença mínima significativa entre as médias relativas ao incremento de fósforo tecidual, teste “posthoc” de Duncan ( $P = 0,05$ ), para a interação entre temperatura (TEMP), intensidade luminosa (LUZ) e salinidade (SAL), onde valores com \* representam médias diferentes entre si.

TEMP	LUZ	SAL	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}
			1,09	0,86	0,64	0,56	0,69	0,54	0,41	0,42	0,41	0,52	0,35	0,36
20	12	10	{1}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	15	{2}	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	20	{3}	,00*	,00*		,04*	0,25	,01*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	25	{4}	,00*	,00*	,04*		,00*	0,61	,00*	,00*	0,26	,00*	,00*
20	24	10	{5}	,00*	,00*	0,25	,00*		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	15	{6}	,00*	,00*	,01*	0,61	,00*		,00*	,00*	0,48	,00*	,00*
20	24	20	{7}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*		0,84	1	,01*	0,13	0,24
20	24	25	{8}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,84		0,85	,02*	0,1	0,19
20	40	10	{9}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	1	0,85		,01*	0,12	0,22
20	40	15	{10}	,00*	,00*	,00*	0,26	,00*	0,48	,01*	,02*	,01*		,00*
20	40	20	{11}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,13	0,1	0,12	,00*		0,68
20	40	25	{12}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,24	0,19	0,22	,00*	0,68	
25	12	10	{13}	,00*	0,06	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	15	{14}	,00*	0,09	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	20	{15}	,00*	,00*	,01*	,00*	0,07	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	25	{16}	,00*	,00*	,00*	,03*	,00*	0,07	0,14	0,17	0,15	0,23	,00*
25	24	10	{17}	,00*	,00*	0,25	0,31	,03*	0,15	,00*	,00*	,00*	,04*	,00*
25	24	15	{18}	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,02*	0,38	0,45	0,39	0,07	,02*
25	24	20	{19}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,84	0,99	0,85	,02*	0,09
25	24	25	{20}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,27	0,22	0,25	,00*	0,59
25	40	10	{21}	,00*	,00*	,00*	0,32	,00*	0,57	,01*	,01*	,01*	0,85	,00*
25	40	15	{22}	,00*	,00*	,04*	0,98	,00*	0,62	,00*	,00*	,00*	0,26	,00*
25	40	20	{23}	,00*	,00*	,00*	0,17	,00*	0,35	,02*	,03*	,02*	0,77	,00*
25	40	25	{24}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	0,13	0,1	0,12	,00*	0,96

## Anexo 10 - Continuação.

TEMP	LUZ	SAL	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}	{21}	{22}	{23}	{24}
			0,93	0,8	0,75	0,47	0,6	0,45	0,42	0,37	0,52	0,56	0,51	0,35
20	12	10	{1}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	15	{2}	0,06	0,09	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	12	20	{3}	,00*	,00*	,01*	,00*	0,25	,00*	,00*	,00*	,04*	,00*	,00*
20	12	25	{4}	,00*	,00*	,00*	,03*	0,31	,01*	,00*	,00*	0,32	0,98	0,17
20	24	10	{5}	,00*	,00*	0,07	,00*	,03*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
20	24	15	{6}	,00*	,00*	,00*	0,07	0,15	,02*	,00*	,00*	0,57	0,62	0,35
20	24	20	{7}	,00*	,00*	,00*	0,14	,00*	0,38	0,84	0,27	,01*	,00*	,02*
20	24	25	{8}	,00*	,00*	,00*	0,17	,00*	0,45	0,99	0,22	,01*	,00*	,03*
20	40	10	{9}	,00*	,00*	,00*	0,15	,00*	0,39	0,85	0,25	,01*	,00*	,02*
20	40	15	{10}	,00*	,00*	,00*	0,23	,04*	0,07	,02*	,00*	0,85	0,26	0,77
20	40	20	{11}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	0,09	0,59	,00*	,00*	,00*
20	40	25	{12}	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	,05*	0,18	0,88	,00*	,00*	,00*
25	12	10	{13}		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	15	{14}	,00*		0,17	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	20	{15}	,00*	0,17		,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*
25	12	25	{16}	,00*	,00*	,00*		,00*	0,49	0,18	,01*	0,19	,03*	0,33
25	24	10	{17}	,00*	,00*	,00*	,00*		,00*	,00*	,00*	0,06	0,29	,02*
25	24	15	{18}	,00*	,00*	,00*	0,49	,00*		0,46	0,06	0,06	,01*	0,12
25	24	20	{19}	,00*	,00*	,00*	0,18	,00*	0,46		0,22	,01*	,00*	,03*
25	24	25	{20}	,00*	,00*	,00*	,01*	,00*	0,06	0,22		,00*	,00*	,00*
25	40	10	{21}	,00*	,00*	,00*	0,19	0,06	0,06	,01*	,00*		0,32	0,65
25	40	15	{22}	,00*	,00*	,00*	,03*	0,29	,01*	,00*	,00*	0,32		0,17
25	40	20	{23}	,00*	,00*	,00*	0,33	,02*	0,12	,03*	,00*	0,65	0,17	
25	40	25	{24}	,00*	,00*	,00*	,00*	,00*	,02*	0,1	0,61	,00*	,00*	