Fabiana Marchi dos Santos

Diversidade intraespecífica em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos genéticos e fisiológicos na interpretação da cor do talo.

Intraspecific diversity in *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): genetic and physiological studies in the interpretation of the thallus color.

São Paulo
2017

1. RESUMO

Gracilaria. caudata J. Agardh é uma das espécies mais comuns no Oceano Atlântico tropical e subtropical. No nordeste do Brasil a espécie é explotada como uma importante agarófita, onde recentemente foram encontradas variantes de coloração marrom-esverdeada crescendo lado a lado a indivíduos de coloração vermelha (mais comuns) em uma população natural. Este estudo teve por objetivo averiguar a estabilidade e o padrão de herança de cor marrom-esverdeada de indivíduos de *G. caudata* procedentes de uma população natural, bem como avaliar o desempenho somático e reprodutivo das diferentes fases do histórico de vida, levando-se em consideração indivíduos de coloração marrom-esverdeada e vermelha. A partir de cruzamentos teste foi possível verificar que a coloração marrom-esverdeada é estável e herdável, sendo o padrão de herança dessa coloração do tipo nuclear codominante, em que tetrasporófitos homozigotos são vermelhos (*vmvm*) ou marrom-esverdeados (*meme*) e os heterozigotos apresentam o fenótipo marrom (*vmme* e *mevm*). Variantes pigmentares, independentemente da fase do histórico, atingiram precocemente a maturidade reprodutiva quando comparadas a espécimes do tipo selvagem. Essa característica pode favorecer a manutenção da variante marrom-esverdeada na natureza. No entanto, apesar da diferenciação tardia de cistocarpos, gametófitos femininos, provenientes de tetrasporófitos *vmvm*, apresentaram um melhor desempenho reprodutivo em relação a gametófitos femininos provenientes de tetrasporófitos com variação pigmentar (*meme*, *vmme* e *mevm*); essa característica poderia contribuir para a predominância de espécimes selvagens na natureza. Entretanto, tetrasporófitos com variação pigmentar não só atingiram precocemente a maturidade reprodutiva como se tornaram mais férteis em relação ao tipo selvagem. Apenas na descendência de tetrasporófitos selvagens (*vmvm*) foi observada a proporção sexual esperada, entre gametófitos femininos e masculinos. Na progênie de tetrasporófitos com variação pigmentar foram observadas alterações na proporção sexual, devido à presença de gametófitos bissexuais. Essa condição de bissexualidade, provavelmente, é decorrente da presença de um alelo recessivo denominado *bi*, o qual possibilitaria a expressão de funções femininas em gametófitos masculinos. No presente estudo, pudemos evidenciar que a bissexualidade em *G. caudata* é herdável, e que gametófitos femininos que portam a mutação *bi* foram capazes de transmitir a mutação aos descendentes, porém o alelo não é fenotipicamente detectável. Como não foram observados gametófitos bissexuais na descendência de tetrasporófitos *vmvm* (provenientes do cruzamento ♀*vm* x ♂*vm*) sugere-se que a mutação *bi* estaria presente apenas em tetrasporófitos marrom-esverdeados oriundos da natureza. No entanto, permanece a possibilidade de ocorrência de espécimes bissexuais de coloração vermelha em populações naturais, já que tais indivíduos foram observados na progênie de tetrasporófitos *vmme* e *mevm*, indicando assim, que não há ligação entre a bissexualidade e a coloração do talo. Gametófitos femininos vermelhos apresentam melhor

desempenho somático quando comparados a gametófitos femininos marrom-esverdeados. Esse aspecto foi evidenciado por meio de taxas de crescimento, número de ápices diferenciados e percentual de fixação ao frasco de cultura. Essas características devem contribuir para a predominância de espécimes do tipo selvagem na natureza. Gametófitos marrom-esverdeados, em contrapartida, apresentaram melhor desempenho fotossintetizante, o que poderia representar uma vantagem, considerando-se o ambiente heterogêneo de ocorrência da espécie, e desse modo, contribuir para a manutenção dessa variante em população natural. Entretanto, não foram observadas diferenças com relação às taxas crescimento entre tetrasporófitos dos quatro genótipos (*vmvm*, *meme*, *vmme* e *mevm*), apesar das diferenças quanto à fertilidade, concentração pigmentar, número de ápices diferenciados e desempenho fotossintetizante. Tais tetrasporófitos apresentaram taxas de crescimento semelhantes às observadas para gametófitos femininos marrom-esverdeados, apesar do melhor desempenho fotossintetizante desses últimos. Os dados obtidos nesse trabalho sugerem que a variante marrom-esverdeada apresente vantagens adaptativas para *G. caudata*.

2. ABSTRACT

Gracilaria caudata J. Agardh is one of the most common species in the tropical and subtropical Atlantic Ocean. In the northeast of Brazil the species is exploited as an important agar producer, where greenish-brown color variants have recently been found growing side by side with individuals of red color (more common) in a natural population. The aim of this study was to investigate the stability and pattern of green-brown inheritance of *G. caudata* individuals from a natural population, as well as to evaluate the somatic and reproductive performance of the different stages of life history, considering individuals of greenish-brown and red colors. From test crosses it was possible to verify that the greenish-brown color is stable and inheritable. Codominant nuclear inheritance was found in the greenish-brown strains. Homozygous tetrasporophytes are red (*rdrd*) or greenish-brown (*gbgb*) while heterozygous tetrasporophytes present the brown phenotype (*rdgb* and *gbrd*). Color variants, regardless of the history phase, reached early reproductive maturity when compared to wild type specimens. This feature may favor the maintenance of the greenish-brown variant in nature. However, in spite of the late differentiation of cystocarps, female gametophytes derived from *rdrd* tetrasporophytes had a better reproductive performance in relation to female gametophytes from tetrasporophytes with color variation (*gbgb*, *rdgb* and *gbrd*); this feature could contribute to the predominance of wild specimens in nature. However, tetrasporophytes with color variation not only reached reproductive maturity early but also became more fertile in relation to the wild type. The expected sexual ratio between female and male gametophytes was only observed in the offspring of wild tetrasporophytes (*rdrd*). There were changes in the sexual proportion in the progeny of tetrasporophytes with color variation due to the presence of bisexual gametophytes. This condition of bisexuality is probably due to the presence of a recessive allele called *bi*, which would allow the expression of female functions in male gametophytes. In the present study, we could show that bisexuality in *G. caudata* is inheritable, and that female gametophytes, which carry the *bi* mutation, were able to transmit the mutation to the offspring, but the allele is not phenotypically detectable. As no bisexual gametophytes were found in the offspring of *rdrd* tetrasporophytes (from the cross ♀*rd* x ♂*rd*), it is suggested that the *bi* mutation would only be present in brown-green tetrasporophytes from the natural population. However, it remains the possibility of occurrence of bisexual specimens of red color in natural populations, since such individuals were observed in the progeny of tetrasporophytes *rdgb* and *gbrd*, thus indicating that there is no link between bisexuality and the thallus color. Red female gametophytes show better somatic performance when compared to the greenish-brown female gametophytes. This aspect was evidenced by means of growth rates, number of differentiated apices, and percentage of attachment to the culture flask. These characteristics should contribute to the predominance of wild type specimens in natural populations.

Otherwise, the greenish-brown gametophytes showed better photosynthetic performance, which could represent an advantage considering the heterogeneous environment of the species occurrence, thus contributing to the maintenance of this variant in the natural population. However, no differences were observed among tetrasporophytes of the four genotypes (*rdrd*, *gbgb*, *rdgb* and *gbrd*), regarding the growth rates, despite of the differences in fertility, pigment concentration, number of differentiated apices, and photosynthetic performance. These tetrasporophytes presented similar growth rates to those observed for greenish-brown female gametophytes, despite of the better photosynthetic performance of the latter. The data obtained in this work suggest that the greenish-brown variant presents adaptive advantages for *G. caudata.*

3. INTRODUÇÃO

3.1 Diversidade intraespecífica

A plasticidade fenotípica presente em muitas espécies de algas vermelhas (Rhodophyta) é descrita como uma consequência da diversidade intraespecífica, a qual compreende o conjunto de expressões fenotípicas possíveis, que podem ser manifestadas em uma mesma espécie, por meio de processos de aclimatação e/ou adaptação (Plastino, 2004). A aclimatação corresponde a diferentes expressões de ajustamento ao ambiente, que um organismo pode sofrer dentro dos limites do seu genótipo, enquanto que a adaptação corresponde a diferentes expressões decorrentes de alterações genotípicas (Gantt 1990).

A variação genética de um caráter surge por mutação, em uma frequência que pode ser variável de espécie para espécie, ou de linhagem para linhagem (Gant, 1990). De qualquer forma, a frequência, a transmissão e a persistência dessas variações em uma população dependem das condições ambientais, as quais o organismo está inserido (Futuyma, 1998; Plastino, 2004), já que o ambiente exerce forte papel sobre as reais implicações de uma mutação (seleção natural), determinando se seus efeitos serão benéficos, neutros ou deletérios ao organismo (Futuyma, 1998).

O termo polimorfismo refere-se a uma condição na qual ocorrem, no mesmo habitat ou população, dois ou mais fenótipos descontínuos de uma determinada espécie, em tal frequência que, o mais raro deles não possa ser mantido por mutação recorrente ou imigração (Ford, 1964). Dessa forma, o polimorfismo se estabelece numa população por meio de processos adaptativos, sendo caracterizadas como morfos ou morfotipos as variantes que ocorrem no ambiente com frequência superior a 1% (Futuyma, 1998). No entanto, quando a diferenciação genética é decorrente de seleção a diferentes ambientes, resulta em populações geneticamente distintas de uma mesma espécie. Nesse caso, utiliza-se o termo ecótipo (Innes, 1984).

3.2 Variantes pigmentares em Rhodophyta

Algas vermelhas (Rhodophyta) compartilham uma série de atributos, como células eucarióticas, ausência de flagelos, amido das florídeas armazenado no citoplasma, ficobiliproteínas (ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina) como pigmentos acessórios à fotossíntese e tilacoides livres no cloroplasto (Woelkerling 1990). Sua coloração típica é resultante da presença de ficobiliproteínas, principalmente ficoeritrina, a qual mascara a clorofila *a* e os carotenoides (Bold & Wynne 1985). Todavia, já foram observados na natureza indivíduos de uma mesma espécie que possuíam alterações

na coloração do talo em relação ao tipo mais comum (selvagem). Essas variações fenotípicas, na maioria das vezes, decorrem da capacidade de fotoaclimatação do aparato fotossintetizante, ou seja, de uma alteração (ajuste) na composição pigmentar das algas frente à heterogeneidade luminosa do ambiente. Somente em poucos casos o fenótipo alterado é resultante de uma variação genotípica (mutações) (Plastino, 2004).

Variantes pigmentares no gênero *Gracilaria* foram reportadas no final da década de 70 com o isolamento e caracterização de linhagens mutantes de *G. tikvahiae* Lachlan, que surgiram espontaneamente em laboratório (como *Gracilaria* sp., van der Meer & Bird 1977). Posteriormente, outras variantes de cor foram encontradas para o gênero, algumas provenientes de populações naturais, *G. conferta* (Schousboe ex Montagne) Montagne, *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Levy & Friedlander 1990), *G. chilensis* C.J. Bird, McLachlan & E.C. Oliveira (González et al. 1995; Santelices et al. 1996), *G. birdiae* Plastino & E.C. Oliveira (Costa & Plastino, 2001; Plastino et al. 2004), *G. dominguensis* (Plastino et al. 1999), *G. cornea* J. Agardh (Ferreira et al. 2006), *G. caudata* J. Agardh (Faria & Plastino, 2016), *G. debilis* (Forsskål) Børgesen e *G. edulis* (Gmelin) Silva (Veeragurunathan et al. 2016). Outras variantes surgiram espontaneamente em laboratório, como em *G. birdiae* (Costa & Plastino, 2001).

Variantes pigmentares espontâneas foram também descritas para outros gêneros de Rhodophyta, como *Ahnfeltia plicata* (Hudson) Fries (Maggs & Pueschel 1989; Mansilla et al. 2013), *Chondrus crispus* Stackhouse (van der Meer, 1981a), *E. denticulatum* (N.L. Burman) Collins & Hervey (Gerung & Ohno, 1997), *Gigartina teedei* (Mertens ex Roth) J.V. Lamouroux (como *G. teedii* (Roth) Lamourox [Guiry, 1984]), *G. skottsbergii* Setchell & N. L.Gardner (Barahona et al. 2012), *Halosaccion ramentaceum* (L.) J. Agardh (van der Meer, 1981b), *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Yokoya et al. 2003), *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C. Silva (como *Eucheuma alvarezii* Doty [Doty et al. 1987]), *K. striatus* (F.Schmitz) Doty ex P.C. Silva (Gerung & Ohno, 1997), *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq (Navarro, 2015), *Porphyra yezoensis* Ueda (Aruga & Miura, 1984), *P. tenera* var. *tamatsuensis* A. Miura (Niwa et al. 2008). Entretanto, a maior parte do conhecimento gerado a respeito de variantes pigmentares é proveniente de estudos com espécies de *Gracilaria*, principalmente *G. tikvahiae*. Outro fato importante a ser destacado é que, muitos desses estudos foram realizados com variantes induzidas por agentes químicos mutagênicos, os quais alteram a qualidade e/ou quantidade dos pigmentos fotossintetizantes, já que variantes pigmentares espontâneas são raras, e frequentemente dão origem a uma única planta ou porções da planta com fenótipo alterado, geralmente de coloração verde ou esverdeada (van der Meer, 1990).

De forma geral, a caracterização dos mutantes/variantes pigmentares tem contemplado diferentes aspectos, como genéticos, fisiológicos e ecológicos. Assim, além de contribuírem para o conhecimento da diversidade intraespecífica, tais estudos permitem que diferentes linhagens possam

ser utilizadas como ferramentas em estudos ficológicos, fornecendo subsídios para a compreensão da biologia das macroalgas marinhas.

3.2.1. Análises genéticas

Estudos genéticos envolvendo mutantes pigmentares têm dado grande ênfase à genética Mendeliana, a qual possibilita a determinação da hereditariedade, estabilidade e características de transmissão do fenótipo alterado. A estabilidade do caráter cor e o modo como é transmitido podem ser conhecidos por meio do acompanhamento de sua herança em condições laboratoriais (Plastino & Guimarães 2001), já que a obtenção de tais informações em campo seria inviável, tendo em vista as oscilações das diferentes variáveis ambientais, bem como o alto risco de contaminação genética (van der Meer, 1990).

Estudos genéticos com variantes pigmentares de Rhodophyta têm se limitado a espécies com reprodução sexuada, as quais crescem e se reproduzem bem em condições laboratoriais (van der Meer, 1990). Nesse filo, a segregação genética ocorre na fase gametofítica (haploide) e, nesse estádio, as mutações recessivas não são mascaradas por alelos dominantes. No entanto, para saber se esporófitos (diploides) apresentam genes dominantes ou carregam uma mutação recessiva, é necessária a indução de fertilidade, a liberação de tetrásporos e a diferenciação de gametófitos, para que então possam ser realizados testes de cruzamentos, que permitam determinação do seu genótipo (van der Meer 1990).

Na maioria dos estudos com variantes pigmentares, a herança de cor do fenótipo alterado revelou-se autossômica nuclear recessiva (van der Meer & Bird, 1977; van der Meer 1979; 1981a; Guiry, 1984; Zhang & van der Meer, 1988). No entanto, alguns genes dominantes (van der Meer, 1979), codominantes (van der Meer, 1979; Plastino et al. 1999) e citoplasmáticos (van der Meer, 1978; Zhang & van der Meer, 1988) foram também citados.

Na costa brasileira, a maioria das variantes pigmentares espontâneas foram reportadas para *Gracilaria*, sendo ao todo quatro espécies (*G. bidiae*, *G. domingensis*, *G. cornea* e *G. caudata*) e sete variantes (Costa & Plastino, 2001; Plastino et al. 2004; Plastino et al. 1999; Ferreira et al. 2006; Faria & Plastino, 2016). Todavia, a caracterização do padrão da herança de cor foi realizada apenas para as variantes de *G. birdiae*, as quais possuem herança nuclear recessiva para os fenótipos verde claro (Plastino et al. 2004) e marrom-esverdeado (Costa & Plastino, 2011) e herança citoplasmática para o fenótipo verde (Costa & Plastino, 2011), bem como para as variantes de *G. domingensis*, que apresenta herança nuclear codominante para o fenótipo verde, que quando em heterozigose com o tipo selvagem (vermelho) expressa o fenótipo marrom (Plastino et al. 1999). Em outros gêneros,

foram descritas apenas uma variante por espécie como *Gigartina teedei*, a qual apresenta herança nuclear recessiva para o fenótipo verde (Guiry, 1984) e *Hypnea musciformis* (Yokoya et al. 2003), que ainda não teve seu padrão de herança de cor esclarecido.

Uma vez caracterizado o padrão de herança de cor, as linhagens mutantes podem ser utilizadas como marcadores genéticos em cruzamentos, (van der Meer, 1987). Sendo assim, podem auxiliar na detecção de fertilização, distinção entre processos sexuais ou assexuais (van der Meer et al. 1984), e entre processos de autofertilização e fertilização cruzada em espécies monoicas (van der Meer, 1987). Além disso, podem evidenciar aspectos inesperados e/ou desconhecidos sobre o histórico de vida de algas, como por exemplo, a identificação de germinação de tetrásporos *in situ* (Plastino et al. 1999), de falhas durante a citocinese de tetrasporângios (van der Meer, 1977), e de maturação sexual em gametófitos femininos microscópicos (van der Meer & Todd, 1977).

3.2.2. Análises fisiológicas

Análises comparativas de características fisiológicas entre variantes pigmentares e tipos selvagens contribuem para o conhecimento da diversidade funcional da espécie. Além disso, fornecem subsídios para a compreensão de como se dá a manutenção do polimorfismo pigmentar na natureza, bem como contribuem para a seleção de linhagens mais adequadas à maricultura (Patwary & van der Meer, 1982).

A maioria das variantes espontâneas apresentam um menor desempenho quanto ao crescimento em relação ao tipo selvagem, seja em campo ou em condições laboratoriais (Guimarães, 2000; Plastino et al. 2004; Mansilla et al. 2014; Faria & Plastino, 2016; Veeragurunathan et al. 2016). Entretanto, desempenho similar (Muñoz et al. 2004; Ferreira et al. 2006; Yokoya et al. 2007; Ursi et al. 2003; 2013; Navarro, 2015), ou superior foram também reportados (Gerung & Ohno, 1997).

A coloração esverdeada apresentada pela maioria dessas variantes vem sendo descrita como uma consequência da deficiência nas concentrações de ficoeritrina em relação ao tipo selvagem, e em contrapartida, um aumento nas concentrações de aloficianina, ficocianina e/ou clorofila *a* é observado (van der Meer, 1979; Guimarães et al. 2003; Yokoya et al. 2007; Niwa et al. 2008; Costa & Plastino, 2011, Martins et al. 2011; Faria & Plastino, 2016; Veeragurunathan et al. 2016). O conhecimento da composição pigmentar é de grande importância nos estudos com variantes, pois permite caracterizar quantitativa e qualitativamente compostos que denotam as diferentes colorações, que podem ter consequência na capacidade competitiva de ocupar determinado nicho (Plastino & Guimarães, 2001). Ficobiliproteínas e carotenoides funcionam como pigmentos acessórios à fotossíntese, por ampliarem o espectro de absorção da energia luminosa e, posteriormente, transferir essa energia, por ressonância,

a um par de moléculas de clorofila *a* presentes nos centros de reação dos fotossistemas I (P_{700}) ou II (P_{680}) (Gantt, 1990). Além da importância no processo de fotossíntese, os pigmentos podem ser utilizados pela alga como reserva de nitrogênio (García-Sánchez et al. 1993) e ainda possuir função fotoprotetora (Sinha et al. 1995; Figueroa et al. 2008).

A avaliação da capacidade fotossintetizante vem sendo realizada em muitos estudos envolvendo variantes pigmentares (Yokoya et al. 2007; Martins et al. 2011; Ayres-Ostrock & Plastino, 2014; Faria & Plastino, 2016). Num panorama geral, dentre os diferentes métodos de avaliação, a fluorimetria *in vivo* da clorofila *a* vem recebendo grande destaque, tendo em vista que se trata de uma metodologia rápida, e não invasiva, que fornece informações sobre o funcionamento do aparato fotossintetizante em tempo real (Kromkamp & Forster, 2003). Além disso, permite a identificação de morfos e ecótipos, a partir da análise e comparação dos diferentes parâmetros fornecidos, os quais evidenciam diferenças intraespecíficas frente a diversas pressões ambientais (Enriquez & Borowitzka, 2010).

3.3 G*racilaria* Greville

O gênero *Gracilaria* é um dos mais diversos da família Gracilariaceae (Oliveira & Plastino, 1994), incluindo cerca de 185 espécies taxonomicamente aceitas e amplamente distribuídas pelo mundo (Guiry & Guiry 2016). *Gracilaria* possui um histórico de vida trifásico do tipo-"*Polysiphonia"*, caracterizado pela alternância de fases diploides (tetrasporofítica e carposporofítica) e haploide (gametofítica) (Oliveira & Plastino, 1994). Gametófitos são dioicos e isomórficos ao tetrasporófito, sendo ambos de vida livre, enquanto que, o carposporófito desenvolve-se sobre o gametófito feminino (figura 1).

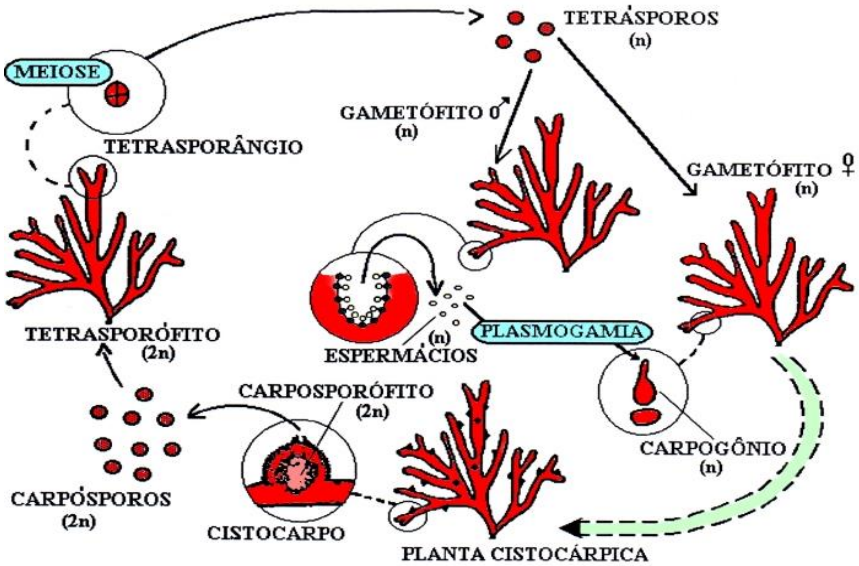

Figura 1. Histórico de vida de *Gracila* sp. (modificado de Oliveira & Plastino, 1994).

Escassas são as tentativas de trazer à luz o real significado evolutivo de um histórico de vida diplobionte (Valero et al.1992; Richerd et al. 1993; Hughes & Otto, 1999). Para alguns autores, esse tipo de histórico pode ser considerado como uma adaptação frente a um ambiente sazonalmente variável (Stebbins & Hill, 1980), no qual ocorreu a seleção para dois níveis de ploidia. Diploides: i, possuiriam maiores chances de novas mutações, aumentando assim a variabilidade genética, a qual pode conferir maiores chances de adaptação frente a mudanças ambientais (Crow & Kimura, 1965); ii, poderiam mascarar mutações deletérias recessivas, os quais garantiriam o bom funcionamento do indivíduo (Crow & Kimura 1965); e/ou iii, poderiam apresentar maior capacidade de síntese de proteínas e metabólitos (Adams & Hansche 1974). Nos haploides, mutações deletérias tenderiam a ser eliminadas mais rapidamente, enquanto que mutações benéficas seriam incorporadas na população (Hughes & Otto, 1999). Além das vantagens conferidas para cada nível de ploidia, um histórico de vida com alternância de gerações poderia conferir uma vantagem a mais em relação aos outros tipos de históricos, como redução do custo do sexo, já que esse custo ocorreria somente na geração haploide, mais precisamente no momento da fertilização, em que são necessários dois indivíduos para produzir uma descendência (Richerd et al.1993). A variabilidade genética ocorreria principalmente nos tetrasporófitos (diploide), em que ocorre o processo meiótico para produção de tetrásporos. Assim, possuir um histórico com alternância de gerações seria vantajoso em relação a outros tipos de histórico, em que o custo do sexo fosse alto (Richerd et al.1993).

Estudos realizados em populações naturais têm evidenciado uma maior frequência da fase diploide em relação à haploide para algumas espécies de *Gracilaria*, como por exemplo, *G. mammillaris* (Montagne) M.Howe e *G. cervicornis* (Turner) J.Agardh (Plastino, 1985), *G. cornea* (Orduña-Rojas et al. 2002), *G. chilensis* (Guillemin et al. 2008), *G. vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss (Terada et al. 2010), *G. gracilis* (Stackhouse) M.Steentoft, L.M.Irvine & W.F.Farnham (Martín et al. 2011), *G. birdiae* e *G. caudata* (Ayres-Ostrock et al. 2015). O mesmo foi observado para outros gêneros e espécies de algas vermelhas, como *Gelidium canariense* (Grunow) Seoane Camba ex Haroun, Gil-Rodríguez, Díaz de Castro & Prud'homme van Reine, G. *arbusculum* Bory ex Børgesen *(as G. arbuscula), G. pusillum* (Stackhouse) Le Jolis e *Pterocladiella capillacea* (S.G.Gmelin) Santelices & Hommersand (Prathep et al. 2009; Polifrone et al. 2012). Essa predominância da fase diploide na natureza vem sendo atribuída a questões intrinsecamente genéticas, as quais confeririam uma melhor aptidão desses indivíduos em relação aos haploides. Segundo alguns autores, a ploidia, entre outros aspectos, poderia afetar a capacidade somática dos organismos, permitindo assim um melhor crescimento vegetativo da fase diploide em relação à fase haploide, e

provavelmente uma maior capacidade de reprodução vegetativa por meio da fragmentação do talo e recrutamento dos ápices destacados (Guillemin et al. 2008; Martín et al. 2011).

A fase haploide seria beneficiada pelo menor tempo necessário para a replicação do DNA e divisão celular, implicando assim, em um menor tempo de germinação de esporos, o que favoreceria sua manutenção no ambiente (Cavalier-Smith, 1978; Adams and Hansche, 1974). A manutenção da fase haploide vem sendo também relacionada a questões ecofisiológicas, nas quais o tamanho celular de fases iniciais do desenvolvimento traria grandes implicações, como por exemplo, tetrásporos (esporos n) são menores e possuem uma maior relação área de superfície por volume celular em relação a carpósporos (esporos 2n), o que lhes confere uma melhor eficiência nutricional, bem como uma vantagem frente a um ambiente com escassez de nutrientes (Lewis, 1985). Além disso, são células mais leves, o que implicaria em um maior tempo para sedimentação, proporcionando uma melhor capacidade de dispersão (Cavalier-Smith, 1978). De fato, quando realizados estudos comparativos entre essas duas fases em laboratório, o que se obtém, na maioria dos casos, é um melhor desempenho da fase tetrasporofítica (diploide) em relação à gametofítica (haploide), quando são avaliados parâmetros fisiológicos, como taxas de crescimento, respiração, fotossíntese e composição pigmentar, a despeito da condição isomórfica (Guillemin et al. 2013; Faria et al. 2016). No entanto, cabe ressaltar que, dependendo das condições abióticas utilizadas, pode ocorrer uma inversão desses resultados, ora com melhor desempenho de tetrasporófitos, ora gametófitos (Destombe et al. 1993). Esses resultados reforçam a importância do ambiente como agente selecionador, o qual indicaria a direção de seleção para a expansão de uma fase ou de outra.

3.4 Determinação sexual em *Gracilaria*

A proporção entre gametófitos femininos e masculinos produzidos a partir da germinação de tetrásporos em *Gracialaria* tem sido reportada como 1:1 (Ogata et al. 1972, van der Meer 1986, Guimarães et al. 1999; Costa & Plastino, 2001). Todavia, variações desse padrão, bem como a ocorrência de plantas reprodutivamente mistas já foram observadas para algumas espécies, como por exemplo, *G. tikvahiae* (como *Gracilaria* sp., van der Meer & Tood 1977; van der Meer, 1986) e *G. domingensis* (Gimarães et al. 1999).

Diferentes tipos de variantes reprodutivas vêm sendo encontradas ao longo dos anos, para diversas espécies de Rhodophyta, como *Gigartina pistilatta* (S.G.Gmelin) Stackhouse (Isaac & Simons, 1954), *Euthora cristata* (C.Agardh) J.Agardh (Dixon, 1961), *Membranoptera alata* (Hudson) Stackhouse e *Polysiphonia urceolata* (Lightfoot ex Dillwyn) Greville (Edelstein & MacLachlan, 1966), *Cystoclonium purpureum* (Hudson) Batters e *Chondria baileyana* (Montagne)

Harvey (Edelstein et al. 1974). Sugere-se que diferentes mecanismos seriam responsáveis por esse fenômeno (van der Meer & Todd, 1977). Todavia, na maioria dos casos, foram realizadas apenas observações descritivas dessas variantes, as quais não fornecem dados suficientes para sua explicação (van der Meer & Todd 1977).

A razão para o surgimento de fases mistas, em alguns casos, foi explicada como uma consequência da germinação de tetrásporos *in situ*, resultando em ramos gametofíticos presos ao tetrasporófito (Bird et al. 1977; Oliveira & Plastino, 1984; Plastino, 1985; Destombe et al. 1989). No entanto, nem sempre a explicação para esse fenômeno pareceu tão óbvia, e um estudo mais detalhado desses casos proporcionou uma melhor apreciação do controle genético na diferenciação reprodutiva (van der Meer, 1986).

O desenvolvimento de gametófitos femininos e masculinos em igual número é consequência de um rigoroso controle genético de determinação sexual, o qual é primariamente regido por um par de fatores com segregação mendeliana (van der Meer & Tood 1977). A partir de observações feitas em uma variante reprodutiva de *Gracilaria tikvahiae*, a qual possuía porções de "tecido" gametofítico funcional em um talo tetrasporofítico maduro, os autores propuseram que esses fatores seriam alelos (mt^m para masculinos e mt^f para femininos), ao invés de cromossomos sexuais. E assim, a condição heterozigótica para o alelo *mt*, e não o estado diploide, determinaria o desenvolvimento tetrasporofítico, tendo em vista a evidencia citológica de que as porções gametofíticas observadas eram em si diploides. Dessa forma, para essa variante, o fenômeno foi explicado como uma consequência de recombinações mitóticas, em que células do talo tornaram-se homozigotas para um ou outro *mt* alelo, expressando características gametofíticas ao invés de tetrasporofíticas, apesar de sua condição diploide (van der Meer & Tood 1977).

Novos mecanismos foram propostos para a explicação dos diferentes tipos de variantes reprodutivas encontradas. Em alguns casos, falhas na citocinese durante o processo de divisão meiótica foram apontadas como a causa do fenômeno, dando origem a um único indivíduo com ramos e/ou porções masculinos e femininos (van der Meer, 1977). Para outras variantes, no entanto, verificou-se a presença de uma mutação recessiva denominada *bi*, a qual seria distinta do locus sexo-determinante *mt* e possibilitaria o desenvolvimento de cistocarpos e espermatângios em um único ramo gametofítico (van der Meer et al. 1984). Dessa forma, ressalta-se a necessidade de novos estudos que contribuam para compreensão do fenômeno, permitindo o esclarecimento se de fato esses fatores sexuais seriam uma simples alternativa de um único gene regulatório ou se existiria um mecanismo de controle envolvendo um complexo de locus (van der Meer, 1990).

3.5 Importância econômica de *Gracilaria*

O gênero *Gracilaria* tem sido alvo de muitos estudos, pois inclui espécies que constituem a principal fonte de ágar (Oliveira et al. 2000), representando 80% da produção mundial (Bixeler et al. 2011). Esse ficocoloide, extraído da parede celular, possui propriedades estabilizantes, gelificantes e emulsificantes, as quais despertam grande interesse nas indústrias alimentícias e biotecnológicas para a produção de embutidos, entre outros alimentos, componentes de géis de eletroforese e meios de cultura em bacteriologia e micologia (Cunha et al. 2009).

A qualidade e quantidade de ágar produzidos por algas gracilarioides têm variado inter e intraespecificamente. Esse fato pode estar relacionado a diferentes aspectos, como por exemplo, diferentes condições abióticas as quais as algas foram cultivadas, a diferentes metodologias de extração do ficocoloide, ou a uma diversidade intraespecífica (Macchiavello et al. 1999; Skriptsova & Nabivailo, 2009; Ursi et al. 2013). Nesse contexto, o estudo de variantes pigmentares se mostra de grande valia e tem evidenciado similaridades quanto à qualidade e rendimento de ágar em relação ao tipo selvagem, quando cultivadas sob as mesmas condições (Ursi et al. 2013; Veeragurunathan et al. 2016), salientando, dessa forma, seu potencial econômico para a maricultura.

Gracilaria é, atualmente, o único de gênero de agarófita comercialmente cultivado, sendo seus principais produtores o Chile e a Indonésia (Bixeler et.al 2011). Cabe ressaltar, que o fornecimento de mudas para a indústria de ágar provem principalmente de bancos naturais, o que tem causado a depleção desses em diferentes regiões do mundo (Mc Hugh 2003). No Brasil, a explotação de bancos naturais de *Gracilaria* para a extração de ágar teve início na década de 60 (Câmara-Neto 1987), e apesar de tentativas já realizadas, ainda não existem cultivos comerciais no país. A explotação desse recurso vem ocorrendo principalmente na região nordeste, de forma extrativista ou por meio de cultivo artesanal, onde exerce um papel importante na economia de comunidades costeiras (Carneiro et al. 2011; Costa et al. 2011). As principais espécies explotadas são *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cornea* e *G. domingensis* (Miranda et al. 2012), entretanto, a ausência de fiscalização e de procedimentos adequados de manejo que permitam a recuperação completa dos bancos tem proporcionado um declínio populacional (Carneiro et al. 2011). Nesse sentido, o cultivo comercial, e em especial o cultivo comercial a partir de esporos, bem como a utilização de variantes pigmentares, mostram-se como alternativas viáveis para satisfazer as demandas e para a conservação de populações naturais (Alveal et al. 1997; Hayashi, 2007; Ursi et al. 2013), já que, além de possibilitarem o aumento da biomassa disponível, contribuem para a variabilidade genética das espécies selecionas (Alveal et al. 1997).

3.6 *Gracilaria caudata*

Dentre as espécies que ocorrem no litoral brasileiro destaca-se *Gracilaria caudata*. No Brasil foi identificada pela primeira vez por Joly et al. (1963) como *Gracilariopsis sjoestedtii* (Kylin) Dawson, e ao longo dos anos foi referida por diversos autores como *G. andersonii* (Grunow in Piccone) Dawson (Ugadim 1975), *Gracilaria sjoestedtii* (Oliveira 1977), *G. verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Steentoft et at. 1995) e *Gracilaria* sp. (Plastino, 1991). Por meio de estudos morfoanatômicos e testes de cruzamentos, Plastino & Oliveira (1997) esclareceram que essas algas se tratavam de uma espécie já descrita por J. Agardh em 1852, como *G. caudata*, e que grande parte do equívoco em sua nomenclatura foi resultante da plasticidade fenotípica e de sua ampla distribuição geográfica.

Gracilaria caudata pode ser encontrada no litoral de diferentes países como Venezuela, Barbados, Porto Rico e Cuba. Ao longo da costa brasileira, é encontrada desde o estado do Maranhão (Bellorin, 2002; Florêncio et al. 2012) até o estado de Santa Catarina (Plastino & Oliveira 1997). Ocorre em costões rochosos, principalmente de baias protegidas e águas turvas, estendendo-se desde o médio-litoral até a franja do infra-litoral. É geralmente gregária e, muitas vezes, está parcialmente enterrada na areia (Plastino & Oliveira 1997). A espécie possui um histórico de vida do tipo "*Polysiphonia*" (como *Gracilaria* sp., Oliveira & Plastino, 1984) e apresenta um talo cilíndrico, ereto, de coloração vermelho vináceo a amarelado, o qual pode atingir até 34 cm de comprimento e 1,7 mm de diâmetro. Além disso, seu talo pode apresentar de um a vários eixos principais decorrentes de um apressório discoidal, sendo suas ramificações primeiramente subdicotômicas, tornando-se posteriormente unilaterais e de até quinta ordem (Plastino & Oliveira 1997).

Populações naturais de *Gracilaria caudata* vêm sendo explotadas no nordeste brasileiro desde a década de 70, para a produção de ágar alimentício destinado ao mercado nacional (Oliveira & Miranda, 1998). Devido à ausência de manejo adequado, algumas populações têm sofrido com a forte explotação (Miranda, 2008). Cabe ressaltar que, antes que se utilize uma espécie em potencial, é necessário o conhecimento de sua fisiologia, diversidade genética e mecanismos que a mantém (Norse, 1993). Nesse sentido, alguns aspectos relacionados à biologia de *G. caudata* vêm sendo estudados em condições laboratoriais, indicando que a espécie apresenta valores ótimos de crescimento em temperaturas de 26-30ºC, tolera salinidades de 10-60 ups (como *Gracilaria* sp., Yokoya & Oliveira, 1992a, b), possui ágar economicamente viável (Yoshimura, 2006), bem como polissacarídeos com excelente capacidade de quelação de íons ferrosos, o quais são os mais eficazes pró-oxidantes dos sistemas alimentares (Costa et al. 2010). Ainda em laboratório, foi realizada a análise e caracterização de seus ácidos graxos e ésteres metílicos (Tomaz, 2012), além da avaliação de atividade da nitrato redutase (Chow et al. 2007).

Estudos realizados com indivíduos de *G. caudata* cultivados em fazendas de camarões indicaram que a espécie é potencialmente útil como biofiltro em cultivos integrados, e que poderia contribuir para a melhora da qualidade das águas de regiões costeiras, pois apresenta bom desempenho na absorção de compostos nitrogenados e fósforo (Marinho Soriano et al. 2009). Além disso, a partir de estudos realizados em tanques de cultivos de peixes, observou-se um aumento da taxa de sobrevivência de pós-larvas, após a adição de ágar proveniente de *G. caudata* misturado à ração, indicando assim, um potencial imunoestimulante desse polissacarídeo (Araújo et al. 2008).

Alguns aspectos relacionados à diversidade intraespecífica de *G. caudata* vêm sendo estudados, indicando por meio de marcadores genéticos ou de técnicas de avaliação fisiológica que a espécie apresenta ecótipos ao longo da costa brasileira, relacionados à irradiância (Ayres-Ostrock et al. 2015; Faria & Plastino, 2016). Diferenças fisiológicas entre as fases vêm sendo também descritas, como por exemplo, a observação de maiores taxas de crescimento e conteúdo pigmentar por parte da fase tetrasporofítica em relação à fase gametofítica, bem como existência de diferenças entre as fases, quanto à capacidade fotossintetizante frente à radiação PAR ou UV-B (Araújo et al. 2013; Faria & Plastino, 2016).

Recentemente, variantes pigmentares de coloração marrom-esverdeada foram encontradas crescendo lado a lado a indivíduos de coloração vermelha (mais comuns) em uma população natural de *Gracilaria caudata* do nordeste do Brasil (Faria & Plastino, 2016). Tendo em vista i, a carência de informações a respeito das implicações do fenótipo alterado para a espécie, ii, a ausência de conhecimento acerca de sua herdabilidade, e iii, a grande importância de variantes pigmentares em estudos genéticos, desenvolvemos este trabalho.

4. HIPÓTESE

Este trabalho tem por hipótese que a coloração vermelha do talo de *Gracilaria caudata* seja dominante em relação à coloração marrom-esverdeada, e que plantas marrom-esverdeadas apresentem menor capacidade somática e reprodutiva, bem como menor conteúdo pigmentar. Além disso, supõe-se que tetrasporófitos apresentem melhor desempenho somático em relação a gametófitos, independentemente da coloração.

5. OBJETIVO GERAL

Compreender os aspectos da diversidade intraespecífica de *Gracilaria caudata*, procedente de uma população natural, levando-se em consideração a coloração do talo. Esses estudos devem

contribuir para a interpretação de possíveis vantagens adaptativas na manutenção da variante de cor marrom-esverdeada na natureza.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Interpretar a herança de cor marrom-esverdeada em *Gracilaria caudata* por meio de testes de cruzamentos e acompanhamento de sua descendência. Esse objetivo permitirá averiguar a estabilidade e o padrão de herança da cor marrom-esverdeada;

- Avaliar a capacidade somática de gametófitos e tetrasporófitos de coloração vermelha e marrom-esverdeada por meio dos seguintes parâmetros: i, taxas de crescimento; ii, desempenho fotossintetizante; iii, conteúdo pigmentar; iv, número de ápices diferenciados; e v, percentual de fixação ao frasco de cultura (apenas para gametófitos).

- Averiguar o desempenho reprodutivo de tetrasporófitos procedentes dos diferentes cruzamentos entre plantas vermelhas e marrom-esverdeadas, por meio da avaliação do percentual de fertilidade do talo, e verificar o desempenho reprodutivo de gametófitos femininos derivados desses tetrasporófitos, por meio da avaliação do número de cistocarpos diferenciados.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foram realizadas investigações sobre a diversidade intraespecífica de *Gracilaria caudata*. Avaliou-se pela primeira vez o padrão de herança da coloração marrom-esverdeada encontrada em espécimes provenientes de população natural. O padrão de herança foi do tipo nuclear codominante, rejeitando-se assim a hipótese inicial deste trabalho de que a coloração vermelha seria dominante em relação à coloração marrom-esverdeada. Essa coloração é decorrente de uma deficiência de ficoeritrina, confirmada pela análise de tetrasporófitos dos diferentes genótipos (*vmvm*, *meme*, *vmme* e *mevm*), e já reportada para a espécie em estudo anterior (Faria & Plastino, 2016).

Variantes reprodutivas (bissexuais) foram, pela primeira vez, reportadas para *G. caudata*. Tais variantes foram observadas em diferentes proporções com relação a gametófitos femininos e masculinos, e apenas na progênie de tetrasporófitos com variação pigmentar obtidos em laboratório (*meme*, *vmme* e *mevm*). Sugere-se a ocorrência do alelo *bi* que confere a bissexualidade e foi anteriormente referido para *G. tikvahiae* (van der Meer 1986). Esse alelo estaria presente em tetrasporófitos marrom-esverdeados oriundos de campo, e teria sido transmitido para as gerações subsequentes cultivadas em laboratório. Permanece a possibilidade de que em populações naturais esse alelo esteja também presente em espécimes de coloração vermelha, já que na progênie de tetrasporófitos *vmme* e *mevm* foram observados gametófitos ♂*bi* de coloração vermelha.

O presente trabalho verificou que gametófitos de *G. caudata* de coloração vermelha possuem um melhor desempenho somático quando comparados a gametófitos de coloração marrom-esverdeada. Esse aspecto foi evidenciado por meio de taxas de crescimento e número de ápices diferenciados. Pudemos verificar também que gametófitos de coloração vermelha apresentaram um maior percentual de fixação ao frasco de cultura quando comparados aos gametófitos de coloração marrom-esverdeada, sugerindo que no ambiente natural os primeiros tenham uma vantagem frente ao recrutamento de ápices destacados. Cabe ressaltar ainda, que o melhor desempenho reprodutivo observado para gametófitos de coloração vermelha (número de cistocarpos diferenciados) sugere que na natureza possa haver uma maior quantidade de carpósporos de genótipo *vmvm* aptos ao recrutamento em detrimento de carpósporos dos demais genótipos (*meme*, *vmme* e *mevm*), contribuindo, para a predominância de espécimes de coloração vermelha na natureza. Em contrapartida, espécimes gametofíticos de coloração marrom-esverdeada apresentaram melhor desempenho fotossintetizante e, apesar do menor desempenho reprodutivo, tais variantes alcançaram a maturidade sexual precocemente. Esses mecanismos, provavelmente, favorecem a manutenção da variante marrom-esverdeada no ambiente natural.

Observou-se que, de forma geral, tetrasporófitos com variação pigmentar não só atingiram precocemente a maturidade reprodutiva, como também tornaram-se mais férteis em relação ao tipo selvagem (*vmvm*). Essa vantagem observada para tais tetrasporófitos, provavelmente, também contribui para a manutenção da variante marrom-esverdeada na natureza. Além disso, poderia ser futuramente melhor estudada, trazendo assim contribuições à maricultura de *G. caudata* no país, uma vez que cultivos comerciais a partir de esporos, bem como a utilização de variantes pigmentares, têm se mostrado como alternativas viáveis para satisfazer as demandas por ágar e para a conservação de populações naturais, por possibilitarem o aumento da biomassa disponível e contribuírem para a variabilidade genética da espécie (Alveal et al. 1997; Hayashi, 2007; Ursi et al. 2013).

Destaca-se ainda que espécimes de coloração vermelha de *G. caudata*, independentemente da fase, bem como tetrasporófitos *mevm*, produziram um maior número de ápices quando comparados aos demais. Sugere-se que essas plantas teriam maiores chances de fragmentação do talo, o que possibilitaria um maior recrutamento nas populações naturais, contribuindo para a predominância de espécimes de coloração vermelha na natureza.

Apesar das diferenças observadas quanto ao número de ápices diferenciados, composição pigmentar, fertilidade e desempenho fotossintetizante, gametófitos femininos marrom-esverdeados, e os tetrasporófitos dos diferentes genótipos apresentaram taxas de crescimento semelhantes quando considerado todo o período experimental (14 dias), sendo esses valores inferiores aos observados para os gametófitos femininos de coloração vermelha. Esses resultados, possivelmente, decorreram da interação de diferentes fatores, como fertilidade, desempenho somático e fotossintetizante, os quais foram expressos em maior ou menor grau em função do genótipo do indivíduo. Essas características diversas, verificadas tanto entre as fases quanto entre as variantes pigmentares e os espécimes do tipo selvagem, contribuem para a diversidade de *G. caudata* e favorecem a manutenção da espécie, principalmente quando considerado o ambiente heterogêneo do médio-litoral onde são encontradas. Deve-se ressaltar que as condições laboratoriais divergem do ambiente natural, e as diferenças observadas poderiam ser acentuadas ou minimizadas, já que na natureza outros fatores bióticos e abióticos estariam atuando de forma sinérgica.

8. REFERÊNCIAS

Adams, J.; Hansche P. E. 1974. Population studies in microorganisms. I. Evolution of diploidy in Saccharomyces cerevisiae. *Genetics* 76:327–338.

Alveal K.; Romo H.; Werlinger C.; Oliveira E.C. 1977. Mass cultivation of the agar-producing alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) from spores. *Aquaculture* 148: 77-83.

Araújo F.O.; Ursi S.; Plastino E.M. 2013. Intraspecific variation in *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, pigment content, and photosynthesis. *Journal of Applied Phycology* DOI 10.1007/s10811-013-0184-3.

Araújo S.G.; Farias W.R.L.; Rodrigues J.A.G.; Torres V.M.; Pontes G.C. 2008. Administração oral dos polissacarídeos sulfatados da rodofícea *Gracilaria caudata* na sobrevivência de pós-larvas de tilápia. *Revista Ciência Agronômica* 39: 548-554.

Armisen R.; Galatas F. 1987. Production, properties and uses of agar. In McHugh DJ, (ed.) Production and utilization of products from commercial seaweeds. *FAO Fisheries Technical Paper* 288:1-57 pp.

Aruga Y.; Miura A. 1984. In vivo absorption spectra and pigment contents of the two types of color mutants of *Porphyra*. *Journal of Applied Phycology* 32: 243-250.

Ayres-Ostrock L.M.; Plastino E.M. 2014a. Effects of short-term exposure to ultraviolet-B radiation on photosynthesis and pigment content of red (wild types), greenish-brown, and green strains of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 26:867-879.

Ayres-Ostrock L.M.; Plastino E.M. 2014b. Effects of UVB radiation on growth rates, pigment contents, and ultrastructure of red (wild types), greenish-brown, and green strains of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *European Journal Phycology* 49:197-212.

Ayres-Ostrock L.M.; Mauger S.; Plastino E.M.; Oliveira M.C.; Valero M.; Destombe C. 2015. Development and characterization of microsatellite markers in two agarophyte species, *Gracilaria birdiae* and *Gracilaria caudata* (Gracilariaceae, Rhodophyta), using next-generation sequencing. *Journal of Applied Phycology* DOI 10.1007/s10811-015-0592-7.

Barufi J.B.; Figueroa F.L.; Plastino E.M. 2015. Effects of light quality on reproduction, growth, and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Scientia Marina* 79:15-24.

Bellorin A. M. 2002. Sistemática e filogenia molecular de algas gracilarioides (Gracilariaceae, Rhodophyta). Tese do doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

Bird C.J.; McLachlan J.; Oliveira E.C. 1986. *Gracilaria chilensis* sp. nov. (Rhodophyta, Gigartinales), from Pacific South America. *Canadian Journal of Botany* 64: 2928-2934.

Bird C. J.; van der Meer J.P.; McLachlan J. 1982. A comment on *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. (Rhodophyta: Gigartinales). *Jounal Marine Biology* 62: 453-459.

Bird N.L.; McLachlan J.; Grund D. 1977. Studies on *Gracilaria*. 5 in vitro life history of *Gracilaria* sp. from the Maritime Provinces. *Canadian Journal of Botany* 55: 1282-1290.

Bixler H.J.; Porse H. 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology* 23:321335.

Bold H.C.; Wynne M.J. 1985. Introduction in the algae: structure and reproduction, 2nd edn. Prentice – Hall inc. Englewood Cliffs. NJ, 1-33 pp.

Câmara-Neto. 1987. Seaweed culture in Rio Grande do Norte, Brazil. *Hydrobiologia* 151/152: 363–367.

Carneiro M.A.A.; Marinho-Soriano E.; Plastino E.M. 2011. Phenology of an agarophyte *Gracilaria birdiae* Plastino and E.C. Oliveira (Gracilariales, Rhodophyta) in Northeastern Brazil. Brazilian Journal of Pharmacognosy 21(2): 317-322.

Cavalier-Smith T. 1978. Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA c-value paradox. *Journal of Cell Science* 34:247–278.

Chow F.; Capociama F.V.; Faria R.; Oliveira M.C. 2007. Characterization of nitrate reductase activity *in vitro* in *Gracilaria caudate* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales). *Revista Brasileira de Botânica* 30: 123-129.

Costa E.S.; Plastino E.M.; Petti R.; Oliveira E.C.; Oliveira M.C. 2012. The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil—a DNA barcoding approach. *Journal of Applied Phycology* 24: 1643-1653.

Costa L.S.; Fidelis G.P.; Cordeiro S.L.; Oliveira R.M.; Sabry D.A.; Câmara R.B.G.; Nobre L.T.D.B.; Costa M.S.S.P.; Almeida-Lima J.; Farias E.H.C.; Leite E.L.; Rocha H.A.O. 2010. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 64: 21-28.

Costa R.F.; Salles M.C.T.; Matias L.G.O. 2011. Cultivando algas marinhas e valores para o desenvolvimento de uma comunidade costeira no municipio de Icapuí/CEC. *Caderno de Agroecologia* 6:1–5.

Costa V.L. 2000. Caracterização genética, reprodutiva e pigmentar de uma linhagem selvagem e duas variantes cromáticas de *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Costa V.L.; Plastino E.M. 2001. Histórico de vida de espécimens selvagens e variantes cromáticas de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Revista Brasileira de Botânica* 24: 491-500.

Costa V.L.; Plastino E.M. 2011. Color inheritance and pigment characterization of red (wild-type), greenish-brown, and green strains of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 23: 599-605.

Critchley A.T. 1993. *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales): an economically important agarophyte. In Ohno M & Critchley AT (eds.). Seaweed Cultivation and Marine Rancing,: JICA. Yokosuka 89-112 pp.

Crow J.F.; Kimura M. 1965. Evolution in sexual and asexual populations. *The American Naturalist* Vol. XCIX, No. 909.

Cunha P.L.R.; Paula R.C.M.; Feitosa J.P.A. 2009. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. Química Nova 32:649-660.

Destombe C.; Valero M.; Vernet P.; Couvet D. 1989. What controls the haploid-diploid ratio in the red alga, Gracilaria verrucosa? *Journal of Evolutionary Biology* 2: 317–338.

Destombe, C.; Godin, J.; Nocher, M.; Richerd, S.; Valero, M. 1993. Differences in response between haploid and diploid isomorphic phases of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta: Gigartinales) exposed to artificial environmental conditions. *Hydrobiologia 260/261*: 131- 137.

Dixon P.S. 1961. The occurrence of tetrasporangia and carposporophytes on the same thallus *in Euthora cristata* (L. ex Turn.). *Canadian Journal of Botany* 39: 541-543.

Donato R. 2005. Diversidade Intraespecífica em linhagens tetrasporofíticas de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta): crescimento, caracterização pigmentar, fotossíntese e assimilação de nitrato. Tese de Doutorado Universidade de São Paulo. São Paulo.

Edelstein, T.; MacLachlan J. 1966. Cystocarps and tetrasporangia in the same thallus in *Membranoptera alata* and *Polysiphonia urceolata*. *Br. Phycol. Bull* 3: 185-187

Edelstein, T.; Bird C.J.; McLachlan J. 1974. Tetrasporangia and gametangia in the same thallus in the red algae *Cystocloniun purpureum* (Huds.) Batt and *chondria baileyana* (Mont.) Harv. *British Phycological Journal* 9: 247-250

Enríquez S.; Borowitzka M.A. 2010. The Use of the Fluorescence Signal in Studies of Seagrasses and Macroalgae. In Suggett, D. J., Borowitzka, M. A. & Prásil, O. (eds) Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications. Springer. 187-208.

Falcão V.R.; Tonon A.P.; Oliveira C.M.; Colepicolo P. 2008. RNA isolation method for polyssacharide rich algae: agar producing *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 20: 9-12.

Faria A.V.F.; Plastino E.M. 2016. Physiological assessment of the mariculture potential of a *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) variant. *Journal of Applied Psychology* DOI 10.1007/s10811-015-0761-8.

Faria A.V.F.; Barufi J.B.; Plastino E.M. 2016. Ecotypes of Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta): physiological and morphological approaches considering life history phases. *Journal of Applied Phycology* DOI 10.1007/s10811-016-1018-x.

Ferreira, L.B. 2008. Diversidade intraespecífica em *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos na interpretação do polimorfismo de cor. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Ferreira L.B.; Barufi J.B.; Plastino E.M. 2006. Growth of red and green strains of the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales/Rhodophyta) in laboratory. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 187-192.

Figueroa F.L.; Bueno A.; Korbee N.; Santos R.; Mata L.; Schuenhoff A. 2008. Accumulation of mycosporinelike amino acids in Asparagopsis armata grown in tanks with fishpond effluents of Gilthead Sea Bream, Sparus aurata. *J World Aquac Soc* 39:692-699.

Florêncio I.M.; Florentino E.R.; Silva F.L.H.; Fernandes V.S.; Cavalcanti M.T. 2012. Estudo da extração de ágar da macroalga *Gracilaria caudata* J. Agardh para utilização em fins alimentícios. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 7: 71-78.

Ford E.B. 1964. Ecological genetics. Methuen, London; John Wiley, New York. 335p.

Futuyma D.J. 1988. Evolutionary biology. 3ª ed. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

Gantt E. 1990. Pigmentation and photoacclimation. In: Cole KM, Sheath RG (eds) Biology of the red algae. Cambridge University Press. Cambridge, 203-219 pp.

García-Sánchez M.J.; Fernández J.A.; Niell F.X. 1993. Biochemical and physiological responses of *Gracilaria tenuistipitata* under two different nitrogen treatments. *Physiol. Plant*. 88: 631-637.

Genty B.; Briantais J.; Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica at Biophysica Acta* 990:87–92

Gerung G.S.; Ohno M. 1997. Growth rates of *Eucheuma denticulatum* (Burman) Collins et Harvey and *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty under diferent conditions in warm waters of Southern Japan. *Journal of Applied Phycology* 9: 413–415

González M.A.; Montoya R.; Candia A. 1995. Organellar DNA restriction analysis of four morphotypes of *Gracilaria* from Lenga, VIIIth Region, Chile. *Biological Research* 28:177-184.

Guillemin M.L.; Faugeron S.; Destombe C.; Viard F.; Correa J.A.; Valero M. 2008. Genetic variation in wild and cultivated populations of the haploid– diploid red alga gracilaria chilensis: how farming practices favor asexual reproduction and heterozygosity. *Evolution* doi:10.1111/j.1558-5646.2008.00373.x.

Guillemin M.L.; Sepúlveda R.D.; Correa J.A.; Destombe C. 2013. Differential ecological responses to environmental stress in the life history phases of the isomorphic red alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 25:215-224.

Guillemin M.L.; Valenzuela P.; Gáitan-Espitia J.D.; Destombe C. 2014. Evidence of reproductive cost in the triphasic life history of the red alga *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 26:569-575.

Guimarães M. 1995. Morfos pigmentares de *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta): frequência populacional, análise pigmentar e aspectos ultraestruturais. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Guimarães M. 2000. Aspectos fisiológicos de *Gracilaria dominguensis* (Gracilariales, Rhodophyta): subsídio para a compreensão da manutenção do polimorfismo pigmentar. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Guimarães M.; Plastino E.M.; Oliveira E.C. 1999. Life History, Reproduction and Growth of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. *Botanica Marina* 42: 481-486.

Guimarães M.; Plastino E.M.; Destombe C. 2003. Green mutant frequency in natural populations of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. *European Journal Phycology* 38: 165-169.

Gupta V.; Baghel R.; Kumar M.; Kumari P.; Mantri V.A.; Reddy C.R.K.; Jha B. 2011. Growth and agarose characteristics of isomorphic gametophyte (male and female) and sporophyte of *Gracilaria dura* and their marker assisted selection. *Aquaculture* 318:389–396

Guiry M.D. 1984. Structure, Life History and Hybridization of Atlantic Gigartina teedii (Rhodophyta) in Culture. *British Phycological Journal* 19:37-55

Guiry M.D.; Guiry G.M. 2016. AlgaeBase. Worldwide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: http://www.algaebase.org (último acesso em 04.01.17).

Grzymski J.; Johnsen G.; Sakshug E. 1997. The significance of intracellular self-shading on the bio-optical properties of brown, red and green macroalgae. *Journal of Phycology* 33:408-414

Hayashi L. 2007. Contribuição à maricultura da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Solieriaceae)* para a produção de carragenana. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Hughes, J.S. & Otto, S.P. 1999. Ecology and evolution of biphasic life cycles. *The American Naturalist 154*: 306-320.

Innes D.J. 1984. Genetic differentiation among populations of marine algae. *Helgolander Meeresunters* 38:401-417.

Jeffrey S.; Humphey G. 1975. New spectrophotometric equation for determining chlorophylls a,b,c1, and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 167: 191-194.

Joly A.B.; Cordeiro M.; Mendonza M.L.; Yam A.; Ugadim Y. 1963. Additions to the marine flora of Brazil. *III. Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Sao Paulo, Serie Botânica* 20: 7-21.

Kain (Jones) J.M.; Destombe C. 1995. A review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. *Journal of'Applied Phycology* 7: 269-281.

Kennelly S.J. 1983. An experimental approach to the study of factors affecting algal colonization in a sublittoral kelp forest. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 68: 257–276.

Kromkamp J.C.; Forster R.M. 2003. Review - The use of variable fluorescence measurements in aquatic ecosystems: differences between multiple and single turnover measuring protocols and suggested terminology. *European Journal Phycology* 38: 103–112.

Kursar T.A.; van der Meer J.P.; Alberte R.S. 1983a. Light-harvesting system of the red alga *Gracilaria tikvahiae*. I. Biochemical analysis of pigment mutations. *Plant Physiology* 73: 353-360.

Levy I.; Friedlander M. 1990. Strain selection in *Gracilaria* spp. I. Growth, pigment and carbohydrates characterization of strains of *G. conferta* and *G. verrucosa* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 33: 339–45.

Lewis W.M.Jr. 1985. Nutrient scarcity as an evolutionary cause of haploidy. *The American Naturalist* vol 125 nº 5.

Lignell A.; Pedersén M. 1989. Agar composition as a function of morphology and growth rate. Studies on some morphological strains of *Gracilaria secundata* and *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Botanica Marina*. 32: 219-227.

Lyra G.M.; Costa E.S.; Jesus P.B.; Matos J.C.G.; Caires T.A.; Oliveira M.C.; Oliveira E.C.; Xi Z.; Nunes J.M.; Davis C.C. 2015. Phylogeny of gracilariaceae (rhodophyta): evidence from plastid and mitochondrial nucleotide sequences. *Journal of Phycology* 51, 356–366.

Mansilla A.; Rodriguez J.P.; Souza J.M.C.; Rosenfeld S.; Ojeda J.; Yokoya N.S. 2014. Growth responses to temperature, salinity and nutrient variations, and biomass variation and phenology of Ahnfeltia plicata (Rhodophyta, Ahnfeltiales): a commercially interesting agarophyte from the Magellanic Region, Chile. *Journal of Applied Phycology* 26:1133–1139

Marinho Soriano E.; Panucci R.A.; Carneiro M.A.A.; Pereira D.C. 2009. Evaluation of *Gracilaria caudata* J. Agardh for bioremediation of nutrients from shrimp farming wastewater. *Bio resource Technology*. 100: 6192-6198.

Martín L.A.; Zaixso A.L.B.; Leonardi P. 2011. Biomass variation and reproductive phenology of Gracilaria gracilis in a Patagonian natural bed (Chubut, Argentina). *Journal of Applied Phycology* 23: 643–654.

Martins A.P.; Junior O.N.; Colepicolo P.; Yokoya N.S. 2011. Effects of nitrate and phosphate availabilities on growth, photosynthesis and pigment and protein contents in colour strains of *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21(2): 340-348.

Macchiavello Saito J. R.; Garófalo G.; Oliveira E.C. 1999. A comparative analysis of agarans from commercial species of Gracilaria (Gracilariales, Rhodophyta) grown in vitro. *Hydrobiologia* 398/399 : 397 – 400.

Mc Hugh D.J. 2003. A guide to the seaweed industry. In FAO Fisheries Techinal Paper. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome 441.

McLachlan J.; Edelstein T. 1977. Life history and culture of *Gracilaria foliifera* (Rhodophyta) from south Devon. *Journal of Marine Biology* 57: 577-586.

Miranda G.E.C.; Yokoya N.S.; Fujii M.T. 2012. Effects of temperature, salinity and irradiance on carposporeling development of Hidropuntia caudata (Gracilariales, Rhodophyta). *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 22(4): 818-824.

Miranda G.E.C.; Fujii M.T.; Yokoya N.S. 2008. Efeito da irradiância sobre o crescimento e Desenvolvimento de plântulas de *gracilaria caudata* (rhodophyta, gracilariales). *Anais do XII Congresso Brasileiro de Ficologia*. 283 pp.

Muñoz J.; Freile-Pelegrín Y.; Robledo D. 2004. Mariculture of *Kappaphyccus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) color strains in tropical waters of Yucatán, México. *Aquiculture* 239: 161-177

Navarro P. 2015. Presencia de variante verde de *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta) en la Región de Magallanes, Chile. *Revista de Biologia Marina y Oceanografia* vol. 50,S1:193-198.

Niwa K.; Furuita H.; Yamamoto T.; Kobiyama A. 2008. Identification and characterization of a green type mutant of *Phorpyra tenera* Kjellman var. *tamatsuensis* Miura (Bangiales/ Rhodophyta). *Aquaculture* 274: 126-131.

Norse E.A. 1993. Global Marine Biological Diversity: a Strategy for Building Conservation into Decision Making. Washington, DC: Island Press.

Ogata E.; Matsui T.; Nakamura H. 1972. The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) in vitro. *Phycologia* 11: 75-80.

Oliveira E.C. 1977. *Algas marinhas bentônicas do Brasil.* São Paulo, 407p. Tese (Livre-Docência), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

Oliveira E.C.; Alveal K.; Anderson R. 2000. Mariculture of the agar – producing Gracilarioid red algae. *Reviews in Fisheries Science.* 8: 345-378.

Oliveira E.C.; Plastino E.M. 1984. The life-history of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Brazil. *Japanese Journal of Phycology* 32: 203-208.

Oliveira E.C.; Plastino E.M. 1994. Gracilariaceae. In: by 1. Akatsuka (Ed) Biology of Economic Algae. SPB Academic Publishing, The Hague. 185-226 pp.

Oliveira, E.C. & Miranda, G.E.C. 1998. Aspectos sociais e econômicos da explotação de algas marinhas no Brasil. (Paula, E.J.; Cordeiro-Marinho, M.; Santos, D.P.; Plastino, E. M.; Fujii, M. T. & Yokoya, N.S. eds) *Anais do IV Congresso Latino-americano, II Reunião Ibero-americana, VII Reunião*

Brasileira de Ficologia. Caxambu, MG. Sociedade Ficológica da América Latina e Caribe & Sociedade Brasileira de Ficologia: pp 149-156.

Orduña-Rojas J.; Robledo D. 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatan, Mexico. II. Biomass assessment and reproductive phenology. *Botanica Marina* 45: 459–464.

Patwary M.U.; van der Meer J.P. 1982. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). VIII. Phenotypic and genetic characterization of some selected morphological mutants. *Canadian Journal of Botany* 60: 2556-2564.

Petti R.; Plastino E.M. 2012. Estudo comparativo de dois processos de esterilização de água do mar para preparação de meios de cultura de algas em laboratório. Anais do XIV Congresso Brasileiro de Ficologia. Acessado em 13 de setembro de 2013. Disponível em http://www.sbfic.org.br/cbfic2012/ocs-2.3.4/index.php/xivcbfic/congresso/paper/view/340

Plastino, E. M. 1985. As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP- Aspectos biológicos e fenologia. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Plastino E.M. 1991. Cultivo in vitro, Estudos Reprodutivos e Biosistematica de Algas Gracilarióides (Rhodophyta, Gracilariales) de talo cilindrico. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Plastino E.M. 2004. Diversidade intraespecífica em algas gracilarióides. Tese de Livre-Docência. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Plastino E.M.; Oliveira E.C. 1988. Deviations in the life-history of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinales), from Coquimbo, Chile, under different culture conditions. *Hydrobiologia* 164: 6774.

Plastino E.M.; Oliveira E.C. 1997. *Gracilaria caudata* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta) - restoring an old name for a common western Atlantic alga. *Phycologia* 36: 225-232.

Plastino E.M.; Guimarães M.; Matioli S.R.; Oliveira E.C. 1999. Codominant inheritance of polymorphic color variants of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Genetics and Molecular Biology* 22: 105-108.

Plastino E.M.; Costa V.L. 2001. Anomalous plastids in a light green strain of the red macroalga *Gracilaria* sp. (Gracilariales). *Acta Microscópica* 3 (Sup. C): 315-316.

Plastino E.M.; Guimarães M. 2001. Diversidade intraespecífica. *In*: Alveal, K. & Antezana, T. (Eds.). Sustentabilidad de la biodiversidad, un problema actual. Bases cientifico-tecnicas, teorizaciones y proyecciones. Universidad de Concepción. Concepción 19-27pp.

Plastino E.M.; Ursi S.; Fujii M.T. 2004. Color inheritance, pigment characterization, and growth of a rare light green strain of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycological Research* 52: 45-52.

Platt T.; Gallegos C.L.; Harrison W.G. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *Journal of Marine Research.* 38(4): 687-701

Polifrone M.; Gil-Rodríguez M.C.; Alvárez S.D.; Stroobant M.; Viera-Rodríguez M.A.; 2012. Reproductive phenology of three species of Gelidiales (Rhodophyta) in two macroalgal communities from Tenerife (Atlantic Ocean, Canary Islands, Spain). *Anales del Jardín Botánico de Madrid.* 69: 247-252.

Prathep A.; Lewmanomont K.; Buapet P. 2009. Effects of wave exposure on population and reproductive phenology of an algal turf, *Gelidium pusillum* (Gelidales, Rhodophyta), Songkhla, Thailand. *Aquat. Bot.* 90: 179–183.

Pueschel C.M.; van der Meer J.P. 1983. Ultrastructural characterization of a pigment mutant of the red algae *Palmaria palmata*. *Canadian Journal of Botany* 62: 1101-1107..

Ramus J.; van der Meer J.P. 1983. A physiological test of the theory of complementary chromatic adaptation. I. Color mutants of a red seaweed. *Journal of Phycology* 19:86–91

Robuchon M.; Couceiro L.; Peters A.F.; Destombe C.; Vaalero M. 2014. Examining the bank of microscopic stages in kelps using culturing and barcoding. *European Journal Phycology* 49(1): 128–133.

Roleda M.Y.; van de Poll W.H.; Hanelt D.; Wiencke C. 2004. PAR and UVBR effects on photosynthesis, viability, growth and DNA in different life stages of two coexisting Gigartinales: implications for recruitment and zonation pattern. *Marine Ecology Progress Series* 281: 37–50.

Rueness J.; Mathisen H.A.; Tananger T. 1987. Culture and field observations on Gracilaria verrucosa (Huds.) Papenf. (Rhodophyta) from Norway. *Botanica Marina* 30: 267-276.

Santelices B.; Varela D. 1995. Regenerative capacity of *Gracilaria* fragments: effects of size, reproductive state and position along the axis. *Journal of Applied Phycology* 7:501:506.

Santelices B.; Correa J.A.; Meneses I.; Aedo D.; Varela D. 1996. Sporeling coalescence and intraclonal variation in *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 32: 313-322

Sinha R.P.; Lebert M.; Kumar A.; Kumar H.D.; Häder D.P. 1995. Spectroscopic and biochemical analyses of UV effects on phycobilisomes of *Anabaena sp*. and *Nostoc carmium*. Bot Acta 108:87-92.

Skriptsova A.V.; Nabivailo Y.V. 2009. Comparison of tree gracilarioids: growth rate, agar contente and quality. *Journal of Applied Phycology* 21: 443-450.

Stebbins, G.L. & Hill, G.J. 1980. Did the multicellular plants invade the land? *Am. Nat. 115*: 342-353.

Steentoft M.; Irvlne L.M.; FarnhamW.F. 1995. Two terete species of *Gracilaria* and *Gracilariopsis* (Gracilariales, Rhodophyta) in Britain. *Phycologia* 34: 113-127.

Suggett D.J.; Prásil O.; Borowitzka M.A. 2011. Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences. Springer.

Terada R.; Tsuyoshi A.; Kawaguchi S. 2010. Reproductive phenology of three species of *Gracilaria*: *G. blodgettii* Harvey, *G. vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss and *G. salicornia* (C. Agardh) Dawson (Gracilariales, Rhodophyta) from Okinawa, Ryukyu Islands, Japan. *Coastal Marine Science* 34(1): 129–134.

Tomaz A.C.A. 2012. Substâncias encontradas em algas rodofíceas do litoral paraibano e do mar Jônico – Grécia. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba.

Ugadim Y. 1975. Algas marinhas bentônicas do litoral do Estado de São Paulo e Estado do Paraná. III - Divisão Rhodophyta (2): Cryptonemiales, Gigartinales e Rhodymeniales. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 3: 115-164.

Ursi S. 2000. Crescimento in vitro de Gracilaria sp. (Gracilariales, Rhodophyta): análise da diversidade intraespecífica. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Ursi S.; Plastino E.M. 2001. Crescimento *in vitro* de linhagens de coloração vermelha e marrom-esverdeada clara de *Gracilaria* sp. (Gracilariales, Rhodophyta) em dois meios de cultura: análise de diferentes estádios reprodutivos. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 587-594.

Ursi S.; Pedersén M.; Plastino E.M.; Snoeijs P. 2003. Intraespecific variation of fhotosynthesis, respiration and photoprotective carotenoids in *Gracilaria birdeae* (Gracilariales: Rhodophyta). *Marine Biology* 142: 997-1007.

Ursi S.; Costa V.L.; Hayashi L.; Pereira R.T.L.; Paula E.J.; Plastino E.M. 2013. Intraspecific variation in *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, and agar yield and quality of color strains under aquaculture. *Botanica Marina* 56:241–248.

Valero M.; Richerd S.; Perrot V.; Destombe C. 1992. Evolution of alternation of haploid and diploid phases in life cycles. *Tree* vol 7 nº 1.

van der Meer J.P. 1977. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). II. The life history and genetic implications of cytokinetic failure during tetraspore formation. *Phycologia* 16: 367-71.

van der Meer J.P. 1979. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). V. Isolation and characterization of mutant strains. *Phycologia* 18: 47-54.

van der Meer J.P. 1981a. The inheritance of spontaneous pigment mutations in *Chondrus crispus* Stacklh. (Rhodophyceae). *Proceedings of Natural Society Institute of Science* 31:187-192.

van der Meer J.P. 1981b. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). VII. Further observations and construction of polyploids. *Canadian Journal of Botany* 59: 787-792.

van der Meer J.P. 1986. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophy- ceae). XI. Further characterization of a bisexual mutant. *Journal of Phycology* 22: 151-158.

van der Meer J.P. 1987. Marine algal genetics and genomes. *Hydrobiologia* 151/152: 49-56.

van der Meer J.P. 1990. Genetics. In: Cole KM, Sheath RG (eds) Biology of the red algae. Cambridge University Press. Cambridge, 103-122 pp.

van der Meer J.P.; Bird N.L. 1977. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). I. Mendelian inheritance of two spontaneous green variants. *Phycologia* 16: 159-61.

van der Meer J.P.; Tood E.R. 1977. Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). IV. Mitotic recombination and its relationship to mixed phases in the life history. *Canadian Journal of Botany* 55: 2810-2817.

van der Meer J.P.; Patwary M.U.; Bird C.J. 1984. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). X. Studies on a bisexual clone. *Journal of Phycology* 20: 42-46.

Veeragurunathan V.; Prasad K.; Singh N.; Malarvizhi J.; Mandal S.K.; Mantri V.A. 2016. Growth and biochemical characterization of green and red strains of the tropical agarophytes *Gracilaria debilis* and *Gracilaria edulis* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*. DOI 10.1007/s10811-016-0898-0

White A.J.; Critchley C. 1999. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynthesis Research* 59: 63-72.

Woelkerling W.J. 1990. An introduction, (Cole, K. M., Sheath, R. G., Eds), Biology of the red algae. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, 1-6.

Yokoya N.S.; Oliveira E.C. 1992a. Effects of salinity on the growth rate, morphology and water content of some Brazilian red algae of economic importance. *Ciências Marinas* 18: 49-64.

Yokoya N.S. & Oliveira E.C. 1992b. Temperature response of economically important red algae and their potential for mariculture in Brazilian Waters. *Journal of Applied Phycology* 4: 339-345.

Yokoya N.S.; Plastino E.M.; Artel R. 2003. Physiological responses and pigment characterization of two colour strains of the carrageenophyte *Hypnea musciformis* (Rhodophyta). In: Chapman ARO, Anderson RJ, Vreeland VJ, Davison IR (eds) Proc 17th Int Seaweed Symp, Oxford University Press, New York, pp 425–433

Yokoya N.S.; Necchi Jr.O.; Martins A.P.; Gonzalez S.F.; Plastino E.M. 2007. Growth responses and photosynthetic characteristics of wild and phycoerythrin-deficient strains of Hypnea musciformis (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 19: 197-205.

Yoshimura C.Y. 2006. Avaliação do potencial de cultivo e produção de ágar de *Gracilaria domingensis* e de *Gracilaria caudata* (Rhodophyta, Gracilariales) na Enseada de Armação do Itapocoroy (Penha, Santa Catarina). Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Universidade se São Paulo.

Zhang X.; van der Meer J.P. 1988. A genetic study on *Gracilaria sjoestedtii*. *Canadian Journal of Botany* 66:2022–2026.