

3

GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DOS TETRÁS-
POROS DE *CENTROCERAS CLAVULATUM*
(RHODOPHYTA-CERAMIACEAE) EM CULTURA

GERMINATION AND DEVELOPMENT OF THE
TETRASPORES OF *CENTROCERAS CLAVULATUM*
(RHODOPHYTA-CERAMIACEAE) IN CULTURE

Eurico Cabral de Oliveira Filho¹ e Maria Cecília Brinati²

R E S U M O

Coletas periódicas no litoral de São Paulo e dados da literatura mostram que *Centroceras clavulatum* é encontrada com tetrasporângios durante todos os meses do ano e que plantas com estruturas de reprodução masculina ou feminina são raras. A germinação dos tetrasporos segue um padrão de desenvolvimento que se aproxima mais do encontrado nas Rhodomelaceae que nas Ceramiaceae. Discute-se o tamanho dos esporos como possível caráter de valor taxonômico. As plantas obtidas em cultura, no laboratório, a partir da germinação de tetrasporos, são comparadas, quanto à sua morfologia, com as plantas coletadas na natureza.

S U M M A R Y

Centroceras clavulatum is found with tetraspores throughout the year; male and female plants are rare. A detailed development, from tetraspores to full plants, in laboratory conditions is described. The development of the spores is closer to the pattern presented by the Rhodomelaceae than by the Ceramiaceae. The taxonomical value of spore's size, based on its mean size and

¹ Dept. Botânica — Univ. S. Paulo.

² Bolsista da FAPESP.

standard deviation, is discussed. The author's discuss the morphological discrepancies found between the plants obtained in the laboratory (Von Stosch and Erd-Schreiber media) and the ones gathered in nature.

INTRODUÇÃO

Numerosos autores têm salientado a importância de estudos sobre o desenvolvimento de esporos de algas vermelhas como um importante subsídio para a taxonomia deste grupo de plantas (Chemin 1937; Feldmann 1938; Boillot 1961; Chihara & Kamura 1963; Kamura 1963; Oliveira Filho 1964, 1967).

Embora alguns autores apresentem ocasionalmente uma ou outra ilustração isolada de fases do desenvolvimento de uma planta, informações detalhadas e sequenciais de desenvolvimento de esporos são muito escassas na literatura. Entretanto, apenas observações cuidadosas das primeiras fases da germinação de esporos é que fornecem elementos para se julgar comparativamente os diferentes tipos de desenvolvimento e estabelecer possíveis padrões.

Igualmente escassas são as informações sobre a fenologia e comportamento em cultura de nossas algas marinhas, mesmo das mais comuns.

Com este trabalho visamos apresentar uma contribuição ao conhecimento de alguns aspectos da biologia de *Centroceras clavulatum*, alga vermelha muito comum e abundante em nosso litoral, através do estudo detalhado da germinação de esporos, cultura de plantas em laboratório e fornecimento de dados sobre sua fenologia.

MATERIAL E MÉTODOS

1 — Coleta e transporte.

Periodicamente amostras de várias partes das populações de *Centroceras clavulatum* foram coletadas no litoral do Estado de São Paulo, nos municípios de Itanhaem e Ubatuba.

Após algumas tentativas, verificamos que a melhor maneira de transportar as plantas para o laboratório era desmembrar os tufo e lavá-los cuidadosamente em água do mar para remover areia, detritos e, especialmente, pequenos crustáceos. Após a lavagem os ramos eram colocados, em pequenas quantidades, em recipientes de plástico ou em placas-de-Petri, abertas e apenas com um filme de água e então colocados em uma cuba de "Isopor", previamente resfriada nos meses de verão.

A remoção dos animais e a separação das plantas em pequenas porções permite que elas cheguem em ótimas condições ao laboratório.

2 — Obtenção dos esporos

No laboratório as plantas eram examinadas sob lupa e os ramos tetrásporicos ou com carposporófitos maduros eram separados com pinça de plástico e estiletos de vidro, lavados em água do mar filtrada e colocados sobre lâminas com água do mar para a liberação dos esporos, segundo técnica descrita em trabalho anterior (Oliveira F.^o 1967).

3 — Germinação e desenvolvimento dos esporos

Após a fixação dos esporos às lâminas, os ramos eram removidos e as lâminas colocadas em placas-de-Petri com meio de cultura.

Foram testados os meios de cultura de Guillard (1961), Von'Stosh (preparado seg. Edwards 1970) e Erd-Schreiber (preparado seg. Papenfuss 1950), sendo que bons resultados foram conseguidos tanto com o meio de Von'Stosh como com o de Erd-Schreiber.

As culturas foram mantidas em condições de laboratório em São Paulo, expostas à luz natural difusa.

Em placas onde a contaminação por outras algas era muito intensa, alguns esporos ou plântulas eram removidos cuidadosamente, lavados em meio estéril e transplantados para novas placas ou "erlemeyer" de 250 ml.

RESULTADOS

1 — Fenologia

Embora as observações mensais refiram-se a anos diferentes, os dados da tabela 1 parecem indicar que *C. clavulatum* produz tetrásporos durante todo o ano, pelo menos nas condições do Estado de São Paulo. Almodovar (1972) obteve resultados semelhantes para as populações desta espécie em Porto Rico.

Como acontece comumente com a grande maioria das algas vermelhas, as plantas sexuadas são bastante mais raras. Entretanto, é importante salientar que esta aparente raridade pode ser devida à maior dificuldade em se visualizar os órgãos de reprodução masculinos ou femininos. No caso destes últimos o diagnóstico de plantas femininas é indireto e feito geralmente com base na presença do carposporófito, (fase resultante do desenvolvimento do carpogônio fecundado) que facilita muito o reconhecimento das plantas femininas. Isto talvez explique porque as plantas femininas são tidas geralmente como mais frequentes que as masculinas. Embora a espécie esteja presente durante todos os meses do ano em nosso litoral, as evidências existentes não permitem ainda concluir que se trate de espécie perene.

Autor	Local	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Joly 1965	Lit. Norte												T
	S. Paulo												F
Oliveira F. 1965	Lit. Sul												T
	E. Santo												F
Ugadim 1970	Lit. Sul												T
	S. Paulo		T						T				T
Oliveira F. & Brinati	Itanhaém												T
	SP			T			T						F
	Ubatuba												T
	SP			T	T					T			
	Atol das												T
	Rocas			T									
Autor	Local	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

TABELA 1 — Distribuição mensal dos estágios reprodutivos de *Centroceras clavulatum*.
Monthly distribution of reproductive phases in *Centroceras clavulatum*.

T = tetrásporos; F = carpósporos; M = espermiócios.

2 — Tetrásporos

Os esporângios dividem-se tetraedricamente produzindo 4 esporos que ao serem liberados do esporângio assumem a forma esférica.

Os esporos apresentam-se envolvidos por uma bainha mucilaginosa hialina com cerca de $2,5 \mu$ de espessura; têm uma coloração rósea avermelhada devido à posição dos plastos que se distribuem uniformemente pelo esporo. Os plastos são numerosos, discóides, medindo aproximadamente $0,5 \times 1,0 \mu$.

O diâmetro dos esporos varia de $31,2$ a $46,8 \mu$. Esta variação de tamanho chamou nossa atenção e nos motivou a uma análise mais cuidadosa do dimensionamento dos esporos para saber se existiam 2 classes distintas de esporos, como nos parecia à primeira vista, e para, eventualmente, usar estes dados como um caráter taxonômico. Convém lembrar que dados sobre tamanho de esporos de algas vermelhas

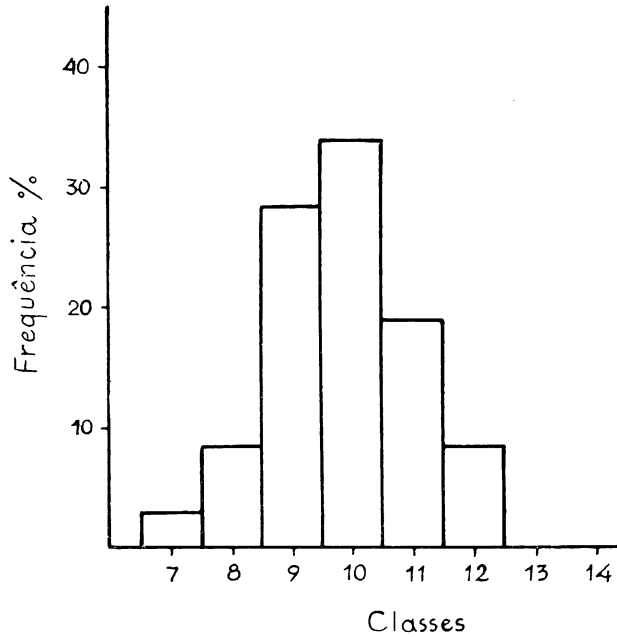


Fig. 1 — Distribuição de freqüência das classes de tamanho. O tamanho absoluto de cada classe corresponde ao seu número multiplicado por 3,9 micra.

Frequency distribution of the different classes. The absolute size of each class correspond to the class number times 3.9 micra.

são praticamente inexistentes na literatura onde usualmente existem apenas referências ao tamanho dos esporângios. A tabela 2 mostra uma análise estatística do tamanho dos esporos onde se pode ver que a distribuição é normal (figura 1). Não foi possível averiguar se as diferenças de tamanho são devidas a uma divisão desigual dentro dos esporângios, à diferença de tamanho dos esporângios, à liberação de esporos em diferentes graus de maturação ou a um conjunto destes fatores.

TABELA 2 — Variação e distribuição do tamanho (diâmetro) dos terásporos *Centroceras clavulatum*.

Variation and size distribution (diameter) of *Centroceras clavulatum* tetraspores.

Classes *	6,5-7,5 7	7,5-8,5 8	8,5-9,5 9	9,5-10,5 10	10,5-11,5 11	11,5-12,5 12
Frequência	3	9	31	38	20	9

(* unidades arbitrárias de valor igual a 3,9 micra).

$\bar{X} = 38,22\mu$ $S^2 = 1,17$ $S = 1,08$ $t = 2,14$ (95%) (36,08 — 40,36 μ)
 teste de aderência à normal $X^2_0 = 1,181$ $X^2_{0.05} = 5,991$

3 — *Desenvolvimento dos esporos*

Após a fixação dos esporos ao substrato (lâmina de vidro), o que se dá dentro de algumas horas após sua liberação, a germinação tem início pela formação de uma protuberância cilíndrica, sem pigmento, que é posteriormente isolada, por uma parede, da célula original do esporo. Neste estágio já se diferenciam a célula inicial do talo e a célula rizoidal inicial que dará origem ao sistema primário de fixação da plântula. A célula inicial do talo manterá sempre seu caráter meristemático e na planta adulta corresponderá à célula apical. A célula rizoidal alonga-se e sofre algumas divisões transversais. Neste estágio pode-se notar um ou outro cromoplasto alongado nas células vizinhas.

Em fases mais adiantadas as plântulas apresentam-se formadas externamente por células pequenas de formato irregular e, à medida que o número de células aumenta assumem uma forma retangular, semelhante às encontradas no estado adulto. Nestas fases iniciais já se percebe a organização nó-entrenó, que é característica das plantas bem desenvolvidas. Nas plântulas observamos sempre uma célula basal, de onde sai o rizóide primário, que se caracteriza por ter grande dimensão e plastos alongados, permanecendo como uma célula primária que não sofreu divisões e apenas aumentou de tamanho. Esta célula corresponderia, nas plantas mais desenvolvidas, a uma célula central desprovida de corticação.

4 — *Observação de plantas em meios de cultura*

Os "sporelings", quando colocados nos meios de cultura de Erd-Schreiber ou de Von Stosch desenvolvem-se bem, atingindo dimensões iguais às dos exemplares encontrados na natureza. Entretanto, durante os 12 meses em que estas plantas foram mantidas em cultura, não conseguimos encontrar nenhuma estrutura de reprodução.

Estas plantas apresentam algumas diferenças morfológicas quando comparadas com as plantas coletadas na natureza e com as descrições de outro autores (Taylor 1960; Joly 1965; Oliveira Filho 1969).

As plantas cultivadas no laboratório apresentam cor mais clara e ausência de uma porção rizomatosa definida. Os ângulos entre as bifurcações são bem mais abertos (\pm 75-90 graus) quando comparados com os das plantas coletadas na natureza (\pm 30-35 graus). Quanto à presença de espinhos estes são muito raros nas plantas obtidas em cultura, enquanto que são sempre citados na literatura e bem abundantes nas plantas coletadas na natureza e cujos tetrásporos lhes deram origem.

DISCUSSÃO

Os dados obtidos mostram que plantas tetráspóricas ocorrem durante todo o ano e de forma abundante. Se esta espécie apresenta

um ciclo de vida do “tipo Polysiphonia” como é de se supor, esta grande e continuada produção de esporos, presumivelmente haplóides, deveria dar origem a um número igualmente grande de plantas masculinas e femininas o que não parece ser o caso. Caberia então explicar o porque da raridade das plantas sexuadas, fato este já constatado por outros autores para outras espécies (Almodovar 1972, Oliveira Filho e Sazima 1973).

O tamanho dos esporos, quando expresso através de uma média e sua variação dentro de um nível de segurança conhecido, poderá ter valor taxonômico. Entretanto, este tipo de medida só pode ser conseguido quando se dispõem de plantas vivas e férteis, o que o torna pouco prático como mostra a ausência destes dados na literatura.

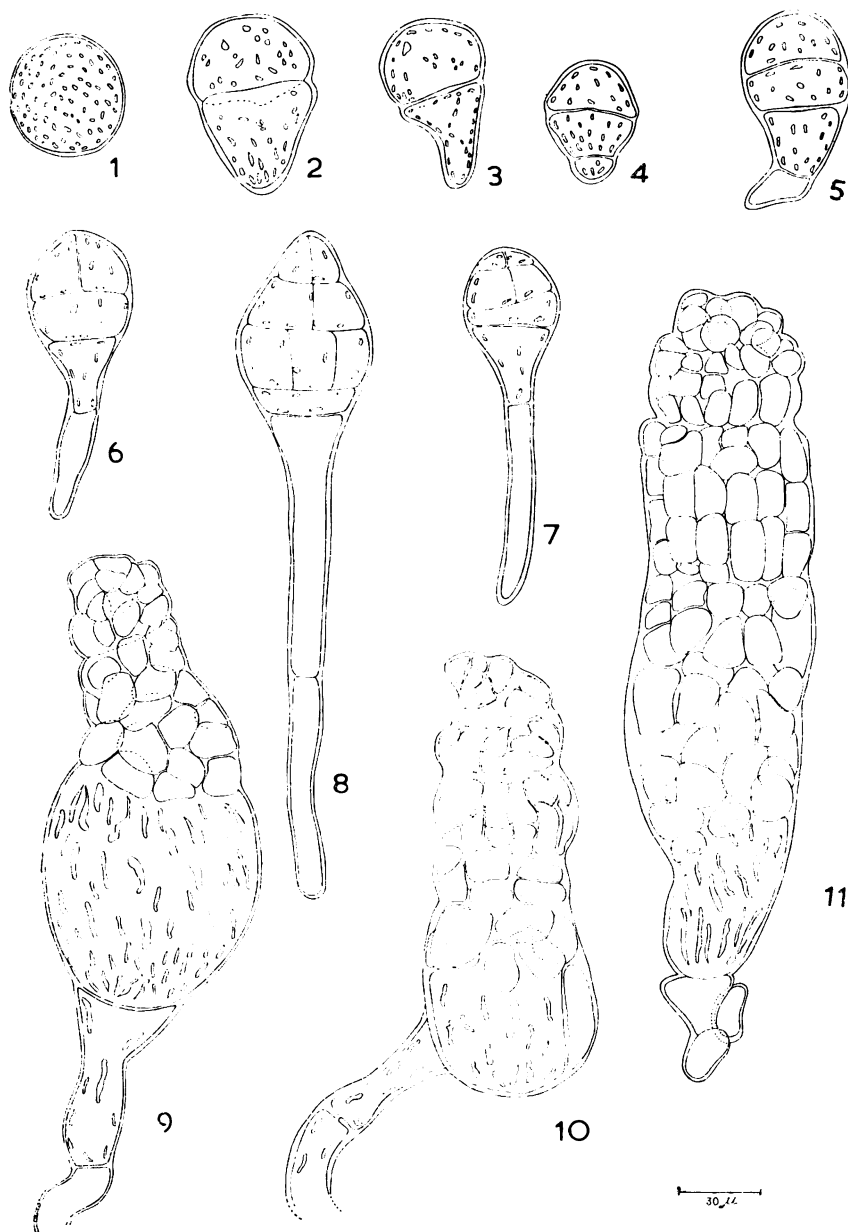
É interessante notar que o tipo de desenvolvimento observado corresponde mais ao encontrado entre as Rhodomelaceae que nas Ceramiaceae. Entretanto, para que se possam fazer comentários mais seguros sobre a importância taxonômica e filogenética dos “padrões de germinação”, é necessário um maior número de dados sobre outros representantes destas famílias.

Embora trabalhássemos com água do mar enriquecida com nutrientes, como meio de cultura, mesmo assim notamos sensíveis modificações morfológicas nas plantas mantidas em laboratório. Isto, até certo ponto, era de se esperar, uma vez que as manifestações genotípicas são altamente influenciadas pelo meio ambiente, como é sobejamente conhecido, mas, serve para mostrar que quando se estudam ciclos de vida, fisiologia e taxonomia de organismos em laboratórios os dados nem sempre podem ser estendidos e generalizados para o que acontece na natureza.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALMODOVAR, L. R. — 1972 — Reproduction in some deep-water algae off La Parguera, Puerto Rico. *Rev. Alg. N.S.* X(4):297-305.
- BOILLOT, A. — 1961 — Recherches sur le mode de développement des spores et la formation de la fronde adulte chez les Champiacées. (Rhodophycées, Rhodymeniales). *Rev. Gen. Bot.* 68:686-719.
- CHEMIN, E. — 1937 — Le développement des spores chez les Rhodophycées. *Rev. Gen. Bot.* 49:205-234; 300-327; 353-374; 424-448; 478-535.
- CHIHARA, M. and S. KAMURA — 1963 — On the germination of tetraspore of *Gelidiella acerosa*. *Phycologia* 3(2):69-74.
- EDWARDS, P. — 1970 — Illustrated guide to the seaweeds and sea-grasses in the vicinity of Port Aransas, Texas. *Contr. Mar. Sc.* 15:1-228 (supl.).
- FELDMANN, J. — 1938 — Sur le développement des tetraspores du *Caulacanthus ustulatus* (Mertens) Kützing (Rhodophycée). *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N.* 29:298-302.
- GUILARD, R. R. L. — 1961 — Media for isolation and Maintenance of Marine Algae. *Woods Hole Ocean. Inst.*

- JOLY, A. B. — 1965 — Flora Marinha do Litoral Norte do Estado de S. Paulo e regiões circunvizinhas. Bolm. Fac. Fil. Ciênc. Univ. S. Paulo, sér. bot. 21:1-393.
- KAMURA, S. — 1963 — On the tetraspore-germination of *Caulacanthus okamurai* Yamada. Arts and Sciences Div. — Univ. Rykyu-Haha, Okinawa.
- OLIVEIRA FILHO, E. C. de, — 1965 — Notas preliminares sobre a germinação de algumas Rhodophyceae do litoral de S. Paulo. An. Soc. Bot. Brasil XV:449-451. Porto Alegre.
- OLIVEIRA FILHO, E. C. de, — 1967 — On the development of tetraspores of *Acanthophora spicifera* (RHODOMELACEAE-RHODOPHYTA). Bolm. Fac. Filos. Ciênc. Univ. S. Paulo, sér. bot. 22:195-206.
- OLIVEIRA FILHO, E. C. de — 1969 — Algas Marinhas do Sul do Estado do Espírito Santo (Brasil). I— Ceramiales. Bolm Fac. Filos. Ciênc. Letr. Univ. S. Paulo, sér. bot. 26:1-277.
- OLIVEIRA FILHO, E. C. de e SAZIMA, I. P. — 1973 — Estudos sobre a biologia de algas agarófitas. I— Recolonização, brotamento e fenologia em populações naturais de *Pterocladia capilacea* (Rhodophyta-Gelidiaceae). Bol. Zool. e Biol. Mar., N.S. 30:677-690.
- PAPENFUSS, G. — 1950 — Culturing of marine algae in relation to problems in morphology. "in" The culturing of algae pp. 77-95. Publ. by The Charles F. Kettering Foundation.
- TAYLOR, W. R. — 1960 — Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. Ann. Arbor Univ. Michigan Press.



Figs. 1-11 — Sequência do desenvolvimento dos tetrásporos de *Centroceras clavulatum*.
 Sequences of developing tetraspores of *Centroceras clavulatum*.