

DESENVOLVIMENTO IN VITRO DE *HYPNEA PSEUDOMUSCIFORMIS*, (GIGARTINALES, RHODOPHYTA) SOB CONDIÇÕES CONTROLADAS DE CULTURA

Daniela Dias Silva dos Reis¹; Carlos Wallace do Nascimento Moura²

1. Bolsista PROBIC/UEFS, Graduada em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:
dsr.reis@hotmail.com

2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:
wallace@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Cultivo in vitro, Fisiologia, Algas.

INTRODUÇÃO

Hypnea pseudomusciformis Nauer, Cassano & M.C. Oliveira é uma alga vermelha de grande interesse econômico que apresenta ampla distribuição no litoral brasileiro. Esta rodofícea, assim como demais representantes do gênero, apresentam talos ricos em polissacarídeos sulfatados, conhecidos como k-carragenana, de utilidade nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (Nauer et. al. 2014).

Alguns estudos relacionados ao cultivo *in vitro* desta espécie foram realizados no Brasil, a fim de se analisar a interferência de fatores abióticos em seu crescimento. Bravin & Yoneshigue-Valentin (2002), ao cultivarem a espécie em meio aerado e enriquecido com Provasoli's Enriched Seawater (PES), a uma temperatura de 25 °C, verificaram que estes apresentaram um ótimo rendimento (biomassa de 17 g e taxa específica de crescimento de 20,79 %. dia^{-1}). Por sua vez, Martins & Yokoya (2010) realizando um estudo para avaliar o efeito da disponibilidade do nitrogênio nos tipos morfológicos de diferentes cores de *H. pseudomusciformis*, constataram que estas cresceram melhor em meio Von Stoch (VS) que em meio artificial ASP 12-NTA.

Diante da ausência de estudos fisiológicos de rodofíceas marinhas no Estado, o presente trabalho visou o cultivo *in vitro* de *H. pseudomusciformis* a partir do desenvolvimento de fragmentos apicais submetidos a diferentes meios, temperatura e aeração.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, exemplares de linhagem marrom de *H. pseudomusciformis* foram coletados em ambiente recifal na Praia da Penha, município de Vera Cruz no litoral baiano.

Fragmentos apicais de 15 mm foram removidos desses talos e submetidos a cultivo in vitro, a fim de se analisar a influência de fatores abióticos em seu crescimento, tais como temperatura (25 e 28° C), presença ou ausência de aeração, e meio enriquecido (Provasoli e Von Stoch).

O experimento foi feito em duas etapas, cada qual com 40 dias de duração, com troca periódica do meio de cultivo e medições de biomassa realizadas a cada 10 dias. Três fragmentos apicais com gavinhas foram inseridos em frascos “baby food” contendo 100 ml de meios de cultivo (salinidade 34 UPS e pH 8,2).

Para cada tratamento (água do mar, Provasoli e Von Stoch), cinco frascos correspondentes foram submetidos à aeração a partir de mangueiras acopladas a uma bomba de aquário, e cinco frascos não foram submetidos à aeração. Os experimentos foram submetidos a um fotoperíodo de 12 : 12 h (luz : escuro) e irradiância de $30 \pm 5 \mu\text{mol f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Na primeira etapa, realizada durante os meses de janeiro e fevereiro, os frascos foram cultivados a temperatura de 25 °C. A segunda etapa foi realizada utilizando-se a temperatura de 28 °C e ocorreu durante os meses de abril e maio.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, com auxílio do software estatístico R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise de variância pode-se constatar que a 25 °C, os fatores que influenciaram significativamente o crescimento dos fragmentos de *H. pseudomusciformis* foram os meios de cultivo ($\chi^2= 68,20$, gl=1, $p<0,001$) e os meios de cultivo combinados com o fator aeração ($\chi^2= 7,60$, gl=2, $p=0,02$; Fig. 1). Enquanto a 28 °C, apenas os meios de cultivo tiveram influência significativa sobre o crescimento ($\chi^2= 75,4$, gl=1, $p<0,001$). Sob esta temperatura, os talos adquiriram discreta biomassa (Fig. 2) na presença de aeração (CA), embora não significativa ($\chi^2= 0,9$, gl=2, $p>0,05$). Observou-se que, tanto nos meios aerados quanto nos não aerados, os maiores valores de biomassa foram encontrados no meio VS, que, em geral, a partir do 20º dia, superaram os valores de biomassa dos fragmentos cultivados em meio PES (Tab. 1).

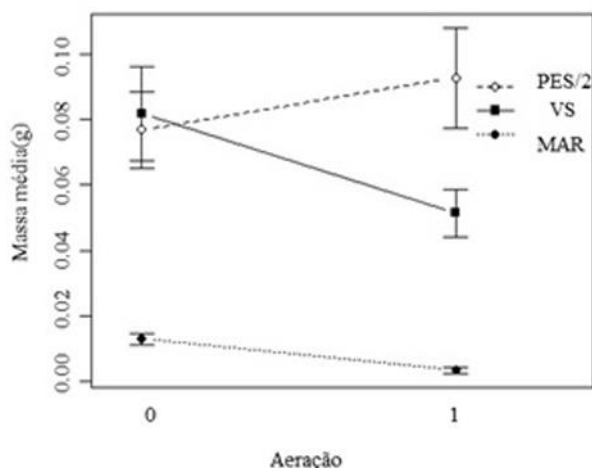


Figura 1. Crescimento médio (g) dos talos de *H. pseudomusciformis* cultivados em meio Provasoli (PES/2), Von Stosch (VS) e água do mar (MAR) a 25°C, na ausência (0) e presença (1) de aeração.

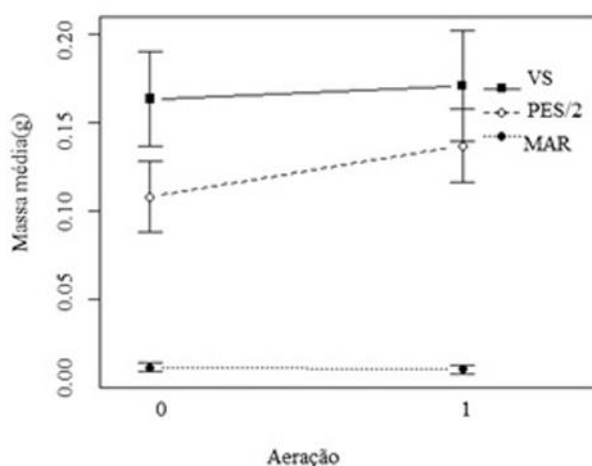


Figura 2. Crescimento médio (g) dos talos de *H. pseudomusciformis* cultivados em meio Provasoli (PES/2), Von Stosch (VS) e água do mar (MAR) a 28°C, na ausência (0) e presença (1) de aeração.

Tabela 1. Média das taxas de crescimento (%.dia⁻¹, n=5) dos talos de *Hypnea pseudomusciformis* cultivados a 25°C e 28°C, com aeração (CA) e sem aeração (SA), em meio Provasoli (PES/2), Von Stosch (VS) e água do mar (MAR).

Dias	Taxas de Crescimento											
	25 °C						28 °C					
	CA			SA			CA			SA		
	PES/2	VS	MAR	PES/2	VS	MAR	PES/2	VS	MAR	PES/2	VS	MAR
10	12,71	15,04	1,20	12,99	12,53	3,79	13,98	13,88	5,20	11,34	11,56	5,42
20	3,70	-2,14	-	5,38	7,08	2,55	8,57	9,03	-0,56	8,75	12,83	2,27
30	4,16	-0,47	-	4,04	3,57	1,31	3,06	4,67	-	1,15	4,16	-
40	1,48	7,77	-	4,22	5,08	-	2,91	2,97	-	2,31	4,21	-

O meio enriquecido é um fator de relevância para cultivos em laboratório. Outros estudos como aquele realizado por Bravin & Yoneshigue-Valentin (2002), mostrou que o enriquecimento foi o fator mais importante dentre outras condições citadas. Martin & Yokoya (2010), verificaram que espécimes verde-claros, verde-escuros e marrons de *H. musciformis* (= *H. pseudomusciformis*) obtiveram maior biomassa quando cultivados em meio VS que em meio ASP 12-NTA. Yokoya et al. (2006) notaram que os exemplares da mesma espécie submetidos a diferentes valores de irradiância cresceram mais na faixa de temperatura entre 20-25 °C para os fotoperíodos de 10:14 h e 14: 10 h (claro: escuro) que na temperatura de 30°C.

Devido à ampla distribuição de *H. pseudomusciformis* no litoral brasileiro é de se esperar que esta espécie seja adaptada a diferentes valores de temperaturas. Bravin & Yoneshigue-Valentin (2002) concluíram que a temperatura foi o segundo fator de relevância para o crescimento de *H. musciformis* (= *H. pseudomusciformis*).

No presente experimento, as algas submetidas à temperatura de 28 °C obtiveram maior ganho de biomassa. É importante ressaltar que esta temperatura está mais próxima daquela mensurada em local de coleta (cerca de 27,5 °C).

Nas duas etapas experimentais, observou-se que os talos cultivados em meios não-enriquecidos não foram capazes de sobreviver durante os 40 dias de observações. Em cultivos aerados, talos morreram com 20 dias de experimento e em cultivos não aerados, a morte ocorreu a partir do 30º dia. Para os demais meios, notou-se um progressivo clareamento dos fragmentos a partir do 20º dia de experimento, com tendência a permanecer um pouco mais escuros em meios VS que em meios PES.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostram que os meios de enriquecimento tiveram grande importância no crescimento desta espécie *in vitro*. Talos que cresceram em meio não enriquecido, ou seja, cultivadas apenas em água do mar, não sobreviveram até o 40º dia de cada etapa do experimento. Além disso, as algas apresentaram maiores ganhos de biomassa para a temperatura de 28 °C.

REFERÊNCIAS

BRAVIN I.C., YONESHIGUE-VALENTIN Y. 2002. Influência de fatores ambientais sobre o crescimento *in vitro* de *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Rhodophyta). Revista Brasileira de Botânica. 25(4):469-474.

BRAVIN I.C., YONESHIGUE-VALENTIN, Y., YOKOYA N.S. 2006. Formação de calos e regeneração de seguimentos apicais de *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Gigartinales, Rodophyta): obtenção de culturas axênicas e efeito da concentração do ágar. *Revista Brasil. Bot.* 29:175-182.

MARTIN A.P., YOKOYA N.S. 2010. Intraespecific variations in colour morphs of *Hypnea musciformis* (Rodophyta) in relation to nitrogen availability. *Hoehnea.* 37(3):601-615.

NAUER F., CASSANO V, OLIVEIRA M.C. 2014. Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rodophyta). *Journal of Applied Phycology.* DOI 10.1007/s10811-014-0488-y.

R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.