



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOECOLOGIA AQUÁTICA

DINAEZA CASTELO PEREIRA

VARIAÇÃO NO CONTEÚDO PROTÉICO E PIGMENTAR  
EM VARIANTES CROMÁTICAS DE *Gracilaria*  
*domingensis* NAS POPULAÇÕES NATURAIS DE RIO DO  
FOGO-RN, BRASIL.

NATAL, RN

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DINAEIZA CASTELO PEREIRA

VARIAÇÃO NO CONTEÚDO PROTÉICO E PIGMENTAR EM  
VARIANTES CROMÁTICAS DE *Gracilaria domingensis* NAS  
POPULAÇÕES NATURAIS DE RIO DO FOGO-RN, BRASIL.

Dissertação apresentada ao programa de  
pós-graduação em Bioecologia Aquática  
para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dra. Eliane Marinho Soriano

Co-Orientador: Prof. Dr. Pio Colepicolo Neto

NATAL, RN

2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOECOLOGIA AQUÁTICA

Variação no conteúdo protéico e pigmentar em variantes cromáticas de *Gracilaria domingensis* nas populações naturais de Rio do Fogo-RN, BRASIL.

Banca Examinadora

---

Dra. Eliane Marinho Soriano  
(Orientadora – UFRN)

---

Dr. Pio Colepicolo Neto  
(USP)

---

Dr. Marcos Rogério Câmara  
(UFRN)

---

Dr. André Megali Amado  
(UFRN)

## *AGRADECIMENTOS*

A Prof. Dra. Eliane Marinho Soriano, que sempre foi muito mais do que uma orientadora, foi uma amiga, uma mãe ficológica (como diz minha amiga Aline), uma professora pra vida toda. Obrigada por tudo que me ensinou com enorme dedicação e paciência. Obrigada também pela confiança, carinho, amizade e pelos bons conselhos. Difícil escrever tudo que gostaria de agradecer;

Ao Prof. Dr. Pio Colepicolo por ter me recebido em seu laboratório e pelas grandes contribuições que fez a este trabalho;

A Universidade Federal do Rio Grande do Norte e ao Departamento de Oceanografia e Limnologia (DOL) que possibilitaram a minha formação acadêmica e a realização deste trabalho;

A CAPES pelo auxílio financeiro sob a forma de concessão de bolsa de mestrado;

Aos meus pais e irmãos por todo carinho e apoio incondicional;

Ao meu querido Ygor pelo amor, paciência e dedicação;

Aos queridos amigos Vinicius e Thiago, por toda ajuda oferecida e por terem feito das árduas tarefas, agradáveis momentos de alegria e descontração. Obrigada pelo carinho e pela amizade em todos os momentos;

A amiga Karina pelas inúmeras contribuições, pela paciência e pelo carinho;

Ao Dr. Diogo pelas contribuições, ensinamentos e paciência;

A amiga Marcella pelos anos de convivência, por todos os nossos experimentos, discussões, contribuições e pelas divertidas viagens;

A todos os amigos do laboratório em diferentes épocas: Renata, Thiago Cabral, Antonino, Ingrid, Dannyhelton, Leal, Ligia, Sdena, Euriel, Rafa, Liliane, Aline, Alex, Geniberto, Carol;

Aos amigos do Pio's Lab pelo carinho e amizade, Pati, Erika, Aline, Renato, João, Ângela e Ed;

Aos professores e amigos da turma de Pós-graduação em Bioecologia Aquática por todo empenho, dedicação e amizade demonstrados ao longo do curso;

Aos funcionários do DOL, em especial Jussara, Sr. Everaldo, Sr. Antônio, Sr. Pedro, Cleide e Gilberto que sempre estiveram dispostos a ajudar;

E em geral, aos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

***Muitíssimo Obrigada!!!***

## RESUMO

Pereira, D.C. **Variação no conteúdo protéico e pigmentar em variantes cromáticas de *Gracilaria domingensis* nas populações naturais de Rio do Fogo-RN, Brasil.** 2009. 74p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia. Departamento de Oceanografia e Limnologia. Universidade federal do Rio Grande do Norte.

A macroalga *Gracilaria domingensis* é comumente encontrada no litoral do Rio Grande do Norte. Esta espécie habita a zona intertidal, onde linhagens cromáticas (vermelha, verde e marrom) co-ocorrem durante todo o ano. Algas que vivem nesta região estão submetidas a mudanças diurnas e ao ritmo da maré. Durante a maré baixa elas ficam expostas a dissecação, choque hiper ou hipo-osmótico, altas temperaturas e elevada irradiância. Este trabalho teve como objetivo geral o estudo do perfil protéico e pigmentar das variantes cromáticas de *G. domingensis* e a alteração deste perfil em função dos parâmetros ambientais em uma escala temporal. As algas foram coletadas mensalmente, durante 10 meses, nas parias de Rio do Fogo-RN. As proteínas totais solúveis e as ficobiliproteínas foram extraídas em tampão fosfato e os carotenóides foram analisados em um método padronizado por HPLC-UV. A análise dos pigmentos mostrou que a ficoeritrina é o pigmento mais abundante nas três linhagens. Este pigmento esteve fortemente correlacionado com o nitrogênio e a PAR. Os pigmentos carotenóides apresentaram concentrações inferiores as da clorofila-*a* durante todos os meses, mas a razão carotenóides/clorofila-*a* foi modificada com o aumento da radiação. O carotenóide mais abundante foi o  $\beta$ -caroteno, seguido da zeaxantina, que esteve em maiores concentrações nos meses de maior radiação. O aumento na concentração da zeaxantina nesse período indicou uma resposta fotoprotetora da alga. As três linhagens apresentaram um perfil pigmentar que remete a diferentes padrões de tolerância a radiação. A linhagem verde mostrou ser melhor adaptada a elevados níveis de irradiâncias do que a vermelha e a marrom.

**Palavras-chave:** *Gracilaria domingensis*, linhagens, estresse ambiental, proteínas, ficobiliproteínas, carotenóides.

## ABSTRACT

Pereira, D.C. **Variation in protein and pigment content in colour strains of *Gracilaria domingensis* in the natural populations of Rio do Fogo (RN)**. 2009. 74p. Dissertação (Mestrado) – Graduate Program Aquatic Bioecology. Departamento de Oceanografia e Limnologia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

The seaweed *Gracilaria domingensis* is a common species in the coast of Rio Grande do Norte. This species lives in the intertidal zone, where colour strains (red, green and brown) co-occur during the whole year. Seaweeds that live in this region are exposed to daily changes and to the rhythm of the tide. During the low tide they are exposed to dissection, hiper- or hipo-osmotic shock, high temperatures and high irradiance. The aim of this study was to analyze whether the pigment and protein content of the colour strains of *G. domingensis* is affected by some environmental parameters in a temporal scale. The seaweeds were collected during 10 months in the seashore of Rio do Fogo (RN). The total soluble proteins and the phycobiliprotein were extracted in phosphate buffer and the carotenoids were analyzed by a standardized method through HPLC-UV. The pigments analysis showed that phycoerithrin is the most abundant pigment in the three strains. This pigment was strongly correlated with nitrogen and the photosynthetically active radiation. Chlorophyll presented higher concentrations than carotenoids during the whole, but the ratio carotenoid/chlorophyll-*a* was modified by incident radiation. The most abundant carotenoid was  $\beta$ -carotene and zeaxanthin, which had higher concentrations in the higher radiation months. The concentration increase of zeaxanthin in this period indicated a photoprotective response of the seaweed. The three strains presented a pigment profile that indicates different radiation tolerance profile. Our results pointed that the green strain is better adapted to high irradiance levels than the red and brown strains.

**Keywords:** *Gracilaria domingensis*, strains, environmental stress, protein, phycobiliprotein, carotenoids.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espectro de absorção de luz dos pigmentos fotossintético .....	4
Figura 2: Ciclo das xantofilas. ZE representa zeaxantina-epoxidase e VDE a violaxantina de-epoxidase .....	5
Figura 3: Ficobilissomo em corte transversal para expor a aloficocianina. PE representa ficoeritrina, PC ficocianina, AFC aloficocianina, PSI fotossistema I e PSII fotossistema II. ....	6
Figura 4: Variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> (marrom, verde e vermelha) .....	11
Figura 5: Localização da área de estudo (Rio do Fogo-RN) .....	12
Figura 6: Área de coleta em Rio do Fogo-RN (poças de maré na zona intertidal) .....	13
Figura 7: Oscilação nos valores de salinidade durante o período de estudo .....	20
Figura 8: Variação da temperatura da água durante os meses de coleta .....	21
Figura 9: Oscilação do pH durante o período de estudo.....	21
Figura 10: Oscilação na concentração de ortofosfato na água do mar .....	22
Figura 11: Variações da concentração de nitrato (NO <sub>3</sub> ) durante o período de estudo ...	23
Figura 12: Variações na concentração do nitrito (NO <sub>2</sub> ) durante o período de estudo....	23
Figura 13: Oscilações na concentração do íon amônio (NH <sup>4+</sup> ) durante o período de estudo .....	24
Figura 14: Níveis de precipitação pluviométrica durante os meses de estudo .....	25
Figura 15: Níveis de radiação (PAR) obtidos durante o período de estudo .....	26
Figura 16: Oscilações na concentração de proteínas totais solúveis nas linhagens verde, vermelho e marrom. As linhagens estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	29
Figura 17: Concentração de ficoeritrina nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> , durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	33
Figura 18: Concentração de ficocianina nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> , durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	36
Figura 19: Razão ficocianina/ficoeritrina nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	37
Figura 20: Perfil Cromatográfico dos pigmentos de <i>G. domingensis</i> e o espectro de UV dos picos.....	38
Figura 21: Concentração de clorofila- <i>a</i> nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	40
Figura 22: Concentração de carotenóides totais nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	43

Figura 23: Razão carotenóide totais/clorofila-a nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	44
Figura 24: Concentração de $\beta$ -caroteno nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	45
Figura 25: Concentração de $\beta$ -caroteno em relação a concentração de clorofila-a nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	47
Figura 26: Concentração das xantofilas totais nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	49
Figura 27: Razão xantofilas totais/clorofila-a nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	49
Figura 28: (a) Concentração das xantofilas, zeaxantina (amarela), anteraxantina (laranja) e violaxantina (roxo) na linhagem vermelha de <i>G. domingensis</i> . (b) Concentração das xantofilas, zeaxantina, anteraxantina e violaxantina na linhagem verde e (c) Concentração das xantofilas, zeaxantina, anteraxantina e violaxantina na linhagem marrom.....	50
Figura 29: (a) Razão zeaxantina/xantofilas (amarela), anteraxantina/xantofilas (laranja) e violaxantina/xantofilas (roxo) na linhagem vermelha de <i>G. domingensis</i> . (b) Razão zeaxantina/xantofilas (amarela), anteraxantina/xantofilas (laranja) e violaxantina/xantofilas (roxo) na linhagem verde e (c) Razão zeaxantina/xantofilas (amarela), anteraxantina/xantofilas (laranja) e violaxantina/xantofilas (roxo) na linhagem marrom.....	51
Figura 30: Concentração de violaxantina nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	53
Figura 31: Razão violaxantina/xantofilas totais nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	55
Figura 32: Concentração de anteraxantina nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	56
Figura 33: Razão anteraxantina/xantofilas totais nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.....	58
Figura 34: Concentração de zeaxantina nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	59
Figura 35: Razão zeaxantina/xantofilas totais nas variantes cromáticas de <i>G. domingensis</i> durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Gradiente utilizado para separação dos carotenóides .....	16
Tabela 2: Concentrações utilizadas na curva padrão para quantificação das proteínas totais solúveis .....	17
Tabela 3: Variação nos parâmetros ambientais.....	19
Tabela 4: Comparação entre os valores médios de proteínas nas três linhagens (Student Newman Keuls) .....	26
Tabela 5: Comparação entre os níveis de proteína nos meses de estudo (Student Newman Keuls).....	27
Tabela 6: Comparação entre os valores médios de ficoeritrina nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls) .....	30
Tabela 7: Comparação entre os níveis de ficoeritrina nos meses de estudo (Student Newman Keuls).....	31
Tabela 8: Comparação entre os valores médios de ficocianina nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls) .....	34
Tabela 9: Comparação entre os níveis de ficoeritrina nos meses de estudo (Student Newman Keuls).....	34
Tabela 10: Comparação entre os valores médios de clorofila- <i>a</i> nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls) .....	39
Tabela 11: Comparação entre os níveis de clorofila- <i>a</i> nos meses de estudo (Student Newman Keuls).....	40
Tabela 12: Comparação entre os valores médios de carotenóides totais nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls).....	42
Tabela 13: Comparação entre os valores médios de $\beta$ -caroteno nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls): .....	45
Tabela 14: Comparação entre os níveis de $\beta$ -caroteno nos períodos de estudo (Student Newman Keuls).....	45
Tabela 15: Comparação da concentração de violaxantina nas três linhagens de <i>G. domingensis</i> (Student Newman Keuls) .....	53
Tabela 16: Comparação da concentração de violaxantina entre os meses de estudo (Student Newman Keuls) .....	54
Tabela 17: Comparação da concentração de anteraxantina no mês de janeiro entre as três linhagens de <i>G. domingensis</i> (Student Newman Keuls).....	56
Tabela 18: Comparação da concentração de anteraxantina entre os meses de estudo (Student Newman Keuls) .....	57
Tabela 19: Comparação da concentração de zeaxantina entre as três linhagens de <i>G. domingensis</i> (Student Newman Keuls) .....	59
Tabela 20: Comparação da concentração de zeaxantina entre os meses de estudo (Student Newman Keuls) .....	60

## SUMÁRIO

1.	Introdução.....	1
2.	Objetivos.....	8
	Objetivo Geral: .....	9
	Objetivos Específicos: .....	9
3.	Materiais e Métodos .....	10
3.1	Macroalga utilizada no estudo .....	11
3.2	Local de Estudo .....	12
3.3	Amostragem.....	14
3.4	Parâmetros Ambientais .....	14
3.5	Pigmentos fotossintéticos .....	14
3.5.1	Ficobiliproteínas.....	15
3.5.2	Carotenóides.....	15
3.6	Proteínas Totais Solúveis.....	16
3.7	Análises Estatísticas.....	17
4.	Resultados.....	18
4.1	Parâmetros Ambientais .....	19
4.1.1	Salinidade .....	19
4.1.2	Temperatura da água .....	20
4.1.3	pH.....	21
4.1.4	Ortofosfato .....	22
4.1.5	Nitrato.....	22
4.1.6	Nitrito .....	23
4.1.7	Íon Amônio .....	24
4.1.8	Precipitação e Radiação Solar .....	24
4.2	Proteínas Totais Solúveis.....	26
4.3	Pigmentos Fotossintéticos Hidrossolúveis.....	30
4.3.1	Ficobiliproteínas.....	30
4.4	Pigmentos Fotossintéticos Lipossolúveis .....	37
4.4.1	Clorofila- <i>a</i> .....	39
4.4.2	Carotenóides Totais.....	42
	$\beta$ -caroteno.....	44
	Xantofilas .....	48
	Violaxantina .....	52
	Anteraxantina .....	52

	Zeaxantina .....	55
5.	Discussão .....	63
6.	Referências .....	72

# *1. Introdução*

As macroalgas são os maiores produtores de biomassa no ecossistema marinho e contribuem substancialmente para o sequestro de carbono em áreas costeiras (Häder & Figueroa, 1997; Häder et al., 1998 ; Dhargalkar *et al.*, 2001). Estes organismos possuem uma grande importância ecológica, pois estão na base de uma intrincada teia alimentar e servem como fonte de alimento e abrigo para peixes, crustáceos, moluscos e outros animais em seus diferentes estágios de desenvolvimento (Häder et al, 2002). Devido a essas propriedades, as macroalgas são um dos organismos mais importantes na manutenção da estabilidade do ecossistema (Dere et al, 2003). Além disso, as algas também são economicamente importantes, sendo anualmente coletadas milhões de toneladas para produção de alimentos e biotecnologias (Häder & Figueroa, 1997).

Ao contrário do fitoplâncton, macroalgas marinhas não podem se mover na coluna d'água, sendo em sua maioria sésseis, portanto restrita ao seu local de crescimento. Como consequência dessa limitação na mobilidade, as algas desenvolveram variadas estratégias fisiológicas para regular a atividade fotossintética e suportar as diferentes condições do ambiente onde vivem, principalmente mudanças na radiação (Häder & Figueroa, 1997; Häder et al, 2002). Fortes correlações ocorrem entre a morfologia, estratégia de vida e traços ecofisiológicos da macroalga e a região onde habitam (Choo et al, 2005).

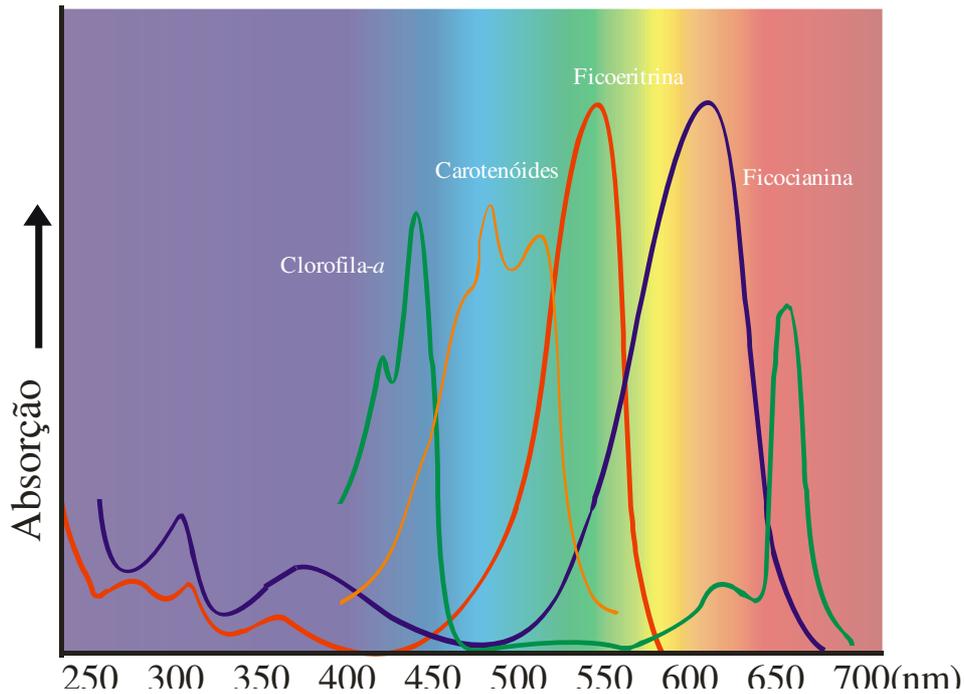
No ambiente marinho as algas exibem um distinto e definido padrão de distribuição vertical. Algumas espécies habitam a zona intertidal, estando adaptadas as variações na maré, ficando exposta durante a maré baixa e submersas na maré alta; outras não suportam elevadas radiações e ficam restritas ao sublitoral, estando permanentemente submersas. Essa distribuição das algas é determinada principalmente pelo gradiente de luz (Ramus, 1976; López-Figueroa & Niel, 1990; Mercado et al., 2002; Skriptsova & Yakovleva, 2002). No entanto, a luz não é o único fator a determinar essa distribuição. A capacidade de absorver os nutrientes e resistir as variações na salinidade, temperatura e hidratação são outros fatores determinantes (Benson et al., 1983).

Na maré baixa, as macroalgas que habitam a zona intertidal são obrigadas a suportar extremas variações de hidratação, temperatura e radiação solar, sendo complexo o efeito desses fatores no aparato fotossintético (Benson et al., 1983; Ursi et al., 2003; Andersson et al., 2006). Em regiões tropicais, principalmente durante o verão,

essas variações são mais acentuadas e as algas recebem níveis elevadíssimos de radiação fotossinteticamente ativa (400-700 nm), a qual menos de um quarto é o suficiente para saturar o sistema fotossintético (Beach & Smith, 1996). Além disso, nessas áreas a radiação ultravioleta (290-400 nm) é o dobro da radiação de latitudes superiores (Beach et al., 2000). Dessa forma, algas de zona intertidal e principalmente de regiões tropicais exibem mecanismos adaptativos para sobreviver a essa forte pressão seletiva (Häder & Figueroa, 1997; Häder et al., 2002; Ursi et al., 2003; Gómez et al., 2005; Andersson et al., 2006).

Os principais mecanismos em resposta a variação na radiação ocorrem no sistema fotossintético e requerem da alga aclimação às condições de sub e supersaturação por luz. Proteção contra os efeitos nocivos da superexcitação pela supersaturação de luz é um mecanismo fundamental na sobrevivência da alga na zona intertidal (Häder et al., 2002; Andersson et al., 2006). Os pigmentos, carotenóides e ficobiliproteínas atuam em mecanismos de proteção contra o excesso de luz e desempenham papel chave na fotossíntese, auxiliando na absorção de luz e na transferência de energia radiante para os centros de reação. Além disso, os carotenóides, principalmente os do ciclo da xantofila, protegem o aparato fotossintético contra fotodanos, dissipando o excesso de energia em calor (Ursi et al., 2003; Andersson et al., 2006; Schubert et al., 2006). Adicionalmente, esses pigmentos fazem parte do sistema não-enzimático de defesa antioxidante e ajudam a atenuar danos oxidativos (Rice-Evans et al., 1996).

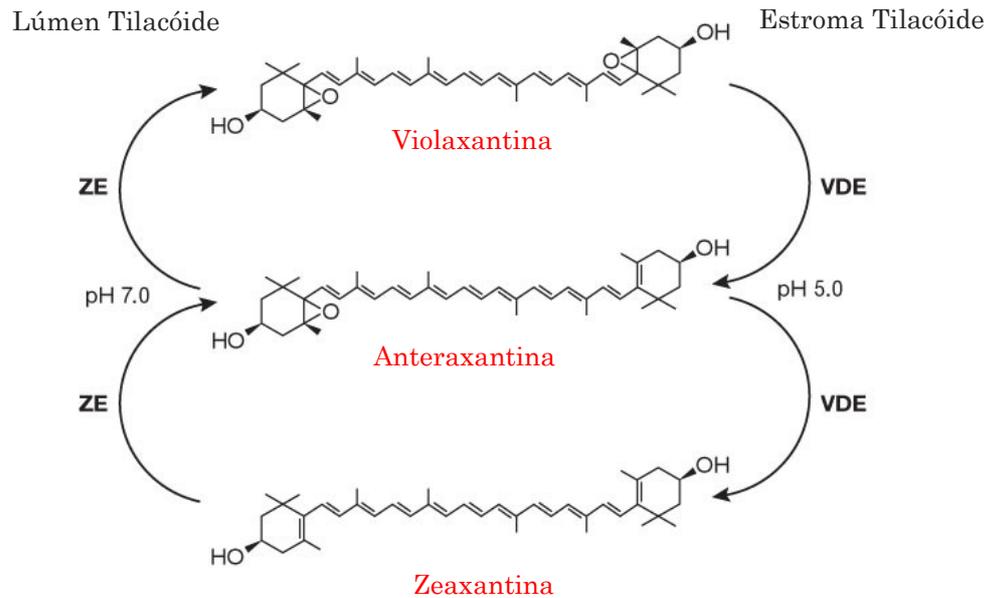
Os carotenóides estão entre os pigmentos mais abundantes na natureza, possuindo uma ampla variedade de funções nos organismos vivos (Zigmantas et al., 2002; Schubert et al., 2006). Nos organismos fotossintéticos, ao lado do importante papel na regulação do fluxo da energia absorvida, os carotenóides servem predominantemente como pigmento acessório na captação da luz, absorvendo eficientemente no espectro de 450-550 nm, regiões espectrais complementares às das clorofilas (Pinto, 2002) (**Figura 1**). Esses pigmentos transferem a energia absorvida para as moléculas de clorofila, que direciona para os centros de reação (Zigmantas et al., 2002).



**Figura 1:** Espectro de absorção de luz dos pigmentos fotossintético

A presença ou ausência de certos carotenóides ou sua relativa concentração oferece informações sobre a possível aclimação ou respostas de fotoproteção do organismo (Marquardt & Hanelt, 2004; Zigmantas et al, 2002). A presença de carotenóides, envolvidos no ciclo da xantofila, indica possivelmente uma resposta fotoprotetora (Niyogi et al, 1997).

O termo caroteno designa um carotenóide constituído somente por hidrogênio e carbono, enquanto a xantofila refere-se ao carotenóide que apresenta um ou mais grupos funcionais contendo oxigênio (Schubert et al, 2006). O ciclo das xantofilas consiste na rápida conversão da violaxantina em zeaxantina, via anteraxantina, em condições de estresse por luz (supersaturação) (**Figura 2**). Essa reação é revertida no escuro ou em condições de subsaturação luminosa (Pandey et al, 2004; Demming-Adams & Adams, 1996; Demming-Adams & Adams, 1992).

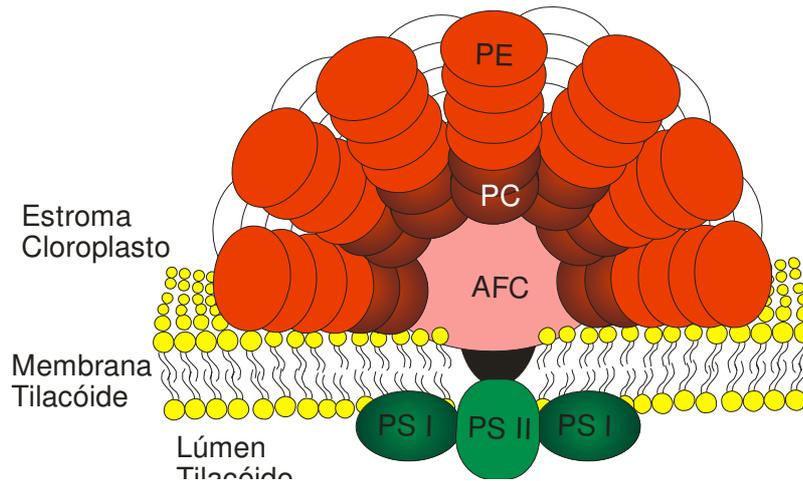


**Figura 2:** Ciclo das xantofilas. ZE representa zeaxantina-epoxidase e VDE a violaxantina de-epoxidase

Ficobilissomo é outro eficiente sistema de transferência de energia para o centro de reação do fotossistema II, sendo um único ficobilissomo capaz de transferir energia para quatro ou mais centros. Cada porção do ficobilissomo é composta pelos pigmentos protéicos ficoeritrina e ficocianina, os quais estão empilhados sobre a aloficocianina (Talarico & Maranzana, 2000; Grossmann et al, 1993) (**Figura 3**). As ficobiliproteínas absorvem no espectro de 450-660 nm (**Figura 1**) e a energia é transferida via:



este último, constitui o núcleo do ficobilissomo e está acoplado aos aceptores terminais, sendo o componente mais estável e considerado pigmento membrana (Talarico & Maranzana, 2000; Grossmann et al, 1993). Em contraste a aloficocianina, a ficoeritrina e a ficocianina, podem variar consideravelmente, a curto ou longo prazo, dependendo das condições do ambiente, tais como, quantidade e qualidade da luz, disponibilidade de nutrientes (especialmente nitrogênio), variações sazonais, etc (Talarico & Maranzana, 2000).



**Figura 3:** Ficobilissomo em corte transversal para expor a aloficocianina. PE representa icoeritrina, PC ficocianina, AFC aloficocianina, PSI fotossistema I e PSII fotossistema II.

A quantidade relativa de clorofila-*a* e pigmentos acessórios, como os pigmentos carotenóides e ficobiliproteínas, varia nas diferentes espécies. A variação na proporção destes pigmentos resulta na diversidade de cores das macroalgas e suas diferentes estratégias de aclimatação. A concentração desses pigmentos é afetada por fatores ambientais (Schubert et al, 2006; Dere et al., 2003) e as espécies apresentam variadas composições pigmentar.

O gênero *Gracilaria* se encontra comumente distribuído na zona intertidal, exibindo variados mecanismos fisiológicos em resposta as alterações ambientais (Gómez et al, 2005). Devido a esta plasticidade, ocorre freqüentemente mutantes de variantes cromáticas, exibindo plantas laranja, marrom, verde, amarelo, rosa e roxo. (Guimarães et al., 2003). Esse tipo de variação intra-clonal ocorre por diferenças significativas no fenótipo entre os ramos, derivada de alguns genes a qual pode resultar de um único ou da interação de efeitos provocados por diversos fatores. Esses fatores incluem diferenças no microambiente circundante de cada ramo durante o crescimento, diferenças fisiológicas ou no desenvolvimento entre ramos geneticamente iguais, patógenos afetando apenas parte dos genes e alterações genéticas localizadas (Santelices et al, 1996; Santelices, 2001). Eventualmente, um fragmento do clone pode se desprender da planta e propagar-se dentro da população, exibindo novas variantes cromáticas ou morfológicas (Santelices & Varela, 1993).

Algumas variações cromáticas ocorrem espontaneamente (Plastino et al, 1999; Costa & Plastino, 2001), enquanto outras são produzidas em laboratório. A mutação

induzida por tratamento químico em laboratório eleva a taxa de mutação e produz variados fenótipos. A ocorrência de variantes cromáticas em populações naturais depende da taxa de mutação, enquanto que a manutenção do polimorfismo depende da adaptação (*fitness*) da alga (Guimarães et al, 2003). No ambiente natural as mutações ocorrem principalmente devido às condições ambientais impostas ou por uma combinação particular de genes (Meneses & Santelices, 1999).

Variações cromáticas têm sido observadas em muitas espécies de macroalgas (Yokoya et al, 2007; Ferreira et al, 2006; Muñoz et al, 2004; Guimarães et al, 2003; Santelices, 2001; Plastino et al, 1999) e a frequência de mutações espontâneas em Rhodophyta varia de espécie para espécie e de linhagem para linhagem. Linhagens cromáticas têm sido amplamente utilizadas como ferramenta nos estudos de ciclo de vida, estratégias fotossintéticas, reprodução, genética e alterações morfológicas (Ferreira et al., 2006; Guimarães et al., 2003; Santelices, 2001; Plastino et al., 1999).

O conhecimento dos efeitos da radiação solar sobre a capacidade fotossintetizante das macroalgas e a sua importância sobre as estratégias de crescimento tem sido registrado por alguns autores (Aguirre-von-Wobeser et al, 2000; Cabello-Pasini et al, 2000). Vários estudos comprovam que algumas espécies de macroalgas apresentam estratégias fotobiológicas e podem ser capazes de exibir um aumento significativo no conteúdo de seus pigmentos fotossintetizantes em resposta às diferentes profundidades e condições de luz disponíveis nos seus habitats (Gómez et al, 2005; Figueroa & Gómez, 2001). A espécie *Gracilaria domingensis* é uma espécie frequentemente encontrada no litoral do Rio Grande do Norte e apresenta uma ampla variação cromática em populações naturais, apresentando-se comumente nas cores verde, vermelho e marrom.

## *2. Objetivos*

***Objetivo Geral:***

Este trabalho teve como objetivo geral o estudo do perfil protéico e pigmentar das variantes cromáticas (vermelha, verde e marrom) de *Gracilaria domingensis* e a alteração deste perfil em função dos parâmetros ambientais em uma escala temporal.

***Objetivos Específicos:***

Avaliar a concentração de proteínas totais solúveis nas variantes cromáticas de *G. domingensis* (vermelha, verde e marrom) coletadas em populações naturais por um período de dez meses.

Avaliar a concentração de ficobiliproteínas (ficoeritrina e ficocianina) nas variantes cromáticas de *G. domingensis* (vermelha, verde e marrom).

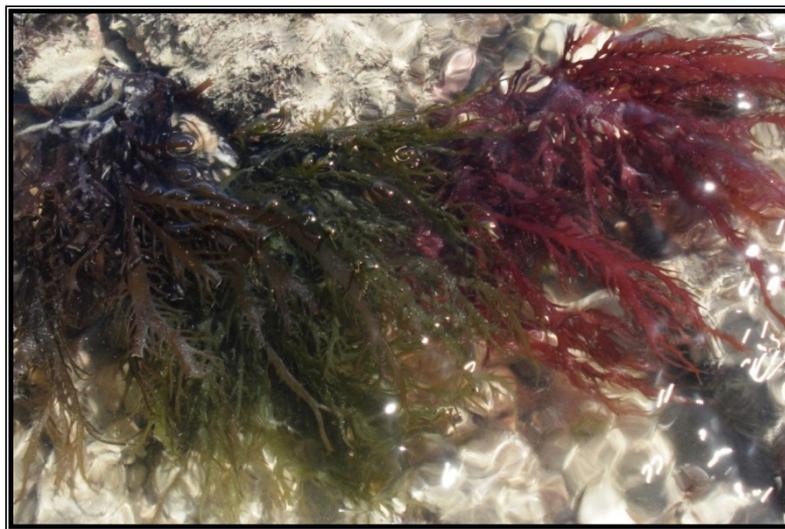
Avaliar a concentração da clorofila-*a* e pigmentos carotenóides nas variantes cromáticas de *G. domingensis* (vermelha, verde e marrom).

### *3. Materiais e Métodos*

### 3.1 Macroalga utilizada no estudo

A Rhodophyta *Gracilaria domingensis* (Sonder ex Kützing) Dickie (**Figura 4**) é uma espécie comumente encontrada na costa brasileira, ocorrendo desde o Estado do Ceará até Santa Catarina, freqüentemente em associação com outras espécies de *Gracilaria* na zona intertidal (Oliveira, 1998; Guimarães et al, 2003). Esta espécie ocorre durante todo o ano e apresenta um forte potencial econômico, pois é produtora de ficocolóide e utilizada como alimento *in natura* na dieta humana, sendo coletada esporadicamente e exportada para o mercado alimentício japonês (Oliveira, 1998).

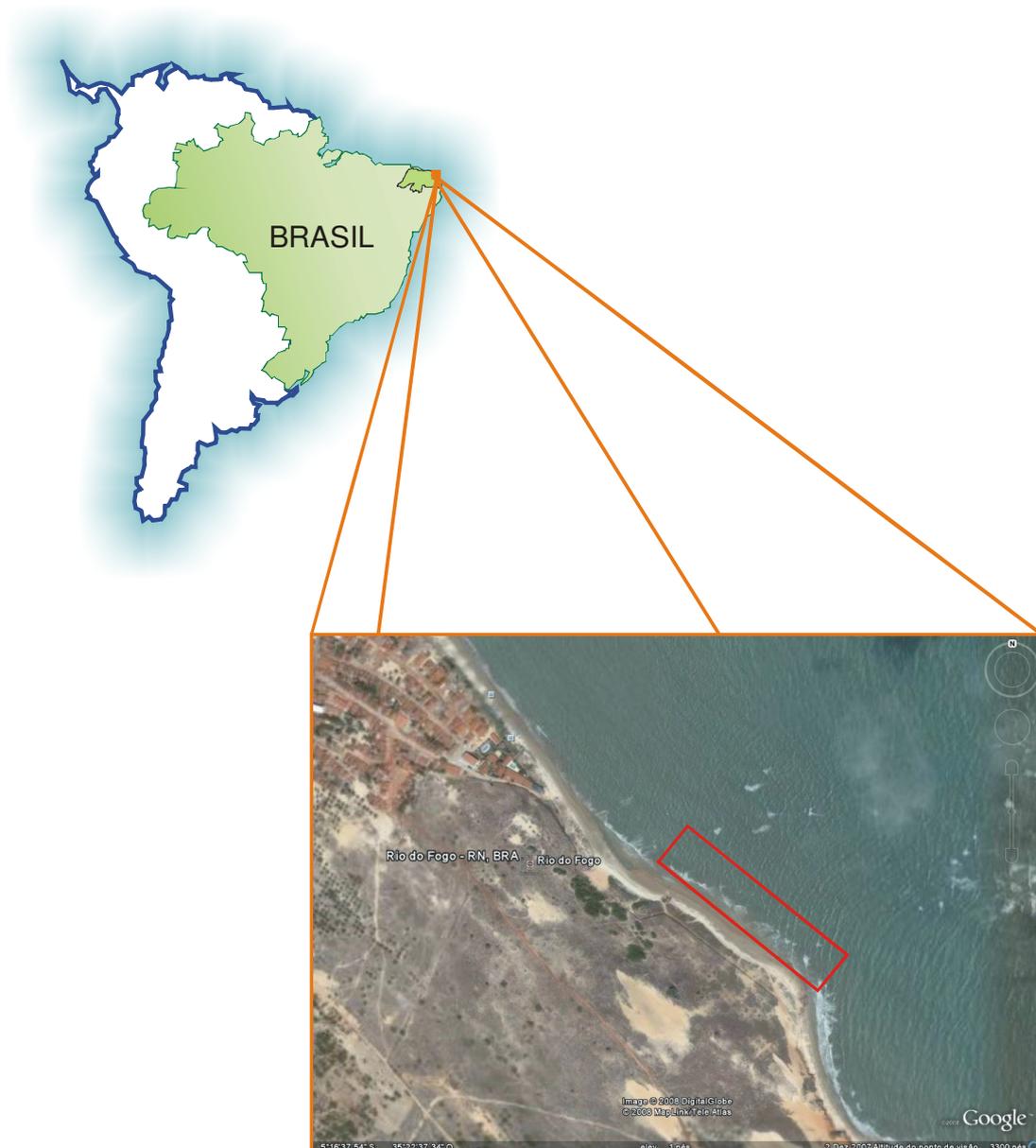
*G. domingensis* pode chegar a 35 cm de altura e é densamente ramificada em um só plano, principalmente junto à base. Esta alga é amplamente distribuída no litoral do Rio Grande do Norte, facilmente encontrada fixa a arrecifes, onde estão expostas a fatores de estresses que exigem respostas fisiológicas rápidas. Organismos de diferentes cores (vermelho, verde, roxo e marrom) e variações morfológicas são facilmente observados na maré baixa.



**Figura 4:** Variantes cromáticas de *G. domingensis* (marrom, verde e vermelha).

### **3.2 Local de Estudo**

O estudo foi realizado no Município de Rio do Fogo (5° 16'37.54" Sul; 35° 22'37.34" Oeste), localizado no litoral Oriental do Rio Grande do Norte, a 81 km de Natal (RN) (**Figura 5**). Rio do Fogo apresenta uma grande extensão de praias semi-desertas, prevalecendo na economia local a pesca artesanal e o turismo. Junto com os municípios de Touros e Maxaranguape, Rio do Fogo faz parte da Área de Proteção Ambiental (APA) dos Recifes de Corais e é uma importante região de preservação da biodiversidade marinha.



**Figura 5:** Localização da área de estudo (Rio do Fogo-RN).

O município possui um clima do tipo tropical chuvoso com verão seco e estação chuvosa adiantando-se para o outono, período chuvoso de março a agosto, temperatura média anual em torno de 25,8°C e umidade relativa média anual de 75%, possuindo menos de 100 metros de altitude (IDEMA, 2007).

As praias de Rio do Fogo apresentam uma grande diversidade de macroalgas marinhas, sendo observada uma grande quantidade de espécies do gênero *Gracilaria* crescendo fixa a arrecifes de arenito por toda a zona intertidal (**Figura 6**).



**Figura 6:** Área de coleta em Rio do Fogo-RN (poças de maré na zona intertidal).

### **3.3 Amostragem**

As algas foram coletadas mensalmente durante um período de dez meses (julho de 2007 a abril de 2008), em maré baixa. Para determinação dos pigmentos foram coletados apenas alguns ramos da alga, permitindo sua recuperação e preservação no ambiente natural. A amostragem foi feita de forma quantitativa (n=9) e aleatória estratificada, já que a população foi inicialmente dividida em estratos (variantes cromáticas) e uma subamostra selecionada a partir de cada estrato da população.

O material coletado foi armazenado em caixa isotérmica e transportado para o laboratório, onde foi selecionado, limpo com água do mar filtrada, gentilmente seco com papel toalha e imediatamente congelado, para posterior análise de pigmentos (n=9).

### **3.4 Parâmetros Ambientais**

Os dados de temperatura, salinidade, pH e nutrientes dissolvidos ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ ), foram determinados mensalmente, simultaneamente a coleta das algas.

A análise da água coletada para os nutrientes dissolvidos foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Strickland & Parsons (1972).

Os dados de precipitação pluviométrica e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foram obtidos no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). A precipitação foi obtida somando-se os valores diários de cada mês e para o PAR foi feita uma média mensal a partir de uma medida diária (entre 11hs e 14hs).

Os valores do mês de junho de 2007 foram utilizados, apesar da primeira coleta ter sido realizada em julho, pois representam as condições de luz que as algas enfrentavam antes da primeira coleta (julho de 2007).

### **3.5 Pigmentos fotossintéticos**

Todos os procedimentos de extração dos pigmentos foram realizados ao abrigo da luz e em temperatura baixa (0-10°C).

Para extração foram utilizadas apenas regiões apicais das algas que foram liofilizadas até obtenção de um peso constante ( $\pm 30$ hs).

### 3.5.1 Ficobiliproteínas

A extração das ficobiliproteínas foi feita através da maceração de 90mg (peso seco) das algas em N<sub>2</sub> (líquido). O macerado foi suspenso em 5 mL de tampão fosfato 0,1M (pH = 6,8) e misturado em *vortex* até homogeneização. A mistura foi levada à geladeira, para extração durante 12hs. A solução foi centrifugada por 20 min a 10000g e o sobrenadante coletado e imediatamente quantificado em fluorímetro nos comprimentos de onda A<sub>455</sub>, A<sub>564</sub>, A<sub>592</sub>, A<sub>618</sub> e A<sub>645</sub> nm.

As concentrações foram calculadas de acordo com as Equações propostas por Beer & Eshel (1985):

$$E = [(A_{564} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) * 0,20] * 0,12$$

$$C = [(A_{618} - A_{645}) - (A_{592} - A_{645}) * 0,51] * 0,15$$

onde, E é a ficoeritrina (mg.mL<sup>-1</sup>) e C a ficocianina (mg.mL<sup>-1</sup>).

### 3.5.2 Carotenóides e Clorofila-a

A extração dos pigmentos carotenóides também foi feita através da maceração em N<sub>2</sub> (líquido). Para estes pigmentos foram utilizados 75 mg (peso seco) de alga (ápices). Ao macerado foi adicionado 1,5 mL metanol:dimetilformamida (1:1), em seguida homogeneizado em *vortex* (aproximadamente 1 minuto) e submetido ao banho de ultra-som por 15 minutos ( $\pm 10$  °C). O solvente foi mantido em contato com o macerado por 12hs (geladeira) e em seguida, centrifugado (10000rpm, 5min). Alíquotas do sobrenadante (1,2 mL) foram liofilizadas em *speed-vac* e ressuspendido em 500  $\mu$ L de metanol (100%). O extrato foi novamente submetido ao banho ultra-som ( $\pm 10$ °C; 15 minutos) e filtrado em membrana de 0,45 $\mu$ m. Alíquotas do extrato (4mg.mL<sup>-1</sup>) foram injetadas em HPLC (High Performance Liquid Chromatography), e a concentração dos pigmentos calculadas em  $\mu$ g/mg de peso seco.

O detector de UV foi acoplado ao HPLC, juntamente com o eletroquímico, afim de obter mais informações sobre os picos.

Foi utilizada uma coluna C<sub>30</sub> e injetou-se 50µL da amostra, em fluxo de 1mL.min<sup>-1</sup>, 445nm. A análise dos pigmentos foi feita seguindo a metodologia proposta por Guaratini (2008), que utiliza tampão acetato de amônio 1,0mol.L<sup>-1</sup> pH=4,6, sendo a fase móvel composta por A = metanol : água : tampão (90:8:2) e B = metanol : metil-terc-butil : tampão (30:68:2) em gradiente de eluição como descrito na **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Gradiente utilizado para separação dos carotenóides.

<b>Tempo (min)</b>	<b>%B</b>
0	5
15	10
25	10
35	15
40	40
42	45
62	100
63	100
68	100

A identificação dos pigmentos nas amostras foi efetuada através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de UV com os respectivos padrões. Para o cálculo das concentrações dos pigmentos foram empregadas curvas de calibração previamente obtidas e relacionadas ao peso seco da alga.

Soluções estoque de anteraxantina (0,625 mg.mL<sup>-1</sup>), violaxantina (0,814 mg.mL<sup>-1</sup>), zeaxantina (0,591 mg.mL<sup>-1</sup>), em etanol, foram obtidas da DHI Water & Environmental (Copenhagen, Denmark) e estocadas a -80°C. β-caroteno e clorofila *a*, foram obtidas da Sigma (St. Louis, USA).

### **3.6 Proteínas Totais Solúveis**

O teor de proteínas totais solúveis foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando o Kit BioRad Protein Assay (BioRad, Germany). A quantificação foi

feita recolhendo-se 50  $\mu\text{L}$  do extrato (sobrenadante) obtido no preparo para análise das ficobiliproteínas, para um *ependorff* contendo 750 $\mu\text{L}$  de água *Mili-Q*. A essa solução foi acrescentado 200 $\mu\text{L}$  do reagente BioRad. Após o desenvolvimento da cor (5 minutos) foram realizadas as leituras espectrofotométricas no comprimento de onda de 595 nm, em leitor de microplacas. Os resultados foram comparados com soluções padrões de albumina bovina (BSA) na faixa de concentração de 0 a 10 $\mu\text{g. L}^{-1}$ , conforme descrito na **Tabela 2**.

**Tabela 2:** Concentrações utilizadas na curva padrão para quantificação das proteínas totais solúveis.

<b>Tubo</b>	<b>Concentração de BSA</b>	<b>BSA (0,1mg/mL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O</b>	<b>Bradford</b>
1	2 $\mu\text{g/mL}$	20 $\mu\text{L}$	780 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
2	4 $\mu\text{g/mL}$	40 $\mu\text{L}$	760 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
3	6 $\mu\text{g/mL}$	60 $\mu\text{L}$	740 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
4	8 $\mu\text{g/mL}$	80 $\mu\text{L}$	720 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
5	10 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{L}$	700 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
Branco	-----	-----	800 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$

### 3.7 Análises Estatísticas

O software SigmaStat® 3.1 (Systat Software, 2004) foi utilizado para as análises estatísticas. Os dados foram analisados inicialmente, por meio de medida de tendência central (média), medidas de dispersão (desvio padrão) e verificação da normalidade e homocedasticidade da distribuição. A diferença nos valores dos parâmetros ambientais, entre os diferentes meses de estudo, foram testados através de análise de variância (ANOVA one-way ou seu correspondente não-paramétrico Kruskal-Wallis). As diferenças na concentração média de proteínas e pigmentos entre as diferentes linhagens de *G. domingensis* e entre os diferentes meses de estudo foram testados através da análise de variância (ANOVA two-way), acompanhadas de testes Student New-Keauls para comparações múltiplas (testa as diferenças entre as amostras par a par). As concentrações protéicas e pigmentares de cada linhagem foram correlacionadas (através de regressão múltipla) com os parâmetros ambientais, para estimar o efeito destes parâmetros em cada linhagem estudada.

## *4. Resultados*

#### 4.1 Parâmetros Ambientais

Os dados referentes aos parâmetros ambientais e nutrientes dissolvidos na água estão resumidos na tabela que segue abaixo:

**Tabela 3:** Variação nos parâmetros ambientais:

Parâmetros Ambientais	Variação	Média ± DP	ANOVA	prob
Salinidade (PSU)	32,5 - 39,5	35,25 ± 1,55	17,14 <sup>•</sup>	<0,05 *
Temperatura (°C)	28 - 33,5	31,28 ± 1,28	17,92 <sup>•</sup>	<0,05 *
pH	8,02 - 8,57	8,34 ± 0,17	17,63 <sup>•</sup>	<0,05 *
Ortofosfato (μmol.L <sup>-1</sup> )	0,03 - 0,86	0,23 ± 0,19	24,66 <sup>•</sup>	<0,05 *
Nitrato (μmol.L <sup>-1</sup> )	0,13 - 3,95	1,57 ± 1,30	28,14 <sup>•</sup>	<0,001 **
Nitrito (μmol.L <sup>-1</sup> )	0,17 - 0,39	0,26 ± 0,07	19,40 <sup>•</sup>	<0,05 *
Íon Amônio (μmol.L <sup>-1</sup> )	0,51 - 7,59	2,24 ± 2,20	280,07 <sup>°</sup>	<0,001 **
Precipitação (mm)	16 - 560	158 ± 182,58	20,15 <sup>•</sup>	<0,05 *
PAR (μmol photons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	616,8 - 2263,9	1722,7 ± 691,4	26,21 <sup>•</sup>	<0,05 *

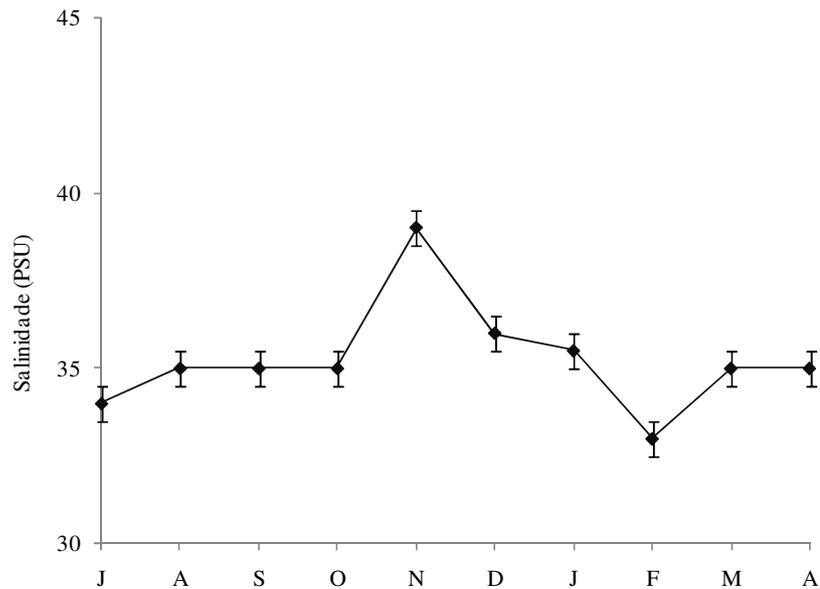
(\*): Variações significativas (p<0,05); (\*\*): Variações altamente significativas (p<0,001)

(<sup>•</sup>): H - Kruskal-wallis ANOVA

(<sup>°</sup>): Fcal - One Way ANOVA

##### 4.1.1 Salinidade

A salinidade variou significativamente durante o estudo (H=17,14; p<0,05), sendo registrado o valor máximo no mês de novembro (39 PSU) e o mínimo no mês de fevereiro (33 PSU) (**Figura 7**).

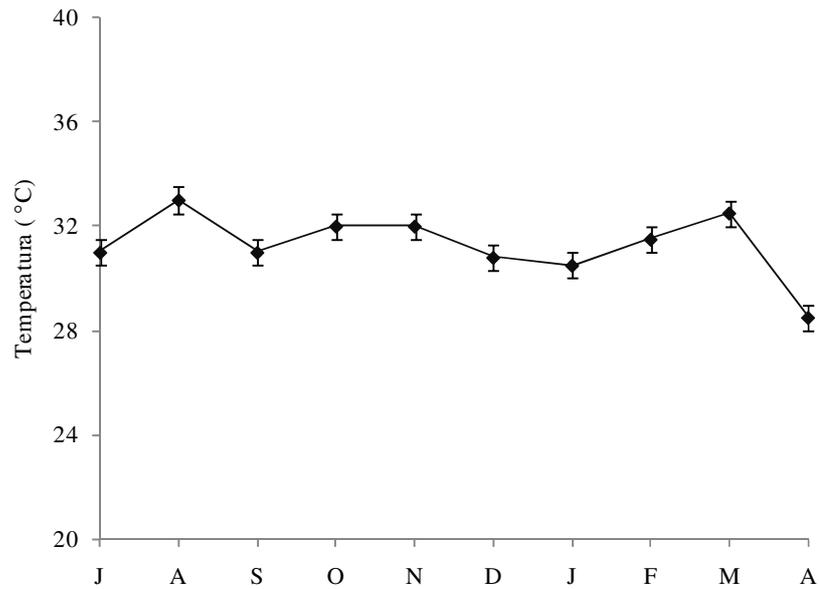


**Figura 7:** Oscilação nos valores de salinidade durante o período de estudo.

#### 4.1.2 Temperatura da água

A temperatura da água apresentou variação significativa ao longo do estudo ( $H=17,92$ ;  $p<0,05$ ), sendo observada a máxima de  $33^{\circ}\text{C}$ , no mês de agosto e a mínima de  $28^{\circ}\text{C}$ , no mês de abril (**Figura 8**).

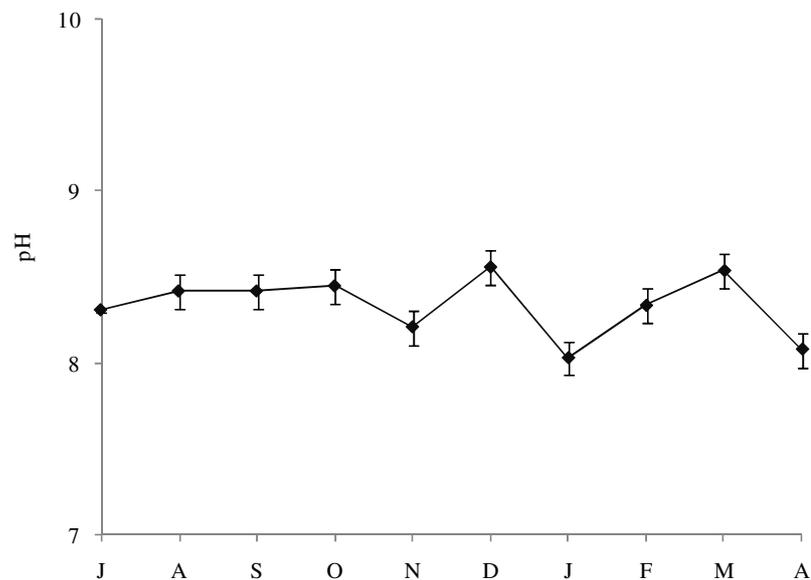
A temperatura mínima registrada no mês de abril coincidiu com aumento na precipitação durante este mês. Além disso, apesar da variação ser significativa de acordo com os testes estatísticos, a oscilação está dentro da faixa temperatura tolerável pelo gênero *Gracilaria* ( $15$  a  $40^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 8:** Variação da temperatura da água durante os meses de coleta.

#### 4.1.3 pH

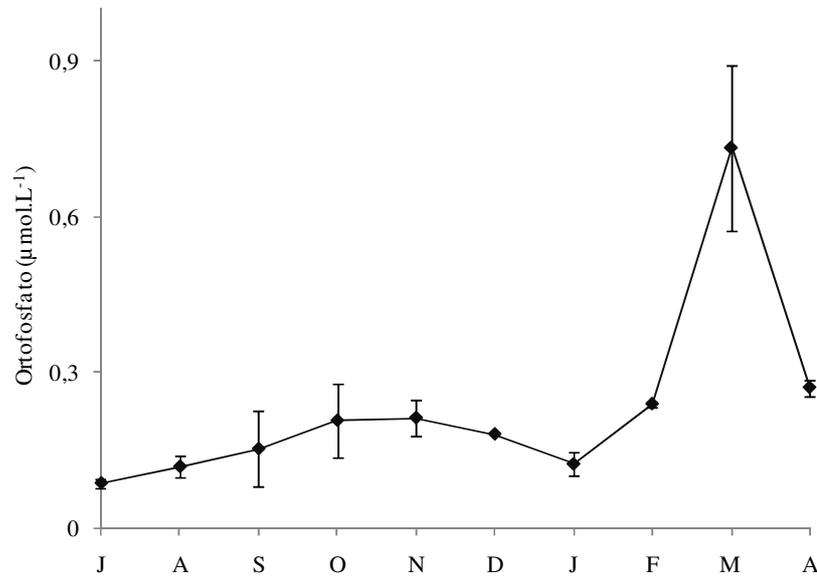
O pH também variou de forma significativa durante o período de estudo ( $H=17,63$ ;  $p<0,05$ ). O valor máximo foi alcançado no mês de março e dezembro ( $8,6 \pm 0,1$ ) e o mínimo no mês de janeiro ( $8,0 \pm 0,1$ ) (**Figura 9**).



**Figura 9:** Oscilação do pH durante o período de estudo.

#### 4.1.4 Ortofosfato

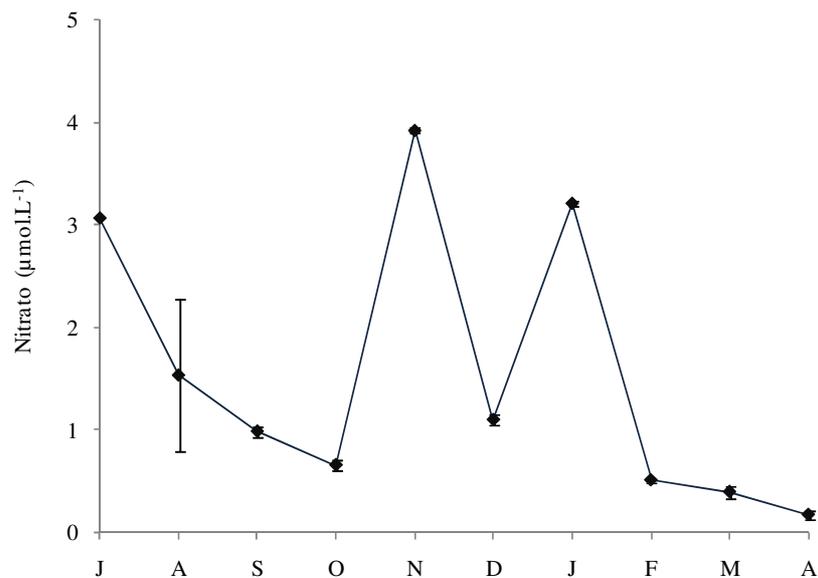
O Ortofosfato variou significativamente ( $H=24,66$ ;  $p<0,05$ ), alcançando o valor máximo no mês de março ( $0,86 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e o mínimo no mês de julho ( $0,07 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) (**Figura 10**).



**Figura 10:** Oscilação na concentração de ortofosfato na água do mar.

#### 4.1.5 Nitrato

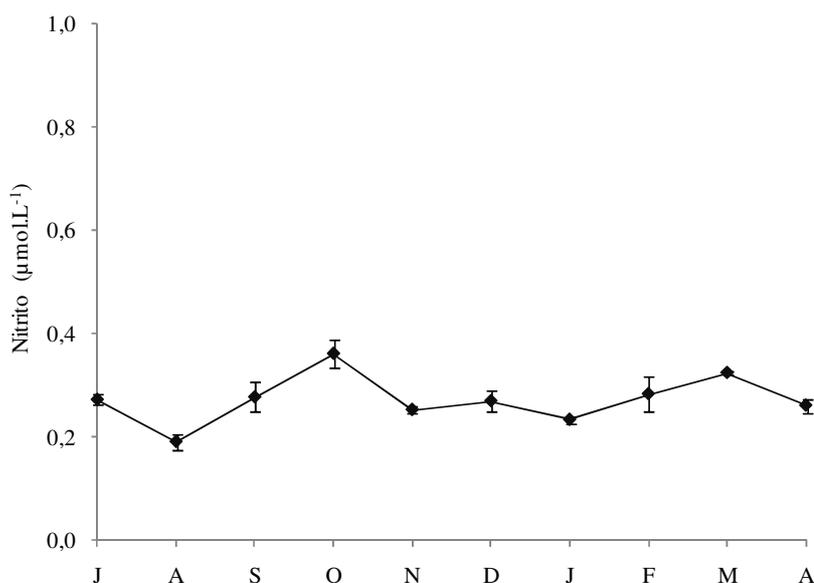
A concentração de nitrato na água do mar apresentou uma variação significativa ( $H=28,14$ ;  $p<0,001$ ), registrando-se a concentração mais elevada no mês de novembro ( $3,94 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e a mínima no mês de abril ( $0,12 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) (**Figura 11**). Nos meses de novembro e janeiro foram registrados dois grandes picos que coincidiram com um leve aumento nos níveis de precipitação.



**Figura 11:** Variações da concentração de nitrato ( $\text{NO}_3$ ) durante o período de estudo.

#### 4.1.6 Nitrito

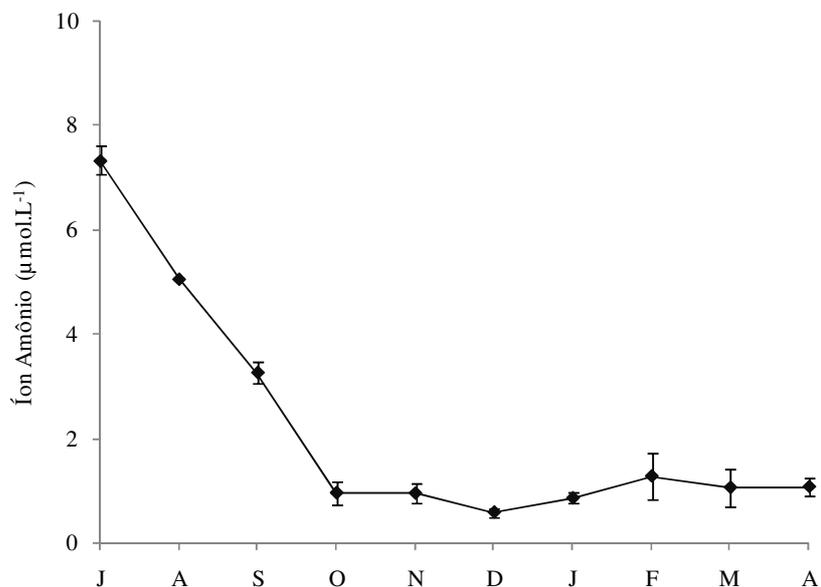
A concentração de nitrito foi mais elevada no mês de outubro ( $0,39 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e a mínima foi registrada no mês de agosto ( $0,17 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). Apesar das baixas concentrações, esse nutriente variou significativamente durante o estudo ( $H=19,40$ ;  $p<0,05$ ) (**Figura 12**).



**Figura 12:** Variações na concentração de nitrito ( $\text{NO}_2$ ) durante o período de estudo.

#### 4.1.7 Íon Amônio

O íon amônio apresentou uma variação significativa ( $F=280,06$ ;  $p<0,001$ ). Os valores máximos foram obtidos no mês de julho ( $7,59 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e o mínimo no mês de dezembro ( $0,50 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) (**Figura 13**).

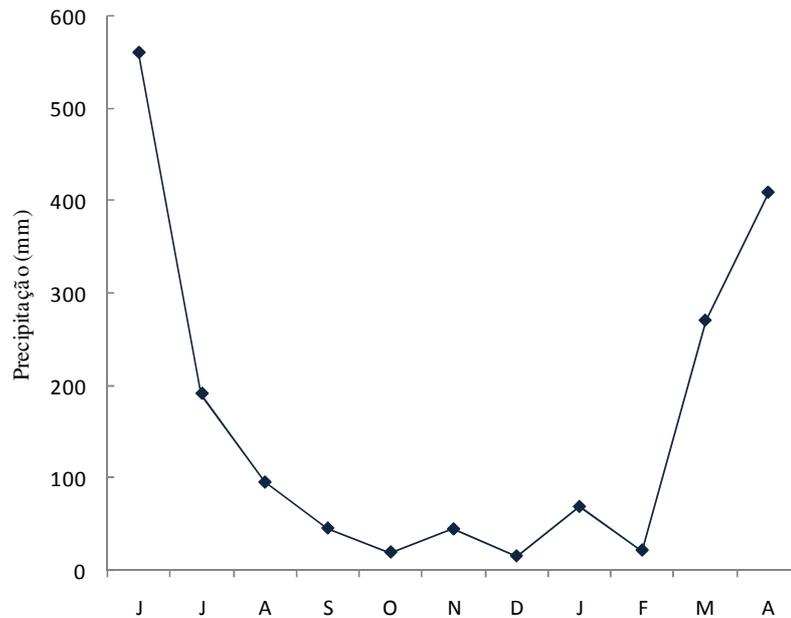


**Figura 13:** Oscilações na concentração do íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) durante o período de estudo.

#### 4.1.8 Precipitação e Radiação Solar

##### *Precipitação*

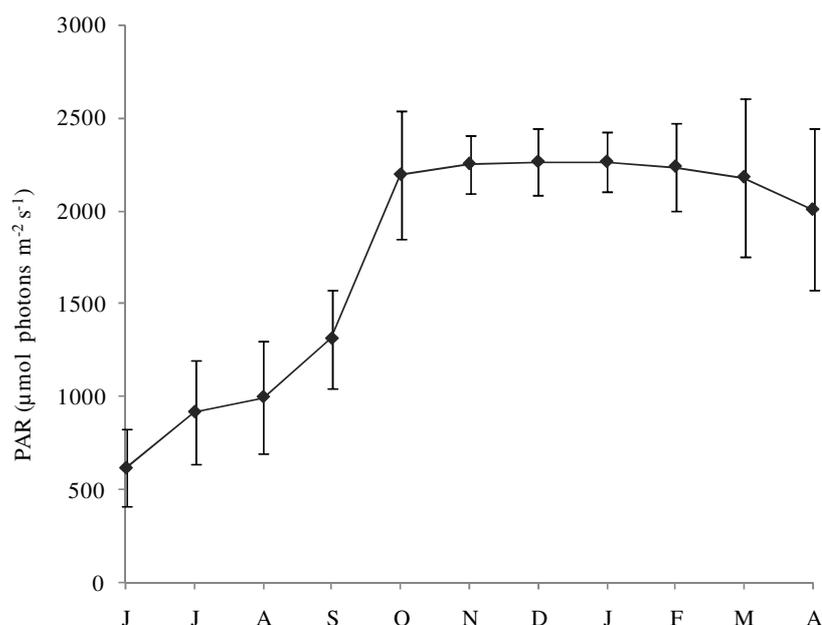
A precipitação pluviométrica variou significativamente durante o período de estudo ( $H=20,15$ ;  $p=0,028$ ) (**Figura 14**). Os maiores níveis foram registrados no mês de junho (560,4 mm) e os menores no mês de dezembro (16 mm). Nos meses de outubro e fevereiro foram registrados níveis de precipitação inferiores a 25 mm e nos meses de março e abril houve aumento nos níveis de precipitação, iniciando um novo período chuvoso.



**Figura 14:** Níveis de precipitação pluviométrica durante os meses de estudo.

#### ***Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR)***

A radiação variou significativamente durante o período de estudo ( $H=26,21$ ;  $p=0,003$ ), os valores médios mais elevados foram observados no mês de dezembro e janeiro ( $2263,7 \pm 176,2$  e  $2263,9 \pm 160,7 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e o mínimo no mês de junho ( $616,8 \pm 207,8 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (**Figura 15**). A radiação média para todo o período de estudo foi  $1722,7 \pm 691,4 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Entre junho e outubro a radiação aumentou mês a mês, permanecendo elevada de outubro a março, ocorrendo uma leve diminuição no mês de abril.



**Figura 15:** Níveis de radiação (PAR) obtidos durante os meses de estudo.

#### 4.2 Proteínas Totais Solúveis

A concentração de proteínas totais solúveis variou significativamente entre as três linhagens estudadas ( $F=31,96$ ;  $p<0,001$ ) (**Figura 16**). A maior concentração média foi registrada na variante vermelha ( $11,26 \pm 1,07 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ), seguida pela marrom ( $9,42 \pm 0,98 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ) e a verde ( $8,80 \pm 0,93 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ). Comparando-se os valores médios de cada linhagem, a vermelha foi a que mais diferiu das outras duas (**Tabela 4**), apresentando a maior diferença entre os valores médios.

**Tabela 4:** Comparação entre os valores médios de proteínas nas três linhagens (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Vermelho vs. Verde	0,361	<0,001**
Vermelho vs. Marrom	0,243	<0,001**
Marrom vs. Verde	0,119	0,01*

(\*): Diferença significativas ( $p<0,05$ ); (\*\*): Diferença altamente significativas ( $p<0,001$ )

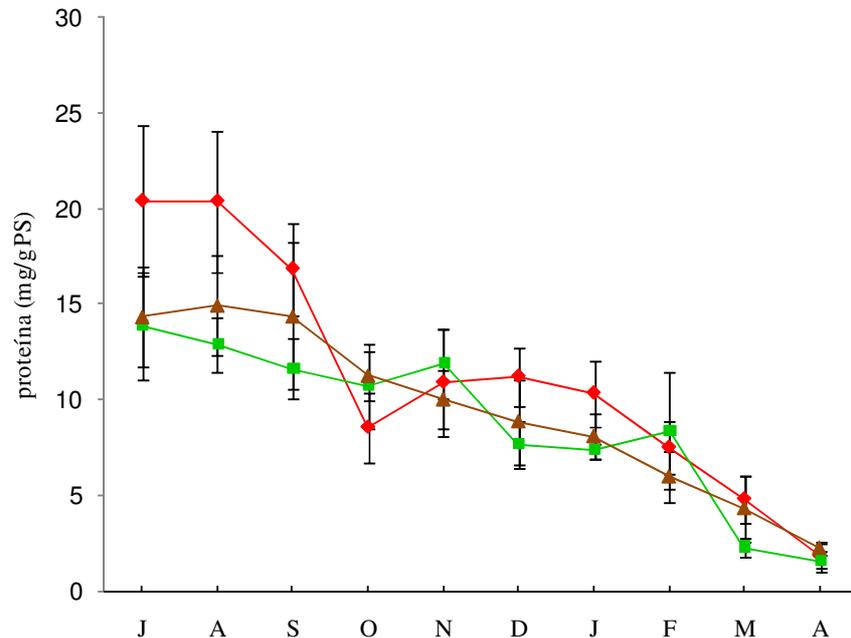
A análise da concentração de proteína entre os meses de estudo, também apresentou diferença estatística significativa ( $F=209,2$ ;  $p<0,001$ ). A comparação entre os meses par a par mostrou diferença entre muitos deles ( $p>0,05$ ) (**Tabela 5**). Além

disso, foi observado que as condições ambientais de cada mês afetaram de forma distinta as linhagens estudadas, havendo uma interação significativa entre os fatores meses do ano e linhagem ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 5:** Comparação entre os níveis de proteína nos meses de estudo (Student Newman Keuls):

<b>Comparação</b>	<b>Diferença entre os valores médios</b>	<b>P</b>
Jul vs. Abr	2,644	<0,001*
Jul vs. Mar	2,088	<0,001*
Jul vs. Fev	1,324	<0,001*
Jul vs. Jan	1,076	<0,001*
Jul vs. Dez	0,974	<0,001*
Jul vs. Out	0,82	<0,001*
Jul vs. Nov	0,701	<0,001*
Jul vs. Set	0,241	0,012*
Jul vs. Ago	0,015	0,862
Ago vs. Abr	2,629	<0,001*
Ago vs. Mar	2,073	<0,001*
Ago vs. Fev	1,31	<0,001*
Ago vs. Jan	1,061	<0,001*
Ago vs. Dez	0,96	<0,001*
Ago vs. Out	0,805	<0,001*
Ago vs. Nov	0,686	<0,001*
Ago vs. Set	0,226	0,007*
Set vs. Abr	2,403	<0,001*
Set vs. Mar	1,847	<0,001*
Set vs. Fev	1,084	<0,001*
Set vs. Jan	0,835	<0,001*
Set vs. Dez	0,733	<0,001*
Set vs. Out	0,579	<0,001*
Set vs. Nov	0,46	<0,001*
Nov vs. Abr	1,943	<0,001*
Nov vs. Mar	1,387	<0,001*
Nov vs. Fev	0,624	<0,001*
Nov vs. Jan	0,375	<0,001*
Nov vs. Dez	0,274	0,003*
Nov vs. Out	0,119	0,156
Out vs. Abr	1,824	<0,001*
Out vs. Mar	1,267	<0,001*
Out vs. Fev	0,504	<0,001*
Out vs. Jan	0,256	0,007*
Out vs. Dez	0,154	0,067
Dez vs. Abr	1,669	<0,001*
Dez vs. Mar	1,113	<0,001*
Dez vs. Fev	0,35	<0,001*
Dez vs. Jan	0,101	0,228
Jan vs. Abr	1,568	<0,001*
Jan vs. Mar	1,012	<0,001*
Jan vs. Fev	0,249	0,003*
Fev vs. Abr	1,319	<0,001*
Fev vs. Mar	0,763	<0,001*
Mar vs. Abr	0,556	<0,001*

(\*): Diferença significativas (p<0,05)



**Figura 16:** Oscilações na concentração de proteínas totais solúveis nas linhagens verde, vermelho e marrom. As linhagens estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

A análise de regressão linear múltipla mostrou que a concentração de proteína na linhagem vermelha, esteve associada principalmente com a temperatura e a concentração de íon amônio e ortofosfato disponível na água do mar ( $r=0,88$ ;  $r^2=0,77$ ;  $p<0,05$ ). A interação dessas variáveis afetou em até 77% a concentração das proteínas na linhagem vermelha. O íon amônio influenciou de forma positiva e significativa ( $p<0,001$ ), já o ortofosfato agiu negativamente e com um menor nível de significância ( $p=0,001$ ). O parâmetro temperatura afetou de forma positiva, no entanto sua influência foi menos significativa ( $p=0,024$ ) que a exercida pelos nutrientes.

Na linhagem verde a concentração de proteínas esteve correlacionada também à temperatura e aos nutrientes amônio e ortofosfato ( $r=0,81$ ;  $p<0,05$ ). Juntos, esses parâmetros afetaram a concentração de proteína na linhagem verde em 66% ( $r^2=0,66$ ). Assim como na linhagem vermelha, a temperatura e o íon amônio agiram de forma positiva e o ortofosfato de forma negativa. No entanto, a ação do ortofosfato foi mais significativa nesta linhagem ( $p<0,001$ ) e a do amônio menos significativa ( $p=0,035$ ). Além disso, nesta linhagem foi observado aumento na concentração da proteína no mês de novembro, o que coincidiu com o aumento na concentração do nitrato.

Assim como ocorreu com a linhagem vermelha e a verde, a concentração de proteínas totais solúveis na linhagem marrom foi influenciada positivamente pelo íon amônio e negativamente pelo ortofosfato ( $r=0,81$ ;  $p<0,05$ ). Esses nutrientes afetaram a concentração de proteínas nesta linhagem em até 61% ( $r^2=0,61$ ) e a significância da ação do ortofosfato ( $p=0,008$ ) e do amônio ( $p=0,009$ ) foram semelhantes. A concentração protéica nesta linhagem não esteve correlacionada com a temperatura ( $p>0,05$ ), como foi observado nas linhagens, verde e vermelha.

### 4.3 Pigmentos Fotossintéticos Hidrossolúveis

#### 4.3.1 Ficobiliproteínas

##### *Ficoeritrina*

A concentração de ficoeritrina variou entre as três linhagens estudadas ( $F=563,2$ ;  $p<0,001$ ) (**Figura 17**). As maiores concentrações foram observadas na linhagem vermelha ( $2,39 \pm 0,28 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ), seguida da marrom ( $1,09 \pm 0,19 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ) e da verde ( $0,44 \pm 0,14 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ). Comparando-se os valores médios das linhagens par a par, a diferença encontrada entre as três foi significativa (**Tabela 6**).

**Tabela 6:** Comparação entre os valores médios de ficoeritrina nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Vermelho vs. Verde	0,799	<0,001**
Vermelho vs. Marrom	0,431	<0,001**
Marrom vs. Verde	0,368	<0,001**

(\*\*): Diferença altamente significativas ( $p<0,001$ )

Durante o período de estudo a concentração da ficoeritrina também variou entre os meses ( $F=173,7$ ;  $p<0,001$ ) (**Figura 16**). No entanto, comparando-se os meses par a par, agosto não diferiu de setembro, novembro não diferiu de outubro e dezembro, janeiro e fevereiro foram semelhantes (**Tabela 7**). Além disso, nos meses de outubro e

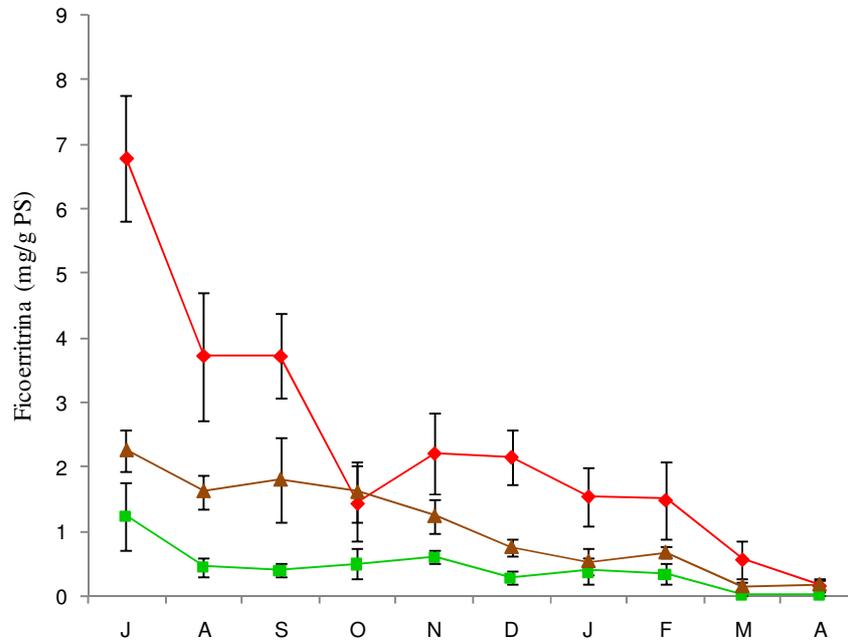
abril, a concentração de ficoeritrina na linhagem marrom não diferiu da vermelha ( $p=0,26$  e  $p=0,77$ ) e no mês de janeiro, esta concentração foi equivalente entre as linhagens marrom e verde ( $p=0,12$ ) (**Figura 16**). As linhagens, vermelho e verde não apresentaram semelhança em qualquer dos meses de estudo.

**Tabela 7:** Comparação entre os níveis de ficoeritrina nos meses de estudo (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Jul vs. Abr	1,384	<0,001*
Jul vs. Mar	1,288	<0,001*
Jul vs. Jan	0,872	<0,001*
Jul vs. Fev	0,86	<0,001*
Jul vs. Dez	0,773	<0,001*
Jul vs. Out	0,687	<0,001*
Jul vs. Nov	0,61	<0,001*
Jul vs. Ago	0,47	<0,001*
Jul vs. Set	0,438	<0,001*
Set vs. Abr	0,947	<0,001*
Set vs. Mar	0,85	<0,001*
Set vs. Jan	0,434	<0,001*
Set vs. Fev	0,422	<0,001*
Set vs. Dez	0,336	<0,001*
Set vs. Out	0,25	<0,001*
Set vs. Nov	0,172	<0,001*
Set vs. Ago	0,0322	0,459
Ago vs. Abr	0,914	<0,001*
Ago vs. Mar	0,818	<0,001*
Ago vs. Jan	0,402	<0,001*
Ago vs. Fev	0,39	<0,001*
Ago vs. Dez	0,303	<0,001*
Ago vs. Out	0,217	<0,001*
Ago vs. Nov	0,14	0,001*
Nov vs. Abr	0,775	<0,001*
Nov vs. Mar	0,678	<0,001*
Nov vs. Jan	0,262	<0,001*
Nov vs. Fev	0,25	<0,001*
Nov vs. Dez	0,163	<0,001*
Nov vs. Out	0,0774	0,075
Out vs. Abr	0,697	<0,001*
Out vs. Mar	0,6	<0,001*
Out vs. Jan	0,184	<0,001*
Out vs. Fev	0,172	<0,001*
Out vs. Dez	0,086	0,048*
Dez vs. Abr	0,611	<0,001*
Dez vs. Mar	0,514	<0,001*
Dez vs. Jan	0,0985	0,061
Dez vs. Fev	0,0862	0,047
Fev vs. Abr	0,525	<0,001*
Fev vs. Mar	0,428	<0,001*
Fev vs. Jan	0,0123	0,778
Jan vs. Abr	0,513	<0,001*
Jan vs. Mar	0,416	<0,001*
Mar vs. Abr	0,0969	0,026*

(\*): Diferença significativas (p<0,05)

Assim como a composição protéica, a concentração de ficoeritrina nas três linhagens estudadas foi afetada de forma distinta em cada mês, havendo uma interação significativa entre os meses do ano e as linhagens de estudo ( $p < 0,001$ ), ou seja, as linhagens estudadas foram afetadas com intensidade diferenciada pelas condições ambientais de cada mês.



**Figura 17:** Concentração de ficoeritrina nas variantes cromáticas de *G. domingensis*, durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

A análise de regressão linear múltipla indicou que a concentração da biliproteína ficoeritrina na linhagem vermelha esteve correlacionada com os nutrientes: íon amônio, nitrito, nitrato e ortofosfato ( $r=0,93$ ;  $p < 0,001$ ). Esses nutrientes afetaram em até 86% ( $r^2=0,86$ ) a concentração de ficoeritrina. O íon amônio exerceu uma ação positiva e significativa ( $p < 0,001$ ) sobre a concentração deste pigmento na linhagem vermelha. O nitrato e o nitrito também influenciaram de forma positiva ( $p=0,02$ ) e o ortofosfato afetou de forma negativa ( $p=0,02$ ).

A linhagem verde esteve correlacionada de forma significativa ( $p < 0,05$ ) apenas com os nutrientes nitrogenados, nitrito, nitrato e amônio ( $r=0,83$ ;  $r^2=0,68$ ).

Na linhagem marrom o teste de regressão linear múltipla indicou uma correlação ( $r=0,84$ ;  $p < 0,05$ ) positiva entre a concentração de ficoeritrina e as variáveis temperatura,

nitrito e íon amônio e negativa com o ortofosfato. Juntos esses parâmetros influenciaram em até 71% ( $r^2=0,71$ ) a concentração de ficoeritrina durante os meses de estudo. Assim como foi registrado para as outras duas linhagens, a correlação com o íon amônio foi positiva e ortofosfato, negativa.

### Ficocianina

A concentração de ficocianina variou significativamente entre as três linhagens ( $p=0,002$ ) (**Figura 18**). No entanto, comparando uma linhagem a outra (par a par), observou-se que apenas a vermelha diferiu significativamente das demais ( $p<0,05$ ), sendo a verde e a marrom semelhantes (**Tabela 8**). A linhagem vermelha apresentou maior diferença entre os valores médio com verde do que com a marrom (**Tabela 8**). Além disso, a linhagem verde apresentou as maiores concentrações ( $0,41 \pm 0,11 \text{ mg.g}^{-1}\text{PS}$ ).

**Tabela 8:** Comparação entre os valores médios de ficocianina nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls):

<b>Comparação</b>	<b>Diferença entre os valores médios</b>	<b>P</b>
Vermelho vs. Verde	0,0319	0,002*
Vermelho vs. Marrom	0,0238	0,01*
Marrom vs. Verde	0,00813	0,382

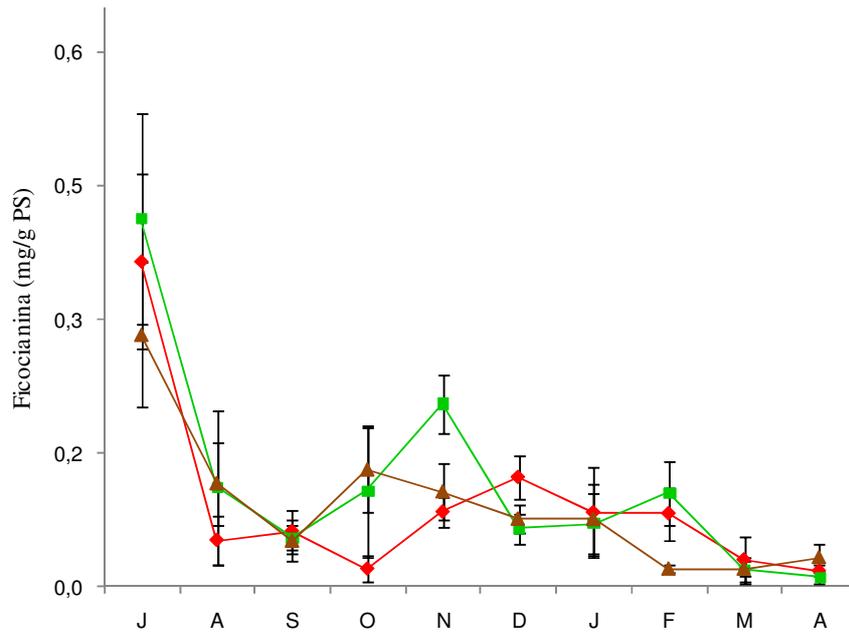
(\*): Diferença significativas ( $p<0,05$ )

A concentração de ficocianina também oscilou significativamente entre os meses de estudo ( $p<0,001$ ). No entanto, comparando-se os meses par a par, verificou-se que apenas os meses de julho e novembro diferiram significativamente de todos os outros ( $p<0,001$ ) e os meses de agosto, outubro, dezembro, janeiro e fevereiro foram semelhantes entre si (**Tabela 9**).

**Tabela 9:** Comparação entre os níveis de ficocianina nos meses de estudo (Student Newman Keuls):

<b>Comparação</b>	<b>Diferença entre os valores médios</b>	<b>P</b>
Jul vs. Abr	0,451	<0,001*
Jul vs. Mar	0,444	<0,001*
Jul vs. Set	0,354	<0,001*
Jul vs. Fev	0,339	<0,001*
Jul vs. Out	0,321	<0,001*
Jul vs. Jan	0,319	<0,001*
Jul vs. Ago	0,298	<0,001*
Jul vs. Dez	0,295	<0,001*
Jul vs. Nov	0,233	<0,001*
Nov vs. Abr	0,219	<0,001*
Nov vs. Mar	0,212	<0,001*
Nov vs. Set	0,122	<0,001*
Nov vs. Fev	0,107	<0,001*
Nov vs. Out	0,0887	<0,001*
Nov vs. Jan	0,0868	<0,001*
Nov vs. Ago	0,0654	<0,001*
Nov vs. Dez	0,0624	<0,001*
Dez vs. Abr	0,156	<0,001*
Dez vs. Mar	0,149	<0,001*
Dez vs. Set	0,0593	0,006*
Dez vs. Fev	0,0442	0,069
Dez vs. Out	0,0263	0,407
Dez vs. Jan	0,0244	0,322
Dez vs. Ago	0,00297	0,861
Ago vs. Abr	0,153	<0,001*
Ago vs. Mar	0,146	<0,001*
Ago vs. Set	0,0564	0,008*
Ago vs. Fev	0,0412	0,071
Ago vs. Out	0,0233	0,354
Ago vs. Jan	0,0214	0,207
Jan vs. Abr	0,132	<0,001*
Jan vs. Mar	0,125	<0,001*
Jan vs. Set	0,035	0,165
Jan vs. Fev	0,0198	0,471
Jan vs. Out	0,00195	0,909
Out vs. Abr	0,13	<0,001*
Out vs. Mar	0,123	<0,001*
Out vs. Set	0,033	0,125
Out vs. Fev	0,0179	0,292
Fev vs. Abr	0,112	<0,001*
Fev vs. Mar	0,105	<0,001*
Fev vs. Set	0,0152	0,371
Set vs. Abr	0,0969	<0,001*
Set vs. Mar	0,0899	<0,001*
Mar vs. Abr	0,00706	0,677

(\*): Diferença significativas (p<0,05)



**Figura 18:** Concentração de ficocianina nas variantes cromáticas de *G. domingensis*, durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

Através dos testes de regressão linear múltipla, verificou-se que a concentração de ficocianina na linhagem vermelha apresentou uma relação de proporcionalidade direta com a disponibilidade de íon amônio na água do mar ( $r=0,73$ ;  $p<0,001$ ). Este nutriente afetou a concentração de ficocianina na linhagem vermelha em até 53% ( $r^2=0,53$ ). Não foi registrada relação significativa com nenhum outro parâmetro ambiental. No entanto, a elevação observada no mês de novembro coincidiu com o aumento da disponibilidade de nitrato na água do mar.

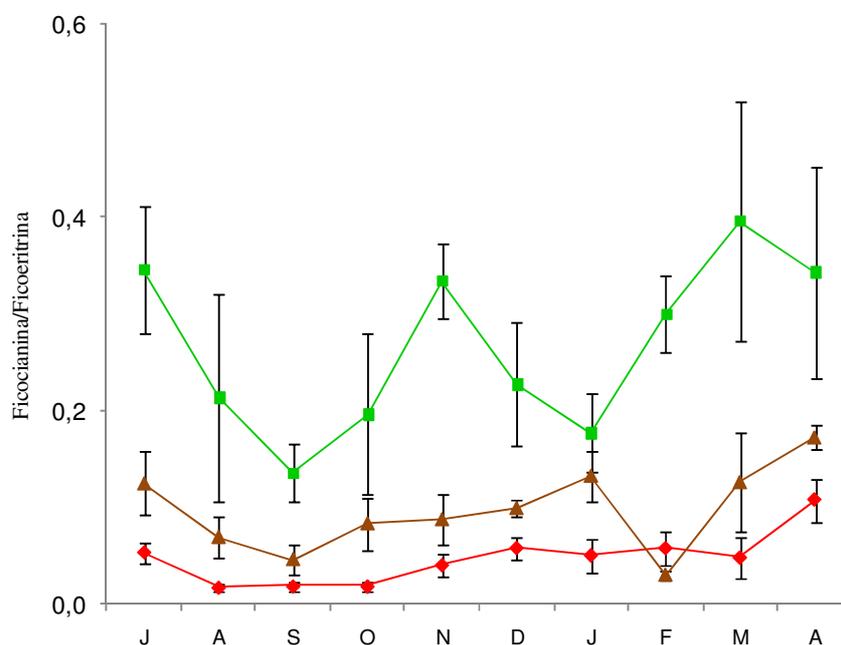
Na linhagem verde, assim como na vermelha, só foi verificada relação da concentração de ficocianina com o íon amônio ( $r=0,54$ ;  $p=0,002$ ). Essa correlação também foi de proporcionalidade direta, mas a influência deste nutriente na concentração de ficocianina nesta linhagem, foi um pouco superior, 55% ( $r^2=0,55$ ). Além disso, o aumento observado no mês de novembro e fevereiro coincidiu com o aumento na concentração do nitrato.

A concentração de ficocianina na linhagem marrom se mostrou correlacionada significativamente com o íon amônio, o nitrato, o nitrito e o ortofosfato ( $r=0,88$ ;  $r^2=0,79$ ). Igualmente às outras duas linhagens, a correlação da ficocianina com o amônio foi positiva e significativa ( $p<0,001$ ). A correlação com o nitrato ( $p=0,005$ ) e o

nitrito ( $p=0,029$ ) também foi positiva. Nesta linhagem a correlação registrada entre o ortofosfato e a ficocianina foi inversamente proporcional ( $p=0,034$ ).

### Ficocianina / Ficoeritrina

A razão ficocianina/ficoeritrina foi superior na linhagem verde durante todo o período de estudo. Os valores mais elevados foram registrados no mês de março para a linhagem verde e no mês de abril para a marrom e a vermelha (**Figura 19**).

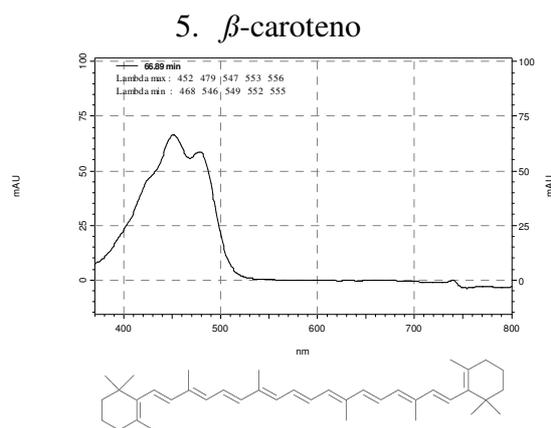


**Figura 19:** Razão ficocianina/ficoeritrina nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

#### 4.4 Pigmentos Fotossintéticos Lipossolúveis

A **Figura 20** representa o perfil cromatográfico e o espectro de UV dos pigmentos lipossolúveis identificados em cada pico.





**Figura 20:** Perfil Cromatográfico dos pigmentos de *G. domingensis* e o espectro de UV dos picos.

#### 4.4.1 Clorofila-*a*

A concentração de clorofila-*a* apresentou diferença significativa entre as linhagens estudadas ( $F=3,82$ ;  $p=0,024$ ). No entanto, comparando as linhagens par a par, apenas a verde e vermelha diferiram significativamente (**Tabela 10**). A linhagem verde apresentou a concentração mais elevada ( $80,65 \pm 53,79 \mu\text{g/g PS}$ ), a marrom valores intermediários ( $76,32 \pm 48,46 \mu\text{g/g PS}$ ) e a vermelha a menor concentração ( $68,8 \pm 45,18 \mu\text{g/g PS}$ ).

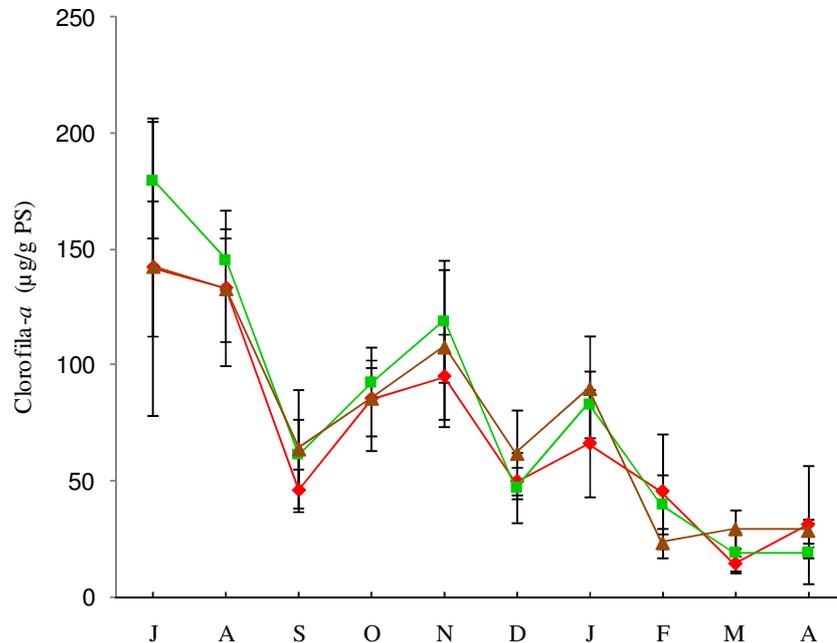
**Tabela 10:** Comparação entre os valores médios de clorofila-*a* nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Vermelho vs. Verde	11,286	0,017*
Vermelho vs. Marrom	4,331	0,293
Marrom vs. Verde	6,955	0,091

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

A análise da concentração de clorofila-*a* entre os meses de estudo apontou diferença significativa entre eles ( $F=73,86$ ;  $p < 0,001$ ). A maior concentração foi registrada na linhagem verde, no mês de julho ( $179,72 \pm 25,24 \mu\text{g/g PS}$ ) e a menor na linhagem vermelha, no mês de março ( $14,21 \pm 3,11 \mu\text{g/g PS}$ ). As três linhagens apresentaram concentrações médias mais elevadas nos meses de julho ( $154,63 \pm 44,61 \mu\text{g/g PS}$ ), agosto ( $137,06 \pm 23,7 \mu\text{g/g PS}$ ) e novembro ( $102,54 \pm 31,57 \mu\text{g/g PS}$ ) e as

menores nos meses de fevereiro ( $36,14 \pm 18,26 \mu\text{g/g PS}$ ), março ( $20,79 \pm 9,29 \mu\text{g/g PS}$ ) e abril ( $26,16 \pm 15,31 \mu\text{g/g PS}$ ) (**Figura 21**).



**Figura 21:** Concentração de clorofila-*a* nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

A comparação dos meses par a par, mostrou que a concentração média da clorofila-*a* foi semelhante entre os meses de outubro e janeiro (aumento na concentração), setembro e dezembro (queda na concentração) e nos meses de fevereiro, março e abril (**Tabela 11**).

**Tabela 11:** Comparação entre os níveis de clorofila-*a* nos meses de estudo (Student Newman Keuls):

<b>Comparação</b>	<b>Diferença entre os valores médios</b>	<b>P</b>
Jul vs. Mar	133,84	<0,001*
Jul vs. Abr	128,47	<0,001*
Jul vs. Fev	118,49	<0,001*
Jul vs. Dez	101,82	<0,001*
Jul vs. Set	97,66	<0,001*
Jul vs. Jan	75,04	<0,001*
Jul vs. Out	66,88	<0,001*
Jul vs. Nov	52,09	<0,001*
Jul vs. Ago	17,57	0,019*
Ago vs. Mar	116,27	<0,001*
Ago vs. Abr	110,90	<0,001*
Ago vs. Fev	100,93	<0,001*
Ago vs. Dez	84,26	<0,001*
Ago vs. Set	80,10	<0,001*
Ago vs. Jan	57,47	<0,001*
Ago vs. Out	49,31	<0,001*
Ago vs. Nov	34,53	<0,001*
Nov vs. Mar	81,75	<0,001*
Nov vs. Abr	76,38	<0,001*
Nov vs. Fev	66,40	<0,001*
Nov vs. Dez	49,73	<0,001*
Nov vs. Set	45,57	<0,001*
Nov vs. Jan	22,95	0,006*
Nov vs. Out	14,79	0,049*
Out vs. Mar	66,96	<0,001*
Out vs. Abr	61,59	<0,001*
Out vs. Fev	51,61	<0,001*
Out vs. Dez	34,95	<0,001*
Out vs. Set	30,78	<0,001*
Out vs. Jan	8,16	0,278
Jan vs. Mar	58,80	<0,001*
Jan vs. Abr	53,43	<0,001*
Jan vs. Fev	43,45	<0,001*
Jan vs. Dez	26,79	0,001*
Jan vs. Set	22,62	0,003*
Set vs. Mar	36,17	<0,001*
Set vs. Abr	30,80	<0,001*
Set vs. Fev	20,83	0,015*
Set vs. Dez	4,16	0,58
Dez vs. Mar	32,01	<0,001*
Dez vs. Abr	26,64	0,001*
Dez vs. Fev	16,67	0,027*
Fev vs. Mar	15,35	0,102
Fev vs. Abr	9,98	0,185
Abr vs. Mar	5,37	0,475

(\*): Diferença significativas (p<0,05)

A concentração de clorofila-*a* na linhagem vermelha esteve relacionada principalmente com a temperatura da água ( $p < 0,001$ ), a precipitação ( $p = 0,026$ ) e as concentrações de nitrato ( $p = 0,011$ ) e ortofosfato ( $p = 0,005$ ) disponível no meio. A temperatura, a precipitação pluviométrica e a concentração de nitrato, influenciaram positivamente, enquanto o ortofosfato mostrou uma influência negativa. Essas variáveis afetaram em até 70% ( $r = 0,83$ ;  $r^2 = 0,70$ ) as concentrações de clorofila-*a* na linhagem vermelha.

Na linhagem verde a concentração de clorofila-*a* esteve relacionada em até 75% ( $r = 0,86$ ;  $r^2 = 0,75$ ) à temperatura ( $p = 0,002$ ), à concentração de nitrato ( $p < 0,001$ ), à salinidade ( $p = 0,013$ ) e à concentração de ortofosfato ( $p = 0,014$ ). Os dois primeiros (temperatura e nitrato) agiram de forma positiva e os dois últimos (salinidade e ortofosfato) de forma negativa.

A concentração de clorofila-*a* na linhagem marrom, assim como na linhagem vermelha, esteve correlacionada positivamente com a precipitação ( $p = 0,018$ ), a concentração de nitrato ( $p = 0,003$ ) e a temperatura ( $p = 0,004$ ), juntos esses parâmetros afetaram em até 66% ( $r^2 = 0,66$ ), a concentração clorofila-*a* nesta linhagem.

#### 4.4.2 Carotenóides Totais

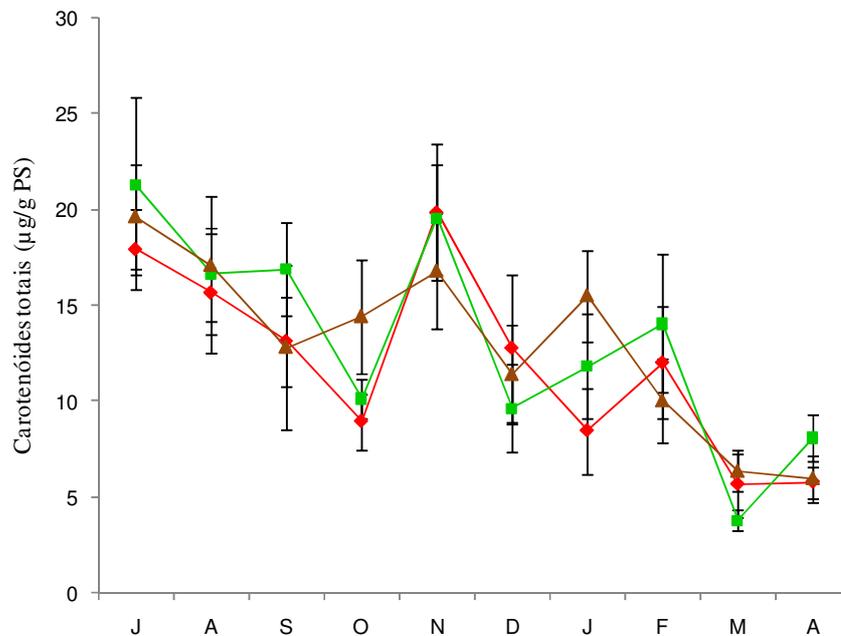
A concentração dos carotenóides totais diferiu significativamente entre as linhagens ( $F = 4,39$ ;  $p = 0,014$ ). No entanto, as linhagens marrom ( $13,03 \pm 5,06 \mu\text{g/g PS}$ ) e verde ( $13,20 \pm 5,77 \mu\text{g/g PS}$ ), foram semelhantes (**Figura 12**), diferindo apenas da linhagem vermelha, que apresentou a menor concentração média ( $12,02 \pm 5,21 \mu\text{g/g PS}$ ).

**Tabela 12:** Comparação entre os valores médios de carotenóides totais nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Verde vs. Vermelho	1,394	0,011*
Verde vs. Marrom	0,398	0,412
Marrom vs. Vermelho	0,996	0,04*

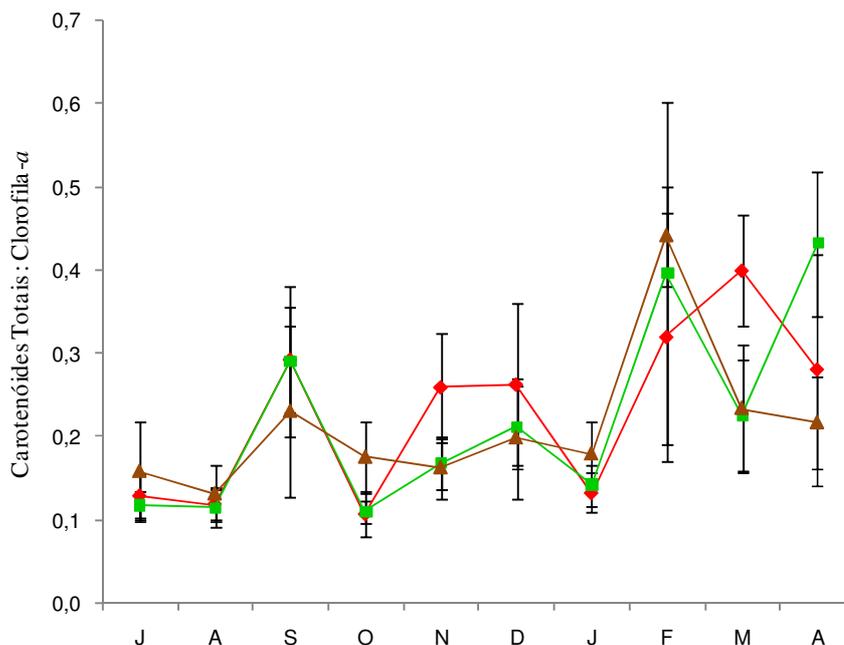
(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

Os carotenóides totais também variaram significativamente durante os meses de estudo ( $F=57,96$ ;  $p<0,001$ ) (**Figura 22**). As concentrações mais elevadas foram registradas no mês de novembro para a linhagem vermelha ( $19,85 \pm 3,55 \mu\text{g/g PS}$ ) e em julho para as linhagens, verde ( $21,25 \pm 4,65 \mu\text{g/g PS}$ ) e marrom ( $19,64 \pm 2,74 \mu\text{g/g PS}$ ).



**Figura 22:** Concentração de carotenóides totais nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

A razão carotenóides totais/clorofila-*a* também diferiu significativamente entre os meses de estudo ( $F=25,31$ ;  $p<0,001$ ), mas foi semelhante entre as linhagens ( $F=807$ ;  $p=0,448$ ) verde ( $0,22 \pm 0,14$ ), vermelho ( $0,23 \pm 0,12$ ) e marrom ( $0,21 \pm 0,1$ ) (**Figura 23**).



**Figura 23:** Razão carotenóides totais/clorofila-*a* nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

No mês de fevereiro foi registrada a maior razão média ( $0,39 \pm 0,15$ ). No entanto, as linhagens apresentaram picos máximos em meses diferentes, a vermelha no mês de março ( $0,4 \pm 0,07$ ), a verde em abril ( $0,43 \pm 0,09$ ) e a marrom em fevereiro ( $0,44 \pm 0,06$ ).

### *$\beta$ -caroteno*

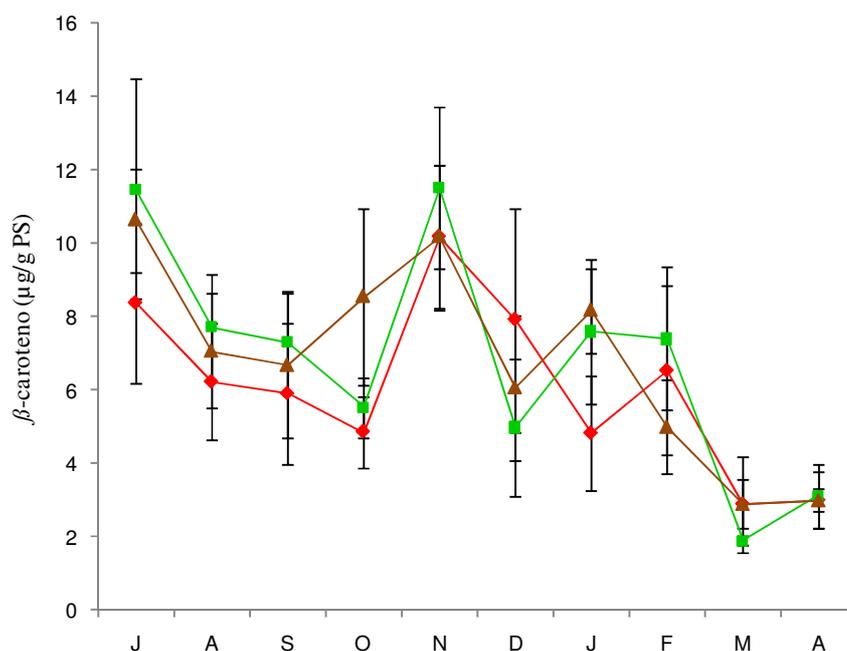
A concentração de  $\beta$ -caroteno diferiu significativamente nas três linhagens de *G. domingensis* ( $F=3,99$ ;  $p=0,02$ ). No entanto, comparando as linhagens uma a uma, verificou-se que apenas a linhagem vermelha diferiu significativamente das demais (Tabela 13), apresentando as menores concentrações do pigmento ( $6,08 \pm 2,77 \mu\text{g/g PS}$ ). A linhagem marrom ( $6,83 \pm 2,96 \mu\text{g/g PS}$ ) e a verde ( $6,86 \pm 3,40 \mu\text{g/g PS}$ ) apresentaram concentrações médias de  $\beta$ -caroteno levemente superior a registrada na vermelha.

**Tabela 13:** Comparação entre os valores médios de  $\beta$ -caroteno nas linhagens estudadas (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Vermelho vs. Verde	0,785	0,034*
Vermelho vs. Marrom	0,754	0,017*
Marrom vs. Verde	0,0308	0,922

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

Durante os meses de estudo a concentração deste pigmento também apresentou diferença significativa ( $F=39,22$ ;  $p < 0,001$ ). As concentrações médias mais elevadas foram registradas nos meses de julho e novembro e as menores nos meses de março e abril (**Figura 24**). Esses meses foram os que mais diferiram de todos os outros, sendo os meses de agosto, setembro, outubro, dezembro, janeiro e fevereiro semelhantes entre si (**Tabela 14**).



**Figura 24:** Concentração de  $\beta$ -caroteno nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

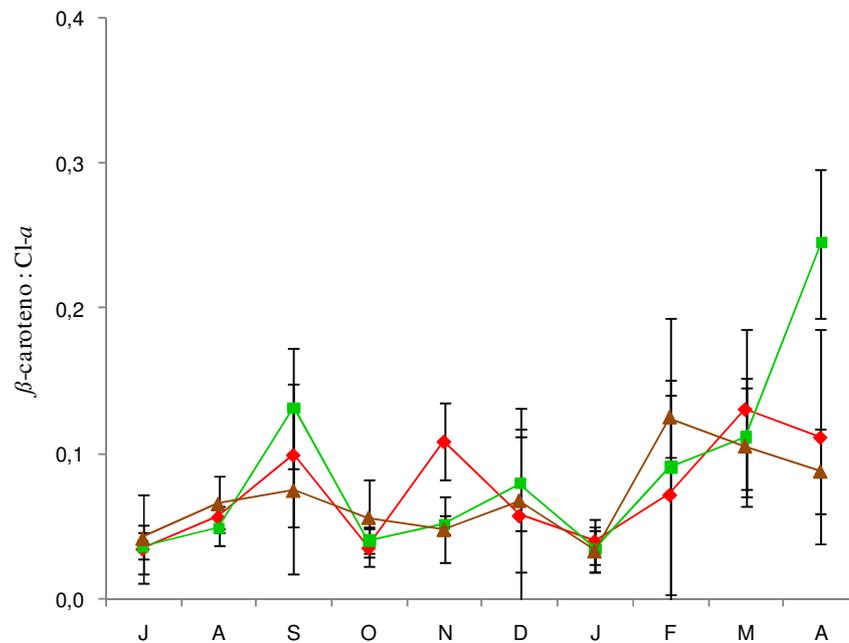
**Tabela 14:** Comparação entre os níveis de  $\beta$ -caroteno nos períodos de estudo (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Nov vs. Mar	8,05	<0,001*
Nov vs. Abr	7,58	<0,001*
Nov vs. Fev	4,31	<0,001*
Nov vs. Out	4,30	<0,001*
Nov vs. Dez	4,30	<0,001*
Nov vs. Set	3,99	<0,001*
Nov vs. Jan	3,75	<0,001*
Nov vs. Ago	3,62	<0,001*
Nov vs. Jul	0,46	0,423
Jul vs. Mar	7,59	<0,001*
Jul vs. Abr	7,12	<0,001*
Jul vs. Fev	3,85	<0,001*
Jul vs. Out	3,84	<0,001*
Jul vs. Dez	3,84	<0,001*
Jul vs. Set	3,53	<0,001*
Jul vs. Jan	3,29	<0,001*
Jul vs. Ago	3,16	<0,001*
Ago vs. Mar	4,43	<0,001*
Ago vs. Abr	3,96	<0,001*
Ago vs. Fev	0,69	0,833
Ago vs. Out	0,69	0,756
Ago vs. Dez	0,68	0,64
Ago vs. Set	0,37	0,795
Ago vs. Jan	0,13	0,815
Jan vs. Mar	4,30	<0,001*
Jan vs. Abr	3,83	<0,001*
Jan vs. Fev	0,56	0,867
Jan vs. Out	0,55	0,773
Jan vs. Dez	0,54	0,612
Jan vs. Set	0,24	0,68
Set vs. Mar	4,06	<0,001*
Set vs. Abr	3,59	<0,001*
Set vs. Fev	0,32	0,943
Set vs. Out	0,31	0,848
Set vs. Dez	0,31	0,594
Dez vs. Mar	3,76	<0,001*
Dez vs. Abr	3,29	<0,001*
Dez vs. Fev	0,02	1
Dez vs. Out	0,01	0,99
Out vs. Mar	3,75	<0,001*
Out vs. Abr	3,28	<0,001*
Out vs. Fev	0,01	0,987
Fev vs. Mar	3,74	<0,001*
Fev vs. Abr	3,27	<0,001*
Abr vs. Mar	0,47	0,414

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

O teste de variância apontou diferença significativa entre os meses e as linhagens ( $p < 0,001$ ), ou seja, a concentração de  $\beta$ -caroteno nas linhagens foi afetada de forma distinta nos meses de estudo. Essa diferença pode ser observada no mês de outubro, janeiro e fevereiro, onde as concentrações do pigmento apresentam tendência diferenciada entre as linhagens (**Figura 24**).

A razão  $\beta$ -caroteno/clorofila-*a* não diferiu entre as linhagens ( $p = 0,377$ ), mas diferiu entre os meses ( $p < 0,001$ ). A maior proporção de  $\beta$ -caroteno em relação à concentração de clorofila-*a* foi registrada nos meses de fevereiro, março e abril (meses com elevados níveis de radiação) e a menor nos meses de julho e agosto (**Figura 25**).



**Figura 25:** Concentração de  $\beta$ -caroteno em relação a concentração de clorofila-*a* nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

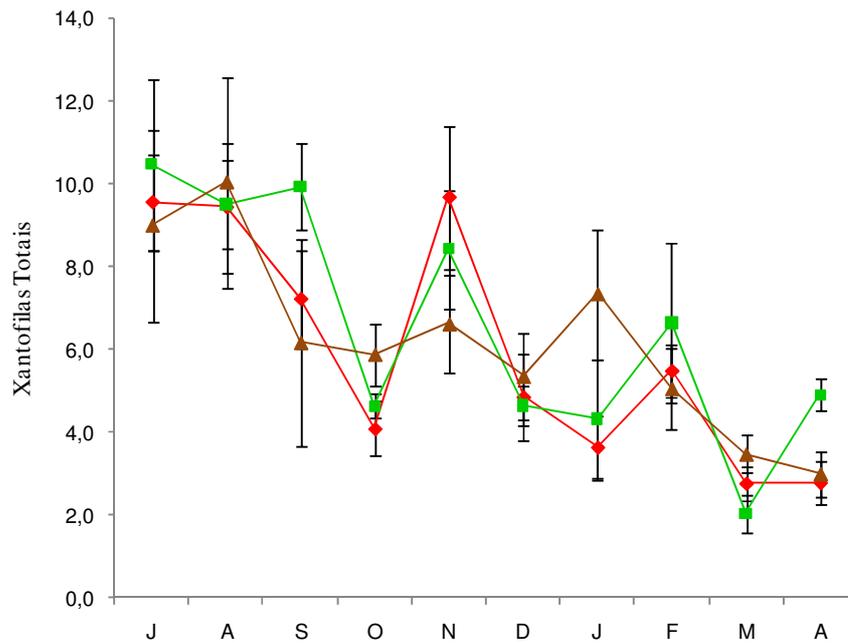
A concentração de  $\beta$ -caroteno na linhagem vermelha esteve relacionada com a salinidade ( $p = 0,031$ ) e a concentração de nitrato ( $p = 0,019$ ). Essas variáveis afetaram a concentração de  $\beta$ -caroteno, positivamente, em até 35% ( $r^2 = 0,35$ ).

Na linhagem verde, assim como na vermelha, a concentração de  $\beta$ -caroteno esteve relacionada às variações de salinidade ( $p=0,028$ ) e a disponibilidade de nitrato ( $p<0,001$ ). No entanto, a ação dessas variáveis foi mais forte nesta linhagem que na vermelha, juntos esses parâmetros afetaram em até 62% ( $r^2=0,62$ ) a concentração do pigmento.

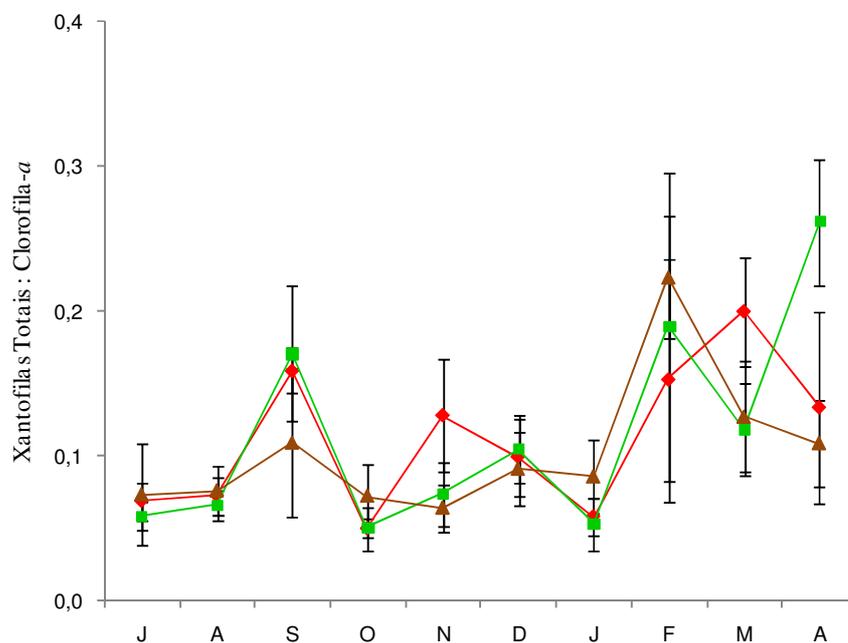
Na linhagem marrom, a concentração de  $\beta$ -caroteno esteve relacionada positivamente a temperatura ( $p=0,022$ ) e a disponibilidade de nitrito ( $p=0,011$ ) e nitrato ( $p=0,001$ ). Este pigmento também esteve relacionado negativamente com o ortofosfato ( $p=0,001$ ). Juntos esses parâmetros afetaram em até 74% ( $r^2=0,74$ ).

### ***Xantofilas***

A concentração das xantofilas totais diferiu apenas entre as linhagens, verde e vermelha ( $F=3,30$ ;  $p=0,029$ ), que apresentaram a maior ( $6,6 \pm 3,0 \mu\text{g/g PS}$ ) e a menor ( $5,9 \pm 2,9 \mu\text{g/g PS}$ ) concentração média, respectivamente. A concentração destes pigmentos também variou entre os meses de estudo ( $F=63,43$ ;  $p<0,001$ ), sendo registrado as maiores concentrações nos meses de julho ( $9,7 \pm 1,9 \mu\text{g/g PS}$ ), agosto ( $9,7 \pm 1,7 \mu\text{g/g PS}$ ) e novembro ( $8,2 \pm 1,9 \mu\text{g/g PS}$ ) (**Figura 26**). No entanto, na razão xantofilas totais/clorofila-*a* os valores mais elevadas foram observados nos meses de fevereiro ( $0,19 \pm 0,08$ ), abril ( $0,17 \pm 0,08$ ) e setembro ( $0,15 \pm 0,05$ ) (**Figura 27**). Além disso, as linhagens apresentaram picos máximos em meses diferentes, a vermelha no mês de março ( $0,20 \pm 0,03$ ), a verde em abril ( $0,26 \pm 0,04$ ) e a marrom no mês de fevereiro ( $0,22 \pm 0,04$ ).

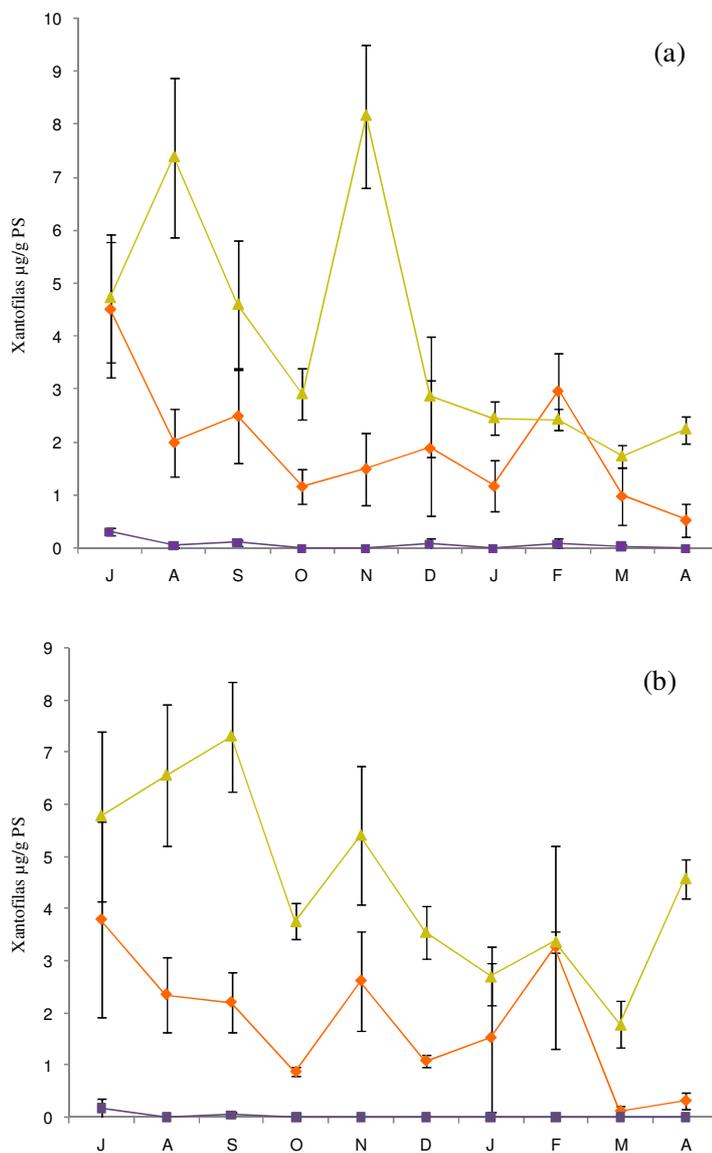


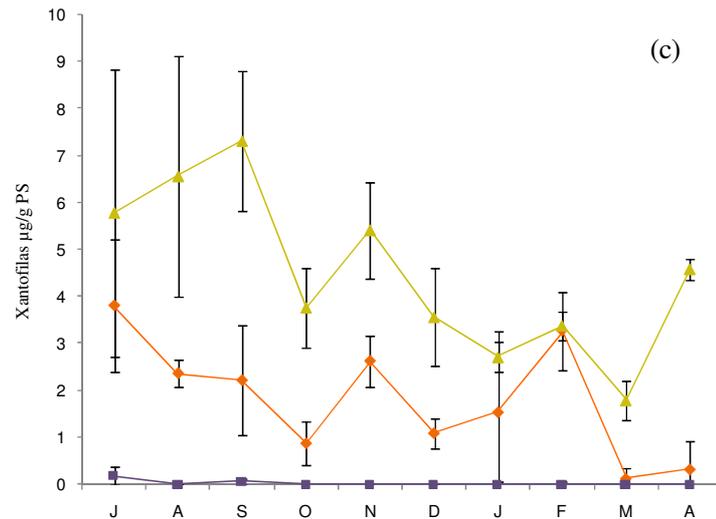
**Figura 26:** Concentração da xantofila total nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.



**Figura 27:** Razão xantofilas totais/clorofila-a nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

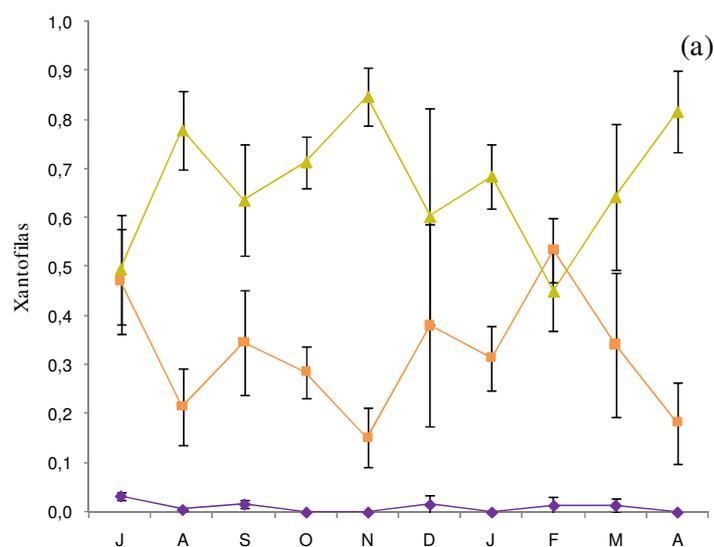
A xantofila mais abundante foi a zeaxantina, que predominou nas três linhagens durante todos os meses de estudo, exceto fevereiro. A violaxantina apresentou as menores concentrações e durante alguns meses esteve ausente, principalmente na linhagem verde. A anteraxantina apresentou concentrações intermediárias (**Figura 28**).

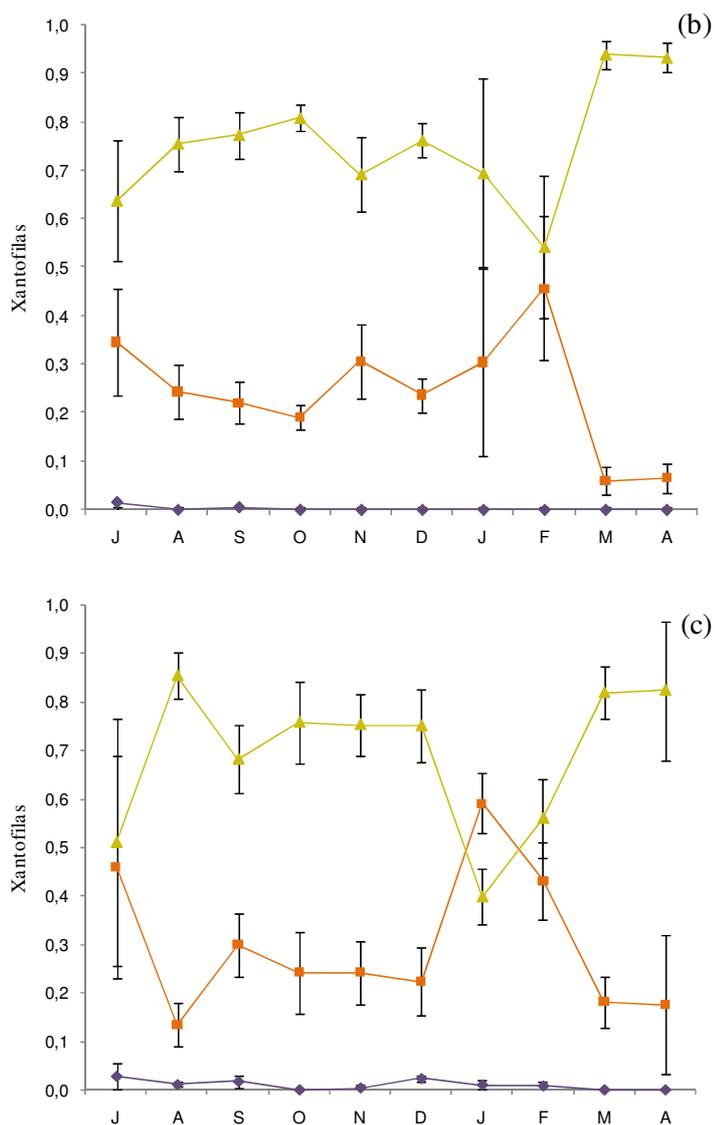




**Figura 28:** (a) Concentração das xantofilas, zeaxantina (amarela), anteraxantina (laranja) e violaxantina (roxo) na linhagem vermelha de *G. domingensis*. (b) Concentração das xantofilas, zeaxantina, anteraxantina e violaxantina na linhagem verde de *G. domingensis*. (c) Concentração das xantofilas, zeaxantina, anteraxantina e violaxantina na linhagem marrom de *G. domingensis*.

As razões zeaxantina/xantofilas totais, anteraxantina/xantofilas totais e violaxantina/xantofilas totais, nas três linhagens, variaram significativamente durante os dez meses de amostragem ( $p < 0,05$ ). A dinâmica dessas razões mostra uma relação inversamente proporcional entre a anteraxantina e a zeaxantina (principalmente), o que está relacionado interconversão destes pigmentos no ciclo das xantofilas (**Figura 29**).





**Figura 29:** (a) Razão zeaxantina/xantofilas (amarela), anteraxantina/xantofilas (laranja) e violaxantina/xantofilas (roxo) na linhagem vermelha de *G. domingensis*. (b) Razão zeaxantina/xantofilas (amarela), anteraxantina/xantofilas (laranja) e violaxantina/xantofilas (roxo) na linhagem verde de *G. domingensis*. (c) Razão zeaxantina/xantofilas (amarela), anteraxantina/xantofilas (laranja) e violaxantina/xantofilas (roxo) na linhagem marrom de *G. domingensis*.

### Violaxantina

A concentração de violaxantina diferiu significativamente entre as linhagens ( $F=11,21$ ;  $p<0,001$ ). No entanto, as linhagens marrom ( $0,73 \pm 0,096 \mu\text{g/g PS}$ ) e vermelha ( $0,69 \pm 0,11 \mu\text{g/g PS}$ ), apresentaram concentrações semelhantes. A linhagem

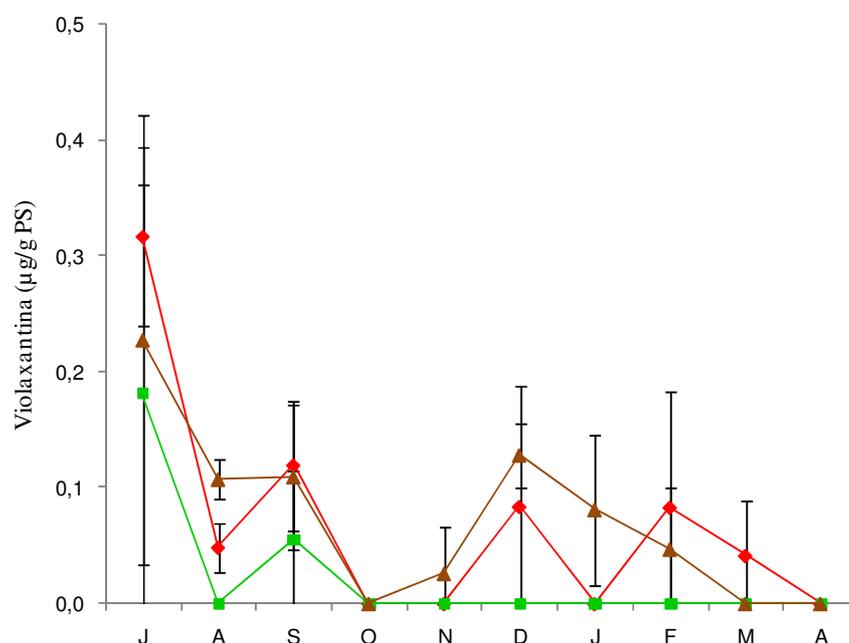
verde apresentou a menor concentração média, ( $0,024 \pm 0,08 \mu\text{g/g PS}$ ) e diferiu significativamente das demais (**Tabela 15**).

**Tabela 15:** Comparação da concentração de violaxantina nas três linhagens de *G. domingensis* (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Marrom vs. Verde	0,049	<0,001*
Marrom vs. Vermelho	0,00338	0,77
Vermelho vs. Verde	0,0457	<0,001*

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

A concentração de violaxantina também diferiu significativamente entre os meses de estudo ( $F=23,64$ ;  $p < 0,001$ ) (**Tabela 13**). Diferentemente do que ocorreu com o  $\beta$ -caroteno e a clorofila-*a*, as concentrações mais elevadas de violaxantina foram registradas na linhagem vermelha, no mês de julho (menor nível de radiação) e as menores na linhagem verde, que só apresentou este pigmento nos meses de julho e setembro (**Figura 30**).



**Figura 30:** Concentração de violaxantina nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

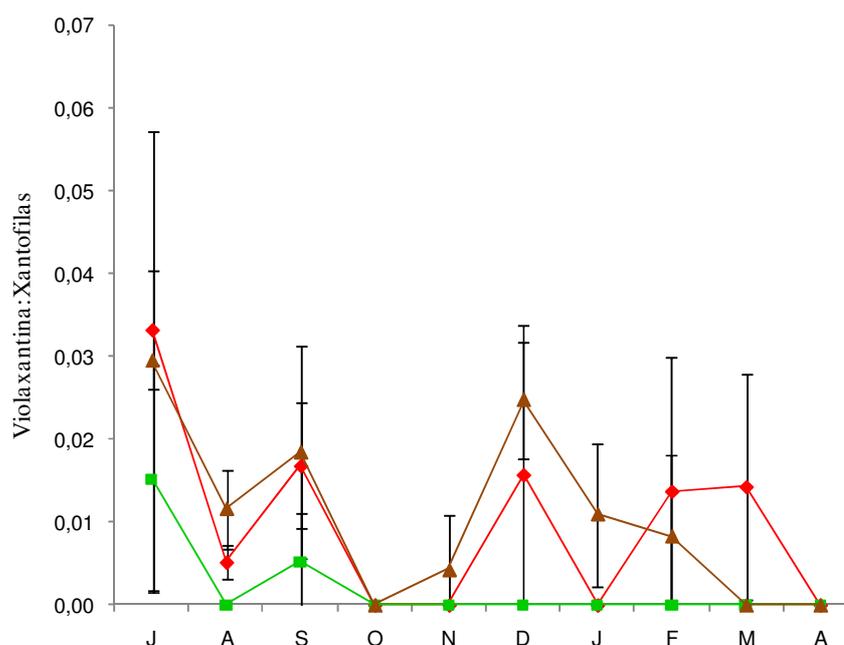
A comparação dos meses par a par, mostrou que apenas o mês de julho diferiu significativamente de todos os outros, embora diferença significativa também tenha sido observada entre outros meses (**Tabela 16**).

**Tabela 16:** Comparação da concentração de violaxantina entre os meses de estudo (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Jul vs. Abr	0,242	<0,001*
Jul vs. Out	0,242	<0,001*
Jul vs. Nov	0,233	<0,001*
Jul vs. Mar	0,228	<0,001*
Jul vs. Jan	0,215	<0,001*
Jul vs. Fev	0,198	<0,001*
Jul vs. Ago	0,19	<0,001*
Jul vs. Dez	0,171	<0,001*
Jul vs. Set	0,147	<0,001*
Set vs. Abr	0,0946	<0,001*
Set vs. Out	0,0946	<0,001*
Set vs. Nov	0,0859	<0,001*
Set vs. Mar	0,0808	0,002*
Set vs. Jan	0,0675	0,012*
Dez vs. Abr	0,0706	0,019*
Dez vs. Out	0,0706	0,015*
Dez vs. Nov	0,0619	0,04*

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

A razão violaxantina/xantofilas totais diferiu significativamente entre os meses e as linhagens ( $p < 0,001$ ). A maior razão foi registrada na linhagem vermelha ( $0,03 \pm 0,007$ ) e na marrom ( $0,03 \pm 0,03$ ), no mês de julho (**Figura 31**). Este pigmento é o que apresenta a menor razão média, o que mostra sua pequena utilização pela espécie em relação às outras duas xantofilas.



**Figura 31:** Razão violaxantina/xantofilas totais nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

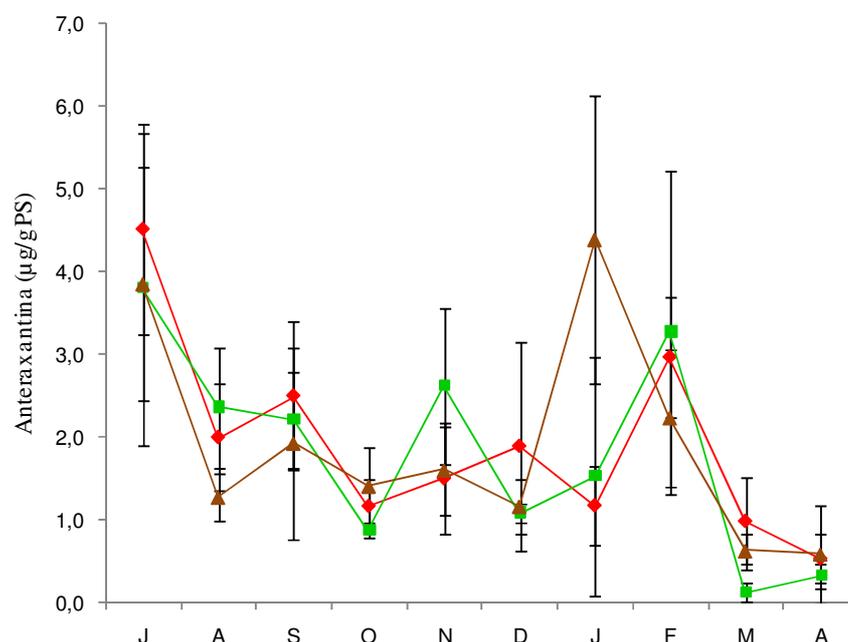
A concentração de violaxantina na linhagem vermelha e verde esteve relacionada negativamente com o PAR ( $p < 0,001$ ). Essa radiação afetou em até 60% ( $r^2 = 0,60$ ) a concentração de violaxantina na linhagem vermelha e em 50% ( $r^2 = 0,50$ ) na linhagem verde.

A concentração de violaxantina na linhagem marrom, diferentemente das linhagens verde e vermelho, esteve relacionada com a concentração do íon amônio ( $p = 0,012$ ) e a disponibilidade deste nutriente afetou positivamente em até 37% ( $r^2 = 0,37$ ) a concentração deste pigmento.

### ***Anteraxantina***

A concentração de anteraxantina não diferiu significativamente entre as linhagens ( $F = 0,23$ ;  $p = 0,793$ ). As linhagens, vermelha ( $1,93 \pm 1,33 \mu\text{g/g PS}$ ), marrom ( $1,91 \pm 1,43 \mu\text{g/g PS}$ ) e verde ( $1,82 \pm 1,53 \mu\text{g/g PS}$ ) apresentaram concentrações médias semelhantes durante o período de estudo (**Figura 32**). No entanto, no mês de janeiro a

linhagem marrom apresentou um grande aumento na concentração e diferiu significativamente da linhagem verde e da vermelha (**Tabela 17**).



**Figura 32:** Concentração de anteraxantina nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

**Tabela 17:** Comparação da concentração de anteraxantina no mês de janeiro entre as três linhagens de *G. domingensis* (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Marrom vs. Verde	2,86	<0,001*
Marrom vs. Vermelho	3,214	<0,001*
Verde vs. Vermelho	0,354	0,493

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

A concentração de anteraxantina diferiu significativamente entre os meses de estudo ( $F=26,07$ ;  $p < 0,001$ ). As maiores concentrações foram registradas na linhagem vermelha no mês de julho ( $4,52 \pm 1,27 \mu\text{g/g PS}$ ) e na linhagem marrom no mês de janeiro ( $4,39 \pm 1,73 \mu\text{g/g PS}$ ); a menor foi observada na linhagem verde, no mês de março ( $0,13 \pm 0,10 \mu\text{g/g PS}$ ) (**Figura 32**). Apenas as concentrações registradas no mês de julho diferiram significativamente das concentrações registradas em todos os outros meses de estudo (**Tabela 18**).

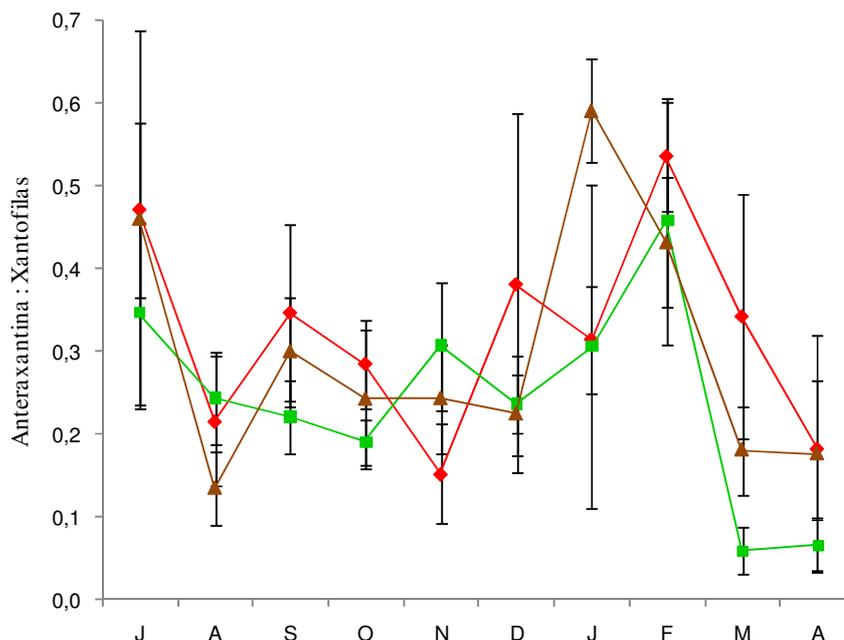
**Tabela 18:** Comparação da concentração de anteraxantina entre os meses de estudo (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Jul vs. Abr	3,572	<0,001*
Jul vs. Mar	3,473	<0,001*
Jul vs. Out	2,902	<0,001*
Jul vs. Dez	2,671	<0,001*
Jul vs. Ago	2,176	<0,001*
Jul vs. Nov	2,146	<0,001*
Jul vs. Set	1,841	<0,001*
Jul vs. Jan	1,688	<0,001*
Jul vs. Fev	1,232	<0,001*

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

A razão anteraxantina/xantofilas totais foi superior a registrada para a violaxantina. A concentração deste pigmento em relação à concentração total das xantofilas diferiu significativamente entre os meses ( $F=20,64$ ;  $p < 0,001$ ) e entre as linhagens ( $F=6,9$ ;  $p=0,001$ ). Em média a linhagem vermelha apresentou a maior razão ( $0,32 \pm 0,15$ ) e a verde a menor ( $0,25 \pm 0,15$ ).

As razões mais elevadas foram registradas no mês de fevereiro para a linhagem vermelha ( $0,54 \pm 0,06$ ) e verde ( $0,46 \pm 0,15$ ) e no mês de janeiro para a marrom ( $0,59 \pm 0,06$ ) (**Figura 33**). Já as menores foram registradas no mês de novembro para a linhagem vermelha ( $0,15 \pm 0,06$ ), nos meses de março e abril para a verde ( $0,06 \pm 0,03$ ) e no mês de agosto para a marrom ( $0,13 \pm 0,04$ ) (**Figura 33**).



**Figura 33:** Razão anteraxantina/xantofilas totais nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

A concentração de anteraxantina na linhagem vermelha esteve associada negativamente ao PAR ( $r=0,56$ ;  $p=0,03$ ). Esta radiação afetou em até 32% ( $r^2=0,32$ ) a concentração de anteraxantina nesta linhagem.

Na linhagem verde a concentração de anteraxantina, além de estar associada de forma negativa ao PAR, apresentou associação positiva significativa com a disponibilidade de nitrato ( $r=0,54$ ;  $r^2=0,29$ ;  $p<0,05$ ). Já a linhagem marrom não apresentou relação significativa com o PAR. Esta linhagem esteve correlacionada com o nitrato e a salinidade ( $r=0,58$ ;  $r^2=0,34$ ;  $p<0,05$ ).

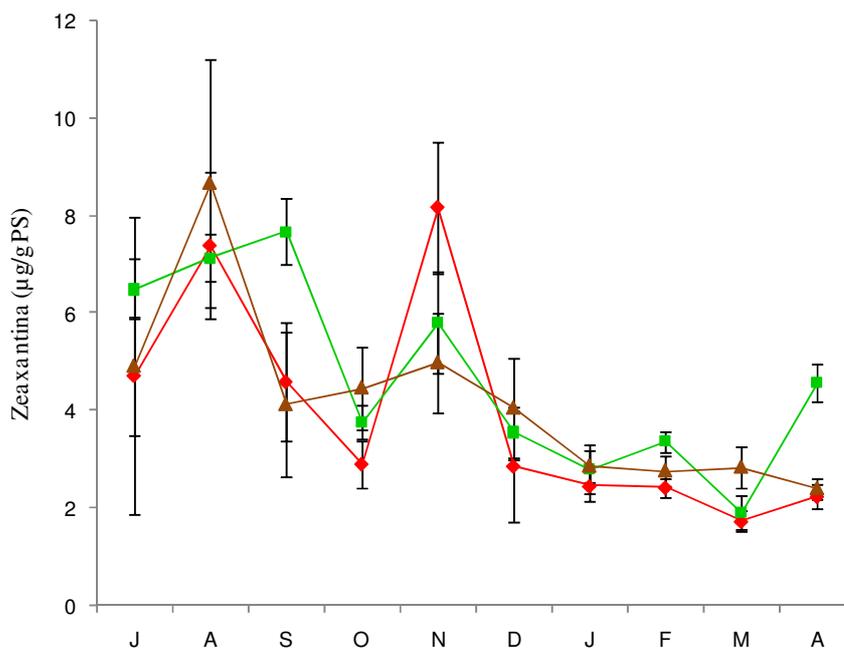
### *Zeaxantina*

A concentração de zeaxantina na linhagem verde diferiu significativamente das concentrações observadas na linhagem vermelha e marrom (**Tabela 19**). Além disso, a linhagem verde foi a que apresentou a concentração média mais elevada ( $4,71 \pm 1,94 \mu\text{g/g PS}$ ) e a vermelha, a menor ( $3,95 \pm 2,31 \mu\text{g/g PS}$ ) (**Figura 34**).

**Tabela 19:** Comparação da concentração de zeaxantina entre as três linhagens de *G. domingensis* (Student Newman Keuls):

Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Verde vs. Vermelho	0,79	<0,001*
Verde vs. Marrom	0,501	0,009
Marrom vs. Vermelho	0,259	1,78

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )



**Figura 34:** Concentração de zeaxantina nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

A concentração desta xantofila também diferiu significativamente entre os meses de estudo ( $F=54,25$ ;  $p < 0,001$ ). No entanto apenas as concentrações observadas nos meses de agosto e novembro diferiram significativamente de todas as outras registradas nos demais meses de estudo (**Tabela 20**).

**Tabela 20:** Comparação da concentração de zeaxantina entre os meses de estudo (Student Newman Keuls):

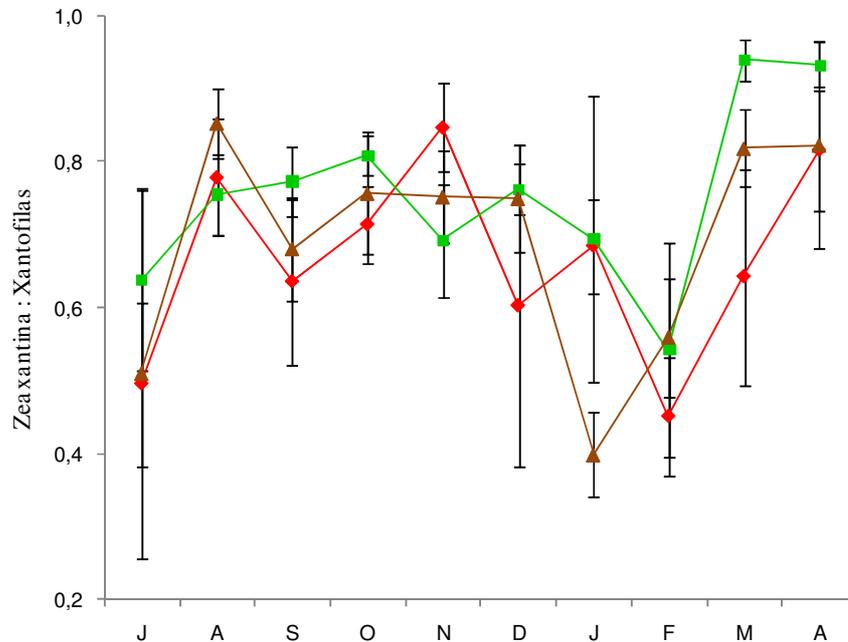
Comparação	Diferença entre os valores médios	P
Ago vs. Mar	5,411	<0,001*
Ago vs. Jan	4,856	<0,001*
Ago vs. Fev	4,675	<0,001*
Ago vs. Abr	4,426	<0,001*
Ago vs. Dez	4,04	<0,001*
Ago vs. Out	3,82	<0,001*
Ago vs. Jul	2,394	<0,001*
Ago vs. Set	2,19	<0,001*
Ago vs. Nov	1,347	<0,001*
Nov vs. Mar	4,064	<0,001*
Nov vs. Jan	3,509	<0,001*
Nov vs. Fev	3,328	<0,001*
Nov vs. Abr	3,079	<0,001*
Nov vs. Dez	2,693	<0,001*
Nov vs. Out	2,472	<0,001*
Nov vs. Jul	1,047	0,016*
Nov vs. Set	0,843	0,026*

(\*): Diferença significativas ( $p < 0,05$ )

A concentração de zeaxantina apresentou uma interação significativa entre os meses do ano e as linhagens ( $F=5,93$ ;  $p < 0,001$ ), ou seja, as linhagens apresentaram respostas diferenciadas em alguns meses de estudo (**Figura 34**). As concentrações máximas de zeaxantina foram registradas no mês de agosto para a linhagem marrom ( $8,66 \pm 2,54 \mu\text{g/g PS}$ ), novembro para a linhagem vermelha ( $8,16 \pm 1,34 \mu\text{g/g PS}$ ) e setembro para a verde ( $7,67 \pm 0,67 \mu\text{g/g PS}$ ); e as mínimas, no mês de março para a vermelha ( $1,74 \pm 0,22 \mu\text{g/g PS}$ ) e a verde ( $1,92 \pm 0,35 \mu\text{g/g PS}$ ), e no mês de abril para a marrom ( $2,41 \pm 0,22 \mu\text{g/g PS}$ ).

Assim como ocorreu com a concentração de zeaxantina por peso seco, a razão zeaxantina/xantofilas totais diferiu significativamente entre os meses de estudo ( $F=18,81$ ;  $p < 0,001$ ). A razão média observada na linhagem verde ( $0,76 \pm 0,15$ ) foi superior e diferiu significativamente ( $F=16,55$ ;  $p < 0,001$ ) da vermelha ( $0,67 \pm 0,16$ ) e da marrom ( $0,69 \pm 0,17$ ).

A linhagem verde apresentou as maiores razões nos meses de março ( $0,94 \pm 0,03$ ) e abril ( $0,93 \pm 0,03$ ), a vermelha nos meses de novembro ( $0,85 \pm 0,06$ ) e abril ( $0,82 \pm 0,08$ ) e a marrom nos meses de agosto ( $0,85 \pm 0,05$ ), março ( $0,82 \pm 0,05$ ) e abril ( $0,82 \pm 0,14$ ) (**Figura 35**).



**Figura 35:** Razão zeaxantina/xantofilas totais nas variantes cromáticas de *G. domingensis* durante o período de estudo. As variantes estão representadas no gráfico por suas respectivas cores.

Durante o período de estudo a concentração de zeaxantina em relação às xantofilas totais, nunca foi inferior a 0,4, nas linhagens, marrom e vermelho e na verde a menor razão não foi inferior a 0,5. Além disso, a linhagem verde (nos meses de março e abril, principalmente) apresentou razões próximas a 1. Estes valores mostram que a zeaxantina é a xantofila dominante na espécie *G. domingensis*.

A concentração de zeaxantina na linhagem vermelha esteve associada de forma positiva e significativa, apenas com a disponibilidade de nitrato na água ( $r=0,58$ ;  $p=0,02$ ). Este nutriente afetou a concentração de zeaxantina na linhagem vermelha em até 34% ( $r^2=0,35$ ).

Na linhagem verde a zeaxantina esteve correlacionada positivamente com o íon amônio ( $p<0,001$ ) e a salinidade ( $p=0,002$ ) e negativamente com o nitrato ( $p<0,05$ ) e o

ortofosfato ( $p < 0,05$ ). Esses parâmetros afetaram em até 75% ( $r = 0,86$ ;  $r^2 = 0,75$ ) a dinâmica da zeaxantina na linhagem verde.

Na linhagem marrom, a concentração de zeaxantina esteve relacionada apenas a temperatura ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,05$ ). Este parâmetro atuou de forma positiva e afetou em até 38% ( $r^2 = 0,38$ ) a concentração de zeaxantina nesta linhagem.

## *5. Discussão*

A capacidade de um genótipo modificar seu fenótipo em função das alterações ambientais é considerada crucial para adaptação do organismo à dinâmica espacial e temporal do ambiente onde vive (Monro & Poore, 2005). Macroalgas marinhas têm sido descritas como organismos altamente mutagênicos (Collado-Vides, 2002; Lobban & Harrison, 1997) e essas mutações têm afetado uma ampla variedade de fenótipos, incluindo morfologia, pigmentação, composição química e expressão de caracteres sexuais (Poore & Fagerström, 2000).

Neste experimento, mutantes de cor foram freqüentemente encontrados em populações naturais da Rhodophyceae *G. domingensis*, indicando que mutações são comuns em populações naturais desta espécie. Além disso, a ocorrência das três variantes cromáticas durante todo o período de estudo revelou a estabilidade dos genótipos dessas variantes e o sólido estabelecimento desses mutantes nas populações naturais de Rio do Fogo-RN.

Em geral, poucos estudos relatam a ocorrência de variantes cromáticas em populações naturais de *Gracilaria*. No entanto, a ocorrência de variantes pigmentares de *G. domingensis* em populações naturais já foi descrito como estável. Guimarães et al (2003), por exemplo, estudaram a freqüência de variantes pigmentares desta espécie em duas praias no Estado do Ceará e assim como neste estudo, as três diferentes linhagens foram comumente encontradas na mesma população, caracterizando polimorfismo.

O estudo pigmentar e protéico entre as linhagens, vermelha, verde e marrom apontaram diferenças significativas ( $P < 0,001$ ) entre elas, o que remete a diferentes estratégias de aclimação. A linhagem vermelha apresentou a maior concentração de ficoeritrina e proteínas totais solúveis, a marrom uma concentração intermediária e a verde as menores concentração de ficoeritrina e proteínas, mas uma maior concentração de ficocianina. Esses resultados coincidem com estudos anteriores utilizando variantes cromáticas de outras espécies de Rhodophyceae (Kursar et al, 1983; Dawes, 1992; Guimarães et al, 2003; Plastino et al, 2004; Yokoya et al, 2007).

Em estudos anteriores, Plastino et al (2004) atribuíram a deficiência de ficoeritrina, em linhagens verdes de *G. birdiae*, a anomalias encontradas em alguns cloroplastos desta linhagem e apontaram baixas taxas de crescimento como resultado desta deficiência. No entanto, essa deficiência não parece ser um problema para a

linhagem verde de *G. domingensis*, uma vez que esta linhagem tem se mostrado estável nas populações naturais estudadas.

A baixa concentração de ficoeritrina na linhagem verde, talvez não seja uma deficiência, mas o resultado de uma estratégia diferente para captação de luz. Apesar da pequena quantidade de ficoeritrina, a linhagem verde apresentou uma organização diferente da razão ficoeritrina/ficocianina no ficobilissomo. Essa reorganização resulta em diferentes estratégias na captação do espectro de luz, uma vez que a ficoeritrina absorve a luz no verde e azul e a ficocianina no vermelho (Glazer, 1985; López-Figueroa, 1991). Diante disso, pode-se supor que a linhagem verde perdeu ficoeritrina e aumentou a razão ficocianina/ficoeritrina, a fim de modificar sua resposta à incidência de luz e se adaptar a novas condições, otimizando e preservando o funcionamento do aparato fotossintético. Esta hipótese está de acordo com Yokoya et al (2007), que concluíram que a linhagem verde de *H. musciformis* é mais adaptada a ambientes com elevados níveis de irradiância e a marrom a ambientes mais sombreados.

A concentração protéica e pigmentar nas três linhagens variou de maneira significativa durante o período de estudo ( $p < 0,001$ ). As proteínas totais solúveis e as ficobiliproteínas apresentaram tendência à queda do início ao fim do estudo. As maiores concentrações foram registradas nos meses de menor radiação (julho, agosto) e as menores nos meses de radiação mais elevada (dezembro, janeiro e fevereiro). O declínio desses parâmetros foi similar ao descrito por outros autores, que registraram aumento nas proteínas totais solúveis e ficobiliproteínas no período de inverno e queda no verão (Kosovel & Talarico, 1979; Rosenberg & Ramus, 1982; Campbell et al, 1999; Aguilera et al, 2002; Orduña-Rojas et al, 2002).

Neste estudo, ficou clara a associação das elevadas concentrações de proteínas e pigmentos com a menor irradiância e as elevadas concentrações de nitrogênio, condições registradas nos meses mais chuvosos e que coincidem com resultados obtidos em outros estudos (Kosovel & Talarico, 1979; Lapointe, 1981; Jones et al, 1996; Orduña-Rojas et al, 2002).

Muitos estudos relacionam a concentração protéica e pigmentar com a disponibilidade do nitrogênio (Jones, et al., 1996; Campbell, et al., 1999; Aguilera, et al., 2002; Gordillo, et al., 2006). Segundo Kosovel & Talarico (1979), o gênero

*Gracilaria* é capaz de absorver nitrogênio, quando este se encontra em excesso no ambiente e estocá-lo na forma de proteínas e pigmentos. As proteínas e os pigmentos, principalmente a ficoeritrina, são as principais fontes de nitrogênio utilizadas pela alga para sustentar o crescimento, em períodos de baixa disponibilidade deste nutriente no ambiente. No entanto, o nitrogênio não é o único fator determinante da concentração pigmentar. A luz tem um papel fundamental e exerce um efeito oposto ao do nitrogênio sobre os pigmentos. Neste estudo, a diminuição na concentração pigmentar esteve intimamente relacionada com a diminuição da disponibilidade do íon amônio e aumento na radiação solar. Esse padrão tem sido comumente descrito na literatura para o período de verão e aponta alterações estratégicas nos níveis dos pigmentos a fim de otimizar e maximizar as taxas fotossintéticas. Segundo Lapointe (1981), as alterações na concentração pigmentar são determinadas pela interação entre os dois fatores, intensidade luminosa e disponibilidade de nutrientes. Essa interação determina se é o aumento ou a diminuição na concentração dos pigmentos que resultará em um aumento da capacidade fotossintética.

As três linhagens de *G. domingensis* apresentaram concentração de ficoeritrina superior a de clorofila-*a*, que por sua vez, foi superior a dos carotenóides totais durante todos os meses, como freqüentemente ocorre em algas vermelhas (Kosovel & Talarico, 1979). Além disso, as concentrações dos carotenóides totais e da clorofila-*a* variaram de forma semelhante ao longo dos meses, o que também já foi descrito em outros estudos (Kosovel & Talarico, 1979). No entanto, as razões carotenóides/clorofila-*a* e xantofilas/clorofila-*a* apresentaram dinâmica distinta, verificando-se concentrações mais elevadas nos primeiros meses, acompanhada de menores razões e concentrações mínimas nos últimos meses, onde ocorrem as maiores razões. Essa queda na concentração dos pigmentos e aumento na razão mostra um ajuste pigmentar que pode ser interpretado como uma resposta do aparato fotossintético as condições ambientais. Esse ajuste ficou mais evidente nos últimos meses de estudo, quando foi observada um aumento da radiação e uma diminuição da concentração dos nutrientes. Isso sugere que esses mecanismos funcionam como uma estratégia de aclimação e possibilitam uma adaptação contínua da espécie as condições ambientais que variam ao longo do ano.

As concentrações da clorofila-*a* e dos carotenóides oscilaram significativamente ao longo do estudo, sendo registradas as maiores concentrações no mês de julho (menor

PAR) e as menores no mês de março (maior PAR). Em novembro e fevereiro foram registrados dois picos, o que esteve correlacionado com o aumento na concentração do nitrato, sendo confirmada estatisticamente a influência deste nutriente sobre os pigmentos lipossolúveis. Além disso, as concentrações mais elevadas coincidiram com os menores índice de radiação (PAR) e as menores concentrações com os níveis mais elevados. Essa relação pigmentos/luz não foi confirmada estatisticamente, entretanto alterações no conteúdo pigmentar de algas vermelhas em função de mudanças na intensidade luminosa já são bem conhecidas (Jahn et al., 1984; Figueroa et al., 1997; Beach & Smith, 1996). Isso ocorre principalmente porque em condições de baixa intensidade luminosa a eficiência fotossintética é elevada e a alga precisa de uma grande quantidade de moléculas coletoras de luz (pigmentos), a fim de aumentar o transporte de elétrons fotossintéticos; o inverso ocorre em períodos de intensa luminosidade, pois a eficiência fotossintética declina e o conteúdo de pigmentos fotossintéticos diminui a fim de proteger o fotossistema II de fotodanos irreversíveis e da fotoinibição (Lüning, 1990).

Neste estudo, o pigmento carotenóide mais abundante foi o  $\beta$ -caroteno, o qual apresentou concentrações semelhantes as das xantofilas totais nas três linhagens estudadas. Entre as xantofilas, a zeaxantina foi a mais abundante nas três linhagens. Em estudos anteriores, Anderson et al (2006), demonstraram que o pigmento mais abundante nas linhagens verde e vermelho de *G. domingensis* era a anteraxantina. Essa diferença pode está relacionada às condições onde as algas se encontravam. No presente estudo as algas analisadas foram coletadas na região do médiolitoral (entremarés), onde recebiam intensa radiação luminosa enquanto no experimento de Anderson et al (2006), as algas eram cultivadas em laboratório, o que significa uma quantidade de luz inferior ao observada para as algas de Rio do Fogo-RN. No ambiente natural as algas ficam expostas a diversos fatores simultaneamente. Isso contribui para que elas desenvolvam estratégias de síntese de pigmentos diferentes das algas testadas em laboratório. Portanto, analisar um efeito isolado de um único parâmetro em laboratório fornece resultados diferentes dos obtidos no campo.

O  $\beta$ -caroteno é um pigmento com alto poder fotoprotetor (Demming-Adams, 1990). Este carotenóide tem sido descrito como um pigmento com uma forte capacidade para adaptação fotossintética em condições ambientais extremas (Gómez-Pinchetti et al,

1992). Geralmente o  $\beta$ -caroteno está associado a clorofila no tilacóide, onde atua como pigmento coletor de luz. Entretanto, em condições estressantes, como intensa radiação (PAR), ele acumula-se na periferia do cloroplasto, formando glóbulos lipoidais (gotas de caroteno) desempenhando duplo papel, como coletor de luz e como fotoprotetor do aparato fotossintético contra elevadas irradiâncias (Gómez-Pinchetti et al, 1992). Elevados níveis de  $\beta$ -caroteno implicam em uma maior resistência a fotoinibição ao custo de uma menor taxa fotossintética, ou seja, a habilidade em sintetizar elevados níveis de  $\beta$ -caroteno está correlacionada com um aumento na capacidade do organismo em suportar níveis mais altos de radiação, sem sofrer fotoinibição, o que ocorre devido a uma diminuição na taxa fotossintética (Gómez-Pinchetti et al, 1992).

Nos meses de verão, além do aumento na radiação, ocorre o aumento da temperatura. Em condições de emersão a alga disseca, sofrendo desidratações muito mais severas do que em qualquer outra época do ano. Nessas condições estressantes o fotossistema II sofre fotoinibição, o que gera a formação de  $^1\text{O}_2$  e  $^3\text{Chl}^*$  (Smirnoff, 1993). Os carotenóides podem reagir com  $^1\text{O}_2$  e  $^3\text{Chl}^*$  e proteger o cloroplasto contra lipoperoxidação e bloquear a reação em cadeia dos radicais (Collen & Davison, 1999). Dessa forma, a tolerância de *G. domingensis* a essas condições de estresse pode ser atribuída aos pigmentos carotenóides, que atuam na defesa antioxidante e reagem com espécies reativas de oxigênio, prevenindo e evitando danos oxidativos letais e mantêm a integridade fisiológica da alga em períodos de alto estresse.

Neste estudo o ajuste nas concentrações e nas razões dos carotenóides observadas ao longo dos meses, revelou o duplo papel desses pigmentos como coletores de luz e como agentes antioxidantes. No entanto, a ação antioxidante ficou mais evidente nos meses de intensa radiação (setembro, dezembro, fevereiro, março e abril), quando as razões carotenóides/clorofila-*a* e xantofilas/clorofila-*a* praticamente dobraram. Além disso, nos meses de novembro e janeiro houve um aumento nas concentrações dos pigmentos lipossolúveis, o que esteve relacionado a disponibilidade de nitrato na água. O aumento na oferta do nutriente possibilitou a alga sintetizar novos pigmentos e repor os que foram consumidos anteriormente como fonte de nutrientes.

Os carotenóides também podem atuar dissipando o excesso de energia através do ciclo das xantofilas (Demming-Adams, 1990; Young, 1991; Niyogi, 1999; Edge et al, 1997). Em algas vermelhas o ciclo das xantofilas ainda não foi completamente descrito

(Schubert & García-Mendoza, 2008), embora muitas espécies apresentem violaxantina anteraxantina e zeaxantina e a interconversão desses pigmentos em diferentes condições de luz tenha sido descrita (Rmiki et al, 1996; Ursi, et al 2003).

As três linhagens de *G. domingensis* apresentaram violaxantina, anteraxantina e zeaxantina nos meses de menor radiação, o que tem sido descrito para várias outras espécies da ordem Gracilariales (Rmiki et al, 1996; Ursi, et al 2003; Anderson et al, 2006; Schubert et al, 2006). No entanto, nos meses de intensa radiação a violaxantina esteve ausente ou em baixíssimas concentrações, o que sugere a pequena importância deste pigmento e que a interconversão, violaxantina, anteraxantina e zeaxantina, só ocorra nos meses de menor radiação, ficando restrita a anteraxantina, zeaxantina, nos meses de intensa radiação. Essa ausência de violaxantina coincidiu com os meses de intensa radiação e provavelmente também está relacionada ao horário em que as algas foram coletadas (entre 9 e 12hs da manhã). Desse modo, a alga se encontrava aclimatada a condições de intensa luminosidade, não necessitando da violaxantina, que estaria convertida em zeaxantina, pigmento capaz de prover resistência ao estresse por altos níveis de radiação (Schubert et al, 2006 ; Schubert & García-Mendoza, 2008).

Nos meses de março e abril, quando foi registrada a menor concentração pigmentar e protéica, as algas apresentavam-se pálidas e amareladas, conservando sua cor original apenas na região do talo (área mais protegida da luz), Durante esse período, o nitrogênio estava disponível em menores concentrações e a radiação elevada. A alteração da cor provavelmente resultou de uma metabolização dos pigmentos protéicos, que foram utilizados como fonte de proteínas. No entanto, houve aumento na razão zeaxantina/xantofilas, pigmento que atua na fotoproteção e tem cor amarelada (Demming-Adams & Adams, 1996). Dessa forma, ficou evidente a ação fotoprotetora e antioxidante deste pigmento na espécie, pois este era um período de alto estresse (elevada radiação e pouco nutriente). Esse aumento nas concentrações de zeaxantina (principalmente na linhagem verde) foi acompanhado de uma diminuição na anteraxantina e ocorreu em resposta a um longo período (meses) de elevadíssima radiação., ficando evidente a interconversão violaxantina, anteraxantina e zeaxantina, mas principalmente anteraxantina, zeaxantina em função das alterações na radiação ao longo dos meses.

Em geral o ciclo das xantofilas é descrito como uma rápida interconversão (minutos ou segundos) entre os pigmentos (Demming-Adams, 1990; Demming-Adams & Adams III, 1992). No entanto, os resultados obtidos nesse estudo mostram as alterações nas xantofilas ao longo dos meses em função das mudanças na radiação. Esses resultados estão de acordo com Carnicas et al (1999), que descreveram aclimatação lenta (vários dias) da razão zeaxantina/clorofila-*a* as mudanças na irradiância com um relativo aumento na zeaxantina em resposta ao aumento da radiação em *Gracilaria*. No entanto esse aumento nas concentrações de zeaxantina pode não ocorrer através do ciclo das xantofilas, mas da carotenogenesis produzindo novas moléculas de zeaxantina diretamente a partir do  $\beta$ -caroteno (Niyogi et al, 1997).

A concentração de violaxantina e anteraxantina foi superior na linhagem vermelha e marrom e a da zeaxantina na linhagem verde. Essa diferença nas concentrações sugere uma pequena diferença na sensibilidade à intensidade luminosa entre as linhagens. Dentre os carotenóides a zeaxantina é um pigmento chave envolvido na resposta fotoprotetora ao estresse por elevada radiação (Demming-Adams, 1990) e é a xantofila com o mais forte poder dissipador do excesso de energia (Frank et al, 2001). O elevado conteúdo de zeaxantina na *G. domingensis*, em especial na linhagem verde, sugere baixa sensibilidade ao estresse por elevada radiação desta espécie comparada com outras algas vermelhas e desta linhagem sobre as outras duas.

A elevada concentração de  $\beta$ -caroteno e zeaxantina sobre os outros pigmentos, principalmente em períodos de condições estressantes em *G. domingensis* é um dos fatores que permite esta espécie habitar a zona intertidal (em regiões tropicais) e sobreviver durante todo o ano as condições estressantes na zona entremarés. Além desses pigmentos outra molécula fotoprotetoras e antioxidantes tem sido descritas e outros estudos são necessários para o entendimento sobre os mecanismos protetores que resultam na alta tolerância desta espécie as variáveis ambientais.

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que as três linhagens de *G. domingensis* possuem diferentes estratégias de aclimatação. A concentração de proteínas totais solúveis e ficobiliproteínas nas três linhagens diferiram significativamente e foram fortemente correlacionadas com os fatores ecológicos da região onde habitam. Esta forte correlação mostrou a capacidade e a plasticidade desta espécie em modificar sua composição bioquímica a fim de tolerar e resistir às variações

ambientais. A disponibilidade bem como o estoque de nitrogênio e a radiação solar afetaram as concentração dos componentes fotossintéticos nas três linhagens estudadas. No entanto, a resposta delas foi diferenciada. As biliproteínas, aparentemente, funcionaram como estoque de nitrogênio e os carotenóides atuaram como fotoprotetor e antioxidante nas três linhagens e a espécie foi capaz de se aclimatar às diferentes condições observadas ao longo do ano.

## *6. Referências*

- Aguilera, J.; Bischof, K.; Karsten, U.; Hanelt, D. & C., W., 2002. Seasonal variation in the ecophysiological patterns in macroalgae from an Arctic fjord. II. Pigment accumulation and biochemical defence systems against high light stress. *Marine Biology* 140: 1087-1095.
- Aguirre-von-Wobeser, E.; Figueroa, F., & Cabello-Pasini, A., 2000. Effect of UV radiation on photoinhibition of marine macrophytes in culture systems. *J. Appl. Phycol.* 12: 159– 168.
- Andersson, M.; Schubert, H., & Pedersén, M., 2006. Different patterns of carotenoid composition and photosynthesis acclimation in two tropical red algae. *Marine biology* 149: 653-665.
- Beach, K.S. & Smith, C.M., 1996. Ecophysiology of tropical rhodophytes II: microscale acclimation in photosynthesis. *J. Phycol* 32: 710-718.
- Beach, K. S.; Smith, C. M. & Okano, R., 2000. Experimental Analysis of Rhodophyte Photoacclimation to PAR and UV-Radiation using In Vivo Absorbance Spectroscopy. *Botanica Marina* 43: 525-536.
- Beer, S. & Eshel, A., 1985. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 36: 785-792.
- Benson, E.E.; Rutter, J. C.; Cobb, A. H., 1983. Seasonal variation in frond morphology and chloroplast physiology of the intertidal alga *Codium fragile* (Suringar) Hariot. *New Phytol* 95: 569-580.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Bioch* 72: 248-54.
- Cabello-Pasini, A.; Aguirre-von-Wobeser, E. & Figueroa, F., 2000. Photoinhibition of photosynthesis in *Macrosystis pyrifera* (Phaeophyceae), *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and *Ulva lactuca* (Chlorophyceae) in outdoor culture systems. *J. Photochem. Photobiol., B Biol.* 57: 169– 178.
- Campbell, S. J.; Bité, J. S. & Burrige, T. R., 1999. Seasonal patterns in the photosynthetic capacity, tissue pigment and nutrient content of developmental stages of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta: Laminariales) in Port Phillip bay, South-Eastern Australia. *Botanica Marina* 42: 231-241.
- Carnicas, E.; Jiménez, C. & Niell, F.X., 1999. Effects of changes of irradiance on the pigment composition of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang et Xia. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 50: 149-158.

- Choo, K. S.; Nilsson, J.; Pedersén, M. & Snoeijs, P., 2005. Photosynthesis, carbon uptake and antioxidant defence in two coexisting filamentous green algae under different stress conditions. *Mar Ecol Prog Ser* 292: 127–138.
- Collado-Vides, L., 2002. Clonal architecture in marine macroalgae: ecological and evolutionary perspectives. *Evolutionary Ecology* 15: 531-545.
- Collén, J. & Davison, I.R., 1999. Stress tolerance and reactive oxygen metabolism in the intertidal red seaweeds *Mastocarpus stellatus* and *Chondrus crispus*. *Plant, Cell and Environment* 22: 1143-1151.
- Costa, V. & Plastino, E.M., 2001. Histórico de vida de espécimens selvagens e variantes cromáticas de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Rev. brasil. Bot.* 24 (4): 491-500.
- Dawes, C. J., 1992. Irradiance acclimation of the cultured Philippine seaweed, *Kappaphycus alvarezii* and *Euchema denticulatum*. *Bot. Mar.* 35: 189-195.
- Demming-Adams, 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1020: 1-24.
- Demming-Adams, B. & Adams, W.W., 1992. Photoprotection and other response of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol* 43: 599-626.
- Demming-Adams, B. & Adams, W.W., 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Sci* 1: 21-26.
- Dere, S.; Dalkiran, N.; Karacaoglu, D.; Yildiz, G. & Dere, E., 2003. The determination of total protein, total soluble carbohydrate and pigment contents of some macroalgae collected from Gemlik-Karacaali (Bursa) and Erdek-Ormanli (Balikesir) in the Sea of Marmara, Turkey. *Oceanologia* 45 (3): 453-471.
- Dhargalkar, V.; Untawale, A. & Jagtap, T., 2001. Marine macroalgal diversity along the Maharashtra coast: Past and present status. *Indian Journal of Marine Sciences* 30 (1): 18-24.
- Edge R.; McGarvey D.J.; Truscott T.G., 1997. The Carotenoids as anti-oxidant - a review. *New Trends in Photobiology* 41 (3): 189-200.
- Ferreira, L.; Barufi, J. & Plastino, E., 2006. Growth of red and green strain of the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta) in laboratory. *Revista Brasileira de Botânica* 29 (1): 187-192.
- Figueroa, F.L.; Salles, S.; Aguilera, J.; Jimenez, C.; Mercado, J.; Vinegla, B., Flores-Moya, A., Altamirano, M., 1997. Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 151: 81-90.

- Figuerola, F.L. & Gómez, I., 2001. Photosynthetic acclimation to solar UV radiation of marine red algae from the grasstemperate coast of southern Spain. A review. *J. Appl. Phycol.* 13: 235-248.
- Frank, H., Das, S.K.; Bautista, J.; Bruce, D.; Vasil'ev, S.; Crimi, M.; Croce, R. & Bassi, R., 2001. Photochemical behaviour of xanthophylls in the recombinant photosystem II antenna complex, CP26. *Biochemistry* 40: 1220-5.
- Glazer, A., 1985. Light harvesting of phycobilisomes. *Ann Revs. Biophys. Biophys. Chem.* 14: 47-77.
- Gómez-Pinchetti, J. L.; Ramazanov, Z.; Fontes, A.; García-Reina, G., 1992. Photosynthetic characteristics of *Dunaliella salina* (Chlorophyceae, Dunaliellales) in relation to  $\beta$ -carotene content. *Journal of Applied Phycology* 4: 11-15.
- Gómez, I.; López-Figuerola, F.; Huovinen, P.; Ulloa, N. & Morales, V., 2005. Photosynthesis of the red alga *Gracilaria chilensis* under natural solar radiation in an estuary in southern Chile. *Aquaculture* 244: 369-382.
- Gordillo, F. J.; Aguilera, J. & Jiménez, C., 2006. The response of nutrient assimilation and biochemical composition of Arctic seaweeds to a nutrient input in summer. *Journal of Experimental Botany* 57 (11): 2661-2671.
- Grossman, A. R.; Schaefer, M. R.; Chiang, G. G. & Collier, J. L., 1993. The Phycobilisome, a Light-Harvesting Complex Responsive to Environmental Conditions. *Microbiological Reviews* 725-749.
- Guarantini, T., 2008. Antioxidantes de macroalgas marinhas: caracterização química e atividade in vitro. *Tese de doutoramento - IQUSP* 141pp.
- Guimarães, M.; Plastino, E. M. & Destombe, C., 2003. Green mutant frequency in natural population of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. *Eur. J. Phycol.* 38: 165-169.
- Häder, D. & Figuerola, F., 1997. Photoecophysiology of marine macroalgae. *J. Photochemistry and Photobiology* 66(1): 1-14.
- Häder, D. P.; Kumar, H. D.; Smith, R. C., & Worrest, R. C., 1998. Effects on aquatic ecosystems. *J. Photochem Photobiol. B: Biol.* 46: 53-68.
- Häder, D. P.; Lebert, M.; Sinha, R. P., Barbieri, E. S. & Helbling, E. W., 2002. Role of protective and repairs mechanisms in the inhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Photochem. Photobiol. Sci.* (1) 809-814.
- IDEMA. Acesso em 07 de julho de 2007, disponível em Governo do RN: [http://www.rn.gov.br/secretarias/idema/perfil\\_r.asp](http://www.rn.gov.br/secretarias/idema/perfil_r.asp)

- Jahn, W.; Steinbiss, J.; Zetsche, K., 1984. Light intensity adaptation of the phycobiliprotein content of the red alga *Porphyridium*. *Planta* 161: 536-539.
- Jones, A. B.; Dennison, W. C. & Stewart, G. R., 1996. Macroalgal responses to nitrogen source and availability: amino acid metabolic profiling as a bioindicator using *Gracilaria edulis* (Rhodophyta). *J. Phycol* 32: 757-766.
- Kosovel, V. & Talarico, L., 1979. Seasonal variation of photosynthetic pigments in *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss (Florideophyceae-Gigartinales). *Bollettino Della Società Adriatica di Scienze* LXIII: 5-15.
- Kursar, T. A.; Van Der Meer, J. P. & Albert, R. S., 1983. Light-harvesting system of red alga *Gracilaria tikvahiae*. 1. Biochemical analysis of pigment mutation. *Plant. Physiol.* 73: 353-360.
- Lapointe, B., 1981. The effects of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *agustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). *J. Phycol* 17: 90-95.
- Lobban, C. & Harrison P.J., 1997. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge, New York, USA: Cambridge University Press.
- López-Figueroa, F. & Niel, F.X., 1990. Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds. *Marine Biology* 104: 321-327.
- López-Figueroa, F., 1991. Red, Green and Blue light photoreceptors controlling chlorophyll-*a*, biliprotein and total protein synthesis in the red alga *Chondrus crispus*. *Br. phycol. J.* 26: 383-393.
- Lüning, K., 1990. *Seaweeds: Their Environment, Biogeography, and Ecophysiology*. Wiley-Interscience Publication, New York, p. 242.
- Marquardt, J. & Hanelt, D., 2004. Carotenoid composition of *Delesseria lancifolia* and other marine red algae from polar and temperate habitats. *Eur. J. Phycol.* 39: 285-292.
- Meneses, I. & Santelices, B., 1999. Strain selection and genetic variation in *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 11: 214-246.
- Mercado, J.; Sánchez, P.; Carmona, R. & Niell, F. X., 2002. Limited acclimation of photosynthesis to blue light in the seaweed *Gracilaria tenuistipitata*. *Physiol. Plant* 14: 491-498.
- Monro, K. & Poore, A.G.B., 2005. Light quantity and quality induce shade-avoiding plasticity in a marine macroalgae. *J. Eur. Biol.* 18: 426-435.

- Muñoz, J.; Freile-Pelegrin, Y. & Robledo, D., 2004. Mariculture of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) color strains in tropical waters of Yucatán, México. *Aquaculture* 239: 161-177.
- Niyogi, K.K.; Björkman, O. & Grossman, A.R., 1997. The roles of specific xanthophylls in photoprotection. *Plant Biology* 94: 14162-14167.
- Niyogi, K., 1999. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 333-359.
- Oliveira, E., 1998. The seaweed resources of Brazil. In: Critchley, A. T. & Ohno, M. (eds). Seaweed resources of the world. *Japan International Cooperation Agency. Yokosuka, Japan.* 366-371pp.
- Orduña-Rojas, J.; Robledo, D. & Dawes, C. J., 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J.Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatán, Mexico. I. Seasonal physiological and biochemical responses. *Botanica Marina* 45: 453-458.
- Pandey, D. M.; Kim, K. H.; Kang, K. H. & Yeo, U. D., 2004. High irradiance effects on the xanthophyll cycle pigments and the activity of violaxanthin de-epoxidase in soybean callus. *Photosynthetica* 42 (1): 153-156.
- Pinto, E., 2002. Modulação dos níveis de pigmentos e ácidos graxos em algas marinhas: função dos carotenóides e efeitos do estresse ambiental. *Tese Doutorado IQUSP* 118 pp.
- Plastino, E., Guimarães, M., Matioli, R. & Oliveira, E., 1999. Codominant inheritance of polymorphic color variants of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Genet. Mol. Biol.* 22 (1)
- 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.
- Poore, A. G., & Fagerström, T, 2000. Intraclonal variation in macroalgae: causes and evolutionary consequences. *Selection* 1 (3): 123-133.
- Ramus, J.; Beale, S. I.; Mauzerall, D. & Howard, K. L., 1976. Changes in the photosynthetic pigment concentration in seaweeds as a function of water depth. *Marine Biology* 37: 223-229.
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J. & Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 933-956.

- RmikiL, N.; Brunet, C.; Cabioch, J.; Lemoine Y., 1996. Xanthophyll-cycle and photosynthetic adaptation to environment in macro- and microalgae. *Hydrobiologia*, 326/327: 407-413.
- Rosenberg, G., & Ramus, J., 1982. Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva sp.* (Chlorophyceae): photosynthesis and antenna composition. *Mar. Ecol. Prog. Ser* 8: 233-241.
- Santelices, B. & Varela, D., 1993. Intra-clonal variation in the red seaweed *Gracilaria chilensis*. *Marine Biology* 116: 543-552.
- Santelices, B.; Correa, J.A.; Meneses, I.; Aedo, D. & Varela, D., 1996. Sporeling coalescence and intraclonal variation in *Gracilaria chilensis*. *Journal of Phycology* 32: 313-322.
- Santelices, B., 2001. Advances in the study of intraclonal variation in *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta). *Cah. Biol. Mar.* 42: 39-44.
- Schubert, N.; García-Mendoza, E. & Pacheco-Ruiz, 2006. Carotenoid composition of marine red algae. *J. Phycol.* 42: 1208-1216.
- Schubert, N. & García-Mendoza, E., 2008. Photoinhibition in red algal species with different carotenoid profiles. *J. Phycol.*, 44: 1437-1446.
- Skriptova, A. V. & Yakovleva, I. M., 2002. The influence of variations in irradiance upon morphology in an unattached form of *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft during field cultivation, South Primorye, Russia. *Aquat. Ecol.* 36: 511-518.
- Strickland, J. H. & Parsons, T. R., 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, p. 310.
- Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.* 125: 27-58.
- Talarico, L., & Maranzana, G., 2000. Light and adaptative response in red macroalgae: an overview. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 56: 1-11.
- Ursi, S.; Pedersén, M.; Plastino, E. & Snoeijs, P., 2003. Intraspecific variation of photosynthesis, respiration and photoprotective carotenoids in *Gracilaria birdiae* (Gracilariales: Rhodophyta). *Marine Biology* 142: 997-1007.
- Yokoya, N.S.; Necchi, O.; Martins, A.P.; Gonzalez, S.F. & Plastino, E.M., 2007. Growth responses and photosynthetic characteristics of wild and pycoerythrin-deficient strains of *Hypneas musciformis* (Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 19: 197-205.

Young, A., 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83: 702-708.

Zigmantas, D.; Hiller, R.G.; Sundström, V. & Polívka, T., 2002. Carotenoid to chlorophyll energy transfer in the peridinin-chlorophyll-*a*-protein complex involves an intramolecular charge transfer state. *PNAS* 99(26): 16760-16765.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)