



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**ENSAIO PRELIMINAR SOBRE O CULTIVO E EXTRAÇÃO DE
POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DA ALGA MARINHA VERMELHA
*Gracilaria sjoestedtii.***

GLACIO SOUZA ARAUJO

**Monografia apresentada ao Departamento de
Engenharia de Pesca do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal do Ceará,
como parte das exigências para a obtenção
do título de Engenheiro de Pesca.**

**FORTALEZA – CEARÁ – BRASIL
DEZEMBRO/2003**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A689e Araujo, Glacio Souza.

Ensaio preliminar sobre o cultivo e extração de polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii*. / Glacio Souza Araujo. – 2003.
26 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2003.

Orientação: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.

1. *Gracilaria sjoestedtii*. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA:

PROF. WLADIMIR RONALD LOBO FARIAS, D.Sc.
ORIENTADOR / PRESIDENTE

PROF. ALEXANDRE HOLANDA SAMPAIO, P.h.D.
MEMBRO

PROF^a. ANA LÚCIA PONTE FREITAS, D.Sc.
MEMBRO

VISTO:

PROF. MOISÉS ALMEIDA DE OLIVEIRA, D.Sc.
CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

PROF^a. ARTAMÍZIA MARIA NOGUEIRA MONTEZUMA, M.Sc.
COORDENADORA DO CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

AGRADECIMENTOS:

Sobretudo a DEUS, pela força e direção em toda minha vida.

A Universidade Federal do Ceará, pelo aprendizado e pelo corpo físico.

Ao Laboratório de cultivo de micro e macroalgas e ao laboratório de Bioquímica Marinha e Moléculas Biologicamente ativas do Departamento de Engenharia de Pesca/ UFC, pela realização do trabalho, e a todos que compõem o Grupo de Estudos de Algas Marinhas, GEAMAR; pelo grande apoio na realização desse trabalho.

A todos que compõem a CORAQ, empresa júnior do Departamento de Engenharia de Pesca/ UFC e membros da Estação de Piscicultura Professor Raimundo Saraiva da Costa, pelo engrandecimento profissional.

A todos os funcionários e professores do Departamento de Engenharia de Pesca/ UFC, em especial ao meu orientador, Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias, pelo incentivo desde o início de nossas pesquisas e continuidade de nossos trabalhos.

A Pró-Reitoria de Extensão, em especial a professora Walda e ao professor Sebastião, pelo acompanhamento de projetos afins.

Em fim, agradeço a todos os alunos da Engenharia de Pesca especialmente aqueles que compõem o semestre 1999.2, pois sem eles não chegaria aonde cheguei.

OBRIGADO.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
1 – INTRODUÇÃO	1
2 - MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1 – Coleta das macroalgas	4
2.2 - Preparação do meio de cultivo	4
2.3 - Cultivo de <i>Gracilaria sjoestedtii</i>	5
2.4 - Acompanhamento do experimento	7
2.4.1 - Efeito da temperatura	8
2.4.2 - Efeito da iluminância	8
2.4.3 - Efeito da aeração	8
2.4.4 - Efeito da salinidade	8
2.5 - Extração de polissacarídeos	9
2.5.1 – Método I	9
2.5.2– Método II	9
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
3.1 - Efeito da temperatura	10
3.2 - Efeito da iluminância	12
3.3 - Efeito da aeração	13
3.4 - Efeito da salinidade	14
3.5 - Taxas de crescimento de macroalgas cultivadas em laboratório	15
3.6 - Extração de polissacarídeos	16
3.6.1 – Método I	16
3.6.2 – Método II	16
4 – CONCLUSÕES	17
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

RESUMO

A alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* possui um importante ficocolóide chamado ágar e devido a isso, é explorada comercialmente, sendo obtida diretamente da natureza ou cultivada no próprio ambiente. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das condições de cultivo, em laboratório (temperatura, luz, salinidade e aeração), no crescimento desta espécie e a comparação do rendimento entre dois métodos de extração de polissacarídeos sulfatados. A água utilizada no preparo do meio de cultivo, foi obtida diretamente da torneira, sendo enriquecida com reagentes químicos (sais) e nutrientes (fertilizantes agrícolas). Foram avaliados o efeito da temperatura, variando a temperatura do cultivo em 30 °C, 25 °C e 21 °C; a iluminância, variando a intensidade de luz sobre o cultivo; a aeração, utilizando ou não aeração permanente e a salinidade, cultivando a alga em 35 ‰ e 30 ‰, sendo verificado o crescimento em peso úmido das algas, semanalmente, bem como a taxa de crescimento relativo. Quanto à extração de polissacarídeos, testamos o rendimento entre dois métodos diferentes, um usando CPC (Cloreto de Cetyl Piridinium), e outro utilizando precipitação com etanol. Assim sendo, verificamos que as algas obtiveram melhor crescimento quando foram cultivadas em 25 °C, utilizando duas camadas de papel celofane azul em volta do cultivo (200 lux), com aeração permanente e salinidade de 35 ‰. O melhor método de extração foi o da precipitação com etanol, obtendo um rendimento de 32,3%, sendo um pouco superior ao outro método, com rendimento de 31,5%; além disso, o CPC é um reagente caro, não sendo usado neste primeiro método de extração de polissacarídeos sulfatados. Diante disso, foram definidos os parâmetros físico-químicos para o crescimento da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii*, em condições de laboratório, bem como um método mais econômico para a extração de polissacarídeos sulfatados desta espécie.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Detalhes do cultivo da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> em nosso laboratório.....	6
Figura 2 - Desenvolvimento da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> após 35 dias de cultivo.....	6
Figura 3 - Crescimento em peso úmido da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> em água do mar artificial na temperatura de 30 °C.....	10
Figura 4 - Crescimento em peso úmido da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> em água do mar artificial na temperatura de 21 °C.....	11
Figura 5 - Crescimento em peso úmido da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> em água do mar artificial na temperatura de 25 °C. Essa temperatura foi mantida nos demais tratamentos.....	11
Figura 6 - Efeito da variação de intensidade de luz no cultivo da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> em água do mar artificial.....	12
Figura 7 – Efeito da aeração no cultivo da alga marinha vermelha <i>Gracilaria sjoestedtii</i> em água do mar artificial.....	14

**ENSAIO PRELIMINAR SOBRE O CULTIVO E EXTRAÇÃO DE
POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DA ALGA MARINHA VERMELHA
Gracilaria sjoestedtii.**

GLACIO SOUZA ARAUJO

1. INTRODUÇÃO

O gênero de algas marinhas vermelhas *Gracilaria* possui grande distribuição em todo o mundo, possuindo um importante ficocolóide chamado ágar (ADB-FAO, 1983). Em vários países, espécies deste gênero são largamente cultivadas para satisfazer a crescente demanda por este ficocolóide (CHIANG, 1981; 1984), sendo que a principal espécie cultivada é a *Gracilaria tenuistipitata* (CHIANG & LIN, 1989).

Espécies desse gênero também são cultivadas em policultivo, principalmente com o camarão *Penaeus monodon*, milk-fish (*Chanos chanos*) e o caranguejo *Scylla serrata* (AJISAKA & CHIANG, 1993). Também é cada vez maior o uso de macroalgas como filtro biológico com a finalidade de melhorar a qualidade da água proveniente do cultivo de outros organismos aquáticos, como peixes e camarões (JONES *et al*, 2001; NEORI *et al*, 1996; NEORI, *et al*, 1998; NEORI *et al*, 2000; SHPIGEL & NEORI, 1996).

Para satisfazer a crescente demanda pelo ficocolóide, ocorre o cultivo de espécies deste gênero em mar aberto, mas existe um grande problema nessa atividade, que é o crescimento de epífitas (algas competidoras) nas unidades de cultivo, principalmente em áreas de correntes ou perto de bancos de algas, prejudicando a despesca. Algumas epífitas que crescem juntamente com as algas cultivadas são: *Enteromorpha spp*, *Ulva spp*, *Cladophora spp*, *Ectocarpus spp* e *Hypnea spp* (KUSCHEL & BUSCHMAN, 1991; LAPOINT & RYTHER, 1978; RYTHER *et al*, 1981).

Para a extração de ficocolóides em indústria, altos níveis de epífitas interferem nos resultados obtidos, elevando-se os custos de produção (PICKERING *et al*, 1993).

Os cultivos de espécies do gênero *Gracilaria* em mar aberto são muito dinâmicos e ocorre flutuação de biomassa, principalmente relacionados com a sazonalidade do ambiente. Devido a estes fatores, é crescente o número de trabalhos que visam determinar os parâmetros ideais de cultivo de várias espécies do gênero *Gracilaria* em condições controladas (EDDING *et al*, 1987).

As macroalgas marinhas têm sido fruto de um constante extrativismo no litoral brasileiro, visando à exportação da matéria-prima para produção de ficocolóides. Algumas espécies agarófitas tais como *Gracilaria cornea* e *Gracilaria cylindrica* já estão sofrendo uma grande depleção em seus estoques naturais.

As algas do gênero *Gracilaria*, muito abundantes ao longo da Costa do Nordeste do Brasil, são largamente exploradas, sendo todo o material proveniente de reservas naturais. Pesquisas relativas ao cultivo de espécies desse gênero revestem-se de grande importância, tendo em vista a necessidade de complementar a produção dos bancos naturais existentes, para atender a demanda desse produto no mercado consumidor (MIRANDA & JOVENTINO, 1982).

Por outro lado, o interesse científico na investigação e identificação de compostos com atividade biológica oriundos de organismos aquáticos, com grande aplicabilidade nos ramos das ciências biomédicas e na biotecnologia, tem se acentuado bastante nos últimos anos.

Dentre estes compostos podemos citar os polissacarídeos sulfatados (anticoagulantes e antitrombóticos) e as lectinas (proteínas hemaglutinantes e mitogênicas) extraídos de invertebrados e de algas (micro e macroalgas).

Recentemente, foi isolada e caracterizada a estrutura de uma galactana sulfatada da alga vermelha *Botryocladia occidentalis* com uma elevada atividade anticoagulante (FARIAS *et al*, 2000) e que também apresentou atividade antitrombótica (FARIAS *et al*, 2001).

Com o cultivo de algas marinhas em laboratório, poderemos padronizar os parâmetros físico-químicos necessários para otimizar a produção de tais substâncias por estes organismos, bem como comparar suas atividades biológicas com as de compostos extraídos dos mesmos organismos coletados na natureza. Além disso, muitas vezes, os organismos cultivados apenas com o intuito de otimizar o crescimento e desenvolvimento são descartados no final do programa de cultivo, resultando em um desperdício de biomassa.

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das condições de cultivo (temperatura, luz, salinidade e aeração) no crescimento da alga marinha *Gracilaria sjoestedtii* e a comparação do rendimento entre dois métodos de extração de polissacarídeos sulfatados desta espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Coleta das macroalgas

Exemplares da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* foram coletadas na praia do Pacheco-Caucaia, CE, sendo selecionadas plantas tão limpas quanto possível. As plantas foram colocadas em uma caixa de isopor contendo água do mar e transportadas imediatamente para o laboratório. Antes do início dos cultivos, as plantas foram examinadas uma a uma para eliminação de epífitas e outros organismos.

Um dia antes da coleta das algas, foram medidos o pH, a salinidade e a temperatura da água com medidor de pH portátil, refratômetro e um termômetro comum, respectivamente, para serem utilizados como referência durante os cultivos.

2.2 - Preparo do meio de cultivo

No preparo do meio de cultivo, a água utilizada foi obtida diretamente da torneira, contendo cloro, que teve de ser eliminado antes do cultivo. O cloro foi eliminado por evaporação após deixar a água com uma bomba de aeração por 72 horas.

Em seguida, foram adicionados na água primeiro os reagentes químicos (Tabela 1) e, por último, os nutrientes (Tabela 2). Em seguida, a água foi aerada novamente por mais 24 horas para estabilizar o pH, decantando-se e filtrando-se o meio após esse período. Ao fim desse processo, o pH estabilizou em 8,2, e a salinidade em 35‰.

Por fim, o meio de cultivo e as vidrarias foram esterilizados através do uso de radiação ultravioleta por vinte minutos. Durante este período, as pequenas pedras de aeração foram colocadas em um esterilizador por vinte minutos a 100 °C.

Do meio de cultivo preparado e esterilizado, foram utilizados cerca de 400mL para lavar as algas, eliminando algum contaminante, principalmente microalgas, antes de iniciar o cultivo. O restante (600mL) foi utilizado para o cultivo (Figura 1 e Figura 2).

Tabela 1 - Reagentes químicos utilizados no preparo da água do mar artificial.

Reagentes Químicos	Peso (g/L)
Cloreto de sódio	27,6
Sulfato de magnésio	6,9
Cloreto de cálcio	1,4
Cloreto de magnésio	5,4
Cloreto de potássio	0,6
Brometo de potássio	0,027
Bicarbonato de sódio	0,2

Tabela 2 - Nutrientes utilizados no meio de cultivo.

Nutrientes	Peso (g/L)
Nitrato de Sódio	0,06
Nitrato de Amônio	0,03
Superfosfato triplo	0,01

2.3 - Cultivo de *Gracilaria sjoestedtii*

O cultivo foi realizado a partir de pequenas porções do talo (ápices) das algas coletadas. As culturas unialgais foram obtidas através da técnica do isolamento dos ápices realizada da seguinte forma: foram retirados, manualmente, diversos ápices das algas, seccionando as partes do talo que continham as mesmas, com cerca de 3 cm de comprimento, de uma mesma planta. Estes explantes foram examinados um a um para se verificar a presença de outras algas contaminantes (epífitas).



Figura 1 – Detalhes do cultivo da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em nosso laboratório.



Figura 2 – Desenvolvimento da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* após 35 dias de cultivo.

Aqueles sobre os quais não foram observados contaminantes foram lavados cinco vezes com o meio de cultura. A operação de lavagem foi realizada com a utilização de vidraria e meio de cultivo esterilizados. Após a lavagem, os

ápices foram colocados em um frasco de cultura (erlenmeyer com capacidade para um litro), colocando-se um chumaço de algodão envolto por uma gaze na "boca" do mesmo.

Os explantes foram cultivados em uma sala de cultivo, com aeração vinda de uma pequena bomba comercial. A iluminação foi fornecida por luz fluorescente branca e "grow lux", sendo o fotoperíodo de 16 horas de claro e 8 horas de escuro, programadas em um *timer* instalado perto dos erlenmeyers. Camadas de papel celofane azul foram utilizadas para regular a intensidade de luz durante os cultivos, a qual foi determinada utilizando-se um luxímetro digital.

2.4 - Acompanhamento do experimento

O acompanhamento do experimento foi realizado através de pesagens semanais em uma balança semi-analítica após os explantes serem colocadas em uma peneira por aproximadamente dez segundos, antes da pesagem. Foram feitas diversas pesagens (3 a 4 por vez), tirando-se as médias e os desvios padrões das mesmas.

Após as pesagens, foi realizada a troca do meio de cultivo e lavagem dos explantes. Neste momento, uma amostra da água foi separada para determinação da salinidade e do pH.

O acompanhamento do crescimento das algas foi realizado através da determinação da taxa de crescimento relativo (TCR, % d⁻¹) a partir da fórmula: $TCR = 100 (\ln W_2 - \ln W_1) / T_2 - T_1$, onde: W2 e W1 são os pesos final e inicial nos dias T2 e T1, respectivamente (GLENN *et al*, 1998).

Os valores dos pesos médios semanais também foram utilizados para traçar as curvas de crescimento em peso das algas cultivadas.

2.4.1 - Efeito da temperatura

Foram utilizadas três diferentes temperaturas na sala de cultivo: 30 °C, 25 °C e 21 °C, sendo estas duas últimas obtidas com a utilização e regulação de um condicionador de ar.

2.4.2 - Efeito da iluminância

Foi variada a intensidade de luz durante o cultivo utilizando-se uma ou duas lâmpada “grow lux” de 20 Wats e variando o número de camadas de papel celofane azul ao redor do erlenmeyer (sombreamento). Foram utilizadas quatro camadas de papel celofane azul (100 lux), duas camadas de papel celofane azul (200 lux), ausência de papel celofane azul (400 lux), e duplicando a intensidade luminosa, sem sombreamento (aproximadamente 800 lux).

2.4.3 - Efeito da aeração

Para avaliar o efeito da aeração no cultivo de *Gracilaria sjoestedtii*, foram realizados dois experimentos. No primeiro, a alga foi cultivada com aeração permanente e, no segundo, a aeração foi suprimida na fase de escuro (oito horas) do fotoperíodo, ligando-se a bomba de aeração no *timer*.

2.4.4 - Efeito da salinidade

O efeito da salinidade foi avaliado em um cultivo pré-estabelecido a 35‰. Após duas semanas de cultivo, a salinidade foi reduzida bruscamente para 30‰ e mantida durante uma semana. Após este período, a salinidade foi novamente estabelecida em 35‰.

2.5 – Extração de polissacarídeos

2.5.1 – Método I

A alga foi coletada no ambiente natural e levada ao laboratório. Ao chegar no mesmo, a alga foi lavada com água destilada, eliminadas as epífitas (principalmente algas do gênero *Hypnea*), e colocada para secar ao sol. Após seca, a alga foi cortada em pequenos pedaços, sendo pesadas 2g da alga em uma balança semi-analítica, para a extração dos polissacarídeos sulfatados.

Em seguida, hidratou-se o tecido utilizando 100mL de tampão acetato de sódio 100mM pH 5,0 + cisteína 5mM + EDTA 5mM e incubações com papaína (204mg) + 7mL do mesmo tampão, sendo esta, uma enzima proteolítica usada para quebrar a proteína na qual está ligado o polissacarídeo, a 60 °C por 24 horas. Após isso, cada extrato foi centrifugado (2500rpm) e, ao sobrenadante, foi adicionado uma solução de CPC (cloreto de cetyl piridinium) 10% (7mL). Após 24 horas de repouso, o material foi centrifugado e o “pellet” foi lavado com CPC 0,05% (200mL), dissolvido em 70mL de NaCl 2M : etanol (100:15) e submetido a uma nova precipitação com a adição de etanol absoluto (122mL). Após duas lavagens com etanol 80% (200mL) e uma lavagem com etanol absoluto (120mL), o material foi seco em estufa a 60 °C e quantificados os polissacarídeos.

2.5.2 – Método II

É semelhante ao método anterior até a etapa da primeira centrifugação (2500rpm), após estar em repouso por 24 horas. Após esta etapa, é medido o volume de sobrenadante e acrescentado três vezes esse volume com etanol absoluto, ficando de repouso no freezer por de 24 horas. Após isso, este foi centrifugado, e o resíduo lavado duas vezes com etanol a 80% (200mL), sendo centrifugado novamente e o resíduo lavado com 120mL de etanol absoluto, onde o material foi seco em estufa a 60 °C e quantificados os polissacarídeos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Efeito da temperatura

Quando a temperatura da sala de cultivo foi mantida em 30 °C, o crescimento das algas não foi significativo, crescendo durante a primeira semana, mas à partir da segunda, perdiam biomassa, depois seus valores de biomassa permaneciam quase constantes (Figura 3). Quando diminuimos a temperatura para 21 °C, o resultado foi semelhante ao experimento utilizando a temperatura de 30 °C (Figura 4); neste dois experimentos, utilizamos três ápices das algas em cada cultivo. A temperatura ideal foi encontrada quando estabilizamos em torno de 25 °C, com taxa de crescimento relativo de 4,93% d⁻¹ (Figura 5).

As espécies do gênero *Gracilaria* de águas quentes apresentam crescimento máximo e, presumivelmente, produção máxima entre 25 e 30 °C, não sendo conhecida nenhuma espécie com crescimento máximo acima de 30 °C. Geralmente, elevadas temperaturas são letais para as algas marinhas (MCLACHLAN & BIRD, 1986). Por outro lado, a maioria das espécies testadas em laboratório apresentaram crescimento máximo na faixa de temperatura que vai de 20 a 25 °C (MCLACHLAN & BIRD, 1984).

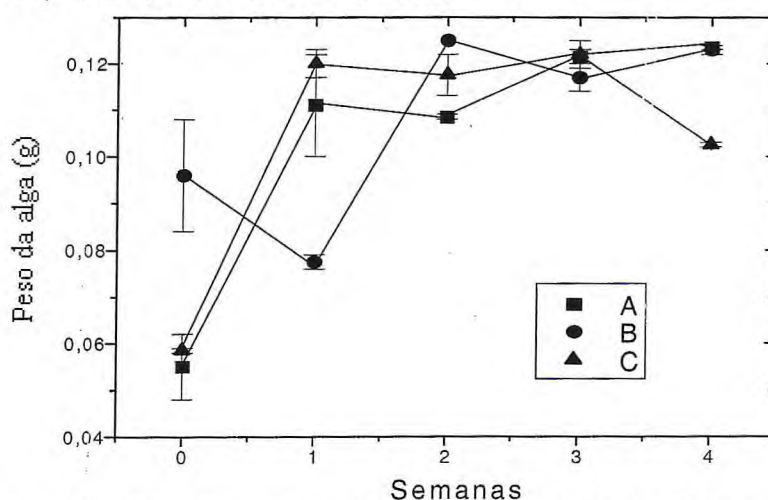


Figura 3 – Crescimento em peso úmido da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em água do mar artificial na temperatura de 30 °C.

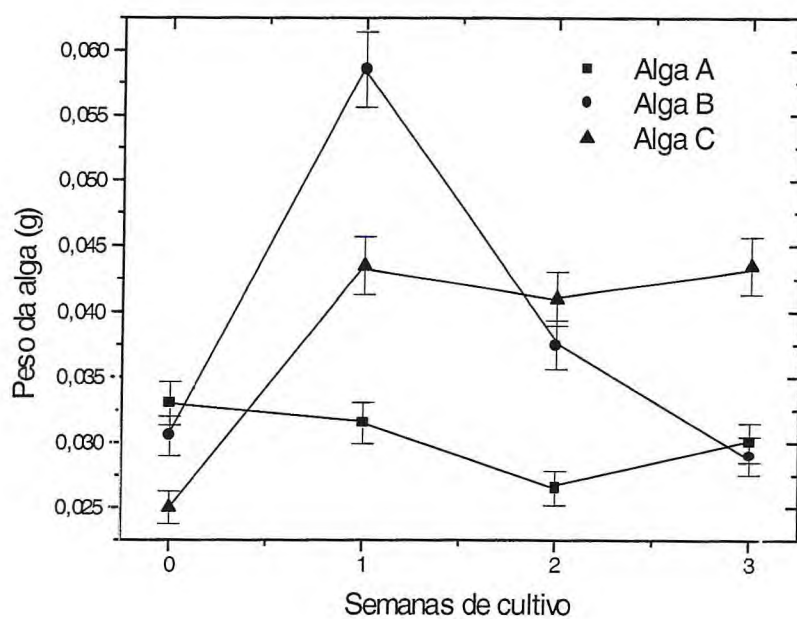


Figura 4 – Crescimento em peso úmido da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em água do mar artificial na temperatura de 21 °C.

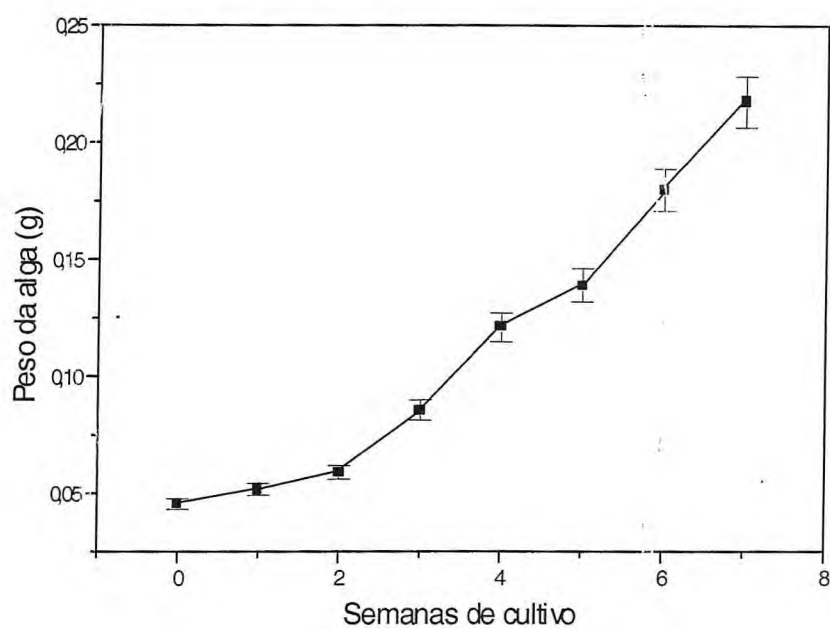


Figura 5 – Crescimento em peso úmido da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em água do mar artificial na temperatura de 25 °C. Essa temperatura foi mantida nos demais tratamentos.

3.2 - Efeito da iluminância

No tratamento onde variamos a intensidade de luz, vimos que a alga obteve pequeno crescimento até a terceira semana, quando utilizamos iluminância de 100 lux. Esta espécie apresentou melhor taxa de crescimento relativo ($1,04\% d^{-1}$) quando foi cultivada com iluminância de 200 lux. No momento em que passamos a utilizar iluminância de 400 lux, a taxa de crescimento relativo diminuiu ($0,35\% d^{-1}$), vindo a morrer (perda da pigmentação) quando foi duplicada a intensidade luminosa (800 lux) (Figura 6).

As diferentes espécies de algas marinhas apresentam diferentes graus de tolerância à intensidade luminosa. Se a iluminação ultrapassa os limites máximos, os talos perdem a cor, se debilitam e a taxa de crescimento diminui excessivamente, podendo se tornar até mesmo nula. A iluminação excessiva produz fotooxidação dos pigmentos e uma posterior destruição dos cloroplastos e das proteínas das plantas. Um comportamento semelhante é observado em condições de baixa iluminação (LARCHER, 1980).

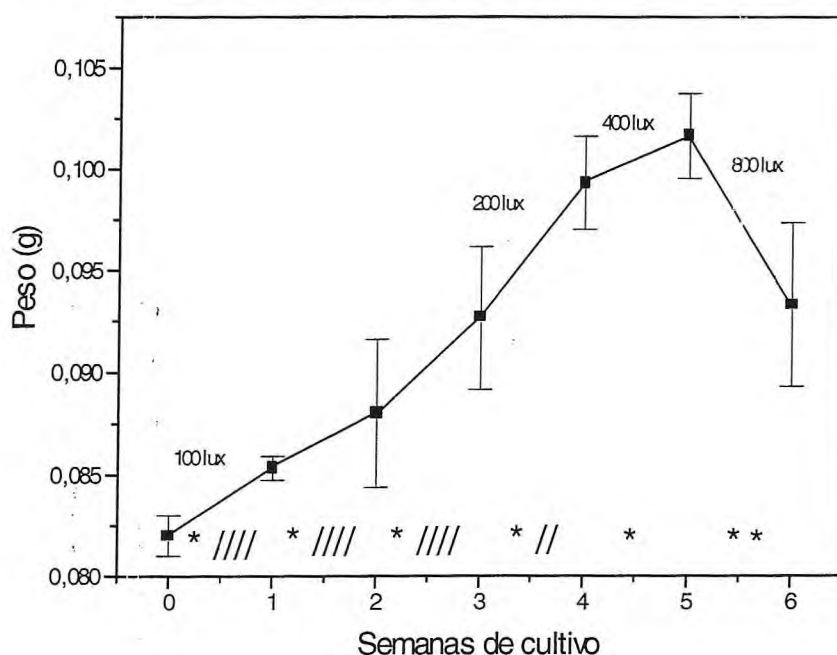


Figura 6 – Efeito da variação de intensidade de luz no cultivo da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em água do mar artificial.

TALARICO & MARANZANA (2000) avaliaram as respostas adaptativas das algas vermelhas à intensidade e qualidade da luz em cultivos realizados no ambiente natural e no laboratório. Estes autores afirmam que as macroalgas vermelhas se adaptam tanto à intensidade quanto à qualidade da luz, procurando regular seu metabolismo e crescimento.

3.3 - Efeito da aeração

De acordo com a Figura 7, foi constatado que não ocorreu crescimento da alga *Gracilaria sjoestedtii*, já entre a primeira e a segunda semana de cultivo, durante o tratamento sem aeração na fase de escuro. A ausência de crescimento não foi observada em todas as macroalgas cultivadas em nosso laboratório, ocorrendo somente com as espécies *Gracilaria sjoestedtii* e *Porphyra athropurpurea*. As espécies *Ulva lactuca*, *Solieria filiformis* e *Gracilaria cylindrica* continuaram a crescer, mesmo sem aeração, durante a fase de escuro. Isso demonstra que existem diferenças nas necessidades de oxigênio pelas diferentes espécies de macroalgas marinhas cultivadas em laboratório. Vale salientar que as espécies *Gracilaria sjoestedtii* e *Porphyra athropurpurea* ocorrem, naturalmente, em zonas muito oxigenadas pela ação das ondas do mar. De acordo com a mesma figura, observamos que ocorreu crescimento da alga durante todo o cultivo no tratamento com aeração, com taxa de crescimento relativo de 1,87% d⁻¹ e 1,89% d⁻¹ durante a primeira e a segunda semana, respectivamente.

PECKOL & RIVERS (1995) mostraram que, em condições de hipoxia, a taxa respiratória da alga marinha vermelha *Gracilaria tikvahiae* foi fortemente diminuída, quando comparada com as taxas obtidas em concentrações normais de oxigênio dissolvido.

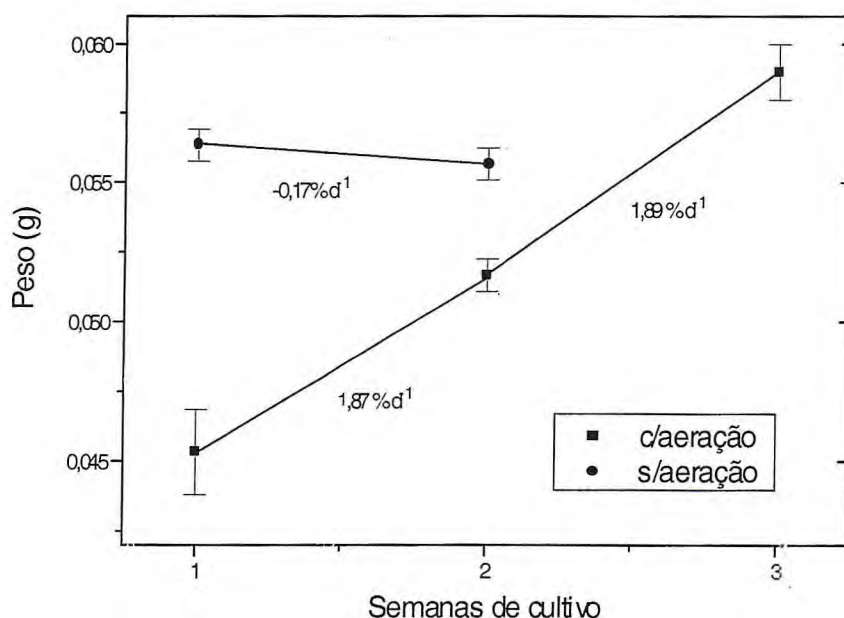


Figura 7 – Efeito da aeração no cultivo da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em água do mar artificial.

3.4 - Efeito da salinidade

No tratamento onde variamos a salinidade, foi observado que na salinidade de 35‰ ocorreu crescimento da alga na primeira e na segunda semana, com taxas de crescimento relativo de 2,33% d⁻¹ e 2,30% d⁻¹, respectivamente. Este crescimento não foi tão acentuado durante a terceira semana, com taxas de crescimento relativo de 0,57% d⁻¹, quando diminuimos a salinidade do meio, de 35 para 30‰. Na quarta semana de cultivo, quando retornamos a salinidade para 35‰, a alga ainda não se desenvolveu bem, apenas crescendo a uma taxa de 0,18% d⁻¹. Somente durante a quinta semana de cultivo a alga recuperou muito bem seu crescimento, apresentando taxa de crescimento relativo de 2,74% d⁻¹. Desta forma, o estresse (diminuição da salinidade) perdurou ainda por uma semana até que a alga voltasse novamente a crescer de forma satisfatória (Figura 8).

A variação de salinidade é importante nos sistemas de cultivo, podendo afetar o crescimento, desenvolvimento e reprodução das algas marinhas. Salinidades acima ou abaixo dos valores normais provocam diminuição na taxa de

crescimento, como consequência de diminuição na taxa de fotossíntese e decréscimos na produção dos cultivos (LOBBAN *et al*, 1985)

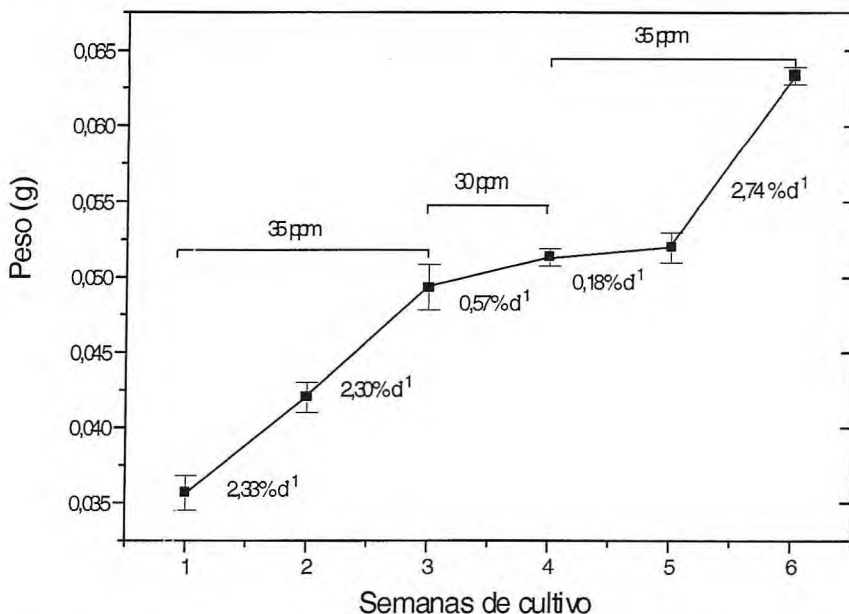


Figura 8 – Efeito da variação de salinidade no cultivo da alga marinha vermelha *Gracilaria sjoestedtii* em água do mar artificial.

3.5 - Taxas de crescimento de macroalgas cultivadas em laboratório

A Figura 9 mostra as taxas de crescimento relativo de algumas espécies de algas marinhas cultivadas em nosso laboratório. De acordo com a figura, observamos que a espécie *Ulva lactuca* apresentou a maior taxa de crescimento relativo, 19,56% d⁻¹, seguida da espécie *Ulva fasciata*, 10,7% d⁻¹; da espécie *Porphyra athropurpurea*, 9,6% d⁻¹; e da espécie *Gracilaria sjoestedtii*, 4,9% d⁻¹. Esta taxa de crescimento é semelhante à obtida em cultivos de *G. cylindrica* no ambiente natural, que é de 4,7% d⁻¹. Esta espécie possui taxa de crescimento relativo bem inferior do que as demais espécies cultivadas em água do mar artificial.

De um modo geral, as macroalgas de talo foliáceo expandido (*Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Porphyra athropurpurea*) apresentaram taxas de crescimento bem maiores que as espécies de talo cilíndrico (*Gracilaria sjoestedtii*). Este fato

ocorreu, provavelmente, devido ao maior aproveitamento da luz pelas espécies de talo foliáceo, já que existe, nestas algas, uma maior área de superfície exposta à luz. Por outro lado, não descartamos a hipótese de falta de algum componente vital para o crescimento das algas cilíndricas.

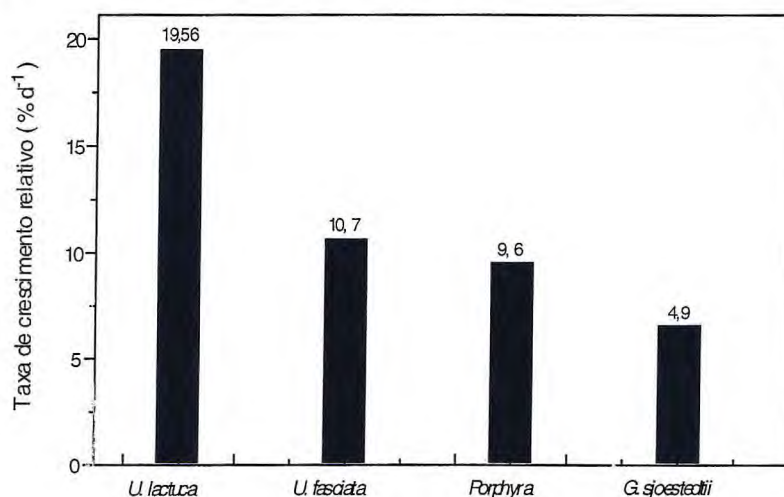


Figura 9 – Taxas de crescimento relativo de algas marinhas cultivadas em laboratório com água do mar artificial enriquecida com fertilizantes agrícolas.

3.6 - Extração de polissacarídeos

3.6.1 - Método I

A extração dos polissacarídeos nesse método obteve um rendimento de 630mg (31,5%) na primeira incubação, sendo considerado um bom rendimento nessa extração, com esta espécie.

3.6.2 - Método II

A extração dos polissacarídeos, nesse outro método, apresentou um rendimento de 646mg (32,3%) na primeira incubação, sendo considerado um bom rendimento nessa extração.

4. CONCLUSÕES

Com a realização deste trabalho podemos tirar as seguintes conclusões:

- 1) Apesar das dificuldades de cultivo de macroalgas marinhas em laboratório, estabelecemos um meio de cultivo alternativo (de baixo custo) no qual várias espécies apresentaram um bom crescimento;
- 2) Foi possível a preparação deste meio, utilizando-se uma água do mar artificial preparada a partir da água de fornecimento urbano;
- 3) A temperatura ideal para o cultivo de *Gracilaria sjoestedtii*, como também para as demais espécies de macroalgas marinhas foi de 25 °C;
- 4) A espécie *Gracilaria sjoestedtii* apresentou um melhor desenvolvimento na salinidade de 35‰;
- 5) A alga marinha *Gracilaria sjoestedtii* é dependente de uma boa aeração na fase de escuro para seu crescimento;
- 6) O crescimento de *G. sjoestedtii* foi diretamente proporcional à intensidade de luz no cultivo, tendo como limite 600 lux;
- 7) O método II de extração de polissacarídeos sulfatados apresentou um rendimento pouco superior em relação ao método I; assim sendo, foi considerado o método mais prático, de menor tempo e mais econômico, pois não ocorre utilização do reagente CPC, que é um reagente caro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADB-FAO, 1983. Second Fish Market. The world seaweed industry and trade. 6: 3-30.
- AJISAKA, T.; CHIANG, Y.M., 1993. Recent status of *Gracilaria* cultivation in Taiwan. Fourteenth International Seaweed Symposium. *Hydrobiologia*. 260/261: 335-338.
- CHIANG, Y.M., 1981. Cultivation of *Gracilaria* (Rhodophycophyta, Gigantinales) in Taiwan. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 10: 569-574.
- CHIANG, Y.M., 1984. Seaweed aquaculture and its associated problems in the Republic of China. *TML Conference Proceedings*. 1: 99-109.
- CHIANG, Y.M.; Lin, J.L., 1989. Nitrate uptake by nitrogenstarved plants of the red alga *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui*. *Jpor. J. Phycol.* 37: 187-193.
- EDDING, M., LEÓN, C., AMBLER, R., 1987. Growth of *Gracilaria* sp. in laboratory. Twelfth International Seaweed Symposium. *Hydrobiologia*. 151/152: 375-379.
- FARIAS, W.R.L.; VALENTE, A.P.; PEREIRA, M.S.; MOURÃO, P.A.S., 2000. Structure and Anticoagulant Activity of Sulfated Galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red algae *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 275., N°88., 29299 a 29307.
- FARIAS, W.R.L.; NAZARETH R. A.; MOURÃO, P.A.S., 2001. Dual effects of sulfated D-galactans from the red algae *Botryocladia occidentalis* preventing thrombosis and inducing platelet aggregation. **Thrombosis and Haemostasis**; 86: 1540 – 1546.
- GLENN, E.P.; MOORE, D.; BROWN, J.J.; TANNER, R.; FITZSIMMONS, K.; AKUTIGAWA, M.; NAPOLEAN, S., 1998. A sustainable culture system for *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) using sporelings, reef growout and floating cages in Hawaii. **Aquaculture** 165: 221-232.
- JONES, A.B.; DENNISON, W.C.; PRESTON, N.P., 2001. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. **Aquaculture** 193: 155-178.
- KUSCHEL, F.A.; BUSCHMAN, A.H., 1991. Abundance, effects and management of epiphytism in industrial cultures of *Gracilaria* (Rodophyta) in Southern Chile. *Aquaculture* 92: 7-19.

- LAPOINTE, B.E.; RYTHER, J.H., 1978. Some aspects of the growth and yield of *Gracilaria tikvahiae* in culture. *Aquaculture* 15: 185-193.
- LARCHER, W., 1980. *Physiological Plant Ecology*. 2nd Edition. Springer-Verlag, Berlin, 303 pp.
- LOBBAN, C.; HARRISON, P.; DUNCAN, M.J., 1985. *The physiological ecology of seaweeds*. Cambridge University Press, 242 pp).
- MCLACHLAN, J.; BIRD, C.J., 1984. Geographical and experimental assessment of the distribution of *Gracilaria* species (Rhodophyta, Gigartinales) in relation to temperature. *Helgol. Meeresunters.*, 38: 319-334.
- MCLACHLAN, J.; BIRD, C.J., 1986. *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. *Aquatic Botany*, 26: 27-49.
- MIRANDA, P.T.C.; JOVENTINO, F.P., 1982. Informe preliminar sobre o cultivo de algas marinhas no Estado do Ceará. *Arq. Ciênc. Mar*, 22 (1/2): 83-85.
- NEORI, A.; KROM, M.D.; ELLNER, S.P.; BOYD, C.E.; POPPER, D.; RABINOVITCH, R.; DAVISON, P.J.; DVIR, O.; ZUBER, D.; UCKO, M.; ANGEL, D.; GORDIN, H., 1996. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units. ***Aquaculture* 141: 183-199.**
- NEORI, A.; RAGG, N.L.C.; SHPIGEL, M., 1998. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: II. Performance and nitrogen partitioning within an abalone (*Haliotis tuberculata*) and macroalgae culture system. ***Aquacultural Engineering* 17: 215-239.**
- NEORI, A.; SHPIGEL, M.; BEM-EZRA, D., 2000. A sustainable integrated system for culture of fish, seaweed and abalone. ***Aquaculture* 186: 279-291.**
- PECKOL, P.; RIVERS, J.S., 1995. Physiological responses of the opportunistic macroalgae *Cladophora vagabunda* (L.) van den Hoek and *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan) to environmental disturbances associated with eutrophication. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 190: 1-16.
- PICKERING, T.D.; GORDON, M.E.; TONG, L.J., 1993. Effects of nutrient pulse concentration and frequency on growth of *Gracilaria chilensis* plants and levels of epiphytic algae. *Journal of Applied Phycology*. 5: 525-533.
- RYTHER, J.H.; CORWIN, N.; DEBUSK, T.A.; WILLIAMS, L.D., 1981. Nitrogen uptake and storage by the red algae *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan 1979). *Aquaculture* 26: 107-115.

- SHPIGEL, M.; NEORI, A., 1996. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: I. Proportions of size and projected revenues. **Aquacultural Engineering** 15, N°. 5: 313-326.
- TALARICO, L.; MARANZANA, G., 2000. Light and adaptive responses in red macroalgae: an overview. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 56 1–11.