Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente 36 (1&2): 61-67 (1997); 3 Figs. 4 Tabs.

EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA IRRADIANCIA EN EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DEL ALGA *GRACILARIOPSIS TENUIFRONS* (BIRD & OLIVEIRA) FREDERICQ & HOMMERSAND (GRACILARIALES, RHODOPHYTA)

ALEXIS MIGUEL BELLORÍN & ANDRÉS J. LEMUS CASTRO

Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Apdo. 245, Cumaná, Venezuela
Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

RESUMEN: Se estudió la influencia combinada de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento *in vitro* de *Gracilariopsis tenuifrons*. Se utilizaron distintas fases del ciclo vital (tetrasporangiales, carposporangiales e infértiles), colectadas en una población silvestre (La Peña) y en un cultivo experimental (Chacopata) en la Península de Araya, Venezuela. Fiolas de 250 ml con cultivos unialgales fueron colocadas en una tabla de gradiente cruzado de temperatura e irradiancia, probándose un rango de 20 a 32 °C, y de 92 a 770 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$, con 12L:12D de fotoperíodo. Se empleó PES fortalecido como medio de cultivo. El crecimiento se determinó gravimétricamente y los resultados fueron comparados mediante ANOVA de tres factores. En todos los experimentos realizados se obtuvieron diferencias significativas debidas a la temperatura y a la irradiancia. Las dos poblaciones presentaron diferentes óptimos de temperatura (28 °C para las plantas de La Peña, 32 °C para las de Chacopata), y similares para la irradiancia (230 a 380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$). A irradiancias saturantes, las respuestas de crecimiento variaron de acuerdo a la temperatura: en las temperaturas óptimas el crecimiento no disminuyó con los valores saturantes de luz, mientras que en las temperaturas más bajas, presentó una ligera disminución. En el caso de las algas silvestres, pero no en las cultivadas, se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de acuerdo a la fase del ciclo vital. Los resultados obtenidos se relacionan con la aparente distribución tropical de esta especie, con los diferentes regímenes de temperatura en cada sitio, y con sus elevados niveles de turbidez. Se recomiendan los sitios adecuados en términos de temperatura y luz, para el cultivo de *Gracilariopsis tenuifrons*.

ABSTRACT: We studied the combined influence of temperature and irradiancy on the *in vitro* growth of *Gracilariopsis tenuifrons*. We used plants in different life cycle phases (infertile plants, plants bearing tetrasporangia and cystocarps), collected at La Peña (wild plants), and Chacopata (cultivated plants), in the Araya Peninsula, Venezuela. 250 ml conical flasks with unialgal cultures were disposed on a cross-gradient table, with a temperature range between 20 and 32°C, an irradiancy range between 92 and 770 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$, and a light/dark cycle of 12L:12D. Full strength Porvasoli's enriched media (PES) was used for cultivation. Growth was gravimetrically determined, and the results were compared by means of trifactorial ANOVA. In all the experiments, there were significant differences due to temperature and irradiancy variations. Temperature optima were different (28°C for plants from La Peña and 32°C for plants from Chacopata), but irradiance optima were the same for both populations (between 230 and 380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$). Under saturating irradiancy, grown response varied according to temperature, At optimum temperature, growth did not decrease with saturating light values, while at lower temperatures growth did present a slight decrease. In contrast to farmed plants, wild plants showed significant growth differences according to tile life cycle phases. We relate our results with the apparent tropical distribution of this species, with the different temperature regimes in each location and with their high water turbidity levels. We recommend the adequate farming locations for *Gracilariopsis tenuifrons*, in terms of temperature and light

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, las especies de *Gracilaria* han sido las mayores fuentes de materia prima para la extracción de agar (ARMISEN & GALATAS, 1987; SANTELICES & DOTY, 1989).

En Venezuela, exceptuando registros dudosos, se han reportado 21 especies de *Gracilaria* (GANESAN, 1989a), todas las cuales, aparentemente, son de potencial importancia económica (GANESAN, 1989b). A estas deben sumarse las especies del género afín, *Gracilariopsis*, separadas recientemente de acuerdo a varios aspectos de la ontogenia de la fase espermatangial y al desarrollo de la post fertilización (FREDERICQ & HOMMERSAND, 1989).

De todas estas especies, varios estudios han mostrado que *Gracilariopsis tenuifrons* es bastante prometedora, tanto por su facilidad de propagación y alta velocidad de crecimiento en condiciones de campo y de laboratorio, como por la producción de un buen gel (APONTE & LEMUS, 1989; LEMUS, 1992).

En Venezuela, *Gracilariopsis tenuifrons* ha sido identificada en algunas localidades del litoral norte de la Península de Araya, formando bandas irregulares a lo largo de la costa, sin llegar a formar praderas extensas, por lo que para su explotación debe considerarse su cultivo. Ensayos de cultivo a mar abierto, de hecho, han mostrado que esta alga cuadruplica su biomasa semanalmente (LEMUS, 1992).

No obstante, deben plantearse a corto plazo estudios detallados acerca de su fisiología y ecología, para optimizar su posible manejo. Estos estudios deben ser hechos preferiblemente en cada una de las poblaciones locales de interés, dada la presencia bien documentada de cepas fisiológicas o ecotipos en varias macroalgas (YOKOYA & OLIVEIRA, 1992).

Entre los parámetros ambientales, usualmente se considera a la temperatura como el factor más importante para el crecimiento y productividad de las gracilariáceas. También, la luz, como factor crítico para la fotosíntesis, suele ser considerada relevante, aunque en estas plantas puede existir una gran plasticidad y variación en sus respuestas a la luz (MCLACHLAN & BIRD, 1986). En este trabajo, en un intento por conocer los óptimos de temperatura e irradiancia en cultivos *in vitro* de esta especie, se reporta la influencia de un gradiente cruzado de irradiancia y temperatura sobre el crecimiento *in vitro* de plantas adultas de *Gracilariopsis tenuifrons* provenientes de dos poblaciones de las costas orientales del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron plantas fértiles (tetrasporangiales y carposporangiales) e infértiles de *Gracilariopsis tenuifrons* colectadas en una población silvestre en la Península de Araya (La Peña, 10°37'22" Lat. N, 64°7'30" Long. W) y en un cultivo experimental (Chacopata, 10°39'54"Lat. N, 63°49'33" Long. W) (figura 1).

Los talos colectados se limpiaron meticulosamente con agua marina estéril, y se seleccionaron fragmentos de 20 a 30 cm. Estos fragmentos fueron aclimatados en envases de vidrio con aproximadamente 2 l de agua marina filtrada y esterilizada, a temperaturas de 26 a 28 °C, 36 ‰ de salinidad y alrededor de 250 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ de irradiancia. La salinidad fue medida con un refactrómetro manual ATAGO S-28 y la irradiancia con un cuantímetro Li-Cor LI 189.

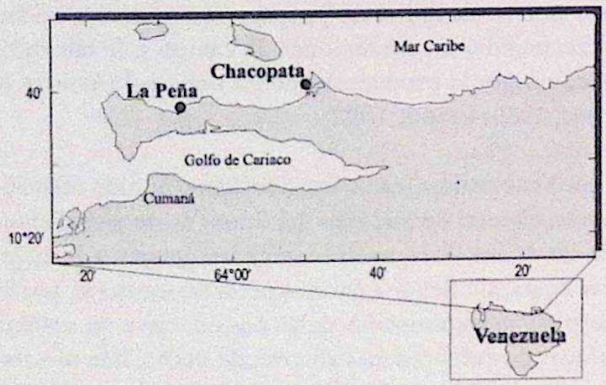


Figura 1. Sitios de colecta de *Gracilariopsis tenuifrons* en la Península de Araya

A partir de esos fragmentos, se obtuvieron cultivos unialgales de cada fase del ciclo de vida, salvo la fase espermatangial (que no llegó a ser colectada), inoculando cuatro fragmentos apicales (peso húmedo = 50 ± 5 mg) en fiolas de 250 ml con 150 ml de agua de mar enriquecida de Provasoli (PES, MCLACHLAN, 1973); modificada por LEMUS & GANESAN (1977), con dióxido de germanio, penicilina y cafeína. El medio fue renovado semanalmente.

La influencia de la temperatura y la intensidad de luz en la tasa de crecimiento de cada fase del ciclo vital se estudió empleando una tabla gradiente (modificada de YARISH *et al.*, 1979). Los valores de temperatura aplicados fueron 20, 23, 28 y 32 °C, y se probaron dos diseños experimentales variando el juego de valores de irradiancia (Diseño experimental I: 92, 130, 230, 305 y 770 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$; diseño experimental II: 130, 230, 380 y 550 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$). Se mantuvo un fotoperíodo de 12L:12D. Los cultivos fueron mantenidos en la tabla gradiente durante 1 a 2 semanas.

El crecimiento fue medido gravimétricamente, pesando los fragmentos de alga (seudoréplicas) sometidos a cada condición a intervalos semanales. El crecimiento se expresó por medio de la tasa de crecimiento exponencial (en porcentaje), de acuerdo a la siguiente fórmula (modificada de ROSENBERG & RAMUS, 1981):

$$K = 100(\text{Log}_2\ P_t/P_o)t^{-1}$$

Donde K es la tasa de crecimiento diario (en porcentaje), P_t el peso húmedo final y P_o, el peso húmedo inicial de los fragmentos, y t el número de días entre entre P_t y P_o.

Los resultados (promedios de las seudoréplicas en cada condición) fueron sometidos a análisis de varianza factoriales (tres factores) modelo I (SOKAL & ROHLF, 1981) para probar las diferencias de crecimiento entre los tratamientos de temperatura e irradiancia y entre las fases del ciclo de vida.

RESULTADOS

Se encontraron diferencias significativas en la respuesta de crecimiento entre los distintos tratamientos de temperatura e irradiancia aplicados tanto en las plantas silvestres (La Peña) como en las cultivadas (Chacopata), y la interacción temperatura - irradiancia también fue significativa en ambos casos. Además, el crecimiento fue significativamente distinto entre las fases del ciclo de vida en las plantas silvestres (Tablas 1 y 2).

TABLA 1. Tabla de ANOVA factorial donde se comparan los efectos de la temperatura, irradiancia, fase del ciclo de vida y las distintas interacciones en la respuesta de crecimiento de las plantas colectadas en La Peña.

Fuente de variación	gl	SS	MS	F_s
Temperatura	3	30,273	10,091	71,539***
Irradiancia	3	28,187	9,396	66,612***
Fase del ciclo vital	2	1,589	0,795	5,636*
Temperatura x Irradiancia	9	5,123	0,569	4,034**
Temperatura x Fase del ciclo vital	6	0,435	0,073	0,518 *ns*
Irradiancia x Fase del ciclo vital	6	1,542	0,257	1,822 *ns*
Error	18	2.539	0,141	
Total	47	69.690		

TABLA 2. Tabla de ANOVA factorial donde se comparan los efectos de la temperatura, irradiancia, fase del ciclo de vida y las distintas interacciones en la respuesta de crecimiento de las plantas colectadas en Chacopata.

Fuente de variación	gl	SC	MC	F_s
Temperatura	3	23,967	7,989	40,911***
Irradiancia	3	22,317	7,439	38,094***
Fase del ciclo vital	2	0,299	0,150	0,768 *ns*
Temperatura x Irradiancia	9	7,275	0,808	4,138**
Temperatura x Fase del ciclo vital	6	1,075	0,179	0,917 *ns*
Irradiancia x Fase del ciclo vital	6	0,913	0,152	0,778 *ns*
Error	18	3,515	0,195	
Total	47	59,361		

En las tablas 3 y 4 se muestra el tamaño muestral, la media aritmética del crecimiento, el error de la media y los grupos homogéneos de acuerdo a la prueba de DUNCAN en las plantas silvestres y en las plantas cultivadas respectivamente. Como se ve, el crecimiento medio más alto se obtuvo a 28 °C en las plantas silvestres y a 32 °C en las plantas cultivadas, y en ambas, de 230 a 380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$. En las plantas silvestres el crecimiento varió significativamente entre las distintas fases del ciclo de vida, siendo las carpospóricas las de mayor valor.

TABLA 3. Tamaño muestral (n), promedios del porcentaje de crecimiento diario ($\bar{X}$), error de la media ($S\bar{x}$) y grupos homogéneos formados según la prueba de Ducan para cada uno de los factores probados en las plantas colectadas en La Peña.

Factor y Tratamiento	n	$\bar{X}$	$S\bar{x}$	Duncan
Temperatura				
28 °C	12	4,558	0,355	|
32 °C	12	3,661	0,281	|
23 °C	12	3,608	0,241	|
20 °C	12	2,328	0,188	|
Irradiancia				
380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	4,136	0,321	|
230 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	4,097	0,259	|
550 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	3,673	0,343	|
130 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	2,249	0,164	|
Fase del ciclo de vida				
Carpospóricas	16	3,737	0,268	|
Tetraspóricas	16	3,582	0,312	|
Vegetativas	16		0,338	|

TABLA 4. Tamaño muestral (n), promedios del porcentaje de crecimiento diario ($\bar{X}$), error de la media ($S\bar{x}$) y grupos homogéneos formados según la prueba de Ducan para los factores de efecto significativo en el crecimiento de las plantas colectadas en Chacopata.

Factor y Tratamiento	n	$\bar{X}$	$S\bar{x}$	Duncan
Temperatura	12			
32 °C	12	4,036	0,375	|
28 °C	12	3,183	0,251	|
23 °C	12	2,778	0,216	|
20 °C	12	2,082	0,135	|
Irradiancia				
380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	3,657	0,307	|
230 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	3,353	0,261	|
550$\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	3,194	0,335	|
130 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$	12	1,874	0,078	|

El blanqueo del talo y la aparición de lesiones visibles como efecto de situaciones de estrés fueron observados frecuentemente en las condiciones de irradiancia más altas tanto en plantas silvestres como en cultivadas, y en estas últimas, también fueron frecuentes a bajas temperaturas.

Las respuestas de crecimiento, de las distintas fases del ciclo de vida de las plantas silvestres. Como se ve, las curvas siguen un patrón más o menos general, con máximas respuestas a 28 °C y entre 230 y 380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ de irradiancia, decreciendo a mayores valores de irradiancia (Fig. 2). El patrón de crecimiento obtenido en las plantas colectadas en Chacopata muestra claras diferencias sobre el patrón de las plantas de La Peña con respecto a la temperatura (Fig. 3).

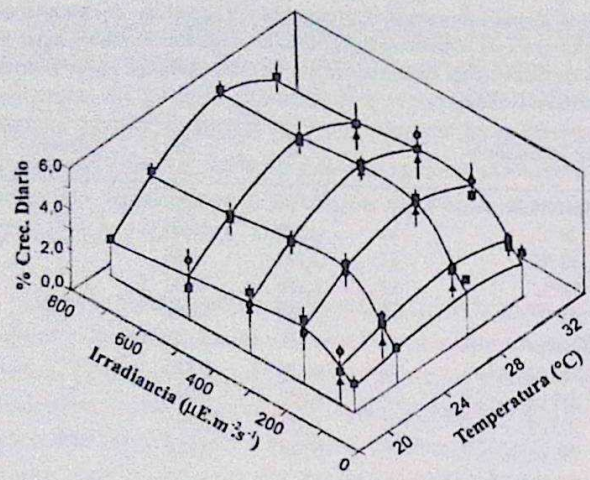


FIGURA 2. Superficie de respuesta de crecimiento de las plantas tetraspóricas (■), carpospóricas (▲) e infértiles (●) de *Gracilariopsis tenuifrons* colectadas en La Peña. Los puntos representan la media aritmética de cuatro seudoréplicas y las barras los errores standard.

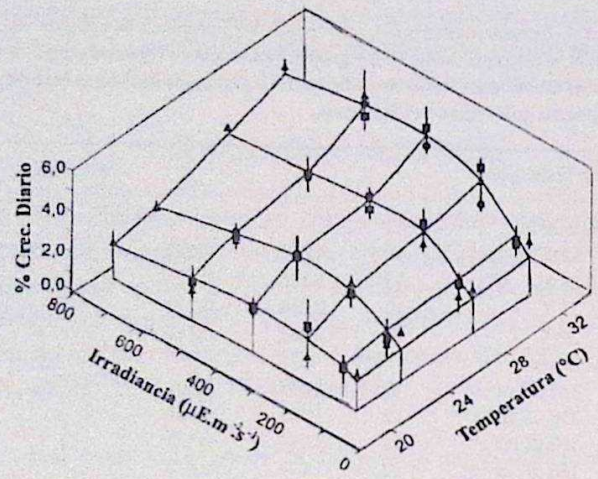


FIGURA 3. Superficie de respuesta de crecimiento de las plantas tetraspóricas (■), carpospóricas (▲) e infértiles (●) de *Gracilariopsis tenuifrons* colectadas en Chacopata. Los puntos representan la media aritmética de cuatro seudoréplicas y las barras los errores standard.

CONCLUSIONES

En todos los valores de temperatura probados se registró crecimiento, no obstante, a 20 °C se observó cierta tendencia a la aparición de zonas necróticas y blanqueo del talo, sobre todo en las plantas provenientes de Chacopata, lo que indica que a la larga probablemente esta temperatura puede ser letal para estas algas.

Este resultado permite considerar que estas poblaciones de *Gracilariopsis tenuifrons* están adaptadas a un régimen tropical de temperatura, lo que concuerda con la distribución geográfica de esta especie (*Gracilariopsis tenuifrons* ha sido citada —como *Gracilaria tenuifrons*— en algunas localidades de Cuba, Puerto Rico, Sta. Lucía, Tobago y Brasil) (BIRD & OLIVEIRA, 1986).

Las diferencias observadas entre las temperaturas que produjeron las mayores respuestas en cada localidad, seguramente están relacionadas con las diferencias que existen en la temperatura del agua en los sitios de origen. Por lo general, en La Peña la temperatura superficial del agua oscila entre 23,2 a 29,5 °C, y raras veces alcanza el valor de 30 °C. Al contrario, en el lugar donde están establecidos los cultivos experimentales en Chacopata, en los días de alta radiación y de poco viento (principalmente entre junio a noviembre), las temperaturas superficiales suelen estar cercanas 30°C, registrándose valores de hasta 32 a 33 °C en las zonas más someras (LEMUS, 1992). Además, los cultivos experimentales se encuentran muy cerca de la boca de la Laguna de Chacopata, un cuerpo de agua somero que se caracteriza por alcanzar altas temperaturas, por lo que durante las mareas bajas, las algas están expuestas a las corrientes cálidas de salida de la laguna.

En general, el factor ambiental de más importancia para la productividad de las poblaciones de *Gracilaria* es la temperatura (MCLACHLAN & BIRD, 1986). La mayoría de las gracilariáceas de aguas cálidas presentan un mayor crecimiento y presumiblemente producción en el rango de 25 a 30 °C (MCLACHLAN & BIRD, 1986), aunque varias especies tropicales presentan óptimos superiores (MCLACHLAN & BIRD, 1984, YOKOYA & OLIVEIRA, 1992).

En esta investigación, las plantas provenientes de Chacopata fueron más suceptibles a la necrosis y blaqueo del talo que las plantas silvestres provenientes de La Peña, y en general mostraron menores respuestas de crecimiento en la mayoría de las condiciones. Tal resultado parece indicar que en Chacopata las plantas están sometidas a algún tipo de estrés, presumiblemente debido a las altas temperaturas, lo que disminuiría su productividad y rendimiento de gel (debe señalarse que estas plantas no se encontraban naturalmente en este sitio antes del establecimiento de los cultivos).

No obstante, en Chacopata, a mar abierto, los cultivos *in situ* no parecen mostrar tales signos de estrés en términos de crecimiento, que sí son evidentes en los cul-

tivos *in vitro*. Este hecho puede ser explicado por las características inherentes al cultivo *in vitro*, en el que las algas están en condiciones limitadas de CO_2, de renovación de nutrientes y de movimiento de agua, entre otras. Estas limitaciones acentúan la situación de estrés de las algas cultivadas y explica, además, que el crecimiento *in vitro* sea notoriamente menor al crecimiento *in situ*. Además, se ha demostrado la capacidad que tienen estas algas de tolerar condiciones estresantes *in situ* mediante almacenamiento de nutrientes, principalmente nitrógeno (Dawes & Koch, 1990).

Con relación al efecto de la irradiancia, en las plantas de ambas localidades, las respuestas de crecimiento mostraron un rápido aumento de 92 a 230 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$, con máximos entre 230 a 380 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$, y valores ligeramente decrecientes hasta 770 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$. En las temperaturas óptimas de las plantas de cada localidad, el crecimiento no mostró tendencia a dismuir con el aumento de irradiancia. Al contrario, a 20 °C, las plantas de ambas localidades presentaron un declive pronunciado hacia las máximas iradiancias probadas, y a 770 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$, fueron más frecuentes los talos dañados y con blanqueo de ramas (efecto sinergístico o interacción temperatura - irradiancia).

Estos resultados muestran que estas poblaciones están adaptadas a condiciones de luz moderadas, lo cual está en relación con el elevado grado de turbidez del agua en los sitios de origen. Exposiciones a irradiancias elevadas produjeron lesiones, y posiblemente foto-oxidación de las ficobilinas y fotoinhibición de la fotosíntesis, tal como ha sido descrito en otras macroalgas (Hanelt, 1992, 1995). Muchas especies de *Gracilaria* pueden vivir en habitats muy turbios, de baja presión competitiva, donde pueden formar bancos monoespecíficos (Mc Lachlan & Bird, 1986), presentando un punto de compensación bastante bajo (Rosenberg & Ramus, 1981; Lapointe *et al.*, 1984a), para mantener sus productividad neta a niveles de escasa luz.

En La Peña, donde la turbidez del agua generalmente es muy notable, se ha observado que a profundidades mayores de 70 cm esta especie desaparece, y que en zonas de 70 a 40 cm de profundidad puede formar bancos monoespecíficos dispersos, creciendo en forma de largas ramas teretes muy oscuras cuyos extremos llegan a la superficie y allí se tornan pardoverdosos y más gruesos. Las plantas que crecen muy expuestas es la zona intermareal muchas veces presentan coloraciones marcadamente verdes y sus talos son de consistencia más rígida. Guimarães & Plastino (1995) encontraron, en *Gracilaria dominguensis*, que esos cambios en las proporciones de pigmentos son adaptaciones a grandes niveles de luz y a cambios cualitativos de ésta.

Por último, se encontró que las respuestas de crecimiento de las distintas fases del ciclo de vida de las plantas silvestres, aún cuando son simpátricas, difirieron estadísticamente. Se ha observado un hecho similar en algunas especies de *Gracilaria*, en las cuales la productividad, tanto de biomasa como de gel, para las fases del ciclo de vida, principalmente entre plantas cariológicamente distintas (Kim, 1970; Edelstein, 1977; Hoyle, 1978; Destombe *et al.*, 1993) es distinta. En gelidiáceas también se han reportado diferencias de productividad entre las fases cariológicas (Santelices, 1988). En las plantas cultivadas no se comprobó este hecho, por estar posiblemente enmascarado por la situación de estrés térmico a la que están expuestas estas algas en Chacopata.

Dejando a un lado la sobresimplificación que pueden ser las determinaciones de óptimos ecofisiológicos en el laboratorio, los resultados de esta investigación permiten recomendar como sitios aptos para el cultivo de *Gracilariopsis tenuifrons*, desde el punto de vista de condiciones térmicas y lumínicas, a aquellas costas donde las temperaturas se mantengan en un rango de 28 a 30 °C. Tales sitios, además, deben presentar una turbidez suficientemente alta para minimizar el efecto inhibitorio y estresante de las elevadas irradiancias, y lo suficientemente baja para que la sedimentación sea moderada, con el fin de reducir el porcentaje de impurezas en la materia prima.

Así mismo, además de la temperatura y la irradiancia, otros importantes factores deben ser estudiados detalladamente, como lo son el régimen de nutrientes, principalmente nitrógeno, la dinámica y control de la herbivoría, el epifitismo, y los diversos factores socioeconómicos .

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Sr. Miguel Gómez, por su invalorable colaboración en el trabajo de campo y al M. Sc. Rómulo Loaiza por sus

orientaciones en el establecimiento de los cultivos. Así mismo, a la Prof. ARACELYS TORRES por sus valiosas sugerencias en el tratamiento estadístico. Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (Proyecto CI-5-009-00633/94).

REFERENCIAS

ARMISEN, R. & F., GALATASS, 1987. Production, properties an uses of agar. En McHugh, D. (edit.), Production and utilization of products from commercial seaweeds. FAO *Fish. Techn. Pap.* 288, 1-57 p.

APONTE, M. & A. J., LEMUS. 1989. Comparative study of the agar obtained from three species of *Gracilaria* feasibles for culture in Venezuela. En OLIVEIRA, E. & KAUTSKY, N. (edit.), *Proceedings of the Workshop on "Cultivation of Seaweed in Latin America"*. April, 2 - 8, 1989. Univ. S. Paulo/Int. Foundation for Science. S. Seabastiao, Brazil. 117-119 p.

BIRD, C. J. & E., OLIVEIRA. 1986. *Gracilaria tenuifrons*, sp. nov. (Gigartinales, Rhodophyta), a species from the tropical western Atlantic with superficial spermatangia. *Phycologia* 25: 313-320.

DAWES, C. J. & E. W., KOCH. 1990. Physiological responses of the red algae *Gracilaria verrucosa* and *G. tikvahiae* before and after nutrient enrichment. *Bull. Mar. Sci.* 46: 335-344.

DESTOMBE, C.; J. GODIN; M. NOCHER; S. RICHERD, & M. VALERO, 1993. Differences in response between haploid and diploid isomorphic phases of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta, Gigartinales) exposed to artificial enviromental conditions. *Hydrobiologia*, 260/261: 131-137.

EDELSTEIN, T., 1977. Studies on *Gracilaria* sp.: experiments on inocula incubated under greenhouse conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 30: 249-259.

FREDERICQ S. & M., HOMMERSAND, 1989. Comparative morphology and taxonomic status of *Gracilariopsis* (Gracilariales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 25: 228-241.

GANESAN, E. K., 1989a. *A catalog of benthic marine algae and seagrasses of Venezuela*. Fondo Editorial CONICIT. Caracas, Venezuela. 237 p.

GANESAN, E. K. 1989b. Taxonomy of the economically important seaweed of Venezuela: I. *Gracilaria. Gracilaria lacinulata* (Vahl) Howe prox. *Bol. Inst. Oceangr. Venezuela, Univ. Oriente* 28: 85-97.

GUIMARÃES, M. & E. M. PLASTINO, 1995. Physiological responses of two natural pigmentary strains of *Gracilaria dominguensis* (Gracilariales, Rhodophyta). 15th Int. Seaweed Symp. Valdivia, Chile. Abstracts and Progamme. Instituto de Botánica - Universidad Austral de Chile. p. 69.

HANELT, D. 1992. Photoinhibition of photosynthesis in marine macrophytes of the South China Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 82: 199-206.

HANELT, D. 1995. Photoinhibition of photosynthesis in marine macroalgae. 15th Int. Seaweed Symp. Valdivia, Chile. Abstracts and Progamme. Instituto de Botánica - Universidad Austral de Chile. p. 70.

HOYLE, M. D. 1978. Reproductive phenology and growth rate in two species of *Gracilaria* from Hawaii. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 35: 273-283.

KIM, D. H., 1970. Economically important seaweeds in Chile. I. *Gracilaria. Bot. Mar.* 13: 140-162.

LAPOINTE, B. E., K. R. TENORE, & C. J., DAWES, 1984. Interaction between light and temperature on the physiological ecology of *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales, Rhodophyta). I. Growth, photosynthesis and respiration. *Mar. Biol.* 80: 161-170.

LEMUS, A. J., 1992. Ensayos de cultivo de la agarofita *Gracilariopsis tenuifrons* (BIRD *et* OLIVEIRA) FREDERICQ *et* HOMMERSAND (Rhodophyta) en el oriente de Venezuela. Memorias del VII Simposio Latinoamericano de Acuicultura - II Encuentro Venezolano sobre Acuicultura. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Venezuela.

LEMUS, A. J. & E. K., GANESAN. 1977. Morphological and culture studies in two species of *Predaea* G. de Toni (Rhodophyta, Gymnophlaceae) from the Caribbean Sea. *Bol. Inst. Oceangr. Venezuela, Univ. Oriente* 16: 63-77.

McLachlan, J., 1973. *Growth media-Marine.* En Stein, J. (edit.), *Handbook of phycological methods-Growth measurements.* Cambridge University Press. London. 25-32 p.

McLachlan, J. & C. J., Bird. 1984. Geographical and experimental assesment of the distribution of *Gracilaria* species (Rhodophyta, Gigartinales) in relation to temperature. *Helgol. Meeresunters.*, 38: 319-334.

McLachlan, J. & C. J., Bird. 1986. *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. *Aquat. Bot.* 26: 27-49.

Ronsemberg, G. & Ramus J. 1981. Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): The rate and timing of growth. *Bot. Mar.* 24: 583-589.

Santelices B. 1988. Synopsis of biologicla data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). *FAO Fish. Synop.*, 145: 55 p.

Santelices, B. & M. S., Doty. 1989. A review of *Gracilaria* farming. *Aquaculture* 78: 95-133.

Sokal, R. R. & F. J., Rohlf. 1981. Biometry. Freeman & Co., San Francisco, California. 859 p.

Yarish, C., K. W. Lee, & P., Edwards, 1979. An improved apparatus for the culture of algae under varying regimes of the temperature and light intensity. *Bot. Mar.* 22: 395-397.

Yokoya, N. S. & E. C., Oliveira. 1992. Temperature responses of economically important red algae and their potential for mariculture in Brazilian waters. *J. Appl. Phycol.* 4: 339-345.