

Fabiana Marchi dos Santos

Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta):
estudos genéticos e fisiológicos na interpretação da
cor do talo e de sistemas reprodutivos.

Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta):
genetic and physiological studies in the interpretation
of the thallus color and reproductive systems.



São Paulo

2022

Fabiana Marchi dos Santos

Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta):
estudos genéticos e fisiológicos na interpretação da
cor do talo e de sistemas reprodutivos.

Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta):
genetic and physiological studies in the interpretation
of the thallus color and reproductive systems.

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências Biológicas, na
Área de botânica.

Orientada: Dr^a Estela Maria Plastino

São Paulo

2022

RESUMO

A alga vermelha *Gracilaria caudata* é um dos principais recursos para a produção de ágar no Brasil. A evidente redução da biomassa disponível em bancos naturais e a perda de viabilidade de cultivos mantidos por propagação vegetativa indicam a necessidade de estudos sobre a diversidade intraespecífica de espécies de importância econômica. *G. caudata* possui um histórico de vida trifásico: tetrasporófito (2n), gametófito (n) e carposporófito (2n). Os gametófitos são dióicos e isomórficos ao tetrasporófito (ambos de vida livre), enquanto que o carposporófito é dependente do gametófito feminino. Frequentemente, em populações naturais, gametófitos férteis são observados desenvolvendo-se como epífitos da fase tetrasporofítica. Essa variação reprodutiva tem sido relatada em diferentes regiões do país, com maior número de tetrasporófitos portando gametófitos epífitos observados em populações do nordeste, quando comparadas àquelas localizadas na região sudeste. Os gametófitos epifíticos atingem a maturidade reprodutiva precocemente, quando comparados aos de vida livre, promovendo assim um encurtamento do tempo necessário para que o histórico de vida seja completado. Recentemente, em uma população natural localizada no nordeste do Brasil, foram encontrados tetrasporófitos verde-amarronzados de *G. caudata* (variante) com gametófitos epífitos. Além disso, observamos em condições de laboratório, o aparecimento espontâneo de ramos verde-claros (*lg*) em gametófitos dessa população. Variantes de cor espontâneas têm sido encontradas na costa brasileira, e o estudo do padrão de herança do fenótipo alterado, bem como a avaliação da fisiologia dos espécimes variantes é de extrema importância para trabalhos de melhoramento genético e seleção de linhagens mais produtivas para a maricultura. Neste trabalho, testamos as seguintes hipóteses: i, o epifitismo de gametófitos na geração tetrasporofítica constitui-se em estratégia reprodutiva determinada geneticamente; ii, gametófitos epífitos, independentemente da coloração do talo, possuem melhor desempenho fisiológico em comparação aos gametófitos de vida livre; iii, a coloração verde-amarronzada, encontrada em espécimes da população natural, possui um padrão de herança do tipo nuclear recessiva em relação ao tipo selvagem (vermelho); e iv, a coloração verde- clara tem um padrão de herança citoplasmática. Além disso, nós testamos se as variantes pigmentares apresentam menor desempenho fisiológico quando comparadas ao tipo selvagem. Como resultados, observamos que gametófitos femininos epífitas (*ep*), independentemente da cor do talo, apresentaram maiores taxas de crescimento em relação aos espécimes de vida livre (*liv*) quando cultivados em von Stosch (VS) 25% ($\bar{v}m_{liv} = 14,62 \pm 0,07$, $\bar{v}m_{ep} = 15,07 \pm 0,10$, $\bar{v}d_{liv} = 11,77 \pm 0,18$ e $\bar{v}d_{ep} = 13,89 \pm 0,21$). Todavia, quando cultivados em condições nutricionais mais baixas (VS 6,25%), observamos um melhor desempenho de espécimes verde-amarronzados, independentemente do tipo de hábito. Tetrasporófitos de genótipo *livliv* e *epep* apresentam taxas de crescimento semelhantes quando cultivados em VS 25%; porém, os últimos apresentaram um melhor percentual de fertilidade do talo, bem como um maior número de gametófitos epífitos férteis ($livliv = 11,00 \pm 3,00$ e $epep = 33,00 \pm 2,00$). Quando cultivados em VS 6,25%, observamos um desempenho semelhante com relação ao percentual de fertilidade do talo entre espécimes que possuíam em seu genótipo pelo menos um alelo *ep*; esses apresentaram-se mais férteis quando comparados a espécimes de genótipo *livliv* ($livliv = 77,23 \pm 2,30$; $epep_{tetrasp} = 82,22 \pm 1,71$; $livep = 81,18 \pm 0,38$). Quanto ao fenótipo verde-amarronzado, os cruzamentos entre plantas de mesma coloração ($\bar{v}rd \times \bar{v}rd$, vermelho; e $\bar{v}bg \times \bar{v}bg$, verde-amarronzado) resultaram em gerações tetrasporofíticas e gametofíticas subsequentes com fenótipos parentais. Tetrasporófitos heterozigotos obtidos de cruzamentos entre plantas com cores diferentes ($rd \times bg$ e $bg \times rd$) apresentaram fenótipo marrom (genótipos *rdbg* e *bgrd*, respectivamente) e após meiose, resultaram em gametófitos de coloração vermelha e coloração verde-amarronzada em uma proporção de 1:1 na progênie de ambos tetrasporófitos. Com relação à fisiologia, os tetrasporófitos com variação pigmentar apresentaram um maior percentual de fertilidade do talo quando comparados a espécimes do tipo selvagem ($rdrd = 77,42\% \pm 2,21$; $bgbg = 19,91\% \pm 0,27$; $rdbg = 83,04\% \pm 0,55$; $bgrd = 81,24\% \pm 0,47$). Os espécimes selvagens apresentaram, em geral, um melhor desempenho somático, possivelmente impulsionado pelas maiores concentrações de ficoeritrina presentes nesses espécimes.

Tetrasporófitos *bgbg* e *bgrd* apresentaram maiores concentrações de ficocianina do que os demais ($rdrd = 92,55 \pm 10,35$, $bgbg = 101,28 \pm 3,68$, $bgrd = 126,04 \pm 14,71$ e $rdbg = 80,37 \pm 5,36$). Quanto ao fenótipo verde-claro, os cruzamentos entre espécimes do tipo selvagem ($\text{♀}vm \times \text{♂}vm$) e também entre espécimes do tipo selvagem e verde-claro ($\text{♀}vm \times \text{♂}vdc$) resultaram gerações tetrasporofíticas e gametofíticas subsequentes com coloração vermelha. A partir do cruzamento entre plantas verde-claro ($\text{♀}vdc \times \text{♂}vdc$) foram obtidos tetrasporófitos verde-amarronzados, e três classes fenotípicas foram observadas na geração gametofítica seguinte (vermelho, verde-amarronzado e verde-claro), que não estavam relacionadas ao sexo. Ramos masculinos do tipo selvagem apresentaram um melhor desempenho somático (taxa de crescimento: $rd = 11,08 \pm 0,58$ e $lg = 10,05 \pm 0,34$) e reprodutivo (fertilidade do talo: $rd = 73,86\% \pm 3,89$ e $lg = 65,84\% \pm 4,47$), quando comparados aos masculinos verde-claros (lg). No entanto, a linhagem lg apresentou melhor desempenho fotossintetizante (Ik : $rd = 27,03 \pm 0,18$ e $lg = 33,85 \pm 1,05$; $\Delta F/Fm$: $rd = 0,539 \pm 0,00$ e $lg = 0,554 \pm 0,00$) do que a vermelha, provavelmente devido a um excesso de expressão de ficocianina ($rd = 134,32 \pm 2,43$ e $lg = 150,62 \pm 4,49$) e aloficocianina ($rd = 45,45 \pm 11,86$ e $lg = 108,45 \pm 6,56$), bem como menor teor de ficoeritrina, quando comparada ao tipo selvagem ($rd = 545,56 \pm 12,97$; e $lg = 155,64 \pm 1,82$). Diante do exposto, ressaltamos que o epifitismo de gametófitos sobre a geração tetrasporofítica pode ser considerado como uma estratégia reprodutiva determinada geneticamente, a qual, possivelmente, está em um processo de seleção positiva pelo ambiente, em função das baixas concentrações nutricionais que são observadas na região nordeste do Brasil. A partir dos resultados dos cruzamentos teste, nossos resultados indicaram um padrão de herança nuclear codominante para o fenótipo verde-amarronzado, e um padrão de herança citoplasmática, relacionada ao cloroplasto para o fenótipo verde-claro. No entanto, a presença de três classes fenotípicas na progênie de tetrasporófitos verde-amarronzados (provenientes do cruzamento $\text{♀}lg \times \text{♂}lg$) sugere um padrão de herança epistática. Com relação à fisiologia, evidenciamos que, de modo geral, espécimes do tipo selvagem apresentam melhor desempenho somático em relação às variantes pigmentares. Porém, as últimas possuem melhor desempenho fotossintetizante e reprodutivo, o que pode contribuir para a manutenção de variantes pigmentares na natureza.

ABSTRACT

The red alga *Gracilaria caudata* is one of the main sources for agar production in Brazil. The evident reduction of available biomass in natural banks and the loss of viability of crops maintained from vegetative propagation indicate the need for studies about the intraspecific diversity of species of economic importance. *G. caudata* has a three-phase life history, which consists of tetrasporophyte (2n), gametophyte (n), and carposporophyte (2n). Gametophytes are dioecious and isomorphic to the tetrasporophyte (both free-living), while the carposporophyte is dependent of the female gametophyte. Frequently, in natural populations, fertile gametophytes are observed growing as epiphytes of the tetrasporophytic phase. This reproductive variation has been reported in different regions of the country, with a greater number being observed in populations from the northeast when compared to those located in the southeast region. Epiphytic gametophytes reach reproductive maturity earlier when compared to free-living gametophytes, thus promoting a shortening of the time necessary for the life history to be completed. Recently, in a natural population located in northeastern coast of Brazil, brownish-green tetrasporophytes of *G. caudata* (color variant) with epiphytic gametophytes were found. In addition, we observed under laboratory conditions the spontaneous appearance of light-green branches (lg) in gametophytes of this population. Spontaneous color variants have been found on the Brazilian coast and the study of the inheritance pattern of the altered phenotype, as well as the evaluation of the physiology of the variant specimens is of extreme importance for genetic improvement and the selection of more productive strains for mariculture. In this work, we tested the hypothesis that: i, the epiphytism of gametophytes on the tetrasporophytic generation constitutes a genetically determined reproductive strategy; ii, epiphyte gametophytes, regardless of thallus color, have better physiological

performance compared to free-living gametophytes; iii, the brownish-green color found in specimens from the natural population has a recessive nuclear inheritance pattern in relation to the wild-type (red); and iv, the light-green strain has a cytoplasmic inheritance pattern. Furthermore, we tested if both pigment variants have a less fitness when compared to the wild-type. Regarding the epiphytism of gametophytes on the tetrasporophytic generation (*ep*), we observed that female gametophytes, regardless of thallus color, showed higher growth rates when compared to free-living (*liv*) specimens in a higher nutritional condition cultivation (von Stosch 25%, VS) ($\text{♀ } vm_{liv} = 14.62 \pm 0.07$, $\text{♀ } vm_{ep} = 15.07 \pm 0.10$, $\text{♀ } vd_{liv} = 11.77 \pm 0.18$, and $\text{♀ } vd_{ep} = 13.89 \pm 0.21$). However, when cultivated in lower nutritional conditions (VS 6.25%), we observed a better performance of brownish-green specimens, regardless of the habit. For the tetrasporophytic phase we observed that, they presented better growth rates when cultivated in VS 6.25% when compared to those cultivated in VS 25% (14.98 ± 0.32 and 13.11 ± 0.87 , respectively). Furthermore, *livliv* and *epep* genotypic tetrasporophytes showed similar growth rates when cultivated in VS 25%; however, the latter presented higher thallus fertility, as well as a higher number of fertile epiphytic gametophytes. When cultivated in VS 6.25%, specimens that had at least one *ep* allele in their genotype showed similar thallus fertility among themselves and higher than specimens of the *livliv* genotype. Considering the brownish-green phenotype, crosses between plants of the same color (*rd* x *rd*, red; or *bg* x *bg*, brownish-green) resulted tetrasporophytic and subsequent gametophytic generations with parental phenotypes. Heterozygous tetrasporophytes obtained from crosses between plants with different colors (*rd* x *bg* and *bg* x *rd*) showed a brown phenotype (*rdbg* and *bgrd* genotypes, respectively) and, after meiosis, red and brownish-green gametophytes were observed in a 1:1 ratio in the progeny of both tetrasporophytes. Color variant tetrasporophytes are more fertile when compared to the wild-type (*rdrd* = 77.42% \pm 2.21, *bgbg* = 19.91% \pm 0.27, *rdbg* = 83.04% \pm 0.55, and *bgrd* = 81.24% \pm 0.47). Wild-type specimens showed, in general, a better somatic performance, possibly driven by the higher concentrations of phycoerythrin that can function as an energy reserve, as well as by the higher number of differentiated branches when compared to the others. Furthermore, *bgbg* and *bgrd* tetrasporophytes had higher concentrations of phycocyanin than the others (*rdrd* = 92.55 \pm 10.35, *bgbg* = 101.28 \pm 3.68, *bgrd* = 126.04 \pm 14.71, and *rdbg* = 80.37 \pm 5.36). Considering the light-green phenotype, the crosses between wild-type plants and also between female wild-type and male light-green plants showed tetrasporophytic and subsequent gametophytic generations with red color. Crosses between light-green plants gave origin to brownish-green tetrasporophytes, and three phenotypic classes were observed in the next gametophytic generation (red, brownish-green, and light-green), which were unrelated to sex. Male wild-type branches showed a better somatic (growth rate: *rd* = 11.08 \pm 0.58 and *lg* = 10.05 \pm 0.34) and reproductive (thallus fertility: *rd* = 73.86% \pm 3.89 and *lg* = 65.84% \pm 4.47) performances when compare to male light-green (*lg*) branches. Nonetheless, *lg* strain presented a better photosynthetic performance (Ik: *rd* = 27.03 \pm 0.18 and *lg* = 33.85 \pm 1.05; $\Delta F/F_m$: *rd* = 0.539 \pm 0.00 and *lg* = 0.554 \pm 0.00) than the red strain, probably due to an over expression of phycocyanin (*rd* = 134.32 \pm 2.43 and *lg* = 150.62 \pm 4.49) and allophycocyanin (*rd* = 45.45 \pm 11.86 and *lg* = 108.45 \pm 6.56), as well as lower phycoerythrin content when compared to the wild-type (*rd* = 545.56 \pm 12.97) and *lg* = 155.64 \pm 1.82). Therefore, we emphasize the epiphytism of gametophytes on the tetrasporophytic generation can be considered as a genetically determined reproductive strategy, which, possibly, is in a process of positive selection by the environment, due to the low nutritional concentrations that are observed in the northeast region of Brazil. Regarding the color inheritance pattern, our results indicated a codominant nuclear inheritance for the brownish-green phenotype. Our results also suggest the light green color has a cytoplasmic inheritance, related to the chloroplast. However, the presence of three phenotypic classes in the progeny of the brownish-green tetrasporophytes (from $\text{♀ } lg \times \text{♂ } lg$) suggests a pattern of epistatic inheritance. In general, we showed that wild-type specimens present better somatic performance when compared to variants. However, the latter have better photosynthetic and reproductive performance, which may contribute to the maintenance of variants in nature.

INTRODUÇÃO GERAL

Gracilaria caudata (Gracilariales, Rhodophyta) é uma das espécies mais importantes para a produção de ágar na costa brasileira (Simioni et al. 2019). No país, populações naturais de *Gracilaria* são exploradas desde a década de 60 para a produção de ágar (Câmara-Neto 1987) e, atualmente, ainda não existem cultivos comerciais no país, sendo a exploração realizada de forma extrativista ou por meio de cultivos artesanais que se baseiam na coleta de mudas provenientes de bancos naturais (Simioni et al. 2019). Tal modelo, juntamente com a ausência de manejo adequado do recurso, tem causado a depleção e até mesmo o desaparecimento de populações naturais na região nordeste do país, como nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Bahia (Miranda et al. 2012). Como já observado para outras algas gracilarioides no continente Latino Americano (Guillermin et al. 2008), é possível que, caso nenhuma medida reparadora seja realizada, tais reduções no tamanho populacional possam desencadear uma redução na variabilidade genética da espécie em questão, comprometendo assim, sua capacidade de adaptação frente a alterações ambientais, patógenos e etc. (Bixler & Porse 2011; Loureiro et al. 2012; Robinson et al. 2013). De modo semelhante, tem sido observado em outras espécies de Rhodophyta, como *G. chilensis*, (Guillemin et al. 2008) e *Kappaphycus alvarezii* (Zuccarello et al. 2006; Halling et al. 2013), que cultivos mantidos a partir de propagação vegetativa podem perder sua viabilidade ao longo do tempo, expressando menores taxas de crescimento e tornando-se mais suscetíveis a infestação de patógenos, endófitas e outras doenças. Nesse contexto, é essencial o conhecimento a cerca da diversidade intraespecífica de *G. caudata* referente a aspectos ecofisiológicos e genéticos que forneçam subsídios à seleção de linhagens mais produtivas para testes de maricultura, bem como para sua preservação e exploração sustentável.

Gracilaria caudata destaca-se por possuir crescimento rápido, ágar economicamente viável e ampla distribuição ao longo da costa brasileira (Plastino & Oliveira 1997; Yoshimura 2006). Possui talo ereto, cilíndrico, tipicamente vermelho vináceo e com ramificações de até quinta ordem, ocorrendo principalmente em baías protegidas de águas turvas da região do médio até a franja do infra litoral (Plastino & Oliveira 1997). A espécie possui um histórico de vida trifásico, o qual consiste de três estádios: tetrasporófito (2n), gametófito (n) e carposporófito (2n). Gametófitos são dioicos e isomórficos aos tetrasporófitos (ambos de vida livre), enquanto que o carposporófito é dependente do gametófito feminino. A proporção entre gametófitos femininos e masculinos produzidos a partir da germinação de tetrásporos em *G. caudata* vem sendo reportada como 1:1 (Oliveira & Plastino, 1997; Marchi & Plastino, 2020), assim como já observado para outras

espécies do gênero (Ogata et al. 1972, van der Meer 1986, Guimarães et al. 1999; Costa & Plastino, 2001).

De acordo com van der Meer & Tood (1977) o desenvolvimento de gametófitos femininos e masculinos em igual número em *Gracilaria* é consequência de um rigoroso controle genético de determinação sexual, o qual é primariamente regido por um par de alelos com segregação mendeliana (mt^m para masculinos e mt^f para femininos) ao invés de cromossomos sexuais, sendo a condição heterozigótica para o alelo mt , e não o estado diploide, determinante para o desenvolvimento de um talo tetrasporofítico. Além disso, os autores propuseram a ocorrência de recombinações mitóticas em que células do talo se tornariam homozigotas para um ou outro mt alelo, expressando características gametofíticas ao invés de tetrasporofíticas, apesar de sua condição diploide (van der Meer & Tood 1977).

Na costa brasileira há uma maior frequência de indivíduos tetrasporofíticos de *G. caudata* em detrimento dos gametofíticos, sendo as maiores proporções encontradas na região nordeste do país, as quais podem chegar até 100% de indivíduos tetrasporofíticos (Plastino 1985; Ayres-Ostrock 2014). Uma maior frequência da fase diploide em relação à haploide em populações naturais tem sido reportada para diversas espécies de *Gracilaria*, como por exemplo, *G. mammillaris*, *G. cervicornis* (Plastino 1985), *G. cornea*, *G. chilensis* (Guillemin et al. 2008), *G. vermiculophylla* (Terada et al. 2010), *G. gracilis* (Martín et al. 2011), *G. birdiae* e *G. caudata* (Ayres-Ostrock et al. 2015), bem como em outros gêneros pertencentes a Rhodophyta (Plastino 1985; Prathep et al. 2009; Polifrone et al. 2012). Variações nas frequências populacionais entre indivíduos haploides e diploides vêm sendo reportadas como uma consequência do principal tipo de sistema reprodutivo encontrado nas populações (sexual ou apomítico), bem como por diferenças quanto à fertilidade e fitness (Kain & Destombe 1995). Quando comparado o desempenho fisiológico (e.g. avaliação de taxas de crescimento, respiração, fotossíntese e composição pigmentar) entre ambas fases em condições laboratoriais, nota-se, geralmente, o melhor desempenho de indivíduos diploides (Destombe et al. 1993; Guillemin et al. 2013; Barufi et al. 2015; Faria et al. 2016). Muitos autores atribuem esses resultados a fatores genéticos que contribuem para uma maior produção de metabólitos na fase diploide (Lewis 1985; Kain and Destombe 1995), os quais, dentre outros aspectos, podem garantir melhor capacidade de proteção contra herbivoria, mecanismos de reparo celular mais eficientes e etc.

No Brasil, frequentemente em populações naturais de *G. caudata* são observadas quimeras reprodutivas, que consistem em um talo tetrasporofítico, fixado ao substrato, sobre o qual se desenvolvem vários gametófitos como epífitos (Oliveira & Plastino 1984; Plastino & Oliveira 1988). Tal variação reprodutiva pode também ser observada na espécie em condições laboratoriais. Tetrasporófitos epifitados por gametófitos já foram observados em outras espécies de *Gracilaria*,

tais como: *G. tikvahiae* (como *Gracilaria* sp., Bird et al. 1977); *G. cornea* (como *G. debilis*, Oliveira & Plastino 1984); *G. gracilis* (como *G. verrucosa*, Destombe et al. 1989); *G. domingensis* (Guimarães et al. 1999); e *G. birdiae* (Costa & Plastino 2001). Estudos anatômicos em *G. caudata* sugerem a possibilidade de transporte de substâncias do tetrasporófito parental para os gametófitos epífitos (Yeh 2017), processo esse que contribuiria para o mascaramento de alelos deletérios, para a manutenção da fase haploide e da reprodução sexuada em populações naturais que ocorressem em condições abióticas estressantes. De fato, estudos laboratoriais evidenciaram que gametófitos epífitos de *G. caudata* atingem a maturidade reprodutiva precocemente, quando comparados aos gametófitos de vida livre (Yeh 2017), assim como já observado em outras espécies de *Gracilaria* (Plastino 1985; Destombe et al. 1989). Conseqüentemente, pode-se observar encurtamento do tempo necessário para que o histórico da vida de *G. caudata* seja completado (5 meses para gametófitos de vida livre e 2 meses para gametófitos epífitos). Dessa forma, seria possível que o epifitismo promovesse uma aceleração no processo adaptativo da espécie, já que um maior número de gerações pode ser produzido em um menor período de tempo. Ao longo do processo evolutivo da espécie alelos recessivos deletérios teriam maiores chances de serem expressos em homozigose devido à proximidade entre gametófitos epífitos aparentados, o que levaria a uma redução da população por endogamia. Posteriormente, seria observado uma recuperação do tamanho populacional por meio da fixação de alelos benéficos em homozigose. Entretanto, estudos recentes em *G. caudata* ao longo da costa brasileira evidenciaram um padrão totalmente diferente dessa predição, no qual os heterozigotos representam maioria, independentemente da população testada (Ayres-Ostrock et al. 2019).

Quimeras reprodutivas em *G. caudata* têm sido reportadas em diferentes regiões do país, sendo observado um maior número de tetrasporófitos com gametófitos epífitos em populações do nordeste quando comparadas às situadas na região sudeste. Até o presente não há informações com relação ao cunho genético do epifitismo e o porquê de sua predominância na região nordeste do país. Todavia, é possível que tal mecanismo represente uma estratégia reprodutiva determinada geneticamente e selecionada pelo ambiente. Essa característica traria uma vantagem para a fase gametofítica que passaria a se desenvolver por entre os ramos tetrasporofíticos, o que proporcionaria uma menor exposição às condições estressantes, tais como altas irradiâncias, temperatura e disponibilidade de nutrientes. Não há compartilhamento de haplótipos, de acordo com o marcador molecular *cox 2-3*, entre populações de *G. caudata* da região nordeste e sudeste (Ayres-Ostrock et al. 2019), que apresentam características abióticas distintas entre si (ex. maiores níveis de irradiância e temperatura, bem como menor disponibilidade de nutrientes na água do mar da região nordeste), como uma consequência de diferenças latitudinais e da ação de diferentes correntes marinhas. Dessa forma, apesar de serem observados gametófitos epífitos em populações

do estado de São Paulo, seria possível que esses não estivessem em um processo intenso de seleção pelo ambiente, já que as condições abióticas encontradas na região são mais brandas, como por exemplo, menor irradiância e maior disponibilidade de nutrientes (Brandini 1990; Oliveira et al. 1997), possibilitando assim, o desenvolvimento de gametófitos de vida livre. Ressaltamos, portanto, a necessidade de estudos comparativos que avaliem o desempenho somático entre gametófitos epífitos e não epífitos de uma mesma população, a fim de fornecer subsídios para a compreensão de como ocorre a predominância do epifitismo na costa nordeste do país. Ademais, o estudo de características reprodutivas, tais como fertilidade e viabilidade e longevidade de gametas é de extrema importância quando se pretende aprofundar o conhecimento acerca das implicações de uma variante reprodutiva em sistemas reprodutivos naturais. Sabe-se que em Rhodophyta os flagelos são ausentes mesmo nos gametas masculinos, sendo o sucesso da fertilização em populações naturais dependente em parte das correntes e, principalmente, do tempo de viabilidade de tais gametas (Destombe et al. 1990), o que pode representar um grande impacto na evolução dos tipos de cruzamentos, bem como no fluxo gênico entre populações (Krueger-Hadfield et al. 2015). Entretanto, apesar da importância desempenhada pelos gametas masculinos na dinâmica populacional, sobretudo em espécies que apresentam variantes reprodutivas, poucos estudos foram realizados a esse respeito (ver Destombe et al. 1990; Plastino 1995; Krueger-Hadfield et al. 2015).

Em uma população natural de *G. caudata* situada no nordeste brasileiro foram encontrados tetrasporófitos de coloração verde (variante) com gametófitos epífitos também de coloração verde. Variantes de cor espontâneas vêm sendo referidas para a costa brasileira. Tais variantes possuem diversas aplicações em estudos genéticos, como marcadores visuais em cruzamentos teste, uma vez que os padrões de herdabilidade de fenótipos alterados podem possibilitar o rastreamento da transmissão de genes nucleares e/ou organelares. Além disso, o estudo de variantes pigmentares pode ainda contribuir para a seleção de linhagens mais adequadas à maricultura, ou para a produção pigmentos de importância econômica e biotecnológica.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo ampliar o conhecimento acerca da diversidade intraespecífica de *Gracilaria caudata*, fornecendo subsídios para a compreensão da predominância do epifitismo em populações da costa nordeste do país e a manutenção de variantes pigmentares naturais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foram realizadas investigações sobre a diversidade intraespecífica de *Gracilaria caudata*. A partir dos dados obtidos no capítulo 1, avaliou-se pela primeira vez a herdabilidade do epifitismo de gametófitos sobre a geração tetrasporofítica. A partir dos resultados obtidos, corroboramos a hipótese de que o epifitismo de gametófitos na geração tetrasporofítica constitui-se em estratégia reprodutiva determinada geneticamente. No entanto, com relação ao melhor desempenho fisiológico de gametófitos epífitos em relação aos de vida livre, sugerimos que a condição nutricional da água do mar foi um importante fator no direcionamento da seleção dos fenótipos locais, sejam eles o tipo de hábito (livre e epífito) ou a coloração do talo (vermelha e verde-amarronzada). De modo geral, verificamos que em VS 25% o tipo de hábito exerce maior influência sobre o desempenho somático, quando comparado à coloração do talo, já que gametófitos epífitos apresentaram o melhor desempenho, independentemente da coloração do talo. Em VS 6,25% foi observado que a coloração do talo exerce maior influência, já que espécimes verde-amarronzados apresentaram o melhor desempenho somático, independentemente do tipo de hábito. Neste capítulo trouxemos também contribuições para o conhecimento a cerca da predominância de indivíduos diploides em populações naturais, especialmente na região nordeste do país, já que, de modo geral, observamos que tetrasporófitos possuem melhor desempenho somático quando cultivados em condições nutricionais mais baixas. Cabe ressaltar, que as condições laboratoriais diferem do ambiente natural, no qual diversos fatores bióticos e abióticos agem sinergicamente. Tendo em vista o atual cenário de alterações climáticas e a crescente demanda de ágar, enfatizamos a necessidade de novos estudos que visem à comparação fisiológica entre espécimes tetrasporofíticos e gametofíticos, dos diferentes genótipos obtidos em laboratório, em condições abióticas distintas das utilizadas no presente trabalho. Desse modo, seria possível vislumbrar possíveis efeitos negativos das alterações climáticas nas populações. Além disso, ressaltamos a necessidade de estudos bioquímicos desses genótipos a fim de obter informações quando ao rendimento de ágar, potencial antioxidante, anti-fúngico, entre outros. Para essas análises seria interessante avaliar não somente cada genótipo isoladamente, mas também os tetrasporófitos dos diferentes genótipos com os gametófitos epífitos ainda aderidos a seus talos, já que caso sejam cultivados na natureza para uma produção em larga escala, seria inevitável a germinação de gametófitos *in situ*.

No capítulo 2, a partir de cruzamentos teste refutamos nossa hipótese inicial de que a coloração verde-amarronzada, encontrada em espécimes de *G. caudata* da população natural, possui um padrão de herança do tipo nuclear recessiva em relação ao tipo selvagem (vermelho). Foi constatada uma herança codominante. Entretanto, considerando espécimes homozigotos, os quais

apresentam fenótipo vermelho e verde-amarronzado, corroboramos a nossa hipótese inicial que pressupunha um melhor desempenho fisiológico do tipo selvagem, o que contribuiria para a predominância de indivíduos de coloração vermelha na população natural. Nesse capítulo também observamos que espécimes marrons apresentam desempenho fotossintetizante superior ao dos tetrasporófitos de coloração parental, indicando assim, uma seleção balanceadora frente a esse parâmetro. Além disso, verificamos que os tetrasporófitos com variação pigmentar eram mais férteis, quando comparados ao tipo selvagem. Esses aspectos possivelmente contribuem para a manutenção do polimorfismo pigmentar na população natural.

Ainda em relação ao capítulo 2, espécimes de genótipo *bgbg* e *bgrd* de *G. caudata* apresentaram maiores concentrações de ficocianina em relação aos tetrasporófitos dos demais genótipos (*rdrd* e *rdgb*). Tal pigmento possui ampla utilização biotecnológica, sendo interessante a realização de estudos futuros a partir de extratos de espécimes de genótipo *bgbg* e *bgrd*. Considerando-se que tetrasporófitos *rdrd* e *rdgb* apresentaram taxas de crescimento semelhantes entre si, seria interessante a avaliação comparativa do desempenho fisiológico desses indivíduos na natureza, bem como a avaliação do rendimento de ágar proveniente dos mesmos.

No capítulo 3, testamos a hipótese de que a coloração verde-clara de *G. caudata* tem um padrão de herança citoplasmático. Além disso, nós testamos se essa variante pigmentar apresentaria menor desempenho fisiológico, quando comparada ao tipo selvagem. Os resultados obtidos sugerem que a cor verde-clara tem uma herança citoplasmática, relacionada ao cloroplasto. No entanto, a presença de três classes fenotípicas na progênie de tetrasporófitos verde-amarronzados sugeriu um padrão de herança epistático. Nesse sentido, faz-se necessário a realização de cruzamentos teste adicionais a fim de promover um melhor mapeamento do padrão de herança dessa coloração já que nossos resultados indicam a interação entre genes nucleares e citoplasmáticos. Com relação ao desempenho somático comparativo entre espécimes vermelhos e verde-claro obtivemos resultados que indicam um melhor desempenho fisiológico de espécimes selvagens, corroborando assim nossa hipótese inicial.

Cabe ressaltar, que a variante verde-clara de *G. caudata* apresentou o melhor desempenho fotossintetizante com relação aos parâmetros F_v/F_m e I_k , o que implica que tal variante lida melhor com irradiâncias mais altas, quando comparada ao tipo selvagem. Desse modo, seria possível que, caso a mutação ocorresse em população natural, ela fosse vantajosa para a espécie, considerando-se o atual cenário de mudanças globais. Além disso, verificamos que espécimes verde-claro apresentam maiores concentrações de ficocianina e aloficocianina, quando comparadas ao tipo selvagem, o que representa um potencial biotecnológico desse recurso natural.

REFERÊNCIAS

- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Oliveira EC (1997) Mass cultivation of the agar-producing alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) from spores. *Aquaculture* 148: 77-83.
- Ayres-Ostrock LM (2014) Estudos populacionais em *Gracilaria birdiae* e *G. caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): aspectos fenológicos, fisiológicos e moleculares. Doctoral thesis, University of São Paulo.
- Ayres-Ostrock LM, Mauger S, Plastino EM, Oliveira MC, Valero M, Destombe C (2016) Development and characterization of microsatellite markers in two agarophyte species, *Gracilaria birdiae* and *Gracilaria caudata* (Gracilariaceae, Rhodophyta), using next generation sequencing. *J Appl Phycol* 28:653–662
- Ayres-Ostrock LM, Valero M, Mauger S, Oliveira MC, Plastino EM, Guillemain ML, Destombe C (2019) Dual influence of terrestrial and marine historical processes on the phylogeography of the Brazilian intertidal red alga *Gracilaria caudata*. *J Phycol* 55: 1096–1114
- Barufi JB, Figueroa FL, Plastino EM (2015) Effects of light quality on reproduction, growth and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta: Gracilariales). *Scientia Marina* 79 (1)
- Barahona T, A sulfated galactan with antioxidant capacity from the green variant of tetrasporic *Gigartina skottsbergii* (Gigartinales, Rhodophyta).
- Bachtrog D, Kirkpatrick M, Mank JE, McDaniel DF, Pires JC, Rice WR, Valenzuela N (2011) Are all sex chromosomes created equal? *Trends Genet* 27:350–357
- Bird NL, McLachlan J, Grund D (1977) Studies on *Gracilaria*. 5 In vitro life history of *Gracilaria* sp. from the maritime provinces. *Can J Bot* 55:1282–1290 Bird CJ, van der Meer JP, McLachlan J (1982) A comment on *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. (Rhodophyta: Gigartinales). *J Mar Biol* 62:453–459
- Câmara-Neto (1987) Seaweed culture in Rio Grande do Norte, Brazil. *Hydrobiologia* 151/152:363–367
- Chiaramonte RA, Parra AP, Ayres-Ostrock LM, Plastino EM (2019) *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) is reproductively compatible along the whole Brazilian coast. *J Appl Phycol* 31: 931–937
- Coelho SM, Gueno J, Lipinska AP, Cock JM, Umem JG (2018) UV chromosomes and haploid sexual systems. *Trends Plant Sci* 23: 974–807
- Costa VL, Plastino EM (2001) Histórico de vida de espécimens selvagens e variantes cromáticas de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Rev Bras Bot* 24:491–500

- Costa VL, Plastino EM (2011) Color inheritance and pigment characterization of red (wild-type), greenish-brown, and green strains of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *J Appl Phycol* 23: 599–605
- Costa ES, Plastino EM, Petti R, Oliveira EC, Oliveira MC (2012) The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil—a DNA barcoding approach. *J Appl Phycol* 24:1643–1653
- Destombe C, Valero M, Vernet P, Couvet D (1989) What controls haploid-diploid ratio in the red alga *Gracilaria verrucosa*? *J. evol Biol* 2: 317-338
- Destombe C, Godin J, Remy JM (1990) Viability and dissemination of spermatia of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta).
- Egelhoff T, Grossman A (1983) Cytoplasmic and chloroplast synthesis of phycobilisome polypeptides. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 80: 3339-3343
- Faria AVF, Plastino EM (2016) Physiological assessment of the maricultura potential of a *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) variant. *J Appl Phycol* 28:2445–2452
- Faria AVF, Barufi JB, Plastino EM (2017) Ecotypes of *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): physiological and morphological approaches considering life history phases. *J Appl Phycol* 29: 707–719
- Ferreira LB, Barufi JB, Plastino EM (2006) Growth of red and green strains of the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales/Rhodophyta) in laboratory. *Rev Bras Bot* 29:187–192
- Figuerola FL, Bueno A, Korbee N, Santos R, Mata L, Schuenhoff A (2008) Accumulation of mycosporine-like amino acids in *Asparagopsis armata* grown in tanks with fishpond effluents of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *J World Aquacult Soc* 39:692– 699
- Futuyma DJ (1988) *Evolutionary biology*. 3^a 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
- 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 MJ, Fernández JA, Niell FX (1993) Biochemical and physiological responses of *Gracilaria tenuistipitata* under two different nitrogen treatments. *Physiol Plant* 88:631–637
- González J, Meneses I, Vasquez J (1997) Field studies in *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing: seasonal and spatial variations in life-cycle phases. *Biologia Pesquera* 26:3–12
- Guillemin ML, Faugeton S, Destombe C, Viard F, Correa JA, 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* 62: 1500–1519

- Guillemin ML, Selpúlveda RD, Correa JA, Destombe C (2013) Differential ecological responses to environmental stress in the life history phases of the isomorphic red alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta). *J Appl Phycol* 25: 215-224
- Guimarães M (2000) Aspectos fisiológicos de *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta): subsídio para a compreensão da manutenção do polimorfismo pigmentar. Doctoral thesis, University of São Paulo.
- Guimarães M, Plastino EM, Oliveira EC (1999) Life History, Reproduction and Growth of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. *Bot Mar* 42:481–486.
- Halling C, Wikström SA, Lilliesköld-Sjö G, Mörk E, Lundsør E, Zuccarello GC (2013) Introduction of Asian strains and low genetic variation in farmed seaweeds: indications for new management practices. *J Appl Phycol* 25:89–95
- Hayashi L, Bulboa C, Kradolfer P, Soriano G, Robledo D (2014) Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *J Appl Phycol* 26:719–727
- Jiang L, Wang Y, Yin Q, Liu G, Liu H, Huang Y, Li B (2017) Phycocyanin: A Potential Drug for Cancer Treatment. *Journal of Cancer* 8(17): 3416-3429
- Kain JM, Destombe C (1995) A review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. *J Appl Phycol* 7:269–281
- Krueger-Hadfield SA, Roze D, Correa JA, Valero M (2015) O father where art thou? Paternity analyses in a natural population of the haploid–diploid seaweed *Chondrus crispus*. *Heredity* 214: 185-194
- Kursar TA, van der Meer JP, Alberte RS (1983). 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). *Bot Mar* 33:339–345
- Lewis WM.Jr. (1985) Nutrient scarcity as an evolutionary cause of haploidy. *The American Naturalist* vol 125 n° 5.
- Mansilla A, Rodriguez JP, Souza JMC, Rosenfeld S, Ojeda J, Yokoya NS (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. *J Appl Phycol* 26:1133–1139
- Marchi F, Plastino EM (2020) Codominant inheritance of polymorphic color mutant and characterization of a bisexual mutant of *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). *J Appl Phycol* 32:4385–4398

- Miranda GEC, Yokoya NS, Fujii MT (2012) Effects of temperature, salinity and irradiance on carposporeling development of *Hidropuntia caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Braz J Pharmacog* 22:818–824
- Navarro P (2015) Presencia de variante verde de *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta) en la Región de Magallanes, Chile. *Rev Biol Mar Oceanogr* 50:193–198
- 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.
- Niwa K, Abe T (2012) Chimeras with mosaic pattern in archeospore germlings of *Pyropia yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 48: 706–709.
- Ogata E, Matsui T, Nakamura H (1972) The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) in vitro. *Phycologia* 11: 75–80
- Oliveira EC, Miranda GEC (1998) Aspectos sociais e econômicos da exploração de algas marinhas do Brasil. In: Paula EJ, Cordeiro-Marino M, Santos DP, Plastino EM, Fujii MT, Yokoya NS (eds) *Anais IV Congresso Latino Americano, II Reunião Libero- Americana e VII Reunião Brasileira de Ficologia*. Sociedade Ficológica da América Latina e Caribe, Sociedade Brasileira de Ficologia, São Paulo, pp. 149–156
- Oliveira EC, Plastino EM (1984) The life-history of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Brazil. *Jap J Phycol* 32:203–208
- Plastino EM (1985) As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP- Aspectos biológicos e fenologia. Master dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Plastino EM (1991) Cultivo in vitro, Estudos Reprodutivos e Biosistemática de Algas Gracilarióides (Rhodophyta, Gracilariales) de talo cilíndrico. Doctoral thesis, University of São Paulo.
- Plastino EM, Oliveira EC (1988) Deviations in the life-history of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinales), from Coquimbo, Chile, under different culture conditions. *Hydrobiologia* 164:67–74
- Plastino EM, Oliveira EC (1990) Crossing experiments as an aid to the taxonomic recognition of the agarophytes *Gracilaria*. In: Kautsky N, Oliveira EC (eds) *Cultivation of seaweeds in Latin America*, São Paulo, pp 127–133
- Plastino EM, Oliveira EC (1997) *Gracilaria caudata* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta) - restoring an old name for a common western Atlantic alga. *Phycologia* 36:225–232
- Plastino EM, Guimarães M, Matioli SR, Oliveira EC (1999) Codominant inheritance of polymorphic color variants of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Genet Mol Biol* 22:105–108

- Plastino EM, Ursi S, Fujii MT (2004) Color inheritance, pigment characterization, and growth of a rare light green strain of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycol Res* 52:45–52
- Robinson N, Winberg P, Kirkendale L (2013) Genetic improvement of macroalgae: status to date and needs for the future. *J Appl Phycol* 25:703–716
- Santelices B, Correa JA, Meneses I, Aedo D, Varela D (1996) Sporeling coalescence and intraclonal variation in *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 32: 313-322
- Santelices B, González V, Beltrán J, Flores V (2017). Coalescing red algae exhibit noninvasive, reversible chimerism. *Journal of Phycology* 53: 59–69.
- Schreiber U (2004) Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. Papageorgiou GC, Govindjee (eds) *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*. Springer, Dordrecht, pp 279–319
- Simioni C, Hayashi L, Oliveira MC (2019) Seaweed resources of Brazil: what has changed in 20 years? *Bot Mar* 62:433–441
- Sinha RP, Lebert M, Kumar A, Kumar HD, Häder DP (1995) Spectroscopic and biochemical analyses of UV effects on phycobilisomes of *Anabaena* sp. and *Nostoc carmum*. *Bot Acta* 108:87–92
- Steinmoller K, Kaling M, Zetsche K (1983) In vitro synthesis of phycobiliproteids and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by non-polyadenylated RNA of *Cyanidium caldarium* and *Porphyridium aerugineum*. *Planta* 159: 308-313
- Ursi S, Plastino EM (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. *Rev Bras Bot* 24:587–594
- Ursi S, Perdesén M, Plastino E, Snoeijns P (2003) Intraspecific variation of photosynthesis, respiration and photoprotective carotenoids in *Gracilaria birdiae* (Gracilariales: Rhodophyta). *Mar Biol* 142: 997–1007
- Ursi S, Costa VL, Hayashi L, Pereira RTL, Paula EJ, Plastino EM (2013) Intraspecific variation in *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, and agar yield and quality of color strains under aquaculture. *Bot Mar* 56:241–248
- van der Meer JP (1977) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). II. The life history and genetic implications of cytokinetic failure during tetraspore formation. *Phycologia* 16:367–371
- van der Meer (1978) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales) III. Non-Mendelian gene transmission. *Phycologia* 17:314–318

- van der Meer JP (1979a) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). III. Non Mendelian gene transmission. *Phycologia* 17:314–318
- van der Meer JP (1979b) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). V. Isolation and characterization of mutant strains. *Phycologia* 18:47–54
- van der Meer JP (1981) The inheritance of spontaneous pigment mutations in *Chondrus crispus* Stackh (Rhodophyceae). *PROC. N.S. INST. SCI.* 31: 187-192
- van der Meer JP (1986) Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) XI Further characterization of a bisexual mutant. *J Phycol* 22:151–158
- van der Meer JP (1987) Marine algal genetics and genomes. *Hydrobiologia* 151/152:49–56
- van der Meer JP (1990) Genetics. In: Cole KM, Sheath RG (eds) *Biology of the red algae*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 103–122
- van der Meer JP, Bird NL (1977) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). I. Mendelian inheritance of two spontaneous green variants. *Phycologia* 16:159–161
- van der Meer JP, Tood ER (1977) Genetics of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae, Gigartinales). IV. Mitotic recombination and its relationship to mixed phases in the life history. *Can J Bot* 55: 2810–2817
- van der Meer JP, Patwary MU, Bird CJ (1984) Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) X Studies on a bisexual clone. *J Phycol* 20:42–46
- Veeragurunathan V, Prasad K, Singh N, Malarvizhi J, Mandal SK, Mantri VA (2016) Growth and biochemical characterization of green and red strains of the tropical agarophytes *Gracilaria debilis* and *Gracilaria edulis* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *J Appl Phycol* 28:3479–3489
- Yeh M (2017) Physiological and anatomical assessments of tetrasporophytes with epiphyte gametophytes of wild and green variant strains of *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta). Master dissertation, University of São Paulo.
- Yokoya NS, Oliveira EC (1992a) Effects of salinity on the growth rate, morphology and water content of some Brazilian red algae of economic importance. *Sci Mar* 18:49–64
- Yokoya NS, Oliveira EC (1992b) Temperature response of economically important red algae and their potential for mariculture in Brazilian waters. *J Appl Phycol* 4:339–345
- Yong YS, Yong WTL, Anton A (2013) Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. *J Appl Phycol* 25:1831–1834
- Zhang X, van der Meer JP (1988) A genetic study on *Gracilaria sjoestedtii*. *Can J Bot* 66:2022–2026.
- Zar JH (1996) *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River
- Zhang X, van der Meer JP (1988) A genetic study on *Gracilaria sjoestedtii*. *Can J Bot* 66:2022–2026

Zuccarello GC, Critchley AT, Smith J, Sieber V, Bleicher L'honneur GB, West JA (2006) Systematics and genetic variation in commercial *Kappaphycus* and *Eucheuma* (Solieriaceae, Rhodophyta). J Appl Phycol 18: 643–651